INFLUENCE DE LA SUPPLÉMENTATION EN ACIDES AMINÉS SOUFRÉS D'UN ALIMENT D'ALLAITEMENT SUR L'AMINO-ACIDÉMIE ESTIMATION DU BESOIN EN MÉTHIONINE DU VEAU PRÉ-RUMINANT

P. PATUREAU-MIRAND, J. PRUGNAUD et R. PION

avec la collaboration technique de Françoise BARRÉ,
Marie-Claude VALLUY, A. SELLE et M. SALLAS

*Laboratoire d'Étude des Métabolismes,
Centre de Recherches de Clermont-Ferrand, I. N. R. A.,
Theix, 63110 Beaumont*

RÉSUMÉ

Afin d'estimer le besoin du Veau pré-ruminant en acides aminés soufrés, nous avons étudié l'influence de la supplémentation d'un aliment d'allaitement par ces acides aminés sur l'acido-aminémie jugulaire du Veau. Au cours de l'expérience 1, chacun des 6 veaux recevait pendant des périodes successives de 10 jours l'un des 6 régimes à base de poudre de lait enrichie en lysine, thréonine et dont les teneurs en méthionine et cystine (g pour 100 g de matières azotées) étaient respectivement de : 3,5 et 0,9 ; 3,5 et 1,5 ; 3,5 et 2,0 ; 4,5 et 0,9 ; 4,5 et 1,5 ; 4,5 et 2,0. Au cours de l'expérience 2, chacun des 6 veaux, recevait pendant des périodes de 14 jours, l'un des 3 régimes à base de poudre de lait enrichie en lysine, thréonine et arginine dont les teneurs en méthionine et cystine (g pour 100 g de matières azotées) étaient respectivement de : 2,6 et 3,0 ; 3,0 et 3,0 ; 3,5 et 3,0.

L'augmentation de l'apport de méthionine a entraîné une augmentation de la méthioninémie. Celle-ci devenait très élevée lorsque les régimes contenaient plus de 9,05 g de méthionine par kg de poudre. L'évolution de la méthioninémie était en relation particulièrement étroite avec la quantité de DL-méthionine synthétique ajoutée ingérée. La supplémentation par des doses croissantes de cystine n'a eu aucune influence sur les paramètres que nous avons étudiés. Le besoin en méthionine du Veau pré-ruminant serait voisin de 0,9 g pour 100 g d'aliment c'est-à-dire de 3,5 g pour 100 g de matières azotées d'un aliment contenant au moins 0,9 g de cystine pour 100 g de matières azotées. Lorsque la teneur du régime en méthionine était de 4,5 g pour 100 g de matières azotées, on observait une augmentation de la concentration en la plupart des acides aminés. Cela pourrait refléter l'effet de l'ingestion d'un excès de méthionine sur les glandes cortico-surrénales.

INTRODUCTION

La part des protéines de lait dans les aliments d'allaitement semble devoir diminuer au profit de celle d'autres protéines, moins chères. Or, le Veau pré-ruminant est sensible à la qualité des protéines alimentaires (BLAXTER et WOOD, 1952). D'une façon générale, les matières azotées susceptibles d'être utilisées dans les aliments d'allaitement sont pauvres en acides aminés soufrés, mais il est possible d'en envisager la supplémentation par de la DL-méthionine dont le prix n'est pas excessif. C'est ainsi qu'ODORICO (1969) et ROBERT (1971) ont mis en évidence l'intérêt d'une supplémentation des protéines de lait par de la DL-méthionine, que PORTER et HILL (1964) ont montré que la supplémentation par la méthionine améliorait les performances de veaux recevant un régime à base de protéines de soja. Les acides aminés soufrés semblent donc être un facteur limitant de l'efficacité des aliments d'allaitement classiques et c'est pourquoi nous nous sommes attachés à la détermination du besoin du Veau pré-ruminant en ces composés. Ce besoin a déjà été étudié chez d'autres espèces et semble se situer entre 5 g et 7 g p. 100 g de matières azotées alimentaires chez le Rat en croissance et entre 3,0 et 3,5 g chez le Porc en croissance (FAUCONNEAU, 1967). De plus, depuis les travaux de WOMACK, KEMMERER et ROSE (1937), nous savons que l'acide aminé soufré indispensable est la méthionine. Celle-ci, par une réaction de trans-sulfuration irréversible chez les animaux supérieurs, peut se transformer en cystéine puis en cystine (TARVER et SCHMIDT, 1939 ; DU VIGNEAUD BROWN et CHANDLER, 1942). Le besoin en méthionine dépend donc de l'apport de cystine dans le régime. Ainsi, RAO *et al.* (1961) ont montré que le besoin en acides aminés soufrés pour la croissance du Rat était de 5 g p. 100 g de matières azotées et que le besoin pouvait être satisfait soit par l'apport de 5 g de méthionine soit par l'apport de 5 g d'un mélange de méthionine et de cystine dans lequel la part minimale de la méthionine était de 32 p. 100.

Mc LAUGHLAN et ILLMAN (1967), PAWLAK et PION (1968 *a*), STOCKLAND *et al.* (1970) chez le Rat, MITCHELL *et al.* (1968 *b*) chez le Porc, YOUNG *et al.* (1971) chez l'Homme ont montré que l'on pouvait estimer le besoin en un acide aminé indispensable en suivant l'évolution de la concentration en cet acide aminé sous forme libre dans le sang ou le plasma lorsque l'animal ingère des régimes supplémentés par des doses croissantes de cet acide aminé. La présence d'un excès d'un acide aminé dans la ration entraîne, au moins pour certains acides aminés, une augmentation importante de la concentration en cet acide aminé dans le sang. C'est donc en étudiant la concentration en acides aminés libres du sang de veaux recevant des régimes différant par leur teneur en méthionine et en cystine que nous avons tenté de déterminer le besoin en acides aminés soufrés du Veau pré-ruminant. Cette technique que complète l'étude de la croissance et de la consommation, a l'avantage de nous donner des informations sur le métabolisme des acides aminés étudiés et sur celui des autres acides aminés.

MATÉRIEL, ET MÉTHODES

Les travaux rapportés dans cette publication représentent les résultats de 2 expériences complémentaires.

1. — Animaux

Dans les deux expériences, nous avons travaillé avec 6 veaux mâles de la race *Française Frisonne Pie Noire* âgés d'environ 2 à 3 semaines en début d'expérience. Les animaux étaient logés en cases individuelles sur caillebotis dans un local dont la température était maintenue constante à 19°C et dont l'hygrométrie était voisine de 65 p. 100.

2. — Régimes

L'aliment de base (TOULLEC, communication personnelle) était essentiellement constitué de poudre de lait écrémé Spray, réengraissée par du suif (tabl. 1). Cet aliment de base a été supplémenté par 0,1 p. 100 de lysine et 0,06 p. 100 de thréonine, et en outre, lors de la deuxième expérience, par 0,35 p. 100 d'arginine.

TABLEAU I

Composition de l'aliment de base
(p. 100 g de poudre)

	%
Poudre de lait écrémé Spray	66
Suif	22
Glucose	4
Amidon cru	3
Amidon prégélifié	3
Saccharo-glycérides	0,7
BHT	0,02

Mélange minéral et vitaminique dont la composition pour 100 kg de poudre est la suivante :

Chlorure de magnésium : $MgCl_2$, 6 H_2O	200 g	Vitamine B ₆	720 mg
Chlorure de zinc	0,4 g	Vitamine B ₁₂	5 mg
Chlorate de cobalt	0,06 g	Acide pantothénique	220 mg
Sulfate de manganèse	0,4 g	Acide nicotinique	220 mg
Iodure de potassium	0,8 g	Acide folique	100 mg
Vitamine A	1 200 000 UI	Acide para-amino-benzoïque	990 mg
Vitamine D ₃	600 000 UI	Biotine	75 mg
Vitamine E	10 g	Chlorure de choline	180 g
Vitamine K	200 mg	Vitamine C	10 g
Vitamine B ₁	640 mg	Furoxone à 10 p. 100 de furazolidone .	50 g
Vitamine B ₂	300 mg	Chlortétracycline	6 g

Teneur en énergie brute (valeur calculée) : 510 kcal.

