



**HAL**  
open science

# Effets d'une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de la gestation des chèvres sur le développement du comportement alimentaire de leur progéniture

Béregère Laporte-Broux

## ► To cite this version:

Béregère Laporte-Broux. Effets d'une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de la gestation des chèvres sur le développement du comportement alimentaire de leur progéniture. Alimentation et Nutrition. AgroParisTech, 2010. Français. NNT : 2010AGPT0086 . pastel-00557557v2

**HAL Id: pastel-00557557**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00557557v2>**

Submitted on 19 Jan 2011

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



## Doctorat ParisTech

# THÈSE

pour obtenir le grade de docteur délivré par

## L'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (AgroParisTech)

**Spécialité : sciences animales**

*présentée et soutenue publiquement par*

**Bérengère LAPORTE-BROUX**

le 14 décembre 2010

## Effets d'une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de la gestation des chèvres sur le développement du comportement alimentaire de leur progéniture

Directeurs de thèse : **Christine DUVAUX-PONTER** et **Pascale CHAVATTE-PALMER**

Co-encadrement de la thèse : **Sabine ROUSSEL** et **Andrew PONTER**

### Jury

**M Dominique DARMAUN**, PU-PH, INRA, Université de Nantes  
**M Hans ERHARD**, Chercheur invité, Macaulay Land Use Research Institute (UK)  
**Mme Pascale CHAVATTE-PALMER**, Directeur de recherche, INRA  
**Mme Nathalie DEBUS**, Ingénieur de recherche, INRA  
**Mme Christine DUVAUX-PONTER**, Professeur, AgroParisTech  
**Mme Bernadette EARLEY**, Principal research officer, Teagasc, Animal Bioscience Center (IRL)

Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur  
Examineur

### Invités

**M Andrew PONTER**, Professeur, ENVA  
**Mme Sabine ROUSSEL**, Maître de conférences, IUT Université Bretagne Occidentale



**Effets d'une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de la gestation des chèvres sur le développement du comportement alimentaire de leur progéniture**

Mots clés : sous-nutrition, comportement alimentaire, chevreau, programmation foetale

**Effects of maternal feed restriction during the last third of pregnancy in goats on feeding behaviour development in offspring**

Keywords: undernutrition, feeding behaviour, goat kid, foetal programming

Bérengère Laporte-Broux

Travail réalisé

Sous la responsabilité scientifique conjointe de

P. Chavatte-Palmer et C. Duvaux-Ponter

UMR INRA-ENVA 1198 Biologie du Développement et Reproduction  
UMR INRA-AgroParisTech 791 Modélisation Systémique Appliquée  
aux Ruminants



## TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	IV
AVANT-PROPOS .....	VII
RESUME .....	VIII
ABSTRACT .....	IX
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX .....	X
LISTE DES ABBREVIATIONS .....	XII
LISTE DES PUBLICATIONS .....	XIII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION GENERALE .....	2
1. <i>CONTEXTE</i> .....	4
2. <i>OBJECTIFS DE LA THESE</i> .....	6
3. <i>GENERALITES SUR L'ALIMENTATION DES RUMINANTS</i> .....	6
3.1. Utilisation de l'énergie par les ruminants.....	6
3.2. Les différents systèmes d'alimentation et les unités utilisées .....	8
3.3. Sous-nutrition ou restriction alimentaire : définitions et choix des termes .....	10
3.4. Comportement alimentaire : définitions, régulations.....	12
4. <i>CONSEQUENCES OF FEED RESTRICTION DURING PREGNANCY ON OFFSPRING DEVELOPMENT IN SMALL RUMINANTS</i> .....	32
5. <i>METHODOLOGIE GENERALE</i> .....	64
5.1. Animaux expérimentaux.....	64
5.2. Restriction alimentaire .....	66
5.3. Suivi des chevreaux.....	69
CHAPITRE 2 RESTRICTED FEEDING OF GOATS DURING THE LAST THIRD OF GESTATION MODIFIES BOTH METABOLIC PARAMETERS AND BEHAVIOUR .....	74
CHAPITRE 3 SHORT TERM EFFECTS OF MATERNAL FEED RESTRICTION DURING PREGNANCY ON GOAT KID MORPHOLOGY, METABOLISM AND BEHAVIOR .....	110
CHAPITRE 4 EFFECTS OF MATERNAL FEED RESTRICTION DURING PREGNANCY ON FEMALE AND MALE GOAT KID MORPHOLOGY, METABOLISM AND BEHAVIOR AROUND WEANING .....	140
CHAPITRE 5 LONG-TERM CONSEQUENCES OF FEED RESTRICTION IN THE GOAT DURING LATE PREGNANCY ON MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND BEHAVIOR OF FEMALE OFFSPRING .....	170

<b>CHAPITRE 6 DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION .....</b>	<b>194</b>
<b>1. RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LE DERNIER TIERS DE GESTATION CHEZ LES CHEVRES .....</b>	<b>196</b>
1.1. Quantifier l'intensité de la restriction .....	196
1.2. Prévenir la toxémie .....	196
1.3. Effets de la restriction alimentaire sur les chèvres gestantes .....	199
1.4. Variabilité de réponse à la restriction alimentaire .....	202
<b>2. RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LA GESTATION ET CONSEQUENCE SUR LA PROGENITURE JUSQU'AU SEVRAGE .....</b>	<b>204</b>
2.1. Méthodologie .....	204
2.2. Effets à court terme de la restriction alimentaire maternelle sur les chevreaux	206
<b>3. EFFETS A LONG TERME DE LA RESTRICTION ALIMENTAIRE MATERNELLE SUR LES CHEVRETTES .....</b>	<b>212</b>
<b>4. RESTRICTION ALIMENTAIRE ET PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES .....</b>	<b>215</b>
<b>5. MODULATION DES EFFETS DE LA RESTRICTION ALIMENTAIRE MATERNELLE SUR LA DESCENDANCE .....</b>	<b>216</b>
5.1. L'environnement pré-natal .....	216
5.2. L'environnement post-natal .....	217
5.3. L'individu .....	220
<b>6. PERSPECTIVES .....</b>	<b>222</b>
6.1. Effets sur le foetus .....	222
6.2. Alimentation et comportement alimentaire .....	223
6.3. Performances zootechniques .....	224
<b>7. CONCLUSIONS .....</b>	<b>227</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>230</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>246</b>

## REMERCIEMENTS

Il me semble important de remercier tous les gens avec qui j'ai travaillé et qui ont contribué à l'aboutissement de ma thèse. Je m'aperçois qu'ils sont très nombreux et je m'excuse d'avance pour les gens que je pourrais oublier.

