

# Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation: rôle des flux de nutriments absorbés

Thèse de doctorat de l'Université Paris-Saclay  
préparée à AgroParisTech

École doctorale n°581 Agriculture, alimentation, biologie,  
environnement, santé (ABIES)  
Spécialité de doctorat: sciences de la vie et de la santé

Thèse présentée et soutenue à Saint-Genès-Champagnelle, Theix, le 28 juin 2018, par

**Lucas de Ofeu Aguiar Prado**

Composition du Jury:

M. Daniel Sauvant Professeur, AgroParisTech - INRA (UMR 0791)	Président
Mme Rachel Gervais Professeur, Université Laval, Canada	Rapporteur
M. Francis Enjalbert Professeur, ENVT - INRA (UMR 1388)	Rapporteur
Mme Marie-Pierre Létourneau-Montminy Professeur associé, Université Laval, Canada	Examineur
M. Sébastien Couvreur Enseignant-Chercheur, ESA (URSE)	Examineur
Mme Anne Ferlay Directeur de recherche, INRA (UMR 1213)	Directrice de thèse
M. Philippe Schmidely Professeur, AgroParisTech - INRA (UMR 0791)	Co-directeur de thèse
M. Pierre Nozière Directeur de recherche, INRA (UMR 1213)	Co-encadrant de thèse

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Rachel Gervais et Francis Enjalbert pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce manuscrit de thèse. Je remercie ensuite Marie Pierre Létourneau-Montminy et Sébastien Couvreur pour avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse et enfin, Daniel Sauvant pour avoir accepté d'en être le Président.

Un grand merci à Veerle Fievez, Annabelle Meynadier, Gaelle Maxin et Michel Doreau d'avoir accepté de faire partir de mon comité de thèse et d'avoir partagé vos expertises scientifiques. Je remercie également Patrick Chapoutot pour son aide sur SystoolWeb et ses connaissances sur la caractérisation des aliments.

Cette thèse a été encadrée par Anne Ferlay et Philippe Schmidely et co-encadrée par Pierre Nozière. Mes remerciements les plus sincères vont donc à Anne, Philippe et Pierre pour leur encadrement pendant ces 3 années. Anne, je te remercie pour ta disponibilité, tes conseils, tes petits coups de « boost » quand cela était nécessaire ! Tu m'as transmis énormément de connaissances et je t'en suis très reconnaissant. Philippe, je tiens aussi à te remercier pour ta disponibilité, car même si plusieurs centaines de kilomètres nous séparaient, ton encadrement a été irréprochable et je t'adresse toute ma gratitude pour la formation que tu m'as donnée. Je vous remercie tous les deux, pour votre patience (il en fallait !) et tous les échanges instructifs que nous avons eus. La thèse est une belle aventure, pas toujours facile, mais vous l'avez rendu inoubliable. Pierre, je t'adresse aussi tous mes remerciements, c'est avec toi que j'ai effectué mon premier stage à l'INRA, une très belle expérience qui m'a donné le goût pour la recherche. Je te remercie pour ton expertise, ton implication dans ce projet de thèse, et pour l'aide précieuse que tu m'as apportée.

Je voudrais aussi remercier Neovia et Limagrain pour avoir soutenu financièrement cette thèse et particulièrement Christine Gérard, Jessie Guyader et Benoît Delord avec

qui j'ai eu des échanges. Christine, merci de m'avoir gentiment accueilli sur le site de Saint Nolff pour un séjour très instructif.

J'ai réalisé cette thèse au sein de l'Unité Mixte de Recherche sur les Herbivores, dans l'équipe PERAQ. Je remercie l'ensemble des membres de cette belle équipe, avec qui j'ai partagé beaucoup de bons moments, je ne vous oublierai pas ! Pascale, merci pour ton aide pour l'impression de ce manuscrit et plus généralement pour la logistique ! Cyril, Didier, Emilie, Jacques, merci pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble. Plus généralement, je remercie tous les membres des équipes PERAQ et Biomarqueurs, pour les bons moments partagés, vos conseils, votre soutien, vos blagues (drôles ou pas !). Merci à tous !

Un grand merci à Maguy Eugène, ma super tutrice, on a passé des supers moments, j'attends ta visite au Brésil !

J'adresse ensuite mes remerciements à tous les thésards et stagiaires que j'ai côtoyés pendant ma thèse, la liste est trop longue mais vous vous reconnaîtrez, vous avez rendu ces années encore plus belles !

Il est temps pour moi de remercier ma famille ; mes pensées se tournent donc vers toi *mamãe querida*, toi qui m'as toujours soutenue, malgré la distance, tu étais là pour me reconforter. Merci pour les valeurs que tu m'as transmises, et pour tout l'amour que tu m'as donné. Aitama, *minha pequena*, merci pour ton soutien pendant toutes ces années, nous avons passé de très bons moments lorsque tu venais en France et ou que je rentrais au Brésil, merci pour tout, je te suis sincèrement reconnaissant. Merci aussi à ma grande famille, cousins, cousines, oncles et tantes, vous tous qui me réserviez toujours un accueil chaleureux lorsque je rentrais. Mario, c'est en partie grâce à toi (ou à cause de toi !) si j'en suis là...c'est toi qui a changé mon destin pour atterrir en France, nous avons partagé de belles années ; apprendre la langue,

s'inscrire à l'Université, visiter le pays...je t'exprime ici ma profonde gratitude. Plus qu'un ami, tu es *mon frère*.

Mais il y a une autre famille que je voudrais remercier, la famille Fougère – Denuit, ma famille française de cœur, celle qui m'a accueillie comme un fils. Je n'oublierai pas toutes les belles choses que nous avons partagées.

## Table des matières

Liste des figures .....	6
Liste des tableaux .....	8
Liste des annexes.....	9
Liste des publications et communications scientifiques .....	11
I. INTRODUCTION GENERALE .....	16
II. CHAPITRE 1: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE .....	21
1. Lipides des aliments distribués aux ruminants .....	21
1.1. Fourrages verts et conservés.....	21
1.2. Les aliments concentrés.....	21
1.3. Apports alimentaires de lipides végétaux et animaux .....	25
2. Digestion de la ration .....	26
2.1. Digestion des glucides .....	26
2.2. Digestion des protéines.....	28
2.3. Digestion des lipides.....	30
3. Absorption des nutriments et métabolisme.....	39
3.1. Voie d'absorption des acides gras volatils .....	39
3.2. Voie d'absorption des acides gras issus des lipides alimentaires.....	41
3.3. Absorption des acides aminés.....	42
3.4. Digestion intestinale des glucides et absorption.....	42
4. Traitements technologiques des graines et huiles oléo-protéagineuses .....	43
5. Métabolisme lipidique dans la glande mammaire .....	46
5.1. La lipogenèse mammaire <i>de novo</i> .....	46
5.2. Le prélèvement plasmatique des acides gras .....	48
5.3. La désaturation et estérification des acides gras.....	48
5.4. La composition en acides gras du lait.....	49
6. Facteurs de variation des processus digestifs et métaboliques des lipides .....	50
6.1. Facteurs modifiant la digestion lipidique. ....	50
6.2. Facteurs influençant le métabolisme lipidique mammaire. ....	54
7. Classification des principaux modèles en nutrition animale.....	60
8. Description des modèles simulant la digestion et le métabolisme lipidique chez le ruminant .....	61
8.1. Modèles du métabolisme ruminal : lipolyse et biohydrogénation des acides gras polyinsaturés.....	62
8.1.1. Modèles empiriques .....	62
8.1.2. Modèles mécanistes.....	68
8.2. Modèles du métabolisme de la glande mammaire: synthèse <i>de novo</i> , désaturation et estérification .....	72
8.2.1. Modèles empiriques .....	72

8.2.2. Modèles mécanistes.....	73
III. CHAPITRE 2: OBJECTIFS DE LA THESE .....	78
IV. CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES .....	81
1. Caractérisation des aliments permettant d'estimer les paramètres digestifs.....	82
2. Codage des expérimentations et des traitements .....	84
2.1 Codage expérimentation .....	84
2.2 Codage traitement.....	84
V. CHAPITRE 4 : RESULTATS .....	87
PUBLICATION 1. MODELE RUMEN .....	88
PUBLICATION 2. MODELE GLANDE MAMMAIRE .....	152
VI. DISCUSSION .....	201
1. Stratégie expérimentale retenue .....	201
2. Comparaison des bases de données ayant permis de construire et de valider les modèles prédisant les AG duodénaux et les AG du lait (Base de données intra AGRum) (Tableaux 6 et 7) .....	203
3. Couplage des modèles et validation externe .....	208
VII. CONCLUSION.....	220
VIII. ANNEXES.....	229
IX. REFERENCES .....	239

## Liste des figures

**Figure 1.** Métabolisme des acides gras alimentaires et microbiens au niveau du rumen avec les principales voies de la biohydrogénation ruminale du C18:2 n-6 et C18:3 n-3 issus de la lipolyse, et la synthèse des acides gras impairs et ramifiés spécifiques des bactéries formées à partir des acides aminés issus de la protéolyse et des acides gras volatils issus des fermentations glucidiques.

**Figure 2.** Principales voies de la biohydrogénation ruminale (BHR) du C18:2 n-6 (Ferlay *et al.*, 2017). Les flèches pleines (—▶) représentent les voies majeures de la BHR ; les flèches pointillées (····▶) représentent les voies mineures.

**Figure 3.** Principales voies de la biohydrogénation ruminale (BHR) du C18:3 n-3 (Ferlay *et al.*, 2017). Les flèches pleines (—▶) représentent les voies majeures de la BHR ; les flèches pointillées (····▶) représentent les voies mineures.

**Figure 4.** Synthèse microbienne des principaux acides gras impairs (C15:0 et C17:0) et ramifiés (*iso* et *anteiso* du C15:0 et C17:0 et *iso* du C14:0 et C16:0) au niveau du rumen à partir des acides gras volatils issus des fermentations des glucides et des acides aminées (valine, leucine et isoleucine) provenant de la protéolyse (adapté de Vlaeminck *et al.*, 2006).

**Figure 5.** Métabolisme des acides gras dans la cellule épithéliale mammaire chez les ruminants: synthèse de novo, prélèvement plasmatique, l'estérification et la sécrétion dans le lait.

**Figure 6.** Etapes du couplage des modèles AG duodénaux et AG du lait (1) et validation du modèle entre les valeurs observées et les valeurs prédites par les deux modèles (2).

**Figure 7.** Plan principal de l'analyse en composantes principales (ACP) regroupant les variables de production et les valeurs des résidus des modèles de prédiction de certains acides gras du lait (sous-base Huile/MG).

**Figure 8.** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre: le  $\Delta$ C18:3 n-3 (exprimé en g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Huile/MG ;  $\Delta$ C18:3 n-3 (exprimé en %AG totaux) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Huile/MG.

**Figure 9.** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre le :  $\Delta$ C18:3 n-3 (exprimé g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Graine ;  $\Delta$ C18:3 n-3 (exprimé en %AG totaux) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Graine.

**Figure 10.** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre: le  $\Delta$ C18:2 n-6 (exprimé en g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Graine/Huile/MG ;  $\Delta$ t11-C18:1 (exprimé en g/j) et la PL (D) et la MG (E) pour la sous-base Graine/Huile/MG.

**Figure 11.** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre: le  $\Delta$ C18:0 + c9-C18:1 (exprimé en g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Huile/MG ;  $\Delta$ C18:0 + c9-C18:1 (exprimé en g/j) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Graine.

**Figure 12.** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre: le  $\Delta$ C4-C14 (exprimé en %AG totaux) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Huile/MG ;  $\Delta$ C4-C14 (exprimé en %AG totaux) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Graine.



## Liste des tableaux

**Tableau 1.** Teneur moyenne en acides gras totaux (g/kg de la matière sèche) et composition en acides gras (en % des acides gras totaux) dans les principaux fourrages en fonction leur famille botanique

**Tableau 2.** Teneur moyenne en matière grasse brute (g/kg de la matière sèche) et composition en acides gras (en % des acides gras totaux) dans les principaux suppléments lipidiques de l'alimentation des ruminants selon l'origine de la matière grasse (végétale ou animale)

**Tableau 3.** Flux des isomères à 18 atomes de carbone (C18) au niveau duodénal (g/kg matière sèche ingérée) selon l'apport et la nature de la supplémentation lipidique

**Tableau 4.** Description des différents modèles impliqués dans le métabolisme lipidique du rumen

**Tableau 5.** Description des différents modèles impliqués dans le métabolisme lipidique de la glande mammaire chez les ruminants

**Tableau 6.** Description des données utilisées pour la création des modèles (base de données AGRum) et de données permettant leur validation avec le niveau d'ingestion, le pourcentage de concentré, la matière sèche ingérée, et la composition chimique du régime et de la production du lait, de la matière grasse et des acides gras du lait

**Tableau 7.** Validation des modèles utilisant le MSPE et les coefficients de régression entre les acides gras du lait observés et prédits

## Liste des annexes

**Annexe 1.** Modèle Dijkstra *et al.*, 2000. Représentation schématique des pools des lipides et acides gras à longue chaîne libres du modèle rumen. Les boîtes indiquent les variables d'état et les flèches indiquent les flux.

**Annexe 2.** Modèle Ribeiro *et al.*, 2007. Représentation schématique du modèle biohydrogénation ruminale in vitro des acides gras de luzerne fraîche incubée pendant 12h avec une concentration de bicarbonate de sodium forte (A) et faible (B). Les boîtes représentent les pools d'acides gras et les flèches représentent les taux (% / h) de transfert entre pools pendant la biohydrogénation avec l'erreur standard entre parenthèses.

**Annexe 3.** Glasser *et al.*, 2007. Représentation schématique de la biohydrogénation ruminale des acides gras à C18 carbonés. Les boîtes représentent les pools d'acides gras et les flèches représentent les taux ( $k = \% / h$ ) de transfert entre pools.

**Annexe 4.** Harvatine et Allen, 2006. Représentation schématique simplifiée (panneau A) et complexe (panneau B) de la biohydrogénation ruminale des acides gras à C18 carbonés. Les boîtes représentent les pools d'acides gras et les flèches représentent les taux de transfert entre pools ( $k_{p1-5}, \% / h$ ).

**Annexe 5.** Modèle Hanigan et Baldwin, 1994. Représentation schématique du modèle du métabolisme biochimique dans la glande mammaire. Les pools sont identifiés par des codes à 2, 3 ou 4 lettres. Les flèches indiquent les flux, et les nombres associés aux flèches correspondent aux concentrations à l'état d'équilibre (mol/j). Les espaces cytosoliques et mitochondriaux sont délimités par des lignes doubles solides. L'espace extracellulaire est représenté par la zone à l'extérieur de l'espace cytosolique.

**Annexe 6.** Modèle Shorten *et al.*, 2004. Représentation schématique de la voie de biosynthèse des lipides dans les cellules épithéliales mammaires (A). Les boîtes représentent les pools des acides gras. Les flèches indiquent les flux, et les nombres sur les flèches indiquent les flux en mol/j. Les nombres dans les boîtes indiquent les concentrations en acides gras en mM pour la vache de référence. Schéma des différentes étapes de l'estérification des acides gras en triglycérides (B). Seulement les taux d'estérification du C16:0 sont indiqués.

**Annexe 7.** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) C18:3 n-3 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (B) C18:3 n-3 en g/jour de la sous-base Graine ; (C) C18:2 n-6 en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG ; (D) *trans*10-C18:1 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (E) *trans*10-

C18:1 en g/jour de la sous-base Graine ; (F) *trans11*-C18:1 en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG.

**Annexe 8.** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) *trans10,cis12*-CLA en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG ; (B) C18:0 + *cis9*-C18:1 en g/jour de la sous-base Graine ; (C) C18:0 + *cis9*-C18:1 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (D) *trans11*-C18:1 + *cis9,trans11*-CLA en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (E) C4-C14 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (F) C4-C14 en %AG totaux de la sous-base Huile/MG.

**Annexe 9.** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) C18:3 n-3 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (B) C18:3 n-3 en %AG totaux de la sous-base Huile/MG ; (C) *trans10*-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (D) *trans10*-C18:1 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (E) *trans11*-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Graine/Huile/MG ; (F) *trans10,cis12*-CLA en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG.

**Annexe 10.** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) C18:0 + *cis9*-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (B) C18:0 + *cis9*-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Huile/MG ; (C) *trans11*-C18:1 + *cis9,trans11*-CLA en %AG totaux de la sous-base Graine ; (D) C22:5 n-3 en %AG totaux de la sous-base Poisson; (E) C22:6 n-3 en %AG totaux de la sous-base Poisson.

## Liste des publications et communications scientifiques

### Publications

**L. A. Prado, A. Ferlay, P. Nozière and P. Schmidely 2018.** Predicting duodenal flows and absorption of fatty acids from dietary characteristics in ruminants: a meta-analysis approach. *Animal (acceptée)*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2018.** Milk saturated fatty acids, odd- and branched-chain fatty acids, isomers of C18:1, C18:2 and C18:3n-3 according to their duodenal flows in dairy cows: approach by meta-analysis. *Journal of Dairy Sciences (soumise)*

### Communications scientifiques

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2018.** Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation : rôle des flux de nutriments absorbés. Journée de doctorants et post-doctorants de l'unité mixte de recherche sur les herbivores (UMRH). 29 mars 2018. Clermont-Ferrand, France.

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2017.** Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation : rôle des flux de nutriments absorbés. Rencontre RumLip. 11 octobre 2017. Clermont-Ferrand, France. *Communication orale*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2017.** Quantification of ruminal biohydrogenation of dietary linolenic acid according to the lipid source: a meta-analysis approach. European Federation of Animal Science (EAAP), session 08, Young Train - Dairy innovation in research and extension. 68 th annual meeting. 28 August 2017. Tallinn, Estonia. *Communication orale*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2016.** Prediction of milk fat composition from diets: focus on the duodenal flows of fatty acids. Lipids in ruminants. 21 au 23 septembre 2016. Lokeren, Belgique. *Communication orale*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2016.** Prediction of milk fat yield and composition by modelling: effect of absorbed nutrient flows. Rencontre des doctorants de l'unité modélisation systémique appliquée aux ruminants (MoSAR). 01 juin 2016. Versailles-Grignon, France. *Communication orale*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2016.** Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation : rôle des flux de nutriments absorbés. Rencontre Syslait. 26 et 27 mai 2016. Haras du Pin, France. *Communication orale*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2016.** Prediction of milk fat yield and composition by modelling: effect of absorbed nutrient flows. Journée de doctorants Ecole ABIES. 15 avril 2016. Paris, France *Poster*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2016.** Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation : rôle des flux de nutriments absorbés. Journée de doctorants et post-doctorants de l'unité mixte de recherche sur les herbivores (UMRH). 25 mars 2016. Clermont-Ferrand, France. *Communication orale*

**L. A. Prado, P. Schmidely, P. Nozière, A. Ferlay 2016.** Prediction of milk fat yield and composition by modelling: effect of absorbed nutrient flows. 6<sup>th</sup> DSTI Global Meeting, Séminaire Neovia. 15 au 18 mars 2016. Carnac, France. *Communication orale*

## Abréviations

AA	acides aminés
ACC	acétyl-CoA carboxylase
AG	acides gras
AGI	acides gras insaturés
AGLC	acides gras à longue chaîne
AGNE	acides gras non-estérifiés
AGPI	acides gras polyinsaturés
AGRum	base de données appelée « Acides gras des ruminants »
AGS	acides gras saturés
AGT	acides gras totaux
AGV	acides gras volatils
ANP	azote non protéique
A/P	ratio acétate/propionate au niveau ruminal
ARNm	acide ribonucléique messenger
BDD	base de données
BHBA	$\beta$ -hydroxybutyrate
BHR	biohydrogénation ruminale
BPR	balance protéique ruminale
C2	acétate
C3	propionate
C4	butyrate
CEM	cellules épithéliales mammaires
CLA	acides linoléiques conjugués (conjugated linoleic acids)
DGAT	diacylglycérol acyltransférase
DHA	acide docosahexaénoïque

DPA	acide docosapentaénoïque
DTN	dégradabilité théorique d'azote ( <i>in sacco</i> )
EPA	acides écosapentaénoïque
FABP	fatty-acid-binding protein (protéine de liaison aux acides gras)
FAS	fatty acid synthase (acide gras synthase)
GPAT	glycérol-3 phosphate acyltransférase
INCA	étude individuelle nationale des consommations alimentaires
LPAT	Lysophosphatidylglycerol acyltransferase
LPL	lipoprotéine lipase
MAT	matière azotée totale
MFD	milk fat depression (syndrome de chute du taux butyreux)
MG	matière grasse
MO	matière organique
MOF	matière organique fermentescible
MS	matière sèche
NDF	neutral detergent fibre
NH3	ammoniac
PCO	pourcentage de concentré
PDIA	protéines digestibles dans l'intestin grêle d'origine alimentaire
PPO	polyphénol oxydase
PVIF	poids vif
RTM	ration totale mélangée
SCD	stearoyl-CoA desaturase ( $\Delta$ -9-desaturase)
TA	tissus adipeux
TG	triglycérides
VLDL	lipoprotéines de très basse densité (very low density lipoproteins)

# **INTRODUCTION GENERALE**



## I. INTRODUCTION GENERALE

La filière laitière est aujourd'hui confrontée à des enjeux multiples incluant des objectifs traditionnels (quantité de lait, efficacité alimentaire, qualité du lait) associés à de nouvelles questions (bien-être animal, impact environnemental des modes de production, durabilité des systèmes de production). Dans les pays occidentaux où les questions de santé humaine deviennent majeures compte tenu de la relation établie entre modes alimentaires, maladies liées au syndrome métabolique et cancers, les enjeux concernant les apports énergétiques et plus spécifiquement la composante lipidique de ces apports prennent une importance croissante du point de vue quantitatif (énergie totale apportée) et qualitatifs (profil des lipides). Dans ce cadre, le lait et les produits laitiers jouent un rôle fondamental dans l'alimentation humaine concernant ses apports en macronutriments (lipides, protéines, glucides) mais aussi en micronutriments (Burgess, 2014). Ils constituent ainsi des vecteurs importants d'énergie et d'acides gras (**AG**) à partir de la matière grasse (**MG**) laitière et les AG contribuent aux propriétés physiques, aux qualités technologiques et aux caractéristiques sensorielles qui font de ces produits une composante centrale de l'alimentation à côté de la viande (Anses, 2017, étude INCA3).

Du fait de l'accroissement des maladies humaines liées à l'alimentation et plus particulièrement à la consommation de lipides, un intérêt croissant est désormais porté sur la qualité nutritionnelle du lait, déterminée en particulier par le profil en AG de la MG laitière. Celle-ci a longtemps souffert d'une image défavorable, due à sa richesse en d'acides gras saturés (**AGS**), ceux-ci étant réputés avoir des effets négatifs sur la santé humaine, vis-à-vis par exemple des maladies cardiovasculaires ou du cancer (Chowdhury *et al.* 2014; Xia *et al.*, 2015). Par ailleurs, elle est généralement pauvre en acides gras polyinsaturés (**AGPI**), dont les AG n-3, qui présentent des effets

bénéfiques sur le système cardiovasculaire (Anses, 2011).

La MG est la composante la plus plastique du lait, d'un point de vue quantitatif ou qualitatif. Sa production et sa composition dépendent principalement de facteurs animaux (espèce, race, stade de lactation, parité et génotype, Palmquist *et al.*, 1993, Bobe *et al.* 2007, Bilal *et al.*, 2014) ou environnementaux, parmi lesquels l'alimentation constitue le levier le plus efficace et le plus rapide (Chilliard *et al.*, 2007). Le pourcentage de concentré et la supplémentation lipidique sont des facteurs techniquement maîtrisables dans les exploitations laitières. Ils sont couramment utilisés pour augmenter la densité énergétique des rations destinées à des vaches laitières en début de lactation et aux fortes productrices dont les besoins nutritionnels sont très élevés.

Cette plasticité du profil en AG de la MG laitière reflète le métabolisme lipidique des ruminants : c'est-à-dire d'une part les processus fermentaires ayant cours dans le système digestif de ces animaux (Lourenço *et al.*, 2010), et d'autre part les mécanismes de la lipogénèse mammaire (Bernard *et al.*, 2008). Au niveau ruminal, la biohydrogénation (**BHR**) des AGPI alimentaires est le principal obstacle à l'enrichissement des produits laitiers et de la viande en AGPI (Doreau *et al.*, 2011). La BHR des AGPI se déroule en plusieurs étapes, chacune d'elles produisant des AG intermédiaires caractéristiques. Une fraction de ces AG intermédiaires échappant à la BHR est absorbée par la muqueuse intestinale. Parmi ces intermédiaires, les acides linoléiques conjugués (ou conjugated linoleic acids, **CLA**) désignent un groupe d'isomères de configuration *cis* ou *trans* et de position de l'acide linoléique (*cis*9,*cis*12-C18:2 ou C18:2 n-6) qui sont retrouvés principalement dans les produits de ruminants qui ont retenu l'attention des nutritionnistes en raison des effets biologiques importants qui leur sont associés. Il est désormais bien établi que chez les ruminants, la BHR des AGPI alimentaires, les flux et le profil des AG absorbés et sécrétés dans le lait

sont largement influencés par les quantités et la nature des lipides de la ration, ainsi que par les conditions physico-chimiques du rumen qui résultent de la composition de la ration (rapports concentré/fourrage ou amidon/fibres) et enfin la mobilisation des réserves corporelles, dont les tissus adipeux (**TA**), peut influencer ces flux d'AG si la couverture des besoins énergétiques de l'animal n'est pas couverte.

Les AG de la MG des produits laitiers et leurs facteurs de variation d'origine alimentaires ont fait l'objet d'une abondante littérature depuis plus de 40 ans. Dans un grand nombre de cas, la compilation de ces données s'est effectuée au travers d'approche de méta-analyses visant à caractériser la relation entre les AG alimentaires et ces mêmes AG ou leurs métabolites dérivés dans le lait, ainsi que les facteurs de variation altérant cette relation (Glasser *et al.*, 2008a; Coppa *et al.*, 2013). Même si ces relations présentent des développements en pratique permettant de relier le profil en AG du lait et l'alimentation des ruminants (INRA 2018), elles présentent néanmoins certains inconvénients. En premier lieu, ces approches sont peu mécanistiques et ne permettent pas d'explicitier la part de pilotage du profil en AG du lait qui est attribuable aux variations respectives du métabolisme ruminal et du métabolisme mammaire du ruminant. En second lieu, ces approches ne sont pas cohérentes avec celles qui ont été récemment développées dans le cadre du renouvellement des systèmes d'unités d'alimentation INRA (2018). Ces approches qui sont basées sur les flux de nutriments absorbés n'ont que peu intégré les déterminants digestifs et mammaires concernant le métabolisme lipidique des ruminants.

Un premier objectif de ce travail de thèse sera donc d'améliorer par méta-analyse la quantification des flux d'AG duodénaux ou absorbés en fonction des caractéristiques des rations incluant la quantité et la nature des lipides ingérés, en interaction avec les autres macronutriments de la ration ou avec les caractéristiques du fonctionnement de l'écosystème ruminal. Cette approche a déjà été réalisée (Schmidely *et al.*, 2008;

Glasser *et al.*, 2008b), mais de nombreuses données supplémentaires concernant le métabolisme ruminal des lipides des animaux au pâturage, ainsi que l'apport de produits d'origine marine permettront d'affiner la prédiction des AG au niveau duodéal. Par ailleurs, grâce à l'amélioration des techniques d'analyse chromatographique, de nombreux isomères des AG au niveau duodéal et dans le lait préalablement non quantifiable pourront être prédits. Un second objectif sera de relier toujours par méta-analyse les flux d'AG duodénaux ou absorbés aux flux d'AG sécrétés par la glande mammaire chez les vaches laitières en cohérence avec l'approche développée par Glasser *et al.* (2008a). Enfin, la pertinence des relations obtenues entre les AG ingérés et leurs flux duodénaux d'une part, et celles obtenues entre les flux duodénaux des AG et leur sécrétion dans la MG du lait sera validée sur un ensemble de publications indépendantes, reliant les caractéristiques de l'alimentation, AG ingérés et profil des AG du lait.

# **CHAPITRE 1: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

## II. CHAPITRE 1: ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

### 1. Lipides des aliments distribués aux ruminants

#### 1.1. Fourrages verts et conservés

Les fourrages sont des aliments riches en fibres constituant la base de l'alimentation des ruminants. Ils sont représentés par différentes familles botaniques, principalement les graminées (ray-grass, fétuque des près, fléole des près, dactyle et maïs fourrage) et les légumineuses (luzerne, trèfle violet et trèfle blanc...). Ils sont distribués aux animaux selon différents modes de conservation et caractérisés par leur teneur en matière sèche (**MS**): fourrages verts (10 à 30% de MS), ensilages (15 à 40% de MS) et foins ou fourrages déshydratés (85 à 95% de MS).

Les fourrages sont pauvres en lipides (1 à 3 % d'acides gras totaux, **AGT**). Parmi eux les galactolipides et les phospholipides sont les lipides spécifiques des fourrages. Ces lipides présentent souvent une quantité importante d'AGPI, avec une forte teneur en acide linoléique (C18:3 n-3) aux alentours de 40% des AGT (Doreau *et al.*, 2005). Différents auteurs ont étudié l'effet de la famille botanique et le mode de conservation sur la variation du profil en AG des fourrages (**Tableau 1**). Bien que ces derniers aspects aient un impact sur la composition en AG, les principaux facteurs influençant cette composition sont liés aux conditions climatiques et de récolte ainsi qu'aux propriétés du fourrage tels que le stade végétatif et le génotype (Arvidsson, 2009 ; Glasser *et al.*, 2013).

#### 1.2. Les aliments concentrés

Les concentrés sont des aliments permettant d'améliorer les valeurs énergétique et /ou azotée de la ration pour couvrir les besoins d'entretien et de production des

**Tableau 1** Teneur moyenne en acides gras totaux (g/kg de la matière sèche) et composition en acides gras (en % des acides gras totaux) dans les principaux fourrages en fonction leur famille botanique

	<b>AG totaux</b>	<b>C16:0</b>	<b>C18:0</b>	<b>cis9- C18:1</b>	<b>C18:2 n-6</b>	<b>C18:3 n-3</b>
<b>Graminées</b>						
Ray-grass	22,6 ± 8,13	16,7 ± 3,81	1,73 ± 0,93	2,42 ± 0,84	12,3 ± 2,27	61,0 ± 7,32
Fétuque des près	21,9 ± 2,14	16,7 ± 3,40	2,95 ± 1,85	3,49 ± 0,96	13,4 ± 2,15	55,9 ± 2,60
Fléole	18,9 ± 2,99	18,8 ± 1,20	2,12 ± 0,21	5,79 ± 1,33	20,3 ± 2,42	49,9 ± 3,94
Dactyle	16,7 ± 3,94	20,7 ± 3,59	2,04 ± 0,41	2,79 ± 1,24	15,7 ± 1,48	51,8 ± 4,86
Ensilage de maïs	24,0 ± 3,24	15,9 ± 2,05	2,32 ± 0,68	21,4 ± 4,02	45,8 ± 7,89	5,04 ± 2,42
<b>Légumineuses</b>						
Luzerne	17,7 ± 2,88	23,2 ± 2,21	4,07 ± 0,69	4,68 ± 2,23	19,9 ± 2,39	41,7 ± 5,81
Trèfle violet	22,8 ± 8,23	18,0 ± 3,53	2,99 ± 1,00	3,90 ± 2,00	19,8 ± 2,52	49,0 ± 9,11
Trèfle blanc	30,9 ± 8,02	15,3 ± 2,35	2,02 ± 0,62	3,09 ± 1,17	16,5 ± 2,37	58,0 ± 5,51
<b>Mode de conservation</b>						
Herbe verte	20,1 ± 8,91	16,9 ± 4,50	2,14 ± 1,29	3,84 ± 1,76	15,8 ± 2,52	52,6 ± 9,03
Ensilage	17,8 ± 4,93	18,7 ± 3,35	2,12 ± 1,19	3,40 ± 1,23	16,6 ± 2,54	49,8 ± 7,79
Foin	12,9 ± 5,55	21,9 ± 4,56	2,39 ± 0,91	4,18 ± 1,43	17,5 ± 2,85	47,1 ± 7,99

Source : Adapté de Glasser *et al.* (2013)

ruminants suivant leur stade physiologique, principalement en période de croissance, de gestation et/ou de lactation. Les besoins énergétiques des ruminants sont couverts par les apports en glucides<sup>1</sup>, protéines et lipides de la ration. De plus, celle-ci apporte les vitamines et des minéraux ainsi que des AG essentiels.

Il existe une grande variété de concentrés pour compléter la ration de base. Les concentrés simples comportent des céréales, des graines oléagineuses, des graines protéagineuses et des tourteaux.

Les céréales sont caractérisées par leur richesse en amidon représentant de 44 à 72% de la MS (INRA, 2010). Leur teneur en matières azotées totales (**MAT**) varie entre 10 et 15% de la MS et les céréales comportent de 4 à 5% de lipides, principalement sous forme de triglycérides (**TG**). La composition en AG de ces TG est représentée surtout par les acides linoléique (C18:2 n-6) et oléique (*cis*9-C18:1). Parmi les céréales distribuées dans l'alimentation des ruminants, nous trouvons principalement du blé, du maïs, du triticale et de l'orge.

Les graines oléagineuses sont riches en lipides (20 à 45% de la MS). Les principales graines oléagineuses utilisées sont le soja, le colza et le tournesol. Ce sont des aliments avec des teneurs en MAT, respectivement, de l'ordre de 35%, 19% et 16% de la MS pour les graines et de l'ordre de 46%, 38% et 28% de la MS pour les tourteaux (INRA, 2007), par conséquent elles sont décrites comme des graines oléo-protéagineuses. La graine de lin, reconnue pour sa richesse en C18:3 n-3, est de plus en plus utilisée. Le **Tableau 2** présente le profil en AG des principales graines oléo-protéagineuses.

---

<sup>1</sup> 1 g de glucides, 1 g de protéines et 1 g de lipides apportent, respectivement 4, 4 et 9 calories d'Energie Brute.



**Tableau 2** Teneur moyenne en matière grasse brute (g/kg de la matière sèche) et composition en acides gras (en % des acides gras totaux) dans les principaux suppléments lipidiques (graines et huiles) de l'alimentation des ruminants selon l'origine de la matière grasse (végétale ou animale)

Origine	MG brute <sup>1</sup>	C16:0	C18:0	cis9-C18:1	C18:2 n-6	C18:3 n-3
<b>Végétale</b>						
Colza	422 ± 22,0	4,20	1,80	58,0	20,5	9,80
Lin	327 ± 32,0	6,40	3,40	18,7	14,7	54,2
Soja <sup>2</sup>	185 ± 14,0	10,5	3,80	21,7	53,1	7,40
Tournesol linoléique	446 ± 29,0	6,30	4,30	20,3	64,9	0,30
<b>Animale</b>						
Saindoux	1000	24,4	14,4	42,3	9,20	0,90
Suif	1000	25,3	19,2	37,5	2,80	0,60
Poisson (huile) <sup>3</sup>	1000	20,9	3,40	13,0	1,10	0,80
Poisson (farine 65) <sup>4</sup>	89,0 ± 14,0	17,8	3,60	12,3	2,10	1,90

Source : Adapté de INRA (2004)

<sup>1</sup>La teneur en AGT est de 95% de la MG brute.

<sup>2</sup>Teneur moyenne en AGT du soja extrudé (179 ± 14.0) et du soja toasté (192 ± 14.0). La composition en AG n'est pas altérée avec le traitement technologique

<sup>3</sup>Huile de poisson Menhaden. La teneur en C20:5 n-3, C22:5 n-3 et C22:6 n-3 est respectivement, de 12.2, 1.7 et 7.9 (% AGT) en moyenne.

<sup>4</sup>Farine de poisson avec 65% de protéines brutes. La teneur en acides gras totaux est de l'ordre de 75% de la MG brute. La teneur moyenne en C20:5 n-3, C22:5 n-3 et C22:6 n-3 est, respectivement, de 9.0, 2.6 et 6.6 (% AGT).

### 1.3. Apports alimentaires de lipides végétaux et animaux

L'utilisation des suppléments lipidiques dans l'alimentation des ruminants est pratiquée depuis longtemps pour augmenter la densité énergétique des rations et/ou améliorer la qualité lipidique des produits (viande et lait) au travers de la diminution des AG saturés (**AGS**) et de l'augmentation des AG polyinsaturés (**AGPI**), dont des AG de la série n-3 et les CLA et linoléiques conjugués (ou conjugated linolenic acids, **CLnA**) bénéfiques pour la santé humaine (Simopoulos, 2002; Field *et al.*, 2009 ; Ferlay *et al.*, 2017).

Le profil en AG des matières premières varie selon la nature du supplément lipidique. En effet, parmi les graines et huiles distribuées aux ruminants, le colza est riche en *cis*9-C18:1 (60% des AGT), le soja et tournesol en C18:2 n-6 (respectivement, 53% et 67% des AGT) et le lin en C18:3 n-3 (54% des AGT) ; par contre l'huile de palme se caractérise par sa teneur importante en C16:0 (46% des AGT) (Doreau *et al.*, 2012).

Les matières grasses animales sont représentées par le suif et le saindoux qui sont riches en AGS avec, respectivement, 48% et 40% des AGT (INRA, 2010). Une autre catégorie de lipides animaux est représentée par les huiles de poisson, riches en AG à longue chaîne (**AGLC**, avec un nombre de carbones supérieur ou égal à 20) dont les principaux sont les acides docosahexaénoïque (C22:6 n-3 ou **DHA**) et écosapentaénoïque (C20:5 n-3 ou **EPA**). La composition en AGLC des huiles de poisson est très variable et dépend fortement de l'espèce de poisson considérée et des variations géographiques et saisonnières, avec des plages de variation allant de 4 à 32% pour l'EPA, et de 2 à 25% pour le DHA (Chilliard *et al.*, 2001). D'autres produits d'origine marine tels que les (micro)-algues sont riches en DHA et EPA avec des teneurs très variables, de l'ordre de, respectivement, 2 à 204 g/kg MS et 2,5 à 28 g/kg MS (Madeira *et al.*, 2017).

## 2. Digestion de la ration

### 2.1. Digestion des glucides

Les glucides présents dans l'alimentation des ruminants sont les glucides cytoplasmiques (solubles) et les glucides pariétaux (insolubles dans une solution détergente neutre, neutral detergent fiber ou **NDF**). La digestion des glucides par le microbiote ruminal se fait en deux étapes successives : la dégradation ruminale par hydrolyse des polymères glucidiques complexes produisant des pentoses et hexoses, puis la fermentation en anaérobiose de ces sucres simples pour fournir l'ATP nécessaire à la synthèse microbienne. Les produits terminaux du métabolisme microbien sont les acides gras volatils (**AGV**), surtout l'acétate (**C2**), le propionate (**C3**) et le butyrate (**C4**) et dans une moindre mesure le valérate, le caproate et l'isobutyrate. La production des AGV au niveau ruminal est en moyenne de  $8.35 \pm 1.21$  mol AGV/kg de matière organique fermentescible (**MOF**) (Nozière *et al.*, 2011). Par ailleurs, environ 1 725 litres de gaz sont produits par jour, dont 25 à 30 % de méthane ( $34,1 \pm 9,2$  g/kg de matière organique digérée) et 65% de dioxyde de carbone : ils sont éliminés par éructation et durant la respiration (chapitre 3, INRA, 2018).

Les protozoaires ciliés (*isotrichidae*) jouent un rôle important dans la digestion des glucides, surtout celle des amidons car lors d'une forte ingestion de ces derniers, les protozoaires vont stocker des polysaccharides dans leur cytoplasme et les digérer lentement, permettant d'éviter une baisse drastique du pH ruminal et donc limitant le risque d'acidose. De plus, les protozoaires ingèrent également des bactéries (Popova *et al.*, 2011).

Les produits terminaux de la cellulolyse sont le résultat d'une succession de réactions impliquant différents types de bactéries : bactéries hydrolytiques dégradant les polymères pariétaux, bactéries fermentant les glucides solubles provenant des

aliments ou de la dégradation des polymères pariétaux du premier groupe, bactéries qui utilisent les acides organiques (Fonty *et al.*, 1995). Les bactéries cellulolytiques dominantes sont *Fibrobacter succinogenes* et *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens*. *Fibrobacter succinogenes*, en quantité la plus importante, hydrolyse les formes cristallines de la cellulose, les hémicelluloses et les xylanes et fermente le cellobiose et le glucose. *Butyrivibrio fibrisolvens* hydrolyse aussi les parois végétales. *Ruminococcus albus* et *Ruminococcus flavefaciens* hydrolysent surtout les formes amorphes de la cellulose et dégradent les hémicelluloses. *Prevotella ruminicola* utilise les amidons, les dextrans et le maltose. *Streptococcus bovis* et *Succinomonas amylolytica* sont associées à la dégradation des amidons (Fonty *et al.*, 1995).

Pour les glucides solubles, la dégradation est complète et rapide alors que les glucides pariétaux ne sont que partiellement dégradés (en moyenne, de l'ordre de 50%, mais cette valeur est très variable) et lentement dégradés (de 2% à 8%/heure selon la nature de lignification et les tailles des particules, d'après les mesures en sachets de nylon) (Nozière *et al.*, 2010). La digestion ruminale de l'amidon varie entre 50% et 90% et sa vitesse de dégradation dépend du rapport entre les 2 polymères (amylose et amylopectine) : les aliments riches en amylopectine présentent un amidon à dégradation forte et rapide (e.g. orge et blé) alors que les aliments riches en amylose présentent un amidon à dégradation moins complète et plus lente (e.g. maïs et sorgho) (Sauvant *et al.*, 1994). Ensuite, la fermentation des oses a lieu en milieu anaérobie transformant d'abord les oses en pyruvate puis en AGV, comportant principalement les C2, C3 et C4. Les rapports de cofacteur ATP/ADP (état énergétique) et NADH<sub>2</sub>/NAD (équilibre redox) sont des régulateurs des voies de fermentation. Avec un régime riche en fourrages, la production moyenne est, respectivement, de l'ordre de 66%, 19%, 11% et 4% molaires du total des AGV pour les C2, C3, C4 et les AGV

mineurs (isobutyrate, valérate, caproate...) (Sauvant *et al.*, 2011). Les proportions molaires de C2, C3 et C4 varient respectivement de 50 à 75%, de 15 à 35%, de 8 à 15% (Nozière *et al.*, 2011). Ces proportions, principalement pour les C2 et C3, varient selon le niveau d'ingestion, la composition du régime dont la nature des glucides (Nozière *et al.*, 2010 et 2011) et l'espèce animale (chapitre 3, INRA, 2018). Il existe une relation entre l'orientation du profil en AGV et le pH ruminal (chapitre 15, INRA, 2018). En effet, la production de C2 et C4 majoritairement assurée par les bactéries cellulolytiques fait augmenter la production de protons ( $H^+$ ) responsables d'une baisse du pH ruminal, tandis que le C3 est majoritairement produit par des bactéries amylolytiques consommatrices de protons  $H^+$ . Ainsi, une augmentation du pourcentage de concentré dans la ration (impliquant souvent une augmentation de la teneur en amidon de la ration) favorise l'activité des bactéries amylolytiques induisant une baisse du pH ruminal via la production de  $H^+$ . Cette modification acido-basique du milieu ruminal peut être la cause de différents problèmes physico-chimiques qui affectent la santé, le bien-être et les performances de production des ruminants (Martin *et al.*, 2006).

## 2.2. Digestion des protéines

Les matières azotées des aliments sont classées en azote protéique (protéines) et azote non protéique (**ANP**). Les protéines sont composées d'acides aminés (**AA**) alors que l'ANP est composé des AA libres mais aussi des amides, des amines, des nucléotides, des nitrates. D'autres formes d'ANP telles que l'urée et l'ammoniac (**NH<sub>3</sub>**) sont incorporées à la ration ou recyclées à l'intérieur de l'organisme.

Dans l'alimentation des ruminants, les principales sources d'azote sont les tourteaux et les graines oléo-protéagineuses pouvant représenter dans le cas du soja, une moyenne de 40% de la MS de l'aliment sous forme de graine et entre 49 et 54% MS

sous forme de tourteau (INRA, 2018). Pour les fourrages, la teneur en MAT est de l'ordre de  $15 \pm 5$  % (environ 80% sous forme de protéines et 20% sous forme d'ANP). Cette teneur varie selon la famille botanique et le stade végétatif du fourrage. En effet, les légumineuses sont plus riches en MAT que les graminées, et la MAT diminue avec un stade végétatif avancé (Jarrige *et al.*, 1995).

La digestion ruminale des protéines est caractérisée par deux étapes clés, la dégradation des protéines alimentaires et la synthèse microbienne de protéines. La dégradation des protéines alimentaires est composée de trois étapes : protéolyse, peptidolyse et désamination. La protéolyse des protéines solubles se fait par l'action des protéases bactériennes alors que la protéolyse des protéines insolubles se fait par l'action des protozoaires. La quantification de cette protéolyse est mesurée par la dégradabilité théorique (*in sacco*) d'azote (**DTN**) exprimée en %, prenant en compte les fractions de protéines solubles et insolubles dégradables et le taux de transit du liquide et des particules dans le rumen (Sauvant et Nozière, 2013a).

Cette étape est suivie de l'hydrolyse des peptides en AA qui sont ensuite désaminés libérant du NH<sub>3</sub>. Par conséquent, le NH<sub>3</sub> disponible et les AA qui ont échappé à une fermentation sont des substrats pour les bactéries afin de synthétiser les protéines microbiennes. Parallèlement, l'énergie issue principalement de la fermentation de la MO est un facteur souvent limitant pour la protéosynthèse microbienne. L'efficacité de cette protéosynthèse varie entre 120 et 220 (en moyenne 150) g de matières azotées microbiennes / kg de matière organique fermentescible (**MOF**). Elle varie de façon décroissante quand le niveau de MOF augmente, et à même niveau de MOF, de façon croissante avec la proportion de concentré dans la ration (pouvant varier de 10 à 40 g d'azote microbien / kg de MOF, Sauvante et Nozière, 2013b).

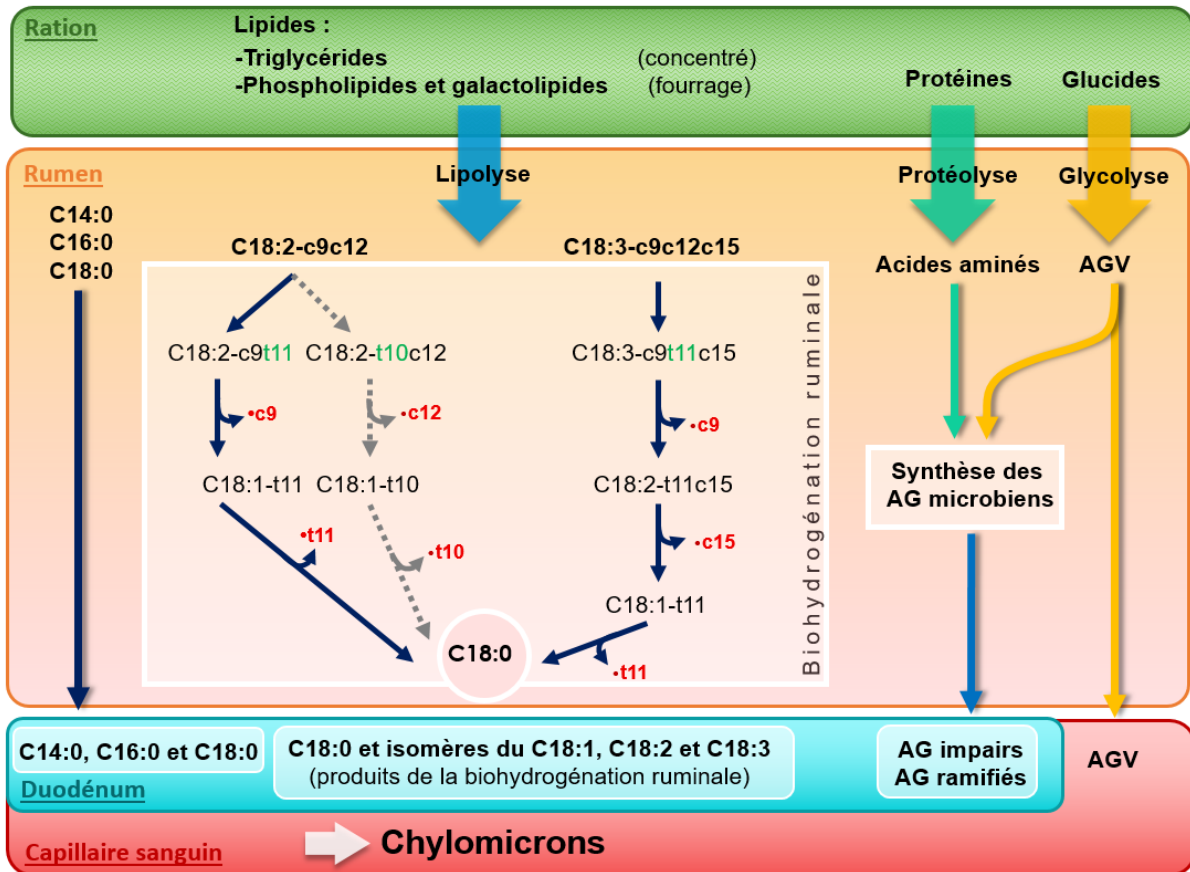
Finalement, le flux de matières azotées sortant du rumen contient des protéines

alimentaires non dégradées, des matières azotées (dont 80% environ de protéines) microbiennes, des matières azotées (dont 50% environ de protéines) endogènes et une faible quantité d' $\text{NH}_3$  (fraction ayant échappé par transit à la captation par les microbes ou à l'absorption par la paroi du rumen). Les enzymes présentes en milieu acide de la caillette vont initier la digestion des protéines microbiennes et des protéines alimentaires non digérées dans le rumen. Après cette digestion post-ruminale, les AA sont digérés et absorbés dans l'intestin grêle, avec une digestibilité réelle variable pour les AA alimentaires, et estimée à 80% pour les AA microbiens. En moyenne, 60% des AA absorbés dans l'intestin sont issus des bactéries et 40% sont issus des protéines alimentaires, mais la part des AA d'origine alimentaire augmente avec le niveau global des apports ; ils peuvent donc être majoritaires chez les animaux forts producteurs (Nozière *et al.*, non publié).

### 2.3. Digestion des lipides

La digestion ruminale des lipides alimentaires se fait en deux étapes, constituées de la lipolyse (hydrolyse) des lipides de la ration avec production principalement d'AG libres (non estérifiés) et d'une molécule de glycérol qui est rapidement fermentée en AGV (essentiellement le C3), suivie de la biohydrogénation ruminale (**BHR**) des AG insaturés (**AGI**). Néanmoins, une fraction non négligeable des AG sortant du rumen est constituée par des phospholipides (10% environ, de TG (5%), de diacyl-glycérides (3%), ou de mono-acylglycérides (1%) (Halmemies-Beauchet-Filleau *et al.*, 2013a).

**Lipolyse.** Les lipides des aliments concentrés (triglycérides) et ceux des fourrages (phospholipides et galactolipides) sont hydrolysés par des lipases bactériennes qui se différencient selon la classe des lipides (**Figure 1**). Ainsi, l'hydrolyse des TG se fait par des lipases produites par *Anaerovibrio lipolytica* alors que les phospholipides et les



**Figure 1** Métabolisme des acides gras alimentaires et microbiens au niveau du rumen avec les principales voies de la biohydrogénation ruminale du C18:2 n-6 et C18:3 n-3 issus de la lipolyse, et la synthèse des acides gras impairs et ramifiés spécifiques des bactéries formées à partir des acides aminés issus de la protéolyse et des acides gras volatils issus des fermentations glucidiques.



galactolipides sont hydrolysés par les lipases produites par des bactéries *Butyrivibrio* (Lourenço *et al.*, 2010). De plus, les fourrages possèdent également des lipases (phospholipases et galactolipases) qui contribuent à l'hydrolyse des lipides (Lee *et al.*, 2002). A la fin de cette première étape, les AG libres sont constitués d'AGS et d'AGI de configuration *cis/trans*.

**Biohydrogénation ruminale.** Les substrats de la BHR sont les AG libres et insaturés. En fait, l'insaturation joue un rôle sur la solubilité des AG, afin de réduire l'effet toxique des AGPI sur les bactéries. Certaines études ont attribué cette toxicité aux doubles liaisons des AGI qui modifient la structure de la molécule et ensuite celle de la membrane bactérienne provoquant une rupture de cette dernière (Cheng *et al.*, 1977; Keweloh et Heipieper, 1996; Maia *et al.*, 2016). Il est ainsi probable que la BHR constitue un processus de détoxification qui a lieu pour la survie des bactéries (Maia *et al.*, 2010). Afin de réduire la toxicité de ces AGI, les bactéries ont développé un mécanisme d'auto-défense, la BHR correspondant à une réduction du nombre de double liaisons des AGI.

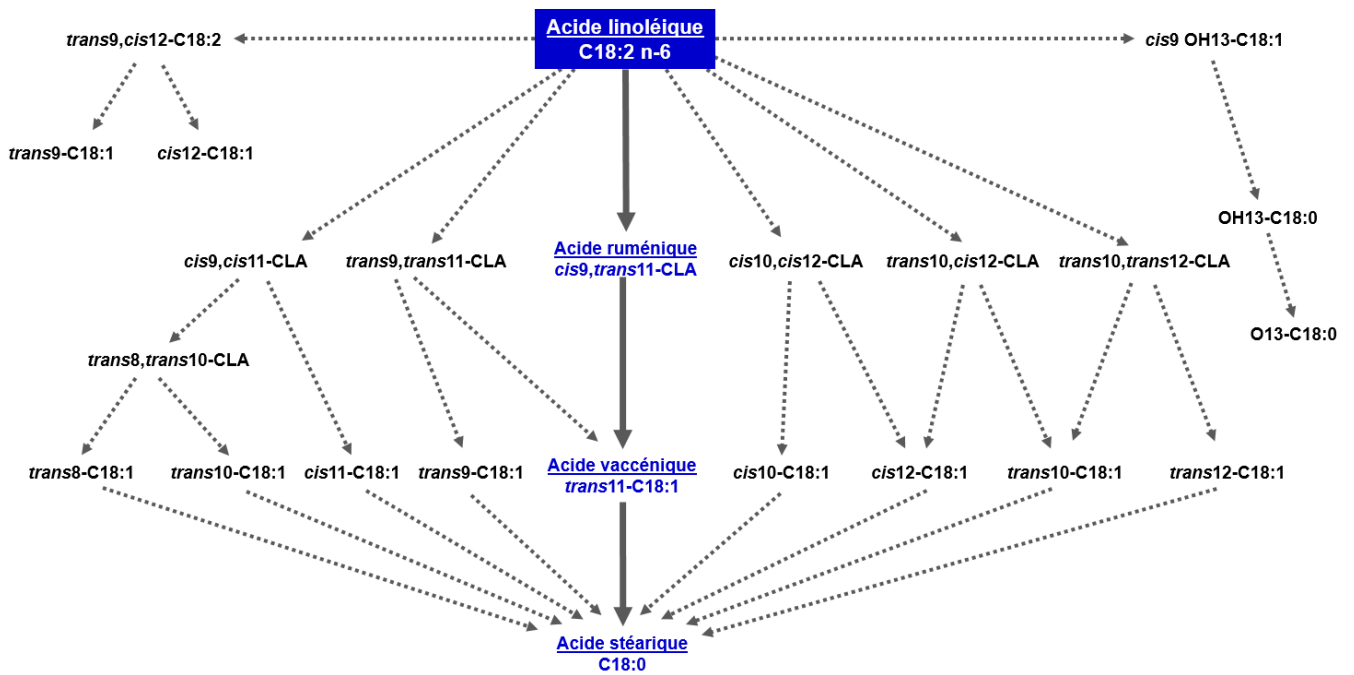
La BHR consiste en une succession à la fois de réactions d'isomérisation de position correspondant à des remaniements positionnels des doubles liaisons (isomères de position) et au changement de conformation des liaisons *cis* en *trans* par des isomérases (isomères géométriques), puis enfin à des réactions de saturation des doubles liaisons.

Concernant les bactéries impliquées dans la BHR, des études *in vitro* et *in vivo* ont démontré l'action spécifique de certaines bactéries suivant l'AG. Dans la revue de Lourenço *et al.* (2010), les bactéries impliquées dans la BHR sont classées selon leur taxonomie en précisant les bactéries sensibles aux effets toxiques des AGPI. En effet, les *Bacteroides hungatei* et *proteoclasticus* sont beaucoup plus sensibles aux effets

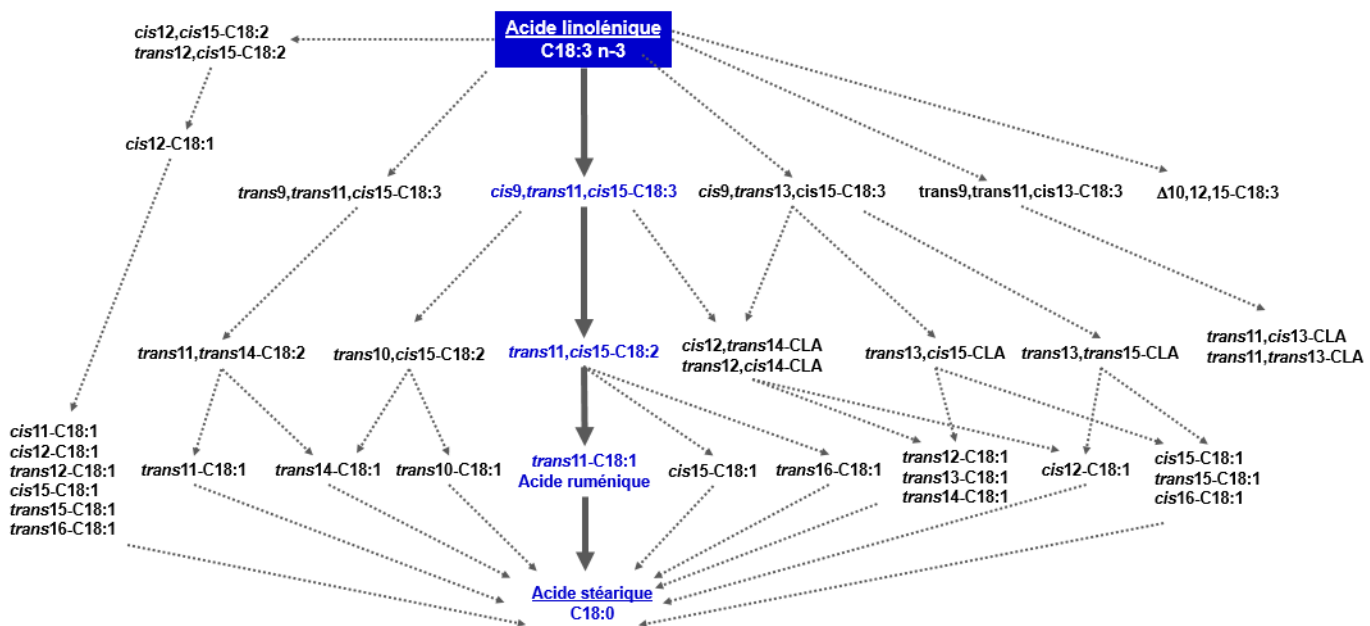
toxiques des AGI que les autres bactéries *Butyrivibrio* et *Pseudobutyrvibrio*. En plus des bactéries, les protozoaires sont impliqués dans la BHR, mais leur contribution est mineure due à leur activité de prédation vis-à-vis des bactéries (Singh et Hawke, 1979; Popova *et al.*, 2011). Les protozoaires sont source d'AGPI, notamment de *cis9,trans11*-CLA (acide ruménique) et d'acide vaccénique (*trans11*-C18:1) (Harfoot et Hazlewood, 1997; Devillard *et al.*, 2006). Kepler *et al.* (1966) et McKain *et al.* (2010) ont mis en évidence une action des *Butyrivibrio spp.* sur le C18:2 n-6 pour donner des CLA et l'acide vaccénique tandis que l'acide stéarique est formé par l'intermédiaire des *Fusocillus* (Van de Vossenberg et Joblin, 2003) et *Butyrivibrio proteoclasticus* (Wallace *et al.*, 2007; Moon *et al.*, 2008 ; Lourenço *et al.*, 2010). L'apparition du *trans10,cis12*-CLA est associée à une augmentation des *Megasphaera elsdenii* (Kim *et al.*, 2002) et *Propionibacterium acnes* (Devilleard et Wallace, 2006) alors que la saturation de cet AG en *trans10*-C18:1 est issue de l'action de *Butyrivibrio* (McKain *et al.*, 2010). Harfoot et Hazlewood (1997) ont classé ces bactéries en deux groupes, les bactéries du groupe A (*Butyrivibrio fibrisolvens*), responsables de l'isomérisation et de la saturation des C18:2 n-6 et C18:3 n-3 en acide vaccénique tandis que celles du groupe B (*Fusocillus*) vont saturer l'acide vaccénique en acide stéarique. Cependant, le rôle des bactéries du groupe B a été remis en question car, selon Maia *et al.* (2007), la dernière étape de la BHR est plutôt due à l'action de *Butyrivibrio hungatei* et *Butyrivibrio proteoclasticus*. Au niveau duodénal, le flux de protozoaires est faible car ils sont largement retenus dans le rumen, diminuant ainsi la disponibilité en *cis9,trans11*-CLA et en acide vaccénique pour l'absorption. En fait, 30% à 43% du *cis9,trans11*-CLA et 40% de l'acide vaccénique duodénal pourraient provenir des protozoaires (Yáñez-Ruiz *et al.*, 2006). Néanmoins, des variations de la lipolyse et de la BHR des AGPI ont pu être observées sans qu'il n'y ait de modifications significatives de certaines populations bactériennes ou des populations de protozoaires évoquées

ci-dessus (Halmemies-Beauchet-Filleau *et al.*, 2013a).

Historiquement, Harfoot et Hazlewood (1997) ont mis en évidence *in vitro* la voie principale de BHR du C18:2 n-6. Tout d'abord, il y a une isomérisation de cet AG en *cis*9,*trans*11-CLA, suivie d'une première hydrogénation transformant ce dernier en acide vaccénique, puis d'une deuxième hydrogénation de la liaison *trans* 11 pour former le C18:0, produit terminal de la BHR (Harfoot et Halewood, 1997). Diverses études *in vitro* et *in vivo* ont mis en évidence différents intermédiaires de la BHR du *cis*9-C18:1 (Loor *et al.*, 2002; Proell *et al.*, 2002; Mosley *et al.*, 2002 et 2006; AbuGhazaleh *et al.*, 2005; Jenkins *et al.*, 2006), du C18:2 n-6 (Harfoot, 1988; Hudson *et al.*, 1998; Wallace *et al.*, 2007; Shingfield *et al.*, 2008; Laverroux *et al.*, 2011) et du C18:3 n-3 (Harfoot, 1988; Destailat *et al.*, 2005; Wasowska *et al.*, 2006, Shingfield *et al.*, 2008; Laverroux *et al.*, 2011). Les mécanismes de BHR des C18:3 n-3 et C18:2 n-6 sont représentés dans les Figures 2 et 3. Le *trans*11-C18:1 est le principal AG intermédiaire de la BHR du C18:2 n-6 et du C18:3 n-3. Cependant, d'autres isomères peuvent être formés. Pour le *cis*9-C18:1, il peut subir de multiples isomérisations (y compris être isomérisé en *trans*11) avant d'être saturé en C18:0, mais aussi une hydratation pour former des acides hydroxystéariques qui peuvent ensuite être oxydés en acides kétostéariques (Jenkins *et al.*, 2006). En moyenne, la BHR apparente [(flux duodénal-flux ingéré) x 100/flux ingéré] est de 57 à 85% pour le *cis*9-C18:1 et, respectivement, de 85% et 93% pour les C18:2 n-6 et C18:3 n-3 (Glasser *et al.*, 2008b). De plus, différentes études *in vivo* ont également mis en évidence divers isomères produits au cours de la BHR et présents au niveau duodénal (Harfoot, 1988; Palmquist *et al.*, 2005; Jenkins *et al.*, 2008). Le **Tableau 3** présente les principaux isomères issus de la BHR des AG à 18 carbones présents dans la base de données AGRum (IDDN.FR.001.510032.000.R.C.2011.000.10300).



**Figure 2** Principales voies de la biohydrogénation ruminale (BHR) du C18:2 n-6 (Ferlay *et al.*, 2017). Les flèches pleines ( $\longrightarrow$ ) représentent les voies majeures de la BHR ; les flèches pointillées ( $\cdots\longrightarrow$ ) représentent les voies mineures.



**Figure 3** Principales voies de la biohydrogénation ruminale (BHR) du C18:3 n-3 (Ferlay *et al.*, 2017). Les flèches pleines ( $\longrightarrow$ ) représentent les voies majeures de la BHR ; les flèches pointillées ( $\cdots\longrightarrow$ ) représentent les voies mineures.