Teneur en matières azotées : $(N \times 6,25)$ $\left\{ \begin{array}{l} 25,9 \text{ g (Expérience 1).} \\ 24,2 \text{ g (Expérience 2).} \end{array} \right.$

Ces supplémentations ont été calculées pour éviter tout risque de carence secondaire en ces acides aminés. Nous avons en effet constaté dans une expérience précédente que les concentrations en ces 3 acides aminés dans le sang de veaux nourris au lait étaient relativement faibles.

Les régimes expérimentaux ont été réalisés par addition à l'aliment de base supplémenté en lysine, thréonine et éventuellement en arginine, de différentes quantités d'acides aminés soufrés de façon à obtenir les compositions rapportées dans le tableau 2.

TABLEAU 2

Schéma expérimental : répartition des veaux ou des lots en fonction du régime et de la période

Expériences		1*						2**		
Régimes		1	2	3	4	5	6	7	8	9
Teneur du régime en acides aminés soufrés (g p. 100 g MA)	Méthionine	3,5	3,5	3,5	4,5	4,5	4,5	2,6	3,0	3,5
	Cystine	0,9	1,5	2,0	0,9	1,5	2,0	3,0	3,0	3,0
Périodes	I	A	B	C	D	E	F	A'		B'
	II	F	A	B	C	E	E		A'B'	
	III	E	F	A	B	C	D	B'		A'
	IV	D	E	F	A	B	C		A'B'	
	V							A'		B'

* Expérience 1 : A, B, C, D, E, F correspondent à chacun des 6 veaux.

** Expérience 2 : A' B' correspondent à chacun des 2 lots de 3 veaux.

TABLEAU 3

Plan de rationnement au cours des périodes expérimentales

Expériences		1				2				
Périodes		I	II	III	IV	I	II	III	IV	V
Quantité de poudre distribuée par jour (g par kg ^{0,73})		55	60	60	67	55	60	67	67	67
Quantité de poudre par kg d'aliment servi (g)		120	130	130	140	120	130	140	150	160

Les régimes expérimentaux étaient préparés en début de période pour toute la période expérimentale. À la quantité d'aliment de base nécessaire à chacun des repas, nous ajoutions une quantité convenable du prémélange d'acides aminés caractéristique de chacun des régimes. Les sacs de polyéthylène contenant l'aliment ainsi supplémenté étaient conservés à + 4°C en attendant d'être utilisés. Le lait était reconstitué par addition d'eau à 40°C environ aux régimes expérimentaux dans les proportions rapportées dans le tableau 3.

Le plan de rationnement (tabl. 3) pendant les périodes expérimentales a été établi à partir de celui indiqué par TOULLEC et MATHIEU (1971). Il tient compte de l'âge et du poids métabolique des animaux. Les veaux recevaient 2 repas par jour.

3. — Schéma expérimental

Les six régimes de l'expérience 1 devaient être distribués, au cours de 6 périodes de 10 jours à chacun des 6 veaux (A à F), de la façon décrite dans le tableau 2. Nous avons cependant dû arrêter l'expérience à la quatrième période, l'état sanitaire des animaux n'étant plus satisfaisant au cours de la cinquième période.

Dans l'expérience 2, nous avons constitué 2 lots (A' et B'), de trois veaux d'un poids moyen de 53,0 kg et 53,6 kg respectivement. Les animaux de chaque lot recevaient pendant chacune des 5 périodes de 14 jours, un des 3 régimes (7, 8 ou 9) selon le protocole défini dans le tableau 2.

4. — Mesures et techniques analytiques

Critères zootechniques.

Les animaux étaient pesés au début de chaque période, le matin avant le repas. Nous avons de plus, enregistré la consommation journalière de chacun des veaux.

Paramètres sanguins.

Les prélèvements de sang jugulaire étaient effectués les deux derniers jours de chaque période expérimentale, en 2 fois, 4 et 5 heures après le repas du matin. Pour les analyses, nous avons choisi, dans la mesure du possible, les échantillons correspondant au jour où les refus au cours du repas du matin avaient été les moins importants. Les échantillons de sang destinés à l'analyse des acides aminés libres étaient recueillis dans l'alcool 95° froid additionné de 2 p. 100 de thiodiglycol. Les acides aminés libres étaient extraits par l'alcool 82° contenant 2 p. 100 de thiodiglycol. Les extraits alcooliques étaient purifiés sur résine échangeuse de cations (Amberlite IR 120). Les acides aminés des échantillons purifiés étaient séparés par chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions (PAWLAK et PION, 1968 *b*) selon une version accélérée de la méthode de MOORE, SPACKMAN et STEIN (1958). L'urée était dosée dans le sang total par colorimétrie selon la méthode à la diacétyl monoxime, après défécation à l'acide trichloracétique 2,5 p. 100. L'hématocrite était mesuré à la fin de chaque période de l'expérience 2 afin d'estimer l'état d'anémie des veaux. Lorsque l'hématocrite était inférieur à 23, nous avons procédé à des injections intramusculaires de fer pour éviter l'apparition d'anémies prononcées, comme nous en avons observées au cours des cinquième et sixième périodes de l'expérience 1.

RÉSULTATS

1. — Croissance et consommation (tabl. 4 et 5)

Les vitesses de croissance ont été dans l'ensemble satisfaisantes. Dans l'expérience 1, les animaux recevant des régimes riches en méthionine (régimes 4, 5, et 6) ont eu des vitesses de croissance non significativement différentes de celles des veaux

TABLEAU 4

Vitesse de croissance (g/j)

Expériences		1		2		
Régimes		1 2 3	4 5 6	7	8	9
Périodes	I	733	866	914	$\left\{ \begin{array}{l} 1\ 123\ a \\ 1\ 047\ b \end{array} \right.$	699
	II	1 163	1 100			
	III	1 080	1 177	1 118	$\left\{ \begin{array}{l} 1\ 114\ a \\ 1\ 219\ b \end{array} \right.$	1 171
	IV	1 280	1 360			
	V			1 209		1 090
Moyenne		1 064	1 125	1 080	1 125	986

a : Lot A'.

b : Lot B'.

nourris avec des régimes moins supplémentés en méthionine (régimes 1, 2, 3). Dans l'expérience 2, les résultats nous indiquent que les lots n'avaient pas exactement la même vitesse de croissance ; celle du lot B'était inférieure de 100 g/j environ à celle du lot A' (bien que de façon non significative).

TABLEAU 5
Niveau de consommation
(g de poudre par jour)

Expériences		1		2		
Régimes		1 2 3	4 5 6	7	8	9
Périodes	I	1 137	1 071	1 123	$\left\{ \begin{array}{l} 1\ 490\ a \\ 1\ 371\ b \end{array} \right.$	969
	II	1 460	1 384			
	III	1 531	1 586	1 716	$\left\{ \begin{array}{l} 1\ 841\ a \\ 1\ 879\ b \end{array} \right.$	1 603
	IV	1 717	1 917			
	V			2 023		1 990
Moyenne		1 461	1 489	1 621	1 645	1 520

a : Lot A'.
b : Lot B'.

Les consommations ont évolué de façon similaire aux vitesses de croissance et les indices de consommation sont extrêmement voisins d'un régime à l'autre et peu différents de 1,35 dans l'expérience 1 et de 1,50 dans l'expérience 2.

2. — *Urémie* (tabl. 6)

Elle est très basse, notamment pendant la première période. De plus, dans les 2 expériences, les animaux recevant les régimes les moins riches en méthionine ont

TABLEAU 6
Urémie
(mg p. 100 g de sang)

Expériences		2			1	
Régimes		7	8	9	1 2 3	4 5 6
Périodes	I	12,0		14,1	11,8	16,6
	II		19,0		15,6	17,0
	III	23,3		22,1	19,1	17,4
	IV		22,1		22,3	21,0
	V	21,4		20,5		

les urémies les plus basses, surtout au cours de la première période. Les suppléments en cystine n'ont aucun effet sur l'urémie. L'urémie augmente avec l'âge.