Je remercie énormément et chaleureusement mes deux directrices de thèse, Christine et Pascale, ainsi que Sabine et Andrew, de m'avoir fait découvrir le ruminant, de sa nutrition à sa physiologie de la reproduction en passant par son comportement. Merci de vos conseils constructifs, de votre disponibilité, de votre gentillesse et de votre rigueur. Je peux maintenant l'avouer, votre souci permanent du détail m'a parfois agacée mais comme l'a dit Léonard de Vinci : « Les détails font la perfection, et la perfection n'est pas un détail. ». Grâce à vous, même le correcteur automatique de Word devient obsolète. Il n'a d'ailleurs pas remarqué le double espace que j'ai laissé alors que je suis sûre que vous l'avez tous vu ! J'ai vraiment apprécié de travailler avec vous, autant du point de vue humain que scientifique.

Je remercie Pascale Boileau et Raymond Nowak de leur participation à mes comités de thèse, pour les idées et discussions instructives.

Je remercie également Messieurs Dominique Darmaun et Hans Erhard d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce travail. Merci à Mesdames Nathalie Debus et Bernadette Earley d'avoir accepté de faire partie du jury. Merci à tous les membres du jury pour les échanges intéressants lors de la soutenance.

Je remercie Monsieur Jean-Paul Renard et Madame Corinne Cotinot, les directeurs successifs de l'UMR BDR de m'avoir accueillie au sein de leur unité. J'ai apprécié les mois passés au centre de Jouy-en-Josas et je remercie tous les collègues de l'unité de leur sympathie.

Michèle, Nicole et Sylvaine, un grand merci pour votre aide technique, vos explications et le temps que vous avez consacré à mes dosages et autres manipulations (déménagements de chambre froide...)! Votre expérience m'a été très précieuse et je garde de bons souvenirs de ces moments, malgré le nombre cauchemardesque de tubes ! Merci à Marie-Christine, pour les coups de main !

Je remercie également le personnel de l'abattoir, Julie Massonneau et Didier Mauchand pour leur participation aux abattages ainsi que Patrice Laigre et Jean-Luc Servely pour les dissections et analyse des résultats. Un merci particulier à Audrey ainsi qu'à Muhammad et Michel Guillomot pour leur aide sur les analyses de surrénales.

Merci également au personnel du CR2I et Delphine Couttenier pour leur aide lors des essais et mesures sur le DXA.



Merci à Aurélie, Damien, Karlla, Olivier Picone, Roselyne, Philippe, Audrey et Nicole (à nouveau !). Vous êtes des compagnons de bureaux agréables, avec qui j'ai apprécié de discuter. Oliviers Picone et Morel, bon courage pour vos soutenances ! Bonne continuation à tous. Merci également à Véronique, notre sympathique voisine de bureau !

Je remercie Daniel Sauvant et Nicolas Friggens, les directeurs successifs de l'UMR MoSAR. Merci pour vos conseils. J'ai également apprécié les mois passés à Grignon et à Paris, dans un univers totalement différent de Jouy. Je remercie tous les gens que j'ai rencontrés et avec qui j'ai travaillé.

Merci à Pierre Morand-Fehr pour son partage de connaissances immenses sur la chèvre.

Merci à Olivier Martin pour son éclaircissement sur les statistiques.

Merci à mes co-thésards, Amélie, Karim, Laurence, Marion, Moussa et Winai, pour vos conseils et nos discussions qui m'ont fait oublier le travail un moment. Bonne continuation à tous et bon courage à Winai pour sa soutenance !

Merci à Françoise pour les dosages, et Pierrette pour les analyses de vidéos et les recherches bibliographiques, votre travail m'a beaucoup aidée. Merci à Christine Ficheux, de l'ENVA, pour les dosages et encore désolée du dérangement un certain 24 décembre... Un grand merci à Ophélie et Marianne pour les dépouillements vidéo efficaces, ils bougent beaucoup ces biquets mais c'est quand même drôle à regarder ! Ophélie, il me semble que j'ai encore quelques heures de vidéos à regarder... en noir et blanc et de mauvaise qualité, bien sûr ... est-ce que...

Un grand merci à Sylvie, quelle mémoire ! Merci d'avoir consacré du temps sur les analyses de cinétiques et la recherche bibliographique.

Merci à mes collègues de bureau, les grignonnais Jean-Luc et Ghislaine, qui résistent encore et toujours au déménagement. Merci pour vos attentions et pour les bonnes odeurs de poulet grillé et de fromage du vendredi ! Merci également aux collègues parisiens, Jacques et ses questions sur la signification de mots imprononçables et au sympathique Morgan. Bienvenue à Hans, vous verrez que travailler dans cette unité est très enrichissant.

Merci aux stagiaires et thésards, Julien, Weethima, Claire et Julie qui se sont intéressés à mon projet et ont participé de façon efficace aux expérimentations. Un merci particulier à Julie pour son travail impressionnant et son aide sur SAS, au plaisir de te revoir !

Un grand merci à l'équipe de la chèvrerie. Votre motivation et votre intérêt pour les expérimentations et les chèvres font du travail un réel plaisir ! Merci à Joseph qui a accédé à toutes nos demandes expérimentales et à son équipe, Alexandra, Anne, Céline,

Gaston, Jean-Paul, Jérôme et Marie de m'avoir transmis vos connaissances et votre savoir-faire. Merci à tous de vos réponses à mes « questions-qui-tuent » du style : « Est-ce que tu te rappelles le 12 janvier 2008, si tu avais mis 8 ou 9 litres de lait dans le seau n°14 ? ».

Merci également aux chèvres et chevreaux grignonnais, qui ont supporté toutes les misères que je leur ai faites. J'ai découvert des animaux sympathiques et incontestablement les champions de l'évasion ! Beaucoup de rigolades et de bons moments. Clin d'œil :



8622. Chèvre gardant sa Chevrière

Et pour finir, merci à toute ma famille, et en particulier Romain et Caroline, merci d'être là, j'apprécie nos rares retrouvailles !

Papa et Maman, je me souviens encore du jour où je revenais du collège et où j'ai annoncé que je voulais devenir éthologue et où Papa m'a dit : « En gros, tu veux faire un métier où il y a un poste tous les 50 ans. ». Je vous suis reconnaissante de m'avoir laissé la liberté de choisir mon avenir et de m'avoir donné les moyens et le soutien pour y arriver. Merci à Yves et Michèle de votre intérêt pour mon travail.