**Tableau 3** Flux des isomères à 18 atomes de carbone (C18) au niveau duodénal (g/kg matière sèche ingérée) selon l'apport de supplémentation lipidique

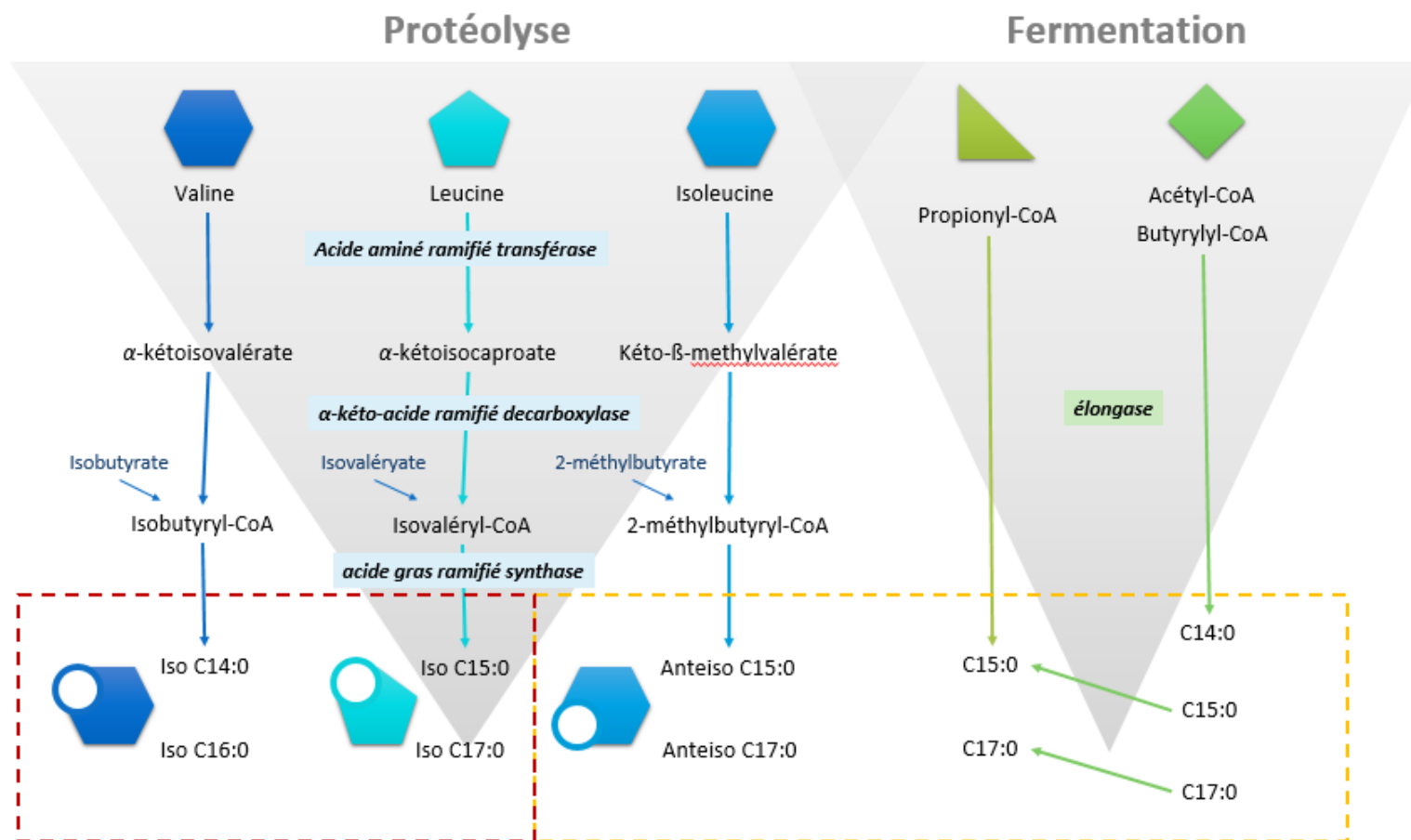
Isomères C18	Régimes sans supplémentation lipidique		Régimes avec supplémentation lipidique	
	Moyenne	Min <sup>1</sup> (max <sup>2</sup> )	Moyenne	min (max)
<i>cis9</i> -C18:1	1,09	0,18 (7,18)	4,76	0,62 (30,0)
<i>cis11</i> -C18:1	0,18	0,001 (0,62)	0,40	0,09 (1,03)
<i>cis12</i> -C18:1	0,08	0,02 (0,26)	0,30	0,05 (0,62)
<i>cis13</i> -C18:1	0,01	0,003 (0,04)	0,10	0,01 (0,47)
<i>cis15</i> -C18:1	0,10	0,01 (0,3)	0,30	0,05 (1,39)
<i>trans4</i> -C18:1	0,02	0,004 (0,04)	0,07	0,01 (0,20)
<i>trans5</i> -C18:1	0,02	0,003 (0,10)	0,05	0,006 (0,165)
<i>trans6+7+8</i> -C18:1	0,09	0,02 (0,37)	0,47	0,10 (1,20)
<i>trans9</i> -C18:1	0,07	0,01 (0,30)	0,29	0,06 (1,81)
<i>trans10</i> -C18:1	0,35	0,02 (6,97)	1,66	0,13 (6,15)
<i>trans11</i> -C18:1	1,33	0,20 (9,96)	2,98	0,58 (8,9)
<i>trans12</i> -C18:1	0,14	0,03 (0,43)	0,56	0,06 (1,18)
<i>trans13+14</i> -C18:1	0,32	0,07 (0,79)	1,66	0,22 (4,66)
<i>trans15</i> -C18:1	0,17	0,01 (0,68)	0,63	0,19 (1,68)
<i>trans16</i> -C18:1	0,17	0,04 (0,31)	0,55	0,10 (1,35)
<b>C18:2 n-6</b>	1,05	0,14 (3,89)	2,85	0,39 (32,0)
<b>C18:3 n-3</b>	0,55	0,02 (1,75)	0,72	0,04 (5,77)
<i>cis9,trans11</i> -CLA <sup>3</sup>	0,06	0 (0,32)	0,10	0 (0,78)
<i>cis11,trans13</i> -CLA	0,002	0 (0,009)	0,005	0,001 (0,01)
<i>trans9,trans11</i> -CLA	0,01	0,001 (0,03)	0,02	0,002 (0,11)
<i>trans10,cis12</i> -CLA	0,01	0 (0,11)	0,04	0 (0,42)
<i>trans11,trans13</i> -CLA	0,02	0,002 (0,20)	0,06	0,002 (0,16)
<b>C18:0</b>	13,6	1,45 (54,6)	27,3	2,89 (99,0)

<sup>1</sup>Min = minimum ; <sup>2</sup>Max = maximum ; <sup>3</sup>CLA = conjugated linoleic acid, acides gras linoléique conjugué.

Source : données issues de la base de données AGRUM.

Les AGLC contenant de 20 à 24 carbones apportés par des huiles de poisson et les algues sont eux aussi fortement hydrogénés dans le rumen. La BHR de l'EPA et du DHA, principaux AGLC présents dans ces produits marins, délivre de nombreux intermédiaires insaturés alors que la part d'AG à 20 ou 22 carbones provenant de la saturation totale est négligeable (Kairenius *et al.*, 2011; Toral *et al.*, 2012). La BHR de ces AG commence avec une saturation de la double liaison ( $\Delta 5$ ) pendant la première ou la seconde étape, respectivement, pour EPA et DHA. Cela se traduit par une accumulation de C20:3 n-3 et C20:2 n-3 (issus de l'EPA) et de C22:4 n-3 (issus du DHA) qui sont les principaux isomères issus de cette voie de BHR. En outre, plusieurs autres isomères ont été identifiés par Shingfield *et al.* (2010), Toral *et al.* (2010 ; 2012) et Kairenius *et al.* (2011). L'EPA et le DHA inhibent la saturation de l'acide vaccénique en acide stéarique, responsable d'une accumulation d'acide vaccénique dans le contenu ruminal (AbuGhazaleh et Jenkins, 2004 ; Chow *et al.*, 2004).

**Synthèse des acides gras microbiens.** Les AG des bactéries sont composés principalement d'AGS, notamment de C16:0 et de C18:0 représentant, respectivement, 24% et 34% des AGT avec un régime non supplémenté en lipides, et 14% et 37% des AGT pour un régime supplémenté en soja (Sauvant et Bas, 2001). Les bactéries contiennent des AGI, principalement du *cis*9-C18:1 avec des teneurs égales à 12% des AGT avec un régime non supplémenté et 25% des AGT pour un régime supplémenté en soja (Sauvant et Bas, 2001). De plus, les bactéries synthétisent des AG à chaîne ramifiée et des AG linéaires et impairs présents dans leurs membranes, synthèse effectuée à partir des AGV issus des fermentations et des AA (valine, leucine et isoleucine) issus de la protéolyse (Vlaeminck *et al.*, 2006) (**Figure 4**). Les AG linéaires et impairs sont formés par condensations répétées à partir des AGV et du malonyl-CoA. La condensation de l'isovalérate, 2-méthylbutyrate ou de l'isobutyrate



**Figure 4** Synthèse microbienne des principaux acides gras impairs (C15:0 et C17:0) et ramifiés (*iso* et *anteiso* du C15:0 et C17:0 et *iso* du C14:0 et C16:0) au niveau du rumen à partir des acides gras volatils issus des fermentations des glucides et des acides aminés (valine, leucine et isoleucine) provenant de la protéolyse (adapté de Vlaeminck *et al.*, 2006).

avec les AG linéaires et impairs donne des AG à chaîne ramifiée tels que les AG iso (C13:0, C14:0, C16:0, C15:0 et C17:0 iso) et anteiso (C13:0, C15:0 et C17:0 anteiso). Selon Vlaeminck *et al.* (2006), les bactéries amylolytiques sont plutôt productrices des AG ramifiés de type anteiso et d'AG à chaîne linéaire et impaire, tandis que les bactéries cellulolytiques sont productrices des AG ramifiés de type iso. Les teneurs des membranes microbiennes en AG ramifiés et en AG impairs sont de l'ordre de 8,7 et 4,4 % des AGT, respectivement (Bas *et al.*, 2003). Ainsi, les concentrations de ces AG dans le rumen varient selon la nature du régime. En particulier, les teneurs en AG ramifiés dans les membranes microbiennes augmentent avec des proportions croissantes de fourrage dans la ration (Bas *et al.*, 2003).

### **3. Absorption des nutriments et métabolisme**

#### **3.1. Voie d'absorption des acides gras volatils**

L'absorption des AGV se fait par différents mécanismes. La diffusion passive des AGV non ionisés à travers l'épithélium ruminal est l'hypothèse la plus courante. Cependant, l'absorption des AGV ionisés par l'intermédiaire des protéines a été identifiée comme une alternative possible à la diffusion passive (Morvay *et al.*, 2011). Les constantes de vitesse d'absorption (rumen → épithélium), exprimée en %/h, augmentent avec le nombre de carbones, en moyenne, respectivement, de 72, 91 et 97%/heure pour C2, C3 et C4, (Storm *et al.*, 2012), et elles augmentent également quand le pH diminue (Nozière *et al.*, 2010).

En conditions normales (absence d'acidose), l'absorption des AGV prélève environ 53% du total des ions hydrogène du rumen (Allen, 1997). Cette absorption est importante pour un fonctionnement optimal du rumen. En effet, le déséquilibre acido-basique ruminal engendré par un bilan excédentaire entre, d'une part, la production des AGV



et d'autre part, l'insuffisance de production de substances tampons salivaires (bicarbonates essentiellement) et l'absorption des AGV par la paroi ruminale provoquent des troubles métaboliques avec des effets négatifs sur la santé et la production des animaux (Martin *et al.*, 2006).

Le C2 est très peu métabolisé par l'épithélium ruminal au cours de son absorption. La forme ionisée (la plus importante des AGV) dans le sang porte est transportée par des transporteurs à monocarboxylate (Kirat *et al.*, 2007) à l'intérieur des cellules hépatiques, puis jusqu'aux mitochondries dans lesquelles l'AGV est estérifié en esters de CoA. Le C2 est principalement capté par les tissus adipeux, le muscle et la glande mammaire, où il est utilisé comme substrat énergétique et comme précurseur de la synthèse des AG (courts et moyens) (Bergman, 1990). Le C4 est fortement métabolisé (environ 75%) en  $\beta$ -hydroxybutyrate (**BHBA**) et en acétoacétate dans l'épithélium ruminal. Le C4 présent dans la veine porte ne représente que 25% du C4 absorbé, donc le foie ne métabolise que 20% du C4 ruminal. Dans le foie, le C4 est transformé en corps cétoniques dont le BHBA suivant les mêmes voies métaboliques que celles existant dans l'épithélium ruminal. Le BHBA peut servir de substrat énergétique, ou de précurseur à la synthèse d'AG à chaîne courte et moyenne dans la glande mammaire. Une partie mineure du C3 est métabolisée en lactate (2 à 5%), puis en CO<sub>2</sub> et AGV dans l'épithélium ruminal lors de l'absorption (Bergman *et al.*, 1990). La majeure partie du C3 absorbé (environ 90%) est captée au niveau hépatique et convertie principalement en glucose (néoglucogenèse), cependant une partie peut être oxydée (Rémésy *et al.*, 1986; Dijkstra *et al.*, 2005). La partie de C3 qui a échappé au métabolisme hépatique est métabolisée par d'autres tissus, principalement le TA et la glande mammaire (Marinez *et al.*, 1976).

### 3.2. Voie d'absorption des acides gras issus des lipides alimentaires

Environ 70 à 90% des lipides qui pénètrent dans l'intestin grêle sont sous forme non estérifiée, la quantité restante sous forme estérifiée est représentée par 50% de phospholipides et par 50% de glycolipides, et très minoritairement par des TG et des esters de cholestérol. 80 à 90% des AG sortant du rumen sont adsorbés à des particules solides telles que les fragments végétaux, fragments de microorganismes et cellules épithéliales ruminales (desquamation), le reste (10 à 20%) transite avec la phase liquide des contenus ruminiaux. La digestion dans l'intestin grêle consiste en un transfert des AG de la phase particulaire insoluble à une phase micellaire soluble permettant leur absorption par la muqueuse intestinale. La solubilisation micellaire des AG dépend du pH des contenus digestifs, elle est plus difficile dans les zones de l'intestin proche de la caillette et elle augmente au fur et à mesure que les contenus digestifs progressent dans l'intestin grêle avec l'augmentation du pH favorisant une meilleure solubilisation des AG. Le ruminant sécrète des sels biliaires et du suc pancréatique avec une activité lipasique. Parmi les sels biliaires, l'acide taurocholique ( $pK_a = 1,5$ ) permet aux AG de rester ionisés et solubles au niveau duodénal avec un pH bas. De plus, la bile produit également de la lécithine qui est hydrolysée par la phospholipase A-2 (enzyme pancréatique) en 1-acyl lysolecithine qui fonctionne comme agent émulsifiant afin d'incorporer les AG dans les micelles pour être absorbés dans le jéjunum. La majeure partie de l'absorption des AG se fait au niveau du jéjunum moyen et distal, l'absorption dans l'iléon est très limitée.

A partir des données issues des animaux canulés au niveau du duodénum ou de l'iléon, il est possible de quantifier l'absorption des AG entre le duodénum et l'iléon ou les fèces (duodénum – iléon ou duodénum – fèces). L'absorption intestinale augmente avec la longueur de la chaîne : le coefficient de digestibilité passe de 67% à 75% pour

les AG de 12 à 18 atomes de carbone (Schmidely *et al.*, 2008). Après absorption, les AG sont estérifiés en TG et phospholipides dans les entérocytes puis sécrétés (exocytose) dans le système lymphatique sous forme de chylomicrons avant d'atteindre la circulation sanguine (Demeyer et Doreau, 1999).

### **3.3. Absorption des acides aminés**

L'absorption des petits peptides (dipeptides et tripeptides) et des AA (produits de la dégradation des polypeptides) se fait par des transporteurs membranaires spécifiques et ces nutriments sont transportés par le sang.

### **3.4. Digestion intestinale des glucides et absorption**

Les glucides non digérés arrivant au niveau de la caillette puis des intestins sont surtout des glucides pariétaux (celluloses et hémicelluloses) et de l'amidon 'by pass'. En effet, les glucides issus de la digestion restent 2 à 3 heures au niveau de la caillette avant d'atteindre les intestins. Au niveau de l'intestin grêle, les glucides pariétaux ne sont que peu dégradés car la sécrétion des enzymes fibrolytiques est faible. Pour l'amidon, il y a une digestion enzymatique en glucose de l'ordre de 3g/kg du poids vif (**PVIF**) en moyenne (Nozière *et al.*, 2010). A ce niveau, seule le glucose est absorbé. Au niveau du gros intestin, les glucides pariétaux non digérés dans le rumen sont partiellement et lentement fermentés en AGV selon un processus identique à celui du rumen. De plus, il peut y avoir de l'amidon qui a échappé à la digestion dans l'intestin grêle et qui y est dégradé également en AGV (le pourcentage de C2 dans le total AGV est plus important que dans le rumen). L'absorption des AGV produits se fait par simple diffusion dans la muqueuse du gros intestin (Tisserand et Demarquilly, 1995).

#### 4. Traitements technologiques des graines et huiles oléo-protéagineuses

Les traitements technologiques (thermiques et hydro-thermiques) sont appliqués aux graines oléo-protéagineuses (application recherche) et aux tourteaux (application terrain) principalement dans l'objectif de protéger les protéines de la dégradation ruminale permettant ainsi d'augmenter la quantité des protéines digestibles dans l'intestin grêle issues des protéines alimentaires (**PDIA**). Pour les suppléments lipidiques sous forme d'huile, ils vont subir plutôt des traitements chimiques (saponification, traitement par des amides ou le formaldéhyde, etc) destinés à réduire la BHR.

Le besoin de protéger les lipides alimentaires contre la BHR est lié à une demande de la part des consommateurs d'augmenter dans les produits de ruminants la teneur en AGI bénéfiques pour la santé humaine. Cette protection est plutôt appliquée sur les produits sous forme d'huiles végétales. Les principaux modes de protection contre la BHR impliquent l'encapsulation d'AGI résistante aux dégradations par les microbes (e.g. traitement des lipides au formaldéhyde ou lipides encapsulés dans une matrice protéique) ou une modification de la structure chimique des AG (e.g. les savons de calcium ou les amides) pour résister à l'action des enzymes microbiennes. Les principaux AG qui font l'objet de cette protection sont l'acide oléique et les AG essentiels, notamment le C18:2 n-6 et C18:3 n-3.

**Lipides traités par le formaldéhyde.** L'effet du traitement par le formaldéhyde appliqué aux huiles distribuées aux bovins et aux ovins a été évalué par différents auteurs (Faichney *et al.*, 1972 et 1977; Cook *et al.*, 1972; Børsting *et al.*, 1992; Ashes *et al.*, 1992; Tymchuk *et al.*, 1998; Zinn *et al.*, 2000; Delbecchi *et al.*, 2001; Kitessa *et al.*, 2001; Chikunya *et al.*, 2004). De plus, Sinclair *et al.* (2005) ont observé une

diminution significative de 7 pourcents de la BHR du C18:2 n-6 (90.7% vs 83.7%) ainsi qu'une réduction de même ampleur mais non significative pour le C18:3 n-3 lorsque les ovins étaient supplémentés en graine de lin traitée par un mélange acide formique/formaldéhyde par rapport à de l'huile de lin non traitée. Tymchuk *et al.* (1998) et Delbecchi *et al.* (2001) ont évalué l'effet de graines de colza traitées au formaldéhyde sur la concentration de *cis*9-C18:1 du lait. La teneur du *cis*9-C18:1 a augmenté de 22% dans le lait pour les graines traitées par rapport aux régimes témoins (sans graines de colza), alors que ces teneurs pour les régimes supplémentés en graines de colza non protégées ont augmenté, respectivement, de 11,4% et 17% pour Tymchuk *et al.* (1998) et Delbecchi *et al.* (2001). Cependant, l'addition de graines de lin ou de tournesol traitées au formaldéhyde dans la ration de vaches laitières n'a pas modifié les concentrations du C18:2 n-6 ou du C18:3 n-3 dans le lait, comparativement à des graines non protégées (Petit *et al.*, 2003).

De plus, Myers *et al.* (2005) ont mené une étude sur la protection par encapsulation au formaldéhyde du *trans*10,*cis*12-CLA apporté oralement, en le comparant avec un traitement dont le *trans*10,*cis*12-CLA était sous forme libre. Le lot recevant le traitement *trans*10,*cis*12-CLA encapsulé a présenté une baisse de la teneur en matière grasse (**MG**) du lait par rapport au lot recevant le *trans*10,*cis*12-CLA libre (le TB passe de 3,55 à 2,71%). Cette baisse de la MG laitière pourrait être expliquée par l'effet inhibiteur du *trans*10,*cis*12-CLA sur la synthèse *de novo* au niveau de la glande mammaire (Chilliard *et al.*, 2007), et ceci montre qu'une partie du *trans*10,*cis*12-CLA encapsulé n'a pas été hydrogené au niveau ruminal et donc était protégé contre la BHR.

**Savons de calcium.** Ce traitement est basé sur l'association d'AG à un ion calcium au lieu d'un glycérol. La BHR des AGI en cas d'apport de savons de calcium dans la

ration a été largement étudiée (revue de Jenkins et Bridges, 2007), mais les données sont contradictoires. Klusmeyer et Clarck (1991) ont observé une protection des AGI à 18 carbones contre la BHR avec une diminution de 11% de la BHR lorsque le régime à base de tourteau de soja est supplémenté en savons de calcium (respectivement, 70% vs 59% pour les régimes témoin et supplémenté). Les AGPI associés aux savons de calcium sont moins disponibles dans le rumen et sont donc moins sensibles à la biohydrogénation. La protection contre la BHR des savons de calcium d'AG varie considérablement selon le type de régimes. En effet, diverses sources lipidiques ont des effets différents sur la digestibilité totale et le fonctionnement du rumen. Ainsi, Fotouhi et Jenkins (1992) n'ont pas montré d'augmentation du flux duodéal des AGPI chez des vaches recevant des huiles de soja et/ou de lin protégées sous forme de savons de calcium en comparaison des régimes témoins. Ces auteurs font l'hypothèse que cette protection n'est possible que si la teneur en AGI est faible. Cette hypothèse a été renforcée par Enjalbert *et al.* (1997) qui ont démontré chez les vaches une BHR du C18:2 n-6 légèrement plus faible pour les savons de calcium d'huile de palme (86%) par rapport à des savons d'huile de colza (89%) qui contiennent plus d'AGPI.

**Amides.** Comme pour les savons de calcium, la protection par des amides se fait par la fixation d'une liaison amide sur l'AGI modifiant ainsi la structure de ce dernier afin de le protéger contre l'action des enzymes microbiennes. Jenkins *et al.* (1996) ont démontré que l'ingestion d'huile de soja sous forme d'amides augmente la concentration du C18:2 n-6 dans le lait par rapport à un régime avec l'huile de soja non protégée. L'étude de Lundy *et al.* (2004) comparant des régimes supplémentés en huile de soja associés aux savons de calcium ou à l'amide a démontré que l'amide est plus efficace pour la protection de l'acide oléique avec une BHR de, respectivement, 61,4 et 77,9%. Jenkins et Adams (2002) ont évalué l'effet de la protection sous forme

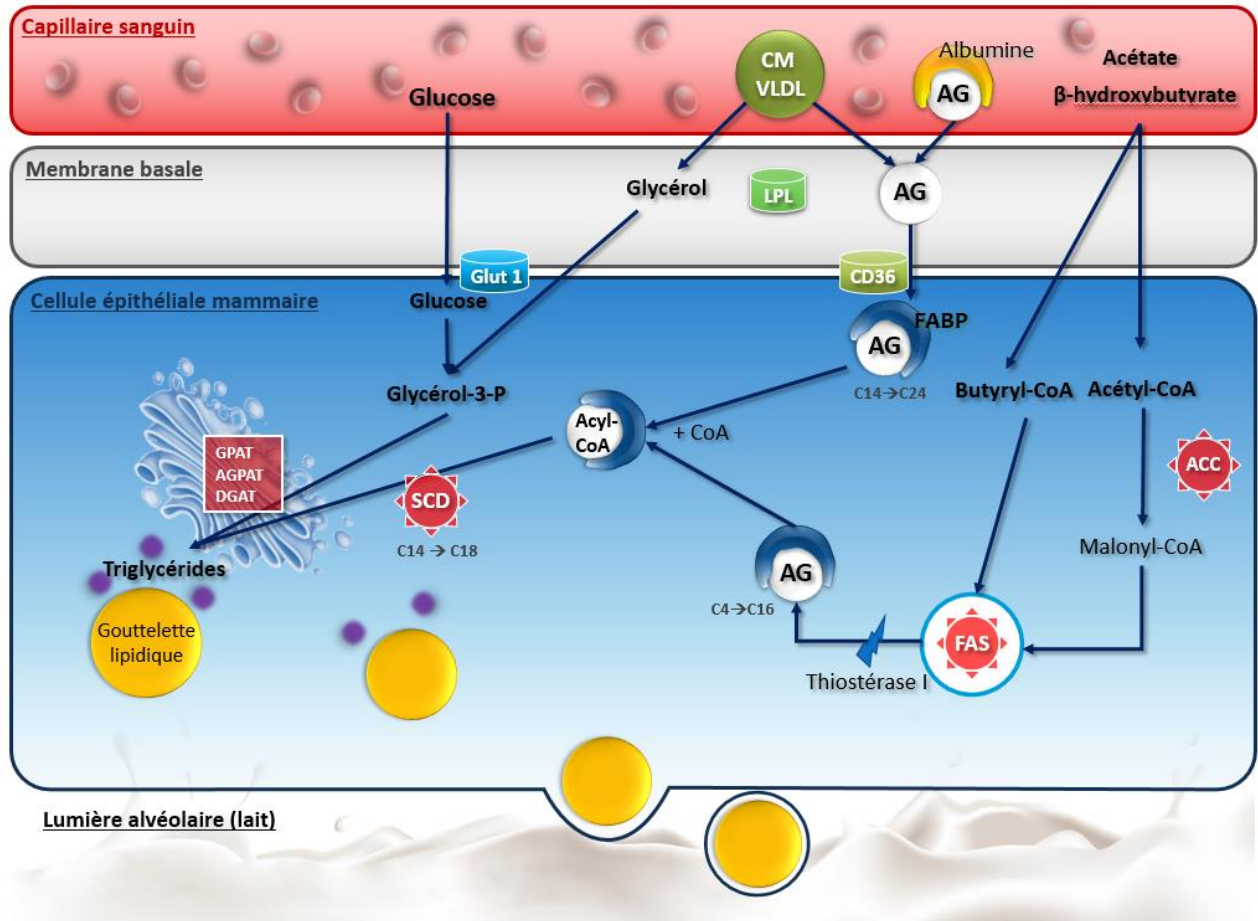
d'amide vis-à-vis de la BHR avec deux études : une étude *in vitro* comparant la disparition du C18:2 n-6 sous forme libre et protégée en linoléamide et, une étude *in vivo* menée sur des moutons recevant des régimes contrôle (sans supplémentation lipidique) ou supplémentés en C18:2 n-6 sous forme libre et en linoléamide. Dans l'étude *in vitro*, le traitement linoléamide a induit une concentration plus élevée du *cis*9-C18:1 au détriment des AG C18:1 *trans* et du C18:0 dans le milieu après 48 heures d'incubation. Dans l'étude *in vivo*, le régime avec linoléamide a provoqué une concentration duodénale du C18:2 n-6 plus élevée que les autres traitements traduisant ainsi une BHR du C18:2 n-6 plus faible.

## 5. Métabolisme lipidique dans la glande mammaire

Les AG du lait proviennent à la fois d'une synthèse *de novo* dans la glande mammaire (40% des AG secrétés dans le lait sur une base molaire) et du prélèvement direct des AG plasmatiques (60%) (**Figure 5**).

### 5.1. La lipogenèse mammaire *de novo*

La synthèse *de novo* des AG a lieu à partir du BHBA et du C2 provenant des fermentations ruminales, et dont la forme active dans les cellules épithéliales mammaires (**CEM**) est, respectivement, le butyryl-CoA et l'acétyl-CoA. Dans une première étape, ces deux substrats sont pris en charge par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (**ACC**), responsable de l'activation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA. Cette étape est différente entre les espèces vaches et chèvres au niveau de l'élongation caractérisant ainsi le lait de vache plus riche en C4:0 et parfois en C16:0, tandis que le lait de chèvre est plus riche en C8:0 et C10:0 (Chilliard *et al.*, 2003). Ensuite, ces AG subissent de multiples réactions de condensation par l'acide gras synthase (**FAS**)



**Figure 5** Métabolisme des acides gras dans la cellule épithéliale mammaire chez les ruminants: synthèse de novo, prélèvement plasmatique, estérification et sécrétion dans le lait.

*ACC, acetyl-CoA carboxylase; AGPAT, 1-acylglycérol 3-phosphate acyltransférase; CD36, groupe de différenciation 36; CoA, coenzyme A; CM, chylomicron; DGAT, diacylglycérol acyltransférase 1; FA, acide gras; FABP, protéine de liaison aux acides gras; FAS, acide gras synthase; Glut 1, transporteur de glucose 1; GPAT, glycérol-3 phosphate acyltransférase; LPL, lipoprotéine lipase; MFG, globule gras du lait; SCD, stearoyl-CoA désaturase; TAG, triglycéride; VLDL, lipoprotéine de très basse densité.*



qui sont interrompues par l'enzyme thioestérase I formant ainsi des AGS à chaîne courte et moyenne. Ainsi, la synthèse *de novo* produit la totalité des AG du C6:0 au C12:0, 95% du C14:0 et 50% du C16:0 de la MG du lait (Bernard *et al.*, 2008). L'activité de ces enzymes responsables de la synthèse *de novo* est régulée par des AG longs et *trans* (voir section 5.2).

## 5.2. Le prélèvement plasmatique des acides gras

Le prélèvement des AG non-estérifiés (**AGNE**) plasmatiques se fait par l'action de la lipoprotéine lipase (**LPL**) sur les TG présents dans les chylomicrons intestinaux et/ou les 'very low density lipoproteins' (VLDL) d'origine hépatique (Bernard *et al.*, 2008). Les AGNE prélevés proviennent aussi de la mobilisation des réserves corporelles (en début de lactation).

Parmi les AG du lait, 50% du C16:0 et la totalité des AG avec un nombre de carbones supérieur et égal à 18 sont issus du prélèvement plasmatique. Le *trans*10,*cis*12-CLA a également un effet sur le prélèvement plasmatique, plus précisément sur les ARNm qui codent la LPL, enzyme impliqué dans le prélèvement plasmatique des AG longs ( $\geq$  à 16C) (Bauman et Griinari, 2003 ; Shingfield et Griinari, 2007).

## 5.3. La désaturation et estérification des acides gras

Une partie des AG à chaîne moyenne (C12:0, C14:0, C16:0) ou à chaîne longue (C18:0, *trans*11-C18:1, C20:0 à C24:0) est désaturée en position  $\Delta$ 9 par la  $\Delta$ 9-désaturase mammaire, dont l'activité varie en fonction de la longueur de l'AG considéré et de l'isomère considéré (Shingfield *et al.*, 2010). Le principal substrat de la  $\Delta$ 9-désaturase est le C18:0 puisque 49 à 60% de cet AG sont désaturés en *cis*9-C18:1, représentant ainsi au maximum 60% du *cis*9-C18:1 sécrété dans le lait. De plus,

90% du *cis9*-C14:1, entre 50 et 56% du *cis9*-C16:1 et plus de 60% du *cis9,trans11*-CLA du lait proviennent, respectivement, de la désaturation du C14:0, C16:0 et *trans11*-C18:1 par la  $\Delta 9$ -désaturase (Ferlay *et al.*, 2017). Les AGPI et principalement les AG avec un nombre de carbones supérieur à 20 et le *trans10,cis12*-CLA ont un effet inhibiteur sur l'activité de la  $\Delta 9$ -désaturase et l'expression de son gène SCD1 dans les CEM (Bernard *et al.* 2008).

Au niveau du réticulum endoplasmique des cellules sécrétrices mammaires, les AG libres sont estérifiés sur une molécule de glycérol-3-phosphate provenant directement du plasma ou synthétisée dans la glande mammaire à partir du glucose. Cette étape est assurée par trois enzymes acyl-transférases spécifiques, en ajoutant successivement un AG sur une des 3 positions du glycérol-3-phosphate pour obtenir un TG. Il est à noter que les AG ne sont pas positionnés de façon aléatoire sur les trois liaisons esters du glycérol. La majorité du C4:0 et C6:0 est estérifiée en position sn-3 du glycérol et le C10:0, C12:0 et C14:0 sont tous en position sn-2 alors que le C16:0, C18:0 et *cis9*-C18:1 sont répartis en position sn-1 et sn-2 (Jensen, 2002). Ensuite les TG sont transférés dans des gouttelettes lipidiques avant d'être sécrétés dans le lait par exocytose (**Figure 5**).

#### 5.4. La composition en acides gras du lait

La composition du lait en AG dépendra de l'ensemble de ces phénomènes : prélèvement plasmatique, synthèse *de novo*, désaturation et estérification. Ces différents processus du métabolisme des lipides chez les ruminants sont responsables de la sécrétion de plus de 400 AG dans le lait reflétant ainsi la complexité de ce métabolisme.

La MG du lait est composée en moyenne de 98% de TG. Parmi les AG présents dans

la MG laitière, les AGS pairs représentent la majorité, avec 67% des AGT (47,2% - 77,9%). Les AG C14:0, C16:0 et C18:0 représentent, respectivement, 12, 32 et 10% des AGT associés à 29% (18,7% - 48,6%) d'AG monoinsaturés, avec 19% de *cis9*-C18:1; et 3% (1,7 - 4,9%) d'AGPI, avec notamment 1,3% de C18:2 n-6 et 0,5% de C18:3 n-3. De plus, les AG *trans* représentent 4% des AGT, avec 1,5% de *trans11*-C18:1 et 0,5% de *cis9,trans11*-CLA. Les AG impairs et ramifiés composent 5% des AGT (Jensen, 2002; Ferlay *et al.*, 2008; Shingfield *et al.*, 2008).

Du fait de sa richesse en AGS et AG *trans*, le lait de ruminant a été souvent la cible de critiques. En effet, la consommation journalière des produits laitiers dans les pays occidentaux apporte une quantité d'AGS qui s'établit au dessus des recommandations nutritionnelles établies pour l'Homme (Anses, 2017, étude INCA3). Toutefois, les connaissances sur les effets des AG alimentaires sur la santé humaine ont évolué et le caractère néfaste de ces AG, en particulier sur les maladies cardio-vasculaires a été pondéré et reste jusqu'à aujourd'hui très discuté (Hobbs *et al.*, 2016). Néanmoins, quantifier et moduler la production et la qualité de la MG du lait est devenu un objectif essentiel durant ces 20 dernières années.

## **6. Facteurs de variation des processus digestifs et métaboliques des lipides**

### **6.1. Facteurs modifiant la digestion lipidique.**

#### **Fourrages**

Les effets des caractéristiques des fourrages sur la digestion des lipides alimentaires ont été quantifiés, tels que la nature du fourrage, leur mode de conservation, leur maturité ou la taille des particules. Les effets des principaux facteurs considérés ici seront la nature et le mode de conservation.

**Nature du fourrage.** Les effets du trèfle violet (légumineuse) sur la BHR sont liés aux

différences d'activités enzymatiques végétales (Dewhurst *et al.*, 2003). En effet, le trèfle violet a une activité lipolytique plus faible que les graminées (Lee *et al.*, 2003) en raison de l'effet de l'enzyme polyphénol oxydase (**PPO**, Lee *et al.*, 2004). La PPO, présente un possible effet protecteur contre la BHR en inhibant l'activité des lipases végétales par la formation de complexes protéines-phénol-lipides (Lee *et al.*, 2007; Van Ranst *et al.*, 2009), augmentant ainsi le C18:3 n-3 au niveau duodénal (Chilliard *et al.*, 2007).

Des études ont néanmoins montré la présence de PPO dans certaines graminées telles que le dactyle, le ray-grass, le brome, la fétuque des prés et la fléole des prés (Marita *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2006). La biodiversité des pâturages des montagnes, notamment des Alpes, se retrouve principalement dans les légumineuses riches en constituants secondaires (PPO, tanins, saponines, proanthocyanidines et catécholamines) qui ont présenté également un effet inhibiteur contre les lipases (Lafontan *et al.*, 2002; Moreno *et al.*, 2003; Shi *et al.*, 2004).

**Mode de conservation.** Doreau *et al.* (2005) ont démontré un effet du mode de conservation du fourrage (dactyle) sur la BHR du C18:3 n-3 et C18:2 n-6 chez le mouton. En effet, la BHR de ces AG a été plus importante avec du dactyle apporté sous forme de fourrage frais ou d'ensilage que sous forme de foin. De plus, avec des régimes à base de trèfle violet, la BHR du C18:3 n-3 a été plus forte pour le fourrage vert (97%) et l'ensilage (95%) que pour l'enrubannage (91%). Par ailleurs, la BHR du C18:2 n-6 a été plus élevée pour l'ensilage (90%) que pour le fourrage vert (88%) et l'enrubannage (88%). Boufaied *et al.* (2003) suggèrent que ces différences sont soit liées à une diminution de la teneur des lipides et/ou des variations de la composition en AG par le fanage, soit liées principalement au processus de séchage qui a probablement éliminé les AG les plus accessibles aux enzymes microbiennes provoquant ainsi une diminution de la BHR. Ainsi, le fourrage vert est plus riche en AG

et en C18:3 n-3 que l'ensilage, l'enrubannage et le foin.

### **Effet du pourcentage de concentré dans la ration**

Un autre facteur de variation connu pour modifier la BHR est la proportion respective de fourrages et de concentrés dans le régime. L'augmentation du pourcentage de concentré (**PCO**) de 40 à 75% de la MS au sein de rations à base d'ensilage de maïs et d'ensilage de luzerne a augmenté le flux d'intermédiaires *trans*-C18:1 du rumen (Kalscheur *et al.*, 1997). De plus, Piperova *et al.* (2002) et Looor *et al.* (2004) ont rapporté que le flux duodénal des différents intermédiaires issus de la BHR variait selon le PCO. Les flux duodénaux des intermédiaires *trans*-C18:1 (*trans*6 au *trans*15, à l'exception du *trans*11) et du C18:2 n-6 ont significativement augmenté lorsque PCO augmente, avec un effet plus atténué pour le *trans*10. Dans l'étude de Looor *et al.* (2004) menée sur des vaches laitières, le changement du PCO de 35 à 65% dans le régime a augmenté significativement le flux du *trans*10-C18:1 au niveau duodénal de 1.46 à 20.2 g/j.

L'effet du PCO sur la BHR est lié au nombre et à l'activité des populations microbiennes. Différents travaux ont étudié l'effet du PCO sur les bactéries du rumen (Latham *et al.*, 1971; Oshio *et al.*, 1987; Tajima *et al.*, 2001; Martin *et al.*, 2001; Brossard *et al.*, 2006). Ainsi, la diminution de la BHR provoquée par l'augmentation du PCO a été reliée à l'augmentation des bactéries amylolytiques (e.g. *Ruminobacter amylophilus* et, *Prevotella ruminicola*) au détriment des cellulolytiques (e.g. *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Ruminococcus flavefaciens* et *Fibrobacter succinogenes*) qui sont les bactéries les plus actives dans le processus de BHR (Harfoot et Hazlewood, 1997). De plus, le PCO est responsable d'une baisse du pH ruminal (inférieur à 6,2) pouvant réduire l'adsorption des bactéries aux particules alimentaires (Shriver *et al.*, 1986), étape préalable à la lipolyse et à la BHR.

### **Interaction entre pourcentage de concentré et supplémentation lipidique**

Différentes études ont rapporté que l'augmentation du PCO (basée sur une variation minimale de 20% MS entre traitements) a des effets plus importants sur la BHR lorsque celle-ci est associée à l'apport de lipides végétaux.

L'étude de Kucuk *et al.* (2001) menée sur des moutons recevant un régime riche en huile de soja et dont le PCO a varié de 18% à 73% de la MS de la ration montre que l'augmentation du PCO dans le régime était associée à une diminution de la BHR du C18:3 n-3 avec une diminution du C18:0 au niveau duodécal, sans variation des AG *trans*. Par ailleurs, le flux d'AG duodécaux a varié chez les bouvillons nourris avec un régime dont le PCO a varié de 64 à 88% de la MS de la ration et associé à une supplémentation en huile de tournesol de 2 ou 4% de la MS (Sackmann *et al.*, 2003). Les flux duodécaux du C18:2 n-6, *cis*11,*cis*13-CLA, *trans*11,*trans*13-CLA et *trans*10-C18:1 ont augmenté tandis que celui du *trans*11-C18:1 a diminué avec l'augmentation du PCO. De même, Loo *et al.* (2004) ont montré, chez les vaches laitières, que l'augmentation du PCO (35 à 65% de la MS) associée à 30g d'huile de lin/kg MS favorise le flux duodécal du 18:2 n-6 et des isomères du C18:1 (*trans* 6, 8, 10, 13+14, 15 et du *cis* 9 à 15) au détriment du C18:0 ralentissant ainsi le processus de BHR. De plus, le flux de C18:3 n-3 n'est pas altéré avec l'augmentation du PCO supplémentation en huile de lin. Une autre étude réalisée sur des bouvillons (Lee *et al.*, 2006) faisant augmenter graduellement le PCO de 20 à 80%, accompagné d'une supplémentation en huile de lin (entre 2,5 et 3,3% de la MS) a montré une élévation significative des flux duodécaux du C18:2 n-6 et *cis*9-C18:1, sans effet sur les autres intermédiaires de la BHR dont le C18:3 n-3.

L'ensemble de ces études met en évidence que, non seulement le type de suppléments lipidiques, mais aussi la composition de la ration de base sont des facteurs de variation de la BHR, et donc du flux duodécal des AG disponibles pour les

tissus périphériques.

## 6.2. Facteurs influençant le métabolisme lipidique mammaire.

De nombreuses études ont évalué l'effet des différents facteurs sur la production de la MG laitière, la synthèse et la sécrétion des AG dans le lait. Ces facteurs sont d'ordre intrinsèque, liés à l'animal (race, génotype, stade de lactation, et parité, Ferlay *et al.*, 2017) ou d'ordre extrinsèque, liés à l'environnement (et principalement l'alimentation). L'effet de l'alimentation, étant le principal facteur étudié dans ce travail de thèse, sera donc plus largement détaillé par la suite.

Nous nous sommes limités à l'étude de deux principaux facteurs alimentaires: les fourrages (nature et mode de conservation) et les suppléments lipidiques.

### Nature des fourrages

**Ensilage de maïs vs Pâturage.** Couvreur *et al.* (2007) ont montré que des vaches laitières recevant 100% d'herbe fraîche ont produit un lait contenant plus d'AGPI et moins d'AGS que celles recevant un régime à base d'ensilage de maïs. De plus, le régime à base d'herbe fraîche a augmenté les concentrations dans le lait du *cis9*-C18:1, C18:3 n-3, *cis9,trans11*-CLA, *trans11*-C18:1, et du C18:0 et il a réduit les proportions des AG issus de la synthèse *de novo* (C4:0 au C16:0). De même, Kelly *et al.* (1998) ont observé l'augmentation des teneurs dans le lait du C18:1 total, C18:3 n-3, et du *cis9,trans11*-CLA au détriment des AG courts et moyens (C6:0 à C16:0) avec un régime à base de pâturage par rapport à une ration complète. Cette modification de la composition du lait s'explique par une consommation en C18:3 n-3 plus élevée avec les animaux nourris au pâturage (riche en C18:3 n-3) par rapport à ceux qui ont reçu une ration complète. Le C18:0 est un substrat préférentiel de la  $\Delta 9$ -désaturase

qui le convertit en *cis9*-C18:1, ce qui explique l'augmentation de cet AG sécrété dans le lait. Le même phénomène explique l'augmentation du *cis9,trans11*-CLA dans le lait à partir du *trans11*-C18:1.

**Plaine vs Montagne.** Ces effets ont été également observés avec des vaches laitières pâturant des plaines à différentes altitudes (plaine vs montagne), avec des concentrations plus fortes en C18:3 n-3 et *cis9*-C18:1, et plus faibles en AGS (du C4:0 au C18:0) dans le lait provenant de pâturages des montagnes alpines (Collomb *et al.* 2002; Kraft *et al.*, 2003). De plus, le flux d'AG *trans* sécrétés dans le lait était supérieur pour les vaches ingérant de l'herbe de montagnes alpines. Ceci s'expliquerait principalement par le fait que ces pâturages de montagne sont riches en dicotylédones présentant des composés secondaires tels que les terpènes et les polyphénols, ayant un effet inhibiteur sur la BHR. Par ailleurs, Leiber *et al.* (2004) ont montré que l'augmentation du *cis9*-C18:1 dans le lait de vaches pâturant en zone de montagne est due à des dépenses énergétiques plus élevées (liées à une température basse et à une marche prolongée) provoquant ainsi une mobilisation préférentielle des *cis9*-C18:1 et C18:0 à partir du TA, et donc libérés dans le plasma, puis captés par la glande mammaire, le C18:0 pouvant être avant désaturé en *cis9*-C18:1 (Collomb *et al.*, 2002 ; Leiber *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2006). De plus, le *cis9*-C18:1 du lait peut donc aussi provenir directement de la mobilisation des TA.

Certaines études ont démontré un intérêt pour le trèfle violet du fait de sa richesse en PPO (Dewhurst *et al.*, 2003; Doreau *et al.*, 2005; Vanhatalo *et al.*, 2007). En effet, la PPO a présenté un effet protecteur des AGPI (C18:2 n-6 et C18:3 n-3) contre la BHR (cf. ci-dessus). Par conséquent, les brebis et les vaches laitières alimentées avec du trèfle violet ont présenté un lait plus riche en C18:3 n-3 et C18:2 n-6 que celles alimentées avec des graminées ou d'autres légumineuses.



### **Mode de conservation des fourrages**

La fenaison est associée à une perte des AG totaux et du C18:3 n-3 principalement lors du séchage, mais aussi du fait d'être récolté plus tardivement que l'ensilage. Malgré des teneurs plus faibles en C18:3 n-3 et C18:2 n-6 dans le foin par rapport à l'ensilage d'herbe, les vaches recevant du foin ont présenté un lait plus riche en C18:3 n-3 et C18:2 n-6 que celles ingérant l'ensilage (Shingfield *et al.*, 2005). Cela peut être expliqué par le fait que la BHR du C18:3 n-3 et du C18:2 n-6 était moins importante avec le foin qu'avec l'ensilage ou le pâturage (Doreau *et al.*, 2005), dû en partie à une diminution de la lipolyse.

### **Graines et huiles oléagineuses**

**Nature et forme d'apport des oléagineux.** Glasser *et al.* (2008c) ont étudié par méta-analyse les effets de 4 oléagineux (lin, colza, soja et tournesol) apportés sous forme de graines ou d'huiles, comparés à un régime témoin (sans supplémentation lipidique) sur les performances laitières et le profil en AG du lait. Cette étude a montré que la production laitière a peu varié entre les différents régimes alors que le taux butyreux (**TB**) a diminué pour les régimes supplémentés en soja et tournesol par rapport au régime contrôle. De plus, il apparaît des variations des concentrations des AG à chaîne moyenne et de la somme des AG à 18 carbones entre les sources de lipides. Par rapport aux régimes témoins (non supplémentés en lipides), les régimes supplémentés ont induit une augmentation des C18 totaux (en % des AGT) de +10% (graine de colza) à +20% (e.g. huile de lin), au détriment des AG courts et moyens. Selon Chilliard *et al.* (1991), cela serait lié à l'ingestion des AGPI et/ou à la production des isomères *trans* issus de la BHR ayant un effet inhibiteur sur la synthèse *de novo*. Parmi les AG à 18 carbones, les régimes supplémentés ont augmenté les proportions dans le lait du C18:0, des C18:1, C18:2 et C18:3 totaux, des *cis*-C18:1 et *trans*-C18:1 totaux et du

*cis9*-C18:1, C18:2 n-6, C18:3 n-3, *cis9,trans11*-CLA et *trans10+11*-C18:1. La teneur en *trans*-C18:1 totaux dans le lait est la plus importante lorsque le supplément lipidique est sous forme d'huile, à l'exception du soja (Glasser *et al.*, 2008c). Les régimes supplémentés en soja et tournesol ont provoqué une augmentation du C18:2 n-6 sécrété dans le lait. La teneur en C18:3 n-3 a été augmentée principalement avec des régimes supplémentés en lin (respectivement, +0.47 et +0.32 g/100 g d'AGT pour les graines et huiles par rapport aux régimes non supplémentés). Le *cis9,trans11*-CLA a été augmenté avec toutes les sources lipidiques par rapport aux régimes contrôles, à l'exception du colza.

### **Pourcentage de concentré**

Le pourcentage de concentré peut modifier la production laitière mais aussi son profil en AG. En effet, un régime à base d'herbe conservée ou d'ensilage de maïs et avec un apport en concentré au-delà de 60% de la MSI a augmenté la sécrétion du *cis9,trans11*-CLA, du C18:2n-6 et des *trans*-C18:1 notamment le *trans10*-C18:1 dans le lait par rapport à des régimes moins riches en concentré (Dewhurst *et al.*, 2003 ; Looor *et al.*, 2005a). Le *trans10*-C18:1 est produit durant le processus de BHR lors de l'ingestion de rations riches en concentré ou en amidon, provoquant un shift de la voie du *trans11*- vers celle du *trans10*-C18 :1, faisant de ce dernier le principal isomère *trans* du C18:1 dans le lait (Shingfield *et al.*, 2005; Roy *et al.*, 2006). De plus, dans ces conditions alimentaires, il a été également observé une diminution des AGS, dont les AG du C4:0 au C12:0 (Dewhurst *et al.*, 2003). Cette diminution peut être liée au syndrome de chute du TB (milk fat syndrome, MFD, cf. ci-dessous) et cet effet devient plus marqué lorsqu'il est associé à un régime riche en amidon rapidement fermentescible (Chilliard *et al.*, 2007).

**Interaction entre le pourcentage de concentré et la supplémentation lipidique.**

Les régimes des vaches laitières hautes productrices sont riches en concentrés amylacés et parfois supplémentés en lipides afin de couvrir leurs besoins énergétiques. Lorsque les vaches laitières ingèrent des rations contenant des proportions élevées de concentrés riches en amidon rapidement fermentescible et supplémentées en lipides, une diminution de la MG sécrétée dans le lait peut apparaître, pas seulement due à une simple dilution de la MG dans l'accroissement du volume de lait. Ce phénomène appelé MFD est connu depuis longtemps (Davis et Brown, 1970). Historiquement, Chouinard *et al.* (1999) ont montré que l'apport alimentaire d'un mélange commercial de 4 isomères de CLA (*cis/trans* 8,10, *cis/trans* 9,11, *cis/trans* 10,12 (CLA prédominant) et *cis/trans* 11,13) permettait de réduire fortement la MG laitière et la proportion d'AGS chez la vache laitière. La même équipe (Baumgard *et al.*, 2000) ont ensuite montré que l'infusion duodénale du seul isomère *trans*10,*cis*12 du CLA induisait chez des vaches laitières des effets comparables à celui de la MFD. Cet isomère des CLA est le plus fréquemment retrouvé dans les contenus duodénaux chez des vaches laitières ingérant de fortes proportions de concentrés (ou d'amidon) associé à des AG majoritairement de type C18:2 n-6 et présentant une MFD (revue de Bauman *et al.*, 2011). Ultérieurement, par infusion d'autres isomères des CLA, il a pu être montré que le *cis*10,*trans*12-CLA ainsi que le *trans*9,*cis*11-CLA pouvaient aussi présenter des effets d'inhibition de la lipogenèse mammaire (Saebø *et al.*, 2005; Perfield *et al.*, 2007). Il a également été suggéré que le *trans*10-C18:1 dans le lait était associé de façon indirecte à la MFD. En effet, la formation du *trans*10-C18:1 dans le rumen issu de la déviation de la voie *trans*11 (et *cis*9,*trans*11-CLA) vers celle du *trans*10 (et du *trans*10,*cis*12-CLA) est liée à un pH bas provoqué par un régime riche en amidon rapidement dégradable et supplémenté en AGPI. Cet effet inhibiteur est d'autant plus important que les AG sont longs, polyinsaturés et porteurs de liaisons

*trans*10 (Chilliard *et al.*, 2000; Bauman et Griinari, 2003; Bichi *et al.*, 2013; Carreño *et al.*, 2015; Toral *et al.*, 2015). Diverses études chez les vaches laitières ont montré qu'une diminution de la MG du lait est associée à une diminution de l'expression des gènes des enzymes impliquées dans la synthèse lipidique dans la CEM, en particulier la FAS, l'ACC, la LPL, et la  $\Delta$ 9-désaturase (Bauman *et al.*, 2011). Piperova *et al.* (2000) ont observé une diminution des activités de l'ACC et de la FAS de, respectivement, 61 et 44% lorsque les vaches laitières ont reçu un régime avec 70% de concentré et supplémenté en huile de soja (à hauteur de 5% de la MS) par rapport à un régime contrôle (40% de concentré et non supplémenté en huile). L'effet sur l'expression des gènes de la lipogenèse a été également étudié pour mieux expliquer le processus de MFD. Harvatine *et al.* (2009) ont observé une diminution de 38% de la MG du lait et une diminution de l'expression des différents gènes régulant les enzymes lipogéniques de la glande mammaire (FABP, LPL, FAS et SCD) après une infusion dans l'abomasum de *trans*10,*cis*12-CLA, renforçant ainsi l'hypothèse du rôle majeur de cet isomère sur la MFD. Les mécanismes impliqués concernent la réduction coordonnée des gènes de la lipogenèse mammaire, du prélèvement des AG longs et de l'activité de la  $\Delta$ 9-désaturase. Ces diminutions des enzymes du métabolisme lipidique mammaire par le *trans*10,*cis*12-CLA sont dues à une réduction de l'expression du sterol response element-binding protein-1 (SREBP1) de même amplitude que la réduction de la lipogenèse mammaire observée lors d'apport de CLA ou induite par le régime (Gervais *et al.*, 2009 ;Harvatine et Bauman, 2006). SREBP1c est un facteur de transcription et c'est l'isoforme qui est exprimée principalement dans le tissu mammaire, en régulant la synthèse mammaire *de novo* des AG au niveau transcriptionnel et donc les ARNm des enzymes clefs de la lipogenèse (Harvatine et Bauman, 2006; Bionaz et Looor, 2008; Gervais *et al.*, 2009).

En conclusion, la composition en AG du lait et des produits laitiers est liée au métabolisme lipidique principalement au niveau du rumen (lipolyse et BHR des AGPI) et au niveau de la glande mammaire (synthèse *de novo*, prélèvement plasmatique, désaturation et estérification). Différents facteurs peuvent faire varier la composition en AG du lait, avec principalement ceux d'origine alimentaire dont la nature du fourrage, le PCO, le type de la supplémentation lipidique ainsi que leurs interactions. Pour mettre en évidence et quantifier ces différentes voies métaboliques ainsi que l'effet des facteurs de variation potentiels de la composition en AG du lait, différents modèles ont été développés au niveau du rumen et de la glande mammaire.

## **7. Classification des principaux modèles en nutrition animale**

Ces 20 dernières années, l'utilisation de la modélisation a connu un réel essor dans le domaine de la nutrition des ruminants. Ainsi, divers niveaux d'organisation ont été étudiés, que ce soit le système de production, l'animal, l'organe ou la cellule. Selon France et Thornley (1984), ces modèles sont classés en trois catégories brièvement décrites par la suite.

### **Modèles dynamiques vs statiques**

Les modèles dynamiques ont pour objectif de prédire le fonctionnement d'un système biologique en intégrant la dimension temporelle. Ils sont, par exemple, utilisés pour déterminer l'état d'un système à un instant précis au cours du temps. Ces modèles peuvent être divisés en continu ou discret, associé au contrôle de la variable de temps. Les modèles statiques, contrairement aux modèles dynamiques, sont invariants avec le temps. Ils sont donc basés sur un état stationnaire prédisant un système qui fonctionne en mode constant.

### **Modèles empiriques vs mécanistes**

Les modèles empiriques ou modèles « boîte noire » sont basés sur des relations de lois de réponse entre deux variables ou plus. Ces modèles décrivent quantitativement les réponses animales dans des conditions spécifiques sans tenir compte des mécanismes de contrôle de ces réponses (Sauvant, 1988). A l'inverse, les modèles mécanistes sont basés sur une représentation du système, faisant émerger le comportement du système (propriétés émergentes) à partir des niveaux d'organisation sous-jacents (constitution). En nutrition animale, ces modèles sont historiquement largement basés sur la modélisation compartimentale, décrivant entre autres les flux de nutriments entre compartiments et leurs régulations associées sous forme d'équations mathématiques. Afin de comprendre le fonctionnement de chaque compartiment qui détermine l'état du système, ce type de modèle utilise des principes mathématiques, physiques, chimiques et biologiques de l'animal et de son environnement.

### **Modèles déterministes vs stochastiques**

Les modèles déterministes sont basés sur des paramètres moyens sans variabilité. Ainsi, leur mode de prédiction est présenté sans distribution de probabilité associée à la moyenne. A l'inverse, les modèles stochastiques estiment la variation du système car ils incluent des éléments aléatoires ou une distribution de probabilité d'un état donné dans le modèle (Sauvant, 1992).

## **8. Description des modèles simulant la digestion et le métabolisme lipidique chez le ruminant**

Plusieurs modèles ont été créés permettant de quantifier les principaux phénomènes

du métabolisme lipidique chez le ruminant au niveau des compartiments rumen et glande mammaire (**Tableaux 4 et 5**).

### **8.1. Modèles du métabolisme ruminal : lipolyse et biohydrogénation des acides gras polyinsaturés**

Pour étudier le métabolisme ruminal des lipides, des modèles empiriques et mécanistes ont été établis.

#### **8.1.1. Modèles empiriques**

**Les modèles de Schmidely *et al.* (2008) et Glasser *et al.* (2008b)** sont empiriques, statiques. Construits, respectivement avec 303 et 294 traitements *in vivo*, ces modèles permettent de prédire les flux duodénaux et absorbés des AG en fonction, respectivement, des AG ingérés et des flux duodénaux des AG. Schmidely *et al.* (2008) ont obtenu des équations de prédiction pour les flux duodénaux et absorbés des AG totaux, du C12:0, C14:0, C16:0 et des AG à 18 carbones mais aussi les flux duodénaux d'AG microbiens totaux, tandis que Glasser *et al.* (2008b) ont prédit les flux duodénaux des différents AG à 18 carbones tels que le C18:0, C18:1 *cis*, C18:1 *trans*, C18:2 n-6, ainsi que le C18:2 total et C18:3 total correspondant à la somme de leurs isomères. De plus, les auteurs ont quantifié l'effet de différents facteurs sur ces modèles tels que le niveau d'ingestion, le PCO et le pH ruminal. L'influence de la nature et la forme d'apport des suppléments lipidiques d'origine végétale ainsi que l'huile de poisson ont été étudiées dans ces modèles.

Limites. Ces modèles ne prédisent pas les flux duodénaux et absorbés des différents isomères du C18:1, C18:2 et C18:3 car le nombre de données reste insuffisant.

**Tableau 4** Description des différents modèles portant sur le métabolisme lipidique du rumen

Modèles	Compartiment	Typologie	Description	Limites
(Dijkstra <i>et al.</i> , 2000)	Rumen (in vitro et in vivo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mécaniste</li> <li>Dynamique <b>(pas mentionné)</b></li> <li>Déterministe</li> </ul>	<p>(pas mentionné)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-Basé sur deux régimes pauvre et riche en fourrage (80% vs 33% DMI)</li> <li>-Taux de lipolyse des lipides alimentaires égal à 90%</li> <li>-Taux de BHR est fonction du NDF et de l'effet inhibiteur des AGI longs.</li> <li>-Entrée: lipides alimentaires et microbiens, sortie : AGS ou AGI longs et lipides microbiens</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Modèle qualitatif, sans équations de prédiction et sans valeur des paramètres étudiés.</li> <li>-L'évaluation du modèle n'est pas satisfaisante pour des régimes riches en lipides</li> </ul>
(Ribeiro <i>et al.</i> , 2007)	Rumen (in vitro)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mécaniste</li> <li>Dynamique (0 à 12 heures)</li> <li>Déterministe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Nombre de données: 8 traitements</li> <li>-Régimes à base de luzerne (vert vs foin) sans ou avec substance tampon (bicarbonate)</li> <li>-Taux de BHR de l'acide linoléique (43,8%/h) et linoléique (27,4%/h) en acide stéarique sans bicarbonate</li> <li>-Taux de lipolyse/BHR des acides linoléique (30,3%/h) et linoléique (23.5%/h) en acide stéarique avec bicarbonate</li> <li>-10 Pool d'AG: C18:3 total; C18:2 total; CLA total; <i>cis</i>9,<i>trans</i>11,<i>cis</i>15-C18:3 + <i>trans</i>11,<i>cis</i>15-C18:2; <i>trans</i>11-C18:1; <i>cis</i>9-C18:1; <i>cis</i>15-C18:1; <i>trans</i>15-C18:1; <i>trans</i>9+10+12+t13-C18:1; C18:0</li> <li>-Quantification de l'effet du pH sur le flux des AG <i>trans</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Régime seulement à base de luzerne et pauvre en AG totaux (0.8 à 2.1% MS)</li> <li>La cinétique de lipolyse n'est pas quantifiée.</li> <li>Une seule cinétique pour la lipolyse et la BHR</li> <li>Synthèse microbienne non prise en compte</li> </ul>



Modèles	Compartiment	Typologie	Description	Limites
(Glasser <i>et al.</i> , 2007)	Rumen (in vitro)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécaniste</li> <li>• Dynamique (0 à 24 heures)</li> <li>• Déterministe</li> </ul>	<p>-Nombre de données: 13 traitements</p> <p>-Taux de lipolyse</p> <p>-Taux de BHR de 25%/h pour les acides linoléique, linoléique et oléique.</p> <p>7 pools: acides stéarique, oléique, linoléique, linoléique et les AG provenant de l'isomérisation des AGI (iC18:1, iC18:2 et iC18:3).</p>	<p>-Peu de données (5 expérimentations avec 13 traitements)</p>
(Moate <i>et al.</i> , 2004)	Rumen (in vivo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Empirique</li> <li>• Statique</li> <li>• Déterministe</li> </ul>	<p>Nombre de données: 36 traitements</p> <p>-Régimes basés sur 27 aliments différents, dont 3 suppléments lipidiques.</p> <p>-Taux de lipolyse distincts pour chaque supplément lipidique.</p> <p>-Taux de BHR de C18:3 total, C18:2 total, C18:1 <i>trans</i> total, C18:1 <i>cis</i> total et C16:1 total.</p> <p>-Ce modèle prédit également des pools tels que C16:1 total, C16:0, C18:0 et « autres AG » qui correspond à la somme des AG à longue chaîne (supérieur à 12 carbones) à l'exception de ceux décrits par le modèle.</p> <p>-Absorption des AG (C18:3 total, C18:2 total, C18:1 <i>trans</i> total, C18:1 <i>cis</i> total et C16:1 total, C16:1 total, C16:0, C18:0 et « autres AG »).</p>	<p>-Le modèle ne prédit pas les isomères individuels.</p> <p>-Ils n'ont pas étudié l'effet des facteurs potentiels (le pH ruminal par exemple) sur la lipolyse et la BHR.</p>
(Harvatine et Allen, 2006)	Rumen (in vivo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécaniste</li> <li>• Dynamique (3 heures durant 24 heures)</li> </ul>	<p>-Nombre de données: 8 traitements</p> <p>-Taux de lipolyse/BHR avec:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ 28-39%/h pour l'acide linoléique</li> <li>▪ 15-17%/h pour l'acide linoléique</li> <li>▪ 9-12%/h pour l'acide oléique</li> </ul>	<p>-Une seule constante pour la lipolyse et la BHR.</p> <p>-Taux de passage assez différents entre AG et celui des particules alimentaires, alors que les AG sont</p>

Modèles	Compartiment	Typologie	Description	Limites
		<ul style="list-style-type: none"> <li>Déterministe</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>33-48%/h pour le C18:1 <i>trans</i> total</li> </ul>	liés aux particules alimentaires.
(Glasser <i>et al.</i> , 2008; Schmidely <i>et al.</i> , 2008)	Rumen (in vivo)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Empirique</li> <li>Statique</li> <li>Déterministe</li> </ul>	<p>-Taux de passage des AG dans le rumen</p> <p>-Nombre de données: 294 et 303 traitements</p> <p>-Prédiction des flux duodénaux des AG en fonction de l'ingéré: AG totaux et les AG à 12, 14, 16 et 18 carbones ; C18:0, <i>cis</i>-C18:1, <i>trans</i>-C18:1, C18:2 n-6, somme des isomères du C18:2 à l'exception du C18:2 n-6 et C18:3 total.</p> <p>-Ils ont étudié l'effet du niveau d'ingestion, pourcentage de concentré, le pH ruminal et l'efficacité de la synthèse des protéines microbiennes sur le flux duodéal des AG.</p> <p>-Prise en compte de la nature et de la forme d'apport des suppléments lipidiques.</p>	-Le modèle ne prédit pas les isomères individuels (sauf l'acide linoléique).

**Tableau 5** Description des différents modèles portant sur le métabolisme lipidique de la glande mammaire chez les ruminants

Modèles	Compartiment	Typologie	Description	Limites
(Hanigan et Baldwin, 1994)	Glande mammaire (in vivo et in vitro)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécaniste</li> <li>• Dynamique (jour)</li> <li>• Déterministe</li> </ul>	<p>-Nombre de données: <b>(pas mentionné)</b></p> <p>-Modèle biochimique sur le métabolisme de la glande mammaire incluant un modèle de synthèse lipidique.</p> <p>-Il prédit 3 groupes d'AG : AG courts <i>de novo</i>, AG longs <i>de novo</i> et AG longs plasmatiques.</p> <p>-Modèle lipidique basé sur les flux entrant et sortant d'atomes de carbone.</p>	<p>-Il ne différencie pas les AGS et AGI</p> <p>-L'activité de désaturation n'est pas prise en compte</p>
(Shorten <i>et al.</i> , 2004)	Glande mammaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécaniste</li> <li>• Dynamique (jour)</li> <li>• Déterministe</li> </ul>	<p>-Nombre de données: <b>(pas mentionné)</b></p> <p>-Basé sur le modèle de Hanigan et Baldwin, (1994).</p> <p>-Prends en compte l'activité des enzymes</p> <p>-Taux de la synthèse <i>de novo</i> des AG courts et C16:0 par la FAS.</p> <p>-Taux de désaturation du C16:0 et C18:0</p> <p>-Taux d'acylation des AG sur le glycérol-3P (estérification) par les enzymes GPAT, LPAT, DGAT.</p> <p>-Equations décrivant les changements des pools d'AG en cinétique:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ L'augmentation de 50% de l'activité de la SCD augmente le <i>cis</i>9-C18:1 et <i>cis</i>9-C16:1.</li> <li>▪ La réduction du taux d'acylation au glycérol-3P, augmente la proportion du C18:1 et diminue celle du C16:0 dans les TG.</li> </ul>	<p>-Il ne prédit pas la composition en AG des TG.</p>
Moate <i>et al.</i> , 2008b	Glande mammaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mécaniste</li> <li>• Dynamique</li> </ul>	<p>Nombre de données: 120 traitements</p> <p>-Prédit les AG du C4:0 au C22:6 n-3</p> <p>-Basé sur des régimes: au pâturage, rations</p>	<p>-Régimes standards</p> <p>-Utilisation du modèle de prédiction</p>

Modèles	Compartiment	Typologie	Description	Limites
		<ul style="list-style-type: none"> <li>Déterministe</li> </ul>	<p>complètes et supplémentées en lipides. -Etudie l'influence des facteurs animal et régimes sur la production (g/j) de ces AG.</p>	des AG absorbés (CPM-Dairy) pour obtenir des variables intrants
Glasser <i>et al.</i> , 2008a	Glande mammaire	<ul style="list-style-type: none"> <li>Empirique</li> <li>Statique</li> <li>Déterministe</li> </ul>	<p>-Nombre de données: 139 traitements -Prédiction de la production de C18 total du lait en fonction du C18 total duodéanal et la somme des AG courts et moyens (C4:0 à C16:0) du lait</p> <p>-Prédiction du C18:3 total et des isomères du C18:1 et C18:2 au niveau du lait: <i>trans</i>9- et <i>trans</i>10-C18:1, <i>cis</i>9,<i>cis</i>12-, <i>trans</i>10,<i>cis</i>12-, <i>trans</i>11,<i>cis</i>15-C18:2.</p> <p>-Quantification de l'activité <math>\Delta</math>-9-désaturase sur certains AG: C18:0, <i>trans</i>11- et <i>trans</i>13-C18:1 -Quantification de la synthèse <i>de novo</i> des AG courts et moyens (C4:0 à C16:0).</p>	<p>-Nombre des isomères limité -Pas de validation de ces modèles</p>

### 8.1.2. Modèles mécanistes

**Le modèle de Dijkstra *et al.* (2000)** considère 3 compartiments de lipides, constitués par les lipides non hydrolysés, les AG libres, saturés ou insaturés. Il quantifie séparément les étapes de lipolyse et de BHR des AGPI, et la synthèse des AG microbiens. Le taux fractionnaire de lipolyse est fixé à 9 fois le taux de passage des particules, correspondant à une lipolyse totale de 90%. Ce modèle permet de prédire les flux duodénaux des AGT, des AGI et des AGS. De plus, il est basé sur des données *in vitro* et *in vivo* obtenues chez des vaches laitières avec des régimes pauvres et riches en fourrages (33% vs 80% de la MSI). Le taux maximal de lipolyse est fixé à 90% avec un taux de BHR dépendant de la teneur en NDF et en AGI longs de la ration. Ce modèle utilise les équations de Michaelis–Menten et intègre ainsi en partie l'action inhibitrice des AGPI sur l'activité de la flore microbienne impliquée dans la BHR, et l'effet des lipides sur la dégradation ruminale des parois végétales.

Limites. Ce modèle n'a été publié que sous forme 'qualitative' sans présentation des équations décrivant les flux et les paramètres associés.