3. — Amino-acidémie

Méthionine.

La concentration sanguine en méthionine libre augmente lorsque la quantité de méthionine ingérée par unité de poids métabolique varie dans le même sens (fig. 1). Sur les figures 2 et 3, en coordonnées semi-logarithmiques, il apparaît que la courbe de l'évolution de la teneur en méthionine libre du sang en fonction des quantités de méthionine ingérées est d'allure exponentielle. La méthioni-

FIG. 1

□ expérience 1
● expérience 2

némie dépend très étroitement de la quantité de DL-méthionine synthétique ajoutée et ingérée par unité de poids métabolique et par jour (fig. 2). Le coefficient de corrélation ($r = 0,97$) qui existe entre ces 2 groupes de données est significativement différent ($P < 0,05$) de celui ($r = 0,94$) qui exprime la liaison entre la méthioninémie et la quantité de méthionine totale ingérée par unité de poids métabolique et par jour (fig. 3).

Enfin, les sangs des veaux qui recevaient des régimes supplémentés par la même quantité de méthionine, mais des quantités différentes de cystine (régimes 9, 1, 2, 3

FIG. 2

FIG. 3

TABLEAU 7

Teneurs du régime en acides aminés soufrés (g pour 100 g de matières azotées)
et teneurs du sang en méthionine, en acides aminés indispensables*
et en acides aminés non indispensables (mg p. 100 g de sang)
(moyenne $\pm$ écart type S_x)

Régimes	7	8	1	2	3	9	4	5	6
Méthionine.....	2,6	3,0	3,5	3,5	3,5	3,5	4,5	4,5	4,5
Cystine	3,0	3,0	0,9	1,5	2,0	3,0	0,9	1,5	2,0
Acides aminés soufrés	5,6	6,0	4,4	5,0	5,5	6,5	5,4	6,0	6,5
Nombre d'échantillons	9	12	4	4	4	9	4	4	4
Méthionine	0,77 $\pm$ 0,1	1,28 $\pm$ 0,5	2,73 $\pm$ 0,8	2,57 $\pm$ 0,6	2,63 $\pm$ 0,8	2,20 $\pm$ 0,8	10,89 $\pm$ 2,2	11,04 $\pm$ 2,7	10,06 $\pm$ 2,2
Autres acides aminés indispensables*	15,3 $\pm$ 1,9	17,4 $\pm$ 2,1	17,0 $\pm$ 2,8	18,3 $\pm$ 2,5	16,4 $\pm$ 2,3	15,5 $\pm$ 2,1	16,9 $\pm$ 1,8	15,7 $\pm$ 1,3	17,7 $\pm$ 2,8
Acides aminés non in- dispensables	14,1 $\pm$ 1,5	16,6 $\pm$ 1,9	17,1 $\pm$ 2,6	17,6 $\pm$ 1,5	15,8 $\pm$ 0,8	15,2 $\pm$ 1,5	22,3 $\pm$ 2,3	22,1 $\pm$ 0,9	20,7 $\pm$ 1,5

* Somme des concentrations en : thréonine, valine, isoleucine, leucine, tyrosine, phénylalanine, lysine, arginine et histidine.

ou 4, 5, 6), ont des teneurs voisines en méthionine libre (tabl. 7). Il semblerait donc que la teneur du sang en méthionine libre soit indépendante du niveau des suppléments en cystine que nous avons effectués. C'est ce qui explique que chez les veaux recevant des régimes dont la teneur en acides aminés soufrés est comparable (régimes 7, 3 et 4 ou régimes 8 et 5 ou régimes 9 et 6), la méthioninémie puisse être extrêmement différente selon la teneur en méthionine de la ration.

Les variations de la méthioninémie en fonction de la quantité de méthionine ingérée nous permettent alors de préciser le besoin du Veau pré-ruminant en cet acide aminé. En effet, on peut schématiquement décomposer l'augmentation exponentielle de la méthioninémie en deux phases (fig. 1). Lorsque la quantité de méthionine ingérée reste inférieure à $0,58 \text{ g/kg}^{0,73/j}$, la méthioninémie augmente relativement lentement. Si la quantité de méthionine ingérée est supérieure, l'accumulation est beaucoup plus prononcée. Donc, à l'ingestion journalière de $0,58 \text{ g}$ de méthionine par unité de poids métabolique semble correspondre une utilisation optimale de la méthionine alimentaire avec les animaux et les régimes étudiés.

Autres acides aminés.

Cystine.

Nous n'avons pas extrait des quantités mesurables de cystine libre du sang des veaux, même lorsqu'ils recevaient des régimes fortement supplémentés.

Cystathionine.

Une des particularités de l'aminogramme du sang de Veau est la présence d'un petit pic de cystathionine. Les teneurs en cystathionine qui semblent assez peu variables n'ont pu être mesurées avec précision.

Acides aminés indispensables.

Nous avons considéré comme indispensables pour le Veau pré-ruminant tous les acides aminés qui le sont pour le Rat en croissance.

Les variations de la somme des concentrations en acides aminés indispensables sont peu importantes (tabl. 7). Cependant, les teneurs en acides aminés aromatiques, thréonine et dans une certaine mesure lysine et histidine ont tendance à être plus élevées dans le sang des veaux consommant les régimes les plus riches en méthionine, alors que les concentrations des acides aminés à chaîne ramifiée varient très peu (tabl. 8).

Les différents niveaux de supplémentation en cystine n'ont eu aucune influence notable sur les concentrations sanguines des autres acides aminés indispensables, comme le montrent les écarts-types relativement constants des résultats, qu'ils correspondent à un ou plusieurs régimes plus ou moins enrichis en cystine (tabl. 8).

Le rapport des teneurs sanguines en tyrosine à celles en phénylalanine est relativement constant et voisin de 1,43.

Les concentrations du sang en arginine pendant les expériences 1 et 2, étaient respectivement de $1,6 \pm 0,6$ et $2,0 \pm 0,3 \text{ mg}$ pour 100 g de sang. Cette différence significative ($P < 0,01$) reflète la différence de composition des régimes de base.

Acides aminés non indispensables.

Sur le tableau 7, on voit que la concentration en acides aminés non indispensables du sang s'élève lorsque la teneur du régime en méthionine augmente.

Cette élévation est le reflet de l'augmentation plus ou moins importante de la concentration des divers acides aminés non indispensables dans le sang.

Cela est particulièrement net dans le cas de la glutamine (+ asparagine), un peu moins avec la proline, la sérine et la glycine (tabl. 8). Par contre, nous obser-

TABLEAU 8

*Teneur du sang de veau (mg p. 100 g de sang)
en certains acides aminés libres
(moyenne $\pm$ écart type S_x)*