Gabriel, mon cher mari, après le « biberonnage » des abeilles, le « biberonnage » de chevreaux, es-tu d'attaque pour « biberonner » des veaux ? (Je plaisante). Merci d'avoir contribué au succès de mes expériences, merci d'avoir écouté mes longs monologues sur mes problèmes de thésarde, merci pour ton soutien moral, technique et logistique ! Je suis heureuse d'avoir partagé ces moments avec toi et j'espère que nous en partagerons beaucoup d'autres !

Je dédie ce manuscrit à mon grand-père qui m'avait dit qu'il serait fier d'avoir quelqu'un de la famille dans ce métier. Papi, voilà qui est presque fait.

## **AVANT-PROPOS**

Cette thèse a été co-dirigée par Christine DUVAUX-PONTER de l'UMR 791 INRA AgroParisTech Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants (16 rue Claude Bernard, 75231 Paris cedex 05, France) et Pascale CHAVATTE-PALMER de l'UMR 1198 INRA-ENVA Biologie du Développement et Reproduction (Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France). Les travaux ont été effectués au sein de ces deux unités et co-encadrés par Sabine ROUSSEL (UMR MoSAR) et Andrew PONTER (UMR BDR).

## RESUME

Un déficit énergétique en fin de gestation peut avoir des conséquences pathologiques pour la mère. De plus, la croissance et le métabolisme fœtaux peuvent être altérés, entraînant des adaptations physiologiques irréversibles chez la descendance. On parle alors de programmation fœtale.

Chez des chèvres, une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de gestation a entraîné une diminution de leur prise de poids et une augmentation de la mobilisation de leurs réserves corporelles et du temps passé à chercher leur nourriture.

Entre la naissance et 10 semaines, le métabolisme des chevreaux issus des chèvres restreintes a été peu modifié. Ces chevreaux, plus petits et plus légers à la naissance, ont rattrapé leur retard de croissance dès la semaine suivante mais étaient moins gras que les témoins. Aucune modification de leur comportement alimentaire et de leur réactivité émotionnelle n'a été observée. Une interaction entre le sexe de la progéniture et la restriction maternelle n'a pas été systématiquement démontrée.

Sur une période de deux ans, les femelles issues des chèvres restreintes sont restées plus légères et avaient un état corporel réduit par rapport aux témoins. La réactivité de leur axe corticotrope était augmentée, sans modification de leur réactivité émotionnelle. A 12 et 21 mois, leur ingestion spontanée était plus élevée que celle des animaux témoins.

Les effets d'une restriction maternelle pendant la gestation observés à la naissance chez les jeunes chevreaux disparaissent rapidement. Des modifications du comportement alimentaire apparaissent cependant à l'âge adulte.

## **ABSTRACT**

Negative energy balance in late-pregnancy can cause pathological problems to the dams. Moreover, foetal growth and metabolism can be impaired, resulting in permanent physiological adaptations in the offspring. This is called foetal programming.

In goats, feed restriction during the last third of pregnancy reduced weight gain, increased body reserve mobilization and increased the time they spent looking for feed.

Between birth and 10 weeks of age, the metabolism of kids born to feed-restricted dams was only slightly modified. Although smaller and lighter at birth, they caught up the first week after birth but their adipose tissue mass was lower than controls. Feeding behaviour and emotional reactivity were not modified. An interaction between offspring sex and maternal feed restriction was not systematically demonstrated.

Over two years of age, female kids born to feed restricted dams remained lighter and had a lower body condition score than controls. The reactivity of their HPA axis was increased while their emotional reactivity was not modified. At 12 and 21 months of age, spontaneous feed intake was increased compared to controls.

The effects of maternal feed restriction during pregnancy observed in new-born kids quickly disappeared. However, feeding behaviour was modified at adult age.

## LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 1 : Schéma général d'utilisation de l'énergie par les ruminants (Alimentation des Ruminants, INRA, 1978). E : énergie.....	7
Figure 2 : "Russian Doll" situation d'après Schröder (2003). Une sous-nutrition fœtale peut être provoquée à 5 niveaux différents.....	10
Figure 3 : Paramètres permettant de décrire un repas et la relation entre les repas. Les trois éléments de base : nombre de repas par jour, durée d'un repas et quantité ingérée par repas permettent de calculer trois autres critères utilisés pour décrire le comportement alimentaire : temps passé à ingérer par jour, vitesse d'ingestion et quantité ingérée par jour. D'après Nielsen (1999).....	12
Figure 4 : Evolution de l'état physiologique de la chèvre au cours du cycle de production (Gadoud <i>et al.</i> , 1992).....	17
Figure 5 : Schéma de l'appareil digestif de la chèvre (Simiane, 2002).....	18
Figure 6 : Cascade de satiété, d'après Blundell et Halford (1994). Cette cascade décrit l'expression de l'appétit qui inclut comportement alimentaire, métabolisme, physiologie et activité du cerveau. ....	19
Figure 7 : Schéma du cerveau humain et situation de l'hypothalamus. Dans l'encart sont détaillés les noyaux hypothalamiques ayant un rôle dans la prise alimentaire. D'après le site <a href="http://www.servier.fr">http://www.servier.fr</a> .....	24
Figure 8 : Le système catécholaminergique : les stimulations de l'environnement activent le système nerveux sympathique, ce qui aboutit à la libération de noradrénaline par les terminaisons nerveuses sympathiques et d'adrénaline par les medullo-surrénales. D'après le site <a href="http://www.servier.fr">http://www.servier.fr</a> .....	28
Figure 9 : L'axe corticotrope : l'hypothalamus libère de la Cortico-Releasing Hormone (CRH) (ou corticolibérine ou Cortico-Releasing Factor (CRF)) qui stimule la sécrétion d'hormone adénocorticotrope (ACTH). Cette libération d'ACTH dans la circulation stimule la sécrétion de glucocorticoïdes par le cortex surrénalien et notamment du cortisol. Les glucocorticoïdes exercent un rétrocontrôle négatif sur leur production au niveau de l'hypophyse et l'hypothalamus. D'après le site <a href="http://www.servier.fr">http://www.servier.fr</a> .....	29
Figure 10 : Evolution de la capacité d'ingestion, des besoins et des apports énergétiques recommandés au cours du cycle de production chez la chèvre. Source : Gadoud <i>et al.</i> (1992).....	66

Figure 11 : enclos d'élevage des chevreaux en groupe. Une lampe était allumée en continu, permettant de filmer la nuit. Chaque enclos expérimental était équipé de 2 stalles ayant chacune une tétine reliée à un seau posé sur une balance. .... 72