**Le modèle de Ribeiro *et al.* (2007)** permet de calculer un taux de BHR pour les C18:2 et C18:3 totaux à partir de données obtenues *in vitro* sur de la luzerne fraîche ou présentée sous forme de foin, et supplémentée ou non en sucres, et dont le pH d'incubation varie (ajout ou non de bicarbonates). Ce modèle représente la lipolyse et la BHR en un seul processus par des équations issues des cinétiques de concentrations du C18:3 n-3 et du C18:2 n-6. Il permet de modéliser les effets des bicarbonates, et de l'apport de sucres sur l'apparition des CLA (pool unique agrégeant tous les isomères), et sur les isomères *trans*<sub>9</sub>, *trans*<sub>10</sub>, *trans*<sub>11</sub>, *trans*<sub>12</sub>, *trans*<sub>13</sub>, *trans*<sub>15</sub> et *cis*<sub>15</sub> du C18:1 à partir du C18:3 n-3 et du C18:2 n-6. Les auteurs ont

modélisé ainsi une diminution de la BHR du C18:2 n-6 et C18:3 n-3 avec un pH acide et avec le foin de luzerne par rapport à de la luzerne verte.

Limites. Ce modèle ne tient compte que d'un régime à base de luzerne avec ou sans une substance tampon. Ce modèle basé sur des régimes pauvres en lipides rend sa validation compliquée sur des régimes riches en concentrés et/ou supplémentés en lipides. Par ailleurs, les étapes de lipolyse et de BHR ne sont pas séparées et la synthèse des AG microbiens n'est pas prise en compte. De plus, les effets des lipides sur la digestion des parois ne sont pas intégrés dans ce modèle.

**Le modèle de Glasser *et al.* (2007)** est composé de 4 compartiments d'AG estérifiés (C18:3, C18:2, C18:1 et C18:0), et 7 compartiments d'AG libres (les 4 précédents, auxquels sont associés 3 compartiments agrégeant les intermédiaires de la BHR du C18:3, du C18:2 et du C18:1). Le modèle est structuré autour d'équations pour prédire la lipolyse et la BHR du C18:3 total, des C18:2 n-6, *cis*9-C18:1 et C18:0 à partir de 5 études *in vitro*. Il inclut par ailleurs la diminution de l'activité microbienne observée *in vitro* en fonction du temps d'incubation sur les paramètres de lipolyse/BH, ainsi qu'un effet du pH sur la croissance microbienne. Les taux de lipolyse BHR du C18:3 total, du C18:2 n-6 et du *cis*9-C18:1 sont identiques (25%/h). Ce travail a permis de simuler la lipolyse et la BHR des principaux AG présents dans l'alimentation des ruminants.

Limites. Ce modèle ne différencie pas les nombreux AG issus de la BHR tels que le C18:3 n-3, les isomères du CLA et l'acide vaccénique, et n'inclut pas d'effet des lipides sur la digestion des fibres dans le rumen.

**Le modèle de Harvatine *et Allen* (2006)** a été construit à partir de données issues d'une étude *in vivo* dans laquelle des vaches laitières recevaient un régime standard (à base d'ensilage de maïs et de luzerne, et contenant un concentré avec des graines

de coton) supplémenté ou non avec des AG partiellement ou complètement hydrogénés. Ce modèle quantifie les flux duodénaux des AG totaux, du C16:0, C18:0, C18:1 *trans* total, C18:1 *cis* total, C18:2 n-6 et C18:3 n-3 à partir de leurs AG ingérés respectifs.

Limites. Le modèle a été construit à partir de seulement 8 traitements. Le taux de passage des AG dans le rumen est biologiquement non cohérent car différent de celui des particules alimentaires auxquelles les AG sont adsorbés. Le modèle n'a pas été validé avec des nouvelles données.

**Le modèle de Moate *et al.* (2004, 2006)** est un modèle mécaniste et statique, construit à partir d'études *in vivo* réalisées chez la vache laitière. Il constitue à l'heure actuelle le modèle le plus abouti du métabolisme lipidique ruminal et a été inclut dans le modèle de Cornell (CMP-Dairy, Tedeschi *et al.*, 2008), de prédiction des performances de production et de composition du lait des vaches laitières. Il prédit le taux de lipolyse et la BHR des AG selon le type d'aliments. Ainsi, 25 aliments différents sont caractérisés dans ce modèle (fourrages, céréales et différents suppléments lipidiques tels que soja traité, suif hydrogéné et savons de calcium d'AG d'huile de palme). Ce modèle permet de calculer : a) l'ingestion des AG longs à partir des caractéristiques des aliments ; b) la production des AGPI libres dans le rumen résultant de la lipolyse à partir du taux fractionnaire de lipolyse obtenu sur des données *in vitro* concernant 25 matières premières classiquement utilisées ; c) la BHR de ces AGPI libres sans identification des intermédiaires de la biohydrogénation, puisque seul l'enchaînement C18:3 → C18:2 → C18:1 *trans* → C18:0 est considéré. Dans ce modèle la fraction non libre des AG non biohydrogénée transite vers le duodénum. Dans ce modèle, les taux moyens horaires de BHR des AGPI considérés sont déterminés par ajustement pour minimiser

la somme des carrés entre les flux prédits et les flux observés : il en résulte des taux d'hydrogénation de 39, 27, 23, 88 et 244%/h, respectivement, pour le C16:1, C18:1 *cis* totaux, C18:1 *trans* totaux, C18:2 et C18:3. d) la synthèse microbienne de lipides. Elle est modélisée pour le C16:0, le C16:1 et le C18:0 et les autres AG par la disponibilité en glucides fermentescibles de la ration et négativement indexée sur la quantité d'AG libres de même nature pour tenir compte de l'effet inhibiteur des AG sur la lipogénèse microbienne ; e) il distingue les taux de transit de ces AG vers le duodénum des AG et des fractions diglycérides et monoglycérides ; f) l'absorption intestinale (%) des différentes fractions lipidiques, calculée à partir de la régression des AG apparemment absorbés (duodénum-fécal) en fonction de leur flux duodéal.

Limites. La validation initiale (Moate *et al.*, 2004) de ce modèle sur une base de données limitée de flux *in vivo* (8 publications et 36 traitements) ne concernait majoritairement que des bovins en croissance. Une validation ultérieure de ce modèle a été effectuée sur un plus grand nombre de données en incluant des données d'infusions d'AG dans le duodénum, et plus de données sur vaches laitières (Moate *et al.*, 2006). Néanmoins, les suppléments lipidiques tels que le lin, le colza et le tournesol et l'effet des facteurs de l'écosystème ruminal (pH ruminal) sur la BHR ne sont pas étudiés et les isomères individuels des C18:1, C18:2 et C18:3 ne sont pas prédits par ce modèle. Par ailleurs, comme de nombreux autres modèles, il ne modélise pas l'effet des lipides alimentaires sur la digestibilité des constituants glucidiques de la ration, en particulier sur la digestibilité des parois végétales.

**Le modèle de Moate *et al.* (2008a)** issu de deux expérimentations *in vitro* (Noble *et al.*, 1974) vise à élucider les voies de la lipolyse et la BHR de l'acide linoléique sous forme libre ou estérifiée. Par rapport aux modèles présentés ci-dessus, il présente un



caractère dynamique afin de mieux appréhender les cinétiques de lipolyse et de BHR à partir d'études *in vitro*. En particulier, dans la mesure où la lipolyse, l'isomérisation et l'hydrogénation sont des processus dépendant d'enzymes, un formalisme spécifique pour les modéliser a été utilisé en privilégiant des cinétiques non linéaires (Michaelis-Menten) plutôt que des cinétiques de premier ordre (Moate *et al.*, 2004). Pour la lipolyse, les analyses ont permis de distinguer 3 pools pour développer le modèle : les TG, les di- et monoglycérides et les AG libres, produit final de la lipolyse. Pour la BHR, l'acide linoléique (sous forme d'AG libre) a été incubé et dosé à plusieurs reprises permettant ainsi de développer un modèle sur 4 pools différents: l'acide linoléique (produit de départ), l'acide ruménique et l'acide vaccénique (principaux produits intermédiaires issus de l'isomérisation), et l'acide stéarique (produit final de la BHR).

Limites. L'acide linoléique est l'unique AG étudié par ce modèle comme substrat initial. Il ne prend en compte que deux intermédiaires de l'isomérisation (les acides ruménique et vaccénique). De plus, cette étude a été menée que sur l'espèce ovine.

## **8.2. Modèles du métabolisme de la glande mammaire: synthèse *de novo*, désaturation et estérification**

### **8.2.1. Modèles empiriques**

**Le modèle de Glasser *et al.* (2008a)** est un modèle empirique basé sur la prédiction des flux d'AG sécrétés dans le lait à partir de 139 traitements distribués *in vivo* à des vaches laitières. Ce modèle permet de prédire les flux d'AG du lait à partir du flux mesuré des AG duodénaux et des AGV du rumen (C2 et BHBA) issus de la digestion ruminale ou après infusion des AG au niveau de l'abomasum. Les AG prédits sont les AG issus de la synthèse *de novo* (somme de C4:0 à C16:0), le total des AG à 18

carbones, les isomères porteurs de liaison *cis*9 tels que le *cis*9-C18:1, *cis*9,*trans*11-CLA et *cis*9,*trans*13-C18:2, 4 isomères du C18:1, le C18:2 n-6 et le total C18:3.

Limites. Les variables indépendantes (AG duodénaux) de ce modèle sont difficilement mesurables sur le terrain. Il présente peu de données pour mettre en évidence l'effet des traitements technologiques des suppléments lipidiques. De plus, le nombre des isomères prédits est limité.

### 8.2.2. Modèles mécanistes

Différents modèles ont été proposés pour prédire les flux sécrétés des AG dans le lait à partir des AG ingérés, des AGV du rumen et du flux duodéal des AG.

**Les modèles de Hanigan et Baldwin (1994).** Ces auteurs ont été les premiers à proposer un modèle mécaniste de la synthèse des AG du lait. C'est un modèle dynamique et mécaniste décrivant le fonctionnement biochimique du fonctionnement d'une CEM, construit à partir de données *in vitro* et *in vivo*. A partir des flux d'atomes de carbone provenant du glycérol, des TG et des AA, ce modèle permet de prédire 3 groupes d'AG: les AG courts (de 4 à 8 carbones) et les AG moyens (de 10 à 16 carbones) issus de la synthèse *de novo* à partir du prélèvement mammaire d'acétate et de BHOB, et les AG longs (avec un nombre de carbones supérieur à 16) issus du prélèvement plasmatique des TG et des AGNE.

Limites. Malgré sa complexité, ce modèle ne différencie pas les AGS des AGI. L'activité de désaturation n'est pas quantifiée.

Dix ans après, **Shorten et al. (2004)** ont publié un modèle basé sur celui de Hanigan et Baldwin (1994) mais simplifié du point de vue biochimique. Ce modèle dynamique

prédit la sécrétion mammaire de TG et le profil simplifié en AG de la MG laitière : les AG ont en effet été regroupés en AG courts (de 4 à 14 carbones), moyens (C16:0 et *cis*9-C16:1) et longs (C18:0 et *cis*9-C18:1) à partir du prélèvement mammaire des AGV issus de la fermentation ruminale (C2 et BHBA) et des AG moyens et longs (C16:0, C18:0 et *cis*9-C18:1) incorporés dans les chylomicrons et VLDL. Ce modèle inclut une inhibition de la lipogénèse mammaire par les AG C16:0 et C18:0. Ainsi, ce modèle quantifie l'activité des enzymes responsables des principales voies biochimiques du métabolisme lipidique au niveau de la glande mammaire, telles que la synthèse *de novo* des AG courts et moyens (de 4 à 16 carbones) par les enzymes ACC et FAS ; le prélèvement plasmatique du C16:0, C18:0 et *cis*9-C18:1 par la LPL ; la désaturation du C16:0 et C18:0 en *cis*9-C16:1 et *cis*9-C18:1 par la  $\Delta$ -9-désaturase et l'estérification de ces AG sur le glycérol par les enzymes d'acylation (GPAT, LPAT et DGAT). Les flux des AG sécrétés dans le lait sont dépendants des variations des AG ingérés selon la composition du régime.

Limites. Comme le précédent, ce modèle ne prédit ni le profil en AGS, ni les principaux isomères des C18:1, C18:2 et C18:3.

**Le modèle de Moate *et al.* (2008b)** est un modèle mécaniste développé à partir de données *in vivo* issus de 120 traitements distribués à des vaches laitières (pâturage, rations complètes et supplémentées en lipides). Ce modèle permet de prédire 29 AG différents : des AG courts, moyens et longs (du C4:0 au C22:6 n-3) incluant des AG impairs et des isomères à 16 et 18 carbones. Pour cela, les variables indépendantes utilisées dans ce modèle correspondent à des caractéristiques de l'animal (PVIF, MSI, et jours de lactation) ou liées à la composition du régime. Ce modèle permet de prédire le flux des AG issus de la synthèse *de novo* mammaire (du C4:0 au C15:0); du C16:0

et *cis*9-C16:1; des AG issus du prélèvement plasmatique, ayant un nombre de carbones supérieur à 16; des AG à 17 carbones ; du C18:0, *cis*9-C18 :1 et le total C18:1 *trans* ainsi que des isomères individuels du C18:1 tels que les *trans*6+7+8, *trans*9, *trans*10, *trans*11 et *trans*12 du C18:1.

Limites. C'est un modèle construit à partir de régimes standards. Les variables indépendantes (AG absorbés) sont préalablement calculées par le modèle « Cornell-Penn-Miner » (CPM-Dairy) qui calcule les besoins des vaches laitières et l'apport d'énergie et de nutriments nécessaires.

En conclusion, à ce jour, concernant le métabolisme lipidique au niveau du rumen, les modèles mécanistes ont peu étudié séparément la lipolyse et la BHR (isomérisation et saturation) des lipides, à l'exception des modèles de Moate *et al.* (2008a) mais qui n'a étudié que la BHR de l'acide linoléique, et de Glasser *et al.* (2007). De plus, ces modèles ne considèrent qu'un nombre limité d'intermédiaires de la BHR alors que des études *in vitro* (Jenkins *et al.*, 2008; Lourenço *et al.*, 2010; Buccioni *et al.*, 2012) et *in vivo* (Harfoot, 1988; Shingfield *et al.*, 2008) ont caractérisé de nombreux isomères issus de la BHR. Pour les modèles empiriques, Moate *et al.* (2004), Glasser *et al.* (2008b) et Schmidely *et al.* (2008) ont permis de prédire les flux duodénaux des principaux groupes d'AG tels que les AG totaux et les sommes des C18:3, C18:2, C18:1 *trans*, C18:1 *cis* et C16:1. De plus, Glasser *et al.* (2008b) ont quantifié la BHR de l'acide linoléique et ont pris en compte l'impact de différents paramètres sur la BHR. Cependant, la BHR des différents isomères du C18:2 et du C18:3 n'a pas été quantifiée par ces modèles. Enfin, les effets de la quantité de lipides et de leur forme d'apport (fourrage, graine et huile ou matière grasse animale), ainsi que les caractéristiques du régime et des animaux et les paramètres digestifs n'ont été que peu ou pas pris en compte dans la modélisation du métabolisme lipidique ruminal.

Ainsi, l'un des objectifs de la thèse sera de prendre en compte une partie de ces éléments, en priorisant la modélisation empirique des processus de BHR pour obtenir une prédiction fine des différents isomères en sortie du rumen. Concernant le métabolisme lipidique au niveau de la glande mammaire, des modèles mécanistes et empiriques de la synthèse des AG du lait au niveau de la glande mammaire ont été proposés. Ils ont permis de prédire les AG courts et longs (Waghorn et Baldwin, 1984 ; Hanigan et Baldwin, 1994), cependant l'ensemble de ces modèles ont été construits sur des jeux limités de données à partir de rations standards, peu différentes. De plus, Shorten *et al.* (2004) et Glasser *et al.* (2008a) ont quantifié l'activité enzymatique de la désaturation et celle de l'estérification des AG. Mais une prédiction des flux sécrétés dans le lait avec un profil en AG plus détaillé à partir d'une large gamme des rations est envisageable actuellement, compte tenu des données disponibles dans la littérature.

## **CHAPITRE 2: OBJECTIFS DE LA THESE**

### III. CHAPITRE 2: OBJECTIFS DE LA THESE

Dans le cadre de l'évolution du système de rationnement des ruminants (projet Systali, INRA 2018) intégrant les réponses multiples des animaux aux apports alimentaires, la caractérisation de la nature des nutriments absorbés est une étape importante, en particulier pour piloter les réponses à ces flux de nutriments, comme c'est le cas de la composition de la MG laitière. Pour les nutriments énergétiques, une première étape a été franchie récemment par une prévision des AGV et du glucose absorbés (Nozière *et al.* 2011, Offner et Sauvant, 2004), et des principaux AG au niveau duodéal (Glasser *et al.*, 2008b ; Schmidely *et al.*, 2008) dans le cadre du projet Systali 2018. Cette étape restait toutefois insuffisante pour permettre une prévision satisfaisante des variations de TB ou des AG du lait par rapport aux nutriments absorbés. Le développement récent d'un modèle digestif plus précis et plus complet (Sauvant et Nozière, 2013a), et de tables de composition en AG des fourrages (Maxin *et al.*, 2013) offre une opportunité pour faire progresser d'une part la prévision à partir de l'alimentation des flux duodénaux et absorbés des AG, et d'autre part la prévision des réponses des AG du lait aux différents flux de nutriments sous-jacents (en particulier AG longs et AGV).

Ainsi, l'objectif général de la thèse est de prédire la composition fine de la MG du lait à partir des flux de nutriments absorbés. Pour cela, le travail de la thèse a été divisé en deux volets. L'objectif du premier volet consiste à développer un modèle empirique permettant de prédire les flux duodénaux et absorbés des différents AG en fonction des AG ingérés, de la composition chimique de la ration et d'indicateurs de la digestion ruminale (Publication 1).

L'objectif du deuxième volet est la création d'un modèle au niveau de la glande mammaire permettant de prédire les flux des AG sécrétés dans le lait à partir des flux

duodénaux des AG et de certains indicateurs de la digestion ruminale (Publication 2).

Ce travail de thèse se terminera par le couplage de ces modèles et leur validation avec un nouveau jeu de données comprenant des AG ingérés et des AG du lait.



## **CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES**

#### IV. CHAPITRE 3 : MATERIELS ET METHODES

Mes travaux de thèse sont basés sur l'utilisation d'une base de données (**BDD**) intitulée AGRum qui comporte des données publiées au niveau de lots d'animaux. Après une mise à jour (terminée en août 2015), cette BDD est actuellement composée de 104 publications (174 expérimentations avec 466 traitements) issues de la littérature entre les années 1972 et 2014. Elle a été construite à partir des études *in vivo* menées sur deux espèces de ruminants (bovins en croissance ou en lactation et ovins), avec des mesures associant d'une part l'ingestion des lipides et autres macronutriments de la ration, des paramètres physico-chimiques du rumen et du métabolisme microbien, et des flux duodénaux d'AG et d'autre part, des flux duodénaux d'AG et les flux des AG sécrétés dans le lait (bovins laitiers exclusivement). Elle comprend aussi des données de composition de la ration, d'ingestion, de digestion ruminale, de performances laitières et des caractéristiques des animaux (stade physiologique, âge, poids vif).

Pour la création de nos deux modèles permettant de quantifier d'une part, les AG issus de la digestion ruminale et d'autre part, les AG sécrétés dans le lait, nous sommes intéressés spécifiquement à la méta-analyse (modélisation statique, empirique et déterministe). L'objectif de ces modèles est de comprendre et quantifier les variations liées au régime sur le métabolisme des AG, principalement au niveau du rumen et de la glande mammaire, permettant de quantifier les différents phénomènes tels que la BHR, et au niveau de la glande mammaire la synthèse *de novo*, le prélèvement et la désaturation des AG. Notre approche de modélisation empirique est originale et s'appuiera sur les avancées du projet Systali et utilisera les données des Tables de composition des aliments INRA (INRA, 2010) afin de caractériser le plus précisément la composition chimique des rations. Notre approche permettra de décrire

et quantifier les mécanismes au niveau du rumen et de la glande mammaire selon différentes situations nutritionnelles (différents fourrages, rations pauvres ou riches en lipides, forme d'apport et nature variées de la supplémentation lipidique).

Après la sélection des données, les deux étapes requises pour élaborer nos modèles ont été le codage des expérimentations et des traitements, et la caractérisation des aliments de chaque étude, permettant par la suite d'estimer les paramètres digestifs grâce à l'application systool.fr (Chapoutot *et al.*, 2013).

### **1. Caractérisation des aliments permettant d'estimer les paramètres digestifs**

Tous les aliments (n = 283) de la BDD ont été codés à l'aide des aliments de la table INRA (INRA, 2010) à partir de leurs principaux composants chimiques (MS, NDF, amidon, AG totaux et parfois le profil en AG). Dans certains cas, lorsque la composition chimique n'était pas proche de l'aliment de référence (souvent liée à l'origine géographique) ou l'aliment n'était pas présent dans la table INRA, un codage spécifique a été attribué à cet aliment, ainsi qu'à sa composition chimique détaillée.

En effet, certaines études ne mentionnent pas la composition chimique de l'aliment ou du concentré. Dans ce cas, les auteurs et/ou industriels ont été contactés et/ou la composition a été recherchée sur d'autres bases (e.g. Feedipedia, Feedbase, USDA).

Pour l'ensilage de maïs (41 publications) et la luzerne fourragère (45 publications) dont la composition n'était pas donnée, une estimation selon l'origine géographique du fourrage a été faite. Pour les ensilages d'origine américaine, l'aliment de base choisi, selon la table NRC 2001, a été le « Silage, normal 32-38% DM » et son équivalent choisi dans la table INRA est l'aliment FE4720. Pour les ensilages d'origine française, la moyenne des valeurs nutritionnelles de l'ensemble des ensilages en conditions

normales présents dans la table INRA a été calculée et son ensilage équivalent a été le FE4710. Pour la luzerne fourragère sous forme d'ensilage et de foin (45 publications) sans la composition chimique mentionnée, la majorité des études (37 publications) a été menée aux Etats Unis. L'aliment a été choisi selon la littérature, ainsi l'ensilage de luzerne a été codé avec un mélange de FE4970 et FE5210 (50% chacun) et le foin a été codé avec l'aliment FD0040 de la table INRA. En plus des aliments, d'autres données ont été estimées : le PVIF et la MSI. Dans 32 expérimentations, le PVIF a été estimé en se basant sur la race, la quantité de matière sèche ingérée, le stade physiologique et la parité. Dans 3 expérimentations, la MSI a été estimée en se basant sur l'espèce, la race, et le stade physiologique.

Grâce à l'application Systool.fr (Chapoutot *et al.*, 2013), et suite à une actualisation du modèle d'alimentation et de rationnement INRA (Sauvant et Nozière, 2013b), la caractérisation de chaque aliment et sa proportion dans chaque régime ont permis de calculer les paramètres digestifs. De plus, l'application Systool.fr prend en compte les effets du niveau d'ingestion, de l'espèce animale, du PCO et de la balance protéique ruminale (**BPR**) sur les interactions digestives et sur les paramètres digestifs du rumen, dont la synthèse protéique microbienne, la matière organique fermentescible (**MOF**), le pH ruminal et le rapport acétate / propionate (**A/P**). Ces paramètres sont primordiaux pour l'étude des facteurs potentiels pouvant affecter les relations entre AG ingérés et AG duodénaux, et AG du lait, et leur prise en compte permettra donc d'améliorer les lois de réponses prédictives.

Finalement, afin d'augmenter la fiabilité de la caractérisation des aliments, les différents composants chimiques du régime (MS, NDF, teneur en protéines, amidon, AG totaux et le total C18:3, C18:2 et C18:1) observés dans les études ont été mis en relation avec celles de la table INRA calculés par Systool.fr. Cela a permis de valider

la caractérisation des aliments.

## **2. Codage des expérimentations et des traitements**

### **2.1 Codage expérimentation**

Un premier codage a été attribué à chaque étude en fonction des facteurs expérimentaux étudiés permettant de créer 4 sous-bases basées essentiellement sur la forme et l'origine des apports de lipides: 1) Fourrage ; 2) Graine ; 3) Huile végétale ou graisse animale (Huile/MG) et ; 4) co-produits de poissons et algues (Poisson).

Pour la sous-base « fourrage » composée des régimes comportant un ou plusieurs fourrages, la famille botanique (légumineuses et graminées) et le mode de conservation (pâturage, ensilage et foin) des fourrages ont été considérés comme facteurs d'étude alors que dans la sous-base « Graine » et « Huile/MG », la source lipidique et leurs procédés technologiques ont été pris comme facteurs d'expérimentation. Pour la sous-base « Poisson » incluant les suppléments d'origine marine (huiles ou farines de poisson, ou algues), les facteurs d'expérimentation sont le pourcentage de lipides dans le régime (régime témoin ou sans supplémentation lipidique vs régimes supplémentés en produits marins) et la source lipidique (produits marins vs huiles végétales ou MG animales).

### **2.2 Codage traitement**

Dans les trois sous-bases (Graine, Huile/MG et Poisson), les régimes témoins se référaient à des traitements sans supplément lipidique. Le code de la source lipidique se rapportait à la nature du supplément lipidique principal divisé comme suit: lipides végétaux, graisses animales (y compris les produits marins), graisses hydrogénées et

mélanges de MG animale et d'huile végétale. Le code pour les procédés technologiques (mécaniques ou chimiques) étaient les procédés à secs, hydrothermiques et mécaniques, et le formaldéhyde pour les graines, huiles végétales et les graisses animales, puis les amides, et enfin les savons de calcium. Les suppléments lipidiques n'ayant pas subi de procédé technologique ont été désigné comme « non protégé ».

## **CHAPITRE 4 : RESULTATS**

**V. CHAPITRE 4 : RESULTATS**

Cette partie se décompose en 2 volets : le premier porte sur la prédiction des flux duodénaux et absorbés des AG à partir des AG ingérés, des caractéristiques de la ration et d'indicateurs de la digestion ruminale. Ce travail a fait l'objet de la Publication 1 (acceptée à Animal). Le deuxième volet correspond à la prédiction des flux d'AG sécrétés dans le lait à partir de leur flux duodéal et aussi de certains paramètres digestifs. Ce travail concerne la Publication 2 (soumise à Journal of Dairy Science).



**PUBLICATION 1. MODELE RUMEN****« Prédiction des flux duodénaux et absorbés des acides gras à partir des caractéristiques alimentaires chez les ruminants: méta-analyse »**

Cette étude vise à déterminer les équations prédictives des flux duodénaux et absorbés des AG saturés, des isomères *cis* et *trans* du C18:1, du C18:2 et du C18:3, des AG impairs et ramifiés et des AG à longue chaîne (C20:5 n-3, C22:5 n-3 et C22:6 n-3) par une approche de méta-analyse. Les effets des facteurs alimentaires (nature des fourrages, nature et apport des suppléments lipidiques) et de certains paramètres digestifs ont été pris en compte dans ces équations. Les résultats montrent que la biohydrogénation ruminale (BHR) du C18:3 n-3 est plus élevée pour les modèles associés à l'apport d'huiles végétales/MG animales que pour ceux concernant les graines (BHR = 96,7% vs 94,8%). Pour les fourrages, la BHR est plus élevée pour les graminées que pour les légumineuses (plus particulièrement le trèfle violet qui est riche en poly-phénol oxydase). L'apport de C18:3n-3, C18:2n-6 ou d'amidon a augmenté le flux duodéal du *trans*11-C18:1 alors que le niveau d'ingestion l'a diminué. Le flux duodéal du C17:0 a augmenté avec la teneur en amidon et a diminué avec le pH ruminal, tandis que le flux duodéal de l'iso-C16:0 diminuait avec la teneur en NDF. Les flux duodénaux des C20:5 n-3, C22:5 n-3 et C22:6 n-3 étaient dépendants de leur niveau d'ingestion respectif. De plus, il a été démontré un effet inhibiteur du C22:6 n-3 sur le flux duodéal du C18:0, associé à un accroissement du *trans*11-C18:1. Cette étude a permis d'améliorer les prédictions des flux duodénaux et absorbés des AGT.

## **Predicting duodenal flows and absorption of fatty acids from dietary characteristics in ruminants: a meta-analysis approach**

L. A. Prado<sup>1</sup>, A. Ferlay<sup>1</sup>, P. Nozière<sup>1</sup> and P. Schmidely<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Université Clermont Auvergne, INRA, VetAgro Sup, UMR Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France*

<sup>2</sup> *AgroParisTech, INRA, UMR0791 Mosar, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris, France*

Corresponding author: Philippe Schmidely. E-mail:

[philippe.schmidely@agroparistech.fr](mailto:philippe.schmidely@agroparistech.fr)

Short title: predicting duodenal fatty acid flows from diets

### **Abstract**

Dietary and ruminal factors modify the ruminal biohydrogenation (RBH) of polyunsaturated fatty acids (FA), with duodenal FA flows being quantitatively and qualitatively different from FA intake. Using a meta-analysis approach from a database on duodenal flows of FA in ruminants, this study aimed to determine predictive equations for duodenal and absorbed flows of saturated FA, C18:1, C18:2 and C18:3 isomers, odd- and branched-chain FA (OBCFA), C20:5n-3, C22:5n-3 and C22:6n-3 and to quantify the effects of dietary and digestive factors on those equations. The database was divided into four subsets: Forage, Seed, vegetable oils or animal fats (Oil/fat), and fish products (Fish) subsets. Models of duodenal and absorbed FA flows were obtained through variance-covariance analysis. Effects of potential interfering factors (conservation mode and botanical families of forages, lipid source,

technological processing of lipid supplements, diet composition and animal characteristics) were analysed. We obtained 83 models for duodenal FA flows as a function of FA intake for saturated FA (C14:0, C16:0 and C18:0), C18:1, C18:2 and C18:3 isomers and 7 other models for OBCFA. Intakes of total C18:3, C18:2 and starch content increased the duodenal t11-C18:1 flow with +0.08, +0.16 and +0.005 g/kg of DM intake (DMI), respectively, whereas intake level  $[\text{DMI} \times 100/\text{BW}]$  decreased it. The c9c12c15-C18:3 RBH was higher for oil/fat than seed (96.7% vs 94.8%) and a protective effect of *Leguminosae* vs *Graminae* against RBH for that FA appeared in the Forage subset. The duodenal C17:0 flow increased with starch content and decreased with ruminal pH, respectively, whereas duodenal iso-C16:0 flow decreased with dietary NDF content for the Seed/oil/fat subset. The duodenal C20:5n-3, C22:5n-3 and C22:6n-3 flows depended on their respective intake and the inhibitory effect of C22:6n-3 on duodenal C18:0 flow was quantified. Thirteen models of absorbed FA flows were performed depending on their respective duodenal flows. This study determined the effects of different qualitative and quantitative dietary and digestive factors, allowing for improved predictions of duodenal and absorbed FA flows.

**Keywords:** biohydrogenation, fatty acids, meta-analysis, rumen, lipid supplementation

### **Implications**

Predictive equations of duodenal and absorbed flows of saturated fatty acids (FA), and unsaturated FA were derived from a large database in ruminants, including experimental factors (forage nature, nature and dose of lipid supplements). These equations depended on FA intake and interfering factors (conservation mode and botanical families of forages, diet composition and animal characteristics). They are the first step to predict the long-chain FA secreted in the milk or the FA profile in meat.

They could be included in the renewed INRA feed evaluation systems in ruminants.

## Introduction

The fatty acid (FA) in milk reflects a combination of ruminant specificities of lipid digestion, as well as mammary lipid metabolism (Chilliard *et al.*, 2007). In the rumen, biohydrogenation (RBH) of polyunsaturated FA leads to the production of geometric and positional isomers of FA with *trans* or *cis* double bonds and saturated FA (SFA), mainly C18:0. In the mammary gland, *de novo* FA synthesis produces C4:0 to C16:0 whereas medium (50% of C16:0) and long chain FA (FA having a number of carbons > 16) from chylomicrons or VLDL are taken up by lipoprotein lipase (Chilliard *et al.*, 2007). In early lactation, when animals are in negative energy balance, adipose reserves are mobilized and thus some plasma FA are originated from adipose tissue. In parallel with these phenomena, lipid supplementation remains the most effective way to modulate milk FA composition in ruminant.

Due to the extent of RBH, composition of duodenal FA and absorbed FA is very different from the intake. Glasser *et al.* (2008) and Schmidely *et al.* (2008) have quantified average regression models for duodenal and absorbed flows of some FA to dietary factors, especially lipid supplementation. They have highlighted the role of additional dietary factors, such as the source of lipids, the physical form (seed vs oil/fat) and the technological processing of lipid supplements on duodenal FA flows. However, the duodenal flows and absorption rates of C18:1, C18:2 and C18:3 isomers have not yet been predicted with accuracy, because of a lack of data and/or an insufficient separation of isomers during chemical analysis. In addition, odd and branched-chain FA (OBCFA) were not predicted. In the context of the new French INRA feed systems, there is an opportunity to re-evaluate the previous predictive equations of duodenal

and absorbed FA flows, including recent studies and characterizing the effects of dietary factors on duodenal FA flows with improved precision. Using a meta-analysis approach, the objectives are (1) to quantify duodenal flows and the absorption of different FA including C18:1, C18:2 and C18:3 isomers, OBCFA, MCFA and LCFA, and (2) to quantify more precisely the effects of dietary factors on the relationship between FA intake and duodenal flow.

## **Material and methods**

### *Selection of publications*

The AGRum database (IDDN.FR.001.510032.000.R.C.2011.000.10300) has been previously described (Glasser *et al.*, 2008; Schmidely *et al.*, 2008). Its update was performed with trials published between 2008 and 2014. The PRISMA diagram (Moher *et al.*, 2009) described the selection process of the peer-reviewed papers considered in this study (Supplementary Figure S1). Publications were taken from the Web of Knowledge and Science Direct research platforms, using the keywords: ruminant, cow, ewe, goat, sheep, biohydrogenation, duodenal FA, and digestion. Data with ruminal or post-ruminal infusion of nutrients were excluded.

The database was then composed of 104 publications (Supplementary Material 1) reporting 167 experiments ( $N_{\text{exp}}$ ) with a total of 437 treatments. The animal species are divided between bovine ( $N_{\text{trt}} = 358$ ) and ovine ( $N_{\text{trt}} = 79$ ). Dairy cows are the most studied animals among bovines ( $N_{\text{trt}} = 202$ ) followed by beef cattle ( $N_{\text{trt}} = 156$ ). The feedstuffs from the database were characterized according to the INRA feed tables (INRA, 2010) based on their reported chemical composition on a DM basis for crude protein (CP), NDF, starch, total FA and FA profile (Baumont, 2007; Maxin *et al.*, 2013).

### *Coding*

Codes were assigned to each study according to the experimental factors studied and then four database subsets were created: Forage, Seed, vegetable oils or animal fats (Oil/fat) and fish products (Fish) subsets. In the Forage subset, botanical families and their conservation mode (fresh or pasture, silage, and hay) were coded as experimental factors, with all diets based only on one or several forages called forage diets (Supplementary Table S1). In the Seed and Oil/fat subsets, the lipid source and their technological processing were coded as experimental factors, with two codes designated to each treatment according to lipid source and technological process. The Fish subset was created for studies including fish products (oil and meal), with the lipid percentage in the diet (no lipid supplement vs fish products) and the lipid source (fish oil or fish meal vs vegetable oil or animal fat) as experimental factors. In these three subsets, control diets referred to treatments without lipid supplement. The code for lipid source referred to the nature of the main lipid supplement divided as follows: vegetable source, animal fats (including fish products), hydrogenated fat and animal-vegetable blends. The code for technological processes referred to either dry, hydrothermal and mechanical processes, and formaldehyde treatment for seeds, and amide, Ca salts, encapsulated, and formaldehyde treatments for vegetable oils and animal fats, and amide and ca salts for fish products, respectively (Supplementary Table S1).

### *Variable selection criteria*

A preliminary selection of individual duodenal FA was made in order to have more than 50 treatments before relating each selected duodenal FA flow (dependent variable) with its respective FA intake (independent variable). Duodenal OBCFA (Fievez *et al.*, 2012) flows that arise mainly from microbial synthesis in the rumen and isomers of

C18:1, C18:2 and C18:3 flows were regressed against dietary data (e.g., concentrate, dietary starch and CP contents) or digestive parameters which may reflect or affect ruminal microbial activities, e.g., rumen protein balance (RPB), CP microbial synthesis, efficiency of microbial protein synthesis (EMPS), OM truly digested in the rumen, using the INRA model of feed and diet nutritive values (Sauvant and Nozière, 2013) implemented within the Sytool.fr. application (Chapoutot *et al.*, 2015) and ruminal pH and acetate/propionate (A/P) ratio measured in publications. Absorbed flows were calculated as the difference between duodenal flow and fecal flow or as the difference between ileal flow and fecal flow. Absorbed flows of saturated FA (C14:0, C16:0 and C18:0), total C18:1, C18:2 and C18:3, the main isomers (c9-C18:1, t11-C18:1, c9c12-C18:2 and c9c12c15-C18:3) and LCFA as C20:5n-3 (EPA), C22:5n-3 (DPA) and C22:6n-3 (DHA) were predicted from their respective duodenal flows. Different qualitative animal criteria (species and animal physiological stage), quantitative dietary factors [intake level [(DM intake x 100)/BW], concentrate percentage, diet chemical composition] and digestive parameters (predicted from Sytool.fr) were selected because of their putative effect on the predictive equations.

### *Statistical analyses*

*Description of the metadesign.* A description of each subset is presented in Supplementary Tables S2, S3, S4 and S5, respectively. The treatments from the Forage subset were presented according to conservation mode (Supplementary Table S2) or botanical families (Supplementary Table S3), while those from the Seed and Oil/fat subsets were described according to the control or lipid supplemented diets. For the Fish subset, we separated treatments into three groups: diets supplemented with fish products, other lipid supplements such as vegetable oils or animal fat and control diets without lipid supplement.

*Regression models of duodenal FA and absorbed FA.* Predictive models for duodenal FA were obtained for each subset using a variance-covariance analysis with a generalized linear model (GLM). In the models developed for intra-experiment variations, we considered ‘study effect’ as a fixed effect (Sauvant *et al.*, 2008). The true intra-experiment response of a dependent variable (Y) to variation in an independent variable (X) was calculated on experiments with a sufficient variation in X: a minimum threshold of variation at intake level ( $X_{\max} - X_{\min}$ ) was selected with the hypothesis that RBH of PUFA was 90% in order that the minimal variation range ( $Y_{\max} - Y_{\min}$ ) at duodenal level could be detectable by laboratory analysis. This threshold eliminated 30% to 50% of treatments according to the FA considered, that were further used for external validation (see model assessment section). However, this criterion was not applied to regressions using several independent variables to estimate duodenal FA, nor to predict absorbed FA flows from the duodenal flows. The models in equations 1 and 2 were used to describe the relationships between duodenal FA ( $FA_{duo}$ , g/kg DM intake, DMI) and FA intake ( $FA_{int}$ , g/kg DMI) and those between absorbed FA ( $FA_{abs}$ , g/kg DMI) and  $FA_{duo}$ . For absorbed FA models, the analysis included all experiments from the database without taking into account the separation into different subsets:

$$FA_{duo,ij} = \beta_0 + S_i + (\beta_1 + \beta_i) \cdot FA_{int,ij} + \varepsilon_{ij} \quad (1)$$

$$FA_{abs,ij} = \beta_0 + S_i + (\beta_1 + \beta_i) \cdot FA_{duo,ij} + \varepsilon_{ij} \quad (2)$$

where  $i$  = experiment index and  $j$  = treatment index.  $\beta_0$  is the overall intercept,  $S_i$  is the fixed effect of experiment  $i$ ,  $\beta_1$  is the overall regression slope,  $\beta_i$  is the fixed effect of experiment  $i$  on the slope and  $\varepsilon_{ij}$  is the unexplained residual error.



*Identification of potential additional factors.* We studied the influence of different factors on three regression parameters: the least square means of Y response (LSmeans), slope and residuals of the above equations. Firstly, a t-test was used to compare LSmeans and slope coefficients of the predictive equations between the Seed and Oil/fat subsets. If the coefficients were not significantly different between the 2 sets, data were pooled to retain a single regression for both subsets. Secondly, effects of quantitative (experiment means) and qualitative variables were analysed differently. A Pearson correlation test was applied to determine if the quantitative variables could have an effect on both the slope coefficients and LSmeans. The effect of qualitative variables on slope coefficients and LSmeans was assessed with a one-way analysis of variance (ANOVA). To test the influence of qualitative and quantitative factors on previously calculated residuals  $(y - \hat{y})$ , a one-way ANOVA was conducted for qualitative factors, and a linear global regression model (Eq. 3) was used for quantitative factors. For the Forage subset, in addition of the previous approach, a global linear regression was performed including two variables, mode of conservation and forage families, and their interactions with the FA intake for duodenal FA flows prediction (Eq. 4). To study the pure effect of forage families, treatments consisting of a blend of legumes and grasses were not taken into account. The following model was used:

$$(y - \hat{y})_{duo,j} = \beta_0 + \beta_1 \cdot Factor_j + \varepsilon_j \quad (3)$$

$$FA_{duo,j} = \beta_0 + (\beta_1 + FAM_j + CM_j) \cdot FA_{int,j} + FAM_j + CM_j + \varepsilon_j \quad (4)$$

where FAM and CM are forage families (*Gramineae*, and *Leguminosae*) and conservation mode (fresh or pasture, silage and hay), respectively.  $\beta_0$  is the overall intercept,  $\beta_1$  is the regression coefficient and  $\varepsilon_{ij}$  is the random residual error. All

statistical analyses were performed with the software Minitab® (version 17, State College, PA). We considered  $P < 0.05$  to be statistically significant and  $P < 0.10$  to represent a trend.

*Model assessments.* To evaluate the models, the coefficients of linear regressions between observed and predicted values were tested using a F-test in which the intercept was compared with zero and the slope was compared with unity. Furthermore, we selected experiments not included in the model (e.g., experiments with a range less than the defined threshold). Then, we calculated a linear regression between observed and predicted values for these experiments, which allowed for the determination of the mean square prediction error (MSPE) from Equation (5) (Bibby and Toutenburg, 1977). Three parameters of MSPE (Equations 6, 7 and 8) were studied: 1) the error in central tendency (ECT) that represents the amount the predictive model does not fit; 2) errors due to regression (ER) explaining the proportion of slope deviation; and 3) errors due to disturbance (ED) representing the optimal linear correction of the prediction model.

$$\text{MSPE} = \left( \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2}{n} \right) \quad (5)$$

$$\text{ECT} = (\overline{[\hat{y}_i]} - \overline{[y_i]})^2 \quad (6)$$

$$\text{ER} = (S_{\hat{y}} - r - S_y)^2 \quad (7)$$

$$\text{ED} = (1 - r^2) * S_y^2 \quad (8)$$

where  $\hat{y}$  was the predicted duodenal FA flow,  $y$  was the observed duodenal FA flow and  $n$  was the number of observations.  $S_{\hat{y}}$  and  $S_y$  are the standard deviation of the predicted and observed values, respectively. The  $r$  refers to the correlation coefficient.

## Results

### *Models from the Forage subset*

This section deals with duodenal flows of total FA, C18:0, total C18:1, C18:2, C18:3 and related isomers. The global model of duodenal total FA flow (Table 1) depended on the total FA intake. Duodenal C18:0 flow was dependent on C18:3 intake in the global and intra-experimental tests, without effects of total C18:2, total C18:1 and C18:0 intakes. The duodenal total C18:1 flow was positively dependent on total C18:1 and C18:3 intakes and negatively dependent on total C18:2 intake. Furthermore, the duodenal total C18:1 flow was dependent on intra-variation in total C18:1 and total C18:3 intakes. The global and intra-experiment models of duodenal total C18:2 and c9c12-C18:2 flows depended on the intake of their respective FA. The conservation mode and forage families did not affect the models of duodenal total C18:1, total C18:2 and c9c12-C18:2 flows (data not shown). The duodenal total C18:3 flow was positively related to total C18:3 intake. The global model of duodenal c9c12c15-C18:3 flow included an effect of c9c12c15-C18:3 intake (Table 1). Forage families affected the model of duodenal c9c12c15-C18:3 flow, with a significantly higher slope for *Leguminae* ( $0.20 \pm 0.03$ ) than for *Graminae* ( $0.03 \pm 0.01$ ) (Figure 1).

The global and intra-experiment models of c15-, t12-, t13+14- and t15-C18:1 presented a significant effect of total C18:3 intake. For c15- and t15-C18:1, the intra-experiment model was a better fit than the global model (Table 1). The intra-experiment model for duodenal c11-C18:1 flow and the global model of duodenal t9-C18:1 flow was related to total C18:1 intake. The duodenal c12- and t10-C18:1 flows were positively correlated with total C18:2 intake in global and intra-experiments, respectively. The global and intra-experiment models of duodenal t11-C18:1 flow presented a positive effect of total C18:3 and C18:1 intakes, and a negative effect of total C18:2 intake. Among the C18:2

isomers, the global and intra-experiment models of duodenal t11t13-CLA and t11c15-C18:2 flows were dependent on total C18:3 intake.

*Models from the Seed and Oil/fat subsets*

*Duodenal flows of total FA, C18:0, total C18:1, C18:2, and C18:3 and relative isomers.*

Duodenal total FA flow was significantly related to total FA intake (Table 2), with no difference between the subsets, suggesting that the physical form of lipid supplement had no influence (seed vs oil). For the model of duodenal C18:0 flow, the total C18:3, C18:2, and C18:1, and C18:0 intakes had significant effects. For duodenal total C18:1 flow, there was a positive intra-experiment effect of total C18:3, C18:2 and C18:1 intakes (Table 2). For total C18:1 model, we obtained a single equation for the Seed and Oil/fat subset. In contrast, the model of duodenal c9-C18:1 flow depended on c9-C18:1 intake and the physical form affected duodenal flows with a lower slope for the Seed than for the Oil/fat subsets ( $0.25 \pm 0.04$  vs  $0.32 \pm 0.03$ , respectively, Table 2). The intra-experiment model of duodenal c11-C18:1 and t9-C18:1 flows was related to total C18:1 intake. The global model of duodenal c11-C18:1 flow presented a significant effect of total C18:1 intake and concentrate percentage. The duodenal c12-, c15, t12-, t13+t14-, t15-C18:1 flows were positively correlated with total C18:3 intake in intra-experiments. The intra-experiment model of duodenal t10-C18:1 flow presented a significant effect of the interaction between FA intake and concentrate percentage, but interaction between c9c12-C18:2 intake and either concentrate percentage or starch content of the diet produced lower RMSE. In these 2 models including c9c12-C18:2 intake, residual analysis indicated on average -0.20 and -0.25 g duodenal t10-C18:1/kg DMI for the lipids fed as seeds, respectively. The duodenal t11-C18:1 flow indicated a significant effect of both total C18:2 and C18:3 intakes. The

duodenal total C18:2 and c9c12-C18:2 flows were positively related to their respective FA intakes.

The duodenal total C18:3 and c9c12c15-C18:3 flows depended on their respective FA intake, with slopes of  $0.049 \pm 0.004$  (seed) and  $0.035 \pm 0.05$  (oil/fat) for total C18:3 and  $0.052 \pm 0.003$  (seed) and  $0.035 \pm 0.004$  (oil/fat) for c9c12c15-C18:3, respectively. Concerning the models of duodenal total C18:3 and c9c12c15-C18:3 flows from Oil/fat subset, formaldehyde treatment presented an effect on regression residuals. For the c9c12c15-C18:3 intake, the formaldehyde treatment yielded high residuals (+0.59 g/kg DMI), but this was only due to two treatments (Figure 2), the calcium salts having no effect. The technological process had no effect on regression residuals for the model of c9c12-C18:2. Duodenal c9t11-CLA flow from the Oil/fat subset depended on the total C18:2 intake (slope =  $0.008 \pm 0.002$ , Table 2). We did not obtain a model from the Seed subset, perhaps due to insufficient data. There was a significant effect of C18:3 intake on duodenal t11t13-CLA flow, with no effect of the physical form (seed vs oil/fat) on the slope. For duodenal t10c12-CLA flow (Table 2 and Figure 3), data of Kucuk et al. (2004) obtained with a combination of 3.2 to 9.4% soybean oil in high concentrate diet (80% DM) are clearly higher than all others values in the literature. Without these data, the model for duodenal t10c12-CLA flow included the interaction between FA intake and concentrate percentage. A better prediction may be obtained with the interaction of c9c12-C18:2 and concentrate percentage, but with a smaller number of treatments. In both cases, intercept was not significant, but the inclusion of the interaction in the models reduced the RMSE. Duodenal t11c15-C18:2 flow depended on total C18:3 intake, with no effect of the physical form. In addition, none of the selected potential factors had a significant effect on the regression residuals (data not shown).

*Odd and branched-chain fatty acids.* The duodenal C15:0 flow was correlated with DMI, A/P ratio, OMD, EMPS and ruminal pH (Supplementary Table S6). Among these variables, A/P ratio had significant effect on the duodenal C15:0 flow (Table 2). The duodenal iso-C15:0 and anteiso-C15:0 flows were negatively related on A/P (Supplementary Table S6). The duodenal iso-C16:0 flow was dependent negatively on NDF content and positively on CP content (Supplementary Table S6). The duodenal C17:0 flow was positively affected by starch content and concentrate percentage, and negatively with DMI, NDF content, A/P ratio and ruminal pH (Supplementary Table S6). For duodenal iso-C17:0 and anteiso-C17:0 flows, intake level had a negative effect on both FA, whereas FA intake had a positive effect on duodenal iso-C17:0 flow (Table 2).

*Potential factors affecting duodenal flows of isomers of C18:1, C18:2 and C18:3 from the Seed and Oil/fat subsets.* The duodenal c9-C18:1 flow was positively correlated with starch content, concentrate percentage, and total FA intake, and negatively correlated with intake level, A/P ratio, and ruminal pH (Supplementary Table S7), c9-C18:1 intake and starch content x c9-C18:1 intake (Table 2). For duodenal c9c12-C18:2 flow from the Seed/Oil/fat subset, we observed in the global relationship an effect of starch when associated with c9c12-C18:2 intake. We obtained global and intra-experiment regressions with close intercepts and slopes between the two models. The duodenal c9c12c15-C18:3 flow from the Seed subset was not affected by any factor other than c9c12c15-C18:3 intake. For the Oil/fat subset, none of the correlated factors presented an effect on the duodenal c9c12c15-C18:3 flow when associated with c9c12c15-C18:3 intake (Table 2). The concentrate percentage was correlated with

the duodenal flows of c11-, t9-, and t15-C18:1, t10c12-CLA, t11c15-C18:2 and c9c12-C18:2 (Supplementary Table S7). The duodenal c11-C18:1 flow was a function of total C18:1 intake and concentrate percentage from the Oil/fat subset (Table 2). The intake level was correlated with the duodenal flows of c9- c11-, t11-, and t13+t14-C18:1 and t10c12-CLA (Supplementary Table S7). The duodenal t11-C18:1 flow from the Seed/Oil/fat subset was positively dependent on total C18:3 and C18:2 intakes and dietary starch but negatively on intake level (Table 2 and Supplementary Table S7). Furthermore, duodenal t10c12-CLA flow from the Seed/Oil/fat subset was affected negatively by concentrate percentage and total FA intake interaction (Table 2). The RPB had a negative effect on duodenal c11-C18:1 flow from the Seed subset, whereas the total C18:2 intake had a positive effect (Table 2 and Supplementary Table S7). Only the duodenal t11t13-CLA flow was a function of EMPS when associated with total C18:3 intake (Table 2).

#### *Models from the Fish subset*

This section deals with duodenal flows of total FA, C18:0, cis and trans-C18:1 isomers, EPA, DPA and DHA. The duodenal total FA flow was predicted, taking into account total FA intake (Table 3). Duodenal C18:0 flow was positively related to total C18:3 intake and negatively to DHA intake. Duodenal t11-C18:1 flow was positively dependent on total C18:3 and C18:2, and DHA intakes. Duodenal t10-C18:1 flow was negatively correlated to total C18:3 intake and positively to C18:2 and DHA intakes. The duodenal DPA flow had a quadratic relationship with DPA intake and the model for duodenal DHA flow (Figure 4) presented a linear effect of DHA intake and also a quadratic effect of DHA intake x DHA intake, with significant slopes ( $0.10 \pm 0.02$  and  $-0.020 \pm 0.006$ , respectively).

*Absorbed FA prediction*

Absorbed total FA and C18:0 flows were linearly related to their respective duodenal flows (Table 4). Similarly, the absorbed flows of total C18:1, c9-C18:1, total C18:2, c9c12-C18:2 and LCFA (EPA + DPA + DHA) depended on their corresponding duodenal FA flow. The model of absorbed c9c12-C18:2 flow had a slope value higher than that of absorbed total C18:2 flow (1.02 vs 0.70, respectively), as well as a lower RMSE (0.10 vs 0.27 g/kg DMI, respectively). For the models of absorbed total C18:3 and c9c12c15-C18:3 flows, duodenal total C18:3 and c9c12c15-C18:3 flows had a significant effect, respectively.

*Evaluated models*

The evaluation procedures were only applied to models from the Seed and Oil/fat subsets because of the amount of available data. We obtained 15 evaluated models from the 32 performed models from the Seed and Oil/fat subsets (Supplementary Table S8). Ten of the 15 models (c9- and t13+t14-C18:1, total C18:3, c9c12c15-C18:3 from the Seed subset; c9- and t13+t14-C18:1 from the Oil/fat subset; and total FA, total C18:2, c9c12-C18:2 and t9-C18:1 from the Seed/oil/fat subset) presented regression coefficients close to the expected value of 1. For the c15-C18:1 and t10c12-CLA model (from the Seed/oil/fat subset), the regression coefficient was less than 1, and for total C18:3 and c9c12c15-C18:3 (from the Oil/fat subset) and t11t13-CLA (from the Seed/oil/fat subset) the regression coefficients were higher than 1. The regression between observed duodenal flows of total FA and c9c12c15-C18:3 and predicted duodenal flows of these FA from the performed models are described in the Figure 5 and Figure 6, respectively.



Concerning the MSPE parameters, errors due to disturbance accounted for the majority of the errors in 13 models (c9- and t13+t14-C18:1, total C18:3 and from the Seed subset; c9- and t13+t14-C18:1, total C18:3, c9c12c15-C18:3 and from the Oil/fat subset; and total FA, t9-C18:1, total C18:2, c9c12-C18:2 and t10c12-CLA from the Seed/oil/fat subset). In the models of duodenal flows of c15-C18:1 and t11t13-CLA from Seed/oil/fat subset, the majority of the MSPE was allocated to errors due to regression. When the errors due to disturbance accounted for the majority of MSPE, we observed that regression between predicted and observed data presented a good fit with the  $Y=X$  model.

## Discussion

The separation of the database into different subsets was essential to highlight the FA digestion according to the nature of lipid supplements or forages. For the Seed, Oil/fat and Fish subsets, the intra-experiment relationships were close to the global ones, indicating that the prediction of these flows was probably not biased. For the Forage subset, these relationships were sometimes different, probably because the conservation mode and forage families, were confounded with c9c12c15-C18:3 and c9c12-C18:2 intakes, respectively. Previous meta-analysis (Glasser *et al.*, 2008; Schmidely *et al.*, 2008) were compared with the present models for total FA, total C18:2, total C18:3 and c9c12-C18:2. Overall, the independent variables are the same between the previous models and those proposed in this study, with the exception of c9c12c15-C18:3 which was not calculated by Glasser *et al.* (2008). In addition, despite currently having more data, the regression coefficients of the previous and current models are very similar.

*Forage subset*

Overall slope of the relationship between duodenal flow of total FA and total FA intake was apparently low (0.63) but this is mainly due to the significant intercept of that relationship (8.11 g FA/kg DMI), suggesting that microbial synthesis may contribute largely to the duodenal flow of total FA. It can however not be ruled out that methodological considerations during lipid extraction may affect that relationship (Christie and Han, 2010). The RBH of c9c12c15-C18:3 was on average 94%, similar to the mean of 92.7% observed by Doreau *et al.* (2005), with forage families and conservation mode confounded. Moreover, the different slopes of the duodenal c9c12c15-C18:3 flow models between forage families may be explained by the presence of red clover silage in the diets offered to cattle, a *Leguminosae* rich in polyphenol oxidase with a likely inhibitory effect on RBH (Van Ranst *et al.*, 2011). However, this difference in RBH between *Leguminosae* and *Graminae* could be rather attributed to a modification of the bacteria activity with a decrease in microbial protein synthesis when grass silage was replaced by red clover silage (Halmemies-Beauchet-Filleau *et al.*, 2013b). No effect of the conservation mode on the c9c12c15-C18:3 RBH was found in our study, in disagreement with Doreau *et al.* (2005), where the RBH of c9c12c15-C18:3 was more extensive (+6.4%) for fresh grass than hay. The lack of conservation mode effect in our subset could be explained by the fact that low and high intakes of c9c12c15-C18:3 were associated to hay and fresh grass, respectively (Supplementary Table S2).

*Seed and Oil/fat subsets*

For Seed and Oil/fat subsets, the regression coefficients of total duodenal C18:3 and duodenal c9c12c15-C18:3 on their respective intake were not different. Glasser *et al.* (2008) found a slope of  $0.05 \pm 0.01$  for duodenal total C18:3, representing 95% of RBH.

The c9c12c15-C18:3 model from the Seed subset presented a RBH lower than the Oil/fat model with 94.8% and 96.5%, respectively, but this difference is relatively low. This slightly limited RBH is probably due to seed hulls delaying the c9c12c15-C18:3 release for the microbes. The models of C18:2 isomers (c9t11-CLA, t11t13-CLA, t10c12-CLA and t11c15-C18:2) were independent of the physical form of lipid supplements (seed vs oil/fat), and therefore, this factor does not seem to affect the first RBH step. The t11c15-C18:2 and t11t13-CLA were produced during the c9c12c15-C18:3 RBH (Shingfield *et al.*, 2010, Ferlay *et al.*, 2017). Moreover, the duodenal t11c15-C18:2 flow is greater than that of t11t13-CLA, which could be explained by the fact that t11c15-C18:2 comes from a major pathway of linolenic acid RBH, while t11t13-CLA comes from a minor pathway (Shingfield *et al.*, 2010a).

The models for the different C18:1 isomers as a function of total C18:2 and total C18:3 intakes, had slopes less than 0.1, with the exception of c9-, t11- and t10-C18:1, indicating that these three FA are major isomers of C18:1 at the duodenum (Table 2). Indeed, t11-C18:1 is the main C18:1 isomer, originating both from c9c12-C18:2 and c9c12c15-C18:3 RBH (Harfoot et Hazlewood, 1997). Furthermore, c9-C18:1 could be isomerized to t11-C18:1. However, we did not find any effect of c9-C18:1 intake on duodenal t11-C18:1 flow, suggesting that this isomerization rate is low and/or rapid (Laverroux *et al.*, 2011). For the t10-C18:1 model, the duodenal flow was higher with oil/fat than with the seed form. This could be linked to the rate of oil release from raw seed, which is possibly more gradual than directly from the oil (Chilliard *et al.*, 2009). The low slope of the models is valuable for the 2 subsets Forage and Seed/oil/fat, suggesting similarities of formation of isomers of C18:1 during the RBH pathway whatever the dietary ingredient (forage or oleaginous).

Our models indicated that the main variable driving the duodenal flows of t10-C18:1 and t10c12-CLA is the combination of total FA intake (or c9c12-C18:2 intake) and percentage of concentrate. More specifically, we quantified the specific effect of starch intake which seems to be a major determinant of the duodenal flows of these FA when associated with c9c12-C18:2 intake. This interaction reflects the changes in microbial population within the rumen associated when high starch with high unsaturated lipid diets are fed, leading to the preferential development of bacterial species such as *Propionibacterium acnes* (Devillard *et al.*, 2006) and/or *Megasphaera elsdenii* (Kim *et al.*, 2002) that are known to synthesize t10c12-CLA from c9c12-C18:2. Although different *in vitro* studies have shown an appearance of t10-C18:1 from c9c12c15-C18:3 (Ferlay *et al.*, 2017), we found no effect of c9c12c15-C18:3 intake on duodenal t10-C18:1 flow in our meta-analysis.

We proposed predictive equations for the duodenal OBCFA flows, with a positive effect of starch intake on duodenal C17:0 flow, a positive effect of NDF content on duodenal C15:0 flow, a negative effect of concentrate percentage on duodenal iso-C16:0 flow and a negative effect of A/P on duodenal iso-C15:0 and anteiso-C15:0 flows (Table 3). These effects could be related to bacterial metabolism as increasing starch content in the diet favours amyolytic bacterial activity, whereas the NDF content increases that of cellulolytic bacteria (Vlaeminck *et al.*, 2006). Vlaeminck *et al.* (2015) demonstrated positive relationships between amyolytic bacteria and anteiso-, linear and odd-chain FA and between cellulolytic bacteria and iso-FA. In addition, Belanche *et al.* (2012) demonstrated a positive effect of high dietary NDF on duodenal OBCFA flows. We found a positive effect of RPB on duodenal flows of C15:0 and iso-C16:0, in agreement with Vlaeminck *et al.* (2015). An increasing intake level is associated with a decrease in OM truly digested in the rumen and thus a decrease in availability of nutrients to

bacteria, thereby explaining the negative effects of intake level on duodenal iso- and anteiso-C17:0 flows.

#### *Fish subset*

The DPA had a lower RBH than EPA and DHA (67%, 95% and 94%, respectively), in agreement with Kairenius *et al.* (2011). These latter authors suggest that RBH of EPA or DHA involves the initial removal of the double bond between carbon atoms 4 and 5, while DPA does not have a double bond in this position, explaining a lower RBH of DPA compared to EPA and DHA. Nevertheless, in a recent *in vitro* study, Aldai *et al.* (2018) indicate that firstly the *cis*13 double bond of DHA migrates to the adjacent position 14 reversing its geometry from *cis* to *trans*, forming the *trans*14,*cis*16 system. Other models showed inhibitory or positive effects of DHA on the different steps of C18 RBH. The DHA intake as well as the LCFA intake had a negative effect on the duodenal C18:0 flow and a positive effect on duodenal t10- and t11-C18:1 flows, in agreement with Lourenco *et al.* (2010) and Shingfield *et al.* (2010b), that reported that EPA and DHA inhibited both the last step of RBH and the bacteria growth, increasing the *trans* FA and CLA content in the rumen. This effect was not found in our study with EPA or DPA intake, although they were correlated with DHA intake.

In conclusion, this meta-analysis proposes predictive equations for different FA that have not been predicted previously: isomers derived from RBH that affect animal lipid metabolism, notably the milk fat depression; OBCFA, which are specific bacterial FA used for diagnostic of rumen function, and EPA, DPA and DHA from fish products. These predictive equations add to the body of quantitative knowledge on FA digestion. However, the effects of different dietary factors (*e.g.*, lipid source, conservation mode of forage and forage families) have not been demonstrated in our models due to low

amounts of available data. In the current context, understanding and controlling the ruminal digestion of FA, and the effects of different qualitative and quantitative diet variations, is essential to improve the quality of ruminant products (meat and milk).

### **Acknowledgements**

The authors would like to acknowledge Neovia and Limagrain for their financial support. In addition, we would like to thank Mr. Patrick Chapoutot from INRA-UMR0791 Mosar team for granting us permission to work on the Systool model and its help on feedstuff characterisation.

### **References**

AbuGhazaleh AA and Jenkins TC 2004. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science* 87, 645–651.

Baumont R 2007. Nutrition des ruminants: Nouvelles tables INRA pour les fourrages. *Point vétérinaire*.

Belanche A, Doreau M, Edwards JE, Moorby JM, Pinloche E and Newbold CJ 2012. Shifts in the rumen microbiota due to the type of carbohydrate and level of protein ingested by dairy cattle are associated with changes in rumen fermentation. *Journal of Nutrition* 142, 1684–1692.

Bernard L, Leroux C and Chilliard Y 2008. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. In *Bioactive Components of Milk*, pp. 67–108. Springer New York, New York, NY.

Chapoutot P, Martin O, Nozière P and Sauvant D 2015. Systool Web, a new one-line application for the French INRA « systali » project. In the 66th annual meeting of the European Society of Animal Science, p. 265. Wageningen Academic Publishers, Warsaw, PL.

Chapoutot P, Nozière P and Sauvant D 2013. 'Systool', a new calculator for the new French 'Systali' project. In 64th Annual Meeting of the European Association Federation of Animal Science (ed. Wageningen Academic Publishers), p. 138. Nantes.

Chilliard Y, Glasser F, Ferlay A, Bernard L, Rouel J and Doreau M 2007. Diet, rumen

biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 828–855.

Chilliard Y, Martin C, Rouel J and Doreau M 2009. Milk fatty acids in dairy cows fed whole crude linseed, extruded linseed, or linseed oil, and their relationship with methane output. *Journal of Dairy Science* 92, 5199–5211.

Dawson RM and Kemp P 1969. The effect of defaunation on the phospholipids and on the hydrogenation of unsaturated fatty acids in the rumen. *Biochemical Journal* 115, 351–352.

Dijkstra J, Gerrits WJJ, Bannink A and France J 2000. Modelling lipid metabolism in the rumen. In *Modelling nutrient utilization in farm animals.*, pp. 25–36. CABI, Wallingford.

Doreau M, Bauchart D and Chilliard Y 2011. Enhancing fatty acid composition of milk and meat through animal feeding. *Animal Production Science* 51, 19.

Doreau M, Lee MRF, Ueda K and Scollan ND 2005. Métabolisme ruminal et digestibilité des acides gras des fourrages. In *Rencontres Recherches Ruminants*, pp. 101–104. Paris, FR.

Ferlay A, Bernard L, Meynadier A and Malpuech-Brugère C 2017. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie* 141, 107–120.

Fievez V, Colman E, Castro-Montoya JM, Stefanov I and Vlaeminck B 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function - An update. *Animal Feed Science and Technology* 172, 51–65.

Glasser F, Schmidely P, Doreau M and Sauvant D 2007. Biohydrogénation des acides gras longs dans le rumen : développement d'un modèle dynamique à partir de données in vitro. *Rencontres Recherches Ruminants* 14, 342.

Glasser F, Schmidely P, Sauvant D and Doreau M 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal* 2, 691–704.

Halmemies-Beauchet-Filleau A, Vanhatalo A, Toivonen V, Heikkilä T, Lee MRF and Shingfield KJ 2013. Effect of replacing grass silage with red clover silage on ruminal lipid metabolism in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *Journal of Dairy Science* 96, 5882–5900.

Hanigan MD and Baldwin RL 1994. A mechanistic model of mammary gland metabolism in the lactating cow. *Agricultural Systems* 45, 369–419.

Harfoot CG and Hazlewood GP 1997. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem*, pp. 382–426. Springer Netherlands, Dordrecht.

Harvatine KJ and Allen MS 2006. Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. *The Journal of nutrition* 136, 677–685.

- Harvatine KJ and Allen MS 2006. Effects of fatty acid supplements on feed intake, and feeding and chewing behavior of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 1104–1112.
- Jarrige R, Grenet E, Demarquilly C and Besle JM 1995. Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères. In *Nutrition des ruminants domestiques-ingestion et digestion*, pp. 25–81.
- Kairenius P, Toivonen V and Shingfield KJ 2011. Identification and ruminal outflow of long-chain fatty acid biohydrogenation intermediates in cows fed diets containing fish oil. *Lipids* 46, 587–606.
- Laverroux S, Glasser F, Gillet M, Joly C and Doreau M 2011. Isomerization of vaccenic acid to cis and trans c18:1 isomers during biohydrogenation by rumen microbes. *Lipids* 46, 843–850.
- Maxin G, Glasser F, Doreau M and Baumont R 2013. Préviation de la teneur en matières grasses et de la composition en acides gras des fourrages. In *Rencontres Recherches Ruminants*, pp. 49–52. Paris, FR.
- Moate P., Chalupa W, Jenkins T. and Boston R. 2004. A model to describe ruminal metabolism and intestinal absorption of long chain fatty acids. *Animal Feed Science and Technology* 112, 79–105.
- Moher D, Liberati A, Tetzlaff J and Altman DG 2009. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Public Library of Science Medicine* 6, 264–269.
- Van Ranst G, Lee MRF and Fievez V 2011. Red clover polyphenol oxidase and lipid metabolism. *Animal* 5, 512–521.
- Ribeiro CVDM, Eastridge ML, Firkins JL, St-Pierre NR and Palmquist DL 2007. Kinetics of fatty acid biohydrogenation in vitro. *Journal of dairy science* 90, 1405–1416.
- Sauvant D, Giger-Reverdin S, Serment A and Broudiscou L 2011. Influences des régimes et de leur fermentation dans le rumen sur la production de méthane par les ruminants. *Productions Animales* 24, 433–446.
- Sauvant D and Nozière P 2013. Integrative model of the digestive tract including the interactions involved in energy and protein digestion in ruminants. In *Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production*, pp. 317–318. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, NL.
- Sauvant D, Schmidely P, Daudin JJ and St-Pierre NR 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal* 2, 1203–1214.
- Schmidely P, Glasser F, Doreau M and Sauvant D 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. *Animal* 2, 677–690.
- Shingfield KJ, Bernard L, Leroux C and Chilliard Y 2010a. Role of trans fatty acids in



the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal* 4, 1140–1166.