Régimes	7	8	9, 1, 2, 3	4, 5, 6	Degré de signification ⁽²⁾
Teneur des régimes en méthionine (g p. 100 MA)	2,6	3,0	3,5	4,5	
Nombre d'échantillons	9	12	21	12	
Thréonine	1,31 $\pm$ 0,16	1,48 $\pm$ 0,18	1,50 $\pm$ 0,27	1,84 $\pm$ 0,23	**
Ac. aminés aromatiques ..	2,12 $\pm$ 0,34	2,49 $\pm$ 0,38	2,39 $\pm$ 0,40	2,71 $\pm$ 0,33	**
Lysine	2,25 $\pm$ 0,41	2,63 $\pm$ 0,28	2,62 $\pm$ 0,43	2,75 $\pm$ 0,40	*
Histidine	1,79 $\pm$ 0,31	2,06 $\pm$ 0,33	2,03 $\pm$ 0,28	2,18 $\pm$ 0,30	*
Valine	2,88 $\pm$ 0,69	3,02 $\pm$ 0,52	2,77 $\pm$ 0,43	2,79 $\pm$ 0,62	NS
Isoleucine	1,28 $\pm$ 0,25	1,40 $\pm$ 0,27	1,26 $\pm$ 0,19	1,16 $\pm$ 0,30	NS
Leucine	1,98 $\pm$ 0,44	2,15 $\pm$ 0,43	1,98 $\pm$ 0,29	1,97 $\pm$ 0,48	NS
Sérine	1,27 $\pm$ 0,23	1,43 $\pm$ 0,22	1,28 $\pm$ 0,16	1,65 $\pm$ 0,34	*
Glycine	2,61 $\pm$ 0,30	2,86 $\pm$ 0,40	2,58 $\pm$ 0,37	2,89 $\pm$ 0,35	NS
Glutamine					
(+ Asparagine ⁽¹⁾)	2,00 $\pm$ 0,55	2,47 $\pm$ 0,46	3,05 $\pm$ 1,16	4,44 $\pm$ 0,75	**
Acide glutamique	2,12 $\pm$ 0,47	2,17 $\pm$ 0,55	2,17 $\pm$ 0,42	2,42 $\pm$ 0,41	NS
Alanine	2,01 $\pm$ 0,31	2,48 $\pm$ 0,49	2,25 $\pm$ 0,51	2,76 $\pm$ 0,51	**
Proline	1,81 $\pm$ 0,53	1,95 $\pm$ 0,31	1,92 $\pm$ 0,38	2,52 $\pm$ 0,30	**
Citrulline + Ornithine ..	2,15 $\pm$ 0,51	2,95 $\pm$ 0,64	2,51 $\pm$ 0,45	2,42 $\pm$ 0,34	NS

(¹) Résultats exprimés en mg de glutamine.

(²) Degré de signification statistique des différences entre les régimes 7 et 4, 5, 6 :

**P < 0,01 *P < 0,05.

vons une légère diminution de la somme des concentrations en acides aminés non indispensables lorsque dans le régime le taux de cystine augmente, celui de la méthionine restant constant.

DISCUSSION

I. — Animaux

De façon à minimiser les risques d'accidents sanitaires, nous avons travaillé sur des animaux qui étaient déjà assez lourds en début d'expérience (52,7 kg). En fait, l'état sanitaire des animaux a été satisfaisant. C'est seulement au cours de la

cinquième période de l'expérience 1 que nous avons constaté des diarrhées fréquentes, une baisse de la consommation et du gain de poids moyen journalier. Cela nous a conduit à supprimer la cinquième et la sixième période de l'expérience 1.

2. — Régimes

L'addition de quantités variables d'acides aminés selon le régime n'a entraîné que des variations du taux protéique des régimes inférieures à 2 p. 100. Par contre, l'écart est plus important entre le taux protéique moyen des régimes expérimentaux de l'expérience 1 (26,4 p. 100 de la poudre) et celui des régimes expérimentaux de l'expérience 2 (24,5 p. 100 de la poudre). Cela est une conséquence de la différence de composition des aliments de base (tabl. 1). Cependant, nous ne pensons pas que cela ait eu une importance considérable sur les résultats.

3. — Prélèvements

Nous avons choisi les modalités de prélèvement de sang en fonction des résultats de l'étude des variations de l'aminoacidémie du Veau pré-ruminant après le repas (PATUREAU-MIRAND, PRUGNAUD et PION, 1971). Lorsque nous prélevons 4 et 5 heures après le repas, l'aminoacidémie tend vers un maximum. De plus, le fait de prélever en 2 temps limite les effets de la variabilité importante de la vidange de la caillette.

4. — Traitement des échantillons

Le sang est recueilli dans l'éthanol 95° froid de façon à fixer immédiatement les échantillons. L'alcool est additionné de 2 p. 100 de thiodiglycol afin de protéger de l'oxydation les acides aminés soufrés (PION, PRUGNAUD et RÉRAT, 1970). L'analyse porte sur le sang total pour les mêmes raisons que celles développées par PION, FAUCONNEAU et RÉRAT (1964).

L'absence de cystine en quantité mesurable dans nos échantillons purifiés ne semble pas être due à la technique de purification puisque l'on retrouve quantitativement la surcharge de cystine ajoutée à un échantillon de sang. Il se pourrait que les quantités de cystine libre dans le sang soient très faibles, notamment parce que la cystine circulante se trouverait liée à des protéines sanguines et ne serait pas extraite par l'éthanol.

5. — Protocole

Il importe de savoir s'il y a eu un effet du régime de la période précédente sur les paramètres sanguins observés pendant la période en cours.

Pour cela, nous avons comparé (tabl. 9) l'effet sur la méthioninémie des teneurs en méthionine des régimes consommés au cours de la période qui précède celle du prélèvement. Dans aucun cas, nous n'observons de différence. Cependant, la méthioninémie est plus faible au cours de la première période que pendant les périodes ultérieures, aussi bien pour les animaux recevant les régimes les plus supplémentés (régimes 4, 5, 6) que ceux qui le sont moins (régimes 1, 2, 3) (tabl. 9). Il se pourrait que cela soit la conséquence d'une consommation de méthionine par jour et par kg de poids métabolique inférieure de 12 p. 100 pendant cette période à celle des autres

périodes. Cela est peut être aussi à relier aux besoins sans doute plus élevés des très jeunes animaux ou au fait qu'avant la première période, l'aliment distribué n'était pas supplémenté.

Dans l'expérience 2, pour mieux maîtriser ce facteur, nous avons allongé les périodes expérimentales de 10 à 14 jours et prévu 2 périodes (périodes II et IV) pendant lesquelles les animaux recevaient le même régime (régime 8) dont la teneur en méthionine est supérieure ou inférieure à celle des régimes 7 et 9 qui étaient consommés pendant la période précédant celle du prélèvement (tabl. 9).

TABLEAU 9

Influence du niveau de supplémentation pendant la période précédente sur la méthioninémie pendant la période en cours

(mg p. 100 g de sang)

<i>Expérience : 1</i>				
Régimes pendant la période en cours	1, 2, 3		4, 5, 6	
Régimes pendant la période précédente	1, 2, 3	4, 5, 6	1, 2, 3	4, 5, 6
Nombre d'échantillons Méthioninémie	4 3,02	6 3,03	4 11,47	6 11,53
<i>Expérience : 2</i>				
Régime pendant la période en cours : Régime 8	Période 2		Période 4	
Régimes pendant la période précédente	7	9	7	9
Nombre d'échantillons Méthioninémie	3 1,30	3 1,25	3 1,13	3 1,45

Enfin, sur un animal qui recevait un des régimes riches en méthionine de l'expérience 1 (4,5 g de méthionine pour 100 g de matières azotées), nous avons étudié la cinétique de la décroissance de la teneur du sang en méthionine lorsqu'on arrête la supplémentation. Avant l'arrêt de la supplémentation, la méthioninémie était de 10,48 mg pour 100 g de sang ; trois jours après, elle était de 2,81 mg et 5 jours après, elle était de 0,70 mg, valeur caractéristique de la méthioninémie de veaux nourris avec un lait non supplémenté.

Il ne semble donc pas que dans l'une ou l'autre expérience, il y ait eu influence du traitement de la période précédente sur les résultats de la période en cours.

6. — *Besoin en acides aminés soufrés*

Nous avons estimé que, lorsque l'alimentation permettait une ingestion de méthionine supérieure à 0,58 g/kg^{0,78}, le régime était déséquilibré par excès de méthionine, ce qui se traduisait par une méthioninémie moyenne supérieure à 2,6 mg pour 100 g de sang. Donc, à une méthioninémie moyenne de 2,6 mg correspond la satisfaction du besoin en méthionine des animaux étudiés pour les régimes utilisés.