Figure 12: Concentration plasmatique en PSP60 chez les chèvres à 90 jours de gestation (avant la restriction) selon la taille de portée. Chaque losange bleu représente un animal. Les cercles rouges entourant les points correspondent à 3 des 4 chèvres ayant présenté des symptômes de toxémie durant la restriction alimentaire (entre 90 jours de gestation et mise-bas). La quatrième chèvre toxémique est morte avant la mise-bas. .... 198

Figure 13 : Connexions entre les noyaux de l'hypothalamus impliqués dans le comportement alimentaire. Description des liaisons existant chez le rat et chez le mouton. Pour chaque noyau les neuropeptides exprimés chez le mouton sont précisés ainsi que leur rôle dans la régulation de la prise alimentaire. AgRP = Agouti-related peptide,  $\alpha$ -MSH = alpha-melanocyte-stimulating hormone,  $\beta$ -end = beta-endorphine, CART = cocaine-amphetamine regulated transcript, CCK = cholécystokinine, CRH = corticotropin releasing hormone, ENK = enképhalines, MCH = melanin-concentrating hormone, NPY = neuropeptide Y, ORX = orexines, POMC = pro-opiomelanocortine et somato. = somatostatine. .... 250

Tableau 1: Effets de la restriction alimentaire entre 90 jours de gestation et la mise bas (151 jours) chez 23 chèvres par rapport à 25 chèvres témoins (chapitre 2). Les animaux ont reçu 50% de la quantité distribuée aux témoins pendant 4 semaines, puis 60% pendant 1 semaine, 70% pendant 1 semaine et 80% les 2 dernières semaines de la gestation. .... 201

Tableau 2 : Effets à court terme d'une restriction alimentaire pendant la gestation sur les paramètres zootechniques, métaboliques et comportementaux des chevreaux issus de chèvres restreintes par rapport aux témoins. Dans les deux expériences réalisées, les chèvres restreintes ingéraient en moyenne 70% de l'énergie ingérée par les témoins. Dans la première expérience, les chèvres gestantes étaient restreintes entre 90 jours de gestation et la mise-bas tandis que dans la seconde expérience, les chèvres gestantes étaient restreintes de 100 jours de gestation à la mise-bas. .... 208

Tableau 3 : Effets à long terme d'une restriction alimentaire pendant la gestation sur les paramètres zootechniques, métaboliques et comportementaux des chevrettes issues de chèvres restreintes en fin de gestation (n = 15) par rapport aux témoins (n = 17) entre la naissance et 2 ans. Les chèvres gestantes restreintes ont ingéré 70% de l'énergie ingérée par les témoins entre 90 jours de gestation et la mise-bas. .... 214

## LISTE DES ABBREVIATIONS

Sigle français	Sigle anglais (si différent)	Français	Anglais
ACTH		hormone adénocorticotrope	adreno cortico trophic hormone
AGNE	NEFA	acides gras non estérifiés	non esterified fatty acid
AVP		arginine vasopressine	arginine vasopressin
CCK		cholécystokinine	cholecystokinin
CRH		cortico-libérine	cortico-releasing hormone
EM	ME	énergie métabolisable	metabolizable energy
EN	NE	énergie nette	net energy
ENL	NEL	énergie nette lactation	net energy for lactation
GH		hormone de croissance	growth hormone
GIP		peptide inhibiteur gastrique	gastric inhibitory polypeptide or glucose-dependent insulinotropic polypeptide
GLP			glucagon like peptide
	HPA axis	axe corticotrope ou axe hypothalamo-hypophyso- surrénalien	hypothalamic–pituitary– adrenal axis
MS	DM	matière sèche	dry matter
N		azote	nitrogen
NTS		noyau du tractus solitaire	nucleus tractus solitarius
PDI		protéines digestibles dans l'intestin	true protein digested in the small intestine
PM	MP	protéines métabolisables	metabolizable protein
RCIU	IUGR	retard de croissance intra- utérin	intra uterine growth retardation
UF		unité fourragère	
UFL		unité fourragère lait	
UFV		unité fourragère viande	



## LISTE DES PUBLICATIONS

### Publications dans des journaux à comité de lecture

Laporte-Broux, B., Roussel, S., Ponter, A.A., Perault, J., Chavatte-Palmer, P. et Duvaux-Ponter, C. (accepté pour publication). Short term effects of maternal feed restriction during pregnancy on goat kid morphology, metabolism and behavior, *Journal of animal science*.

Laporte-Broux, B., Duvaux-Ponter, C., Roussel, S., Promp, J., Chavatte-Palmer, P. et Ponter, A.A. (sous presse). Restricted feeding of goats during the last third of gestation modifies both metabolic parameters and behaviour, *Livestock science*.

Laporte-Broux, B., Ponter, A.A., Roussel, S., Chavatte-Palmer, P. et Duvaux-Ponter, C. (à soumettre). Effects of maternal feed restriction during pregnancy on female and male goat kid morphology, metabolism and behavior around weaning, *Journal of animal science*.

Laporte-Broux, B., Duvaux-Ponter, C., Roussel, S., Ponter, A.A. et Chavatte-Palmer, P. (à soumettre). Consequences of feed restriction during pregnancy on offspring development in small ruminants, *Animal*.

Laporte-Broux, B., Roussel, S., Ponter, A.A., Chavatte-Palmer, P. et Duvaux-Ponter, C. (en préparation). Long-term consequences of feed restriction in the goat during late pregnancy on morphology, physiology and behavior of female offspring.

### Communications et affiches publiées dans des actes de colloques avec comité de lecture

Chavatte-Palmer, P., Morel, O., Heyman, Y., Pailhoux, E. et Laporte, B. (2010). The use of sheep as biomedical models. *61th Annual meeting of the European Association for Animal Production, 2010/08/23-27*, Heralkion, Grèce. In : *EAAP Book of Abstracts*, Wageningen Academic Publisher, Wageningen, The Netherlands, 16, 359 (1 page).

Morel, O., Heyman, Y., Laporte, B., Pailhoux, E., Bonneau, M. et Chavatte-Palmer, P. (2010). The use of ruminant models in biomedical research. *ERIN Stakeholders'conference, 2010/03/11-12*, Cracow-Balice, Pologne. In : *Proceedings of the ERIN Stakeholders'Conference, Towards a European Ruminant Infrastructure network*, National Research Institute of Animal Production, Cracow-Balice, Pologne, 61-69.