Shingfield KJ, Lee MRF, Humphries DJ, Scollan ND, Toivonen V, Reynolds CK and Beever DE 2010b. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. *British Journal of Nutrition* 104, 56–66.

Shorten PR, Pleasants TB and Upreti GC 2004. A mathematical model for mammary fatty acid synthesis and triglyceride assembly: the role of stearoyl CoA desaturase (SCD). *Journal of Dairy Research* 71, 385–397.

Vlaeminck B, Gervais R, Rahman MM, Gadeyne F, Gorniak M, Doreau M and Fievez V 2015. Postruminal synthesis modifies the odd- and branched-chain fatty acid profile from the duodenum to milk. *Journal of Dairy Science* 98, 4829–4840.

Yáñez-Ruiz DR, Scollan ND, Merry RJ and Newbold CJ 2006. Contribution of rumen protozoa to duodenal flow of nitrogen, conjugated linoleic acid and vaccenic acid in steers fed silages differing in their water-soluble carbohydrate content. *British Journal of Nutrition* 96, 861–869.

**Table 1** Predictions of duodenal flows of total fatty acids (FA), selected saturated FA, total C16:1, C18:1, C18:2 and C18:3, cis and trans isomers of C18:1, C18:2 and C18:3, and odd and branched-chain FA (OBCFA) from forage diets in ruminants

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
Total FA <sub>duo</sub> <sup>5</sup>	Total FA <sub>int</sub> <sup>6</sup>	Global	8.11 (1.68)	0.63 (0.09)	2.95	0.62		31
C14:0 <sub>duo</sub>	C14:0 <sub>int</sub>	Global	0.09 (0.03)	1.01 (0.15)	0.08	0.69		30
C16:0 <sub>duo</sub>	C16:0 <sub>int</sub>	Global	1.19 (0.33)	0.53 (0.08)	0.60	0.57		31
C18:0 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Global	3.87 (0.77)	0.62 (0.08)	2.09	0.61		41
C18:0 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp. <sup>7</sup>	5.05 (1.24)	0.51 (0.15)	1.41	0.67	10	37
Total C16:1 <sub>duo</sub>	Total C16:1 <sub>int</sub>	Global		0.06 (0.02)	0.03	0.86		31
Total C18:1 <sub>duo</sub>		Global	2.09 (0.43)		1.01	0.84		46
	Total C18:3 <sub>int</sub>			0.17 (0.07)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>			-0.61 (0.21)				
	Total C18:1 <sub>int</sub>			1.13 (0.20)				
Total C18:1 <sub>duo</sub>		Intra-exp.			0.45	0.97	13	43
	Total C18:3 <sub>int</sub>			0.16 (0.05)				
	Total C18:1 <sub>int</sub>			1.04 (0.28)				
c9-C18:1 <sub>duo</sub>	c9-C18:1 <sub>int</sub>	Global	-0.82 (0.40)	0.44 (0.03)	5.58	0.60		162
c9-C18:1 <sub>duo</sub>	c9-C18:1 <sub>int</sub>	Intra-exp.		1.65 (0.71)	0.65	0.78	10	34
c11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:1 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.06 (0.02)	0.02	0.73	9	31
c12-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Global	0.015 (0.004)	0.006 (0.001)	0.01	0.49		21
c15-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Global		0.019 (0.003)	0.04	0.79		26
c15-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp.	0.05 (0.02)	0.005 (0.003)	0.02	0.94	7	24
t9-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:1 <sub>int</sub>	Global	0.036 (0.004)	0.005 (0.002)	0.01	0.14		26
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.06 (0.02)	0.04	0.37	6	21
t11-C18:1 <sub>duo</sub>		Global			0.15	0.87		26
	Total C18:3 <sub>int</sub>			0.17 (0.02)				

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
	Total C18:2 <sub>int</sub>			-0.31 (0.06)				
	Total C18:1 <sub>int</sub>			0.50 (0.13)				
t11-C18:1 <sub>duo</sub>		Intra-exp.			0.13	0.90	7	26
	Total C18:3 <sub>int</sub>			0.19 (0.02)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>			-0.33 (0.06)				
	Total C18:1 <sub>int</sub>			0.54 (0.13)				
t12-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.012 (0.002)	0.01	0.69	5	19
t13+t14-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.03 (0.01)	0.05	0.67	4	14
t15-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Global	0.08 (0.02)	0.008 (0.003)	0.05	0.25		21
t15-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.016 (0.003)	0.02	0.82	6	19
Total C18:2 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Global		0.15 (0.01)	0.24	0.85		30
Total C18:2 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.16 (0.04)	0.12	0.95	8	30
c9c12-C18:2 <sub>duo</sub>	c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	Global		0.09 (0.02)	0.15	0.37		31
c9c12-C18:2 <sub>duo</sub>	c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.11 (0.03)	0.08	0.79	7	26
t11t13-CLA <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.0024 (0.0004)	0.003	0.92	5	14
t11c15-C18:2 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Global		0.016 (0.005)	0.05	0.39		14
t11c15-C18:2 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Intra-exp.		0.018 (0.005)	0.04	0.56	5	14
Total C18:3 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Global		0.09 (0.02)	0.36	0.46		44
c9c12c15-C18:3 <sub>duo</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>int</sub>	Global	0.57 (0.16)	0.06 (0.02)	0.19	0.88		26
OBCFA								
C15:0 <sub>duo</sub>	A/P <sup>8</sup>	Global		0.293 (0.093)	0.10	0.60		7
Iso-C15:0 <sub>duo</sub>	Total FA <sub>int</sub> x total FA <sub>int</sub>	Global	0.142 (0.017)	0.0002 (0.00004)	0.04	0.51		23
Anteiso-C15:0 <sub>duo</sub>	Total FA <sub>int</sub> x Total FA <sub>int</sub>	Global	0.240 (0.035)	0.0003 (0.00008)	0.08	0.51		20

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
C17:0 <sub>duo</sub>	Total FA <sub>int</sub> x Total FA <sub>int</sub>	Global	0.160 (0.013)	0.00014 (0.00003)	0.03	0.51	23	
Iso-C17:0 <sub>duo</sub>	NDF	Global	-0.049 (0.009)	0.00022 (0.00002)	0.004	0.94	10	
Anteiso-C17:0 <sub>duo</sub>	NDF	Global	-0.102 (0.014)	0.00039 (0.00003)	0.006	0.96	10	

Data were represented by the mean (standard error); <sup>1</sup> DMI = DM intake; <sup>2</sup> RMSE = Root mean square error; <sup>3</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments; <sup>4</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>5</sup> duo = duodenal flows; <sup>6</sup> int = intake; <sup>7</sup> Intra-exp. = intra-experiment; <sup>8</sup> A/P = acetate/propionate ratio.

**Table 2** Predictions of duodenal flows of total fatty acids (FA), selected saturated FA, total C16:1, C18:1, C18:2 and C18:3, cis and trans isomers of C18:1, C18:2 and C18:3, and odd and branched-chain FA (OBCFA) from diets supplemented with seeds, vegetable oils or animal fats in ruminants

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Subset	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Nexp <sup>3</sup>	Ntrt <sup>4</sup>
Total FA <sub>duo</sub> <sup>5</sup>	Total FA <sub>int</sub> <sup>6</sup>	Seed/Oil/fat	Intra-exp. <sup>7</sup>	6.87 (1.39)	0.87 (0.03)	6.27	0.93	57	152
C14:0 <sub>duo</sub>	C14:0 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.	0.33 (0.04)	0.54 (0.05)	0.12	0.87	20	52
C16:0 <sub>duo</sub>	Total C16:1 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.	1.43 (0.19)	1.07 (0.24)	0.95	0.97	59	144
	C16:0 <sub>int</sub>				0.79 (0.02)				
Total C16:1 <sub>duo</sub>	Total C16:1 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.	0.14 (0.03)	0.14 (0.03)	0.09	0.72	13	34
C18:0 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.	6.48 (0.70)	0.25 (0.05)	3.06	0.94	104	267
	Total C18:2 <sub>int</sub>				0.52 (0.05)				
	Total C18:1 <sub>int</sub>				0.46 (0.04)				
	C18:0 <sub>int</sub>				0.62 (0.08)				
Total C18:1 <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat	Intra-exp.			1.98	0.87	95	232
	Total C18:3 <sub>int</sub>				0.29 (0.03)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>				0.24 (0.03)				
	Total C18:1 <sub>int</sub>				0.29 (0.03)				
c9-C18:1 <sub>duo</sub>	c9-C18:1 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.		0.25 (0.04)	1.64	0.91	7	21
c9-C18:1 <sub>duo</sub>	c9-C18:1 <sub>int</sub>	Seed	Global		-0.09 (0.04)	0.13	0.95		14
	Starch				0.008 (0.001)				
	Total FA <sub>int</sub>				0.047 (0.006)				
	c9-C18:1 <sub>int</sub> X Starch				-0.0008 (0.0002)				
c9-C18:1 <sub>duo</sub>	c9-C18:1 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.		0.32 (0.03)	1.50	0.89	17	43
c11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.	0.12 (0.04)	0.013 (0.002)	0.05	0.96	8	25

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Subset	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Nexp <sup>3</sup>	Ntrt <sup>4</sup>
c11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub> RPB <sup>8</sup>	Seed	Global		0.018 (0.002) -0.003 (0.001)	0.09	0.81		25
c11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:1 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.	0.21 (0.04)	0.017 (0.004)	0.13	0.72	14	36
c11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:1 <sub>int</sub> PCO <sup>9</sup>	Oil/fat	Global	-0.20 (0.08)	0.012 (0.004) 0.009 (0.001)	0.16	0.60		42
c12-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.	0.09 (0.03)	0.007 (0.002)	0.05	0.77	3	10
c12-C18:1 <sub>duo</sub>		Oil/fat	Intra-exp.			0.07	0.85	12	29
	Total C18:3 <sub>int</sub>				0.009 (0.002)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>				0.016 (0.002)				
c15-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.		0.025 (0.004)	0.19	0.7	9	21
t9-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:1 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.		0.018 (0.005)	0.1	0.3	11	32
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.		0.037 (0.006)	0.15	0.92	5	14
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.		0.15 (0.03)	0.61	0.92	6	13
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	PCO x total FA <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp		7.6 E-4 (1.1 E-4)	1.30	0.75	16	43
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	PCO x c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp		1.8 E-3 (0.2 E-3)	1.10	0.80	16	43
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	Starch x c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp		5.8 E-4 (1.0 E-4)	1.03	0.84	8	19
t11-C18:1 <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat	Intra-exp.			0.98	0.82	25	69
	Total C18:3 <sub>int</sub>				0.12 (0.02)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>				0.07 (0.02)				
t11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Global		0.08 (0.02)	1.30	0.76		43
	Total C18:2 <sub>int</sub>				0.16 (0.03)				
	Intake level				-0.93 (0.26)				
	Starch				0.005 (0.002)				
t12-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.	0.07 (0.02)	0.023 (0.001)	0.03	0.98	3	10
t12-C18:1 <sub>duo</sub>		Oil/fat	Intra-exp.			0.1	0.9	12	27
	Total C18:3 <sub>int</sub>				0.018 (0.003)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>				0.020 (0.003)				

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Subset	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	Nexp <sup>3</sup>	Ntrt <sup>4</sup>
t13+t14-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.		0.093 (0.005)	0.14	0.98	2	7
t13+t14-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.		0.07 (0.01)	0.38	0.89	4	8
t15-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.		0.035 (0.004)	0.13	0.92	6	12
Total C18:2 <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.	1.19 (0.16)	0.09 (0.01)	0.69	0.85	59	158
c9c12-C18:2 <sub>duo</sub>	c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.	0.87 (0.09)	0.07 (0.01)	0.31	0.93	23	66
c9c12-C18:2 <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat	Global			0.55	0.87		36
	c9c12-C18:2 <sub>int</sub>				0.06 (0.01)				
	Starch				0.0045 (0.0008)				
c9t11-CLA <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.		0.008 (0.002)	0.11	0.6	12	33
t11t13-CLA <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.		0.0033 (0.0002)	0.01	0.94	7	17
t11t13-CLA <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat	Global	0.14 (0.05)		0.02	0.79		52
	Total C18:3 <sub>int</sub>				0.0045 (0.0003)				
	EMPS <sup>10</sup>				-0.006 (0.002)				
t10c12-CLA <sub>duo</sub>	Total C18:2 <sub>int</sub> x total C18:2 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.		0.00007 (0.00001)	0.02	0.88	17	47
t10c12-CLA <sub>duo</sub>	PCO x total FA <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.	-0.005 (0.004)	1.2 E-5 (1.8 E-6)	0.017	0.68	22	66
t10c12-CLA <sub>duo</sub>	PCO x c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.		2.1 E-5 (2.2 E-6)	0.016	0.71	20	59
t11c15-C18:2 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed/Oil/fat	Intra-exp.		0.018 (0.005)	0.56	0.66	7	17
Total C18:3 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.	0.26 (0.06)	0.049 (0.004)	0.15	0.94	9	28
Total C18:3 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.	0.28 (0.05)	0.035 (0.004)	0.17	0.89	18	44
c9c12c15-C18:3 <sub>duo</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>int</sub>	Seed	Intra-exp.	0.28 (0.04)	0.052 (0.003)	0.09	0.98	5	17
c9c12c15-C18:3 <sub>duo</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>int</sub>	Oil/fat	Intra-exp.	0.27 (0.05)	0.035 (0.004)	0.16	0.90	15	36
OBCFA									
C15:0 <sub>duo</sub>	A/P <sup>11</sup>	Seed/Oil/fat	Global	0.59 (0.06)	-0.07 (0.02)	0.09	0.22		48
Iso-C15:0 <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat	Global	0.27 (0.09)		0.03	0.62		27
	DMI				0.0003 (0.0001)				

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Subset	Regression	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
	A/P				-0.080 (0.015)				
Anteiso-C15:0 <sub>duo</sub>	A/P	Seed/Oil/fat	Global	1.30 (0.14)	-0.29 (0.04)	0.10	0.57		31
Iso-C16:0 <sub>duo</sub>	A/P	Seed/Oil/fat	Global	-0.09 (0.04)	0.001 (0.0003)	0.03	0.46		21
C17:0 <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat				0.11	0.37		62
	CP <sup>12</sup>				0.0017 (0.0005)				
	Total FA <sub>int</sub>				0.0035 (0.0006)				
Iso-C17:0 <sub>duo</sub>		Seed/Oil/fat	Global	0.12 (0.02)		0.02	0.46		21
	Intake level				-0.020 (0.007)				
	Total FA <sub>int</sub>				0.0007 (0.0002)				
Anteiso-C17:0 <sub>duo</sub>	Intake level	Seed/Oil/fat	Global	0.32 (0.34)	-0.07 (0.01)	0.04	0.50		28

Data were represented by the mean (standard error); <sup>1</sup> DMI = DM intake; <sup>2</sup> RMSE = Root mean square error; <sup>3</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments; <sup>4</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>5</sup> duo = duodenal flows; <sup>6</sup> int = intake; <sup>7</sup> Intra-exp. = intra-experiment; <sup>8</sup> RPB = rumen protein balance; <sup>9</sup> PCO = percentage of concentrate; <sup>10</sup> EMPS = efficiency of microbial protein synthesis; <sup>11</sup> A/P = acetate/propionate ratio; <sup>12</sup> CP = crude protein content.



**Table 3** Predictions of duodenal flows of total fatty acids (FA) and selected saturated, monounsaturated and polyunsaturated FA from diets supplemented with fish products in ruminants

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
Total FA <sub>duo</sub> <sup>5</sup>	Total FA <sub>int</sub> <sup>6</sup>	11.46 (3.55)	0.78 (0.07)	5.80	0.85	7	33
C14:0 <sub>duo</sub>	C14:0 <sub>int</sub>	0.33 (0.05)	0.46 (0.04)	0.18	0.86	12	38
C16:0 <sub>duo</sub>	Total C16:1 <sub>int</sub>		0.59 (0.16)	0.69	0.98	13	40
	C16:0 <sub>int</sub>		0.91 (0.03)				
C18:0 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	20.1 (1.22)	0.29 (0.09)	2.85	0.92	13	40
	DHA <sub>int</sub> <sup>7</sup>		-6.38 (0.63)				
C18:0 <sub>duo</sub>	Total C18:0 <sub>int</sub>	16.2 (1.95)	5.25 (1.29)	2.74	0.93	11	35
	LCFA <sub>int</sub> <sup>8</sup>		-2.26 (0.23)				
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>		-0.08 (0.02)	0.51	0.88	6	21
	Total C18:2 <sub>int</sub>		0.06 (0.02)				
	DHA <sub>int</sub>		0.57 (0.15)				
t10-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>		-0.07 (0.02)	0.56	0.86	6	21
	Total C18:2 <sub>int</sub>		0.07 (0.03)				
	LCFA <sub>int</sub>		0.21 (0.06)				
t11-C18:1 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>		0.20 (0.05)	1.25	0.86	7	24
	Total C18:2 <sub>int</sub>		0.12 (0.05)				
	DHA <sub>int</sub>		2.16 (0.35)				

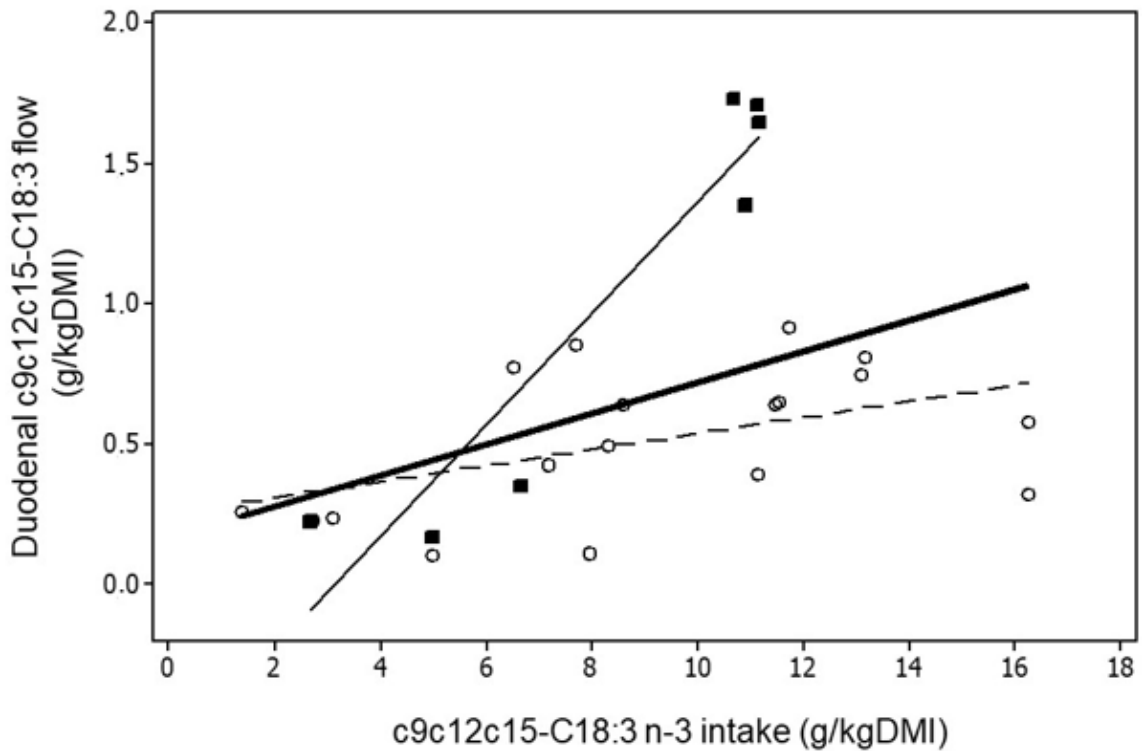
Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
t11-C18:1 <sub>duo</sub>				1.21	0.87	7	24
	Total C18:3 <sub>int</sub>		0.25 (0.05)				
	Total C18:2 <sub>int</sub>		0.17 (0.05)				
	LCFA <sub>int</sub>		0.88 (0.14)				
c9-C18:1 <sub>duo</sub>	c9-C18:1 <sub>int</sub>	1.24 (0.26)	0.11 (0.03)	0.32	0.74	7	24
c9c12-C18:2 <sub>duo</sub>	c9c12-C18:2 <sub>int</sub>	1.64 (0.22)	0.04 (0.01)	0.31	0.93	4	14
Total C18:3 <sub>duo</sub>	Total C18:3 <sub>int</sub>	0.51 (0.07)	0.039 (0.004)	0.15	0.93	6	19
c9c12c15-C18:3 <sub>duo</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>int</sub>	0.49 (0.07)	0.039 (0.004)	0.15	0.93	6	19
EPA <sub>duo</sub> <sup>9</sup>	EPA <sub>int</sub>	0.05 (0.01)	0.05 (0.01)	0.04	0.81	11	32
DPA <sub>duo</sub> <sup>10</sup>	DPA <sub>int</sub> × DPA <sub>int</sub>	0.034 (0.006)	0.78 (0.08)	0.03	0.84	11	34
DHA <sub>duo</sub>		0.031 (0.006)		0.02	0.84	13	39
	DHA <sub>int</sub>		0.10 (0.02)				
	DHA <sub>int</sub> × DHA <sub>int</sub>		-0.020 (0.006)				

Data were represented by the mean (standard error); <sup>1</sup> DMI = DM intake; <sup>2</sup> RMSE = Root mean square error; <sup>3</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments; <sup>4</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>5</sup> duo = duodenal flows; <sup>6</sup> int = intake; <sup>7</sup> DHA = C22:6n-3; <sup>8</sup> LCFA = sum of EPA + DPA + DHA; <sup>9</sup> EPA = C20:5n-3; <sup>10</sup> DPA = C22:5n-3.

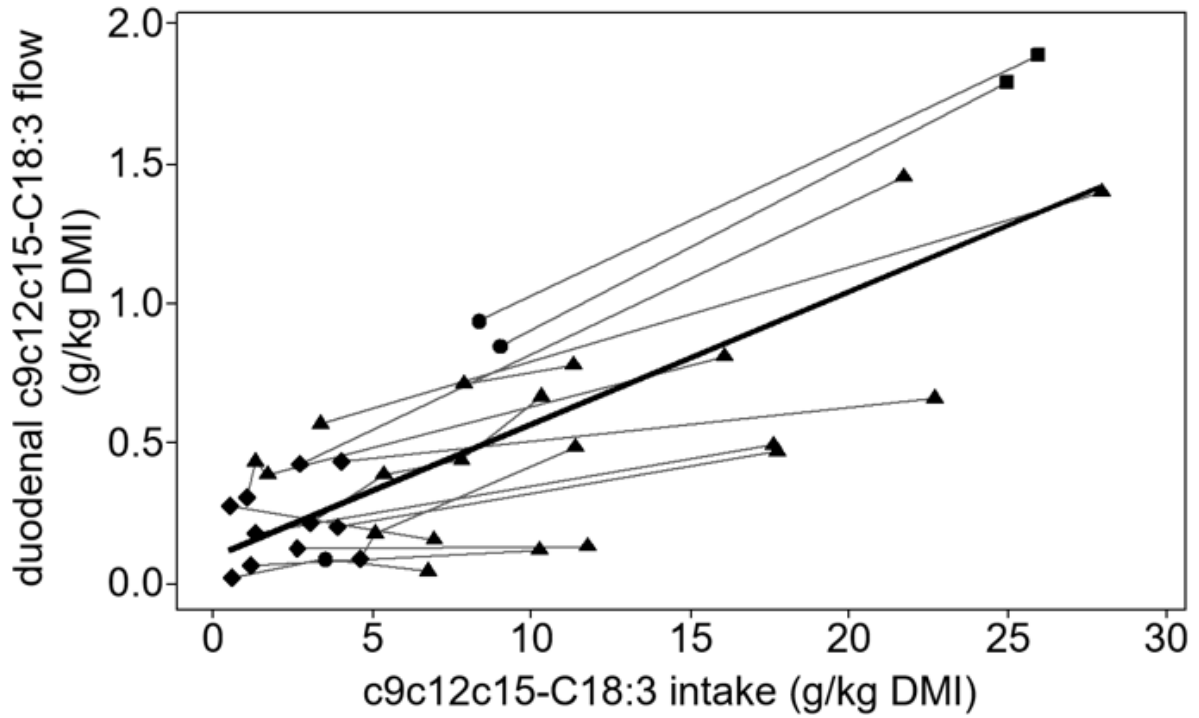
**Table 4** Predictions of absorbed fatty acid (FA) flows from duodenal flows of total FA, selected saturated FA, total and isomers of C18:1, C18:2 and C18:3, and long chain FA in ruminants

Dependent variable (Y, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Independent variable(s) (X, g/kg DMI)	Intercept ( $\mu$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>2</sup>	R <sup>2</sup>	N <sub>exp</sub> <sup>3</sup>	N <sub>trt</sub> <sup>4</sup>
Total FA <sub>abs</sub> <sup>5</sup>	Total FA <sub>duo</sub> <sup>6</sup>	4.29 (0.97)	0.65 (0.02)	3.90	0.96	80	208
C14:0 <sub>abs</sub>	C14:0 <sub>duo</sub>	-0.10 (0.01)	0.92 (0.03)	0.03	0.97	32	84
C16:0 <sub>abs</sub>	C16:0 <sub>duo</sub>		0.75 (0.02)	0.66	0.97	71	180
C18:0 <sub>abs</sub>	C18:0 <sub>duo</sub>	5.25 (0.54)	0.49 (0.02)	2.14	0.96	68	172
Total C18:1 <sub>abs</sub>	Total C18:1 <sub>duo</sub>		0.79 (0.03)	0.22	0.87	43	121
c9-C18:1 <sub>abs</sub>	c9-C18:1 <sub>duo</sub>		0.88 (0.01)	0.15	0.99	22	63
Total C18:2 <sub>abs</sub>	Total C18:2 <sub>duo</sub>	0.42 (0.11)	0.70 (0.34)	0.27	0.97	71	182
c9c12-C18:2 <sub>abs</sub>	c9c12-C18:2 <sub>duo</sub>	-0.28 (0.06)	1.02 (0.03)	0.10	0.99	10	32
Total C18:3 <sub>abs</sub>	Total C18:3 <sub>duo</sub>		0.76 (0.02)	0.07	0.98	58	149
c9c12c15-C18:3 <sub>abs</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>duo</sub>		0.92 (0.02)	0.04	0.96	12	35
EPA <sub>abs</sub> <sup>7</sup>	EPA <sub>duo</sub>		0.95 (0.01)	0.01	0.99		16
DPA <sub>abs</sub> <sup>8</sup>	DPA <sub>duo</sub>		0.95 (0.02)	0.003	0.99		5
DHA <sub>abs</sub> <sup>9</sup>	DHA <sub>duo</sub>		0.96 (0.04)	0.01	0.98		10

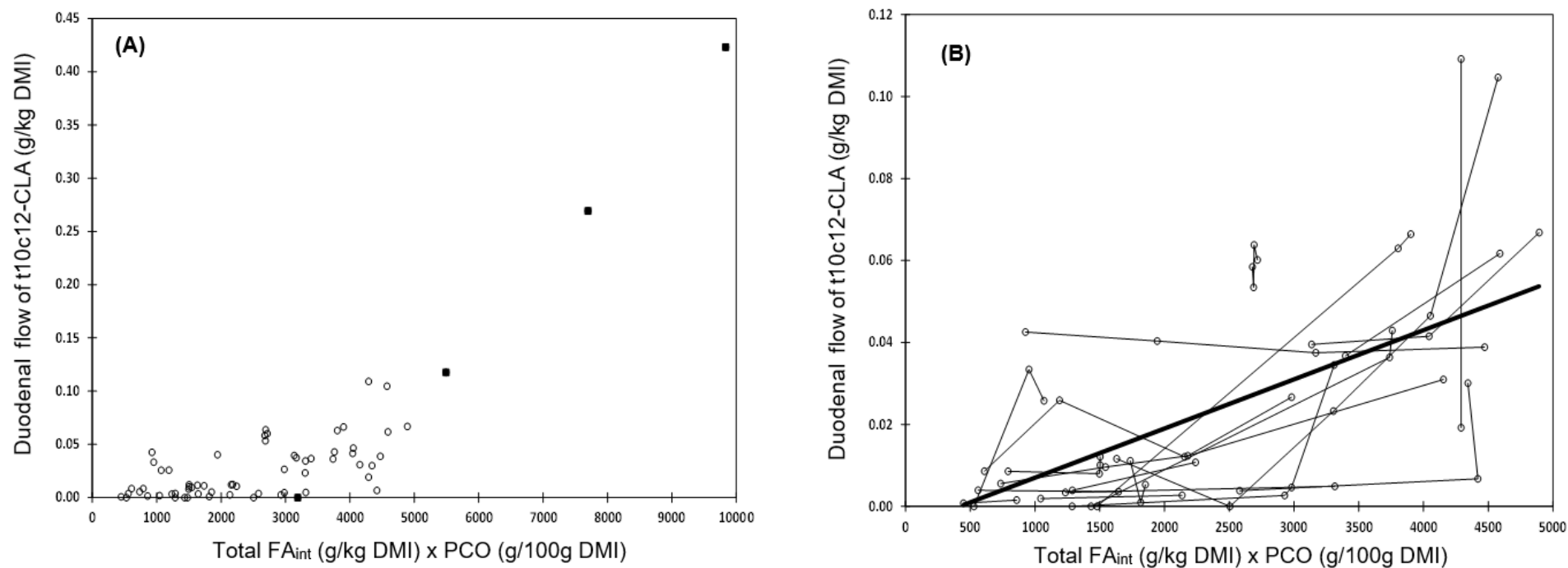
Data were represented by the mean (standard error); <sup>1</sup> DMI = DM intake; <sup>2</sup> RMSE = Root mean square error; <sup>3</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments; <sup>4</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>5</sup> abs = absorbed flows; <sup>6</sup> duo = duodenal flows; <sup>7</sup> EPA = C20:5n-3 ; <sup>8</sup> DPA = C22:5n-3 ; <sup>9</sup> DHA = C22:6n-3.



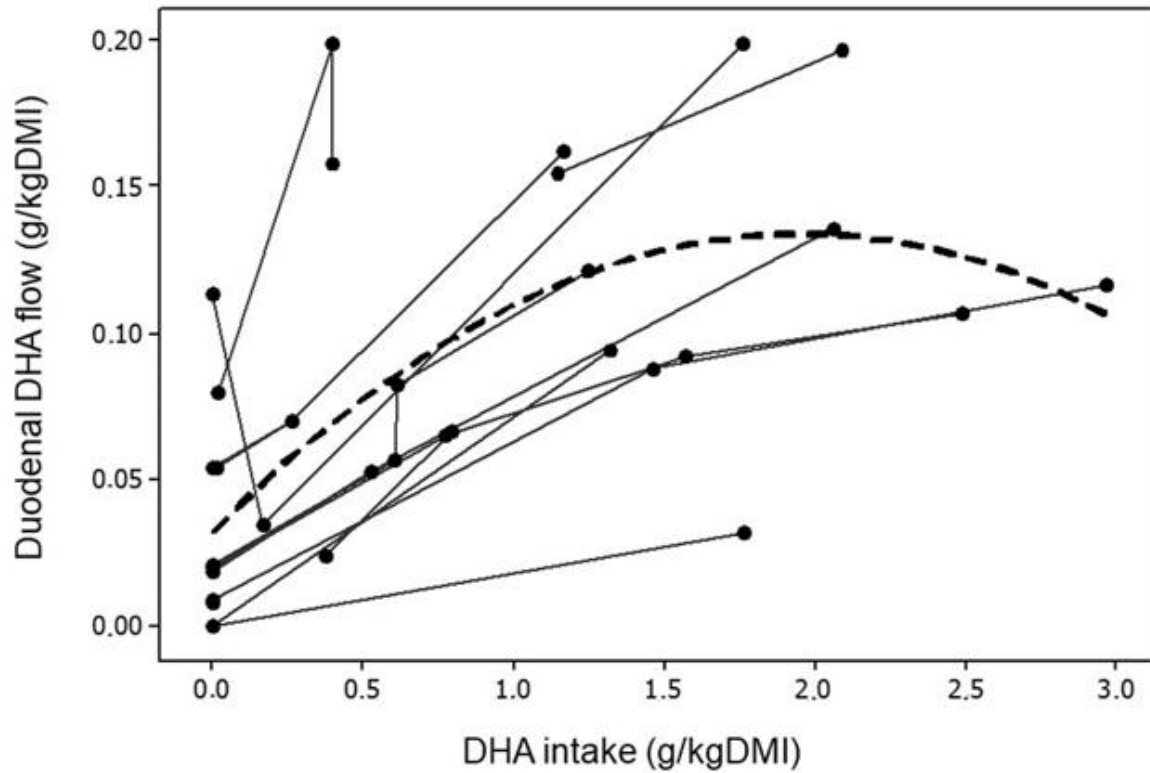
**Figure 1** Relationships between the ruminant duodenal flow of c9c12c15-C18:3 and c9c12c15-C18:3 intake from the Forage subset, where (■) are the *Leguminosae* data and (○) *Graminae* data. The bold full line (—), the thin full line (—), and the thin dashed line (- - -) show the global regression ( $Y = 0.06 \pm 0.02 \cdot X + 0.17 \pm 0.22$ , Ntrt = 25, RMSE = 0.45,  $R^2 = 0.18$ ), the regressions for *Leguminosae* ( $Y = 0.20 \pm 0.03 \cdot X - 0.63 \pm 0.28$ , Ntrt = 7, RMSE = 0.27,  $R^2 = 0.87$ ) and for *Graminae* data ( $Y = 0.03 \pm 0.01 \cdot X + 0.26 \pm 0.13$ , Ntrt = 18, RMSE = 0.24,  $R^2 = 0.18$ ), respectively.



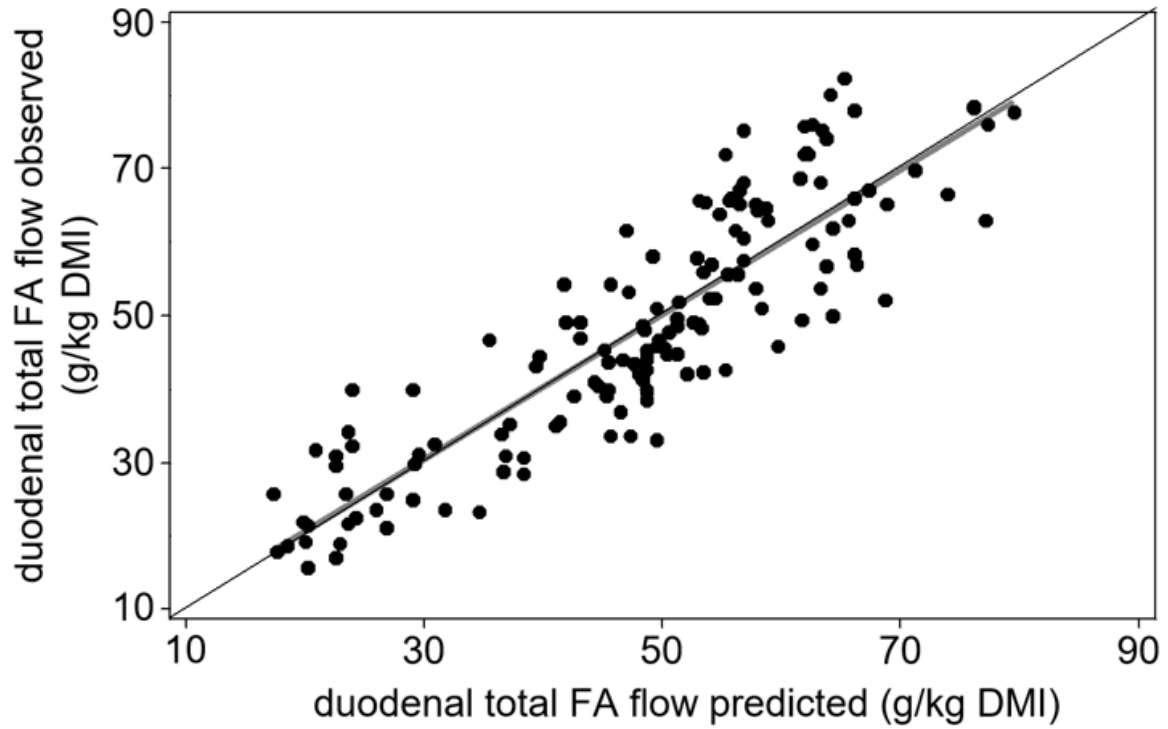
**Figure 2** Intra-experimental relationships between the ruminant duodenal flow of c9c12c15-C18:3 and c9c12c15-C18:3 intake from the Oil/fat subset, where (◆) are the control treatments without vegetable oils or animal fats, (▲) free lipids, (●) calcium salts and (■) formaldehyde-protected lipids.



**Figure 3** (A) Global relationship between ruminant duodenal flows of t10c12-CLA from the Seed/Oil/fat subset and the product between total dietary fatty acid intake (total FA<sub>int</sub>, g/kg dry matter intake) and percentage of concentrate (PCO, g/100 g dry matter intake). Data of Kucuk et al. (2004) are indicated as black squares. (B) Within-experiment relationship between ruminant duodenal flows of t10c12-CLA from the Seed/Oil/fat subset and the product between total FA<sub>int</sub> (g/kg dry matter intake) and PCO (g/100 g dry matter intake), with the exclusion of data from Kucuk et al. (2004), ( $Y = -0.005 + 1.2 \times 10^{-5}X$ ,  $N_{trt} = 66$ ,  $RMSE = 0.017$ ,  $R^2 = 0.68$ ).

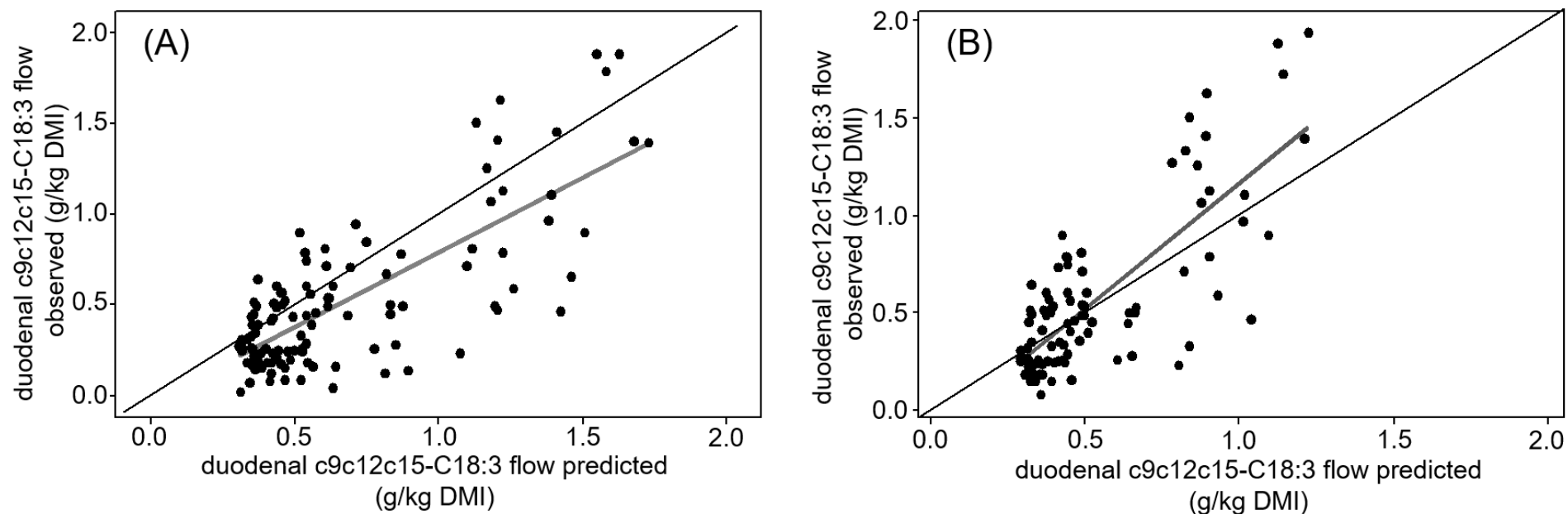


**Figure 4** Intra-experimental relationships between ruminant duodenal DHA flows and DHA intake. The bold dashed line (- - -) shows the quadratic fitted model. ( $Y = 0.031 \pm 0.006 + 0.10 \pm 0.02 \cdot X - 0.020 \pm 0.006 X^2$ , Ntrt = 39, RMSE = 0.02,  $R^2 = 0.84$ ).



**Figure 5** Relationship between observed ruminant duodenal total fatty acid (FA) flows and predicted duodenal total FA from the Seed/oil/fat subset. ( $Y = 0.99 \pm 0.04 \cdot X$ , Ntrt = 147, RMSE = 7.96,  $R^2 = 0.77$ ).



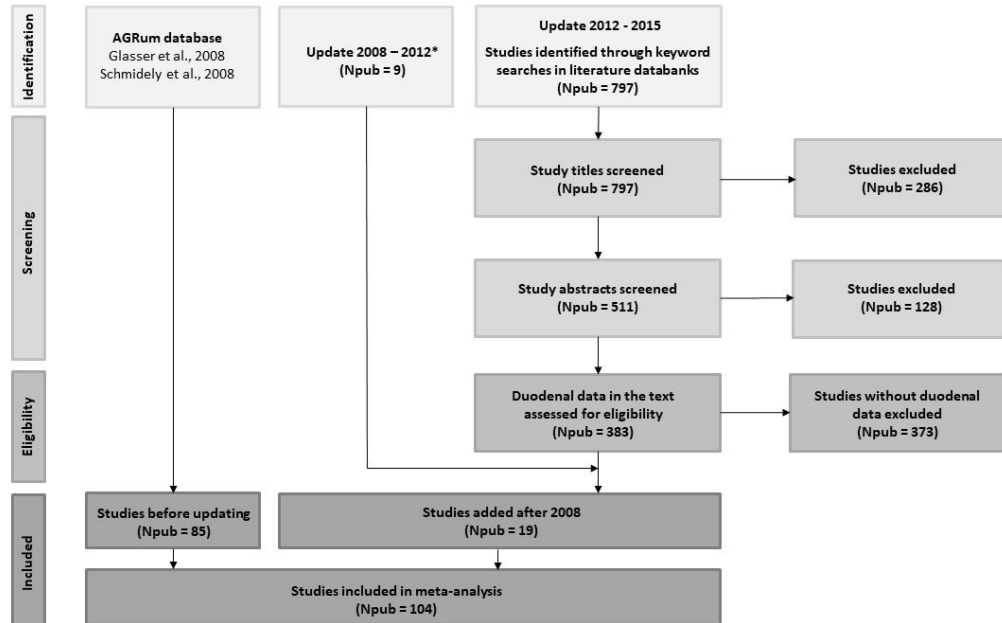


**Figure 6** (A) Relationship between observed and predicted ruminant duodenal flows of c9c12c15-C18:3 from the Seed subset ( $Y = 0.82 \cdot X$ , Ntrt = 114, RMSE = 0.27,  $R^2 = 0.57$ ). (B) Relationship between observed and predicted duodenal flows of c9c12c15-C18:3 from the Oil/fat subset (g/kg of dry matter intake), ( $Y = 1.29 \cdot X$ , Ntrt = 94, RMSE = 0.26,  $R^2 = 0.60$ ).

## Predicting duodenal flows and absorption of fatty acids from dietary characteristics in ruminants: a meta-analysis approach

L. A. Prado, A. Ferlay, P. Nozière and P. Schmidely

### Supplementary material



**Supplementary Figure S1** PRISMA diagram with details of the selection steps for the publications from the last database update. N<sub>pub</sub>, number of publications.

**Supplementary Table S1** Treatment coding according to lipid source and technological process of the main studied feedstuffs in diets

	Forage diet	Seed					Vegetable oil or animal fat						(number of treatments)
	Untreated	Control <sup>1</sup>	Raw	Dry and Hydrothermal processes	Mechanical process	Formaldehyde	Control <sup>1</sup>	Free	Amide	Ca salts	Encapsulated	Formaldehyde	
Forage diet	48												48
Control		32					66						98
Lipid source													
Cottonseed			9	1	2								12
Linseed			4	10	1		13			1	3		32
Palm							3		15				18
Rapeseed			3	4	4		7	1	5				24
Soybean			4	6	2		14	3	5	1			35
Sunflower			2	1	2		12				1		18
Other plants			19	11		4	12	1		2	3		52
Animal fat							24		1		2		27
Fish							36		1		5		42
Hydrogenated fat							11		1	3	2		17
Blend of Animal-vegetable fat							14						14
Total (number of treatments)	48	32	41	33	11	4	66	146	5	28	7	16	437

<sup>1</sup> without lipid supplementation.

**Supplementary Table S2** Description of Forage subset with intake level, concentrate percentage, diet chemical composition, duodenal fatty acid (FA) flows and digestive parameters calculated by Systool (ruminal pH, dMO, and acetate/propionate ratio) according to conservation mode of forage (fresh or pasture, silage and hay)

	Mode of conservation					
	Fresh		Hay		Silage	
	Ntrt <sup>1</sup>	mean ± s.e.	Ntrt	mean ± s.e.	Ntrt	mean ± s.e.
Intake level, % BW <sup>2</sup>	17	2.1 ± 0.07	13	2.4 ± 0.19	35	2.6 ± 0.12
Percentage of concentrate, %	17	2.1 ± 2.11	13	9.5 ± 5.1	35	9.6 ± 2.84
<b>Intake (g/kg of DMI<sup>3</sup>)</b>						
Crude protein (CP)	8	129 ± 14.8	5	127.1 ± 26.7	26	175 ± 7.00
NDF	8	508 ± 24.9	3	507 ± 100	30	465 ± 17.5
Starch					15	50.3 ± 9.80
Total fatty acids	16	21.1 ± 1.63	13	18.9 ± 3.76	35	23.0 ± 1.38
<b>FA intake (g/kg of DMI)</b>						
C14:0	10	0.1 ± 0.04	11	0.2 ± 0.06	24	0.3 ± 0.03
C16:0	10	3.2 ± 0.21	13	3.7 ± 0.73	29	4.7 ± 0.44
C18:0	10	0.3 ± 0.04	13	0.9 ± 0.39	29	0.6 ± 0.14
c9-C16:1	8	0.2 ± 0.05	12	0.4 ± 0.17	25	0.1 ± 0.02
c9-C18:1	7	0.4 ± 0.19	3	0.28 ± 0.05	28	0.6 ± 0.37
c9c12-C18:2	9	3.2 ± 0.49	4	2.8 ± 0.69	26	3.8 ± 0.27
c9c12c15-C18:3	9	9.9 ± 1.43	5	4.6 ± 1.09	28	8.3 ± 0.71
<b>Duodenal flows (g/kg of DMI)</b>						
Total fatty acids	16	20.4 ± 5.1	9	17.3 ± 8.2	22	24.1 ± 12.1
C14:0	9	0.3 ± 0.07	11	0.4 ± 0.12	24	0.35 ± 0.04
C16:0	10	2.7 ± 0.36	12	3.1 ± 0.85	24	3.9 ± 0.61

	Mode of conservation					
	Fresh		Hay		Silage	
	Ntrt <sup>1</sup>	mean ± s.e.	Ntrt	mean ± s.e.	Ntrt	mean ± s.e.
C18:0	10	8.8 ± 1.31	12	8.2 ± 1.67	34	9.8 ± 0.63
c9-C16:1	9	0.3 ± 0.09	11	0.4 ± 0.20	24	0.1 ± 0.03
c9-C18:1	7	0.4 ± 0.07	3	0.3 ± 0.03	28	0.6 ± 0.07
c9c12-C18:2	8	0.4 ± 0.06	3	0.3 ± 0.07	22	0.6 ± 0.12
c9c12c15-C18:3	8	0.5 ± 0.10	3	0.4 ± 0.20	20	0.9 ± 0.12
dMO, %	12	78.6 ± 1.36	5	72.1 ± 2.87	5	70.0 ± 3.00
Rumen pH	5	6.3 ± 0.10	3	6.3 ± 0.10	23	6.5 ± 0.04
Acetate/propionate ratio	12	3.4 ± 0.31	3	3.6 ± 0.22	19	3.6 ± 0.05

<sup>1</sup> Ntrt = number of treatments; <sup>2</sup> BW = body weight; <sup>3</sup> DMI = dry matter intake.

**Supplementary Table S3** Description of Forage subset with intake level, concentrate percentage, diet chemical composition, duodenal fatty acid (FA) flows and digestive parameters calculated by Systool (ruminal pH, dMO, and acetate/propionate ratio) according to botanical families of forages (Graminae or Leguminosae)

	Botanical families			
	Graminae		Leguminosae	
	$N_{\text{trt}}^1$	mean $\pm$ s.e.	$N_{\text{trt}}$	mean $\pm$ s.e.
Intake level, % BW <sup>2</sup>	39	2.28 $\pm$ 0.09	17	2.60 $\pm$ 0.19
Percentage of concentrate, %	39	5.77 $\pm$ 2.20	17	12.1 $\pm$ 4.79
<b>Intake (g/kg of DMI<sup>3</sup>)</b>				
Crude protein (CP)	18	126 $\pm$ 9.29	13	192 $\pm$ 8.82
NDF	20	543 $\pm$ 16.6	12	384 $\pm$ 20.7
Starch	5	35.6 $\pm$ 17.2	5	65.8 $\pm$ 16.3
Total fatty acids (FA)	38	19.5 $\pm$ 1.32	17	25.8 $\pm$ 2.81
<b>FA intake (g/kg of DMI)</b>				
C14:0	27	0.16 $\pm$ 0.03	12	0.26 $\pm$ 0.05
C16:0	31	3.63 $\pm$ 0.42	14	5.16 $\pm$ 0.62
C18:0	31	0.40 $\pm$ 0.06	14	1.30 $\pm$ 0.40
c9-C16:1	14	0.051 $\pm$ 0.007	3	0.08 $\pm$ 0.02
c9-C18:1	25	1.15 $\pm$ 0.20	7	0.46 $\pm$ 0.05
c9c12-C18:2	25	3.30 $\pm$ 0.31	7	3.72 $\pm$ 0.44
c9c12c15-C18:3	28	7.77 $\pm$ 0.80	7	8.31 $\pm$ 1.33
<b>Duodenal flows (g/kg of DMI)</b>				
Total fatty acids	30	22.2 $\pm$ 2.11	11	19.6 $\pm$ 1.86
C14:0	26	0.30 $\pm$ 0.05	12	0.41 $\pm$ 0.10
C16:0	28	3.10 $\pm$ 0.58	12	4.18 $\pm$ 0.67

	Botanical families			
	Graminae		Leguminosae	
	<b>N<sub>trt</sub></b> <sup>1</sup>	<b>mean ± s.e.</b>	<b>N<sub>trt</sub></b>	<b>mean ± s.e.</b>
C18:0	32	8.50 ± 0.86	15	10.5 ± 0.99
c9-C16:1	15	4.20 ± 1.56	3	0.06 ± 0.01
c9-C18:1	20	0.47 ± 0.05	10	0.62 ± 0.17
c9c12-C18:2	20	0.53 ± 0.14	7	0.50 ± 0.08
c9c12c15-C18:3	18	0.51 ± 0.06	7	1.03 ± 0.28
dMO, %	39	68.4 ± 1.07	17	69.9 ± 1.59
Rumen pH	16	6.34 ± 0.06	8	6.47 ± 0.06
Acetate/propionate ratio	20	3.50 ± 0.19	8	3.51 ± 0.07

<sup>1</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>2</sup> BW = body weight; <sup>3</sup> DMI = dry matter intake.

**Supplementary Table S4** Description of the Seed and Oil/fat subsets with intake level, concentrate percentage, diet chemical composition, duodenal fatty acid (FA) flows and digestive parameters (ruminal pH, dMO, and acetate/propionate ratio) with or without lipid supplementation

	Seed subset				Oil/fat subset			
	Control		With LS <sup>1</sup>		Control		With LS	
	N <sub>trt</sub> <sup>2</sup>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.
Intake level, % BW	20	2.3 ± 0.15	109	2.3 ± 0.07	47	2.8 ± 0.14	139	2.7 ± 0.07
Percentage of concentrate, %	20	42.8 ± 6.5	109	60.7 ± 2.30	47	55.7 ± 2.7	139	54.9 ± 1.58
<b>Intake (g/kg of DMI<sup>3</sup>)</b>								
Crude protein (CP)	18	135 ± 7.80	91	149 ± 2.66	38	160 ± 3.45	105	162 ± 2.09
NDF	15	369 ± 33.6	70	389 ± 11.2	33	358 ± 12.9	90	336 ± 7.63
Starch	7	248 ± 83.0	35	312 ± 32.5	13	307 ± 38.4	31	287 ± 25.4
Total fatty acids	16	28.1 ± 3.42	91	46.1 ± 2.43	43	24.1 ± 1.39	131	61.6 ± 1.4
<b>FA intake (g/kg of DMI)</b>								
C14:0	11	0.1 ± 0.04	53	0.2 ± 0.03		0.1 ± 0.02	88	0.8 ± 0.14
C16:0	19	4.5 ± 0.47	83	6.9 ± 0.30		4.6 ± 0.27	120	12.2 ± 0.64
C18:0	19	1.0 ± 0.12	93	1.4 ± 0.09		0.9 ± 0.14	119	6.1 ± 0.69
c9-C16:1	9	0.1 ± 0.02	37	0.4 ± 0.08	23	0.2 ± 0.02	77	0.7 ± 0.08
c9-C18:1	8	5.9 ± 1.84	29	14.9 ± 2.05	20	4.1 ± 0.40	61	14.9 ± 1.14
c9c12-C18:2	8	12.2 ± 3.60	30	19.1 ± 1.76	24	9.1 ± 0.87	65	17.2 ± 1.37
c9c12c15-C18:3	10	5.8 ± 2.46	36	10.7 ± 1.73	21	2.7 ± 0.34	59	7.2 ± 0.85
<b>Duodenal flows (g/kg of DMI)</b>								
Total fatty acids	18	32.7 ± 18.4	84	46.7 ± 20.8	33	28.4 ± 9.45	103	60.0 ± 21.4



	Seed subset				Oil/fat subset			
		Control		With LS <sup>1</sup>		Control		With LS
C14:0	9	0.5 ± 0.13	51	0.4 ± 0.03	23	0.4 ± 0.04	63	0.9 ± 0.14
C16:0	18	5.4 ± 0.62	85	6.6 ± 0.29	37	5.5 ± 0.39	103	11.9 ± 0.62
C18:0	19	17.2 ± 2.28	93	26.1 ± 1.50	38	14.9 ± 1.03	110	29.5 ± 1.20
c9-C16:1	8	0.2 ± 0.04	31	0.3 ± 0.04	18	0.2 ± 0.02	58	0.3 ± 0.02
c9-C18:1	7	2.2 ± 0.87	36	3.9 ± 0.72	14	2.2 ± 0.29	40	6.1 ± 0.93
c9c12-C18:2	8	1.5 ± 0.42	37	2.5 ± 0.48	16	1.6 ± 0.21	40	2.1 ± 0.22
c9c12c15-C18:3	9	0.4 ± 0.08	34	0.6 ± 0.09	15	0.3 ± 0.04	38	0.6 ± 0.08
dMO, %	9	73.8 ± 2.35	52	73.3 ± 1.05	32	72.3 ± 0.97	83	72.0 ± 0.62
Rumen pH	10	6.2 ± 0.08	46	6.2 ± 0.04	31	6.2 ± 0.04	85	6.2 ± 0.03
Acetate/propionate ratio	10	3.1 ± 0.28	55	3.0 ± 0.11	36	3.1 ± 0.14	97	2.8 ± 0.07

<sup>1</sup> LS = lipid supplement; <sup>2</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>3</sup> DMI = dry matter intake.

**Supplementary Table S5** Description of the Fish subset with intake level, percentage of concentrate, diet chemical composition, duodenal fatty acid (FA) flows and digestive parameters (ruminal pH, dMO, and acetate/propionate ratio) from diets without (DLS<sub>0</sub>) or with fish (DLS<sub>fish</sub>) or another lipid supplement (DLS<sub>other</sub>)

	DLS <sub>0</sub>		Fish subset DLS <sub>other</sub>		DLS <sub>fish</sub>	
	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.
Intake level, % BW	9	2.7 ± 0.29	26	2.4 ± 0.11	42	2.3 ± 0.09
Percentage of concentrate, %	9	44.8 ± 2.79	26	49.5 ± 3.54	42	50.5 ± 2.73
Intake (g/kg of DMI <sup>1</sup> )						
Crude protein (CP)	4	184 ± 8.44	16	167 ± 5.49	27	169 ± 5.00
NDF	3	354 ± 47.0	14	388 ± 16.7	23	367 ± 13.6
Starch	2	318 ± 96.0	5	216 ± 49.9	8	269 ± 34.7
Total fatty acids	8	27.2 ± 4.41	24	52.7 ± 2.67	39	47.9 ± 2.21
<b>FA intake (g/kg of DMI)</b>						
C14:0	5	0.10 ± 0.03	22	0.4 ± 0.06	34	1.7 ± 0.27
C16:0	7	4.85 ± 0.69	24	10.3 ± 1.20	37	8.6 ± 0.57
C18:0	8	0.9 ± 0.35	23	5.8 ± 2.31	39	2.2 ± 0.51
c9-C16:1	5	0.1 ± 0.03	20	0.3 ± 0.08	30	1.5 ± 0.18
c9-C18:1	5	8.2 ± 0.69	34	6.2 ± 1.67	22	10.2 ± 1.23
c9c12-C18:2	6	10.6 ± 2.44	23	13.3 ± 1.91	35	11.5 ± 1.06
c9c12c15-C18:3	6	5.2 ± 1.23	23	10.2 ± 1.92	35	6.3 ± 0.83
EPA <sup>2</sup>	6	0.01 ± 0.01	21	0.03 ± 0.01	36	2.1 ± 0.28
DPA <sup>3</sup>	5	0 ± 0	8	0.02 ± 0.01	26	0.3 ± 0.08
DHA <sup>4</sup>	6	0.005 ± 0.003	21	0.01 ± 0.01	36	2.0 ± 0.41
LCFA <sup>5</sup>	5	0.02 ± 0.01	8	0.07 ± 0.05	26	3.9 ± 0.72
<b>Duodenal flows (g/kg of DMI)</b>						
Total fatty acids	6	32.6 ± 20.1	24	52.6 ± 14.2	35	49.5 ± 15.3
C14:0	3	0.3 ± 0.16	15	0.5 ± 0.07	24	1.2 ± 0.30
C16:0	6	5.3 ± 1.30	18	10.4 ± 1.36	34	9.5 ± 0.60
C18:0	7	17.3 ± 3.46	18	21.8 ± 1.77	36	13.8 ± 1.66
c9-C16:1	4	0.2 ± 0.08	14	0.1 ± 0.02	26	0.7 ± 0.09
c9-C18:1	0		15	2.6 ± 0.21	22	2.5 ± 0.17
c9c12-C18:2	3	2.1 ± 0.42	17	1.6 ± 0.25	28	1.6 ± 0.19

	DLS <sub>0</sub>		Fish subset DLS <sub>other</sub>		DLS <sub>fish</sub>	
	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.	N <sub>trt</sub>	mean ± s.e.
c9c12c15-C18:3	3	0.4 ± 0.11	17	0.9 ± 0.14	28	0.5 ± 0.07
EPA	4	0.04 ± 0.02	14	0.05 ± 0.02	33	0.2 ± 0.03
DPA	5	0.01 ± 0.001	8	0.04 ± 0.01	29	0.2 ± 0.09
DHA	4	0.03 ± 0.02	14	0.02 ± 0.01	33	0.4 ± 0.16
LCFA <sup>5</sup>	4	0.09 ± 0.04	8	0.1 ± 0.04	29	0.8 ± 0.29
dMO, %	3	72.5 ± 1.54	8	71.0 ± 1.97	14	72.5 ± 1.34
Rumen pH	4	6.3 ± 0.19	16	6.3 ± 0.08	28	6.4 ± 0.05
acetate/propionate Ratio	4	3.3 ± 0.41	16	3.1 ± 0.13	25	2.9 ± 0.11

<sup>1</sup> DMI = dry matter intake; <sup>2</sup> EPA = C20:5 n-3; <sup>3</sup> DPA = C22:5 n-3; <sup>4</sup> DHA = C22:6 n-3; <sup>5</sup> LCFA = sum of EPA + DPA +DHA.

**Supplementary Table S6** Correlations among duodenal flows of selected odd- and branched-chain fatty acids (OBCFA) and dietary data<sup>1</sup> or digestive parameters<sup>2</sup> from forage diets and diets supplemented with seeds, vegetable oils or animal fats in ruminants

Duodenal flow (g/kg DMI) <sup>3</sup>	Subset	Intake level	DMI	CP	NDF	Starch	PCO	FA <sub>int</sub>	A/P	OMD	MCPS	EMPS	RPB	Ruminal pH
<b>C15:0</b>	<b>Forage</b>	0.480 (0.011)		0.503 (0.015)		-	-	0.686 (0.001)	0.816 (0.025)		-0.380 (0.051)		0.145 (0.031)	0.802 (0.030)
	<b>Seed/Oil/fat</b>		-0.289 (0.011)						-0.483 (0.001)	0.277 (0.015)		-0.379 (0.001)		0.369 (0.021)
<b>Iso-C15:0</b>	<b>Forage</b>	0.510 (0.013)				-	-	0.694 (0.001)						
	<b>Seed/Oil/fat</b>			0.558 (0.001)					-0.754 (0.001)	0.508 (0.001)	0.410 (0.011)	-0.524 (0.001)	0.400 (0.013)	
<b>Anteiso-C15:0</b>	<b>Forage</b>		0.568 (0.009)			-	-	0.708 (0.001)						
	<b>Seed/Oil/fat</b>			0.562 (0.001)					-0.765 (0.001)	0.325 (0.036)	0.326 (0.035)	-0.314 (0.043)		
<b>Iso-C16:0</b>	<b>Forage</b>					-	-							
	<b>Seed/Oil/fat</b>			0.700 (0.001)	-0.473 (0.030)									
<b>C17:0</b>	<b>Forage</b>	0.556 (0.005)	-0.841 (0.002)	0.480 (0.024)		-	-	0.700 (0.001)					-0.441 (0.031)	
	<b>Seed/Oil/fat</b>		-0.231 (0.033)		-0.564 (0.001)	0.562 (0.001)	0.481 (0.001)	0.395 (0.001)	-0.504 (0.001)	0.219 (0.044)	0.310 (0.004)			-0.379 (0.003)
<b>Iso-C17:0</b>	<b>Forage</b>	-0.841 (0.002)	-0.841 (0.002)	-0.944 (0.001)	0.975 (0.001)	-	-						0.782 (0.008)	-0.751 (0.002)
	<b>Seed/Oil/fat</b>						0.402 (0.047)	0.549 (0.010)		0.413 (0.040)	0.650 (0.001)			
<b>Anteiso-C17:0</b>	<b>Forage</b>	-0.780 (0.008)	-0.780 (0.008)	-0.968 (0.001)	0.980 (0.001)	-	-						0.760 (0.011)	-0.741 (0.014)
	<b>Seed/Oil/fat</b>		-0.718 (0.001)	-0.634 (0.001)			0.429 (0.023)			0.667 (0.001)	0.626 (0.001)	-0.648 (0.001)	0.522 (0.004)	

<sup>1</sup> DMI = dry matter intake; CP = crude protein; NDF = neutral detergent fibre; PCO = percentage of concentrate; FA<sub>int</sub> = total fatty acid intake; <sup>2</sup> A/P = acetate/propionate ratio; OMD = organic matter truly digested in the rumen; MCPS = microbial crude protein synthesis; MPS = efficiency of microbial protein synthesis; RPB = rumen protein balance. <sup>3</sup> Coefficient of correlation and significance of probability in brackets.

**Supplementary Table S7** Correlations among duodenal flows of selected *cis* and *trans* isomers of C18:1 and C18:2, and C18:3n-3 and dietary data<sup>1</sup> or digestive parameters<sup>2</sup> from diets supplemented with seeds, vegetable oils or animal fats in ruminants

Duodenal Flows <sup>3</sup> (g/kgDMI)	Subset	Intake level	NDF	Starch	PCO	FA <sub>int</sub>	A/P	EPMS	RPB	ruminal pH
<b>c9-C18:1</b>	<b>Seed</b>	-0.458 (0.006)		0.823 (0.000)	0.612 (0.000)	0.587 (0.001)	-0.682 (0.015)			-0.697 (0.004)
	<b>Oil/fat</b>			0.766 (0.001)		0.653 (0.000)	-0.441 (0.002)			
<b>c11-C18:1</b>	<b>Seed</b>	-0.379 (0.047)	-0.810 (0.000)		0.636 (0.000)	0.498 (0.011)			-0.403 (0.033)	-0.840 (0.009)
	<b>Oil/fat</b>		-0.565 (0.000)		0.695 (0.000)					
<b>c15-C18:1</b>	<b>Seed/oil/fat</b>					0.756 (0.000)	-0.525 (0.003)		0.289 (0.036)	0.444 (0.039)
<b>t9-C18:1</b>	<b>Seed/oil/fat</b>		-0.475 (0.000)		0.525 (0.000)	0.831 (0.000)	-0.351 (0.017)			
<b>t10-C18:1</b>	<b>Seed</b>					0.702 (0.001)	-0.740 (0.036)			
	<b>Oil/fat</b>					0.553 (0.050)				
<b>t11-C18:1</b>	<b>Seed/oil/fat</b>	-0.258 (0.006)		0.636 (0.000)		0.604 (0.000)	-0.349 (0.005)		-0.217 (0.022)	
<b>t13+14-C18:1</b>	<b>Seed</b>					0.969 (0.000)				
	<b>Oil/fat</b>	0.503 (0.047)				0.734 (0.007)				
<b>t15-C18:1</b>	<b>Seed/oil/fat</b>		-0.544 (0.001)		0.558 (0.000)	0.913 (0.000)	-0.489 (0.004)			
<b>t10c12-CLA</b>	<b>Seed/oil/fat</b>	-0.327 (0.003)	-0.312 (0.010)	0.644 (0.000)	0.334 (0.002)	0.695 (0.000)	-0.609 (0.000)			
<b>c9t11-CLA</b>	<b>Oil/fat</b>			0.683 (0.004)						
<b>t11c15-C18:2</b>	<b>Seed/oil/fat</b>				0.455 (0.002)		-0.641 (0.002)			

Duodenal Flows <sup>3</sup> (g/kgDMI)	Subset	Intake level	NDF	Starch	PCO	FA <sub>int</sub>	A/P	EPMS	RPB	ruminal pH
<b>c9c12-C18:2</b>	<b>Seed/oil/fat</b>		-0.657 (0.000)	0.851 (0.000)	0.713 (0.000)		-0.774 (0.000)	0.196 (0.025)	-0.185 (0.034)	-0.443 (0.000)
<b>c9c12c15-C18:3</b>	<b>Seed</b>	0.516 (0.001)		-0.573 (0.013)						
	<b>Oil/fat</b>							-0.342 (0.006)		

<sup>1</sup> PCO = percentage of concentrate; FA<sub>int</sub> = total fatty acid intake; <sup>2</sup> A/P = acetate/propionate ratio; EPMS = efficiency of microbial protein synthesis; RPB = rumen protein balance; <sup>3</sup> Coefficient of correlation and significance of probability in brackets.