Si nous considérons l'évolution de la méthioninémie en fonction de la teneur du régime en méthionine (fig. 4 a), nous voyons que celle-ci est optimale lorsque

FIG. 4
(7) régimes

le régime contient 9,05 g de méthionine par kg de poudre. Cela correspond aux régimes 1, 2 et 3. Il semble plus délicat de déterminer l'équilibre le plus favorable entre les acides aminés puisque la méthioninémie varie selon la teneur en matières

azotées des régimes alors que celles-ci ont la même composition en méthionine (3,5 g pour 100 g de matières azotées). En effet, si les veaux consommaient les régimes 1, 2 ou 3, contenant 26,4 p. 100 de matières azotées dont 3,5 p. 100 étaient de la méthionine, les concentrations sanguines en méthionine étaient voisines de 2,6 mg pour 100 g de sang (tabl. 7, fig. 4 b). S'ils consommaient le régime 9 contenant 24,5 p. 100 de matières azotées, mais dont 3,5 p. 100 étaient aussi de la méthionine, les teneurs en méthionine libre du sang n'étaient que de 2,2 mg p. 100 g de sang (tabl. 7, fig. 4 b). Il semblerait donc que dans le cas de tels régimes, contenant au plus 3,5 g de méthionine pour 100 g de matières azotées, il y ait une certaine indépendance entre la teneur de la protéine en méthionine et la méthioninémie. Par contre, il existerait une relation beaucoup plus étroite entre la teneur du régime en méthionine et la méthioninémie (fig. 4 a). Cela pourrait signifier que la légère augmentation de la méthioninémie que l'on observait lorsque les animaux ingéraient moins de 0,58 g de méthionine par unité de poids métabolique et par jour, ne dépend pas du rapport entre les quantités de méthionine et celles des autres acides aminés indispensables ingérés. Cela est à rapprocher des résultats de PAWLAK et PION (1970) qui ont montré que lorsqu'on augmentait dans un aliment le pourcentage de protéines équilibrées en acides aminés, on observait un léger accroissement de la concentration de la plupart des acides aminés indispensables libres dans le sang des rats.

On peut aussi se demander si la vitesse de croissance n'est pas un facteur susceptible de modifier l'évolution de la méthioninémie en fonction de la quantité de méthionine ingérée et donc de modifier notre estimation du besoin. Dans le tableau 10, nous avons regroupé l'ensemble des relations entre ces grandeurs pour différentes vitesses de croissance et périodes. Nous remarquons que si le gain moyen journalier

TABLEAU 10

*Relations entre la méthioninémie (Y) et la quantité de méthionine ingérée (X)
pour différentes vitesses de croissance et périodes*

Vitesse de croissance (g/j)	Périodes	Log Y	Coefficient de corrélation	Nombre d'échantillons	Valeurs des X si Y = 2,6 (g/kg ^{0,73} /j)
Inférieures à 1 000	2, 3, 4, 5	7,837 X — 3,098	0,83	9	0,517
1 000 - 1 100	2, 3, 5	6,776 X — 2,943	0,98	7	0,575
1 100 - 1 200	2, 3, 4	6,532 X — 2,720	0,98	8	0,563
1 200 - 1 300	2, 3, 4	7,111 X — 3,155	0,98	6	0,578
1 300 - 1 400	2, 3, 4	6,691 X — 2,747	0,89	9	0,558
Supérieures à 1 400	4, 5	5,608 X — 2,319	0,99	4	0,584
	1	5,687 X — 2,017	0,91	12	0,523

est compris entre 1 000 et 1 400 g/j, les relations sont comparables. Nous pensons que cela traduit d'une part, l'étroite liaison qui existe entre la vitesse de croissance et la quantité de poudre ingérée et d'autre part la relative constance de la composition du croît chez des animaux de mêmes âges et ayant des vitesses de croissances

assez voisines. Au contraire, si les animaux ont des vitesses de croissance très élevées (supérieures à 1 400 g/j) ou lorsqu'ils sont plus jeunes (période 1), la concentration en méthionine libre dans le sang s'élèverait moins rapidement. Par contre, si les animaux ne sont pas en première période et s'ils ont des vitesses de croissance faibles (inférieures à 1 000 g/j) la méthionine libre du sang tend à s'accumuler plus rapidement. Cependant à une méthioninémie de 2,6 mg pour 100 g de sang correspondent dans tous les cas, des ingestions de méthionine très voisines de 0,58 g/kg^{0,73}/j.

Le besoin du Veau pré-ruminant en méthionine tel que nous l'avons étudié jusqu'à présent serait donc de 0,58 g/kg^{0,73}/j. Il pourrait être satisfait par l'ingestion de régimes analogues à ceux que nous avons utilisés contenant 9,05 g de méthionine par kg de poudre ou 3,5 g de méthionine pour 100 g de matières azotées si le taux protéique de l'aliment est voisin de 26 p. 100.

Lors de leur étude du besoin en méthionine du Porcelet, à l'aide d'une méthode comparable à la nôtre, KEITH *et al.* (1972) obtiennent des résultats semblables. A l'ingestion d'un régime contenant 0,46 p. 100 de méthionine c'est-à-dire 3,6 g de méthionine pour 16 g d'azote), correspondent une teneur en méthionine libre sérique voisine de 2,7 mg pour 100 ml et la satisfaction du besoin en méthionine des porcelets.

Par contre, le besoin du Veau ainsi défini serait nettement inférieur à celui du Rat. L'élévation considérable de la méthioninémie lorsque le régime est enrichi en méthionine a déjà été rapportée par différents auteurs. KLAVINS (1965), SAUBERLICH (1961), SANCHEZ et SWENDSEID (1969), GIRARD, ROBIN et JACQUOT (1968), BENEVENGA et HARPER (1970) chez le Rat, ont montré que lorsque le régime contenait plus de 2 p. 100 de méthionine (ou lorsque la méthionine représentait plus de 12 p. 100 des matières azotées), on observait une augmentation importante de la concentration en méthionine libre du plasma. SNYDERMAN *et al.* (1968) signalent le même phénomène chez l'Enfant. Mais, lorsque des rats recevaient des régimes équilibrés contenant 10 p. 100 de caséine et supplémentés par 0,3 p. 100 de méthionine (BENEVENGA et HARPER, 1970) ou 18 p. 100 de caséine et supplémentés par 0,4 p. 100 de méthionine (GIRARD *et al.*, 1968), ce qui correspond à des régimes dont 5 p. 100 et 4 p. 100 des matières azotées sont de la méthionine, les auteurs observaient des méthioninémies relativement peu élevées, comprises entre 1,3 et 2,1 mg pour 100 g de plasma.

Donc si nous sommes en mesure de préciser quelque peu l'intérêt des suppléments en méthionine des aliments d'allaitement, cela ne nous est pas possible en ce qui concerne la cystine. En effet, aussi bien les paramètres zootechniques que les paramètres biochimiques étudiés n'ont semblé réagir aux suppléments en cystine.

Nous ne pouvons alors faire que deux hypothèses :

— la première est que le besoin en cystine du Veau pré-ruminant est satisfait par l'apport de 0,9 g de cystine et dans ce cas le besoin minimal en méthionine serait supérieur à 70 p. 100 du besoin en acides aminés soufrés. Cela serait quelque peu surprenant, car chez le Rat, RAO *et al.* (1961) ont montré qu'il était de 32 p. 100 tandis que chez le Porc, BAKER *et al.* (1970) et MITCHELL *et al.* (1968 a) ont trouvé qu'il serait compris entre 44 p. 100 et 30 p. 100 selon que pour le déterminer on retenait le critère d'une croissance optimale ou d'un bilan azoté maximal.

— la seconde, que l'étude de l'aminocidémie telle que nous l'avons entreprise est insuffisante pour nous permettre de préciser le besoin en cystine du Veau pré-ruminant.

7. — *Réserves sur l'interprétation de la courbe d'accumulation de la méthionine dans le sang*

Outre l'accumulation de la méthionine dans le sang lorsque les veaux consommaient des régimes relativement peu supplémentés en méthionine, il est un certain nombre d'autres faits qui nous conduisent à nous demander si cette accumulation ne reflète pas aussi certaines particularités du métabolisme de la méthionine chez le jeune Veau :

Méthionine alimentaire libre.