Laporte, B., Chavatte-Palmer, P., Roussel-Huchette, S., Perault, J., et Duvaux-Ponter, C. (2009). Consequences of maternal nutritional restriction during pregnancy on kid morphology and weight at birth. In: *Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare* (eds. Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier,

F Bocquier, I Veissier and M Doreau), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 750 (1 page).

Laporte, B., Roussel, S. et Duvaux-Ponter, C. (2009). Effect of maternal dietary restriction on kid suckling behaviour. *Proceedings of the XXXI<sup>th</sup> International Ethological Conference*, 2009/08/19-24, Rennes, France, 308 (1 page).

Ponter, A., Laporte, B., Promp, J., Ficheux, C., Tessier, J., Perault, J., Roussel-Huchette, S., Chavatte-Palmer, P. et Duvaux-Ponter, C. (2009). Blood chemistry modifications and the appearance of pregnancy toxemia in nutritionally restricted dairy goats. In: *Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare* (eds. Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier, F Bocquier, I Veissier and M Doreau), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 774 (1 page).

Laporte, B., Duvaux-Ponter, C. et Roussel-Huchette, S. (2008). Comportement alimentaire de chevreaux élevés artificiellement. *Rencontres Recherches Ruminants* 15, 345 (1 page).

#### **Communications et affiches publiés dans des actes de colloques sans comité de lecture**

Laporte, B., Duvaux Ponter, C. et Roussel-Huchette, S. (2008). Comportement alimentaire de chevreaux élevés artificiellement, *GDR Ethologie*, 2008/05/15-16, Villetaneuse, France, 61 (1 page).



# CHAPITRE 1

## INTRODUCTION GENERALE



## 1. CONTEXTE

Dès les années 60, de nombreuses études chez les humains et les animaux ont montré l'influence de l'environnement maternel durant la gestation sur la croissance de la descendance (revue de McCance, 1962). Par la suite, des travaux chez l'humain ont fait émerger l'idée de **programmation foétale**, c'est-à-dire qu'il existe un lien entre environnement maternel et notamment nutrition maternelle pendant la gestation et certaines maladies métaboliques et cardiovasculaires observées chez l'adulte (Barker et Clark, 1997; Ravelli *et al.*, 1998; Painter *et al.*, 2005). Lorsqu'une perturbation a lieu pendant des périodes critiques du développement telles que la vie foétale, les processus métaboliques et physiologiques peuvent être altérés de façon permanente. On parle de **programmation métabolique** (Waterland et Garza, 1999; Bertram et Hanson, 2002). Dans les cohortes humaines, il a été montré que les enfants nés de femmes ayant subi la famine de l'hiver 1944 pendant leur grossesse présentaient à l'âge adulte plus de pathologies métaboliques ou cardiovasculaires (Painter *et al.*, 2005) que les enfants de femmes n'ayant pas subi cette famine. Les conséquences de cette sous-nutrition maternelle dépendent du moment d'exposition de la mère : l'exposition en début de gestation augmenterait les risques d'obésité et de maladies cardiovasculaires ; l'exposition en milieu de gestation serait plutôt associée à des problèmes respiratoires et rénaux et celle en fin de gestation influencerait le métabolisme du glucose (Painter *et al.*, 2005). Des observations similaires ont également été faites sur des modèles animaux (rongeurs et moutons principalement) (Symonds *et al.*, 2009).

Le terme **sous-nutrition** (« undernutrition » en anglais), utilisé chez l'humain et les autres animaux, est défini comme un apport calorique insuffisant par rapport aux besoins (Shetty, 2006). Chez les animaux d'élevage, les causes de cet apport insuffisant peuvent être une réduction de la quantité et/ou de la qualité des ressources alimentaires. En régions arides et tropicales, les conditions climatiques peuvent limiter la croissance et donc la disponibilité des fourrages (Chilliard *et al.*, 1998). En région tempérée, les conditions climatiques peuvent aussi être à l'origine d'une sous-nutrition : en Ecosse, les brebis gestantes qui restent au pâturage en hiver peuvent perdre jusqu'à 85% de leur masse adipeuse sous-cutanée pendant la gestation et la lactation (Russel *et al.*, 1968). De plus, certains éleveurs rationnent les animaux en hiver en raison des coûts alimentaires élevés liés à l'utilisation de fourrages conservés (Doreau *et al.*, 2000). L'alimentation étant calculée en fonction du besoin moyen du lot et distribuée de façon collective, certains animaux peuvent recevoir un apport supérieur à leurs besoins et d'autres un apport insuffisant (Chilliard *et al.*, 1998). Pour les animaux conduits en lots, une compétition sociale peut exister : les animaux de rang supérieur ont un accès prioritaire à l'auge par comparaison avec des animaux en bas de la hiérarchie sociale (Conway *et al.*, 1996). Chez les petits ruminants, la prolificité augmente également les risques de sous-nutrition. En

effet, plus le nombre de fœtus est élevé, plus le prélèvement en glucose de l'unité foeto-placentaire est forte alors que la capacité d'ingestion de la mère diminue (Mercier et Chartier, 2002). Ceci est particulièrement vrai en fin de gestation chez les ruminants laitiers, qui, de ce fait, se retrouvent en déficit énergétique (Gadoud *et al.*, 1992). Enfin, d'autres facteurs, tels que le manque d'eau, les maladies infectieuses, le parasitisme gastro-intestinal ou un temps excessif passé à rechercher de la nourriture ont un impact négatif sur les quantités ingérées (Doreau *et al.*, 2000).

Les conséquences à long terme de la sous-nutrition maternelle pendant la gestation chez l'humain ou le rat sont également présentes chez le petit ruminant : la croissance, le métabolisme glucidique, le système cardiovasculaire et le comportement peuvent être affectés. Ces effets sont détaillés dans la partie 4 de ce chapitre. Ces conséquences dépendent principalement du moment (Sinclair et Singh, 2007), de la durée (McCrabb *et al.*, 1992b), de l'intensité de la sous-nutrition (Russel *et al.*, 1977) et de la race (Burt *et al.*, 2007).