**Supplementary Table S8** Evaluation of the models using the mean square predicted error and the coefficient regression between observed ( $Y_o$ ) and predicted ( $X_p$ ) duodenal flows

Dependent variable (Y)	Independent variable (X, g/kg DMI <sup>1</sup> )	Subset	N <sub>trt</sub> <sup>2</sup>	MSPE <sup>3</sup> (g/kg DMI)	ECT <sup>4</sup>	ER <sup>5</sup>	ED <sup>6</sup>	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>7</sup>	R <sup>2</sup>
Total FA <sub>o</sub>	total FA <sub>p</sub>	Seed/Oil/fat	147	62.64	0.1	0.1	99.9		0.99 ± 0.04	7.96	0.77
c9-C18:1 <sub>o</sub>	c9-C18:1 <sub>p</sub>	Seed	108	2.78	17.7	5.3	77.0		1.20 ± 0.08	1.48	0.70
c9-C18:19 <sub>o</sub>	c9-C18:1 <sub>p</sub>	Oil/fat	75	0.59	6.7	3.4	90.0		0.88 ± 0.07	0.74	0.67
Total C18:2 <sub>o</sub>	total C18:2 <sub>p</sub>	Seed/Oil/fat	121	1.453	2.5	1.7	95.8		0.80 ± 0.14	1.19	0.22
c9c12-C18:2 <sub>o</sub>	c9c12-C18:2 <sub>p</sub>	Seed/Oil/fat	76	0.60	4.0	0.6	95.4		1.10 ± 0.15	0.76	0.41
Total C18:3 <sub>o</sub>	total C18:3 <sub>p</sub>	Seed	238	0.079	2.5	1.7	95.8		0.80 ± 0.06	0.26	0.42
Total C18:3 <sub>o</sub>	total C18:3 <sub>p</sub>	Oil/fat	234	0.079	0	6.9	93.1		1.31 ± 0.07	0.27	0.57
c9c12c15-C18:3 <sub>o</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>p</sub>	Seed	114	0.100	23.4	4.6	72.0		0.82 ± 0.07	0.27	0.57
c9c12c15-C18:3 <sub>o</sub>	c9c12c15-C18:3 <sub>p</sub>	Oil/fat	94	0.070	1.2	7.0	91.8		1.29 ± 0.11	0.26	0.60
c15-C18:1 <sub>o</sub>	C18:3 <sub>p</sub>	Seed/Oil/fat	26	0.018	25.4	55.6	19.0	0.06 ± 0.02	0.44 ± 0.07	0.06	0.63
t9-C18:1 <sub>o</sub>	total C18:1 <sub>p</sub>	Seed/Oil/fat	44	0.020	38.4	0.3	61.3	0.1 ± 0.05	0.88 ± 0.27	0.12	0.19
t13+t14-C18:1 <sub>o</sub>	total C18:3 <sub>p</sub>	Seed	25	0.2598	0.12	0.07	0.80	0.3 ± 0.13	0.80 ± 0.14	0.48	0.59
t13+t14-C18:1 <sub>o</sub>	total C18:3 <sub>p</sub>	Oil/fat	28	0.3221	0.41	0.03	0.56	0.3 ± 0.11	1.15 ± 0.12	0.44	0.76
t10c12-CLA <sub>o</sub>	total C18:2 <sub>p</sub> <sup>2</sup>	Seed/Oil/fat	32	0.0006	0.5	9.1	90.4		0.69 ± 0.18	0.02	0.32
t11t13-CLA <sub>o</sub>	total C18:3 <sub>p</sub>	Seed/Oil/fat	19	0.002	15.0	65.0	20.0	-0.01 ± 0.006	1.84 ± 0.16	0.02	0.79

<sup>1</sup> DMI = dry matter intake; <sup>2</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>3</sup> MSPE = means square predicted error; <sup>4</sup> ECT = errors in central tendency; <sup>5</sup> ER = errors due to regression; <sup>6</sup> ED = errors due to disturbance; <sup>7</sup> RMSE = Root mean square error.

**Supplementary Material 1** List of references from AGRum database used for the meta-analysis

1. Adler SA, Jensen SK, Thuen E, Gustavsson A-M, Harstad OM and Steinshamn H 2013. Effect of silage botanical composition on ruminal biohydrogenation and transfer of fatty acids to milk in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 96, 1135–1147.
2. Aldrich CG, Merchen NR and Drackley JK 1995. The effect of roasting temperature applied to whole soybeans on site of digestion by steers: I. Organic matter, energy, fiber, and fatty acid digestion. *Journal of Animal Science* 73, 2120–2130.
3. Avila CD, DePeters EJ, Perez-Monti H, Taylor SJ and Zinn RA 2000. Influences of saturation ratio of supplemental dietary fat on digestion and milk yield in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 83, 1505–1519.
4. Bock BJ, Harmon DL, Brandt RT and Schneider JE 1991. Fat source and calcium level effects on finishing steer performance, digestion, and metabolism. *Journal of Animal Science* 69, 2211–2224.
5. Børsting CF, Weisbjerg MR and Hvelplund T 1992. Fatty acid digestibility in lactating cows fed increasing amounts of protected vegetable oil, fish oil or saturated fat. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science* 42, 148–156.
6. Brumby PE, Storry JE, Sutton JD and Oldham JD 1979. Fatty acid digestion and utilization by dairy cows. *Annales de Recherches Vétérinaires* 10, 317–319.
7. Carro MD 1997. Rumen biohydrogenation of long-chain fatty acids from fish meal. In *British Society of Animal Science*, p. 129. Penicuik, UK.
8. Castillo-Lopez E, Ramirez Ramirez HA, Klopfenstein TJ, Anderson CL, Aluthge ND, Fernando SC, Jenkins T and Kononoff PJ 2014. Effect of feeding dried distillers grains with solubles on ruminal biohydrogenation, intestinal fatty acid profile, and gut microbial diversity evaluated through DNA pyro-sequencing. *Journal of Animal Science* 92, 733–743.
9. Chang JH, Lunt DK and Smith SB 1992. Fatty acid composition and fatty acid elongase and stearoyl-CoA desaturase activities in tissues of steers fed high oleate sunflower seed. *The Journal of Nutrition* 122, 2074–2080.
10. Chelikani PK, Glimm DR, Keisler DH and Kennelly JJ 2004. Effects of feeding or abomasal infusion of canola oil in Holstein cows. 2. Gene expression and plasma concentrations of cholecystokinin and leptin. *Journal of Dairy Research* 71, 288–296.
11. Chikunya S, Demirel G, Enser M, Wood JD, Wilkinson RG and Sinclair LA 2004. Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *British Journal of Nutrition* 91, 539–550.
12. Christensen RA, Clark JH, Drackley JK and Blum SA 1998. Fatty acid flow to the duodenum and in milk from cows fed diets that contained fat and nicotinic acid. *Journal of Dairy Science* 81, 1078–1088.



13. Dewhurst RJ, Evans RT, Scollan ND, Moorby JM, Merry RJ and Wilkins RJ 2003. Comparison of grass and legume silages for milk production. 2. In vivo and in sacco evaluations of rumen function. *Journal of Dairy Science* 86, 2612–2621.
14. Doreau M, Laverroux S, Normand J, Chesneau G and Glasser F 2009. Effect of linseed fed as rolled seeds, extruded seeds or oil on fatty acid rumen metabolism and intestinal digestibility in cows. *Lipids* 44, 53–62.
15. Doreau M, Ueda K and Poncet C 2003. Fatty acid ruminal metabolism and intestinal digestibility in sheep fed ryegrass silage and hay. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 3, 289–293.
16. Duckett SK, Andrae JG and Owens FN 2002. Effect of high-oil corn or added corn oil on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *Journal of Animal Science* 80, 3353–3360.
17. Duckett SK and Gillis MH 2010. Effects of oil source and fish oil addition on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *Journal of Animal Science* 88, 2684–2691.
18. Ekeren PA, Smith DR, Lunt DK and Smith SB 1992. Ruminal biohydrogenation of fatty acids from high-oleate sunflower seeds. *Journal of Animal Science* 70, 2574–2580.
19. Elizalde JC, Aldrich CG, LaCount DW, Drackley JK and Merchen NR 1999. Ruminal and total tract digestibilities in steers fed diets containing liquefied or prilled saturated fatty acids. *Journal of Animal Science* 77, 1930–1939.
20. Elliott JP, Drackley JK, Beaulieu AD, Aldrich CG and Merchen NR 1999. Effects of saturation and esterification of fat sources on site and extent of digestion in steers: digestion of fatty acids, triglycerides, and energy. *Journal of Animal Science* 77, 1919–1929.
21. Enjalbert F, Bayourthe C, Griess D and Moncoulon R 1996. Digestion of calcium soaps of rapeseed oil fatty acids in dry cows. In *Revue de Médecine Vétérinaires*. France.
22. Enjalbert F, Nicot MC, Bayourthe C, Vernay M and Moncoulon R 1997. Effects of dietary calcium soaps of unsaturated fatty acids on digestion, milk composition and physical properties of butter. *Journal of Dairy Research* 64, 181–195.
23. Enjalbert F, Nicot MC, Griess D, Vernay M and Moncoulon R 1994. Effect of different forms of polyunsaturated fatty acids on duodenal and serum fatty acid profiles in sheep. *Canadian Journal of Animal Science* 74, 595–600.
24. Faichney G and White G 1977. Formaldehyde treatment of concentrate diets for sheep. I. Partition of the digestion of organic matter and nitrogen between the stomach and intestines. *Australian Journal of Agricultural Research* 28, 1055–1067.
25. Ferlay A, Chabrot J, Elmeddah Y and Doreau M 1993. Ruminal lipid balance and intestinal digestion by dairy cows fed calcium salts of rapeseed oil fatty acids or rapeseed oil. *Journal of Animal Science* 71, 2237–2245.
26. Ferlay A, Chilliard Y and Doreau M 1992. Effects of calcium salts differing in fatty acid

composition on duodenal and milk fatty acid profiles in dairy cows. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 60, 31–37.

27. Ferlay A, Doreau M, Martin C and Chilliard Y 2013. Effects of incremental amounts of extruded linseed on the milk fatty acid composition of dairy cows receiving hay or corn silage. *Journal of Dairy Science* 96, 6577–6595.
28. Flachowsky G, Erdmann K, Hüther L, Jahreis G, Möckel P and Lebzien P 2006. Influence of roughage/concentrate ratio and linseed oil on the concentration of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid in duodenal chyme and milk fat of late lactating cows. *Archives of Animal Nutrition* 60, 501–511.
29. Gonthier C, Mustafa AF, Berthiaume R, Petit HV, Martineau R and Ouellet DR 2004. Effects of Feeding Micronized and Extruded Flaxseed on Ruminal Fermentation and Nutrient Utilization by Dairy Cows. *Journal of Dairy Science* 87, 1854–1863.
30. Halmemies-Beauchet-Filleau A, Kairenius P, Ahvenjärvi S, Toivonen V, Huhtanen P, Vanhatalo A, Givens DI and Shingfield KJ 2013. Effect of forage conservation method on plasma lipids, mammary lipogenesis, and milk fatty acid composition in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *Journal of Dairy Science* 96, 5267–5289.
31. Harvatine KJ and Allen MS 2006. Effects of fatty acid supplements on ruminal and total tract nutrient digestion in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 89, 1092–1103.
32. Harvatine DI, Winkler JE, Devant-Guille M, Firkins JL, St-Pierre NR, Oldick BS and Eastridge ML 2002. Whole linted cottonseed as a forage substitute: fiber effectiveness and digestion kinetics. *Journal of Dairy Science* 85, 1988–1999.
33. Hogan JP 1973. Intestinal digestion of subterranean clover by sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 24, 587–598.
34. Hollmann M, Powers WJ, Fogiel AC, Liesman JS, Bello NM and Beede DK 2012. Enteric methane emissions and lactational performance of Holstein cows fed different concentrations of coconut oil. *Journal of Dairy Science* 95, 2602–2615.
35. Howlett CM, Vanzant ES, Anderson LH, Burris WR, Fieser BG and Bapst RF 2003. Effect of supplemental nutrient source on heifer growth and reproductive performance, and on utilization of corn silage-based diets by beef steers. *Journal of Animal Science* 81, 2367–2378.
36. Hussein HS, Merchen NR and Fahey GC 1996. Effects of chemical treatment of whole canola seed on digestion of long-chain fatty acids by steers fed high or low forage diets. *Journal of Dairy Science* 79, 87–97.
37. Huws SA, Lee MRF, Kingston-Smith AH, Kim EJ, Scott MB, Tweed JKS and Scollan ND 2012. Ruminal protozoal contribution to the duodenal flow of fatty acids following feeding of steers on forages differing in chloroplast content. *British Journal of Nutrition* 108, 2207–2214.
38. Ieki H, Zhao Y, Taniguchi K and Obitsu T 1997. Ruminal balance and small intestinal digestion of fatty acid by steers fed full-fat rice bran. *Nihon Chikusan Gakkaiho* 68,

860–868.

39. Jenkins TC and Adams CS 2002. The biohydrogenation of linoleamide in vitro and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. *Journal of Animal Science* 80, 533–540.
40. Kalscheur KF, Teter BB, Piperova LS and Erdman RA 1997a. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-c18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80, 2104–2114.
41. Kalscheur KF, Teter BB, Piperova LS and Erdman RA 1997b. Effect of fat source on duodenal flow of trans-c18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80, 2115–2126.
42. Keele JW, Roffler RE and Beyers KZ 1989. Ruminal metabolism in nonlactating cows fed whole cottonseed or extruded soybeans. *Journal of Animal Science* 67, 1612–1622.
43. Kim EJ, Huws SA, Lee MRF, Wood JD, Muetzel SM, Wallace RJ and Scollan ND 2008. Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and trans-11 18:1 and decreases 18:0 in steers via changes in the rumen bacterial community. *The Journal of Nutrition* 138, 889–896.
44. Kitessa S, Gulati S, Ashes J, Fleck E, Scott T and Nichols P 2001. Utilisation of fish oil in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 89, 189–199.
45. Klusmeyer TH and Clark JH 1991. Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74, 3055–3067.
46. Knight R, Sutton JD and Storry JE 1977. Dietary lipid supplementation and the flow of fatty acids to the duodenum of sheep. *The Proceedings of the Nutrition Society* 36, 69A.
47. Kowalski ZM 1997. Rumen fermentation, nutrient flow to the duodenum and digestibility in bulls fed calcium soaps of rapeseed fatty acids and soya bean meal coated with calcium soaps. *Animal Feed Science and Technology* 69, 289–303.
48. Kucuk O, Hess BW, Ludden PA and Rule DC 2001. Effect of forage:concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *Journal of Animal Science* 79, 2233–2240.
49. Kucuk O, Hess BW and Rule DC 2004. Soybean oil supplementation of a high-concentrate diet does not affect site and extent of organic matter, starch, neutral detergent fiber, or nitrogen digestion, but influences both ruminal metabolism and intestinal flow of fatty acids in limit-fed lambs. *Journal of Animal Science* 82, 2985–2994.
50. Lahlou MN, Kanneganti R, Massingill LJ, Broderick GA, Park Y, Pariza MW, Ferguson JD and Wu Z 2014. Grazing increases the concentration of CLA in dairy cow milk. *Animal* 8, 1191–1200.
51. Lebzien P, Rohr K, Engling FP and Schafft H 1991. Influence of protected fats

(crystalline fat or Ca soaps of fatty acids) on digestion of dairy cows. *Agribiological Research* 44, 247–260.

52. Lee MRF, Connelly PL, Tweed JKS, Dewhurst RJ, Merry RJ and Scollan ND 2006a. Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 2. Lipids. *Journal of Animal Science* 84, 3061–3070.
53. Lee MRF, Harris LJ, Dewhurst RJ, Merry RJ and Scollan ND 2003. The effect of clover silages on long chain fatty acid rumen transformations and digestion in beef steers. *Animal Science* 76, 491–501.
54. Lee MRF, Tweed JKS, Connelly PL, Merry RJ, Dewhurst RJ and Scollan ND 2004a. Duodenal flow and biohydrogenation of C18 polyunsaturated fatty acids in beef steers fed high sugar grass, red clover or grass/red clover mix silages. In *British Society of Animal Science*, p. 66. York, UK.
55. Lee MRF, Tweed JKS, Connelly PL, Merry RJ, Dewhurst RJ and Scollan ND 2004b. Duodenal flow of C18:1 and conjugated linoleic acid isomers in beef steers fed high sugar grass, red clover or grass/red clover mix silages. In *British Society of Animal Science*, p. 67. York, UK.
56. Lee MRF, Tweed JKS, Dewhurst RJ and Scollan ND 2006b. Effect of forage: concentrate ratio on ruminal metabolism and duodenal flow of fatty acids in beef steers. *Animal Science* 82, 31–40.
57. Lee M, Tweed J, Moloney A and Scollan N 2004c. Effects of diets containing sunflower oil and fish oil on lipid metabolism and fatty acid flow to the duodenum of beef steers. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13, 135–138.
58. Lee MRF, Tweed JKS, Moloney AP and Scollan ND 2005. The effects of fish oil supplementation on rumen metabolism and the biohydrogenation of unsaturated fatty acids in beef steers given diets containing sunflower oil. *Animal Science* 80, 361–367.
59. Legay-Carmier F 1989. Effet de rations riches en matières grasses sur le métabolisme lipidique des principaux compartiments microbiens du contenu de rumen chez la vache laitière; conséquences sur le flux duodénal des constituants microbiens. Université Clermont 2 Blaise Pascal, Clermont-Ferrand, France.
60. Lock AL and Garnsworthy PC 2002. Independent effects of dietary linoleic and linolenic fatty acids on the conjugated linoleic acid content of cows' milk. *Animal Science* 74, 163–176.
61. Loor JJ, Doreau M, Chardigny JM, Ollier A, Sebedio JL and Chilliard Y 2005a. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Animal Feed Science and Technology* 119, 227–246.
62. Loor JJ, Herbein JH and Jenkins TC 2002. Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Animal Feed Science and Technology* 97, 65–82.
63. Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y and Doreau M 2004. Biohydrogenation, duodenal

flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87, 2472–2485.

64. Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y and Doreau M 2005b. Intestinal flow and digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids (CLA) in dairy cows fed a high-concentrate diet supplemented with fish oil, linseed oil, or sunflower oil. *Animal Feed Science and Technology* 119, 203–225.
65. Lundy FP, Block E, Bridges WC, Bertrand JA and Jenkins TC 2004. Ruminal biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. *Journal of Dairy Science* 87, 1038–1046.
66. Menezes LFG de, Kozloski GV, Restle J, Brondani IL, Pazdiora RD and Cattelam J 2010. Profile of ingested fatty acids and in the duodenal digest of steers fed different diets. *Revista Brasileira de Zootecnia* 39, 2502–2511.
67. Møller PD 1988. The influence of high amounts of fat or Ca-soaps in rations to dairy cows on intestinal absorption of fatty acids and digestibility of structural carbohydrates. In *Futterfette in der Tierernährung*, pp. 23–40. Biolinol Futterfette-Produktions-GmbH, Hamburg, Germany.
68. Montgomery SP, Drouillard JS, Nagaraja TG, Titgemeyer EC and Sindt JJ 2007. Effects of supplemental fat source on nutrient digestion and ruminal fermentation in steers. *Journal of Animal Science* 86, 640–650.
69. Moorby JM, Dewhurst RJ, Evans RT and Danelón JL 2006. Effects of dairy cow diet forage proportion on duodenal nutrient supply and urinary purine derivative excretion. *Journal of Dairy Science* 89, 3552–3562.
70. Murphy M, Udén P, Palmquist DL and Wiktorsson H 1987. Rumen and total diet digestibilities in lactating cows fed diets containing full-fat rapeseed. *Journal of Dairy Science* 70, 1572–1582.
71. Mutsvangwa T, Hobin MR and Gozho GN 2012. Effects of method of barley grain processing and source of supplemental dietary fat on duodenal nutrient flows, milk fatty acid profiles, and microbial protein synthesis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 95, 5961–5977.
72. Oldick BS and Firkins JL 2000. Effects of degree of fat saturation on fiber digestion and microbial protein synthesis when diets are fed twelve times daily. *Journal of Animal Science* 78, 2412–2420.
73. Onetti SG, Reynal SM and Grummer RR 2004. Effect of alfalfa forage preservation method and particle length on performance of dairy cows fed corn silage-based diets and tallow. *Journal of Dairy Science* 87, 652–664.
74. Outen GE, Beever DE and Osbourn DF 1974. Digestion and absorption of lipids by sheep fed chopped and ground dried grass. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 25, 981–987.
75. Outen GE, Beever DE, Osbourn DF and Thomson DJ 1975. The digestion of the lipids

- of processed red clover herbage by sheep. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 26, 1381–1389.
76. Pantoja J, Firkins JL and Eastridge ML 1995. Site of digestion and milk production by cows fed fats differing in saturation, esterification, and chain length. *Journal of Dairy Science* 78, 2247–2258.
  77. Pantoja J, Firkins JL, Eastridge ML and Hull BL 1996. Fatty acid digestion in lactating dairy cows fed fats varying in degree of saturation and different fiber sources. *Journal of Dairy Science* 79, 575–584.
  78. Pires AV, Eastridge ML, Firkins JL and Lin YC 1997. Effects of heat treatment and physical processing of cottonseed on nutrient digestibility and production performance by lactating cows. *Journal of Dairy Science* 80, 1685–1694.
  79. Plascencia A, Mendoza GD, Vásquez C and Zinn RA 2003. Relationship between body weight and level of fat supplementation on fatty acid digestion in feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 81, 2653–2659.
  80. Qiu X, Eastridge ML and Firkins JL 2004. Effects of dry matter intake, addition of buffer, and source of fat on duodenal flow and concentration of conjugated linoleic acid and trans-11c18:1 in milk. *Journal of Dairy Science* 87, 4278–4286.
  81. Reveneau C, Ribeiro CVDM, Eastridge ML and Firkins JL 2012. Interaction of unsaturated fat or coconut oil with monensin in lactating dairy cows fed 12 times daily. II. Fatty acid flow to the omasum and milk fatty acid profile<sup>1</sup>. *Journal of Dairy Science* 95, 2061–2069.
  82. Rico DE, Ying Y and Harvatine KJ 2014. Effect of a high-palmitic acid fat supplement on milk production and apparent total-tract digestibility in high- and low-milk yield dairy cows. *Journal of Dairy Science* 97, 3739–3751.
  83. Sackmann JR, Duckett SK, Gillis MH, Realini CE, Parks AH and Eggelston RB 2003. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets. *Journal of Animal Science* 81, 3174–3181.
  84. Salem H Ben, Krzeminski R, Ferlay A and Doreau M 1993. Effect of lipid supply on in vivo digestion in cows: Comparison of hay and corn silage diets. *Canadian Journal of Animal Science* 73, 547–557.
  85. Sasaki H, Horiguchi K and Takahashi T 2001. Effects of different concentrate and roughage ratios on ruminal balance of long chain fatty acids in sheep. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 14, 960–965.
  86. Scholljegerdes EJ, Hess BW, Hightower KR, Moss GE, Hixon DL and Rule DC 2001. Biohydrogenation, flow and disappearance of fatty acids in beef cattle fed supplemental high-linoleate or high-oleate safflower seeds. In *American Society of Animal Science*, pp. 59–62. Western section, Indianapolis, US.
  87. Scollan ND, Dhanoa MS, Choi NJ, Maeng WJ, Enser M and Wood JD 2001. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on different

sources of lipid. *The Journal of Agricultural Science* 136, 345–355.

88. Scollan ND, Lee MRF and Enserb M 2003. Biohydrogenation and digestion of long chain fatty acids in steers fed on *Lolium perenne* bred for elevated levels of water-soluble carbohydrate. *Animal Research* 52, 501–511.
89. Shingfield KJ, Ahvenjärvi S, Toivonen V, Ärölä A, Nurmela KV V., Huhtanen P and Griinari JM 2003. Effect of dietary fish oil on biohydrogenation of fatty acids and milk fatty acid content in cows. *Animal Science* 77, 165–179.
90. Shingfield KJ, Ahvenjärvi S, Toivonen V, Vanhatalo A, Huhtanen P and Griinari JM 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *British Journal of Nutrition* 99, 971–983.
91. Shingfield KJ, Kairenius P, Arola A, Paillard D, Muetzel S, Ahvenjarvi S, Vanhatalo A, Huhtanen P, Toivonen V, Griinari JM and Wallace RJ 2012. Dietary fish oil supplements modify ruminal biohydrogenation, alter the flow of fatty acids at the omasum, and induce changes in the ruminal butyrvibrio population in lactating cows. *Journal of Nutrition* 142, 1437–1448.
92. Shingfield KJ, Lee MRF, Humphries DJ, Scollan ND, Toivonen V, Beever DE and Reynolds CK 2011. Effect of linseed oil and fish oil alone or as an equal mixture on ruminal fatty acid metabolism in growing steers fed maize silage-based diets. *Journal of Animal Science* 89, 3728–3741.
93. Shingfield KJ, Lee MRF, Humphries DJ, Scollan ND, Toivonen V, Reynolds CK and Beever DE 2010. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. *British Journal of Nutrition* 104, 56–66.
94. Sinclair LA, Cooper SL, Chikunya S, Wilkinson RG, Hallett KG, Enser M and Wood JD 2005. Biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids in the rumen and their effects on microbial metabolism and plasma fatty acid concentrations in sheep. *Animal Science* 81, 239–248.
95. Sutton JD, Storry JE and Nicholson JWG 1970. The digestion of fatty acids in the stomach and intestines of sheep given widely different rations. *Journal of Dairy Research* 37, 97–105.
96. Tice EM, Eastridge ML and Firkins JL 1994. Raw soybeans and roasted soybeans of different particle sizes. 2. Fatty acid utilization by lactating cows. *Journal of Dairy Science* 77, 166–180.
97. Wachira AM, Sinclair LA, Wilkinson RG, Hallett K, Enser M and Wood JD 2000. Rumen biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids and their effects on microbial efficiency and nutrient digestibility in sheep. *The Journal of Agricultural Science* 135, 419–428.
98. Weisbjerg MR, Børsting CF and Hvelplund T 1992. Fatty acid metabolism in the digestive tract of lactating cows fed tallow in increasing amounts at two feed levels. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science* 42, 106–114.
99. White BG, Ingalls JR, Sharma HR and Mckirdy JA 1987. The effect of whole sunflower

seeds on the flow of fat and fatty acids through the gastrointestinal tract of cannulated Holstein steers. *Canadian Journal of Animal Science* 67, 447–459.

100. Wonsil BJ, Herbein JH and Watkins BA 1994. Dietary and ruminally derived trans-18:1 fatty acids alter bovine milk lipids. *The Journal of nutrition* 124, 556–565.
101. Wu Z, Ohajuruka OA and Palmquist DL 1991. Ruminal synthesis, biohydrogenation, and digestibility of fatty acids by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74, 3025–3034.
102. Xu L, Jin Y, He ML, Li C, Beauchemin KA and Yang WZ 2014. Effects of increasing levels of corn dried distillers grains with solubles and monensin on ruminal biohydrogenation and duodenal flows of fatty acids in beef heifers fed high-grain diets. *Journal of Animal Science* 92, 1089–1098.
103. Zinn RA, Gulati SK, Plascencia A and Salinas J 2000. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 78, 1738–1746.
104. Zinn RA and Plascencia A 1993. Interaction of whole cottonseed and supplemental fat on digestive function in cattle. *Journal of Animal Science* 71, 11–17.



**PUBLICATION 2. MODELE GLANDE MAMMAIRE**

**« Prédiction de la sécrétion des acides gras saturés, des acides gras impairs et ramifiés, des isomères du C18:1 et du C18:2, et du C18:3 n-3 en fonction de leur flux duodéal chez les vaches laitières : approche par méta-analyse »**

Ce travail propose des équations de prédiction des acides gras du lait en fonction de leur flux duodéal respectif, des caractéristiques alimentaires ou des paramètres digestifs. Les AG prédits par ce modèle sont les isomères *cis* et *trans* du C18:1 et du C18:2, le C18 :3 n-3 les AG impairs et ramifiés, et les AG issus de la synthèse *de novo* (somme du C4:0 au C14:0). Cette méta-analyse a été réalisée en utilisant des données provenant d'essais d'alimentation dont les facteurs expérimentaux concernaient la nature du fourrage, le pourcentage de concentré, la supplémentation en huiles ou en graines oléagineuses, ou en produits d'origine marine (huiles de poisson et algues). Les modèles intra-essais de prédiction des isomères *cis* du C18:1 (du *cis*11- au *cis*15-) du lait présentent des R<sup>2</sup> élevés (entre 0,74 et 0,99). Pour les isomères *trans* du C18:1, les R<sup>2</sup> sont supérieurs à 0,90 (sauf pour les *trans*4- et *trans*10-C18:1). Pour le C18:2 n-6, le *trans*10,*cis*12-CLA et le *trans*11,*trans*13-CLA, des régressions linéaires ont été calculées à partir de leur flux duodéal respectif, alors que pour le C18:3 n-3, les régressions obtenues sont quadratiques. Il a été observé que l'augmentation du flux total C18 duodéal induit une diminution linéaire de la proportion de C4:0 à C14:0 dans le lait. Pour les AG issus partiellement de la désaturation (*cis*9-C18:1 et *cis*9,*trans*11-CLA), nous avons pu quantifier la part de contribution du C18:0 à la sécrétion du *cis*9-C18:1 (83,8%) et la part du *trans*11-C18:1 à la sécrétion du *cis*9,*trans*11-CLA (86,8%). Les AG impairs et ramifiés sont linéairement reliés à leur flux duodéal respectif ainsi qu'à des caractéristiques alimentaires et certains paramètres digestifs.

**Milk saturated fatty acids, odd- and branched fatty acids, isomers of C18:1, C18:2 and C18:3n-3 according to their duodenal flows in dairy cows: approach by meta-analysis**

**L. A. Prado\*, Ph. Schmidely†, P. Nozière\*, A. Ferlay\*<sup>1</sup>**

\* Université Clermont Auvergne, INRA, VetAgro Sup, UMR Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle, France

†AgroParisTech, INRA, UMR0791 Mosar, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris, France

<sup>1</sup>Corresponding author: Anne Ferlay

Mailing address: INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle France.

Phone number: +33 (0) 4 73 62 45 13

Email address: [anne.ferlay@INRA.fr](mailto:anne.ferlay@INRA.fr)

**Interpretive summary**

Models to predict cow milk fatty acid (FA) composition from their duodenal flows or from ruminal parameters were derived using a meta-analysis approach from a database where lipid supplementation with vegetable oils or marine products, concentrate percentage or forage nature were the experimental factors studied. We produced sets of equations for specific FA or groups of FA with nutritional interest that may provide an approach to feed unit systems to predict their milk yields or concentrations when associated with their duodenal flows. This may contribute to better manage feeding practices in order to increase the nutritional value of cow milk.

**ABSTRACT**

This study aims to establish predictive response models of milk fatty acid (FA) yields or concentrations from their respective duodenal flow, rumen digestive parameters or diet characteristics in dairy cows, with special focus on *cis* and *trans* isomers of C18:1, C18:2, odd- and branched FA, and mammary *de novo* synthesized FA. This meta-analysis was carried out using data from trials with nature of forage, concentrate percentage, supplementation of diets with vegetable oils or seeds, and marine products as experimental factors. The data set included 34 published papers representing 50 experiments with 142 treatments. Increasing duodenal C18 FA flow induced a quadratic increase in milk total C18 yield and a linear decrease in milk C4:0 to C14:0 concentration. Intra-experimental predictive response models of individual milk *cis* C18:1 isomers ( $\Delta$  11 to 15 position) from their respective duodenal flows had  $R^2$  ranging from 0.74 to 0.99, with RMSE varying from 0.19 to 0.96 g/d, 0.02 to 0.10 % of total FA, and 0.03 to 0.29 % of C18 FA. Models predicting milk *trans* C18:1 isomers yields or concentrations had  $R^2$  greater than 0.90 (except for *t4-* and *t10-C18:1*) with RMSE varying from less than 0.1 to 5.2 g/d. Linear regressions for C18:2n-6, *t10,c12-CLA* and *t11,t13-CLA* were calculated according to their respective duodenal flow. Quadratic models of milk C18:3n-3 yield or concentration from its duodenal flow had  $R^2$  values above 0.97. Models of amounts desaturated of C18:0 into *c9-C18:1* and *t11-C18:1* into *c9,t11-CLA* indicated that contribution of C18:0 and *t11-C18:1* desaturation to respective *c9-C18:1* and *c9,t11-CLA* yields in milk fat was 83.8% ( $\pm$  0.75) and 86.8% ( $\pm$  2.8). Furthermore, when cows were fed marine products, our results could indicate a lower mammary uptake of C18:0 and *t11-C18:1* in proportion of their respective duodenal flows, with no associated change in mammary  $\Delta$ 9-desaturase activity. Milk C15:0, iso-C15:0, anteiso-C15:0, C17:0 and anteiso-C17:0 concentrations were dependent on their respective

duodenal flow. Several milk C18 FA concentrations were closely related to their duodenal concentrations with slopes of the linear models close to the bisector: this could reflect a priority for the use of these duodenal C18 FA by the mammary gland in order to favor their high concentration in plasma triglycerides and non-esterified FA which are preferentially uptaken by the mammary gland.

**Key words:** dairy cow, milk fatty acid, duodenal flow, lipid supplementation, meta-analysis

## INTRODUCTION

Milk lipids in dairy cows are characterized by a high level of saturated fatty acids (FA) and low level of unsaturated FA, especially n-3 FA, which reflects ruminal biohydrogenation of unsaturated FA and *de novo* mammary synthesis of saturated FA, despite the activity of mammary  $\Delta 9$ -desaturase (Chilliard *et al.*, 2007). This profile of milk fat has been often criticized for human nutrition when compared to nutritional recommendations (ANSES, 2011), especially in what concerns their saturated and *trans* FA content. Consequently, several environmental (nutrition) and/or intrinsic factors (genetic selection) were studied to modify the profile of milk FA in cows (Ferlay *et al.*, 2017).

Feeding practices are the most rapid and effective way to modulate milk FA composition in dairy females and several meta-analyses quantified the effect of different dietary factors on milk fat composition. However, most of these meta-analyses either focused on specific feeding systems (grass-based feeding systems, Elgersma, 2015), oilseeds supplementation (Glasser *et al.*, 2008b; Meignan *et al.*, 2017) and/or on specific FA (C18:2 n-6, C18:3 n-3, Khiaosa-ard *et al.*, 2015), and few attempts have been realized to produce quantitative laws of responses of milk FA profile to interactions among feeding factors (Schmidely *et al.*, 2018). However, these laws of responses are essential to quantify

the milk FA profile in the feed systems encountered in practice that often associate different dietary factors in combination. Improving quantification of these responses is a perspective of the renewed feed unit systems in order to manage milk FA content and profile according to dietary factors (INRA, 2018).

Recent feed unit systems are always more mechanistic and they separate the digestive processes from the transfer of absorbed nutrients into mammary gland (INRA, 2018). However, this is not still the case of lipids to predict a complete milk profile of FA. At digestive level, several meta-analyses predicted the flows of total duodenal FA and specific isomers of C18:1, C18:2n-6 and C18:3n-3 (Schmidely *et al.*, 2008; Glasser *et al.*, 2008c) and this has been recently revisited owing to the increased availability of data on biohydrogenation intermediates, and on some feeding factors as grazing or fish oils (Prado *et al.*, 2018). The transfer of duodenal FA into milk (Glasser *et al.*, 2008a) has been exclusively investigated during lipid supplementation and it deals only with total C18 FA and some specific FA (total C18:3, linoleic acid, and some *trans* isomers of C18:1) with no information on CLA isomers, branched-chain FA, or saturated FA. However, the FA transfer included information using duodenal infusion of some FA on short periods, which may differ from the animal responses during feeding trials. Finally, these data focused on lipid supplementation, prevents to extrapolate these data to other dietary situations.

Consequently, the objectives of this study were to quantify through a meta-analysis approach the relationships between duodenal flows of FA and absorbed nutrients (VFA) and FA secreted into milk, including very different feeding situations (grazing, lipid supplementation, percentage of concentrate alone or in combination with other dietary factors) in order to connect these relationships with those established between FA intake and duodenal FA, to constitute a full set of equations to predict milk FA from diet components.

## MATERIALS AND METHODS

### ***Publications Selected and Characteristics of the Database***

We extracted from the AGRum database (IDDN.FR.001.510032.000.R.C.2011.000.10300) the trials studying the relationships between duodenal flows of FA and milk yield or proportion of FA in response to changes in dietary factors. The characteristics of the database and its statistical analysis have been previously described (Glasser *et al.*, 2008a, Prado *et al.*, 2018). Trials studying lipid infusion in the duodenum or abomasum were not included because they often differ in duration when compared with feeding trials, which may affect the response of milk fat secretion and FA profile. Consequently, we kept studies focusing on the effect of dietary factors (mainly lipid supplementation with vegetable oils or seeds, fish oils, changes in percentage of concentrate, nature of forage, see Prado *et al.*, 2018) with a final dataset including 34 published papers reporting 50 experiments ( $N_{exp}$ ) with 142 treatments ( $N_{trt}$ ).

Some data were eliminated. Concerning the model of  $c13$ -C18:1, data from Sterk *et al.* (2012) were not considered because of aberrant values of duodenal flow of this FA. Concerning the milk C18:3n-3 model, one treatment (protected-linseed supplementation) of the same study was eliminated because of aberrant secretion of this FA in milk. Data from Loor *et al.* (2004) were not used for the model of  $\mu5$ -C18:1 because of aberrant value of its duodenal flow. We have not used the study of Chelikany *et al.* (2004) because of aberrant values of duodenal DM, ADF and NDF flows. Moreover, in some cases, the flow of certain FA in milk was higher than that arising from duodenum with no possible synthesis in the mammary gland (e.g. C18:3n-3 or C18:2n-6) or no contribution of adipose tissue mobilization as cows were in most cases in mid-lactation: given that this should be due to the relative uncertainty of measurement that is assumed to be homogenous between treatments of a given study, these data were however kept in the analysis.

Cows in the database were on average in mid-lactation (DIM =  $108 \pm 5$  d, mean  $\pm$  standard-error), with an average body weight of  $607 \pm 5$  kg, a mean milk production of  $29 \pm 0.7$  kg/d, a mean fat yield of  $0.98 \pm 0.02$  kg/d and a milk protein yield of  $0.89 \pm 0.02$  kg/d. Average daily DMI was  $19.7 \pm 0.3$  kg DM/d, with a mean concentrate percentage of  $47.0 \pm 1.0\%$ , and a mean CP content of  $16.8 \pm 0.2$  %/DMI (Supplementary Tables 1 and 2).

### **Calculations of Flows**

Total FA yield was calculated from the milk fat yield reported in the publications, assuming that total FA represents 0.93 of milk fat (Glasser *et al.*, 2008a), and individual FA yield was calculated as its proportion in total FA multiplied by total FA yield. For publications reporting directly individual FA yield, they were recalculated with the same method to ensure consistency between trials. Contrary to the approach previously developed by Glasser *et al.* (2008a), we decided to develop specific equations relating individual milk FA yield (g/d) to their respective flow in duodenum (g/d) when sufficient data (number of treatments  $> 10$ ) were available. We also developed equations that relates the proportion in milk fat (% of total FA) to its concentration in duodenum (g FA in duodenum/ kg DMI), and for the isomers of C18:1, C18:2 and C18:3, we obtained relations between their percentage in milk (expressed as % of total milk C18 FA) and their percentage in the duodenum (% of total duodenal C18 FA). When FA in milk do not have a corresponding flow at duodenum (e.g. short- to medium- chain FA arising from mammary lipogenesis, some branched-chain FA), equations were developed from data characterizing rumen fermentation (ruminal acetate, butyrate and propionate concentrations, mM) or from diet characteristics. Ruminal acetate and butyrate concentrations were preferred to VFA flows that would be predicted using the new INRA feeding system (INRA, 2018) by the Systool.fr application (Chapoutot *et al.*, 2015) because we choose to focus on measured data rather on calculated ones, and because of the possible collinearity between the VFA produced and duodenal FA flows on a daily basis.

Mammary lipogenesis was considered to be represented by the sum of straight and even-chain FA having 4 to 14 atoms of carbon (in g/d or as percentage of total FA), whereas even- and branched-chain FA were considered apart individually. Palmitic acid was highly related to the sum of C4:0 to C14:0 FA yield and proportion in total milk FA, ( $r = 0.75$ ,  $P < 0.001$  for milk yield, and  $r = 0.25$ ,  $P < 0.005$  for milk concentration) reflecting the fact that it arises mainly from lipogenesis in our database. However, because numerous data for duodenal C16:0 flows were available, we predicted C16:0 in milk from its duodenal flow and not from ruminal acetate or butyrate concentrations. Apparent transfer of the sum of the substrate (saturated FA) and product of the  $\Delta 9$ -desaturase (*c*-9 monounsaturated FA) was estimated for each treatment by the ratio between the sum of the substrate and product in milk yield (g/d) and the corresponding sum in the duodenum (g/d). The mammary uptake of substrates and products of desaturase was then calculated separately using the apparent transfer of the sum of the saturated and *c*-9 monounsaturated FA applied to the duodenal flows of substrates and products. This estimate of mammary uptake of substrates was then deducted from their milk yields to provide an estimation of the quantity of desaturated FA as described by Glasser *et al.* (2008a). The contribution of the desaturase activity to the actual milk yield of *c*9-C18:1 and *c*9,*t*11-CLA was then calculated as the ratio between the production of that FA by desaturation divided by the actual yield of that FA.

### **Statistical Analysis**

Because long-chain FA from marine products may affect *de novo* mammary lipogenesis and mammary  $\Delta 9$ -desaturase activity, the data set was split in 2 subsets: the first 'Fish' subset contained only control treatments, and treatment containing marine products, and the second 'FCVL' (for 'Forage/Concentrate/Vegetable Lipids') subset with dietary treatments including forages nature and proportions, percentage of concentrate and lipid



supplementation as seed or oils. For each subset, specific relationships relating duodenal flows or ruminal characteristics and milk FA were produced according to variance-covariance analysis (GLM with Minitab®, version 17, State College, PA) including the fixed effect of experiment and/or either the duodenal flow of the FA and/or the ruminal characteristics as covariates. Equations were derived for milk FA yields (g/d), or milk FA concentrations (% of total milk FA, or % of total milk C18 FA).

## RESULTS

### ***Responses of Milk Total C18 Fatty Acids, Cis and Trans Isomers of C18:1, C18:2, and C18:3n-3 to their Duodenal Flows from Forage Diets or Diets Supplemented with Vegetable Lipids.***

The intra-experiment model of milk total C18 FA yield presented a linear effect and a quadratic effect of duodenal total C18 FA flow with a  $R^2$  equal to 0.89 (Table 1 and Figure 1A) and a linear effect when milk C18 FA concentration (% of total FA) was related to total duodenal C18 FA (g/kg DMI). Models of milk *cis* C18:1 isomers (from c 11 to c 15) calculated in three different units (g/d, % of total C18 FA, % of total FA) from their respective duodenal FA flows (Table 1) had  $R^2$  comprised between 0.74 and 0.99.

The models of milk yields of c11-, c12- and c13- C18:1 isomers from their duodenal flows were linear with slopes of  $0.22 \pm 0.07$ ,  $0.40 \pm 0.05$ , and  $0.40 \pm 0.08$ , respectively. For these isomers, the linear models presented slopes varying from 0.24 to 1.03 when milk FA was expressed in % of total C18 FA. For the linear models expressed in % of total FA, the slopes varied from 0.38 to 1.28 for c11- and c13-C18:1 isomers. The models of c12- (when expressed in % of total FA), and c15-C18:1 (when expressed in g/d, % of total FA or % of total C18 FA) showed an intra-experiment quadratic regression. In addition, the intercept was often significant for these different models, with the exception for c12- (% of total C18 FA and % of C18 FA) and c15-C18:1 (with the 3 units).

For the different response models predicting milk *trans* C18:1 isomers, we obtained models with a R<sup>2</sup> greater than 0.90, except for *t4-*, and *t10-C18:1*, with the values of R<sup>2</sup> varying from 0.57 to 0.86 (Table 1). We obtained quadratic models from their respective duodenal flows for the *t4-* and *t16+c14-C18:1* when they were expressed in % of total FA, for *t6+7+8-*, *t9-*, *t12-* and *t13+14-* when they were expressed in g/d and % of total FA, and for *t11-C18:1* when the unit g/d was used (Figure 3A). The regression for milk *t10-C18:1* yield presented a significant intercept ( $3.86 \pm 1.20$  g/d) and a slope equal to  $0.27 \pm 0.05$  (Figure 3B). The linear regression of *t10-C18:1* concentrations presented slopes of  $0.84 \pm 0.14$  and  $0.64 \pm 0.12$  with the units of % of total FA and % of total C18 FA, respectively. Furthermore, linear regressions between milk yield of *t15-* and *t16+c14-C18:1* and their respective duodenal FA flow were obtained with a slope equal to  $0.44 \pm 0.02$  and  $0.32 \pm 0.03$ , and a RMSE equal to 0.08 and 0.76 g/d, respectively.

For milk C18:2 isomers (except for *c9,t11-CLA* that has double origin: rumen formation and provided from the *t11-C18:1* desaturated), we had linear regressions for C18:2n-6 (Table 2 and Figure 4), *t10,c12* and *t11,c13-CLA* whatever the unit used, and *t11,t13-CLA* (when expressed in % of total C18 FA) and *t11,c15-C18:2* (when expressed in % of total FA and total C18 FA) according to their respective duodenal FA flow. The slopes for C18:2n-6, *t10,c12-* and *t11,c13-CLA* yield models were  $0.24 \pm 0.08$ ,  $0.41 \pm 0.06$  and  $0.47 \pm 0.02$ , respectively. The slopes of C18:2n-6 concentration models varied between  $0.45 \pm 0.18$  (when expressed in % of total FA) and  $0.54 \pm 0.05$  (when expressed in % of total C18 FA), whereas that of *t11,t13-CLA* (% of total C18 FA) was  $0.69 \pm 0.03$  and those of *t11,c13-CLA* were  $0.73 \pm 0.06$  (when expressed in g/d) and  $0.44 \pm 0.03$  (when expressed in % of total FA), respectively. We obtained quadratic models for *t11,t13-CLA* yield or concentration (when expressed in % of total FA) and *t11,c15-* and *t9,c12-* C18:2 whatever the unit used (Table 2). Intercepts were all significant except for *t11,t13-CLA* and *t11,c15-C18:2* whatever the unit used, *t10,c12-CLA* concentration when the model was expressed in % of total C18 FA

and *t*<sub>11</sub>,*c*<sub>13</sub>-CLA yield.

Concerning C<sub>18:3n-3</sub>, we obtained quadratic regressions (Table 2 and Figure 5), with R<sup>2</sup> varying from 0.97 to 0.98. The intercept was not significant for all models, whatever the unit used.

Concerning the sums of substrates and products of mammary  $\Delta$ 9-desaturase activity, we obtained models with R<sup>2</sup> greater than 0.84; RMSE were 6.16 and 33.9 g/d, 0.46 and 2.39% of total FA, and 0.82 and 3.06 (% of total C<sub>18</sub> FA) for the sum of *c*<sub>9</sub>*t*<sub>11</sub>-C<sub>18:2</sub> + *t*<sub>11</sub>-C<sub>18:1</sub> and for the sum of C<sub>18:0</sub> + *c*<sub>9</sub>-C<sub>18</sub>, respectively (Table 3 and Figure 6). Whatever the units used, the relationships were linear between milk yields or concentrations and duodenal flows, with significant intercepts except for the sum of *t*<sub>11</sub>-C<sub>18:1</sub> and *c*<sub>9</sub>,*t*<sub>11</sub>-CLA expressed in % of total C<sub>18</sub> FA. Adjusted models of the amount desaturated of C<sub>18:0</sub> into *c*<sub>9</sub>-C<sub>18:1</sub> and *t*<sub>11</sub>-C<sub>18:1</sub> into *c*<sub>9</sub>,*t*<sub>11</sub>-CLA according to estimated mammary uptake are presented in Table 6. Estimated mammary uptake of C<sub>18:0</sub> and *c*<sub>9</sub>-C<sub>18:1</sub> was 256 ( $\pm$ 11) and 23 ( $\pm$  2.3) g/d for the respective milk yields of 180 ( $\pm$ 7.7) and 6.9 ( $\pm$  0.40) g/d. The adjusted models had a significant intercept and R<sup>2</sup> comprised between 0.82 and 0.96. The slopes indicated that approximately 25% (slope=0.23) of the *t*<sub>11</sub>-C<sub>18:1</sub> uptake and half of the C<sub>18:0</sub> uptake (slope = 0.55) were desaturated into *c*<sub>9</sub>,*t*<sub>11</sub>-CLA and *c*<sub>9</sub>-C<sub>18:1</sub>, respectively. Calculated contribution of C<sub>18:0</sub> and *t*<sub>11</sub>-C<sub>18:1</sub> desaturation to respective *c*<sub>9</sub>-C<sub>18:1</sub> and *c*<sub>9</sub>,*t*<sub>11</sub>-CLA yields in milk fat was 83.8% ( $\pm$  0.75) and 86.8% ( $\pm$  2.8).

***Responses of Milk Saturated fatty Acids, Odd and Branched-Chain Fatty Acids to their Duodenal Flows or Dietary characteristics or Digestive Parameters from Forage Diets or Diets Supplemented with Vegetable Lipids.***

Concerning the *de novo* synthesized FA, the milk C<sub>4:0</sub>-C<sub>14:0</sub> yield was positively related to the sum of ruminal acetate and butyrate concentrations and negatively to the duodenal flow

of total C18 FA with a positive intercept ( $138 \pm 68.1$  g/d). The respective contribution of the sum of ruminal acetate and butyrate and the duodenal flow of total C18 FA in the total variance of that model were 21 and 4%. The intra-experiment models of milk C16:0 yield and concentration from duodenal C16:0 flow were quadratic, with  $R^2$  equal to 0.74 and 0.54, respectively (Table 4). Similarly, the intra-experiment models of milk C18:0 yield and concentration (% of total FA) from duodenal C18:0 flow were quadratic with  $R^2$  varying between 0.89 and 0.99, respectively (Table 4). The linear model of C18:0 concentration when expressed in total C18 FA presented a slope of  $0.31 \pm 0.04$  and a  $R^2$  of 0.83.

The global models of milk yields or concentrations of C15:0, iso-C15:0, anteiso-C15:0, C17:0, iso-C17:0 and anteiso-C17:0 presented  $R^2$  between 0.29 and 0.92 (Table 4). The milk concentrations (% of total FA) of C15:0, iso-C15:0, anteiso-C15:0, C17:0 and anteiso-C17:0 were dependent on their respective duodenal flow. The iso-C15:0 yield was function of ruminal acetate: propionate ratio and the C17:0 yield was affected positively by starch content in the diet. Whatever the unit used, the model of iso-C17:0 was quadratic, with the effect of duodenal iso-C17:0 flow and dietary starch content. The respective contribution of the duodenal iso-C17:0 flow and the starch content in the diet in the total variance were 91 and 2 %, and 86 and 4% for the models of yield and concentration of iso-C17:0, respectively. The milk anteiso-C17:0 yield or concentration was negatively affected by dietary CP content (Table 4). The global models of milk C15:0 and C17:0 yields or concentrations presented  $R^2$  between 0.29 and 0.80 (Table 4). The C15:0 and C17:0 yields (Figure 7) were inversely related with the ruminal pH (Table 4 and Figure 7).

***Responses of Milk Fatty Acids with 18, 20 or 22 Atoms of Carbon to their Duodenal Flows from Diets Supplemented with Fish or Marine Products.***

For the Fish subset, we obtained similar quadratic model of milk C18 FA yield from their

duodenal flow (Table 5 and Figure 1B) than for the FCVL subset. Moreover, the model predicting milk C4 :0 to C14 :0 yield from acetate+butyrate ruminal concentration and total duodenum C18 FA flow had similar coefficients than those in the FCVL subset, but they were not significant, probably because of the low number of treatments available (ntrt =13). We calculated intra-experiment regressions for EPA (C20:5n-3), DPA (C22:5n-3) and DHA (C22:6n-3) expressed in g/d or % of total FA from their duodenal flows with R<sup>2</sup> varying from 0.23 to 0.83 (Table 5). Models of EPA yield and concentration were quadratic according to its duodenal flow with slopes equal to  $0.05 \pm 0.01$  and  $2.85 \pm 0.41$ , respectively. When expressed in g/d and % of total FA, milk DHA yield was linearly related to its respective duodenal FA flow, with slopes of  $0.20 \pm 0.03$  and  $0.59 \pm 0.09$ , respectively. When expressed in g/d and % of total of FA, the slopes of the linear milk DPA models were  $0.24 \pm 0.11$  and  $0.71 \pm 0.38$ , respectively.

Whatever the unit used, milk C18:3n-3 was a linearly related to its duodenal flow with R<sup>2</sup> values from 0.52 to 0.91. The slopes were  $0.26 \pm 0.04$ ,  $0.39 \pm 0.07$  and  $0.15 \pm 0.06$  when expressed in g/d, % of total FA and % of total C18 FA, respectively. Global models of milk C18:2n-6 yield or concentration were positively dependent on its duodenal flow with R<sup>2</sup> and slopes varying from 0.65 to 0.96 and  $0.37 \pm 0.06$  to  $1.51 \pm 0.08$ , respectively (Table 5). For C18:0 and isomers of C18:1, the models presented R<sup>2</sup> values greater than 0.85, except for c9-C18:1 (R<sup>2</sup> = 0.42). The models of milk C18:0 yield (g/d) and concentration (% of total C18 FA) were linear, whereas it was quadratic when it was expressed in % of total FA. Models for t10-C18:1 presented a linear effect of duodenal t10-C18:1 whatever the unit used, with slopes of  $0.43 \pm 0.01$ ,  $1.08 \pm 0.04$ , and  $0.80 \pm 0.02$  for the units g/d, % of total FA, and % of C18 FA, respectively. Milk yield of t11-C18:1 had a quadratic relationship with duodenal t11-C18:1 flow, whereas the models for concentration presented a linear effect of duodenal t11-C18:1 flow. Model for t10,c12-CLA yield was linear with a slope of  $0.43 \pm 0.06$  and a R<sup>2</sup> of 0.88, while those for t10,c12-CLA concentration were quadratic with a R<sup>2</sup> of 0.98.

Concerning the desaturated FA, models of the sum of C18:0 + c9-C18 were linear when they were expressed in g/d or % of total C18 FA and that expressed in % of total FA was quadratic. All models for the sum of milk t11-C18:1 and c9,t11-CLA were a linear function of their duodenal flow, with high R<sup>2</sup> varying from 0.96 to 0.98. Adjusted models of the desaturated amount of C18:0 into c9-C18:1 and t11-C18:1 into c9,t11-CLA according to estimated mammary uptake are presented in Table 6. Estimated mammary uptake of C18:0 and c9-C18:1 was 210 ( $\pm 39.5$ ) and 35 ( $\pm 5.0$ ) g/d for a respective milk yields of 142 ( $\pm 25.7$ ) and 9.9 ( $\pm 1.23$ ) g/d. The adjusted models had no significant intercept and R<sup>2</sup> comprised between 0.78 and 0.96. The slopes indicated that approximately 25% (slope=0.23) of the t11-C18:1 uptake and half of the C18:0 uptake (slope = 0.56) were desaturated into c9,t11-CLA and c9-C18:1, respectively. Calculated contribution of C18:0 and t11-C18:1 desaturation to respective c9-C18:1 and c9,t11-C18:2 yields was 80.2% ( $\pm 0.75$ ) and 73.0% ( $\pm 7.4$ ).

## DISCUSSION

### ***Milk total C18 fatty acids, cis and trans isomers of C18:1 and C18:2, and C18:3 n- 3.***

#### *General consideration.*

We selected 3 units of expression to predict milk FA, in g/d or % of total FA for all milk FA, and % of total milk C18 FA for milk isomers of C18:1 and C18:2, and C18:3n-3. In their review, Glasser *et al.* (2008a) stated that direct prediction of the yield of individual C18 FA on a g/d basis could not be established from their duodenal flow because milk total C18 yield could not be precisely predicted from the corresponding duodenal flow. However, during diet formulation with linear programming to optimize a given constrain (e.g. optimize milk yield of C18:3 n-3), ratio as % of total FA or % of total C18 FA is not additive, which prevents often to find an optimal solution to the dietary constraints. Consequently, we decided to present equations that rely flows between the duodenum to the mammary gland with g/d as

unit. Moreover, this unit used is coherent with prediction of laws or responses of milk from changes in duodenal flows as recently proposed in the renewal of feed unit system for ruminant (INRA, 2018). However, we also used a composition approach, with FA in milk being expressed as % of total FA or as % of C18 FA for comparison purpose with the review of Glasser *et al.* (2008a).

We decided to provide a set of equations including prediction of milk individual FA from their duodenal flows, from ruminal characteristics and/or from dietary constituents. It must be stressed that this approach is more adapted to the prediction of the yields or the concentrations of individual FA or a group of FA (e.g C4:0 to C14:0) rather than a complete profile of milk FA. Indeed, milk FA profile is not the sum of independently synthesized or uptaken FA, but it rather results from interaction between the uptake of long-chain FA, *de novo* mammary lipogenesis, desaturation of FA and esterification on glycerol molecule (Ferlay *et al.*, 2017). These interactions have been not addressed directly here, with 2 exceptions. First, we provided a specific set of equations to predict milk FA profile for cows fed marine products, assuming that long-chain polyunsaturated FA may affect mammary the lipogenesis (Angulo *et al.*, 2012), the mammary  $\Delta 9$ -desaturase activity (Kairenius *et al.*, 2015) and possibly the transfer of preformed FA into the mammary gland (Vahmani *et al.*, 2014). Secondly, the reduction of *de novo* mammary lipogenesis by duodenal total C18 FA flows or concentrations (Shingfield *et al.*, 2010) has been partly taken into account by indexing the prediction of milk C4:0 to C14:0 on availability of their ruminal precursors but also on the duodenal flow of total C18 FA (see below).

#### *Total C18 Fatty Acids.*

With the FCVL subset, the positive intra-experiment relationship between duodenal C18 FA flow and milk C18 FA yield was quadratic and was close to that reported by Glasser *et al.* (2008a). Our model presented lower intercept and RMSE than those of Glasser *et al.*

(2008a). The transfer efficiency of C18 FA was relatively important (linear coefficient of 0.66) and was higher than that (0.46) indicated by Glasser *et al.* (2008a). Moreover, the resulting milk C18 yield plateaued for a duodenal C18 FA flow of 1250 g/d. If we calculated the response of duodenal C18 FA flows to the lipid supplementation, we obtained a maximal response of C18 FA for a duodenal flow of 860 g/d (with a duodenal flow of 390 g/d for the control diets), close to the maximal response for a duodenal flow of 605 g/d, reported by Glasser *et al.* (2008a). These variations could be due to the different meta-designs between the 2 meta-analyses. In fact, among the selected publications from Glasser *et al.* (2008a), experiments on post-ruminal infusions of  $\text{t10,c12-CLA}$  were included and this FA could decrease the capacity of the mammary gland to uptake C18 FA by altering the activity of LPL (Shingfield *et al.*, 2009) and thus change the transfer efficiency of C18 FA. Concerning this relationship, milk yield of C18 FA varied more strongly for similar duodenal flows lipid-supplemented diets (Figure 1A, black squares,  $Y = 247 \pm 39.7 + 0.20 \pm 0.05 \cdot X$ , Ntrt = 63, RMSE = 104 g/d,  $R^2 = 0.21$ ) than with diets without lipids (black circles,  $Y = 115 \pm 25.9 + 0.50 \pm 0.06 \cdot X$ , Ntrt = 33, RMSE = 54.5 g/d,  $R^2 = 0.67$ ). We can rely the high variability of C18 FA yield with lipid-supplemented diets with the fact that increasing duodenal flow of C18 FA induced a linear decrease in milk C4:0 to C14:0 concentration (Figures 2A and 2B) and a quadratic increase in milk C18 FA yield (Table 4 and Figure 1A). This illustrates the changes in milk FA concentrations associated with the reduction in milk fat yield when high-fat diets were fed to cows, which induces high total C18 FA flows at duodenum (Prado *et al.*, 2018) and high C18 availability for mammary gland (Glasser *et al.*, 2008b)

The decrease in milk C4-C14 yield in the case of supplementation of diets with unsaturated FA could be due to inhibitor effect of several intermediates of RBH (as  $\text{t10,c12-CLA}$ , or  $\text{t10-C18:1}$ ) (Bauman and Griinari, 2003). We confirmed this hypothesis since milk  $\text{t10-C18:1}$  yield and milk C4-C14 yield were negatively correlated ( $r = -0.585$ ,  $P < 0.01$ ), as well as milk  $\text{t10-C18:1}$  and C4-C14 concentrations (% of total FA) for FCVP subset ( $r = -0.669$ ,  $P$



< 0.01, data not shown).

Another explanation relative to the decreased C4-C14 yield with high-lipid diets could be due to a decrease in DMI (DMI =  $18.1 \pm 4.8$  and  $17.2 \pm 4.2$  kg/d for control diets and diets supplemented with lipids (data not shown) in accordance to Faverdin *et al.*, 2018) or competition of C18 FA on short-chain FA esterification, as already suggested by Glasser *et al.* (2008a). Thus, high C18 FA supply to mammary gland could modify both uptake of C18 FA and *de novo* FA synthesis (Figures 1A and 2B).

### *Composition of C18 Fatty Acids*

The linear models (expressed as % of total C18 FA) indicated that several FA concentrations in milk were closely related to their duodenal concentration, with slopes close to the bisector (*c*12-, *c*-13, and *t*12-C18:1, and *t*10,*c*12-CLA) suggesting similar C18 FA composition at duodenum level and in milk. This could reflect a priority for the use of these duodenal C18 FA by the mammary gland in order to favor their high concentration in plasma triglycerides and non-esterified FA, which are preferentially uptaken by the mammary gland.

Several observations could be made: - the transfer efficiency (< 0.60) was low for *c*11-, *t*4- and *t*5-C18:1 and it was intermediate for *t*9-, *t*10-, *t*11- and *t*13+14-C18:1 and high (> 0.80) for *t*15- and *t*16+*c*14-C18:1. Isomers of C18:1 with milk concentrations in the same range as *t*4- and *t*5-, *t*10- and *t*11-, *t*15 and *t*16+*c*14-C18:1 had the same transfer efficiency, with lower uptake for minor FA and greater uptake by mammary gland for FA having higher concentration (except for *c*11). C18:2n-6 and C18:3n-3 are essential FA and had a different pattern (low transfer for C18:2n-6 and quadratic relationship for C18:3n-3).

When models from FCVL subset were compared to those from Fish subset, some models presented the slopes close to each other (C18:2n-6, C18:0, and *t*11-C18:1 when expressed in % of total C18 FA), whereas differences in C18:3n-3 models were observed (quadratic vs

linear between FCVL and Fish subsets).

In our study, apparent transfer efficiency of EPA from duodenum to milk increased in a quadratic way when its duodenal flow increased. This is in contrast with data from Loor *et al.* (2005) and Dalairé *et al.* (2014), who reported an apparent transfer efficiency comprised between 14% and 18%, respectively, during EPA infusion. Conversely, apparent DHA transfer efficiency was 20% in our meta-analysis, which is in the range of values from Loor *et al.* (2005) and Dalairé *et al.* (2014). These authors reported transfer efficiency values comprised between 13 and 26% with DHA infusion. Differences between these results may be related to the difference between the quantities of long-chain FA available at duodenum in our meta-analysis (between 0.1 and 7 g/d for EPA and 0.2 and 6 g/d for DHA) in comparison of doses infused in the duodenum (between 12 and 50 g/d for EPA and DHA), and reflected by very different milk yields for EPA (0 to 4 g/d for DHA in our meta-analysis vs 10 to 20 g/d with duodenal infusion) and DHA (0.1 to 1.3 g/d in our meta-analysis vs 3.2 to 10 g/d with duodenal infusion). These results indicated that high doses of infused long-chain FA could exceed the capacity of the mammary gland to regulate the uptake of these FA and thus they may not be appropriate to estimate the real transfer of these FA into milk. Some models of our FCVL subset are in agreement with previous predictive equations reported by Glasser *et al.* (2008a). Notably, the intercept and the slope of the models of  $t9$ - and  $t10$ -C18:1 were similar to those of Glasser *et al.* (2008a), respectively, affirming that our models were robust.

### ***Desaturated Fatty Acids***

The models of the sum of desaturation substrates and products (expressed in % of C18 FA) presented slopes close to the unity (Table 3), suggesting that from a composition approach, milk concentrations of desaturated FA and their saturated precursors were directly proportional to their profile in duodenum. This allowed us to estimate the mammary uptake

of these FA and the quantity of FA further desaturated. Our results clearly indicated that the amounts of the desaturated FA were directly and linearly proportional to their precursor uptake, suggesting that mammary  $\Delta 9$ -desaturase activity was high and not limiting within the range of substrates uptaken (47 to 486 g/d and 14 to 148 g/d for C18:0 and *t*11-C18:1, respectively in the FCVL subset, Supplementary Table S1). In our analysis, the contribution of mammary desaturase activity to milk *c*9-C18:1 yield was 83.8% on line with those of Glasser *et al.* (2008a). However, this is higher than the proportion of oleic acid being synthesized endogenously evaluated *in vivo* using <sup>13</sup>C-labeled stearic acid in ewe as estimated to represent between 48 and 57% of the amount secreted in milk (Toral *et al.*, 2017). Differences between species and feeding conditions may account for these variations. For *c*9,*t*11-CLA yields, our estimate of mammary desaturase contribution (87%) is slightly lower than that (95%) obtained by Glasser *et al.* (2008), possibly because duodenal infusions of FA were included in its data base. Using tracer methodology *in vivo*, high variations in the contribution of endogenous synthesis to milk *c*9,*t*11-CLA in cows and in goats have been observed (Bernard *et al.*, 2010, Ferlay *et al.*, 2017).

The relationships between the sum of C18:0 and *c*9-C18:1 and *t*11-C18:1 and *c*9,*t*11-CLA on a daily basis (g/d) were different between the 2 subsets, but similar when expressed in % of C18 FA. This suggests that the activity of  $\Delta 9$ -desaturase was not affected by feeding fish oils, as indicated by the very similar slopes between C18:0 and *t*11-C18:1 uptake and their desaturation products, in line with data obtained *in vivo* (Toral *et al.*, 2012; Ahnadi *et al.*, 2002). In our database, average C18:0 mammary uptake was 256 g/d in the FCVL subset associated to average duodenal flows of C18:0 was 240 g/d, whereas it was 210 and 250 g/d, respectively, in the Fish subset. The mammary uptake and duodenal flow of *t*11-C18:1 were 23 and 28 g/d in the FCVL subset and 35 and 62 g/d in the Fish subset, respectively. This data taken together may indicate a lower mammary uptake of C18:0 and *t*11-C18:1 in

proportion of their respective duodenal flows when cows are fed fish oil, with no associated change in mammary  $\Delta 9$ -desaturase activity in our conditions. This suggestion is in agreement with Bernard *et al.* (2017), who reported no modification in mRNA abundance of SCD gene in cows fed diets with fish oil, but in disagreement with Ahnadi *et al.* (2002), Harvatine and Bauman (2006), Angulo *et al.* (2012) that indicated a decreasing effect of diets supplemented with marine products on gene expression of SCD.