Parce que la méthioninémie est plus étroitement reliée à la quantité de méthionine ajoutée ingérée par jour qu'à la quantité globale de méthionine ingérée par jour, on peut se demander si la méthionine libre du régime n'aurait pas une influence particulière sur la méthioninémie. Il se pourrait que la méthionine libre soit absorbée plus rapidement que la méthionine des protéines de lait dont une fraction importante coagule dans la caillette. La méthioninémie, mesurée 4 et 5 heures après le repas, reflèterait alors essentiellement l'afflux brutal de méthionine libre alimentaire dans le sang.

Nous avons cependant déjà remarqué (PATUREAU-MIRAND, PRUGNAUD et PION, 1971) que la méthioninémie restait élevée après un jeûne de 8 heures (5,33 mg pour 100 g de sang pour un régime apportant 3,95 g de méthionine pour 100 g de matières azotées) et même après un jeûne de 16 heures (résultats obtenus au cours de la 5^e période de l'expérience 1) En outre, selon PION, PRUGNAUD et RÉRAT (1970) chez le Porc, une certaine proportion de la méthionine des protéines de poisson de l'aliment est absorbée dans les mêmes délais que la méthionine libre. De plus, il est possible qu'interviennent deux autres phénomènes pour atténuer les particularités éventuelles du transit de la méthionine ajoutée. D'une part, la méthionine alimentaire libre qui transite avec la fraction soluble de l'aliment se trouve en compétition avec les glucides : glucose et galactose, dont BINGHAM, NEWBY et SMITH (1966) ont montré les effets inhibiteurs sur l'absorption de la méthionine *in vitro*. Cependant, ces auteurs ne retrouvent pas les mêmes effets *in vivo*. D'autre part, PAINE, NEWMAN et TAYLOR (1959) ont montré que chez le Poulet, la vitesse d'absorption de la L-méthionine était 3 fois supérieure à celle de la D-méthionine. Or, nous avons supplémenté avec de la DL-méthionine.

Il ne semblerait donc pas que le fait d'apporter la méthionine des suppléments sous forme libre soit la raison essentielle pour laquelle on observe une liaison particulièrement étroite entre la quantité de méthionine ajoutée aux régimes et la méthioninémie.

Trans-sulfuration.

La présence, anormale chez le Rat ou le Porc, de cystathionine dans le sang des veaux et l'absence d'influence des suppléments en cystine sur la méthioninémie, nous conduisent à penser qu'il se pourrait qu'il y ait chez le jeune Veau

des particularités dans le catabolisme de la méthionine vers la cystine par l'intermédiaire de la cystathionine (DU VIGNEAUD, BROWN et CHANDLER, 1942). Or cette voie peut quantitativement être très importante puisque selon ROSE et WIXOM (1955), environ 90 p. 100 de la méthionine ingérée par un homme adulte est transformée en cystine ou cystéine, cela est confirmé par LASTER *et al.* (1965).

L'existence de cystathionine dans le sang de Veau pourrait indiquer que chez ce jeune bovin, la cystathionase a une faible activité. Cela est peut être à rapprocher des travaux de STURMAN *et al.* (1970) qui ont mis en évidence la présence de quantités anormales de cystathionine dans le foie de fœtus humains, d'enfants prématurés ou même nés à terme. Cette accumulation était associée à l'absence de cystathionase dans le foie des fœtus et des enfants prématurés. L'activité cystathionasique du foie des enfants nés à terme, était encore très faible (14 fois plus faible que celle du foie des adultes). De ces observations, les auteurs tirent l'hypothèse que la cystine pourrait être un acide aminé essentiel pour les enfants prématurés. De plus, cette carence en cystathionase pourrait être responsable de l'hyperméthioninémie rencontrée chez les enfants à qui on donne un régime riche en protéines (HOLT *et al.*, 1968).

Chez les bovins adultes, MUDD *et al.* (1965) ont montré que l'activité de la cystathionase du foie était 30 fois inférieure à celle observée dans le foie du Rat alors que les activités de la méthionine adénosyl-transférase et de la cystathionine synthétase n'étaient respectivement que 4 et 8 fois plus faibles. De plus, les travaux de FINKELSTEIN (1967) qui précédaient chez le Rat ceux de STURMAN *et al.* (1968) nous indiquent que les activités des enzymes de la voie de la trans-sulfuration sont plus faibles dans le foie du Rat de 6 g que dans celui du Rat de 140 g. Il se pourrait donc que, chez le jeune bovin, cette voie du catabolisme de la méthionine qui est aussi celle de la synthèse de la cystine soit peu active.

Une carence de l'aliment en vitamine B₆ pourrait être responsable de la baisse d'activité de la cystathionase (FINKELSTEIN et CHALMERS, 1970). Toutefois, dans notre expérience, les régimes abondamment supplémentés en méthionine contenaient environ 9,85 mg de vitamine B₆ par kg d'aliment, ce qui est voisin du triple du besoin d'un veau de 50 kg ayant une croissance journalière de 500 g (GORRILL, 1972). Le besoin en pyridoxine serait donc largement couvert sauf s'il est accru par les fortes suppléments en méthionine.

L'importance relativement faible de la trans-sulfuration dans le métabolisme de la méthionine serait plutôt une caractéristique de l'âge et de l'espèce des animaux.

Enfin, il se peut que nous observions une accumulation préférentielle de D-méthionine. Celle-ci est peu catabolisée suivant la voie de la cystéine puisque la L-allo-cystathionine résultant de la combinaison de la D-homocystéine et de la L-sérine ne se scinde pas pour donner de la cystéine (ANSLOW et DU VIGNEAUD, 1947, ANSLOW, STAMMONDS et DU VIGNEAUD, 1946). Toutefois WRETLIND et ROSE (1955) ont montré que le Rat utilisait avec sensiblement autant d'efficacité la D-méthionine que la L-méthionine. En fait, l'efficacité des 2 isomères bien que voisine dépendrait cependant du niveau de la supplémentation (ALMQUIST, 1970).

La présence d'anomalies dans le catabolisme de la méthionine vers la cystine expliquerait que le besoin en méthionine du Veau, tel qu'on l'apprécie par l'intermédiaire de la méthioninémie soit relativement bas. De plus, cela nous permet de mieux saisir l'absence de répercussion des suppléments en cystine sur la méthioninémie. En effet, la cystine dont KATO *et al.* (1964) et FINKELSTEIN et

MUDD (1967) ont montré l'action inhibitrice *in vitro* sur la cystathionine synthétase, interviendrait seulement pour ralentir l'activité des enzymes d'une voie métabolique déjà peu active. Enfin, cela impliquerait, chez le Veau, l'existence d'un besoin spécifique en cystine.

8. — Relation entre la méthionine et les autres acides aminés libres du sang

Contrairement aux résultats de KLAVINS (1968), BENEVENGA et HARPER (1970) et en accord avec ceux de GIRARD *et al.* (1968) chez le Rat nous n'avons pas noté de diminution de la teneur du sang en glycine et en sérine, lorsque les veaux consommaient les régimes les plus riches en méthionine. Cela pourrait peut-être signifier qu'une des voies du catabolisme de la méthionine est moins active que chez le Rat. En effet, chez cet animal BENEVENGA et HARPER (1970) ont montré que l'addition de 3 p. 100 de glycine ou de 4,2 p. 100 de sérine à un régime contenant 10 p. 100 de caséine et supplémenté par 3 p. 100 de méthionine faisait baisser la méthioninémie et que simultanément, il y avait un catabolisme oxydatif plus intense de la méthionine.