En revanche, les conséquences de la sous-nutrition maternelle sur le comportement de la descendance ont été très peu étudiées chez les ruminants (voir partie 4, chapitre 1). Pourtant, les modifications du métabolisme et du tissu adipeux observées chez la descendance pourraient être liées à une modification du comportement alimentaire. En effet, des expériences de restrictions protéiques maternelles chez la rate, pendant toute la durée de la gestation, ont entraîné, chez les descendants ayant le choix de l'alimentation, une augmentation de la consommation de nourriture enrichie en lipides associée à une plus forte adiposité (Bellinger *et al.*, 2004; Orozco-Sólis *et al.*, 2009). Lorsque la restriction était limitée à la fin de la gestation, les rates issues de mères restreintes consommaient moins du régime riche en lipides par rapport aux témoins (Bellinger et Langley-Evans, 2005). Cette hypophagie des femelles issues de mères restreintes en fin de gestation était retrouvée lorsqu'elles étaient soumises à un régime alimentaire classique (Bellinger *et al.*, 2006).

Les données disponibles chez le mouton et la chèvre au début de cette thèse avaient montré des modifications physiologiques, morphologiques et métaboliques de la progéniture suite à une restriction alimentaire de la mère en fin de gestation (Alexander, 1978; Koritnik *et al.*, 1981; Oliver *et al.*, 2001; Husted *et al.*, 2007) mais les données comportementales étaient rares. Une étude avait mis en évidence une diminution de la consommation moyenne de lait chez des agneaux issus de brebis restreintes en fin de gestation par rapport à des agneaux témoins (Geraseev *et al.*, 2006). Une autre étude chez le mouton sevré n'avait pas trouvé de différence d'ingestion entre les animaux issus de mères restreintes en fin de gestation et des témoins (Sibbald et Davidson, 1998). Depuis, une seule étude a montré des effets sur le comportement des chevreaux après restriction alimentaire pendant la seconde moitié de la gestation : à la naissance, les

chevreaux issus de chèvres restreintes se levaient et atteignaient plus tardivement la tétine. Ils étaient aussi moins actifs 12h heures plus tard par rapport aux chevreaux témoins (Terrazas *et al.*, 2009). Les études sur le comportement alimentaire et en particulier à long terme, étaient donc peu nombreuses.

## 2. OBJECTIFS DE LA THESE

Les objectifs de cette thèse étaient d'étudier les effets d'une **restriction alimentaire maternelle pendant le dernier tiers de gestation** sur le **comportement alimentaire** et le **métabolisme énergétique** des chevreaux. L'originalité de ce travail réside dans l'étude du comportement alimentaire suite à une restriction maternelle, cet aspect ayant été très peu étudié jusqu'à maintenant. Le deuxième intérêt de cette thèse est d'avoir développé une **approche multicritère**. En plus de l'évaluation de la sous-nutrition de la mère par des critères métaboliques, comportementaux et zootechniques (chapitre 2 et 4), la progéniture a été suivie de la période néonatale (chapitre 3 et 4) **jusqu'à l'âge adulte** (chapitre 5) avec cette même approche. Dans la littérature, les petits ruminants sont rarement suivis au-delà d'un an dans le cadre des études sur les effets de la sous-nutrition sur la progéniture. Pourtant, les études chez l'humain et les modèles animaux montrent que les pathologies dont l'apparition est favorisée par la sous-nutrition maternelle (hypertension, diabète...) apparaissent plutôt chez l'adulte (Barker, 1997; Harding, 2001; Painter *et al.*, 2005) que chez le jeune. Dans le cadre de cette thèse, les chevreaux femelles ont été suivis jusque l'âge de 2 ans.

The objective of the present work was to study the **consequences of maternal feed restriction** during the **last third of gestation** on **feeding behaviour** and **energy metabolism** in goat kids, using an original, multidisciplinary approach. Criteria such as behaviour, metabolism and growth parameters were evaluated in feed restricted dams and in offspring from birth to adulthood.

## 3. GENERALITES SUR L'ALIMENTATION DES RUMINANTS

### 3.1. Utilisation de l'énergie par les ruminants

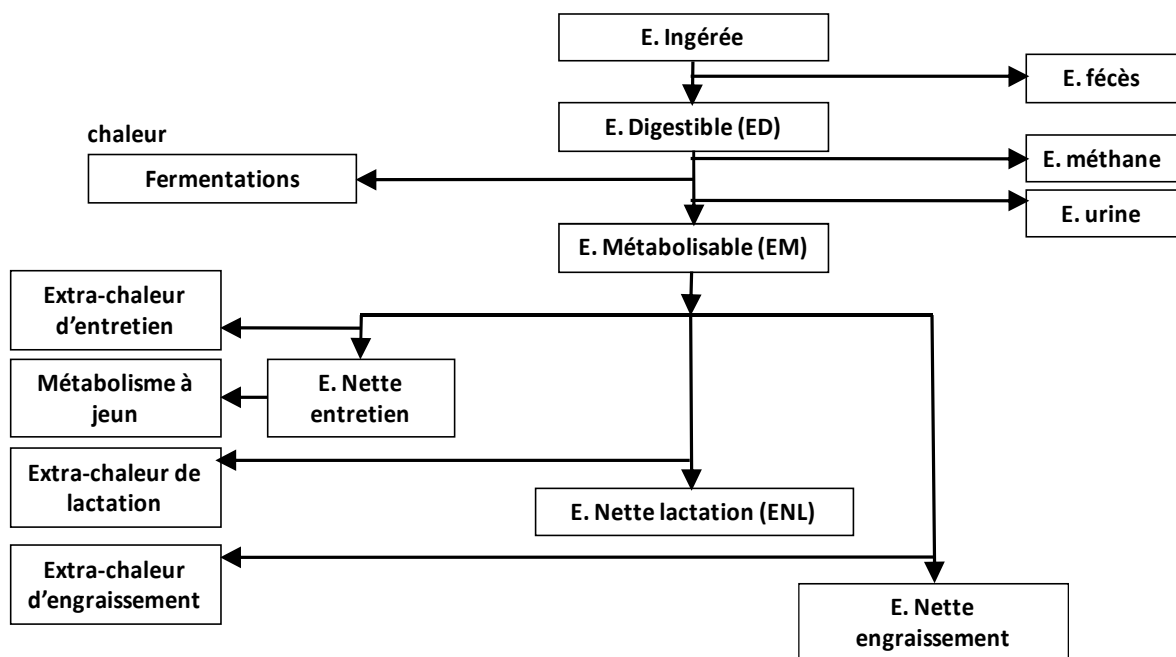
L'utilisation des nutriments et leur métabolisme chez les ruminants a été abordée dans l'article de revue bibliographique (partie 4, chapitre 1) et ne sera donc pas reprise ici. La partie ci-dessous présentera donc uniquement le devenir de l'énergie ingérée et de sa répartition dans les différentes fonctions (entretien, lactation, engraissement).