### ***Odd and Branched Fatty Acids***

Several models of individual OBCFA concentrations (when expressed in % of total FA) were function of their duodenal flow, with slopes varying from 0.13 to 0.40 (with a high value of 1.69 for anteiso-C17:0), suggesting high variability in transfer efficiency from duodenal level to milk (Table 4). This could be due to a differential incorporation of OBCFA in plasma lipid classes (Fievez *et al.*, 2012). In fact, BCFA were higher present in cholesterol esters and triglycerides than in phospholipids and free FA, whereas it was the inverse for linear-odd-chain FA. This different distribution in plasma lipid did not explain the higher transfer values of C15:0 and C17:0 when compared to iso- and anteiso-C15 :0 because the lipoprotein lipase of the mammary gland mainly takes FA from triglycerides of blood chylomicrons and VLDL (Bernard *et al.*, 2008).

Models of milk C15:0 and C17:0 concentrations presented higher values of the intercept and the slope than those of iso-C15:0 and anteiso-C15:0. One explanation could be linked to the *de novo* mammary synthesis of the former FA. Milk C15:0 and C17:0 are synthesized from propionyl-CoA as precursor, whereas FA synthase does not seem to elongate isovaleryl-CoA, 2-methylbutyryl-CoA and isobutyryl-CoA to iso odd-chain and anteiso odd-chain (Fievez *et al.*, 2012). It is unlikely that these FA from adipose tissue mobilization contribute to the milk FA pool because the data were obtained after the lactation peak. We can also suppose that these differences in transfer efficiency could be due to difference in oxidation

of these FA in mammary gland, as suggested by Dewhurst *et al.* (2007). Our data are in contradictory with Vlaeminck *et al.* (2006), who reported no differences in duodenal flow and milk secretion for OBCFA.

We had a positive relationship between milk iso-C15:0 and ruminal molar acetate: propionate ratio, in agreement with the fact that milk iso-C15:0 can predict positively ruminal acetate (Fievez *et al.*, 2012). The negative relationship between C15:0 and C17:0 and ruminal pH could be explained by the increase in milk C15:0 and C17:0 occurring when the animals were fed with acidotic diets, inducing a strong decrease in ruminal pH (Coleman *et al.*, 2010; Fievez *et al.*, 2012).

Milk iso-C17:0 yield and concentration were related to dietary starch content, in agreement with the study of Vlaeminck *et al.* (2006), where grass silage was replaced by corn silage in the diet that induced an increase in dietary starch intake. Concerning the relationship between C17:0 yield and dietary starch content, results were inconsistent with previous studies, probably linked to the dual origin of this FA (rumen and mammary *de novo* synthesis, Vlaeminck *et al.*, 2006). Milk concentration of anteiso-C17:0 was negatively correlated to dietary CP content ( $r = -0.892$ ,  $P < 0.001$  for the FCVL subset, data not shown) and the best linear models of milk anteiso-C17:0 yield and concentration were negatively related to dietary CP content, in agreement with Cabrita *et al.* (2003), who reported negative correlations between dietary CP content and milk concentrations of anteiso-C17:0 for diets based on corn silage with different types of rumen-degradable proteins.

## CONCLUSION

The available meta-design analyzed contained numerous data, with several experimental factors studied (forage nature, concentrate percentage, supplementation of diets with vegetable oils and seeds, and marine products (fish oils and algae)) in dairy cows. This meta-analysis indicates that mainly predictive response models of *cis* and *trans* isomers of

C18:1 and C18:2, and C18:3n-3 yields and concentrations had high  $R^2$  above 0.90 and low RMSE. Our original results concern the predictive response models of milk OBCFA, C18:1 and C18:2 isomers, and mammary *de novo* synthesized FA yields or concentrations according to their duodenal flow, and rumen digestive parameters or dietary characteristics. Predictive response models of EPA, DPA and DHA were also obtained in the subset studying effects of marine products. Several equations were established with very similar intercepts and slopes between the 2 subsets. The further development will be constituted by the aggregation of the present models with the previously developed models of duodenal FA flows from FA intake; this will contribute to provide predictions of milk responses of FA to different dietary strategies based on subjacent nutrients flows, in accordance with the renewal of feed unit system for ruminant. This step would have to consider interaction between different processes in the mammary gland to provide a whole predicted profile of milk FA in response to dietary characteristics.

### Acknowledgements

The authors would like to acknowledge Neovia and Limagrain for their financial support.

### References

- Ahnadi, C. E., N. Beswick, L. Delbecchi, J. J. Kennelly, and P. Lacasse. 2002. Addition of fish oil to diets for dairy cows. II. Effects on milk fat and gene expression of mammary lipogenic enzymes. *J. Dairy Res.* 69:521–531
- Angulo, J., L. Mahecha, K. Nuernberg, G. Nuernberg, D. Dannenberger, M. Olivera, M. Boutinaud, C. Leroux, E. Albrecht, and L. Bernard. 2012. Effects of polyunsaturated fatty acids from plant oils and algae on milk fat yield and composition are associated with mammary lipogenic and SREBF1 gene expression. *Animal.* 6:1961-1972.
- ANSES (Agence Nationale de Sécurité sanitaire alimentation, Environnement, travail). 2011. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Disponible:<https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/NUT2006sa0359Ra.pdf>
- Bauman, D.E., and J.M. Griinari. 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual*

Review of Nutrition 23: 203-227.

Bernard, L., C. Leroux, and Y. Chilliard. 2008. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. Bioactive components of milk. *Adv. Exp. Med. Biol.* 606: 67-108.

Bernard, L., J. Mouriou, J. Rouel, F. Glasser, P. Capitan, E. Pujos-Guillot, J. M. Chardigny, and Y. Chilliard. 2010. Effects of fish oil and starch added to a diet containing sunflower-seed oil on dairy goat performance, milk fatty acid composition and in vivo  $\Delta^9$ -desaturation of [ $^{13}\text{C}$ ] vaccenic acid. *Br. J. Nutr.* 104:346-354.

Bernard, L., P.G. Toral, and Y. Chilliard. 2017. Comparison of mammary lipid metabolism in dairy cows and goats fed diets supplemented with starch, plant oil, or fish oil. *J. Dairy Sci.* 100:9338–9351.

Cabrera, A.R.J., A. J.M. Fonseca, R.J. Dewhurst, and E. Gomes. 2003. Nitrogen supplementation of corn silages. 2. Assessing rumen function using fatty acid profiles of bovine milk. *J. Dairy Sci.* 86:4020–4032.

Cant, J. P., A. H. Fredeen, T. MacIntyre, J. Gunn, and N. Crowe. 1997. Effect of fish oil and monensin on milk composition in dairy cows. *Can. J. Anim. Sci.* 77:125–131.

Chapoutot, P., O. Martin, P. Nozière, and D. Sauvant. 2015. Systool Web, a new one-line application for the French INRA « systali » project. In the 66th annual meeting of the European Society of Animal Science, p. 265. Wageningen Academic Publishers, Warsaw, PL.

Chilliard, Y., A. Ferlay, and M. Doreau. 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livest. Prod. Sci.* 70:31–48.

Chilliard, Y., F. Glasser, A. Ferlay, L. Bernard, J. Rouel, and M. Doreau. 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109 :828-855.

Coleman, E., W.B. Fokkink, M. Craninx, J.R. Newbold, B. De Baets , and V. Fievez. 2010. Effect of induction of subacute ruminal acidosis on milk fat profile and rumen parameters. *J. Dairy Sci.* 93:4759–4773.

Dallaire, M.P., H. Taga, L. Ma, B.A. Corl, R. Gervais, Y. Lebeuf, F.J Richard, and P.Y. Chouinard. 2014. Effects of abomasal infusion of conjugated linoleic acids, *Sterculia foetida* oil, and fish oil on production performance and the extent of fatty acid  $\Delta^9$ -desaturation in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:6411-25.

Dewhurst, R.J., J.M. Moorby, B. Vlaeminck, and V. Fievez. 2007. Apparent recovery of duodenal odd- and branched-chain fatty acids in milk of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90:1775–1780.

Elgersma, A., 2015. Grazing increases the unsaturated fatty acid concentration of milk from grass-fed cows: A review of the contributing factors, challenges and future perspectives. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 117 :1345–1369.

Faverdin, P., D. Sauvant, L. Delaby, S. Lemosquet, J.B. Daniel, and P. Schmidely. 2018. Dry matter intake and milk yield responses to dietary changes. In *INRA Feeding System for Ruminants* (ed. Nozière P., Sauvant D. and Delaby L.), pp. 149-176. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-292-4>.

Ferlay, A., L. Bernard, A. Meynadier, and C. Malpuech-Brugère. 2017. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie*. 1-14.

Fievez, V., E. Colman, J.M. Castro-Montoya, I. Stefanov, and B. Vlaeminck. 2012. Milk odd- and branched-chain fatty acids as biomarkers of rumen function - An update. *Animal Feed Sci. Technol.* 172 :51– 65.

Glasser, F., A. Ferlay, M. Doreau, P. Schmidely, D. Sauvant, and Y. Chilliard 2008a. Long chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. *J. Dairy Sci.* 91 :2771-2785.

Glasser, F., A. Ferlay, M. Doreau, P. Schmidely, D. Sauvant, and Chilliard Y. 2008b. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. *J Dairy Sci.* 91:2771-2785. doi: 10.3168/jds.2007-0383.

Glasser, F., P. Schmidely, D. Sauvant, and M. Doreau. 2008c. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal.* 2:691-704. doi: 10.1017/S1751731108002036.

Harvatine, K. J., and D. E. Bauman. 2006. SREBP1 and thyroid hormone responsive spot 14 (S14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA. *J. Nutr.* 136:2468–2474.

INRA, 2018. *INRA feeding system for ruminant*. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.

Kairenius, P., A. Ärölä, H. Leskinen, V. Toivonen, S. Ahvenjärvi, A. Vanhatalo, P. Huhtanen, T. Hurme, J.M. Griinari, and K.J. Shingfield. 2015. Dietary fish oil supplements depress milk fat yield and alter milk fatty acid composition in lactating cows fed grass silage-based diets. *J Dairy Sci.* 98:5653-5671. doi: 10.3168/jds.2015-9548.

Khiaosa-Ard, R., M. Kreuzer, and F. Leiber. 2015. Apparent recovery of C18 polyunsaturated fatty acids from feed in cow milk: a meta-analysis of the importance of dietary fatty acids and feeding regimens in diets without fat supplementation. *J Dairy Sci.* 98:6399-6414. doi: 10.3168/jds.2015-9459.

Loor, J.J., M. Doreau, J.M. Chardigny, A. Ollier, J.L. Sebedio, and Y. Chilliard. 2005. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Animal Feed Science and Technology* 119: 227–246.

Meignan, T., C. Lechartier, G. Chesneau, and N. Bareille. 2017. Effects of feeding extruded linseed on production performance and milk fatty acid profile in dairy cows: A meta-analysis *J. Dairy Sci.* 100:4394-4408.



- Osborne, V. R., S. Radhakrishnan, N. E. Odongo, A. R. Hill, and B.W. McBride. 2008. Effects of supplementing fish oil in the drinking water of dairy cows on production performance and milk fatty acid composition. *J. Anim. Sci.* 86:720–729.
- Prado, L. A., A. Ferlay, P. Nozière and P. Schmidely. 2018. Predicting duodenal flows and absorption of fatty acids from dietary characteristics in ruminants: a meta-analysis approach. *Animal*, revised.
- Schmidely, P., F. Glasser, M. Doreau, and D. Sauvant 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. *Animal*. 2:677–690.
- Schmidely, P., A. Ferlay, G. Maxin, C. Hurtaud and J.L. Peyraud. Chapter 11. Milk fat content and composition. In *INRA Feeding System for Ruminants* (ed. Nozière P., Sauvant D. and Delaby L.), pp. 185-191. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands.
- Shingfield, K.J., J. Rouel, and Y. Chilliard. 2009. Effect of calcium salts of a mixture of conjugated linoleic acids containing trans-10, c-12 in the diet on milk fat synthesis in goats. *Br. J. Nutr.* 101:1006-1019. doi:10.1017/S0007114508051696.
- Shingfield, K.J., L. Bernard, C. Leroux, and Chilliard Y. 2010. Role of trans fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*. 4 :1140–1166.
- Toral, P.G., P. Frutos, D. Carreño, and G. Hervás. 2017. Endogenous synthesis of milk oleic acid in dairy ewes: In vivo measurement using <sup>13</sup>C-labeled stearic acid. *J. Dairy Sci.* 100:5880-5887.
- Toral, P.G., Y. Chilliard, and L. Bernard. 2012. *Short communication*: In vivo deposition of [1-<sup>13</sup>C]vaccenic acid and the product of its  $\Delta^9$ -desaturation, [1-<sup>13</sup>C]rumenic acid, in the body tissues of lactating goats fed oils. *J. Dairy Sci* 95:6755-6759.
- Vahmani, P., K.E. Glover, and A.H. Fredeen. 2014. Effects of pasture versus confinement and marine oil supplementation on the expression of genes involved in lipid metabolism in mammary, liver, and adipose tissues of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 97:4174–4183.
- Vlaeminck, B., V. Fievez, A.R.J. Cabrita, A.J.M. Fonseca, and R.J. Dewhurst. 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Animal Feed Science and Technology* 131 :389–417.

**Table 1** Predictions of milk yields or concentrations of total C18 fatty acids (FA) and *cis* and *trans* C18:1 isomers from their respective duodenal FA flows in dairy cows fed forage or high-concentrate diets or diets supplemented with vegetable oils (FCVL Subset).

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>Total C18<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>			Intra-exp. <sup>4</sup>	35 (96)	97.1 (36.4)		38.6	0.89
		TotalC18 <sub>duo</sub> <sup>5</sup>	<i>g/d</i>				0.66 (0.11)		
		(TotalC18 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.00029 (0.00008)		
<b><i>cis</i> C18:1 isomers</b>									
<b>c11-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	c11-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	12 (36)	4.19 (0.52)	0.22 (0.07)	0.96	0.80**
<b>c11-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total FA	c11-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	12 (36)	0.57 (0.06)	0.38 (0.15)	0.10	0.86
<b>c11-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	c11-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	12 (36)	1.46 (0.18)	0.24 (0.14**)	0.29	0.81
<b>c12-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	c12-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	12 (35)	0.95 (0.28)	0.40 (0.05)	0.55	0.88
<b>c12-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	12 (35)	*		0.05	0.98
		c12-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>						
		(c12-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-1.64 (0.35)		
<b>c12-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	c12-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	12 (35)	*	1.03 (0.02)	0.08	0.99
<b>c13-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	c13-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	9 (26)	0.51 (0.08)	0.40 (0.08)	0.19	0.74
<b>c13-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total FA	c13-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	9 (26)	0.051 (0.008)	1.28 (0.16)	0.02	0.86
<b>c13-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	c13-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	9 (26)	0.12 (0.02)	1.03 (0.15)	0.03	0.82

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>c15-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	9 (25)	*		0.84	0.95
		c15-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				0.93 (0.09)		
		(c15-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.022 (0.005)		
<b>c15-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA			Intra-exp.	9 (25)	*		0.07	0.97
		c15-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				2.07 (0.20)		
		(c15-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-0.72 (0.16)		
<b>c15-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA			Intra-exp.	9 (25)	*		0.08	0.99
		c15-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA				1.50 (0.06)		
		(c15-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	% total C18 FA				-0.18 (0.03)		
<b>trans C18 :1 isomers</b>									
<b>t4-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	t4-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Global	19	0.17 (0.04)	0.13 (0.02)	0.13	0.68
<b>t4-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA			Global	19	*		0.01	0.91
		t4-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				1.04 (0.13)		
		(t4-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-3.25 (0.92)		
<b>t4-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t4-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Global	19	0.05 (0.01)	0.29 (0.06)	0.02	0.57
<b>t5-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	t5-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	5 (15)	*	0.44 (0.02)	0.08	0.97
<b>t5-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t5-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	5 (15)	*	1.01 (0.07)	0.01	0.96

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>t5-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t5-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	5 (15)	*	0.90 (0.05)	0.02	0.97
<b>t6+7+8-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	t6+7+8-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	12 (33)	*	0.75 (0.04)	0.72	0.97
		(t6+7+8-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.020 (0.002)		
<b>t6+7+8-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t6+7+8-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	12 (33)	*	1.84 (0.09)	0.07	0.98
		(t6+7+8-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-0.99 (0.11)		
<b>t6+7+8-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t6+7+8-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	12 (33)	*	1.33 (0.10)	0.14	0.98
		(t6+7+8-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	% total C18 FA				-0.29 (0.07)		
<b>t9-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	t9-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	15 (41)	*	1.13 (0.05)	0.51	0.98
		(t9-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.056 (0.005)		
<b>t9-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t9-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	15 (41)	*	2.49 (0.10)	0.05	0.98
		(t9-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-2.19 (0.23)		

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>t9-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t9-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	15 (41)	0.36 (0.07)	0.75 (0.14)	0.11	0.90
<b>t10-C18:1</b> <sub>milk</sub>	g/d	t10-C18:1 <sub>duo</sub>	g/d	Intra-exp.	14 (37)	3.86 (1.20)	0.27 (0.05)	5.11	0.70
<b>t10-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t10-C18:1 <sub>duo</sub>	g/kg DMI	Intra-exp.	14 (37)	0.39(0.18)	0.84 (0.14)	0.74	0.72
<b>t10-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t10-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	14 (37)	0.89 (0.38)	0.64 (0.12)	1.42	0.72
<b>t11-C18:1</b> <sub>milk</sub>	g/d	t11-C18:1 <sub>duo</sub>	g/d	Intra-exp.	18 (49)	*	0.55 (0.04)	4.25	0.95
		(t11-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	g/d				-0.0019 (0.0004)		
<b>t11-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t11-C18:1 <sub>duo</sub>	g/kg DMI	Intra-exp.	18 (49)	0.38 (0.11)	0.77 (0.05)	0.34	0.94
<b>t11-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t11-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	18 (49)	*	0.69 (0.01)	0.60	0.98
<b>t12-C18:1</b> <sub>milk</sub>	g/d	t12-C18:1 <sub>duo</sub>	g/d	Intra-exp.	14 (37)	*	0.70 (0.04)	0.79	0.97
		(t12-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	g/d				-0.012 (0.003)		
<b>t12-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t12-C18:1 <sub>duo</sub>	g/kg DMI	Intra-exp.	14 (37)	*	1.57 (0.10)	0.09	0.98
		(t12-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	g/kg DMI				-0.46 (0.15)		
<b>t12-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t12-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	14 (37)	*	0.98 (0.27)	0.17	0.98

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>t13+14-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	12 (33)	*		2.08	0.97
		t13+14-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				0.52 (0.03)		
		(t13+14-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.0023 (0.0004)		
<b>t13+14-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA			Intra-exp.	12 (33)	*		0.28	0.97
		t13+14-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				1.21 (0.08)		
		(t13+14-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-0.09 (0.03)		
<b>t13+14-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t13+14-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	12 (33)	*	0.75 (0.02)	0.37	0.98
<b>t15-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	t15-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	8 (19)	1.21 (0.19)	0.28 (0.03)	0.40	0.97
<b>t15-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA	t15-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	8 (19)	0.10 (0.01)	0.69 (0.03)	0.02	0.99
<b>t15-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	t15-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	8 (19)	*	0.84 (0.06)	0.02	0.99
<b>t16+c14-C18:1</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	t16+c14-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	11 (27)	0.71 (0.30)	0.32 (0.03)	0.76	0.90
<b>t16+c14-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total FA			Intra-exp.	11 (27)	*		0.04	0.99
		t16+c14-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				1.16 (0.04)		
		(t16+c14-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-0.27 (0.04)		
<b>t16+c14-C18:1</b> <sub>milk</sub>	% total C18	t16+c14-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18	Intra-exp.	11 (27)	*	0.80 (0.02)	0.12	0.98

<sup>1</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments ; <sup>2</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments ; <sup>3</sup> RMSE = root mean square error ; <sup>4</sup> Intra-exp. = intra-experiment models ; <sup>5</sup> duo= duodenal; \*The intercept was not significant; \*\*There is a tendency at  $P < 0.09$ .

**Table 2** Predictions of milk yields or proportions of *cis* and *trans* isomers of C18:2 et C18:3 from their respective duodenal fatty acid flows in dairy cows forage or high-concentrate diets or diets supplemented with vegetable oils (FCVL Subset).

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>C18:2 n-6<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	C18:2 n-6 <sub>duo</sub> <sup>4</sup>	<i>g/d</i>	Intra-exp. <sup>5</sup>	22 (60)	11.0 (2.45)	0.24 (0.08)	3.67	0.81
<b>C18:2 n-6<sub>milk</sub></b>	% total FA	C18:2 n-6 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	22 (60)	1.38 (0.29)	0.45 (0.18)	0.34	0.80
<b>C18:2 n-6<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	C18:2 n-6 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	21 (57)	2.12 (0.32)	0.54 (0.05)	0.64	0.86
<b>t9,c12-C18:2<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	t9,c12-C18:2 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	6 (15)	0.29 (0.04)	0.27 (0.03)	0.10	0.91
<b>t9,c12-C18:2<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	6 (15)	0.018 (0.003)		0.003	0.99
		t9,c12-C18:2 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				1.47 (0.13)		
		(t9,c12-C18:2 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-2.12 (0.59)		
<b>t9,c12-C18:2<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	(t9,c12-C18:2 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	% total C18 FA	Intra-exp.	6 (15)	0.117 (0.005)	1.75 (0.08)	0.01	0.99
<b>t11,c15-C18:2<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	10 (29)	*		1.80	0.94
		t11,c15-C18:2 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				0.57 (0.06)		
		(t11,c15-C18:2 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.005 (0.001)		
<b>t11,c15-C18:2<sub>milk</sub></b>	% total FA	t11,c15-C18:2 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	10 (29)	*	0.95 (0.04)	0.22	0.95
<b>t11,c15-C18:2<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t11,c15-C18:2 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	10 (29)	*	0.77 (0.03)	0.37	0.96
<b>Conjugated linoleic acids</b>									

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>t11,t13-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	11 (30)	*		0.11	0.93
		t11,t13-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				0.56 (0.07)		
		(t11,t13-CLA <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.12 (0.04)		
<b>t11,t13-CLA<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	11 (30)	*		0.01	0.94
		t11,t13-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				1.34 (0.15)		
		(t11,t13-CLA <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-4.47 (1.77)		
<b>t11,t13-CLA<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t11,t13-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	11 (30)	*	0.69 (0.03)	0.02	0.96
<b>t11,c13-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	t11,c13-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	5 (13)	*	0.47 (0.02)	0.025	0.99
<b>t11,c13-CLA<sub>milk</sub></b>	% total FA	t11,c13-CLA <sub>duo</sub>	% total FA	Intra-exp.	5 (13)	0.0027 (0.0009)	0.73 (0.06)	0.001	0.99
<b>t11,c13-CLA<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t11,c13-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	5 (13)	0.011 0.002	0.44 (0.03)	0.003	0.99
<b>t10,c12-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	17 (44)	0.08 (0.02)	0.41 (0.06)	0.07	0.91
<b>t10,c12-CLA<sub>milk</sub></b>	% total FA	t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	17 (44)	0.007 (0.003)	1.31 (0.20)	0.01	0.88
<b>t10,c12-CLA<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	17 (44)	*	1.14 (0.08)	0.03	0.90
<b>C18:3 n-3<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	17 (44)	*		1.15	0.97
		C18:3 n-3 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				0.65 (0.03)		
		(C18:3 n-3 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.007 (0.001)		



Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>C18:3 n-3<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	17 (44)	*		0.11	0.98
		C18:3 n-3 <sub>duo</sub>	g/kg DMI				1.37 (0.05)		
		(C18:3 n-3 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	g/kg DMI				-0.22 (0.04)		
<b>C18:3 n-3<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA			Intra-exp.	17 (44)	*		0.27	0.98
		C18:3 n-3 <sub>duo</sub>	% total C18 FA				0.97 (0.06)		
		(C18:3 n-3 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	% total C18 FA				-0.06 (0.02)		

<sup>1</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments ; <sup>2</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments ; <sup>3</sup> RMSE = root mean square error ; <sup>4</sup> duo= duodenal ; <sup>5</sup> Intra-exp. = intra-experiment models ; \*The intercept was not significant.

**Table 3** Predictions of milk yields or proportions of certain sums of substrates and products of mammary  $\Delta 9$ -desaturase activity from their respective sums of duodenal flows in dairy cows forage or high-concentrate diets or diets supplemented with vegetable oils (FCVL Subset)

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at duodenum level	Independent variable units	Regression	$N_{\text{exp}}^1$ ( $N_{\text{trt}}^2$ )	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>C18:0+c9-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub> <sup>4</sup>	<i>g/d</i>	Intra-exp. <sup>5</sup>	21 (57)	133 (18.3)	0.33 (0.05)	33.9	0.88
<b>C18:0+c9-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>% total FA</i>	C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	21 (57)	15.8 (1.43)	0.69 (0.07)	2.39	0.86
<b>C18:0+c9-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>% total C18 FA</i>	C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>% total C18 FA</i>	Intra-exp.	21 (57)	16.5 (6.19)	0.82 (0.09)	3.06	0.90
<b>t11-C18:1+c9,t11-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	t11-C18:1+c9,t11-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	15 (41)	8.16 (2.33)	0.39 (0.05)	6.16	0.84
<b>t11-C18:1+c9,t11-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>% total FA</i>	t11-C18:1+c9,t11-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	15 (41)	0.61 (0.18)	1.05 (0.07)	0.46	0.94
<b>t11-C18:1+c9,t11-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>% total C18 FA</i>	t11-C18:1+c9,t11-CLA <sub>duo</sub>	<i>% total C18 FA</i>	Intra-exp.	15 (41)	*	0.95 (0.02)	0.82	0.99

<sup>1</sup>  $N_{\text{exp}}$  = number of experiments ; <sup>2</sup>  $N_{\text{trt}}$  = number of treatments ; <sup>3</sup> RMSE = root mean square error ; <sup>4</sup> duo= duodenal ; <sup>5</sup> Intra-exp. = intra-experiment models ; \*The intercept was not significant.

**Table 4** Predictions of milk yields or concentrations of selected saturated fatty acids (FA) and odd- and branched-chain FA in dairy cows forage or high-concentrate diets or diets supplemented with vegetable oils (FCVL Subset)

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	$N_{\text{exp}}^1$ ( $N_{\text{trt}})^2$	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>De novo synthesised FA</b>									
<b>C4-C14<sub>milk</sub></b> <sup>4</sup>	<i>g/d</i>			Global	25 (65)	138 (68.1)		27.9	0.88
		Acetate+Butyrate <sub>rumen</sub>	<i>mML</i>				1.70 (0.78)		
		Total C18 <sub>duo</sub> <sup>5</sup>	<i>g/d</i>				-0.11 (0.02)		
<b>C4-C14<sub>milk</sub></b>	<i>% Total FA</i>	Total C18 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp. <sup>6</sup>	30 (80)	33.3 (1.10)	-0.32 (0.03)	2.29	0.74
<b>C16:0<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	32 (89)	340 (34.3)		45.9	0.74
		C16:0 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				-0.82 (0.36)		
		(C16:0 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				0.0015 (0.0007)		
<b>C16:0<sub>milk</sub></b>	<i>% Total FA</i>			Intra-exp.	32 (89)	42.1 (3.48)		3.69	0.54
		C16:0 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				-3.21 (0.80)		
		(C16:0 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				0.14 (0.04)		
<b>C18:0<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>			Intra-exp.	35 (97)	29.1 (11.9)		14.3	0.89
		C18:0 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				0.23 (0.05)		
		(C18:0 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>				-0.00010 (0.00005)		

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>C18:0</b> <sub>milk</sub>	% total FA			Intra-exp.	35 (97)	*		1.06	0.99
		C18:0 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				0.81 (0.03)		
		(C18:0 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-0.011 (0.001)		
<b>C18:0</b> <sub>milk</sub>	% total C18 FA	C18:0 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	34 (94)	6.25 (2.72)	0.31 (0.04)	1.76	0.83
<b>Odd- and branched-chain FA</b>									
<b>C15:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	Ruminal pH	<i>pH unit</i>	Intra	22 (66)	34.4 (9.5)	-3.88 (1.52)	1.70	0.80
<b>C15:0</b> <sub>milk</sub>	% Total FA	C15:0 <sub>duo</sub>	% Total FA	Global	41	0.70 (0.06)	0.40 (0.06)	0.17	0.61
<b>Iso-C15:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	A/P <sup>7</sup>	<i>Molar ratio</i>	Global	30	*	0.70 (0.03)	0.50	0.95
<b>Iso-C15:0</b> <sub>milk</sub>	% Total FA	Iso-C15:0 <sub>duo</sub>	% Total FA	Global	29	0.15 (0.01)	0.18 (0.03)	0.03	0.59
<b>Anteiso-C15:0</b> <sub>milk</sub>	% Total FA	Anteiso-C15:0 <sub>duo</sub>	% Total FA	Global	23	0.39 (0.04)	0.13 (0.03)	0.10	0.31
<b>C17:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	Ruminal pH	<i>pH unit</i>	Global	59	26.4 (3.29)	-3.33 (0.53)	1.31	0.39
<b>C17:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	Starch <sub>diet</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Global	48	3.61 (0.50)	0.012 (0.002)	1.54	0.35
<b>C17:0</b> <sub>milk</sub>	% Total FA	C17:0 <sub>duo</sub>	% Total FA	Global	43	0.48 (0.04)	0.24 (0.06)	0.09	0.29
<b>Iso-C17:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>			Global	24	*		0.86	0.92
		Iso-C17:0 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>				1.07 (0.26)		
		Starch <sub>diet</sub>	<i>g/kg DMI</i>				0.007 (0.003)		

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	N <sub>exp</sub> <sup>1</sup> (N <sub>trt</sub> ) <sup>2</sup>	Intercept (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
<b>Iso-C17:0</b> <sub>milk</sub>	% Total FA			Global	24	*		0.11	0.89
		Iso-C17:0 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				1.76 (0.59)		
		Starch <sub>diet</sub>	<i>g/kg DMI</i>				0.0010 (0.0003)		
<b>Anteiso-C17:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	CP <sub>diet</sub> <sup>8</sup>	<i>g/kg DMI</i>	Global	17	17.9 (1.90)	-0.096 (0.013)	0.72	0.78
<b>Anteiso-C17:0</b> <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	Anteiso-C17:0 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Global	11	*	1.69 (0.13)	0.42	0.94
<b>Anteiso-C17:0</b> <sub>milk</sub>	% Total FA	CP <sub>diet</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Global	14	2.42 (0.30)	-0.013 (0.002)	0.11	0.74

<sup>1</sup> N<sub>exp</sub> = number of experiments; <sup>2</sup> N<sub>trt</sub> = number of treatments; <sup>3</sup> RMSE = root mean square error; <sup>4</sup> C4-C14 = sum of C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 and C14:0; <sup>5</sup> duo = duodenal; <sup>6</sup> Intra-exp. = intra-experiment models; <sup>7</sup> A/P = ruminal acetate/ propionate ratio; <sup>8</sup> CP = crude protein; \*The intercept was not significant.

**Table 5** Predictions of milk yields or proportions of monounsaturated and polyunsaturated FA from their respective duodenal flows in dairy cows fed diets supplemented with marine or fish products (Fish subset)

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	$N_{\text{exp}}^1$ ( $N_{\text{trt}}^2$ )	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
EPA <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	(EPA <sub>duo</sub> <sup>4</sup> ) <sup>2</sup>	<i>g/d</i>	Intra-exp. <sup>5</sup>	4 (13)	0.43 (0.17)	0.05 (0.01)	0.46	0.71
EPA <sub>milk</sub>	% total FA	(EPA <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	4 (13)	0.05 (0.02)	2.85 (0.41)	0.06	0.83
DPA <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	DPA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Global	4 (13)	0.79 (0.22)	0.24 (0.11)	0.56	0.23
DPA <sub>milk</sub>	% total FA	DPA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	4 (13)	0.10 (0.04)	0.71 (0.38)	0.09	0.26
DHA <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	DHA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	5 (17)	*	0.20 (0.03)	0.27	0.72
DHA <sub>milk</sub>	% total FA	DHA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	5 (17)	*	0.59 (0.09)	0.04	0.76
C18:3 n-3 <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	C18:3 n-3 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	5 (16)	2.50 (0.37)	0.26 (0.04)	0.87	0.91
C18:3 n-3 <sub>milk</sub>	% total FA	C18:3 n-3 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	5 (16)	0.39 (0.04)	0.39 (0.07)	0.10	0.84
C18:3 n-3 <sub>milk</sub>	% total C18 FA	C18:3 n-3 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	5 (16)	1.12 (0.10)	0.15 (0.06)	0.24	0.52
C18:2 n-6 <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	C18:2 n-6 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Global	21	8.19 (2.24)	0.37 (0.06)	6.32	0.65
C18:2 n-6 <sub>milk</sub>	% total FA	C18:2 n-6 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Global	6 (21)	*	1.51 (0.08)	0.49	0.96
C18:2 n-6 <sub>milk</sub>	% total C18 FA	C18:2 n-6 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Global	17	2.14 (0.33)	0.57 (0.05)	0.90	0.88
c9-C18:1 <sub>milk</sub>	% total C18 FA	c9-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	4 (13)	71.5 (14.6)	-7.43 (2.82)	8.67	0.42
C18:0 <sub>milk</sub>	<i>g/d</i>	C18:0 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	7	*	0.37 (0.02)	23.0	0.96

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	$N_{\text{exp}}^1$ $(N_{\text{trt}})^2$	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
					(25)				
<b>C18:0<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	7 (25)	-3.77 (0.15)		1.23	0.93
		C18:0 <sub>duo</sub>	g/kg DMI				1.93 (0.27)		
		(C18:0 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	g/kg DMI				-0.05 (0.01)		
<b>C18:0<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	C18:0 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	6 (21)	4.88 (1.15)	0.35 (0.02)	1.81	0.96
<b>t10-C18:1<sub>milk</sub></b>	g/d	t10-C18:1 <sub>duo</sub>	g/d	Intra-exp.	4 (13)	*	0.43 (0.01)	2.82	0.99
<b>t10-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total FA	t10-C18:1 <sub>duo</sub>	g/kg DMI	Intra-exp.	4 (13)	*	1.08 (0.04)	0.41	0.99
<b>t10-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t10-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	4 (13)	*	0.80 (0.02)	0.55	0.99
<b>t11-C18:1<sub>milk</sub></b>	g/d			Intra-exp.	5 (17)	*		4.53	0.98
		t11-C18:1 <sub>duo</sub>	g/d				0.70 (0.06)		
		t11-C18:1 <sub>duo</sub>	g/d				-0.0025 (0.0005)		
<b>t11-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total FA	t11-C18:1 <sub>duo</sub>	g/kg DMI	Intra-exp.	5 (17)	*	1.12 (0.04)	0.80	0.98
<b>t11-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t11-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	5 (17)	*	0.68 (0.02)	1.94	0.98
<b>t10,c12-CLA<sub>milk</sub></b>	g/d	t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	g/d	Intra-exp.	4 (13)	*	0.43 (0.06)	0.10	0.88
<b>t10,c12-CLA<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	4 (13)	0.014 (0.003)		0.005	0.98
		t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	g/kg DMI				-0.76 (0.30)		

Dependent variable (Y) in milk	Dependent variable units	Independent variable (X) at the duodenum level	Independent variable units	Regression	$N_{\text{exp}}^1$ ( $N_{\text{trt}}^2$ )	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
		t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				18.7 (2.79)		
<b>t10,c12-CLA<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	4 (13)	0.033 (0.006)		0.01	0.98
		t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA				-0.61 (0.22)		
		t10,c12-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA				5.24 (0.82)		
<b>C18:0+c9-C18:1<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	4 (13)	*	0.82 (0.07)	66.7	0.94
<b>C18:0+c9-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total FA			Intra-exp.	4 (13)	*		3.72	0.98
		C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>				2.36 (0.33)		
		(C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub> ) <sup>2</sup>	<i>g/kg DMI</i>				-0.037 (0.017)		
<b>C18:0+c9-C18:1<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	C18:0+c9-C18:1 <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	4 (13)	11.2 (2.43)	0.85 (0.04)	3.03	0.98
<b>t11-C18:1+c9,t11-CLA<sub>milk</sub></b>	<i>g/d</i>	t11-C18:1+c9,t11-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/d</i>	Intra-exp.	4 (13)	*	0.54 (0.03)	7.57	0.96
<b>t11-C18:1+c9,t11-CLA<sub>milk</sub></b>	% total FA	t11-C18:1+c9,t11-CLA <sub>duo</sub>	<i>g/kg DMI</i>	Intra-exp.	4 (13)	*	1.36 (0.06)	0.97	0.97
<b>t11-C18:1+c9,t11-CLA<sub>milk</sub></b>	% total C18 FA	t11-C18:1+c9,t11-CLA <sub>duo</sub>	% total C18 FA	Intra-exp.	4 (13)	*	0.89 (0.03)	1.99	0.98

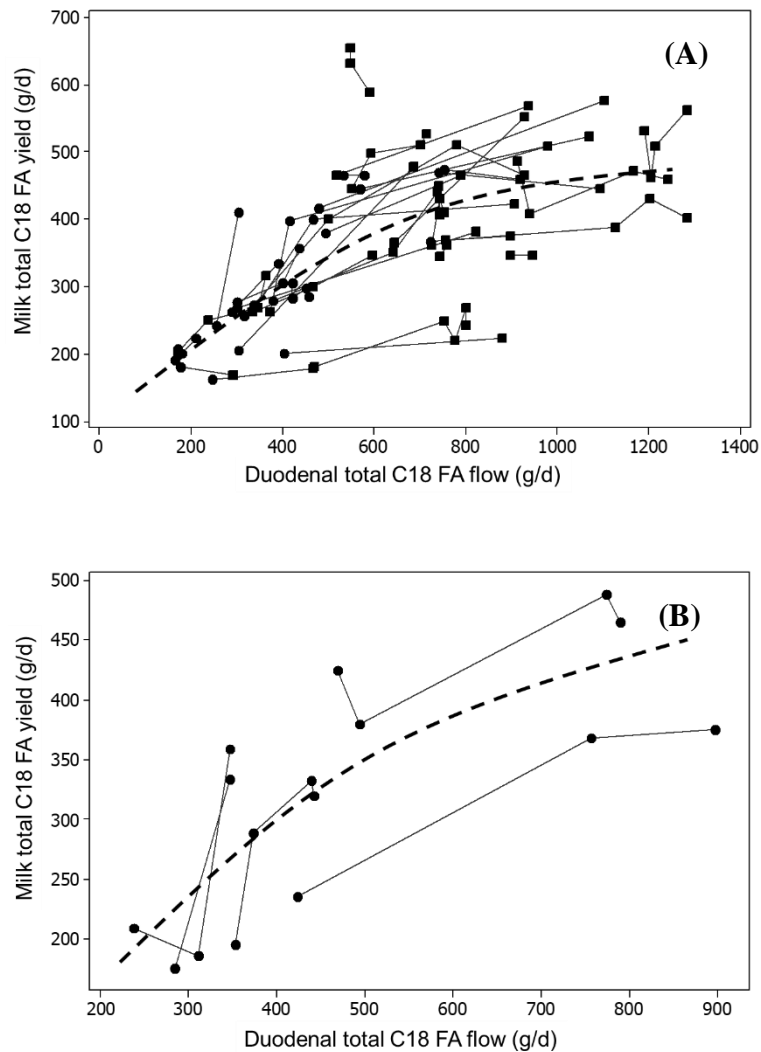
<sup>1</sup>  $N_{\text{exp}}$  = number of experiments ; <sup>2</sup>  $N_{\text{trt}}$  = number of treatments ; <sup>3</sup> RMSE = root mean square error ; <sup>4</sup> Total SFA = sum of C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0 and C18:0 ; <sup>5</sup> Intra-exp. = intra-experiment models ; \*The intercept was not significant.



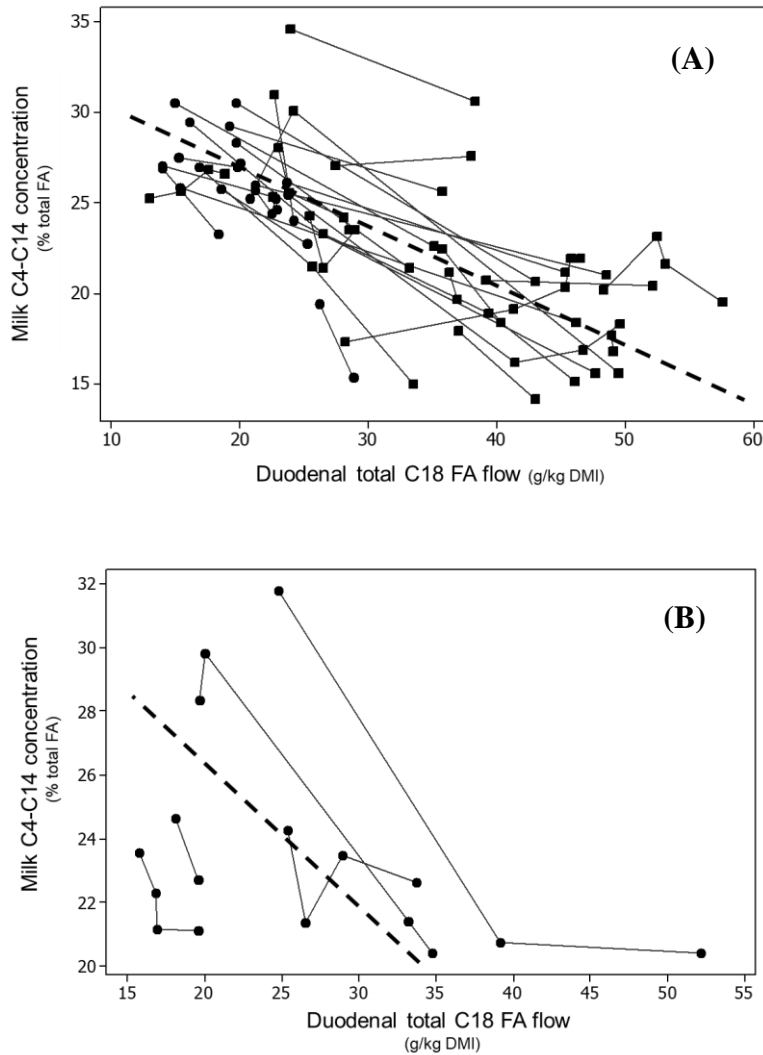
**Table 6.** Calculated mammary uptake of C18:0 and t11-C18:1 (X), milk yields of c9-C18:1 and c9t11-CLA, and adjusted models of the amount desaturated (in g/d) according to mammary uptake for the Forage/Concentrate/Vegetable Oils and Fish Subsets

Data subset	Mammary Substrate	Mammary substrate uptake (X), g/d	Mammary product	Mammary product yield (Y), g/d	$N_{\text{exp}}^1$ ( $N_{\text{trt}})^2$	Intercept ( $\beta_0$ )	Coefficient ( $\beta_1$ )	RMSE <sup>3</sup>	R <sup>2</sup>
FCVL <sup>4</sup>	C18:0	256 (11)	c9-C18 :1	180 (7.7)	21 (62)	9.12 (4.4)	0.55 (0.02)	5.8	0.96
FCVL	t11-C18 :1	23 (2.3)	c9t11-CLA	6.9 (0.40)	16 (45)	1.16 (0.50)	0.23 (0.02)	1.5	0.82
Fish	C18:0	210 (39.5)	c9-C18 :1	142 (25.7)	13 (4)	*	0.56 (0.02)	8.2	0.98
Fish	t11-C18 :1	35 (5.0)	c9t11-CLA	9.9 (1.23)	13 (4)	*	0.23 (0.02)	1.5	0.78

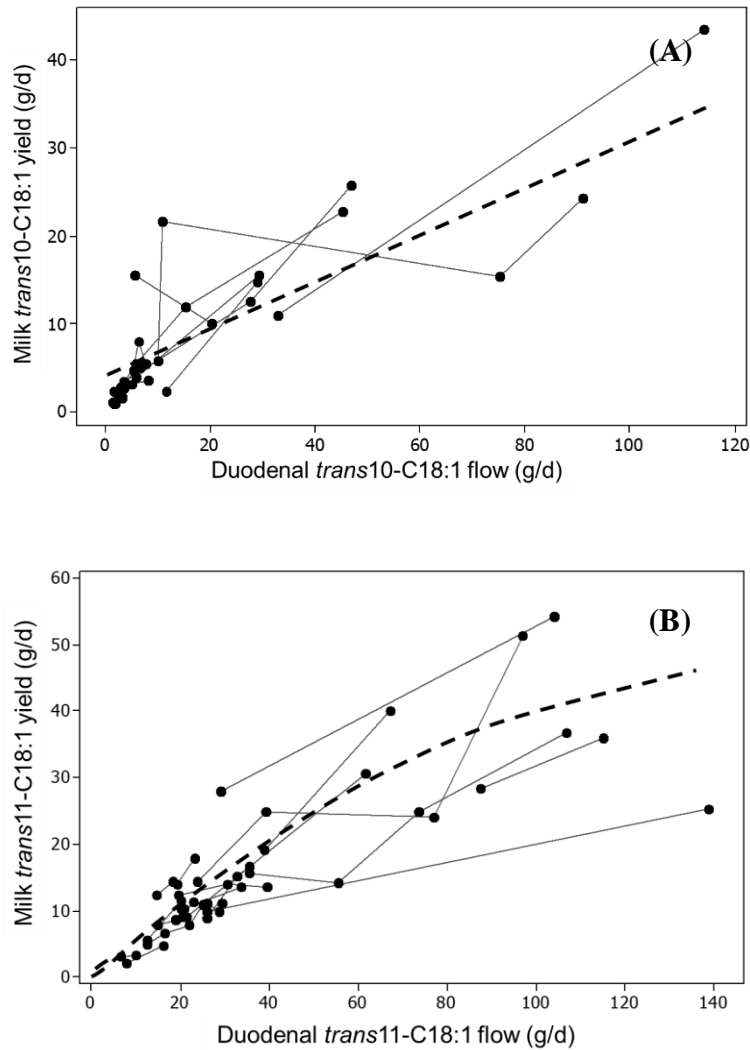
<sup>1</sup>  $N_{\text{exp}}$  = number of experiments; <sup>2</sup>  $N_{\text{trt}}$  = number of treatments; <sup>3</sup> RMSE = root mean square error; <sup>4</sup> FCVL = Forage/Concentrate/Vegetable Oils subset.



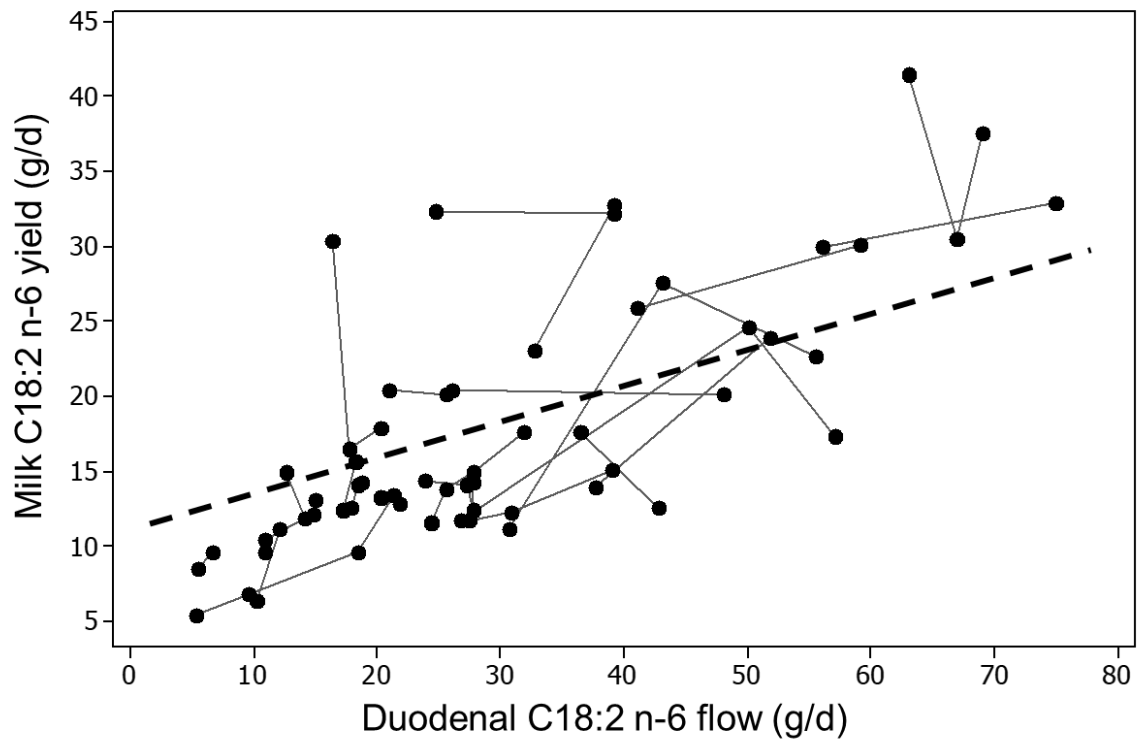
**Figure 1.** (A) Intra-experimental relationship between milk total C18 FA yield (Y g/d) and duodenal total C18 FA flow (X g/d), where (■) are the lipid diets and (●) diets without lipid supplementation. The dashed line (- -) shows the quadratic fitted model ( $Y = 97.1 \pm 36.4 + 0.66 \pm 0.11 \cdot X - 0.00029 \pm 0.00008 \cdot X^2$ ,  $N_{exp} = 35$ ,  $N_{trt} = 96$ ,  $RMSE = 38.6$  g/d,  $R^2 = 0.89$ ). (B) Intra-experimental relationship between milk total C18 FA yield (Y g/d) and duodenal total C18 FA flow (X g/d) from the Fish subset. The dashed line (- -) shows the quadratic fitted model ( $Y = 0.97 \pm 0.10 \cdot X - 0.0005 \pm 0.0002 \cdot X^2$ ,  $N_{exp} = 5$ ,  $N_{trt} = 16$ ,  $RMSE = 51.2$  g/d,  $R^2 = 0.98$ ).



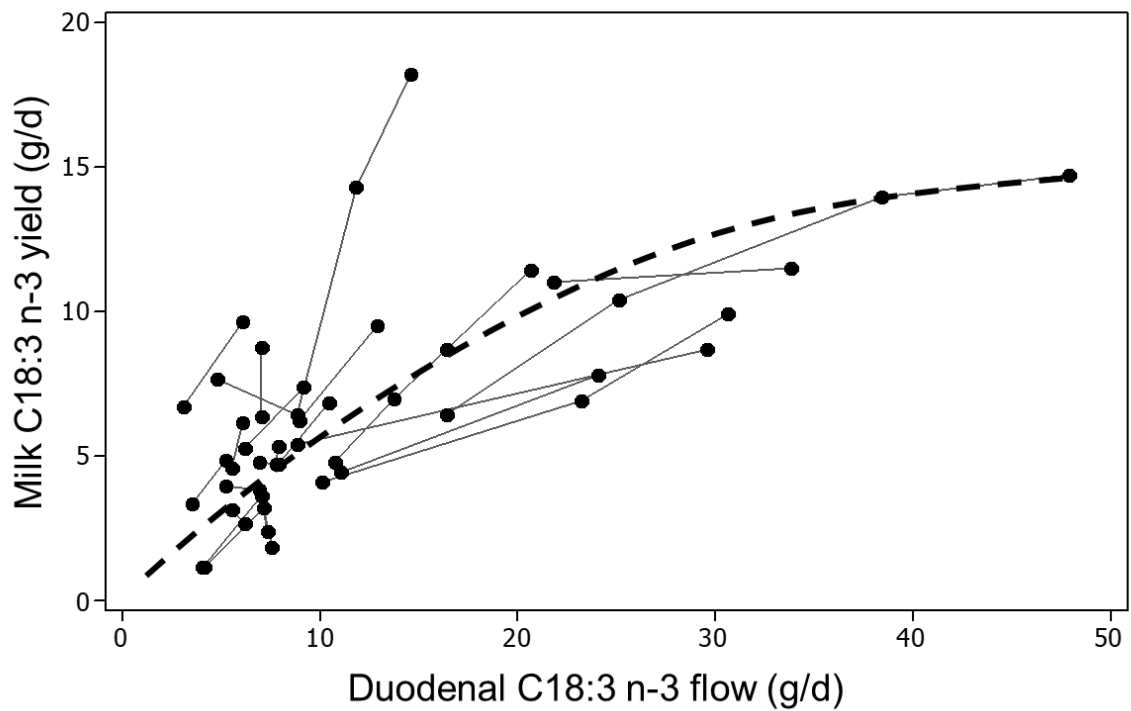
**Figure 2.** (A) Intra-experimental relationship between milk C4-C14 concentration (Y % total FA) and duodenal total C18 FA flow (X g/kg DMI), where (■) are the lipid diets and (●) diets without lipid supplementation. The dashed line (- - -) shows the linear fitted model ( $Y = 33.3 \pm 1.10 - 0.32 \pm 0.03 \cdot X$ ,  $N_{exp} = 30$ ,  $N_{trt} = 80$ ,  $RMSE = 2.29$  % of total FA,  $R^2 = 0.74$ ). (B) Intra-experimental relationship between milk C4-C14 concentration (Y % total FA) and duodenal total C18 FA flow (X g/kg DMI) from Fish subset. The dashed line (- - -) shows the linear fitted model ( $Y = 35.3 \pm 1.92 - 0.45 \pm 0.07 \cdot X$ ,  $N_{exp} = 5$ ,  $N_{trt} = 17$ ,  $RMSE = 1.79$  % of total FA,  $R^2 = 0.72$ ).



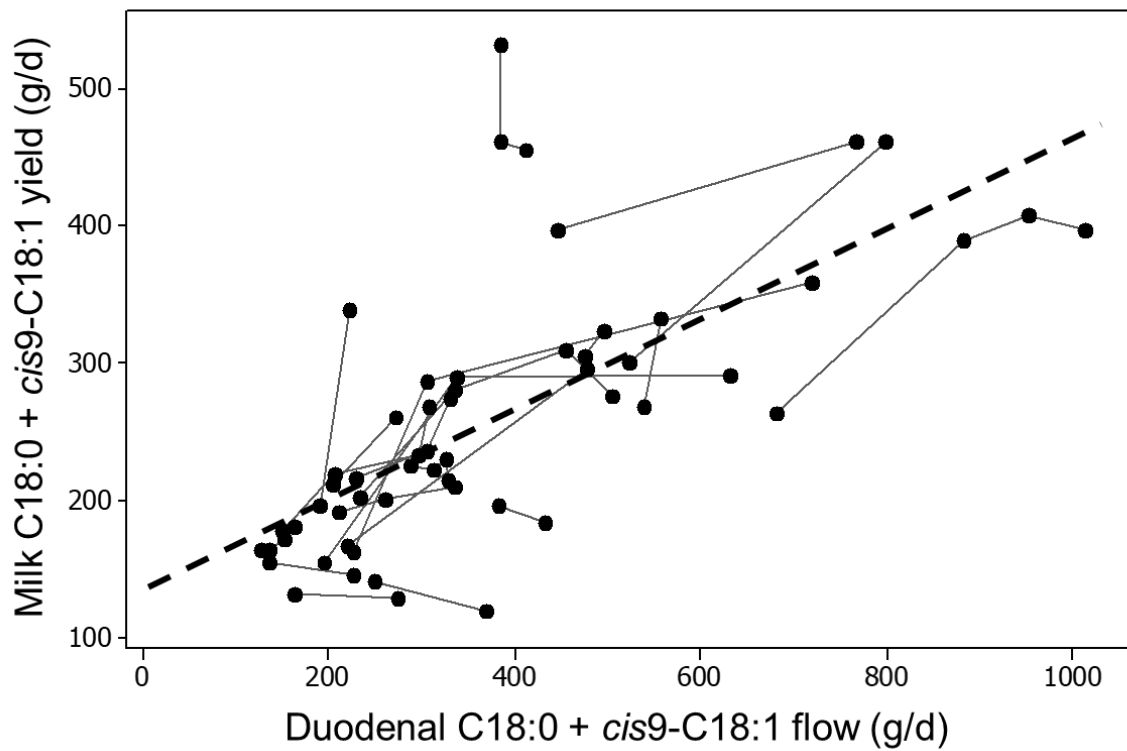
**Figure 3.** (A) Intra-experimental relationship between milk *t*11-C18:1 yield (Y g/d) and duodenal *t*11-C18:1 flow (X g/d) from the FCVL subset. The dashed line (- - -) shows the quadratic model ( $Y = 0.55 \pm 0.04 \cdot X - 0.0019 \pm 0.0004 \cdot X^2$ ,  $N_{exp} = 18$ ,  $N_{trt} = 49$ ,  $RMSE = 4.25$  g/d,  $R^2 = 0.95$ ). (B) Intra-experimental relationship between milk *t*10-C18:1 yield (Y g/d) and duodenal *t*10-C18:1 flow (X g/d) from the FCVL subset. The dashed line (- - -) shows the linear model ( $Y = 3.86 \pm 1.20 + 0.27 \pm 0.05 \cdot X$ ,  $N_{exp} = 14$ ,  $N_{trt} = 37$ ,  $RMSE = 5.11$  g/d,  $R^2 = 0.70$ ).



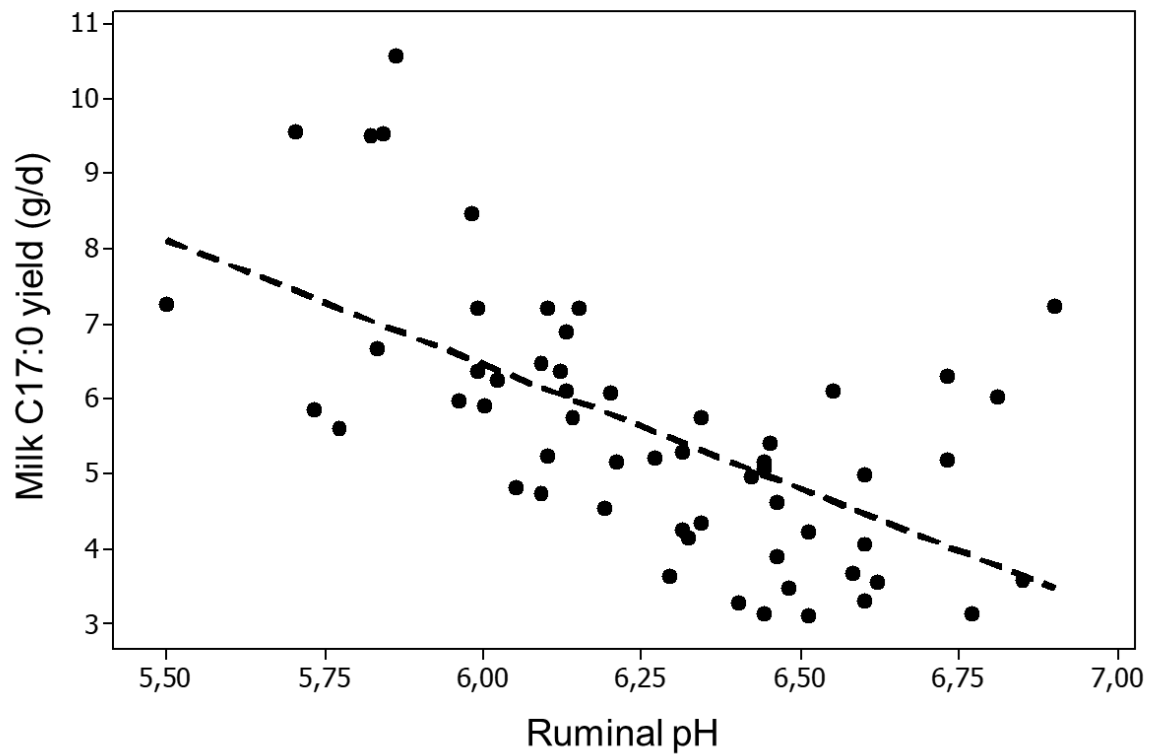
**Figure 4.** Intra-experimental relationship between milk C18:2 n-6 yield (X g/d) and duodenal C18:2 n-6 flow (Y g/d) from the FCVL subset. The dashed line (- - -) shows the linear model ( $Y = 11.0 \pm 2.45 + 0.24 \pm 0.08 \cdot X$ ,  $N_{\text{exp}} = 22$ ,  $N_{\text{trt}} = 60$ ,  $\text{RMSE} = 3.67$  g/d,  $R^2 = 0.81$ ).



**Figure 5.** Intra-experimental relationship between milk C18:3 n-3 yield (Y g/d) and duodenal C18:3 n-3 flow (X g/d) from the FCVL subset. The dashed line (- - -) shows the quadratic model ( $Y = 0.65 \pm 0.03 \cdot X - 0.007 \pm 0.001 \cdot X^2$ ,  $N_{exp} = 17$ ,  $N_{trt} = 44$ ,  $RMSE = 1.15$  g/d,  $R^2 = 0.97$ ).



**Figure 6.** Intra-experimental relationship between the sum of milk C18:0 and c9-C18:1 yield (Y g/d) and duodenal flow of the sum of C18:0 and c9-C18:1 (X g/d) from the FCVL subset. The dashed line (- - -) shows the linear model ( $Y = 133 \pm 18.3 + 0.33 \pm 0.05 \cdot X$ ,  $N_{exp} = 21$ ,  $N_{trt} = 57$ ,  $RMSE = 33.9$  g/d,  $R^2 = 0.88$ ).



**Figure 7.** Global relationship between the milk C17:0 yield (Y g/d) and the ruminal pH (X). The dashed line (- - -) shows the linear model ( $Y = 26.4 (\pm 3.29) - 3.33 (\pm 0.53) \cdot X$ , Ntrt = 59, RMSE = 1.31,  $R^2 = 0.39$ ).



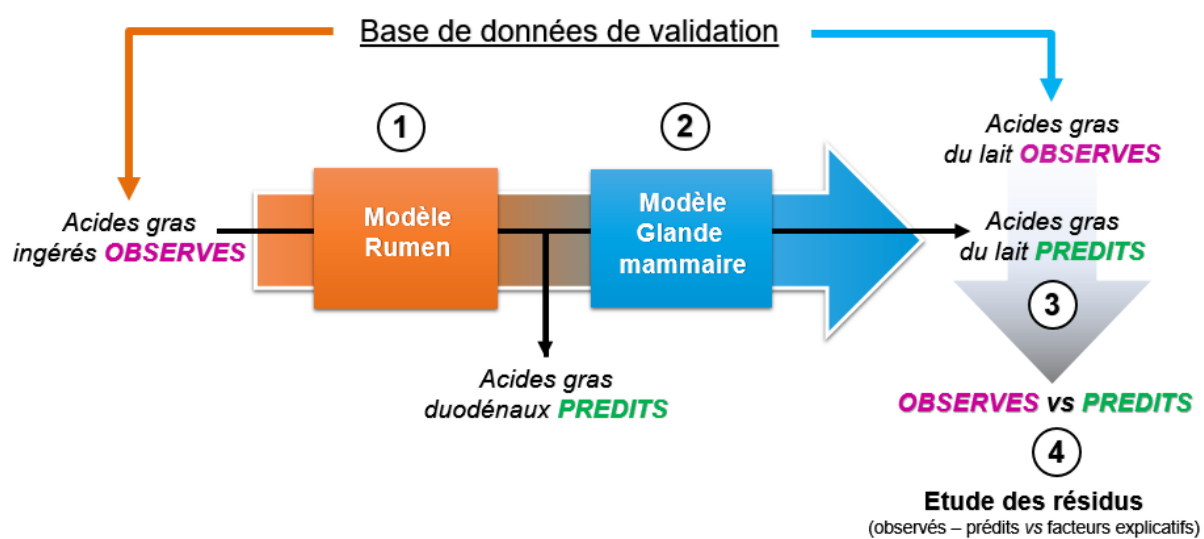
## **DISCUSSION**

## VI. DISCUSSION

### 1. Stratégie expérimentale retenue

L'objectif de ces travaux consistait à prédire la composition en AG de la MG laitière à partir des flux de nutriments absorbés, en cohérence avec les approches développées pour prédire les réponses animales aux variations qualitative et quantitative des pratiques alimentaires (INRA 2018).

Dans cet objectif, une approche quantitative par méta-analyse de la BDD AGRum (IDDN.FR.001.510032.000.R.C.2011.000.10300) a été proposée afin d'aborder les effets de certains facteurs alimentaires sur les flux duodénaux d'AG et les relations entre les flux de nutriments absorbés (AG, AGV estimés par leur concentration ruminale) et les flux d'AG sécrétés dans le lait. Pour cela, le travail de la thèse a été divisé en deux volets, associés à une étape de validation externe des équations de prédiction, et une étude des résidus de ces prédictions avec la possible corrélation avec des facteurs interférents (**Figure 6**). L'objectif du premier volet consiste à reprendre l'approche développée par Glasser *et al.* (2008b) et Schmidely *et al.* (2008) qui avaient développé un modèle empirique permettant de prédire les flux duodénaux et absorbés des différents AG en fonction des AG ingérés, de la composition chimique de la ration et l'influence de certains indicateurs de la digestion ruminale. Néanmoins, ce modèle initial ne prédisait qu'un nombre limité d'AG duodénaux, et ne prenait en compte que quelques isomères des AG insaturés. Par ailleurs, l'existence de flux duodénaux mesurés sur des animaux au pâturage, ou supplémentés par des produits d'origine marine a été fortement documentée depuis ce premier modèle, permettant l'obtention d'équations plus précises et la prédiction d'un plus grand nombre d'AG dans des situations alimentaires plus variées. (Publication 1).



**Figure 6** Démarche scientifique adoptée. 1) Prédiction des flux duodénaux d'AG 2) Prédiction de la sécrétion des AG du lait. 3) Validation des équations issues des 2 premières étapes. 4) recherche des facteurs explicatifs des résidus AG du lait observés – AG du lait prédits.

L'objectif du deuxième volet est la création d'un modèle au niveau de la glande mammaire permettant de prédire les flux des AG sécrétés ou leurs pourcentage dans le lait à partir des flux duodénaux des AG et/ou de certains indicateurs de la digestion ruminale (Publication 2). Comme pour le volet 1, cette approche avait été menée préalablement concernant les pourcentages (Glasser *et al.*, 2008a), mais elle a pu être appliquée aux sécrétions des AG sur un plus grand nombre de données et concernant là aussi un plus grand nombre d'isomères (Publication 2). En l'état actuel de ce travail, l'évaluation du couplage de ces 2 modèles n'a pas été publiée. Les résultats obtenus lors de ce couplage serviront donc de base à la discussion de ces travaux.

## **2. Comparaison des bases de données ayant permis de construire et de valider les modèles prédisant les AG duodénaux et les AG du lait (Base de données intra AGRum) (Tableaux 6 et 7)**

La sous-base de données utilisée pour prédire les AG duodénaux d'une part, et celle utilisée pour prédire les AG du lait à partir des flux digestifs d'autre part n'ont pas exactement les mêmes caractéristiques. La première sous-base de données est constituée de tous les flux duodénaux d'AG rapportés dans la littérature en incluant les données issues des espèces bovine (bovins laitiers ou bovins en croissance) ou ovine (ovins à l'entretien ou en croissance), et dont les principales caractéristiques des régimes alimentaires sont rapportées dans le **Tableau 6**.

La sous-base de données concernant le transfert des flux d'AG de l'intestin vers le lait ne contient quant à elle que des données obtenues sur vaches laitières, la littérature ne présentant à notre connaissance aucune donnée sur les chèvres et les brebis laitières à la date de constitution de la base. En pratique, ces 2 sous-bases diffèrent

**Tableau 6** Caractéristiques des rations des essais retenus dans la base de données AGRum des flux duodénaux d'acides gras obtenus chez les bovins (laitiers ou en croissance) et les ovins (croissance ou entretien).