L'ingestion de quantités importantes de méthionine ou de leucine provoque une augmentation de la quantité de corticostérone du sang (MUNRO et MUKERJI, 1962 ; MUNRO *et al.*, 1965 ; PERETIANU, 1968). Or, sous l'action des corticostéroïdes, il y a augmentation du pool des acides aminés libres du muscle par ralentissement de la synthèse protéique dans ce tissu. Cela s'accompagne d'un afflux des acides aminés libres du muscle vers le foie dont l'activité a été stimulée par la corticostérone (MUNRO, 1970). Comme le lait est très riche en leucine, il se peut que cela ait favorisé la réponse des corticosurrénales aux supplémentations en méthionine. Une augmentation de la concentration en corticostérone du sang lorsque la teneur du régime en méthionine passe de 2,6 g à 4,5 g pour 100 g de matières azotées expliquerait l'élévation de la concentration sanguine de la plupart des acides aminés à l'exception des acides aminés à chaîne ramifiée.

L'aptitude du muscle à cataboliser les acides aminés à chaîne ramifiée (MIMURA *et al.*, 1968) pourrait rendre compte du comportement particulier de ces composés. De plus, WELLERS *et al.* (1971) ont montré chez des rats traités par des doses physiologiques de cortisone que le catabolisme *in vivo* de la valine libre était 1,75 fois plus intense que chez les témoins.

Enfin, les urémies relativement élevées des veaux recevant les régimes les plus riches en méthionine pourraient, elles aussi, refléter l'influence de la corticostérone sur le métabolisme azoté des veaux les plus jeunes.

Nous pensons donc qu'un des effets de la supplémentation en méthionine des aliments d'allaitement riches en leucine serait de favoriser la production de corticostérone. Cela pourrait avoir certaines répercussions sur le métabolisme général des animaux. Cette hypothèse devrait pouvoir être vérifiée, notamment par le dosage de la corticostérone sanguine.

CONCLUSION

Malgré les réserves que nous avons pu émettre sur la signification physiologique de la courbe d'accumulation de la méthionine dans le sang, nous avons montré l'intérêt de la technique employée. Elle nous a permis de discuter différents points de

méthodologie, en particulier, l'effet du traitement de la période précédente sur les paramètres étudiés pendant la période en cours. Nous avons dû aussi nous interroger sur les problèmes que soulevait l'utilisation de DL-méthionine libre pour supplé-
menter les aliments d'allaitement. De plus, nous avons vu que le besoin en méthio-
nine du Veau pré-ruminant semblerait être proche de 3,5 g pour 100 g de matières
azotées alimentaires contenant au moins 0,9 g de cystine. Cependant, des études
du métabolisme du soufre de la méthionine sembleraient utiles pour préciser les
relations entre les acides aminés soufrés chez le Veau pré-ruminant ainsi que les
besoins en cystine de cet animal. Enfin, l'étude de la concentration des autres acides
aminés du sang, nous a permis de mettre en évidence un éventuel effet annexe des
supplémentations excessives en méthionine sur le métabolisme du Veau.

Reçu pour publication en décembre 1972.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier M.-M. C. MICHEL qui a bien voulu effectuer les dosages d'urée.

SUMMARY

INFLUENCE OF SULPHUR AMINO ACID SUPPLEMENTATION OF A MILK REPLACER ON BLOOD-FREE AMINO ACID LEVELS METHIONINE REQUIREMENT OF THE PRERUMINANT CALF

Two experiments were carried out to study the effect of sulphur amino acid supplementation on blood-free amino acid levels of the pre-ruminant calf. In experiment 1, six calves (A to F) were fed a practical milk replacer (26,4 p. 100 milk protein) containing 2 graded levels of methionine and 3 graded levels of cystine (diets 1 to 6) during four 10-days feeding periods (tabl. 2). In experiment 2, six calves were assigned to 2 experimental groups (A' and B') on the basis of weight (53,0 kg and 53,6 kg respectively). They were fed a practical milk replacer (24,5 p. 100 milk protein) containing 3 graded levels of methionine during five 14-days feeding periods (tabl. 2). In order to determine uremia and blood-free amino acid contents, jugular blood samples were drawn 4 and 5 hours after the morning meal on the last two days of each period.

The sulphur amino acid supplementation had no significant effect on growth and food intakes (tabl. 4, 5). No effect of the cystine supplementations on blood-free amino acids was noticed. Methioninemia measured at the end of a period resulted from the methionine supplementation level during this period (tabl. 7); it did not depend on the diet fed during the preceding period (tabl. 9). There was a better correlation between the ingested amount of crystalline DL-methionine and blood methionine than between the ingested amount of total methionine and methioninemia (fig. 2,3). There was a large increase of free methionine content in blood when amount of total ingested methionine exceeded 0,58 g/kg $0.73/d$. It may be inferred from this fact that the methionine requirement of our animals seemed to be close to 0,58 g/kg $0.73/d$; that means that the diet should contain 9 g methionine per kg milk replacer powder or 3,5 g methionine p. 16 g N, if protein diet content is 26,4 p. 100. An increase of urea and of most, free amino acids in blood was observed when calves were fed the high methionine diets (diets 4, 5, 6) (tabl. 6, 8). A possible adrenal corticosteroid discharge correlated to this high methionine intake is discussed.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ALMQUIST H. J., 1970. in MUTH O. H., OLDFIELD J. E. *Symposium: Sulfur in nutrition*. AVI publishing Company Inc. Westport Connecticut.
- ANSLOW W. P., SIMMONDS S., DU VIGNEAUD V., 1946. Cités par GREENSTEIN J. P. et WINITZ M., 1961. *Chemistry of the amino acids*, 1, p. 324.
- ANSLOW W. P., DU VIGNEAUD V., 1947. Cités par GREENSTEIN J. P. et WINITZ M., 1961. *Chemistry of the amino acids*, 1, p. 324.
- BAKER D. H., CLAUSING W. W., HARMON B. G., JENSEN A. H., BECKER D. E., 1970. Replacement value of cystine for methionine for the young pig. *J. Anim. Sci.*, **29**, 581-584.
- BENEVENGA N. J., HARPER A. E., 1970. Effect of glycine and serine on methionine metabolism in rats fed diets high in methionine. *J. Nutr.*, **100**, 1205-1214.
- BINGHAM K. J., NEWAY H., SMYTH D. H., 1966. Interaction of sugars and amino acids in intestinal transfer. *Biochim. Biophys. Acta*, **130**, 281-284.
- BLAXTER K. L., WOOD W. A., 1952. The nutrition of the *Ayrshire* calf 7. The biological value of gelatin and of casein when given as the sole source of protein. *Br. J. Nutr.*, **6**, 56-71.
- DU VIGNEAUD V., BROWN G. B., CHANDLER J. P., 1942. Cités par GREENSTEIN J. P. et WINITZ M., 1961. *Chemistry of the amino acids*, 1, p. 323.
- FAUCONNEAU G., 1967. Quelques aspects actuels de la nutrition azotée des animaux monogastriques. *9th Internat. Congr. Anim. Prod.* Oliver and Boyd Edinburg, p. 52.
- FINKELSTEIN J. D., 1967. Methionine metabolism in mammals. Effect of age, diet and hormones on three enzymes of the pathway in rat tissues. *Arch. Biochem. Biophys.*, **122**, 583-590.
- FINKELSTEIN J. D., MUDD S. H., 1967. Trans-sulfuration in mammals. The methionine sparing effect of cystine. *J. Biol. Chem.*, **242**, 873-880.
- FINKELSTEIN J. B., CHALMERS F. T., 1970. Pyridoxine effects on cystathionine synthetase in rat liver. *J. Nutr.*, **100**, 467-469.
- GIRARD A., ROBIN P., JACQUOT R., 1968. Effets d'une surcharge alimentaire de méthionine sur la teneur du plasma en amino-acides libres et en certains de leurs dérivés. Étude sur le rat en croissance. *C. R. Acad. Sci. Paris.*, **266**, D, 2160-2163.
- GORRILL A. D. L., 1972. in CHURCH D. C., *Digestive physiology and nutrition of ruminants*, 3, *Practical nutrition*, p. 97. Oregon state University. Corvallis Oregon.
- GREENSTEIN J. P., WINITZ M., 1961. *Chemistry of the amino acids*, 1, p. 760. John Wiley and Sons, Inc New York.
- HOLT L. E., SNYDERMAN S. E., NORTON P. M., ROITMAN E., 1968. In LEATHER J. H., *Protein nutrition and free amino acid patterns* 272-30 Rutgers. University Press New Brunswick N. J.
- KATO A., MATSUZAKA T., SUDA M., NAKAGAWA H., ISHIZUKA J., 1964. Control mechanism in the rat liver enzyme system converting L-methionine to L-cystine. I. Enzymatic basis for the methionine sparing action of L-cystine. *J. Biochem.*, **55**, 401-409.
- KEITH M. O., CHRISTENSEN D. A., OWEN B. D., 1972. Determination of the methionine requirement of growing pigs using serum free amino acids. *Can. J. Anim. Sci.*, **52**, 163-169.
- KLAVINS J. V., 1965. Pathology of amino acid excess. V. Effect of methionine on free amino acids in serum. *Biochim. Biophys. Acta*, **104**, 554-565.
- LASTER L., MUDD S. H., FINKELSTEIN J. D., IRREVERE F., 1965. Homocystinuria due to cystathionine synthetase deficiency. The metabolism of L-methionine. *J. Clin. Invest.*, **44**, 1708-1718.
- Mc LAUGHLAN J. M., ILLMAN W. I., 1967. Use of free plasma amino acid levels for estimating amino acid requirements of the growing rat. *J. Nutr.*, **93**, 21-24.
- MITCHELL J. R., BECKER D. E., HARMON B. G., NORTON H. W., JENSEN A. H., 1968 a. Some amino acid needs of the young pig fed a semi synthetic diet. *J. Anim. Sci.*, **27**, 1322-1326.
- MITCHELL J. R., BECKER D. E., JENSEN A. H., HARMON B. G., NORTON H. W., 1968 b. Determination of amino acid needs of the young pig by nitrogen balance and plasma free amino acids. *J. Anim. Sci.*, **27**, 1327-1351.
- MIMURA T., YAMADA C., SWENDSEID M. E., 1968. Influence of dietary protein levels and hydrocortisone administration on the branched chain amino acid transaminase in rat tissues. *J. Nutr.*, **95**, 493-498.
- MOORE S., SPACKMAN D. H., STEIN H. W., 1958. Chromatography of amino acids on sulfonated polystyrene resins. *Analyt. Chem.*, **30**, 1185-1190.
- MUDD S. H., FINKELSTEIN J. D., IRREVERE F., LASTER L., 1965. Transsulfuration in mammals. Micro-assays and tissue distributions of three enzymes of the pathway. *J. Biol. Chem.*, **240**, 4382-4392.
- MUNRO H. N., MUKERJI D., 1962. The mechanism by which administration of individual amino acids causes changes in ribonucleic and metabolism of the liver. *Biochem. J.*, **82**, 520-522.