Seule la fraction digestible de l'énergie brute ingérée sous forme d'aliments peut être utilisée par l'animal (ED, Figure 1) ce qui correspond environ aux trois-quarts de l'énergie



brute (INRA, 1978). Une partie de cette énergie est perdue sous forme de méthane et d'urine dont la prise en compte permet de calculer la valeur de **l'énergie métabolisable (EM)**.

**L'énergie nette (EN)**, exprimée en Unités Fourragères (UF) Lait (UFL), ou Viande (UFV), en France, est le produit de l'énergie métabolisable et du rendement d'utilisation (k) qui dépend de la ou des productions considérées (entretien, croissance, gestation, lactation). Les travaux d'énergétique ont essentiellement porté sur des animaux en production laitière ou à l'engraissement. C'est la raison pour laquelle l'énergie nette de gestation n'est pas représentée sur la Figure 1.



**Figure 1** : Schéma général d'utilisation de l'énergie par les ruminants (Alimentation des Ruminants, INRA, 1978). E : énergie

La compilation des données disponibles sur les besoins énergétiques des ruminants a permis la rédaction de tables précisant les apports recommandés aux animaux selon l'espèce, le stade physiologique, le poids vif de l'animal et le niveau de production, comme celles publiées en France par l'INRA (INRA, 1988). Ces tables, mises à jour régulièrement au sein de l'INRA (INRA, 2007), permettent de calculer les proportions d'aliments dans les rations et les quantités à distribuer aux animaux pour couvrir leurs besoins énergétiques et protéiques. Bien que ces tables soient reconnues internationalement, ce ne sont pas les seules disponibles et il existe d'autres systèmes d'évaluation des besoins et des apports par les aliments.

### 3.2. Les différents systèmes d'alimentation et les unités utilisées

Il existe plusieurs systèmes d'alimentation des animaux de rente à travers le monde. En ce qui concerne les ruminants, certains sont basés sur l'EM contenue dans les aliments et sont utilisés au Royaume-Uni et en Suède (Vermorel et Coulon, 1998). Cependant, l'EN reste la base dans la plupart des pays (en France, en Allemagne, aux Pays-Bas, en Suisse et aux Etats-Unis) (Vermorel et Coulon, 1998), car un système basé sur l'énergie nette tient compte d'une valorisation différente de l'énergie métabolisable suivant la production considérée.

Certaines tables concernent spécifiquement les besoins des chèvres. L'EEZ (Estacion Experimental del Zaidin, Grenade, Espagne) donne les besoins d'une race laitière en particulier, la race Murciano-Granadina. Le système américain IGR, qui détaille les besoins de races laitières, à viande, indigènes et Angora, a été intégré au système NRC (2007). Le système AFRC et l'INRA (2007) donnent les besoins pour des chèvres laitières.

Ces systèmes prédisent les besoins des animaux, les valeurs des aliments et la capacité d'ingestion à partir d'expérimentations faites *in vivo*. Les besoins pour chaque fonction (lactation, gestation, entretien) sont calculés séparément et sont additifs. Il est difficile de déterminer la précision de ces systèmes, mais leur comparaison montre qu'une partie des différences dans les estimations provient de différences dans les coefficients de conversion de l'EM en EN (Cannas *et al.*, 2008). Ainsi, pour la période qui nous intéresse, la gestation, les estimations des besoins, en particulier en énergie, varient fortement d'un système à l'autre (Sutton et Alderman, 2000; Cannas *et al.*, 2008). La multitude des facteurs à prendre en compte (âge de l'animal, état corporel, nombre de fœtus, race, production laitière, conditions climatiques) et le manque de données expérimentales font que les besoins nutritionnels des chèvres gestantes restent encore mal connus.

En plus de besoins en énergie, les animaux ont des besoins en protéines. L'INRA a mis en place le système PDI (protéines digestibles dans l'intestin) qui détermine la valeur azotée de chaque aliment en terme de quantité d'acides aminés réellement absorbés dans l'intestin grêle, qu'ils soient fournis par les protéines alimentaires non dégradées dans le rumen ou par les protéines microbiennes (INRA, 1988). Le besoin en PDI est défini par les quantités de PDI à apporter par l'alimentation pour compenser les pertes ou dépenses azotées et assurer la meilleure efficacité d'utilisation de la ration, sans affecter la santé ni la reproduction (INRA, 1988). Les PDI correspondent aux protéines métabolisables (PM). Le système AFRC se base sur les recommandations de l'INRA et le système IGR exprime également les besoins protéiques en PM. Là encore, concernant les besoins en gestation, les facteurs pris en compte dans les estimations ne sont pas les mêmes pour tous les systèmes. Ainsi, comme pour les besoins en énergie, les besoins en protéines sont mal connus chez les animaux en gestation.

Lorsque les animaux sont sur- ou sous- alimentés, les auteurs précisent souvent le pourcentage par rapport aux apports recommandés, les témoins recevant en général une ration couvrant 100 % des apports recommandés (Borwick *et al.*, 2003; Ford *et al.*, 2007; Simitzis *et al.*, 2009) bien que parfois la ration ne couvre pas les apports recommandés (Koritnik *et al.*, 1981). La valeur énergétique des rations est en général donnée. Les quantités distribuées peuvent également être exprimées en pourcentage par rapport à la quantité ingérée par le groupe témoin (Dwyer *et al.*, 2003; Erhard *et al.*, 2004).

Les animaux sont parfois élevés en lots (Dwyer *et al.*, 2003; Erhard *et al.*, 2004; McMullen *et al.*, 2005). Dans ce cas, les rations sont calculées en fonction d'un "animal moyen" : on considère le poids moyen du groupe, le stade physiologique moyen etc... pour calculer les quantités et formuler les rations à distribuer. Si les animaux sont placés en cases individuelles, la ration est alors ajustée à l'individu (Ford *et al.*, 2007; Celi *et al.*, 2008; Hernandez *et al.*, 2009).

Dans les expériences présentées au cours de cette thèse, l'énergie apportée aux chèvres restreintes a été calculée en fonction de ce qui a été consommé par les chèvres témoins *ad libitum*. La composition des régimes a été faite de manière à ce que le poids des chèvres témoins reste stable entre le tarissement et le début de la lactation, plutôt que directement basée sur des calculs à partir des tables INRA. C'est ce qui est habituellement pratiqué à la chèvrerie expérimentale.

The amounts of energy needed to meet requirements or contained in animal feed are measured either as **metabolizable energy** (ME) or as **net energy** (NE), depending on the country. ME is defined as the amount of energy available from a feedstuff once the energy lost in feces, urine, methane and digestive fermentation has been subtracted. In France, the INRA system is based on NE. ME is converted into NE using a conversion efficiency coefficient (k). NE in France is measured in UFL (Unite Fourragère Lait) for milking animals. Other systems, however, use different units and different conversion efficiencies.