	Base de données AGRum reliant flux d'AG ingérés et flux d'AG duodénaux "		
	N <sub>trt</sub> <sup>1</sup>	Moyenne	Min (Max)
Niveau d'ingestion (% Poids Vif)	437	2,50	1,02 (5,12)
Pourcentage de concentré (%)	437	49,6	0 (100)
<b>Ingestion (g/kg MSI)</b>			
MAT	329	157	57,0 (246)
NDF	283	374	122 (687)
Amidon	109	258	3,80 (659)
AG totaux	387	45,0	2,00 (124)
C18:3 n-3	208	7,34	0,48 (36,8)
C18:2 n-6	207	13,1	0,86 (57,8)
<i>cis</i> 9-C18:1	198	9,40	0,09 (46,2)

1. N<sub>trt</sub> = nombre de traitements

donc en partie : en comparaison de la BDD reliant les flux d'AG ingérés à leurs flux duodénaux, celle reliant les flux duodénaux d'AG à leur sécrétion dans le lait présente des niveaux d'ingestion plus élevés (respectivement, NI=2.5 vs NI =3.2 % poids vif), des teneurs en amidon plus faibles (258 vs 187 g/kg MS) ainsi que des concentrations en C18:3n-3 plus faibles (7.3 vs 8.8 g/kg MSI) substituées par du *cis*9-C18:1 (9.40 vs 7.7 g/kg MSI). Ces différences concernant aussi les teneurs en amidon entre les 2 sous-bases correspondent à des concentrations en amidon élevées (385 g/kg de MS en moyenne) pour les bovins et ovins en croissance, caractéristiques des régimes de finition, alors que chez les vaches laitières les rations contiennent moins d'amidon (176 g/kg MS en moyenne), probablement dans un objectif de limiter le risque d'acidose. Les différences entre les 2 sous-bases concernant les teneurs en C18:3 n-3 correspondent en partie au fait que l'utilisation de lin sous forme de graines ou d'huile concernait 10% des traitements dans la base de données concernant les flux duodénaux (espèces bovines et ovines), et 13% dans la base concernant la relation duodénum-lait (vaches laitières). Par contre, les pourcentages de concentrés, et la teneur en MAT des rations des 2 sous-bases sont équivalents.

La validation de cette approche en 2 étapes a ensuite été effectuée en appliquant les jeux d'équations précédemment obtenus à une BDD externe (UMR MoSAR) contenant des flux d'AG ingérés et des flux d'AG sécrétés dans le lait, aucune de ces données n'étant présente parmi celles ayant servi à la constitution des modèles. Cette BDD, appelée « base de validation », comporte des régimes avec des caractéristiques similaires à celles présentes dans la BDD AGRum (**Tableau 7**), en particulier pour le pourcentage de concentré (46% vs 42%), ainsi que pour la composition de la ration avec des teneurs moyennes en MAT (166 vs 175 g/kg MS), NDF (353 g/kg MS pour les deux BDD) et en AG totaux (47,5 vs 49,4 g/kg MS) et le niveau d'ingestion (3,20

**Tableau 7** Description des données utilisées pour la création des modèles (base de données AGRum) et des données permettant leur validation pour ce qui concerne les caractéristiques des rations et de performances de production des animaux.

	Base de données AGRum <sup>1</sup>			Base de données Validation		
	N <sub>trt</sub> <sup>2</sup>	Moyenne	Min <sup>3</sup> (Max <sup>4</sup> )	N <sub>trt</sub>	Moyenne	Min (Max)
Niveau d'ingestion (% PVIF <sup>5</sup> )	142	3,20	1,87 (4,41)	20	3,24	2,08 (4,42)
Pourcentage de concentré (%)	142	46,0	0 (75)	47	41,8	0 (70,0)
MSI <sup>6</sup> (kg/j)	142	19,6	11,2 (28,3)	47	21,4	14,7 (28,7)
<b>Ingestion (g/kg MSI)</b>						
MAT <sup>7</sup>	133	166	119 (207)	34	175	149 (309)
NDF <sup>8</sup>	134	353	220 (546)	42	353	258 (459)
Amidon	62	187	18 (414)	26	216	100 (375)
AG <sup>9</sup> totaux	121	47,5	13,1 (85)	41	49,4	18,2 (92,5)
C18:3 n-3	60	8,75	0,59 (36,8)	47	12,3	0,21 (39,2)
C18:2 n-6	63	13,2	2,4 (38,7)	47	13,8	4,6 (22,3)
<i>cis</i> 9-C18:1	54	7,73	0,36 (23,2)	43	11,1	1,95 (30,7)
Production laitière (kg/j)	142	28,4	8,22 (47)	45	30,8	12,5 (44,5)
Production MG <sup>10</sup> du lait (g/j)	142	968	435 (1540)	45	1170	562 (1610)
Taux butyreux (%)	142	3,28	1,84 (5,25)	45	3,87	3,05 (4,61)
<b>Production AG du lait (g/j)</b>						
AG totaux	142	903	406 (1437)	45	1091	524 (1502)
C18:0	111	104	31,6 (208)	45	122	63,8 (215)
<i>cis</i> 9-C18:1	73	179	80,9 (324)	42	227	113 (321)
<i>trans</i> 10-C18:1	47	9,64	0,95 (43,5)	39	9,11	0 (41,0)
<i>trans</i> 11-C18:1	59	16,9	2,08 (54,2)	43	17,7	6,27 (57, 6)
C18:2 n-6	84	24,2	5,42 (70,3)	45	20,3	3,83 (44,1)
<i>cis</i> 9, <i>trans</i> 11-CLA <sup>11</sup>	75	6,63	1,65 (17,1)	34	8,09	3,68 (17,7)
<i>trans</i> 10, <i>cis</i> 12-CLA	66	0,28	0 (1,53)	19	0,14	0,02 (0,40)
C18:3 n-3	49	6,90	1,16 (18,2)	45	6,83	2,11 (15,79)

<sup>1</sup>AGRum = acides gras des ruminants ; <sup>2</sup>N<sub>trt</sub> = nombre de traitements ; <sup>3</sup>Min = minimum ; <sup>4</sup>Max = maximum ; <sup>5</sup>PVIF = poids vif ; <sup>6</sup>MSI = matière sèche ingérée ; <sup>7</sup>MAT = matière azotée totale ; <sup>8</sup>NDF = neutral detergent fiber ; <sup>9</sup>AG = acides gras ; <sup>10</sup>MG = matière grasse ; <sup>11</sup>CLA = conjugated linoleic acids, acides gras linoléiques conjugués

vs 3,24 % poids vif) respectivement pour les BDD « validation » et AGRum. Néanmoins, des différences apparaissent au niveau de la teneur en amidon (187 vs 216 g/kg MSI), et au niveau des concentrations de la ration en certains AG (C18:3 n-3, C18:2 n-6, *cis*9-C18:1). En conséquence, les vaches de la BDD AGRum ont ingéré des quantités moindres de C18:3 n-3 et *cis*9-C18:1 et dans une moindre mesure de C18:2 n-6 que celles issues de la BDD de validation. Ces différences d'ingestion de C18:3 n-3 reflètent une moindre représentation des rations à base de lin (13% des rations) dans AGRum que dans la BDD de validation (25%). Par ailleurs, les caractéristiques de production diffèrent également puisque l'écart de sécrétion de la MG laitière est proche de 200 g/j avec des écarts de TB avoisinant les 6% en faveur des vaches issues de la BDD de validation.

Par ailleurs, en dépit de quantités ingérées de C18:3 n-3 plus faibles chez les vaches laitières de la BDD AGRum (170 g/j en moyenne), la sécrétion de cet AG dans le lait est de 7 g/j, valeur identique de celle observée chez les vaches laitières de la BDD de validation en dépit d'une ingestion de C18:3 n-3 beaucoup plus élevée (260 g/j en moyenne), suggérant des conditions ruminales favorisant une BHR plus élevée chez ces dernières. Ces éléments sont par ailleurs confirmés par les différences liées au C18:2 n-6 : sa sécrétion moyenne dans le lait de la BDD AGRum est plus élevée de 4 g/j par rapport à celle de la BDD de validation (24,2 vs 20,3 g/j), alors que les flux sécrétés dans le lait des AG totaux sont 20% plus faibles (903 vs 1091 g/j), aboutissant à une concentration du C18:2 n-6 dans le lait (% AG totaux) plus élevée au niveau de la BDD AGRum (2,68 vs 1,86 % AG totaux). Il est ainsi probable que les facteurs expérimentaux testés dans la BDD de validation ont moins prédisposé les vaches à des chutes de TB en relation avec des conditions d'hydrogénation moins marquées que celles étudiées dans la BDD AGRum, ce qui est en accord avec les différences



observées de sécrétion dans le lait concernant le *trans*10,*cis*12-CLA et le *trans*10-C18:1 dans une moindre mesure. Ces AG sont impliqués dans l'inhibition de la lipogenèse mammaire *de novo* provoquant une MFD caractérisée par une baisse du TB (cf. Partie bibliographique). Ces éléments seront à prendre en compte en partie lors de l'étude des écarts entre valeurs observées et valeurs prédites pour les sécrétions et les concentrations de ces AG.

### 3. Couplage des modèles et validation externe

Les données de la base de validation ont permis de calculer les flux duodénaux des AG (AG duodénaux prédits) à partir des AG ingérés exprimés en g/kg MSI. Cela a été fait selon les différents modèles obtenus à partir des sous-bases « Graine » et/ou « Huile/MG » (Publication 1) quand cela le nécessitait. Par la suite, ces données prédites ont permis de calculer la sécrétion des AG dans le lait en g/jour, et leur concentration en %AG totaux à partir des équations décrites dans la Publication 2. Finalement, les sécrétions ou concentrations des AG du lait (g/jour et %AG totaux) prédites ont été comparées à celles observées dans la base de validation. Les résidus issus de ces relations (AG du lait observés – AG lait prédits) ont été analysés par rapport à des variables interférentes potentielles pouvant expliquer la variation de ces résidus.

La validation des prédictions a été faite sur 10 AG du lait (exprimés en g/j, ou % AG totaux) à partir de 23 modèles selon les sous-bases décrites dans le modèle « rumen » (Graine, Huile/MG, Poisson). Pour cette étape, nous avons qualifié un seuil de performance sur les paramètres des régressions globales (ordonnée à l'origine, pente et R<sup>2</sup>) entre les AG du lait observés vs les AG du lait prédits. Ainsi, un modèle décrit comme satisfaisant présentait une ordonnée à l'origine non significativement différente

de zéro, une pente comprise entre 0,70 et 1,30 et un  $R^2$  supérieur à 0,70.

De manière générale, cette validation a été plus performante pour les modèles exprimés en g/jour que pour ceux exprimés en %AG totaux sans explication possible en l'état de ce travail (**Tableau 8**). En effet, les régressions entre les AG du lait observés et les AG du lait prédits par le modèle exprimé en g/jour ont présenté des ordonnées à l'origine non différentes de 0 alors que pour les modèles exprimés en %AG totaux, celles-ci étaient souvent significativement différentes de 0. De plus, les pentes étaient plus proches de l'unité pour les modèles exprimés en g/jour. Par conséquent, le  $R^2$  était plus élevé en g/jour qu'en %AGT (**Tableau 8**).

Les modèles prédisant les sécrétions des C18:3 n-3, C18:2 n-6, *trans*11-C18:1, et des sommes C18:0 + *cis*9-C18:1 et *trans*11-C18:1 + *cis*9,*trans*11-CLA (exprimés en g/jour) ont démontré des paramètres de validation satisfaisants avec des  $R^2$  élevés (entre 0,77 et 0,94), des ordonnées à l'origine égales à 0 et des pentes proches de 1 (variant de 0,73 à 1,11). Pour le *trans*11-C18:1, les sommes *trans*11-C18:1+ *cis*9,*trans*11-CLA et C4:0 au C14:0 (exprimés en %AG totaux), les modèles ont présenté également des paramètres « satisfaisants » dont des ordonnées à l'origine égales à 0, des pentes (comprises entre 0,71 et 0,89) et des  $R^2$  (compris entre 0,80 et 0,98). Pour l'ensemble de ces modèles, le MSPE a été principalement attribué à l'erreur aléatoire correspondant à la correction du modèle de prédiction.

Les modèles prédisant les *trans*10-C18:1 (g/jour) et *trans*10,*cis*12-CLA (g/jour et %AG totaux) ont présenté des pentes élevées (supérieur à 1,30 pour le *trans*10-C18:1 de la sous-base graine) ou faibles (inférieur à 0,70 pour le *trans*10-C18:1 de la sous-base huile et pour le *trans*10,*cis*12-CLA en g/jour et %AG totaux), mais leurs ordonnées à l'origine étaient égales à 0 et les  $R^2$  étaient supérieurs à 0,60. Le MSPE de ces modèles a représenté l'erreur aléatoire à l'exception du *trans*10,*cis*12-CLA (%AG

**Tableau 8** Validation utilisant le MSPE et les coefficients de régression entre les acides gras du lait observés et prédits

Variables	Sous-base duodénal	Unité	N <sub>trt</sub> <sup>1</sup>	MSPE <sup>2</sup>	ECT <sup>3</sup>	ER <sup>4</sup>	ED <sup>5</sup>	Ordonnée à l'origine (β <sub>0</sub> )	Coefficient (β <sub>1</sub> )	ETR <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>
<b>C18:3n-3</b>	Graine	g/j	45	16,4	0,30	0,13	0,57	*	0,73 (0,05)	3,16	0,83
<b>C18:3n-3</b>	Huile	g/j	45	10,6	0,06	0,06	0,88	*	0,87 (0,06)	3,13	0,84
<b>C18:3n-3</b>	Graine	%AG totaux	47	0,26	0,54	0,31	0,15	0,22 (0,07)	0,41 (0,06)	0,20	0,49
<b>C18:3n-3</b>	Huile	%AG totaux	47	0,11	0,33	0,30	0,37	0,20 (0,07)	0,52 (0,08)	0,21	0,47
<b>C18:2n-6</b>	Graine/huile	g/j	45	48,0	0,02	0	0,98	*	1,00 (0,06)	7,99	0,87
<b>t10-C18:1</b>	Graine	g/j	39	65,4	0,08	0,11	0,81	*	1,38 (0,18)	7,74	0,60
<b>t10-C18:1</b>	Huile	g/j	39	98,5	0,46	0,001	0,54	*	0,59 (0,07)	7,50	0,62
<b>t10-C18:1</b>	Graine	%AG totaux	39	1,14	0,01	0,12	0,87	-2,00 (0,97)	3,52 (1,14)	1,03	0,18
<b>t10-C18:1</b>	Huile	%AG totaux	39	2,56	0,61	0,002	0,39	*	0,46 (0,07)	1,04	0,50
<b>t11-C18:1</b>	Graine/huile	g/j	45	122	0,12	0,08	0,80	*	0,80 (0,06)	9,94	0,77
<b>t11-C18:1</b>	Graine/huile	%AG totaux	45	1,40	0,26	0,17	0,57	*	0,71 (0,05)	0,91	0,80
<b>t10c12-CLA<sup>6</sup></b>	Graine/huile	g/j	19	0,02	0,37	0,08	0,55	*	0,64 (0,09)	0,09	0,72
<b>t10c12-CLA</b>	Graine/huile	%AG totaux	19	0,0003	0,62	0,15	0,23	*	0,49 (0,07)	0,01	0,74
<b>C18:0 + c9-C18:1</b>	Graine	g/j	38	8730	0,18	0,03	0,79	*	1,11 (0,04)	87,3	0,94
<b>C18:0 + c9-C18:1</b>	Huile	g/j	38	8480	0,13	0,06	0,81	*	1,09 (0,04)	88,5	0,94
<b>C18:0 + c9-C18:1</b>	Graine	%AG totaux	38	20,7	0,11	0,18	0,71	9,72 (3,81)	0,66 (0,11)	3,94	0,48
<b>C18:0 + c9-C18:1</b>	Huile	%AG totaux	38	24,7	0,22	0,19	0,59	10,9 (3,67)	0,62 (0,11)	3,99	0,47
<b>t11-C18:1 + c9t11-CLA</b>	Huile	g/j	32	194	0,05	0,03	0,92	*	0,88 (0,07)	13,6	0,81
<b>t11-C18:1 + c9t11-CLA</b>	Huile	%AG totaux	32	2,96	0,24	0,18	0,58	*	0,72 (0,06)	1,36	0,81
<b>C4-C14<sup>7</sup></b>	Graine	%AG totaux	39	18,2	0,39	0,07	0,54	*	0,89 (0,02)	3,28	0,98
<b>C4-C14</b>	Huile	%AG totaux	39	18,1	0,34	0,10	0,56	*	0,89 (0,02)	3,39	0,98
<b>C22:5 n-3</b>	Poisson	%AG totaux	12	0,003	0,08	0,68	0,24	-0,42 (0,08)	3,94 (0,56)	0,03	0,82
<b>C22:6 n-3</b>	Poisson	%AG totaux	22	0,004	0,04	0	0,96	*	1,23 (0,26)	0,06	0,50

<sup>1</sup>N<sub>trt</sub> = Nombre de traitements ; <sup>2</sup>MSPE = mean square prediction error, erreur quadratique moyenne de prédiction ; <sup>3</sup>ECT = error in central tendency, erreur due à la tendance centrale (biais systématique, Bibby et Touttenburg, 1977) ; <sup>4</sup>ER = error due to regression, erreur due à l'écart de la pente par rapport à 1 ; <sup>5</sup>ED = erreur due to disturbance, erreur aléatoire (non expliqué) ; <sup>6</sup>CLA = conjugated linoleic acids, acides gras linoléiques conjugués ; <sup>7</sup>C4-C14 = Somme incluant les C4:0, C6:0, C8:0, C10:0, C12:0 et C14:0.

totaux) dont l'erreur est liée à un biais systématique (dispersion des points autour de la régression) traduisant l'incapacité du modèle à prédire cet AG. Pour les modèles relatifs aux C18:3 n-3, *trans*10-C18:1 et la somme *cis*9-C18:1 + C18:0 (exprimé en %AG totaux), la validation a été moins performante avec des ordonnées à l'origine différentes de 0 et des R<sup>2</sup> égaux ou inférieurs à 0,50.

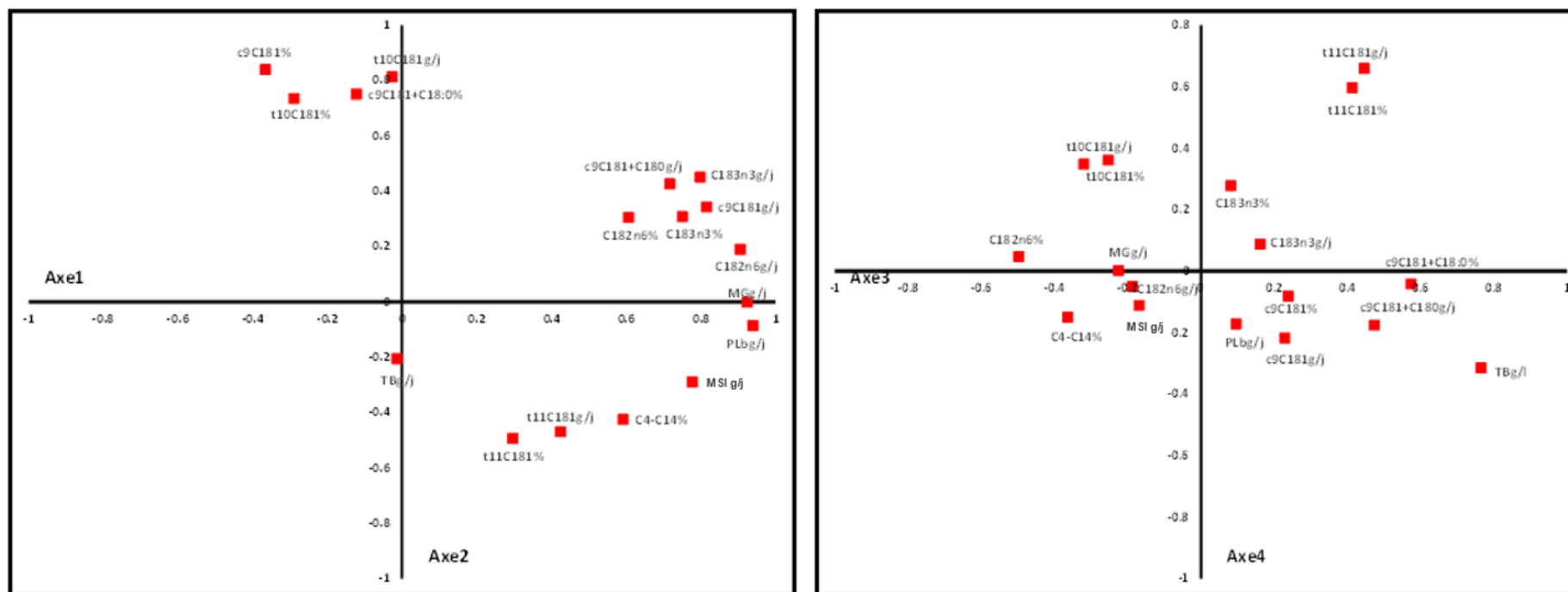
Le MSPE de ces régressions a été expliqué majoritairement par l'erreur liée à la tendance centrale ou à l'erreur aléatoire. Pour les modèles issus de la sous-base Poisson, l'évaluation des modèles a été faite pour les AG à longue chaîne (EPA, DPA et DHA). Cependant, seuls DPA et DHA (en %AG totaux) ont présenté des résultats acceptables. Pour le DHA, les paramètres de validation ont été satisfaisants malgré un R<sup>2</sup> de 0,50. Pour le DPA, la validation a été moins bonne avec l'erreur liée à la déviation de la pente à 1 (ER = 0,68 ; pente = 3,94).

Les résidus ( $\Delta$  = AG lait observé – AG lait prédit, exprimés en g/j ou % AG totaux) ont été étudiés en fonction de différents facteurs liés aux caractéristiques alimentaires tels que le PCO et la composition chimique des régimes (NDF, MAT, amidon et AGT), aux paramètres liés à la digestion (pH ruminal, ratio A/P, digestibilité de la MO, BPR et EPMS calculées) et des facteurs liés aux performances des vaches laitières (MSI, NI, PL, MG du lait). Aucune relation significative n'a pu être mise en évidence entre les résidus et les caractéristiques des régimes ou les paramètres digestifs. Par contre, des corrélations existent entre les résidus des modèles de prédiction des AG et les variables de production. Nous avons donc réalisé une analyse en composantes principales (**ACP**) incluant certaines performances de production (MSI, PL brute, TB, MG laitière) et les résidus des modèles issus de la sous-base Huile/MG pour les AG suivants : C18:3 n-3, C18:2 n-6, *trans*11-C18:1 *trans*10-C18:1, *cis*9-C18:1 et la somme C18:0 + *cis*9-C18:1 en incluant les 2 modes d'expression (g/j et % des AG totaux). Les

résultats concernant cette ACP figurent ci-dessous (**Figure 7**).

Les axes 1-2 et 3-4 de l'ACP représentent, respectivement, 40 et 23%, 13 et 8% de la variabilité totale observée. L'axe 1 constitue un axe 'de taille', montrant que les résidus des modèles de prédiction sont corrélés positivement aux variables de production, en particulier pour le C18:3 n-3, le C18:2 n-6, le *cis*9-C18:1 et la somme C18:0 + *cis*9-C18:1 lorsque les résidus concernent les sécrétions d'AG. Il apparaît donc que les modèles de prédiction sous-estiment ( $\Delta = \text{AG lait observé} - \text{AG lait prédit}$ ) d'autant plus les quantités sécrétées (g/j) de ces AG que la sécrétion de la MG laitière ou la production laitière s'accroît. L'axe 2 de l'ACP caractérise plutôt une relation inverse entre le TB observé et la prédiction du *trans*10-C18:1 (exprimé en g/j ou en % des AG totaux), suggérant une sous-estimation de cet AG (et probablement du *trans*10,*cis*12-C18:2) lorsque le TB est bas, ce qui caractérise les situations de MFD. Concernant les axes 3 et 4 de l'ACP, les variables de production quantitatives (en g/j pour la MG laitière ou en kg/J pour la PL) sont mal représentées et ces 2 axes traduisent le fait que les erreurs commises dans les prédictions sont de même ampleur lorsque les prédictions s'effectuent sur une base de g/j ou en % des AG totaux.

Afin d'améliorer la prédiction des sécrétions des AG du lait et leur concentration, nous avons établi des équations reliant les principaux AG d'intérêt et les variables de production mises en évidence ci-dessus. Les  $R^2$  des régressions entre les  $\Delta$ C18:3 n-3 et les variables de production de la sous-base Huile/MG étaient significatifs bien que relativement faibles (entre 0,26 et 0,46) quelle que soit l'unité exprimée (**Figure 8 et 9**). Parmi les variables explicatives, la MG et la PL ont été les plus corrélées avec ces résidus. Pour les  $\Delta$ C18:2 n-6 de la sous-base Graine/huile/MG (**Figure 10A, B et C**), la MSI, la PL et la MG expliquaient de façon similaire les résidus du  $\Delta$ C18:2 n-6 avec des  $R^2$  entre 0,40 et 0,50.



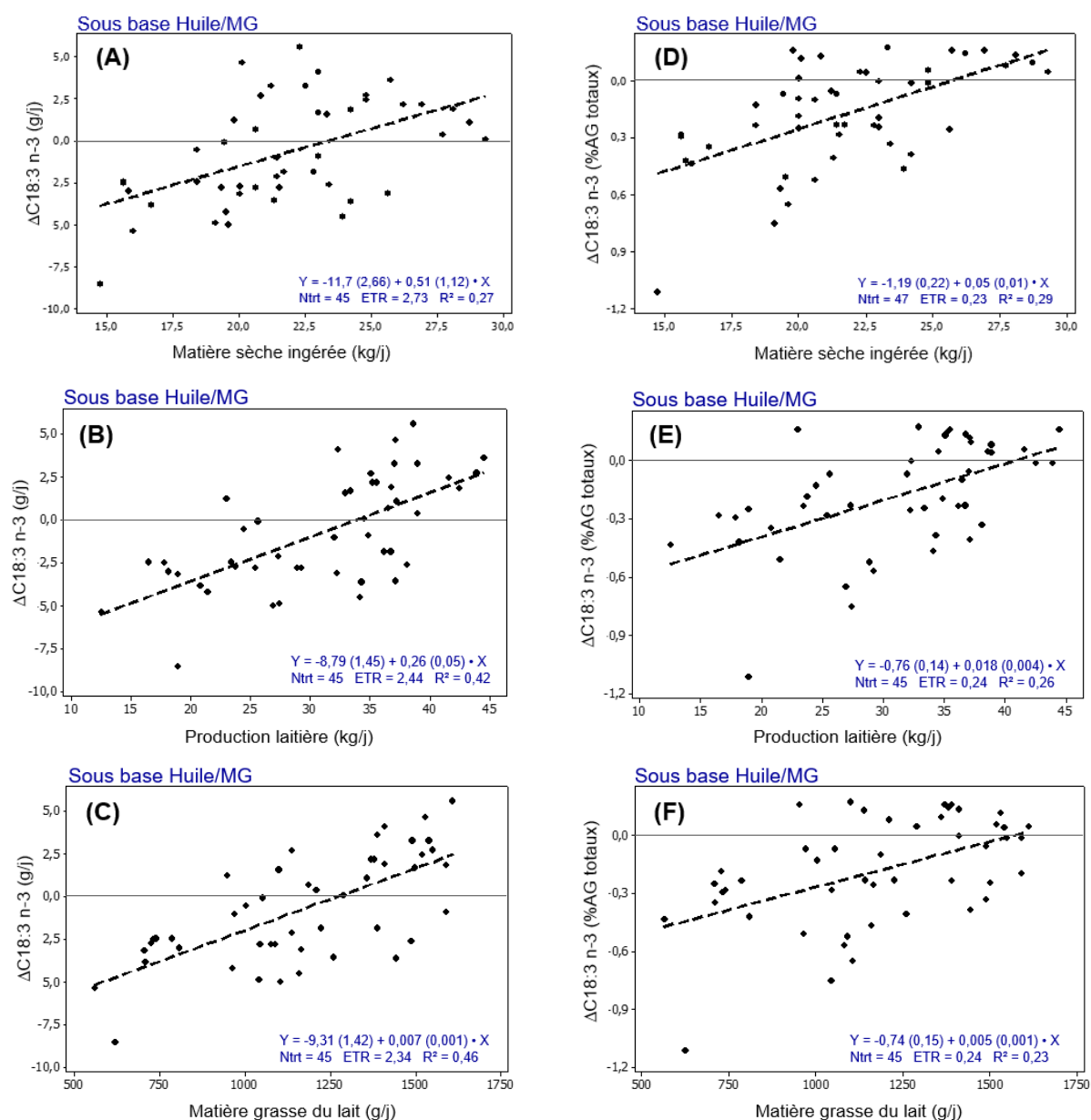
**Figure 7** Plan principal de l'Analyse en Composantes Principales regroupant les variables de production et les valeurs des résidus des modèles de prédiction de certains acides gras du lait (sous-base Huile/MG).

*MSI = matière sèche ingéré ; MG = matière grasse du lait ; PL = production laitière ; TB = taux butyreux*

Pour les résidus du modèle *trans*11-C18:1, ils ont été corrélés seulement avec la PL et la MG laitière (**Figure 10D et E**) avec respectivement des  $R^2$  faibles de 0,07 ( $P = 0,05$ ) et 0,09 ( $P = 0,03$ ). Pour le  $\Delta$ C18:0 + *cis*9-C18:1 des sous-bases graine et huile/MG (**Figure 11**), ils ont été plutôt corrélés avec la PL (respectivement,  $R^2 = 0.38$ ,  $P < 0.001$ , et  $R^2 = 0.37$ ,  $P < 0.001$ ) et plus fortement avec la MG ( $R^2 = 0.59$ ,  $P < 0.001$ , et  $R^2 = 0.57$ ,  $P < 0.001$ ), respectivement, et faiblement avec la MSI ( $R^2$  inférieurs à 0,10).

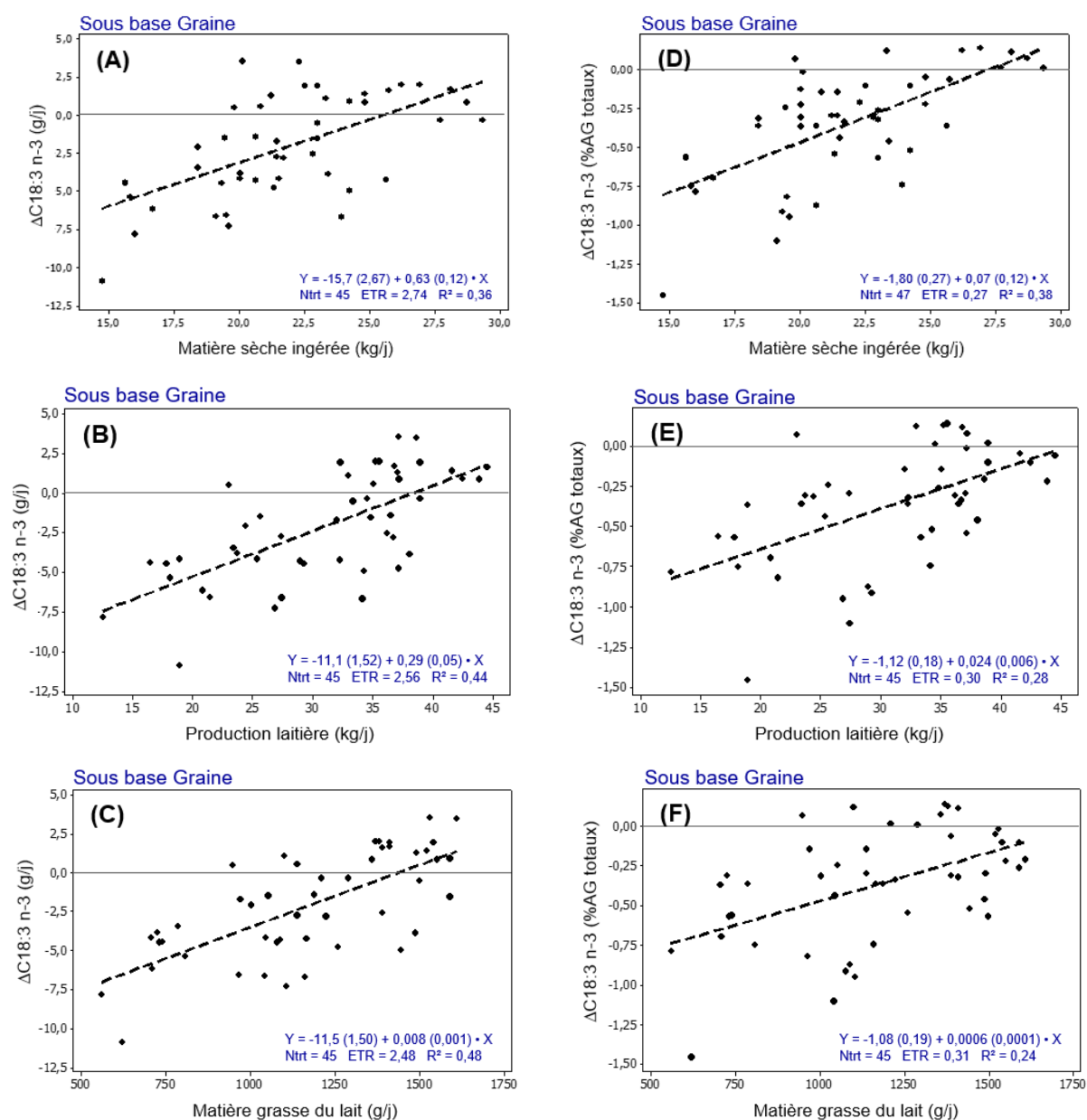
En général, le test de signification pour l'ordonnée à l'origine dans toutes les régressions entre les résidus et les variables (MSI, PL et MG) a révélé qu'une erreur négative systématique (ou biais) était présente. Ceci indique que ces modèles prédictifs ont surestimé le flux de ces AG du lait (g/j) pour les vaches avec un niveau de production bas et sous-estimé le flux pour des vaches à niveau de production élevé (PL > 34 kg/j ou 38 kg/j pour C18:3 n-3 selon la base Huile/MG ou graines, PL > 31 kg/j pour le C18:2 n-6 selon la base Graine/Huile/MG, et PL > 27 ou 26 kg /j pour la somme C18:0 + *cis*9-C18:1 selon la sous-base Graine ou Huile/MG), ou des niveaux de sécrétion de MG élevés (MG > 1330 g/j ou 1440 g/j pour C18:3 n-3 selon la sous-base Graine ou Huile/MG, MG > 1200 g/j pour le C18:2 n-6 selon la sous-base Graine/Huile/MG, et MG > 1050 ou 1030 g/j pour la somme C18:0 + *cis*9-C18:1 selon la sous-base Graine ou Huile/MG). La MSI a donné des ordonnées à l'origine les plus négatives à l'exception du  $\Delta$ C18:0 + *cis*9-C18:1 qui étaient nuls mais avec des  $R^2$  faibles (inférieurs à 0,10).

Le test de signification pour les pentes de régression présentées était statistiquement différent de zéro, révélant la présence d'un biais systématiquement positif. Ceci implique qu'en plus de l'existence de l'erreur induite par le modèle expliqué ci-dessus, une erreur induite par le modèle qui augmente proportionnellement à la variable de production était présente dans tous les modèles.

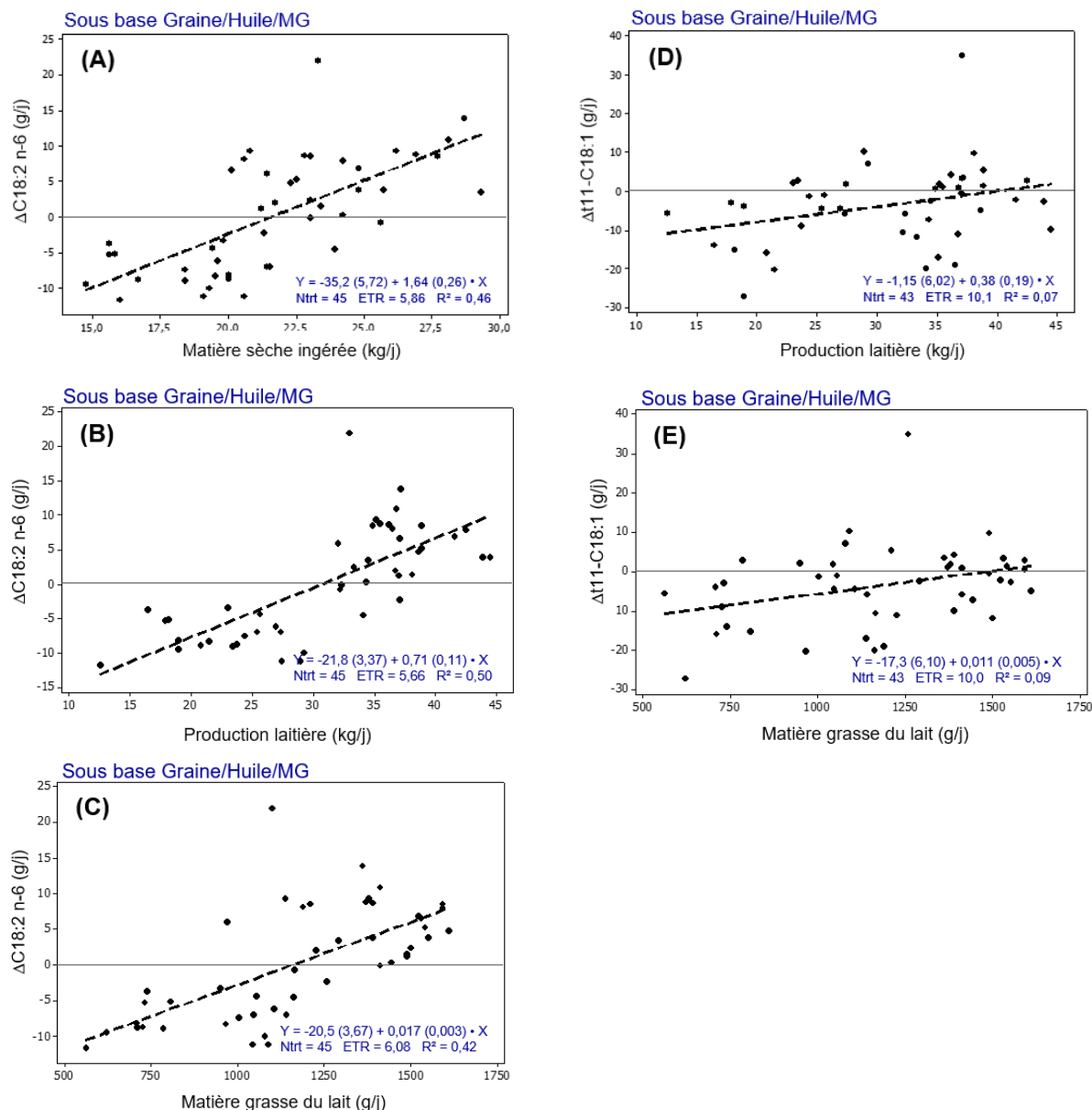


**Figure 8** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre le  $\Delta C18:3 \text{ n-3}$  (exprimé g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Huile/MG ;  $\Delta C18:3 \text{ n-3}$  (exprimé en %AG totaux) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Huile/MG

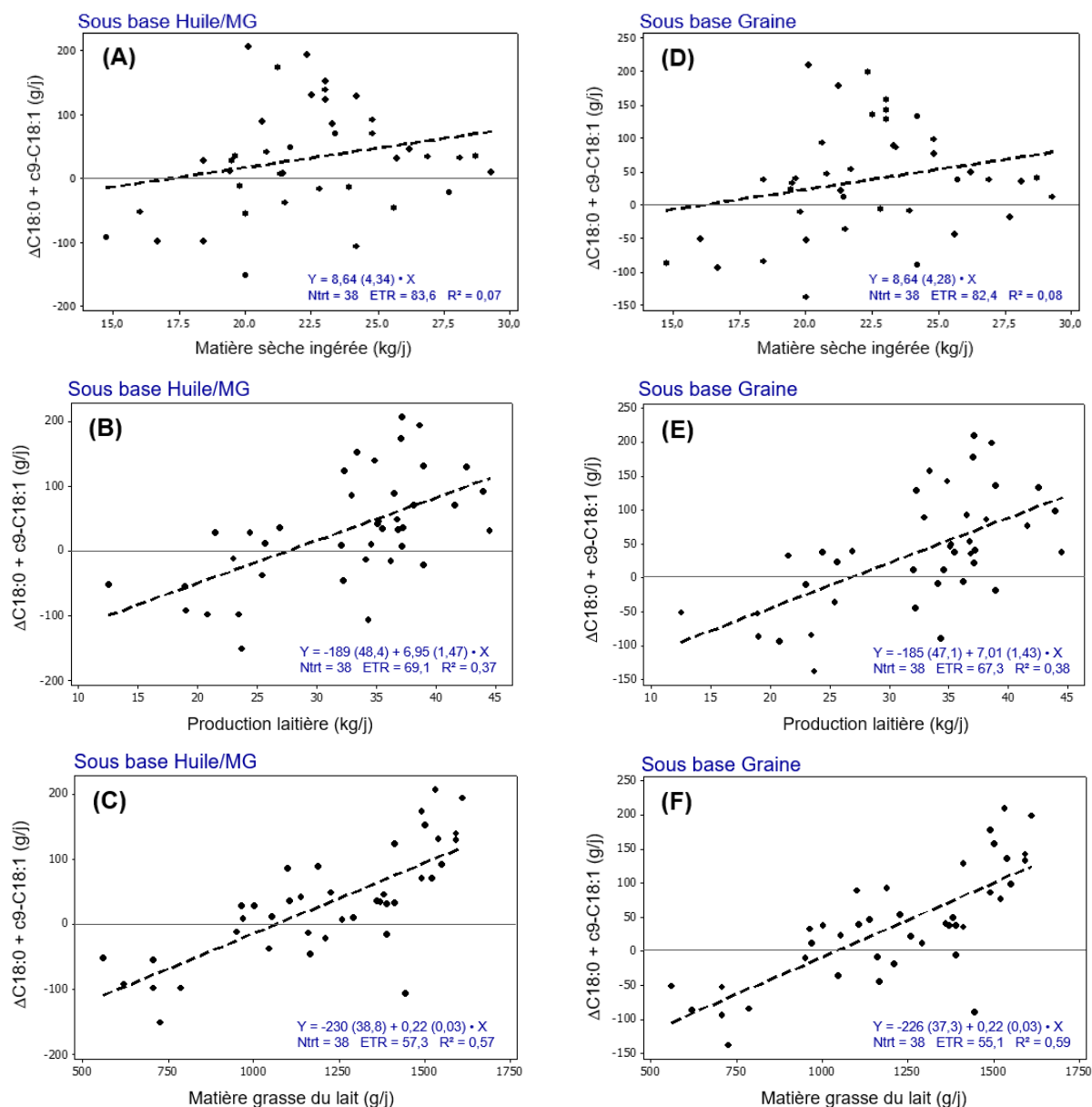




**Figure 9** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre: le  $\Delta C18:3 \text{ n-3}$  (exprimé g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Graine ;  $\Delta C18:3 \text{ n-3}$  (exprimé en %AG totaux) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Graine



**Figure 10** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre : le  $\Delta C18:2$  n-6 (exprimé g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Graine/Huile/MG ;  $\Delta t11-C18:1$  (exprimé en g/j) et la PL (D) et la MG (E) pour la sous-base Graine/Huile/MG



**Figure 11** Relations entre les résidus des acides gras du lait ( $\Delta$ , observés – prédits) et la matière sèche ingérée (MSI), la production laitière (PL) et la matière grasse du lait (MG). Relations entre: le  $\Delta C18:0 + c9-C18:1$  (exprimé g/j) et la MSI (A), la PL (B) et la MG (C) pour la sous-base Huile/MG ;  $\Delta C18:0 + c9-C18:1$  (exprimé en g/j) et la MSI (D), la PL (E) et la MG (F) pour la sous-base Graine.

## **CONCLUSION**

## VII. CONCLUSION

Les objectifs de cette thèse ont été réalisés en trois étapes successives : 1) la création du modèle « rumen » permettant de prédire les flux duodénaux et absorbés des différents AG en fonction des AG ingérés, de la composition chimique de la ration et d'indicateurs de la digestion ruminale ; 2) la création du modèle « glande mammaire » permettant de prédire les flux d'AG sécrétés et leur profil au sein de la MG laitière en fonction de leur flux duodéal, et/ou de caractéristiques de la digestion ruminale ; 3) le couplage des modèles « rumen » et « glande mammaire » et la validation de cette approche à partir de données externes (BDD MoSAR).

Des travaux réalisés précédemment par méta-analyse des données de la littérature (Glasser *et al.*, 2008 a et b; Schmidely *et al.*, 2008) avaient déjà permis de montrer qu'une part importante des flux d'AG duodénaux pouvaient être prédits à partir des caractéristiques lipidiques des rations (niveau d'ingestion des AG, profil des lipides) en interaction avec certains facteurs alimentaires de variation (pourcentage de concentré, teneur en amidon des rations) qui modifient la BHR. Au niveau de la glande mammaire, ces travaux avaient mis en évidence certaines régulations biochimiques mammaires (interaction entre synthèse *de novo* et captation d'AG longs, activité de désaturation, estérification) impliquées dans la production et la composition de la MG laitière.

Néanmoins, certaines limitations de ces travaux existaient. La première limitation tenait à une faible représentation des données de flux duodéal pour des rations ayant été supplémentées avec des huiles de poisson, ou des rations basées sur le pâturage. La seconde limitation tenait dans l'incapacité à prédire certains isomères des AG à 18 atomes de carbones, dans la mesure où les conditions analytiques de détermination de ces AG ne permettaient pas d'identifier avec précision la structure géométrique (*cis*

vs *trans*) et le positionnement des doubles liaisons, en relation avec les propriétés de ces différents isomères sur la synthèse de MG laitière. Enfin, aucune tentative pour associer ces 2 approches pour prédire le profil ou la sécrétion des AG du lait n'avait été effectuée.

La publication de nombreux travaux entre 2008 et 2015 sur les flux duodénaux d'AG pour des ruminants supplémentés en huiles de poisson, ou alimentés avec des rations exclusivement basées sur le pâturage, associée à une amélioration des techniques analytiques de la chromatographie en phase gazeuse a permis d'envisager la possibilité d'améliorer les prédictions des flux duodénaux d'AG sur une BDD élargie, de pouvoir intégrer plus d'AG, et de tenter de coupler les approches au niveau duodéal avec celles au niveau de la glande mammaire.

Il ressort de ces travaux :

#### **Au niveau de la prédiction des AG duodénaux et de leur absorption**

Les lois de réponses prédictives des différents AG au niveau duodéal concernent l'ensemble des espèces de ruminants présents dans la BDD sans distinction liée à l'espèce.

- Nous avons pu établir des lois de réponses prédictives spécifiques des AG duodénaux, en fonction des pratiques alimentaires utilisées, en particulier en ce qui concerne le pâturage, ou la supplémentation à base d'huiles de poisson, en plus de celles étudiées précédemment.
- Des lois de réponses prédictives des flux duodénaux des isomères *cis* et *trans* du C18:1 et C18:2, du C18:3 n-3, et des AG impairs et ramifiés ont été établies pour chacune des pratiques alimentaires étudiées.

- L'analyse a confirmé un effet de la forme d'apport du supplément lipidique (graine vs huile) ainsi que l'influence de la famille botanique des fourrages (légumineuses vs graminées) sur la BHR du C18:3 n-3, mais exclusivement sur cet AG. Les différences pour la BHR du C18:3 n-3 entre les familles botaniques considérées, et entre les formes d'apport du supplément lipidique restent néanmoins de faible ampleur.
- Notre étude a corroboré le fait que les flux duodénaux des AG impairs et ramifiés dépendaient des caractéristiques de la ration (teneurs en amidon, en AG totaux, MAT, MS et NDF de la ration), du NI et des paramètres digestifs (pH ruminal, rapport A/P). Ces AG sont spécifiques des bactéries (notamment les AG ramifiés) et sont utilisés comme « proxies » permettant de caractériser le fonctionnement du rumen. Ils peuvent donc dès lors constituer des indicateurs du fonctionnement ruminal mesurables dans le lait, à condition d'intégrer la synthèse mammaire pour les AG impairs.
- Nous proposons des lois de réponses prédictives pour le flux duodéal et l'absorption des AG spécifiques issus de la supplémentation par des produits d'origine marine dont l'EPA, le DPA et le DHA à partir de leur ingéré respectif. De plus, nous avons quantifié l'effet de l'apport de ces AG sur le métabolisme ruminal des AG à 18 atomes de carbone. Ainsi, l'ingestion du DHA ou de la somme des AG EPA, DPA et DHA a présenté un effet positif sur le flux duodéal du *trans*11- et du *trans*-10-C18:1 et un effet négatif sur le flux du C18:0. L'effet des AG à longue chaîne semble en particulier plus marqué sur le *trans*10-C18:1 que sur le *trans*11-C18:1. Cela pourrait traduire une réduction différentielle de la BHR des AGPI à 18 atomes de carbone, en relation probable avec des

modifications spécifiques des flores ruminales impliquées dans les voies *trans*-10 et *trans*-11.

### **Au niveau des relations entre les flux digestifs et la sécrétion des AG dans le lait**

- Nous avons pu obtenir de nouvelles lois de réponses prédictives des flux sécrétés (exprimés en g/jour) et des concentrations (exprimées en %AG totaux) dans le lait des différents isomères *cis* et *trans* du C18:1 et C18:2 (à l'exception des acides oléique et ruménique, cf. paragraphe en dessous) ainsi que du C18:3 n-3, à partir de leur flux duodéal respectif.
- Sous l'hypothèse d'un même transfert du C18:0 et du *cis*9-C18:1 d'une part, et du *trans*-11 C18 :1 et du *cis*9,*trans*11-C18:2 d'autre part, nous avons pu calculer le prélèvement mammaire des substrats de la  $\Delta$ 9-désaturase. Nous en avons ainsi déduit l'activité de la  $\Delta$ 9-désaturase sur le C18:0 et *trans*11-C18:1 fortement désaturés respectivement en *cis*9-C18:1 et en *cis*9,*trans*11-CLA. En effet, en moyenne 85% de ces AG sont issus de la désaturation, en accord avec les précédentes estimations de Glasser *et al.* (2008a). Nous avons pu mettre en évidence dans le cas de la supplémentation en produits marins, un plus faible prélèvement par la glande mammaire du C18:0 et du *trans*11-C18:1 en proportion de leur flux duodéal respectif, sans modification de l'activité de la  $\Delta$ 9-désaturase.
- Nous avons pu établir des lois de réponses prédictives des AG issus de la synthèse *de novo* à partir de leurs précurseurs (acétate et BHBA), et nous avons pu mettre en évidence l'effet négatif du flux duodéal des AG à 18 atomes de carbone (issus du prélèvement plasmatique) sur cette synthèse, en accord avec les connaissances biologiques digestives et métaboliques.



Néanmoins, à ce stade, cette relation bien que significative statistiquement, et biologiquement cohérente avec les connaissances du métabolisme mammaire ne nous permet pas en pratique de prédire aisément ces AG puisqu'il est compliqué d'obtenir ces informations concernant les concentrations ruminales d'acétate et de butyrate. Une étape ultérieure du travail basée sur la prédiction des flux d'acétate et de butyrate à partir de Systool.web devrait permettre de combler partiellement cette lacune.

- Les AG impairs et ramifiés du lait ont été également prédits à partir de leur flux duodéal respectif, mais aussi à partir d'autres facteurs (teneurs en amidon et en protéines de la ration, pH ruminal, rapport A/P au niveau du rumen).

#### **Au niveau du couplage et de la validation des modèles**

- Un total de 23 lois de réponses prédictives des AG du lait a été validé sur 10 AG différents, reflétant les lois de réponses spécifiques issues des sous-bases décrites dans le modèle « rumen » (Graine, Huile/MG, Poisson, [Publication 1](#)) et des lois de réponses spécifiques issues des relations reliant les AG duodénaux et leur sécrétion dans le lait (base FCVL (pour Fourrage/Concentré/Lipides végétaux) et base Poisson, [Publication 2](#)). Selon ces approches, les modèles exprimés en g/jour présentaient une meilleure capacité de prédiction des AG que ceux exprimés en % des AG totaux, comme le reflète les ordonnées à l'origine non différentes de 0 et les pentes proches de 1 pour ce mode d'expression en g/j (cf. **Tableau 8**). Ces éléments ne sont pas complètement cohérents avec ceux établis par Glasser *et al.* (2008a) qui avaient fait l'hypothèse que les prédictions individuelles des AG du lait en g/j étaient difficiles à réaliser du fait de l'impossibilité de prédire les flux des AG

totaux à 18 atomes de carbone dans le lait. Cette contradiction entre nos résultats et ceux précédemment cités est probablement liée à la différence d'approche entre les 2 études et donc à la constitution des BDD, en particulier l'élimination dans notre approche des publications avec infusions duodénales d'AG, en particulier celles de *trans*10,*cis*12-C18 :2, et l'inclusion dans notre approche des publications sur l'ingestion d'herbe pâturée.

- Les lois de réponses prédisant les sécrétions des C18:3 n-3, C18:2 n-6, *trans*11-C18:1, et des sommes C18:0 + *cis*9-C18:1 et *trans*11-C18:1 + *cis*9,*trans*11-CLA (exprimées en g/jour) ont montré des paramètres de validation satisfaisants avec des R<sup>2</sup> élevés (entre 0,77 et 0,94), des ordonnées à l'origine non différentes de 0 et des pentes proches de 1 (variant de 0,73 à 1,11). Pour les sommes *trans*11-C18:1 + *cis*9,*trans*11-CLA et C4 :0 au C14 :0 exprimées en %AG totaux, les modèles ont présenté également des paramètres « satisfaisants » dont des ordonnées à l'origine non différentes de 0, des pentes proches de 1 (comprises entre 0,71 et 0,89) et des R<sup>2</sup> (compris entre 0,80 et 0,98).

La prédiction concernant la sécrétion des AGPI à longue chaîne (C20:5 n-3, C22:5 n-3 et C22:6 n-3) en g/j dans le lait, s'est avérée impossible (pas de relation entre la prédiction de ces AG et les valeurs observées en g/j), et celle concernant leurs concentrations dans la MG du lait présente un ajustement médiocre (pente très supérieure à 1). Il est possible que la sécrétion de ces AG soit limitée par la glande mammaire avec une sécrétion maximale de ces AG (plateau), ce qui correspond aux observations de la littérature (Loor *et al.*, 2005b) montrant une diminution du transfert de ces AG dans le lait quand leur disponibilité duodénale s'accroît. Par ailleurs, dans la mesure où ces AGPI à

longue chaîne réduisent la sécrétion de MG (Shingfield *et al.*, 2010), leur proportion dans les AG du lait s'accroît mais de façon peu prédictible, dans la mesure où cette réduction de la MG est très variable.

### Considération Générale

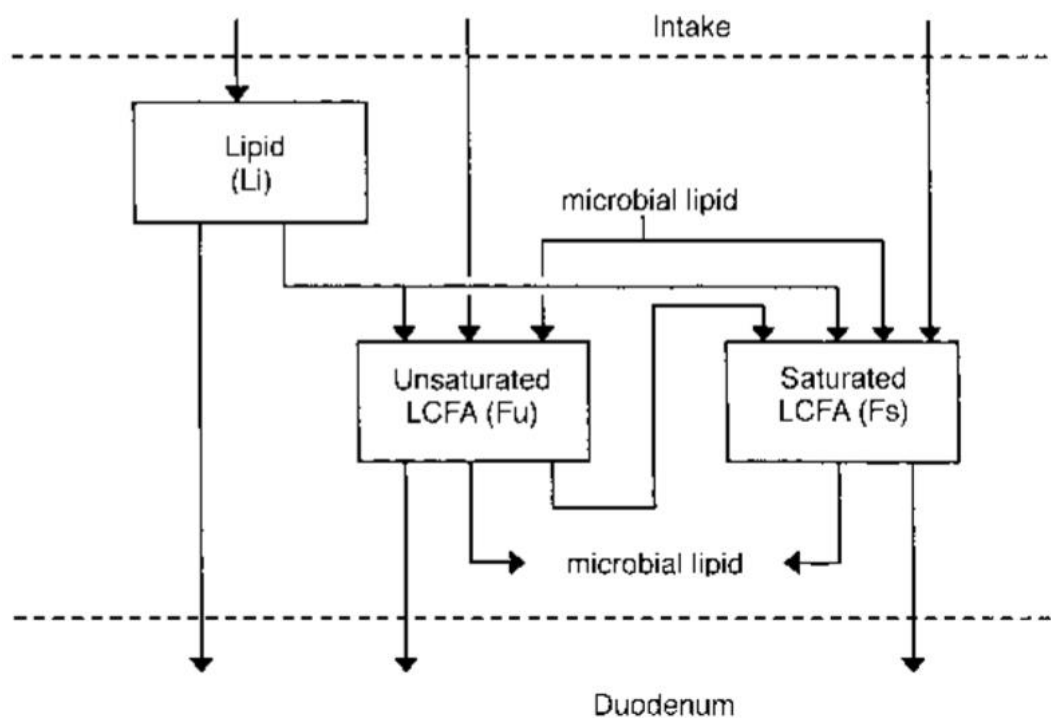
- Notre approche a privilégié essentiellement une prédiction individualisée des AG dans le lait à partir des flux duodénaux d'AG et/ou des caractéristiques ruminales et/ou de celles des rations. Cette approche logique d'un point de vue statistique présente néanmoins l'inconvénient de ne considérer la composition en AG du lait que comme étant la somme des différents flux d'AG sans interaction entre les processus de captation des AG longs, de synthèse *de novo*, de désaturation et d'estérification. Même si nous avons en partie intégré ces interactions (jeu d'équations spécifiques pour les suppléments en produits d'origine marine (huile de poisson et algues), interaction entre les flux duodénaux des AG à 18 atomes de carbone et la lipogenèse *de novo*), la poursuite de ce travail devra se focaliser sur la modélisation de ces interactions.
- Une part importante de la BDD AGrum n'a pas été exploitée : ce futur travail concernerait d'une part, l'évaluation de la contribution spécifique des AG alimentaires et de ceux d'origine microbienne dans le flux duodéal des AG totaux (déjà abordée par Schmidely *et al.*, 2008), et d'autre part, la composition spécifique en AG individuels de chacune de ces 2 fractions et leurs facteurs de variation. Par ailleurs, l'exploitation des données entre AG ingérés et AG du lait permettrait d'une part, de définir des besoins chez les vaches laitières pour certains AG essentiels, et d'autre part, des lois de réponse au niveau du lait à l'apport alimentaire d'AG individuels ou de groupes d'AG. L'exploitation plus

approfondie de ces données devrait donc permettre de jeter les bases d'un système d'unité d'alimentation concernant la digestion et le métabolisme mammaire des lipides chez le ruminant.

Nos travaux ont permis de mieux quantifier la digestion ruminale des lipides et les flux sécrétés dans le lait des AG, ainsi que les effets de différents facteurs de variation (qualitatifs et quantitatifs) de la ration sur les flux des AG duodénaux et leur transfert de l'intestin au lait et leur production dans le lait. En accord avec le renouvellement du système d'alimentation des ruminants (projet Systali), ce travail contribuera à prédire les variations de la composition du lait en un grand nombre d'AG en réponse à différents types de rations et permettra de mieux définir les stratégies alimentaires permettant d'augmenter dans le lait les AG d'intérêt nutritionnel. Ces apports scientifiques contribueront à dégager des stratégies alimentaires afin d'améliorer la qualité du lait des vaches laitières.

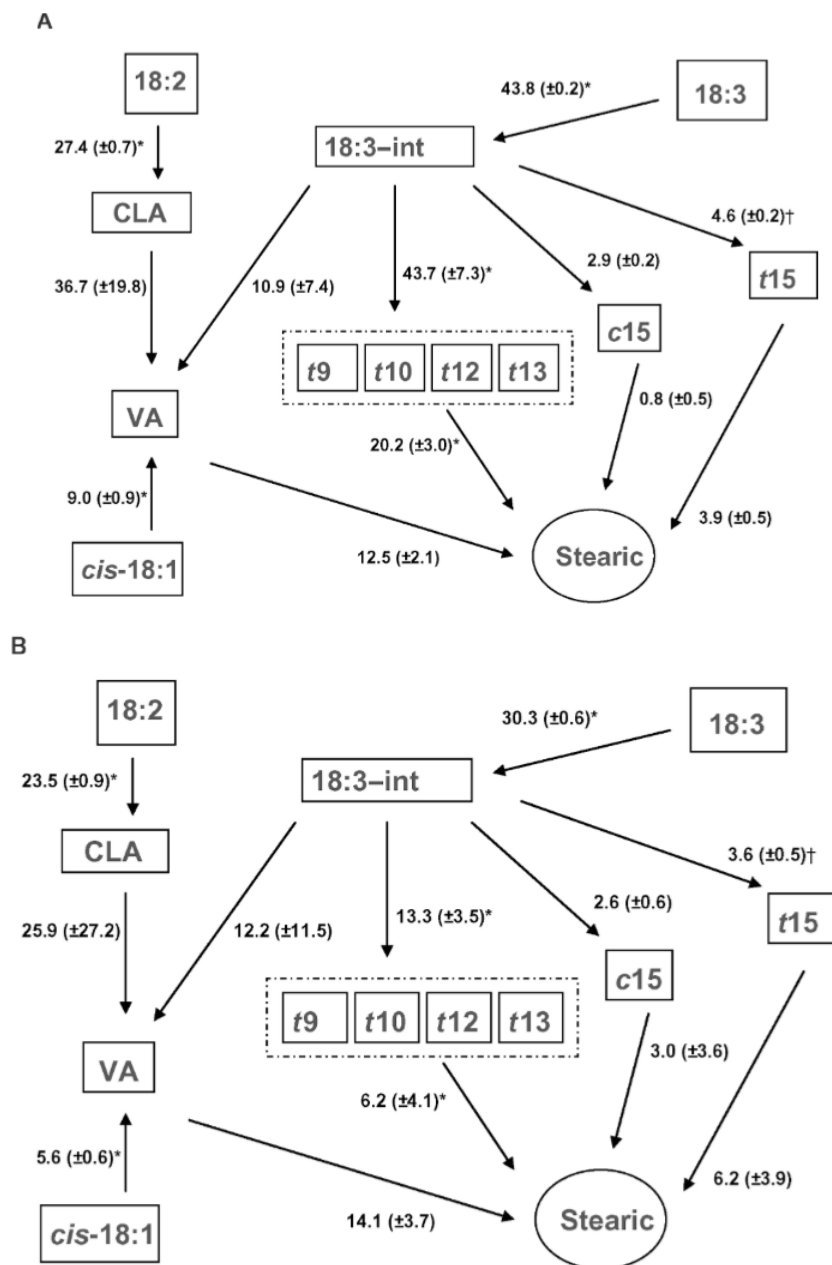
## **ANNEXES**

## VIII. ANNEXES



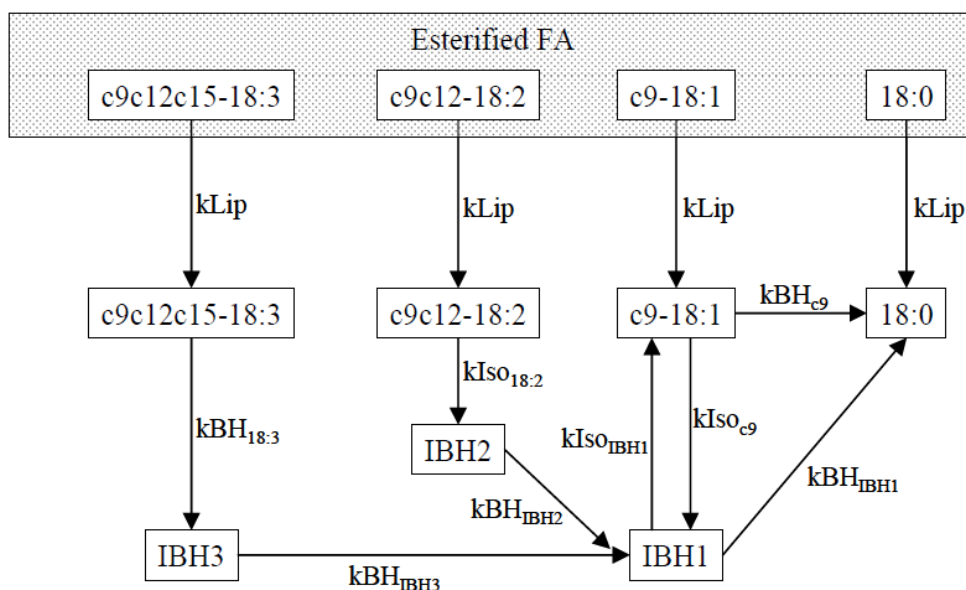
**Annexe 1** Modèle Dijkstra *et al.*, 2000. Représentation schématique des pools des lipides et AGLC libres du modèle rumen. Les boîtes indiquent les variables d'état et les flèches indiquent les flux.

*Li* = pool des lipides ; *LCFA* = acides gras longues chaînes ; *Fu* = *LCFA* insaturés ; *Fs* = *LCFA* saturés.



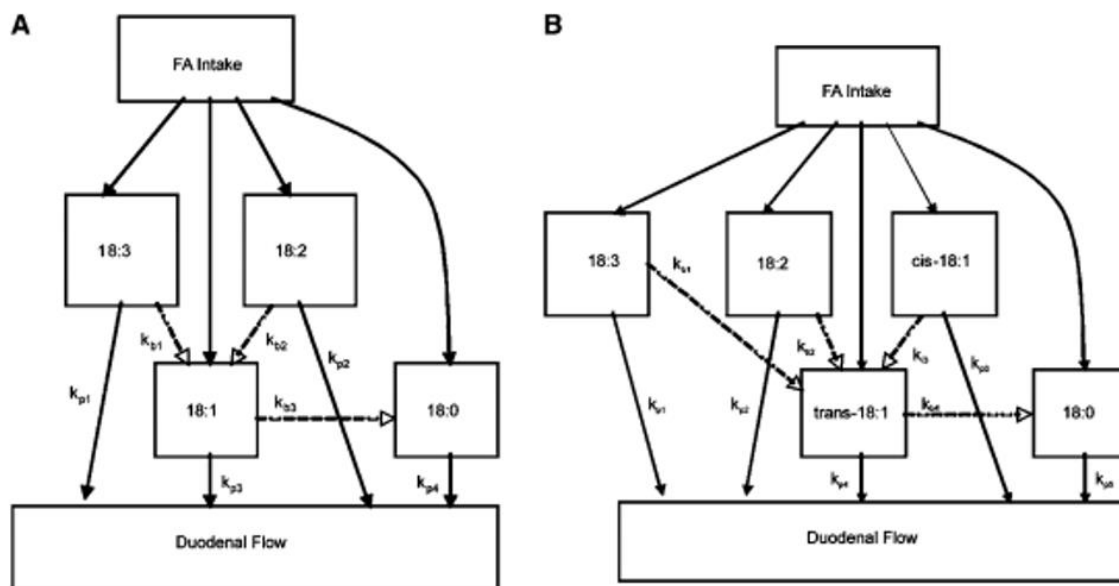
**Annexe 2** Modèle Ribeiro *et al.*, 2007. Représentation schématique du modèle biohydrogénation ruminale in vitro des acides gras de luzerne fraîche incubée pendant 12h avec une concentration de bicarbonate de sodium forte (A) et faible (B). Les boîtes représentent les pools d'acides gras et les flèches représentent les taux (% / h) de transfert entre pools pendant la biohydrogénation avec l'erreur standard entre parenthèses.