- MUNRO H. N., STEELE M. H., HUTCHINSON W. C., 1965. Action of dietary proteins and amino acids on the adrenal gland. *Brit. J. Nutr.*, **19**, 137-147.
- MUNRO H. N., 1970. Free amino acid pools and their regulation in MUNRO H. N., 1970. *Mammalian Protein metabolism*, **4**, p. 359. Academic Press, N.-Y.
- ODORICO G., 1969. Los amino acids de sintesis en los leches artificiales para cebo de terneros. *Zootecnia*, **18**, 29-38.
- PAINE C. M., NEWMAN N. J., TAYLOR M. W., 1959. Intestinal absorption of methionine and histidine by the chicken. *Am. J. Physiol.*, **197**, 9-12.
- PATUREAU-MIRAND P., PRUGNAUD J., PION R., 1971. Influence de la nature des protéines des aliments d'allaitement sur l'aminocidémie libre du veau pré-ruminant. *X^e Congr. Internat. Zootech.* Versailles.
- PAWLAK M., PION R., 1968 a. Influence de la supplémentation des protéines du blé par des doses croissantes de thréonine sur les teneurs en acides aminés libres du sang total et du muscle du rat en croissance. *C. R. Acad. Sci.*, **266**, D 1993-1995.
- PAWLAK M., PION R., 1968 b. Influence de la supplémentation des protéines du blé par des doses croissantes de lysine sur la teneur en acides aminés libres du sang et du muscle du rat en croissance. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **8**, 517-530.
- PAWLAK M., PION R., 1970. Utilisation des acides aminés du tournesol pour la croissance du rat. Influence du taux protéique de la ration sur les teneurs en acides aminés libres du sang et du muscle. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **10**, 317-322.
- PERETIANU J., 1968. Teneur en corticostérone du sang et des surrénales chez le rat nourri avec un régime contenant un excès en méthionine. *Arch. Sci. Physiol.*, **22**, 441-447.
- PION R., FAUCONNEAU G., RÉRAT A., 1964. Variation de la composition en acides aminés du sang porte au cours de la digestion chez le porc. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **4**, 383-401.
- PION R., PRUGNAUD J., RÉRAT A., 1970. Étude cinétique de la supplémentation de la farine de poisson par la DL-méthionine chez le porc en croissance. *Journées de la Recherche Porcine en France A. F. Z.* **67-73**.
- PORTER J. W. G., HILL W. B., 1964. Nitrogen balance trials with calves given synthetic milk diets. *Ann. Rep. Nat. Inst. Res. Dairying*, p. 124.
- RAO R., NORTON H. W., JOHNSON B. C., 1961. The amino acid composition and nutritive value of proteins. IV. Phenylalanine, tyrosine, methionine and cystine requirements of the growing rat. *J. Nutr.* **73**, 38-42.
- ROBERT J.-C., 1971. Supplémentation en acides aminés des aliments d'allaitement. *Ind. alim. animale*, **6**, 11-28.
- ROSE W. C., WIXOM R. L., 1955. The amino acid requirements of man. XIII. The sparing effect of cystine on the methionine requirement. *J. Biol. Chem.*, **216**, 763-773.
- SANCHEZ A., SWENDSEID M. E., 1969. Amino acid levels and enzyme activity in tissues of rat force-fed diets differing in methionine content. *J. Nutr.*, **99**, 145-151.
- SAUBERLICH H. E., 1961. Studies on the toxicity and antagonism of amino acids for weanling rats. *J. Nutr.*, **75**, 61-72.
- SNYDERMAN S. E., HOLT L. E. Jr., NORTON P. M., ROITMAN E., 1968. In LEATHEM J. H. *Protein nutrition and free amino acid patterns*, 19-31. Rutgers University Press. New Brunswick N. J.
- STURMAN J. A., GAULL G., RAIHA N. C. R., 1970. Absence of cystathionase in human fetal liver : is cystine essential? *Science*, **169**, 174-176.
- TARVER H., SCHMIDT C. L. A., 1939. The conversion of methionine to cystine : experiments with radio-active sulfur. *J. Biol. Chem.*, **130**, 67-80.
- TOULLEC R., MATHIEU C.-M., 1971. Utilisation digestive de matières grasses par le veau pré-ruminant à l'engrais : influence du taux d'incorporation dans les aliments d'allaitement. *Ann. Zootech.*, **20**, 247-250.
- WELLERS G., CHEVAN J., GALENT N., 1971. Influence de la cortisone sur la vitesse de dégradation irréversible *in vivo* de la valine libre. *C. R. Acad. Sci.*, **272**, D 1882-1885.
- WOMACK M., KEMMERER K. S., ROSE W. C., 1937. Cités par GREENSTEIN J. P. et WINITZ M., 1961. *Chemistry of the amino acids*, **1** p. 72.
- WRETTLIND K. A. J., ROSE W. C., 1950. Methionine requirement for growth and utilization of its optical isomers. *J. Biol. Chem.*, **187**, 697-703.
- YOUNG V. R., HUSSEIN M. A., MURRAY E., SCRIMSHAW N. S., 1971. Plasma tryptophan response-curve and its relation to tryptophan requirements in the young adult man. *J. Nutr.*, **101**, 45-60.