18:3 = acide linoléique ; 18:2 = l'acide linoléique ; cis-18:1 = acide oléique ; CLA = les isomères d'acide linoléique conjugué ; 18:3-Int = intermédiaires de l'acide linoléique ; VA = acide vaccénique ; stearic = acide stéarique



**Annexe 3** Glasser *et al.*, 2007. Représentation schématique de la biohydrogénation ruminale des acides gras à 18 carbones. Les boîtes représentent les pools d'acides gras et les flèches représentent les taux ( $k = \%/h$ ) de transfert entre pools.

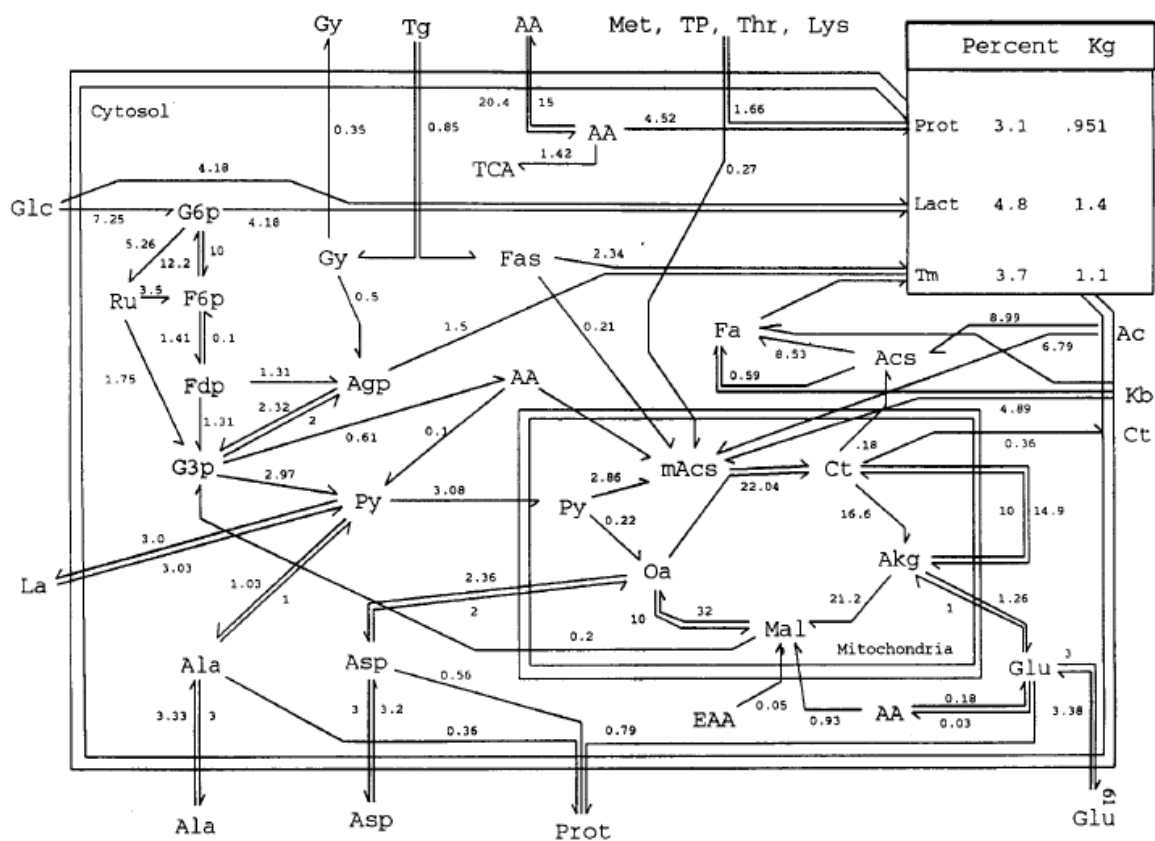
18:3 = acide linoléique ; Lip = lipolyse ; Iso = isomérisation ; BH = biohydrogénation ; IBH = pools d'AG issus de la biohydrogénation partielle du 18:3 (IBH3) de l'isomérisation du c9c12-C18:2 (IBH2) et les isomères du 18:1 autres que le c9-C18 :1 (IBH1).



**Annexe 4.** Harvatine et Allen, 2006. Représentation schématique simplifié (panneau A) et complexe (panneau B) de biohydrogénation ruminale des acides gras à 18 carbones. Les boîtes représentent les pools d'acides gras et les flèches représentent les taux de transfert entre pools ( $k_{p1-5}$ ,  $\%/h$ ).

FA = acides gras.

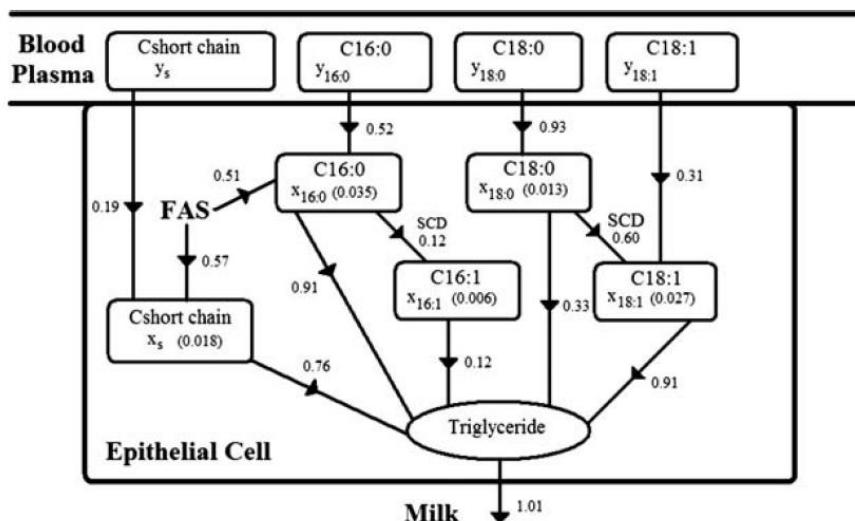




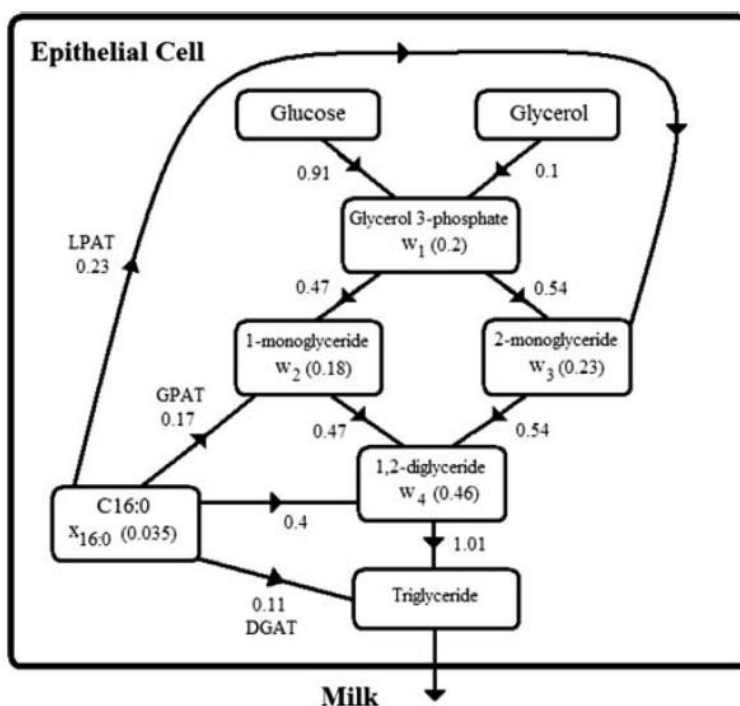
**Annexe 5** Modèle Hanigan et Baldwin 1994. Représentation schématique du modèle du métabolisme biochimique dans la glande mammaire. Les pools sont identifiés par des codes à 2, 3 ou 4 lettres. Les flèches indiquent les flux, et les nombres associés aux flèches correspondent aux concentrations à l'état d'équilibre (mol/l). Les espaces cytosoliques et mitochondriaux sont délimités par des lignes doubles solides. L'espace extracellulaire est représenté par la zone à l'extérieur de l'espace cytosolique.

Les abréviations sont décrites dans les tableaux 1 et 4 de la publication d'origine (Hanigan et Baldwin 1994)

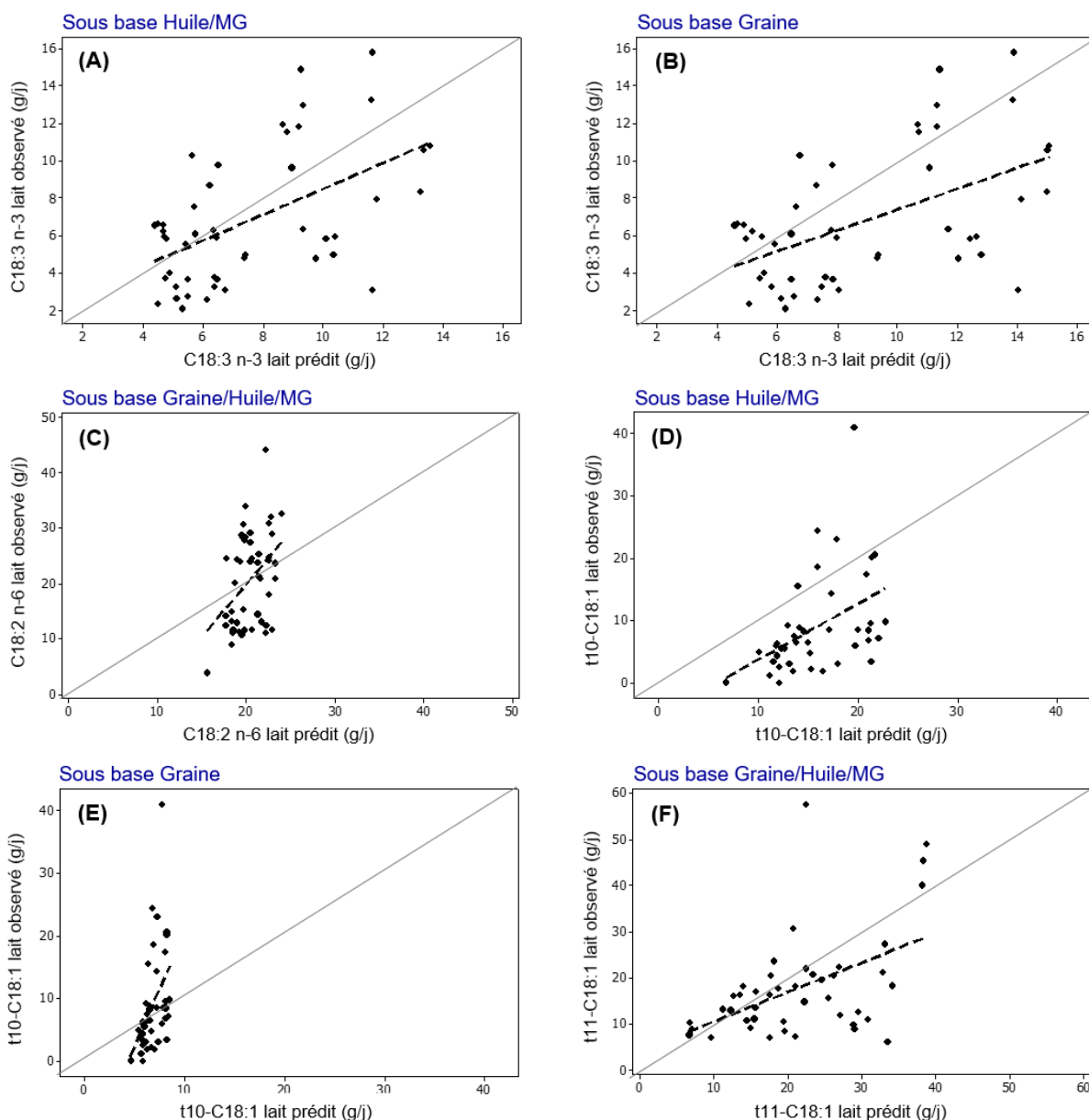
A



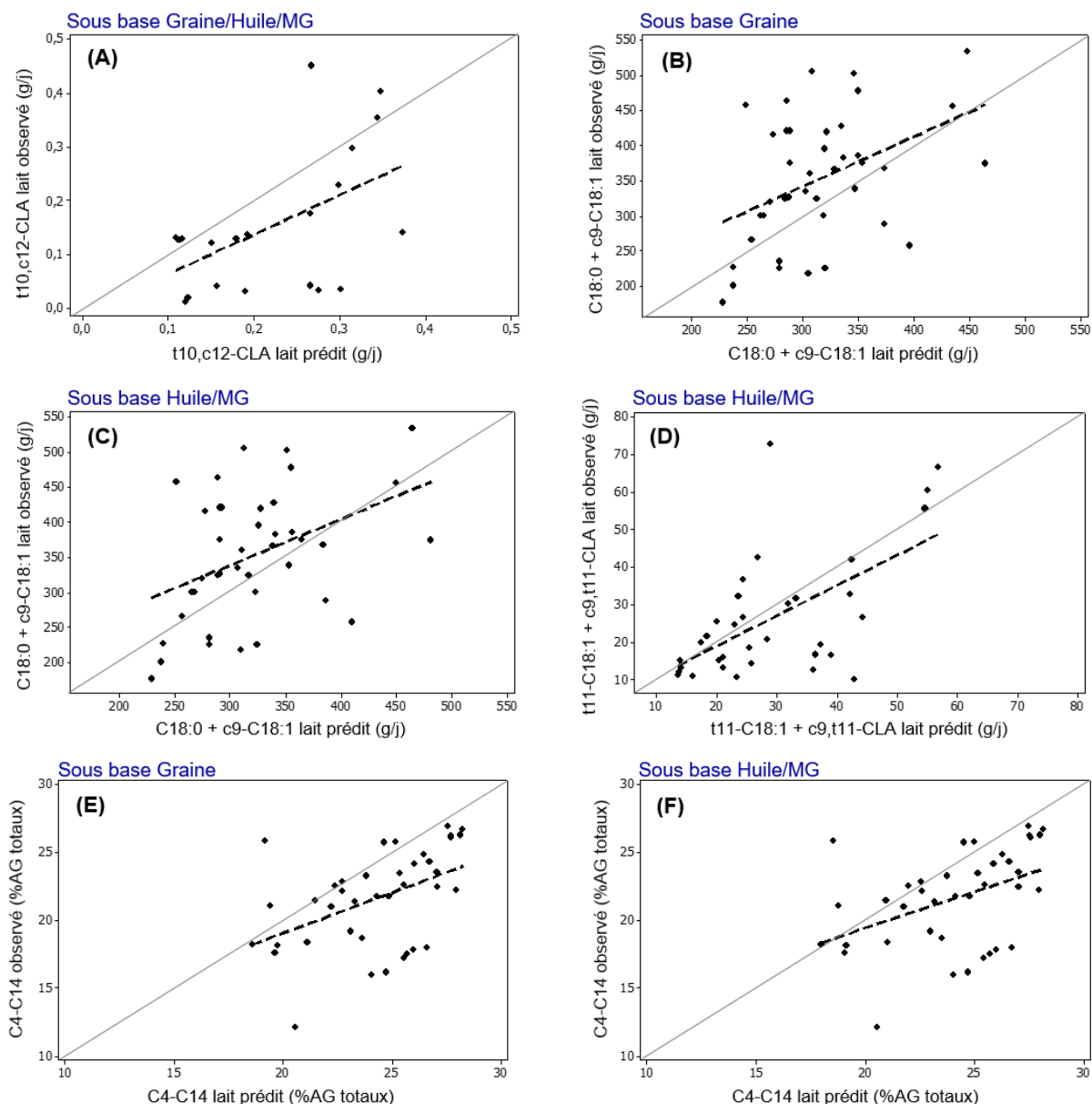
B



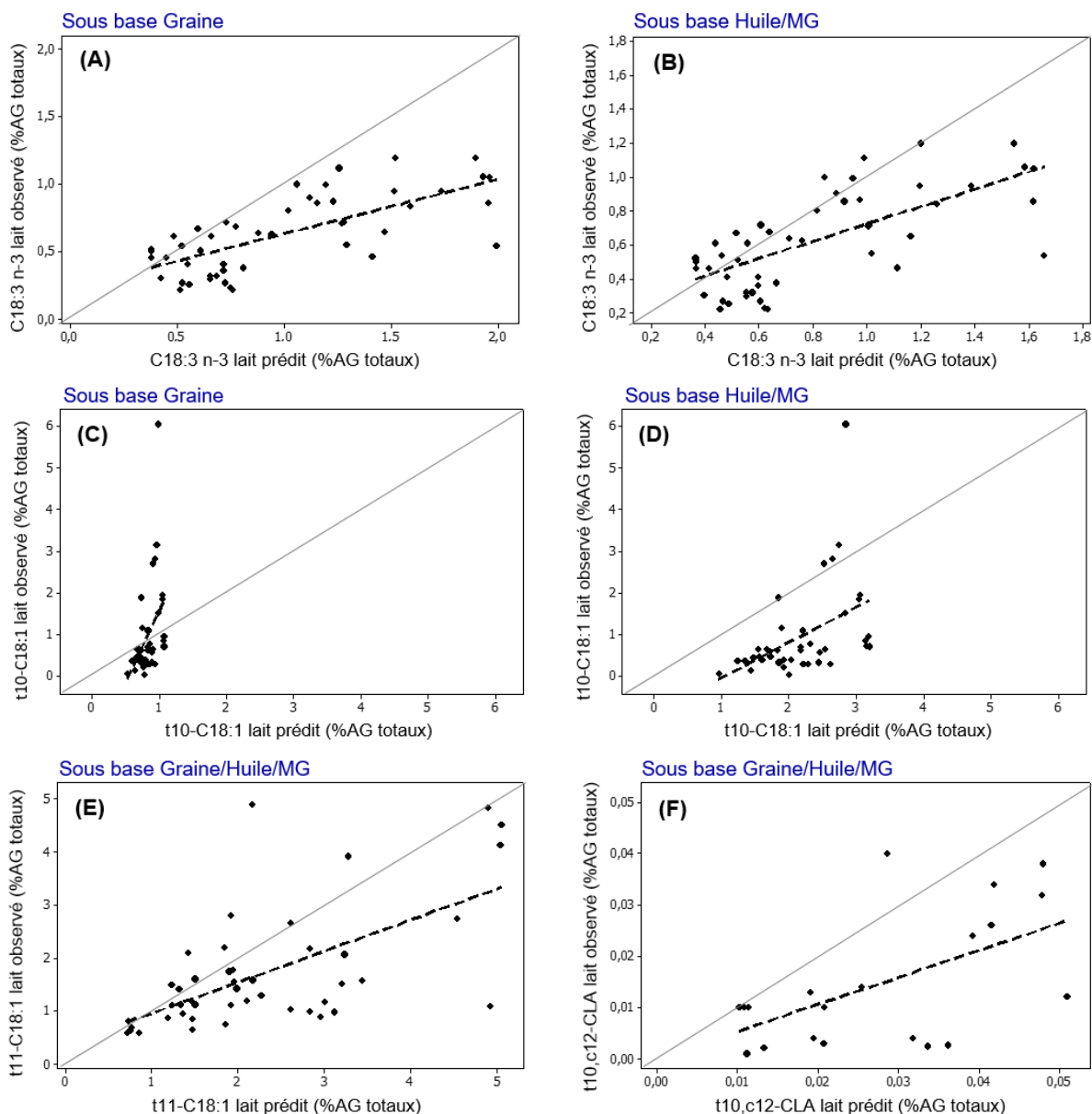
**Annexe 6** Modèle Shorten *et al.*, 2004. Représentation schématique de la voie de biosynthèse des lipides dans les cellules épithéliales mammaires (A). Les boîtes représentent les pools des acides gras. Les flèches indiquent les flux, et les nombres sur les flèches indiquent les flux en mol/j. Les nombres dans les boîtes indiquent les concentrations en acides gras en mM pour la vache de référence. Schéma des différentes étapes de l'estérification des acides gras en triglycérides (B). Seulement les taux d'estérification du 16:0 sont indiqués.



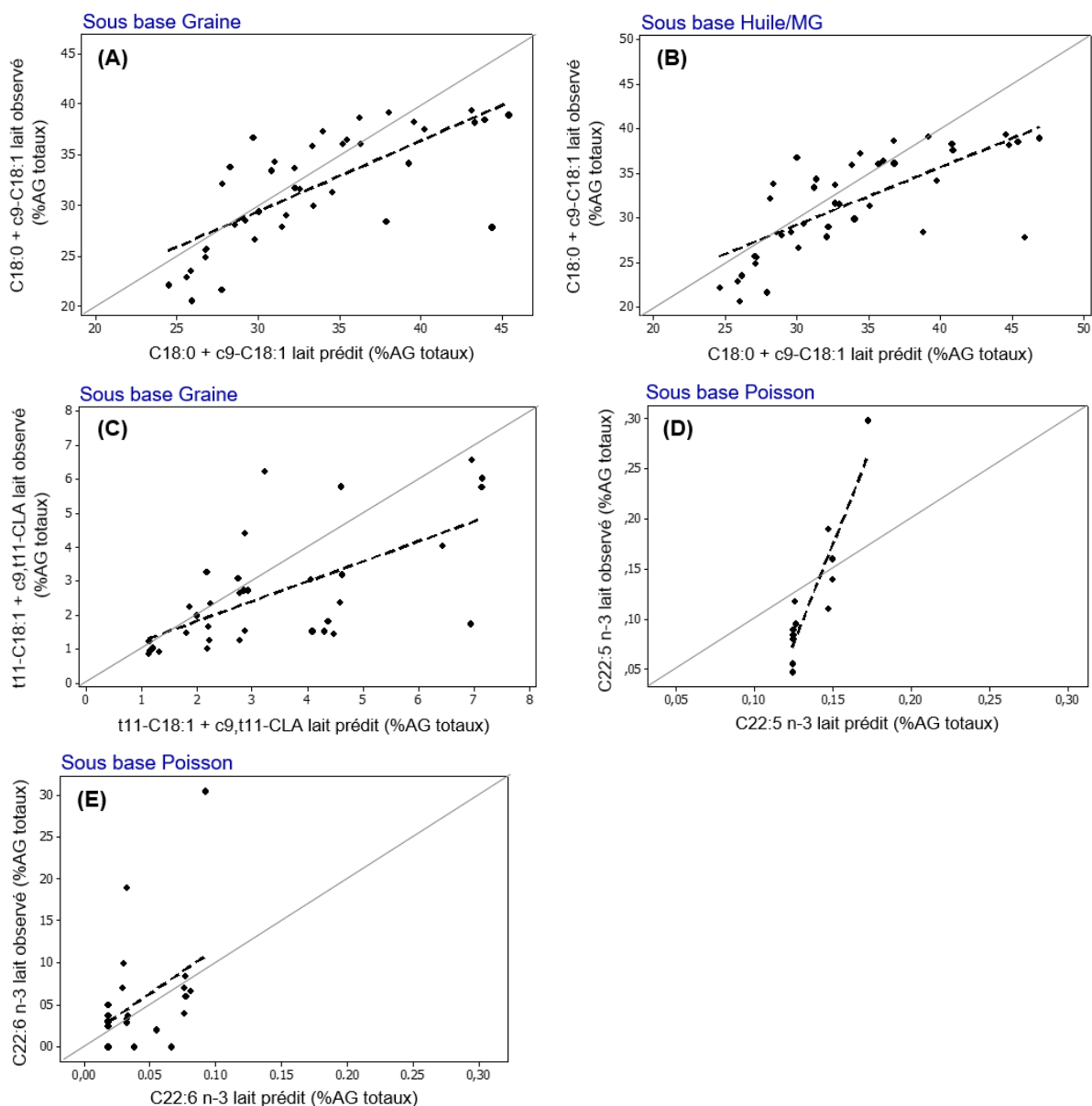
**Annexe 7** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) C18:3 n-3 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (B) C18:3 n-3 en g/jour de la sous-base Graine ; (C) C18:2 n-6 en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG ; (D) *trans*10-C18:1 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (E) *trans*10-C18:1 en g/jour de la sous-base Graine ; (F) *trans*11-C18:1 en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG.



**Annexe 8** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) *trans*10,*cis*12-CLA en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG ; (B) C18:0 + *cis*9-C18:1 en g/jour de la sous-base Graine ; (C) C18:0 + *cis*9-C18:1 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (D) *trans*11-C18:1 + *cis*9,*trans*11-CLA en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (E) C4-C14 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (F) C4-C14 en %AG totaux de la sous-base Huile/MG.



**Annexe 9** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) C18:3 n-3 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (B) C18:3 n-3 en %AG totaux de la sous-base Huile/MG ; (C) *trans*10-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (D) *trans*10-C18:1 en g/jour de la sous-base Huile/MG ; (E) *trans*11-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Graine/Huile/MG ; (F) *trans*10,*cis*12-CLA en g/jour de la sous-base Graine/Huile/MG.



**Annexe 10** Relations entre les acides gras du lait observés (ordonnées) et prédits par les modèles (abscisses) pour : (A) C18:0 + *cis*9-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Graine ; (B) C18:0 + *cis*9-C18:1 en %AG totaux de la sous-base Huile/MG ; (C) *trans*11-C18:1 + *cis*9,*trans*11-CLA en %AG totaux de la sous-base Graine ; (D) C22:5 n-3 en %AG totaux de la sous-base Poisson; (E) C22:6 n-3 en %AG totaux de la sous-base Poisson.

## **REFERENCES**

**IX. REFERENCES**

AbuGhazaleh AA et Jenkins TC 2004. Disappearance of docosahexaenoic and eicosapentaenoic acids from cultures of mixed ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science* 87, 645–651.

AbuGhazaleh AA, Riley MB, Thies EE et Jenkins TC 2005. Dilution rate and pH effects on the conversion of oleic acid to trans C18:1 positional isomers in continuous culture. *Journal of Dairy Science* 88, 4334–4341.

Allen MS 1997. Relationship between fermentation acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. *Journal of Dairy Science* 80, 1447–1462.

Anses 2011. Actualisation des apports nutritionnels conseillés pour les acides gras. Maisons-Alfort.

Anses 2017. Étude individuelle Nationale des consommations alimentaires 3 (INCA 3). Maisons-Alfort.

Arvidsson K 2009. Factors affecting fatty acid composition in forage and milk (Thèse). 1652-6880pp.

Ashes JR, Welch PS, Gulati SK, Scott TW, Brown GH et Blakeley S 1992. Manipulation of the fatty acid composition of milk by feeding protected canola seeds. *Journal of Dairy Science* 75, 1090–6.

Bas P, Archimède H, Rouzeau A et Sauvant D 2003. Fatty acid composition of mixed-rumen bacteria: effect of concentration and type of forage. *Journal of Dairy Science* 86, 2940–2948.

Bauman DE et Griinari JM 2003. Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition* 23, 203–227.

Bauman DE, Harvatine KJ et Lock AL 2011. Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition* 31, 299–319.

Baumgard LH, Corl BA, Dwyer DA, Saebø A et Bauman DE 2000. Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 278, R179–R184.

Bergman EN 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiological Reviews* 70, 567–590.

Bernard L, Leroux C et Chilliard Y 2008. Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. In *Bioactive Components of Milk*, pp. 67–108. Springer New York, New York, NY.

Bichi E, Hervás G, Toral PG, Lóor JJ et Frutos P 2013. Milk fat depression induced by dietary marine algae in dairy ewes: Persistency of milk fatty acid composition and animal performance responses. *Journal of Dairy Science* 96, 524–532.



- Bilal G, Cue RI, Mustafa AF et Hayes JF 2014. Short communication: genetic parameters of individual fatty acids in milk of canadian Holsteins cows. *Journal of Dairy Science* 97, 1150–1156.
- Bionaz M et Looor JJ 2008. Gene networks driving bovine milk fat synthesis during the lactation cycle. *BMC Genomics* 9, 366.
- Bobe G, Lindberg GL, Freeman AE et Beitz DC 2007. Short communication: composition of milk protein and milk fatty acids is stable for cows differing in genetic merit for milk production. *Journal of Dairy Science* 90, 3955–3960.
- Børsting CF, Weisbjerg MR et Hvelplund T 1992. Fatty acid digestibility in lactating cows fed increasing amounts of protected vegetable oil, fish oil or saturated fat. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Science* 42, 148–156.
- Boufaïed H, Chouinard PY, Tremblay GF, Petit H V, Michaud R et Bélanger G 2003. Fatty acids in forages. I. Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science* 83, 501–511.
- Brossard L, Chaucheyras-Durand F, Michalet-Doreau B et Martin C 2006. Dose effect of live yeasts on rumen microbial communities and fermentations during butyric latent acidosis in sheep: new type of interaction. *Animal Science* 82, 829-836.
- Buccioni A, Decandia M, Minieri S, Molle G et Cabiddu A 2012. Lipid metabolism in the rumen: New insights on lipolysis and biohydrogenation with an emphasis on the role of endogenous plant factors. *Animal Feed Science and Technology* 174, 1–25.
- Burgess K 2014. Milk and dairy products in human nutrition (2013), Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO), Rome. *International Journal of Dairy Technology* 67, 303–304.
- Carreño D, Hervás G, Toral PG, Belenguer A et Frutos P 2015. Ability of different types and doses of tannin extracts to modulate in vitro ruminal biohydrogenation in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 202, 42–51.
- Chapoutot P, Nozière P et Sauvant D 2013. 'Systool', a new calculator for the new French 'Systali' project. In 64th Annual Meeting of the European Association Federation of Animal Science, pp. 138. Nantes.
- Cheng KJ et Costerton JW 1977. Ultrastructure of *Butyrivibrio fibrisolvens*: a gram-positive bacterium. *Journal of bacteriology* 129, 1506–12.
- Chikunya S, Demirel G, Enser M, Wood JD, Wilkinson RG et Sinclair LA 2004. Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *British Journal of Nutrition* 91, 539–550.
- Chilliard Y, Ferlay A et Doreau M 2001. Effect of different types of forages, animal fat or marine oils in cow's diet on milk fat secretion and composition, especially conjugated linoleic acid (CLA) and polyunsaturated fatty acids. *Livestock Production Science* 70, 31–48.

- Chilliard Y, Ferlay A, Mansbridge RM et Doreau M 2000. Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Annales Zootechnie* 49, 181–205.
- Chilliard Y, Ferlay A, Rouel J et Lamberet G 2003. A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk lipid synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science* 86, 1751–1770.
- Chilliard Y, Gagliostro G, Flechet J, Lefaivre J et Sebastian I 1991. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 5. Milk fatty acids and adipose tissue lipogenic activities. *Journal of Dairy Science* 74, 1844–1854.
- Chilliard Y, Glasser F, Ferlay A, Bernard L, Rouel J et Doreau M 2007. Diet, rumen biohydrogenation and nutritional quality of cow and goat milk fat. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 828–855.
- Chouinard PY, Corneau L, Barbano DM, Metzger LE et Bauman DE 1999. Conjugated Linoleic Acids Alter Milk Fatty Acid Composition and Inhibit Milk Fat Secretion in Dairy Cows. *The Journal of Nutrition* 129, 1579–1584.
- Chow TT, Fievez V, Moloney AP, Raes K, Demeyer D et Smet S De 2004. Effect of fish oil on in vitro rumen lipolysis, apparent biohydrogenation of linoleic and linolenic acid and accumulation of biohydrogenation intermediates. *Animal Feed Science and Technology* 117, 1–12.
- Chowdhury R, Warnakula S, Kunutsor S, Crowe F, Ward HA, Johnson L, Franco OH, Butterworth AS, Forouhi NG, Thompson SG, Khaw K-T, Mozaffarian D, Danesh J et Di Angelantonio E 2014. Association of dietary, circulating, and supplement fatty acids with coronary risk. *Annals of Internal Medicine* 160, 398.
- Collomb M, Bütikofer U, Sieber R, Jeangros B et Bosset J-O 2002. Composition of fatty acids in cow's milk fat produced in the lowlands, mountains and highlands of Switzerland using high-resolution gas chromatography. *International Dairy Journal* 12, 649–659.
- Cook LJ, Scott TW et Pan YS 1972. Formaldehyde-treated casein-safflower oil supplement for dairy cows: II. Effect on the fatty-acid composition of plasma and milk lipids. *Journal of Dairy Research* 39, 211.
- Coppa M, Ferlay A, Chassaing C, Agabriel C, Glasser F, Chilliard Y, Borreani G, Barcarolo R, Baars T, Kusche D, Harstad OM, Verbič J, Golecký J et Martin B 2013. Prediction of bulk milk fatty acid composition based on farming practices collected through on-farm surveys. *Journal of Dairy Science* 96, 4197–4211.
- Couvreur S, Hurtaud C, Marnet PG, Faverdin P et Peyraud JL 2007. Composition of milk fat from cows selected for milk fat globule size and offered either fresh pasture or a corn silage-based diet. *Journal of Dairy Science* 90, 392–403.
- Davis C et Brown R 1970. Low-fat milk depression. In *Physiology of Digestion and Metabolism in the Ruminant*, pp. 545–565. UK.

- Delbecchi L, Ahnadi CE, Kennelly JJ et Lacasse P 2001. Milk fatty acid composition and mammary lipid metabolism in holstein cows fed protected or unprotected canola seeds. *Journal of Dairy Science* 84, 1375–1381.
- Demeyer D et Doreau M 1999. Targets and procedures for altering ruminant meat and milk lipids. *The Proceedings of the Nutrition Society* 58, 593–607.
- Destailats F, Trottier JP, Galvez JMG et Angers P 2005. Analysis of  $\alpha$ -linolenic acid biohydrogenation intermediates in milk fat with emphasis on conjugated linolenic acids. *Journal of Dairy Science* 88, 3231–3239.
- Devillard E et Wallace J 2006. Biohydrogenation in the rumen and human intestine: implications for CLA and PUFA. *Lipid Technology* 18, 127.
- Devillard E, McIntosh FM, Newbold CJ et Wallace RJ 2006. Rumen ciliate protozoa contain high concentrations of conjugated linoleic acids and vaccenic acid, yet do not hydrogenate linoleic acid or desaturate stearic acid. *The British Journal of Nutrition* 96, 697–704.
- Dewhurst RJ, Evans RT, Scollan ND, Moorby JM, Merry RJ et Wilkins RJ 2003. Comparison of grass and legume silages for milk production. 2. In vivo and in sacco evaluations of rumen function. *Journal of Dairy Science* 86, 2612–2621.
- Dijkstra J, Forbes JM et France J 2005. Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. CABI, Wallingford.
- Dijkstra J, Gerrits WJJ, Bannink A et France J 2000. Modelling lipid metabolism in the rumen. In *Modelling nutrient utilization in farm animals*, pp. 25–36. CABI, Wallingford.
- Doreau M, Bauchart D et Chilliard Y 2011. Enhancing fatty acid composition of milk and meat through animal feeding. *Animal Production Science* 51, 19.
- Doreau M, Fievez V, Troegeler-Meynadier A et Glasser F 2012. Métabolisme ruminal et digestion des acides gras longs chez le ruminant: le point des connaissances récentes. *INRA Productions Animales* 25, 361–374.
- Doreau M, Lee MRF, Ueda K et Scollan ND 2005. Métabolisme ruminal et digestibilité des acides gras des fourrages. In *Rencontres Recherches Ruminants*, pp. 101–104. Paris, FR.
- Enjalbert F, Nicot MC, Bayourthe C, Vernay M et Moncoulon R 1997. Effects of dietary calcium soaps of unsaturated fatty acids on digestion, milk composition and physical properties of butter. *Journal of Dairy Research* 64, 181–195.
- Faichney GJ, Davies HL, Scott TW and Cook LJ 1972. The incorporation of linoleic acid into the tissues of growing steers offered a dietary supplement of formaldehyde-treated casein-safflower oil. *Australian Journal of biological sciences* 25, 205–12.
- Faichney G et White G 1977. Formaldehyde treatment of concentrate diets for sheep. I. Partition of the digestion of organic matter and nitrogen between the stomach and intestines. *Australian Journal of Agricultural Research* 28, 1055–1067.

- Ferlay A, Agabriel C, Sibra C, Journal C, Martin B et Chilliard Y 2008. Tanker milk variability in fatty acids according to farm feeding and husbandry practices in a French semi-mountain area. *Dairy Science and Technology* 88, 193–215.
- Ferlay A, Bernard L, Meynadier A et Malpuech-Brugère C 2017. Production of trans and conjugated fatty acids in dairy ruminants and their putative effects on human health: A review. *Biochimie* 141, 107–120.
- Field CJ, Blewett HH, Proctor S et Vine D 2009. Human health benefits of vaccenic acid. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism* 34, 979–991.
- Fonty G, Jouany JP, Forano E et Gouet P 1995. L'écosystème microbien du réticulo-rumen. Dans *Nutrition des ruminants domestiques*. In *Nutrition des ruminants domestiques-ingestion et digestion* (eds. R. Jarrige, Y. Ruckebush, C. Demarquilly, M. Farce and M. Journet), pp. 299–347. Paris, FR.
- Fotouhi N et Jenkins TC 1992. Resistance of fatty acyl amides to degradation and hydrogenation by ruminal microorganisms. *Journal of Dairy Science* 75, 1527–1532.
- France J et Thornley JH. 1984. *Mathematical models in agriculture*. London, UK.
- Gervais R, McFadden JW, Lengi AJ, Corl BA et Chouinard PY 2009. Effects of intravenous infusion of trans-10, cis-12 18:2 on mammary lipid metabolism in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92, 5167–5177.
- Glasser F, Doreau M, Maxin G et Baumont R 2013. Fat and fatty acid content and composition of forages: A meta-analysis. *Animal Feed Science and Technology* 185, 19–34.
- Glasser F, Ferlay A et Chilliard Y 2008c. Oilseed lipid supplements and fatty acid composition of cow milk: a meta-analysis. *Journal of Dairy Science* 91, 4687–4703.
- Glasser F, Ferlay A, Doreau M, Schmidely P, Sauvant D et Chilliard Y 2008a. Long-chain fatty acid metabolism in dairy cows: a meta-analysis of milk fatty acid yield in relation to duodenal flows and de novo synthesis. *Journal of Dairy Science* 91, 2771–2785.
- Glasser F, Schmidely P, Doreau M et Sauvant D 2007. Biohydrogénation des acides gras longs dans le rumen : développement d'un modèle dynamique à partir de données in vitro. *Rencontres Recherches Ruminants* 14, 342.
- Glasser F, Schmidely P, Sauvant D et Doreau M 2008b. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors: 2. C18 fatty acids. *Animal* 2, 691–704.
- Halmemies-Beauchet-Filleau A, Kairenius P, Ahvenjärvi S, Crosley LK, Muetzel S, Huhtanen P, Vanhatalo A, Toivonen V, Wallace RJ et Shingfield KJ 2013a. Effect of forage conservation method on ruminal lipid metabolism and microbial ecology in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *Journal of Dairy Science* 96, 2428–2447.

- Halmemies-Beauchet-Filleau A, Vanhatalo A, Toivonen V, Heikkilä T, Lee MRF et Shingfield KJ 2013b. Effect of replacing grass silage with red clover silage on ruminal lipid metabolism in lactating cows fed diets containing a 60:40 forage-to-concentrate ratio. *Journal of Dairy Science* 96, 5882–5900.
- Hanigan MD et Baldwin RL 1994. A mechanistic model of mammary gland metabolism in the lactating cow. *Agricultural Systems* 45, 369–419.
- Harfoot CG 1988. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem* (ed. P.N. Hobson), pp. 285–322. London, New York.
- Harfoot CG et Hazlewood GP 1997. Lipid metabolism in the rumen. In *The Rumen Microbial Ecosystem*, pp. 382–426. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Harvatine KJ et Allen MS 2006. Fat supplements affect fractional rates of ruminal fatty acid biohydrogenation and passage in dairy cows. *The Journal of nutrition* 136, 677–685.
- Harvatine KJ et Bauman DE 2006. SREBP1 and thyroid hormone responsive spot 14 (s14) are involved in the regulation of bovine mammary lipid synthesis during diet-induced milk fat depression and treatment with CLA. *The Journal of Nutrition* 136, 2468–2474.
- Harvatine KJ, Perfield JW et Bauman DE 2009. Expression of enzymes and key regulators of lipid synthesis is upregulated in adipose tissue during cla-induced milk fat depression in dairy cows. *The Journal of Nutrition* 139, 849–854.
- Hobbs DA, Lovegrove JA et Givens ID 2016. Dairy products. In *Handbook of Lipids in Human Function*, pp. 111–129. Elsevier.
- Hudson JA, Morvan B et Joblin KN 1998. Hydration of linoleic acid by bacteria isolated from ruminants. *FEMS microbiology letters* 169, 277–82.
- Inra 2004. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons.
- INRA 2010. Alimentation des bovins, ovins et caprins - Besoins des animaux - Valeurs des aliments -Tables INRA 2007 - mise à jour 2010. Editions Quae, Paris, France
- INRA 2018. INRA feeding system for ruminants. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands.
- Jarrige R, Grenet E, Demarquilly C et Besle JM 1995. Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères. In *Nutrition des ruminants domestiques-ingestion et digestion*, pp. 25–81.
- Jenkins TC et Adams CS 2002. The biohydrogenation of linoleamide in vitro and its effects on linoleic acid concentration in duodenal contents of sheep. *Journal of Animal Science* 80, 533–540.

- Jenkins TC et Bridges WC 2007. Protection of fatty acids against ruminal biohydrogenation in cattle. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 778–789.
- Jenkins TC, Abughazaleh AA, Freeman S et Thies EJ 2006. The production of 10-hydroxystearic and 10-ketostearic acids is an alternative route of oleic acid transformation by the ruminal microbiota in cattle. *The Journal of nutrition* 136, 926–931.
- Jenkins TC, Bateman HG et Block SM 1996. Butylsoyamide increases unsaturation of fatty acids in plasma and milk of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79, 585–590.
- Jenkins TC, Wallace RJ, Moate PJ et Mosley EE 2008. Recent advances in biohydrogenation of unsaturated fatty acids within the rumen microbial ecosystem. *Journal of Animal Science* 86, 397–412.
- Jensen RG 2002. The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science* 85, 295–350.
- Kairenius P, Toivonen V et Shingfield KJ 2011. Identification and ruminal outflow of long-chain fatty acid biohydrogenation intermediates in cows fed diets containing fish oil. *Lipids* 46, 587–606.
- Kalscheur KF, Teter BB, Piperova LS et Erdman RA 1997. Effect of dietary forage concentration and buffer addition on duodenal flow of trans-c18:1 fatty acids and milk fat production in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 80, 2104–2114.
- Kelly ML, Kolver ES, Bauman DE, Van Amburgh ME et Muller LD 1998. Effect of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. *Journal of Dairy Science* 81, 1630–1636.
- Kepler CR, Hirons KP, McNeill JJ et Tove SB 1966. Intermediates and products of the biohydrogenation of linoleic acid by *Butyrivibrio fibrisolvens*. *The Journal of biological chemistry* 241, 1350–4.
- Keweloh H et Heipieper HJ 1996. Trans unsaturated fatty acids in bacteria. *Lipids* 31, 129–37.
- Kim YJ, Liu RH, Rychlik JL et Russell JB 2002. The enrichment of a ruminal bacterium (*Megasphaera elsdenii* YJ-4) that produces the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid. *Journal of Applied Microbiology* 92, 976–982.
- Kirat D, Matsuda Y, Yamashiki N, Hayashi H et Kato S 2007. Expression, cellular localization, and functional role of monocarboxylate transporter 4 (MCT4) in the gastrointestinal tract of ruminants. *Gene* 391, 140–149.
- Kitessa S, Gulati S, Ashes J, Fleck E, Scott T et Nichols P 2001. Utilisation of fish oil in ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 89, 189–199.
- Klasmeyer TH et Clark JH 1991. Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and in milk produced by dairy cows. *Journal of Dairy Science* 74, 3055–3067.

- Kraft J, Collomb M, Möckel P, Sieber R et Jahreis G 2003. Differences in CLA isomer distribution of cow's milk lipids. *Lipids* 38, 657–64.
- Kucuk O, Hess BW, Ludden PA et Rule DC 2001. Effect of forage:concentrate ratio on ruminal digestion and duodenal flow of fatty acids in ewes. *Journal of Animal Science* 79, 2233–2240.
- Lafontan M, Berlan M, Stich V, Crampes F, Rivière D, De Glisezinski I, Sengenès C et Galitzky J 2002. Recent data on the regulation of lipolysis by catecholamines and natriuretic peptides. *Annales d'endocrinologie* 63, 86–90.
- Latham MJ, Sharpe ME et Sutton JD 1971. The microbial flora of the rumen of cows fed hay and high cereal rations and its relationship to the rumen fermentation. *The Journal of applied bacteriology* 34, 425–34.
- Laverroux S, Glasser F, Gillet M, Joly C et Doreau M 2011. Isomerization of vaccenic acid to cis and trans c18:1 isomers during biohydrogenation by rumen microbes. *Lipids* 46, 843–850.
- Lee MR, Parfitt LJ, Scollan ND et Minchin FR 2007. Lipolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities in the presence and absence of rumen fluid. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87, 1308–1314.
- Lee MRF, Connelly PL, Tweed JKS, Dewhurst RJ, Merry RJ et Scollan ND 2006. Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 2. Lipids. *Journal of Animal Science* 84, 3061–3070.
- Lee MRF, Harris LJ, Dewhurst RJ, Merry RJ et Scollan ND 2003. The effect of clover silages on long chain fatty acid rumen transformations and digestion in beef steers. *Animal Science* 76, 491–501.
- Lee MRF, Harris LJ, Moorby JM, Humphreys MO, Theodorou MK, MacRae JC et Scollan ND 2002. Rumen metabolism and nitrogen flow to the small intestine in steers offered *Lolium perenne* containing different levels of water-soluble carbohydrate. *Animal Science* 74, 587–596.
- Lee MRF, Tweed JKS, Connelly PL, Merry RJ, Dewhurst RJ et Scollan ND 2004. Duodenal flow and biohydrogenation of C18 polyunsaturated fatty acids in beef steers fed high sugar grass, red clover or grass/red clover mix silages. In *British Society of Animal Science*, p. 66. York, UK.
- Leiber F, Scheeder M, Wettstein H-R et Kreuzer M 2004. Milk fatty acid profile of cows under the influence of alpine hypoxia and high mountainous forage quality. *Journal of Animal and Feed Sciences* 13, 693–696.
- Loor JJ, Ferlay A, Ollier A, Doreau M et Chilliard Y 2005a. Relationship among trans and conjugated fatty acids and bovine milk fat yield due to dietary concentrate and linseed oil. *Journal of Dairy Science* 88, 726–740.

- Loor JJ, Doreau M, Chardigny JM, Ollier A, Sebedio JL et Chilliard Y 2005b. Effects of ruminal or duodenal supply of fish oil on milk fat secretion and profiles of trans-fatty acids and conjugated linoleic acid isomers in dairy cows fed maize silage. *Animal Feed Science and Technology* 119, 227–246
- Loor JJ, Herbein JH et Jenkins TC 2002. Nutrient digestion, biohydrogenation, and fatty acid profiles in blood plasma and milk fat from lactating Holstein cows fed canola oil or canolamide. *Animal Feed Science and Technology* 97, 65–82.
- Loor JJ, Ueda K, Ferlay A, Chilliard Y et Doreau M 2004. Biohydrogenation, duodenal flow, and intestinal digestibility of trans fatty acids and conjugated linoleic acids in response to dietary forage:concentrate ratio and linseed oil in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87, 2472–2485.
- Lourenço M, Ramos-Morales E et Wallace RJ 2010. The role of microbes in rumen lipolysis and biohydrogenation and their manipulation. *Animal* 4, 1008–1023.
- Lundy FP, Block E, Bridges WC, Bertrand JA et Jenkins TC 2004. Ruminal biohydrogenation in holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. *Journal of Dairy Science* 87, 1038–1046.
- Madeira MS, Cardoso C, Lopes PA, Coelho D, Afonso C, Bandarra NM et Prates JAM 2017. Microalgae as feed ingredients for livestock production and meat quality: A review. *Livestock Science* 205, 111–121.
- Maia MR, Chaudhary LC, Bestwick CS, Richardson AJ, McKain N, Larson TR, Graham IA et Wallace RJ 2010. Toxicity of unsaturated fatty acids to the biohydrogenating ruminal bacterium, *Butyrivibrio fibrisolvens*. *BMC Microbiology* 10:52.
- Maia MRG, Chaudhary LC, Figueres L et Wallace RJ 2007. Metabolism of polyunsaturated fatty acids and their toxicity to the microflora of the rumen. *Antonie van Leeuwenhoek* 91, 303–14.
- Maia MRG, Fonseca AJM, Oliveira HM, Mendonça C and Cabrita ARJ 2016. The potential role of seaweeds in the natural manipulation of rumen fermentation and methane production. *Scientific Reports* 6, 32321.
- Marinez DI, Ricks CA et Cook RM 1976. Utilization of volatile fatty acids in ruminants. 8. Acetate activation in mammary tissue. *Journal of agricultural and food chemistry* 24, 927–935.
- Marita JM, Hatfield RD et Brink GE 2005. Polyphenol oxidase activity and in vitro proteolytic inhibition in grasses. In *International Grassland*, p. 220.
- Martin C, Brossard L et Doreau M 2006. Mécanismes d'apparition de l'acidose ruminale latente et conséquences physiopathologiques et zootechniques. *INRA Productions Animales* 19, 93–108.
- Martin C, Millet L, Fonty G et Michalet-Doreau B 2001. Cereal supplementation modified the fibrolytic activity but not the structure of the cellulolytic bacterial community associated with rumen solid digesta. *Reproduction, nutrition, development* 41, 413–24.



- Maxin G, Glasser F, Doreau M et Baumont R 2013. Pr evision de la teneur en mati eres grasses et de la composition en acides gras des fourrages. In *Rencontres Recherches Ruminants*, pp. 49–52. Paris, FR.
- McKain N, Shingfield KJ et Wallace RJ 2010. Metabolism of conjugated linoleic acids and 18 : 1 fatty acids by ruminal bacteria: products and mechanisms. *Microbiology* 156, 579–588.
- Moate P, Chalupa W, Jenkins T et Boston R 2004. A model to describe ruminal metabolism and intestinal absorption of long chain fatty acids. *Animal Feed Science and Technology* 112, 79–105.
- Moate PJ, Boston RC, Jenkins TC et Lean IJ 2008a. Kinetics of ruminal lipolysis of triacylglycerol and biohydrogenation of long-chain fatty acids: new insights from old data. *Journal of Dairy Science* 91, 731–742.
- Moate PJ, Boston RC, Lean IJ et Chalupa W 2006. Further validation of the fat sub-model in the Cornell-penn-miner dairy model. *Journal of Dairy Science* 89, 1052–1056.
- Moate PJ, Chalupa W, Boston RC et Lean IJ 2008b. Milk fatty acids ii: prediction of the production of individual fatty acids in bovine milk. *Journal of Dairy Science* 91, 1175–1188.
- Moon CD, Pacheco DM, Kelly WJ, Leahy SC, Li D, Kopečný J et Attwood GT 2008. Reclassification of *Clostridium proteoclasticum* as *Butyrivibrio proteoclasticus* comb. nov., a butyrate-producing ruminal bacterium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 58, 2041–2045.
- Moreno DA, Ilic N, Poulev A, Brasaemle DL, Fried SK et Raskin I 2003. Inhibitory effects of grape seed extract on lipases. *Nutrition* 19, 876–9.
- Morvay Y, Bannink A, France J, Kebreab E et Dijkstra J 2011. Evaluation of models to predict the stoichiometry of volatile fatty acid profiles in rumen fluid of lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 94, 3063–80.
- Mosley EE, Nudda A, Corato A, Rossi E, Jenkins T et McGuire MA 2006. Differential biohydrogenation and isomerization of [U-(13)C]oleic and [1-(13)C]oleic acids by mixed ruminal microbes. *Lipids* 41, 513–517.
- Mosley EE, Powell GL, Riley MB et Jenkins TC 2002. Microbial biohydrogenation of oleic acid to trans isomers in vitro. *Journal of Lipid Research* 43, 290–296.
- Myers PJ, Ellis SE, Burg KJL et Jenkins TC 2005. Use of formaldehyde-treated protein capsules as a means to protect conjugated linoleic acid from ruminal biohydrogenation. In *Journal of Dairy Science*, p. 97. American Dairy Science Association, Savoy, US.
- Noble RC, Moore JH et Harfoot CG 1974. Observations on the pattern on biohydrogenation of esterified and unesterified linoleic acid in the rumen. *The British Journal of Nutrition* 31, 99–108.

- Nozière P, Glasser F et Sauvant D 2011. In vivo production and molar percentages of volatile fatty acids in the rumen: a quantitative review by an empirical approach. *Animal* 5, 403–414.
- Nozière P, Ortigues-Marty I, Loncke C et Sauvant D 2010. Carbohydrate quantitative digestion and absorption in ruminants: from feed starch and fibre to nutrients available for tissues. *Animal* 4, 1057–1074.
- Offner A et Sauvant D 2004. Prediction of in vivo starch digestion in cattle from in situ data. *Animal Feed Science and Technology* 111, 41–56.
- Oshio S, Tahata I et Minato H 1987. Effect of diets differing in ratios of roughage to concentrate on microflora in the rumen of heifers. *The Journal of General and Applied Microbiology* 33, 99–111.
- Palmquist DL, Beaulieu AD et Barbano DM 1993. Feed and animal factors influencing milk fat composition. *Journal of Dairy Science* 76, 1753–71.
- Palmquist DL, Lock AL, Shingfield KJ et Bauman DE 2005. Biosynthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. *Advances in Food and Nutrition Research* 50, 179–217.
- Perfield JW, Lock AL, Griinari JM, Sæbø A, Delmonte P, Dwyer DA et Bauman DE 2007. Trans-9, cis-11 conjugated linoleic acid reduces milk fat synthesis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 90, 2211–2218.
- Petit HV 2003. Digestion, milk production, milk composition, and blood composition of dairy cows fed formaldehyde treated flaxseed or sunflower seed. *Journal of Dairy Science* 86, 2637–2646.
- Piperova LS, Sampugna J, Teter BB, Kalscheur KF, Yurawecz MP, Ku Y, Morehouse KM et Erdman RA 2002. Duodenal and milk trans octadecenoic acid and conjugated linoleic acid (cla) isomers indicate that postabsorptive synthesis is the predominant source of cis-9-containing cla in lactating dairy cows. *The Journal of Nutrition* 132, 1235–1241.
- Piperova LS, Teter BB, Bruckental I, Sampugna J, Mills SE, Yurawecz MP, Fritsche J, Ku K et Erdman RA 2000. Mammary lipogenic enzyme activity, trans fatty acids and conjugated linoleic acids are altered in lactating dairy cows fed a milk fat-depressing diet. *The Journal of Nutrition* 130, 2568–2574.
- Popova M, Martin C, Eugène M, Mialon MM, Doreau M et Morgavi DP 2011. Effect of fibre- and starch-rich finishing diets on methanogenic Archaea diversity and activity in the rumen of feedlot bulls. *Animal Feed Science and Technology* 166–167, 113–121.
- Proell JM, Mosley EE, Powell GL et Jenkins TC 2002. Isomerization of stable isotopically labeled elaidic acid to cis and trans monoenes by ruminal microbes. *Journal of Lipid Research* 43, 2072–2076.
- Rémésy C, Chilliard Y, Rayssiguier Y, Mazur A et Demigne C 1986. Le métabolisme hépatique des glucides et des lipides chez les ruminants: principales interactions durant la gestation et la lactation. *Reproduction Nutrition Développement* 26, 205–226.

- Ribeiro CVDM, Eastridge ML, Firkins JL, St-Pierre NR et Palmquist DL 2007. Kinetics of fatty acid biohydrogenation in vitro. *Journal of dairy science* 90, 1405–1416.
- Roy A, Ferlay A, Shingfield KJ et Chilliard Y 2006. Examination of the persistency of milk fatty acid composition responses to plant oils in cows given different basal diets, with particular emphasis on trans-C18:1 fatty acids and isomers of conjugated linoleic acid. *Animal Science* 82, 479–492.
- Sackmann JR, Duckett SK, Gillis MH, Realini CE, Parks AH et Egelston RB 2003. Effects of forage and sunflower oil levels on ruminal biohydrogenation of fatty acids and conjugated linoleic acid formation in beef steers fed finishing diets<sup>1</sup>. *Journal of Animal Science* 81, 3174–3181.
- Saebø A, Perfield JW, Delmonte P, Yurawecz MP, Lawrence P, Brenna JT et Bauman DE 2005. Milk fat synthesis is unaffected by abomasal infusion of the conjugated diene 18:3 isomers cis-6,trans-10, cis-12 and cis-6,trans-8,cis-12. *Lipids* 40, 89–95.
- Sauvant D 1988. La modélisation de la digestion dans le rumen. *Reproduction Nutrition Development* 28, 33–58.
- Sauvant D 1992. La modélisation systémique en nutrition. *Reproduction Nutrition Development* 32, 217–230.
- Sauvant D et Bas P 2001. La digestion des lipides chez le ruminant. *INRA Productions Animales* 5, 303–310.
- Sauvant D et Nozière P 2013a. Integrative model of the digestive tract including the interactions involved in energy and protein digestion in ruminants. In *Energy and protein metabolism and nutrition in sustainable animal production*, pp. 317–318. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, NL.
- Sauvant D et Nozière P 2013b. Rénovation des unités alimentaires des ruminants: les principales relations utilisées pour le calcul des apports alimentaires. In *Rencontres Recherches Ruminants*, pp. 4–5. Paris, FR.
- Sauvant D, Chapoutot P et Archimède H 1994. La digestion des amidons par les ruminants et ses conséquences. *INRA Productions Animales* 7, 115–124.
- Sauvant D, Giger-Reverdin S, Serment A et Broudiscou L 2011. Influences des régimes et de leur fermentation dans le rumen sur la production de méthane par les ruminants. *Productions Animales* 24, 433–446.
- Schmidely P, Glasser F, Doreau M et Sauvant D 2008. Digestion of fatty acids in ruminants: a meta-analysis of flows and variation factors. 1. Total fatty acids. *Animal* 2, 677–690.
- Shi J, Arunasalam K, Yeung D, Kakuda Y, Mittal G et Jiang Y 2004. Saponins from edible legumes: chemistry, processing, and health benefits. *Journal of Medicinal Food* 7, 67–78.

Shingfield KJ, Ahvenjärvi S, Toivonen V, Vanhatalo A, Huhtanen P et Griinari JM 2008. Effect of incremental levels of sunflower-seed oil in the diet on ruminal lipid metabolism in lactating cows. *British Journal of Nutrition* 99, 971–983.

Shingfield KJ et Griinari JM 2007. Role of biohydrogenation intermediates in milk fat depression. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 799–816.

Shingfield KJ, Lee MRF, Humphries DJ, Scollan ND, Toivonen V, Reynolds CK et Beever DE 2010. Effect of incremental amounts of fish oil in the diet on ruminal lipid metabolism in growing steers. *British Journal of Nutrition* 104, 56–66.

Shingfield KJ, Salo-Väänänen P, Pahkala E, Toivonen V, Jaakkola S, Piironen V et Huhtanen P 2005. Effect of forage conservation method, concentrate level and propylene glycol on the fatty acid composition and vitamin content of cows' milk. *Journal of Dairy Research* 72, 349–361.

Shriver BJ, Hoover WH, Sargent JP, Crawford RJ et Thayne WV 1986. Fermentation of a high concentrate diet as affected by ruminal pH and digesta flow. *Journal of Dairy Science* 69, 413–419.

Shorten PR, Pleasants TB et Upreti GC 2004. A mathematical model for mammary fatty acid synthesis and triglyceride assembly: the role of stearoyl CoA desaturase (SCD). *Journal of Dairy Research* 71, 385–397.

Simopoulos A 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acids. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 56, 365–379.

Sinclair LA, Cooper SL, Chikunya S, Wilkinson RG, Hallett KG, Enser M et Wood JD 2005. Biohydrogenation of n-3 polyunsaturated fatty acids in the rumen and their effects on microbial metabolism and plasma fatty acid concentrations in sheep. *Animal Science* 81, 239–248.

Singh S et Hawke JC 1979. The in vitro lipolysis and biohydrogenation of monogalactosyldiglyceride by whole rumen contents and its fractions. *Journal of the science of food and agriculture* 30, 603–612.

Smith SB, Lunt DK, Chung KY, Choi CB, Tume RK et Zembayashi M 2006. Adiposity, fatty acid composition, and delta-9 desaturase activity during growth in beef cattle. *Animal Science Journal* 77, 478–486.

Storm AC, Kristensen NB et Hanigan MD 2012. A model of ruminal volatile fatty acid absorption kinetics and rumen epithelial blood flow in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 95, 2919–2934.

Tajima K, Aminov RI, Nagamine T, Matsui H, Nakamura M et Benno Y 2001. Diet-Dependent Shifts in the Bacterial Population of the Rumen Revealed with Real-Time PCR. *Applied and Environmental Microbiology* 67, 2766–2774.

Tedeschi LO, Chalupa W, Janczewski E, Fox DG, Sniffen C, Munson R, Kononoff PJ et Boston R 2008. Evaluation and application of the CPM Dairy Nutrition model. *The Journal of Agricultural Science* 146.

- Tisserand J et Demarquilly C 1995. Digestion et absorption dans le gros intestin. In *Nutrition des ruminants domestiques* (eds. R. Jarrige, Y. Ruckebush, C. Demarquilly, M. Farce and M. Journet), pp. 1144–7605.
- Toral PG, Belenguer A, Shingfield KJ, Hervás G, Toivonen V et Frutos P 2012. Fatty acid composition and bacterial community changes in the rumen fluid of lactating sheep fed sunflower oil plus incremental levels of marine algae. *Journal of Dairy Science* 95, 794–806.
- Toral PG, Chilliard Y, Rouel J, Leskinen H, Shingfield KJ et Bernard L 2015. Comparison of the nutritional regulation of milk fat secretion and composition in cows and goats. *Journal of Dairy Science* 98, 7277–7297.
- Toral PG, Shingfield KJ, Hervás G, Toivonen V et Frutos P 2010. Effect of fish oil and sunflower oil on rumen fermentation characteristics and fatty acid composition of digesta in ewes fed a high concentrate diet. *Journal of Dairy Science* 93, 4804–4817.
- Tymchuk SM, Khorasani GR et Kennelly JJ 1998. Effect of feeding formaldehyde- and heat-treated oil seed on milk yield and milk composition. *Canadian Journal of Animal Science* 78, 693–700.
- Vanhatalo A, Kuoppala K, Toivonen V et Shingfield KJ 2007. Effects of forage species and stage of maturity on bovine milk fatty acid composition. *European Journal of Lipid Science and Technology* 109, 856–867.
- Van Ranst G, Fievez V, Vandewalle M, De Riek J et Van Bockstaele E 2009. In vitro study of red clover polyphenol oxidase activity, activation, and effect on measured lipase activity and lipolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57, 6611–6617.
- Vlaeminck B, Fievez V, Cabrita ARJ, Fonseca AJM et Dewhurst RJ 2006. Factors affecting odd- and branched-chain fatty acids in milk: A review. *Animal Feed Science and Technology* 131, 389–417.
- Van de Vossenberg JL et Joblin KN 2003. Biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids to stearic acid by a strain of *Butyrivibrio hungatei* from the bovine rumen. *Letters in Applied Microbiology* 37, 424–428.
- Waghorn GC et Baldwin RL 1984. Model of metabolite flux within mammary gland of the lactating cow. *Journal of Dairy Science* 67, 531–544.
- Wallace RJ, McKain N, Shingfield KJ et Devillard E 2007. Isomers of conjugated linoleic acids are synthesized via different mechanisms in ruminal digesta and bacteria. *Journal of Lipid Research* 48, 2247–2254.
- Wasowska I, Maia MRG, Niedźwiedzka KM, Czauderna M, Ribeiro JMCR, Devillard E, Shingfield KJ et Wallace RJ 2006. Influence of fish oil on ruminal biohydrogenation of C18 unsaturated fatty acids. *The British Journal of Nutrition* 95, 1199–211.
- Xia H, Ma S, Wang S et Sun G 2015. Meta-analysis of saturated fatty acid intake and breast cancer risk. *Medicine* 94, e2391.

Yáñez-Ruiz DR, Scollan ND, Merry RJ et Newbold CJ 2006. Contribution of rumen protozoa to duodenal flow of nitrogen, conjugated linoleic acid and vaccenic acid in steers fed silages differing in their water-soluble carbohydrate content. *British Journal of Nutrition* 96, 861–869.

Zinn RA, Gulati SK, Plascencia A et Salinas J 2000. Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 78, 1738–1746.

**Titre:** Prédiction de la production et de la composition de la matière grasse du lait par modélisation: rôle des flux de nutriments absorbés.

**Mots clés:** ruminants, acides gras, métabolisme lipidique, méta-analyse

La composition du lait en acides gras (AG) chez la vache laitière est la résultante du métabolisme lipidique au niveau du rumen et au niveau de la glande mammaire. Dans le cadre du renouvellement des systèmes d'unités d'alimentation INRA, l'objectif de ce travail est de prédire par une approche quantitative utilisant la méta-analyse de bases de données, les flux duodénaux d'AG chez les ruminants, le transfert des AG de l'intestin à la glande mammaire, et les flux d'AG sécrétés dans le lait.

Des équations de prédiction des flux duodénaux et absorbés des AG saturés, des AG impairs et ramifiés, et d'un grand nombre d'isomères des AG insaturés ont été obtenues en intégrant les effets de facteurs expérimentaux tels que la nature du fourrage, le pourcentage de concentré, la supplémentation en huiles, graines végétales, et en produits marins, et leurs interactions. Ces équations

sont fonction des AG ingérés et des facteurs interférents (mode de conservation et familles botaniques des fourrages, composition du régime alimentaire, caractéristiques des animaux).

Pour le transfert des AG du duodénum à la glande mammaire, les équations privilégient comme prédicteur leur flux duodéal respectif, mais utilisent aussi des paramètres digestifs ruminiaux (pH, acétate, butyrate) ou des caractéristiques des rations pour les AG impairs et ramifiés, ou les AG synthétisés *de novo* (C4:0 à C14:0).

La validation de ces modèles a été faite à partir d'une base de données externe qui a permis de coupler les deux modèles et d'évaluer leur précision. Finalement, nous proposons des équations de prédiction des AG spécifiques ainsi que des groupes d'AG présentant un intérêt nutritionnel et qui peuvent fournir une approche aux systèmes d'unités d'alimentation pour prédire leurs réponses à différents types de rations.

**Title:** Prediction of milk fat yield and composition by meta-analysis : role of absorbed nutrient flows

**Keywords:** ruminants, fatty acids, lipid metabolism, meta-analysis

Milk fatty acids (FA) composition in dairy cows results from lipid metabolism in rumen and mammary gland. In the context of renewing the INRA feed unit system, the objective of this work is to predict, by a quantitative approach using meta-analysis, duodenal flows of FA in ruminants, FA transfer from the intestine to the mammary gland, and the secreted FA flows in the milk.

Predictive equations for duodenal and absorbed saturated FA, odd and branched FA, and a large number of unsaturated FA isomers were obtained by integrating the effects of experimental factors such as the nature of the forage, the concentrate percentage, supplementation with oleaginous oils and seeds, and marine products, and their interactions.

These equations are function of ingested FA and their interfering factors (forage conservation mode and botanical family, diet composition, animal factors).

For the transfer of FA from duodenum to the mammary gland, the equations favor the prediction of their respective duodenal flows, but they also use ruminal digestive parameters (pH, acetate, butyrate) or dietary characteristics for odd and branched FA, or *de novo* synthesized FA (C4 :0 to C14 :0).

Models validation was done with an external database, which allowed coupling the two models and evaluate their accuracy. Finally, we propose predictive equations for specific FA as well as FA groups of nutritional interest that can provide an approach to the INRA feed unit system to predict their milk yield responses according to different types of rations.