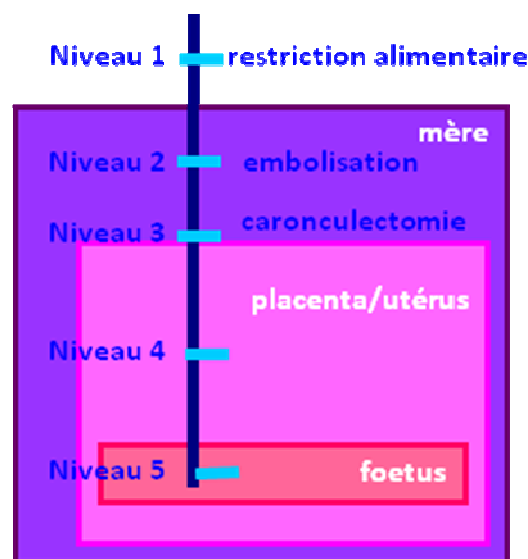
These various systems have been used to estimate nutrient requirements, feed value and feed intake in goats. Nutrient requirements are usually estimated for each physiological function (lactation, maintenance, fattening, gestation) and summed. Energy requirements for gestating goats, however, have not been accurately defined yet.

Protein requirements are defined as the amount of protein which needs to be supplied by the diet to provide adequate nitrogen supply for organ growth and function, compensate for nitrogen losses and to insure high feed utilization efficiency, without affecting animal health and reproduction (INRA, 1988). As is the case for energy, protein requirements for gestating goats are not well known.

### 3.3. Sous-nutrition ou restriction alimentaire : définitions et choix des termes

Le terme **sous-nutrition** (« undernutrition » en anglais), défini comme un apport calorique insuffisant (Shetty, 2006), est généralement le terme employé lorsqu'on parle de restriction alimentaire. Or, pour le fœtus, la sous-nutrition peut avoir plusieurs causes. Schröder (2003) a représenté les relations mère-utérus/placenta-fœtus par un système de poupées russes (Figure 2). Il montre ainsi que la sous-nutrition fœtale peut être provoquée à 5 niveaux différents :

- diminution de l'ingestion de la mère (restriction alimentaire, niveau 1)
- diminution de l'apport sanguin au placenta (embolisation ou ligature des artères utérines, niveau 2)
- diminution des transferts trans-placentaires (caronclectomie qui diminue la surface d'échange, pathologie placentaire, niveau 3)
- diminution du flux sanguin dans le cordon ombilical (compression ou torsion excessive du cordon, spasme de la veine ombilicale, niveau 4)
- diminution du flux sanguin dans un tissu précis du fœtus (ligature, compression, vasconstriction, niveau 5).



**Figure 2 :** "Russian Doll" situation d'après Schröder (2003). Une sous-nutrition fœtale peut être provoquée à 5 niveaux différents.

Parmi les méthodes expérimentales utilisées pour provoquer une sous-nutrition fœtale, la restriction alimentaire maternelle est l'approche la plus employée, aussi bien chez les rongeurs que chez les ruminants. Les restrictions peuvent être globales, protéiques uniquement, ou concerner un nutriment en particulier (acide aminé, oligo-élément...)

(revues : Bertram et Hanson, 2001; Armitage *et al.*, 2004). Les restrictions globales concernent surtout les ruminants et les rongeurs, tandis que les autres ont plutôt été testées chez les rongeurs. On constate une grande variété des régimes proposés. Chez les ruminants (McMullen *et al.*, 2005; Celi *et al.*, 2008) comme chez les rongeurs (revue d'Armitage *et al.*, 2004), les périodes de restriction varient également, de quelques jours (McMullen *et al.*, 2005) à plusieurs semaines pendant la gestation (Alexander, 1978; Hawkins *et al.*, 2000 ; Ford *et al.*, 2007 ) et durent parfois pendant la lactation (Sibanda *et al.*, 1999; Borwick *et al.*, 2003 ; Celi *et al.*, 2008 ). Chez le rat en particulier, les restrictions se poursuivent souvent après la naissance (Orozco-Sólis *et al.*, 2009 ; Zhang *et al.*, 2010) car le nouveau-né est relativement peu mature chez cette espèce, contrairement à l'humain et aux ruminants (Revue de Symonds et Budge, 2009). Les intensités de restriction sont également variables. Pour les rongeurs, les sous-nutritions varient de 15% à 70% de réduction de la quantité distribuée aux animaux restreints par rapport aux témoins nourris *ad libitum* (Revue d'Armitage *et al.*, 2004). Chez les ruminants, des restrictions de 15% à 70% par rapport aux recommandations ont été décrites (Hawkins *et al.*, 2000 ; Khan *et al.*, 2005 ; Celi *et al.*, 2008), mais l'intensité de la restriction est parfois exprimée en pourcentage de réduction par rapport à la quantité ingérée par les témoins (Nordby *et al.*, 1987 ; Erhard *et al.*, 2004) ou en perte de poids des animaux restreints (McCrabb *et al.*, 1991 ; 1992a). La grande variation de ces facteurs complique de façon importante l'interprétation des données rapportées dans la littérature et la comparaison des expériences entre elles.

Les méthodes chirurgicales (embolisation, ligature des artères utérines et caronclectomie) ont été essentiellement utilisées chez la brebis et les rongeurs (McMillen *et al.*, 2001; revue de Chavatte-Palmer *et al.*, 2008b). Ces méthodes aboutissent généralement à une forte diminution du poids du fœtus et du jeune. On parle de retard de croissance intra-utérin (RCIU). Elles entraînent une réduction de l'apport de nutriments au fœtus, mais causent aussi une hypoxie (manque d'oxygène) et parfois un phénomène inflammatoire local (embolisation).

A notre connaissance, aucune publication n'a été faite sur une réduction du flux sanguin ombilical ou dans une région particulière du fœtus pour entraîner un retard de croissance ou une sous-nutrition foetale, probablement en raison de la difficulté des chirurgies et de la sensibilité très importante du cordon (spasme ombilical lors de la manipulation du cordon).

Dans le cadre de cette thèse, nous avons appliqué une restriction alimentaire par diminution des quantités distribuées aux animaux en gestation. Il s'agit donc d'une restriction quantitative. Ainsi, pour plus de clarté, dans la suite du manuscrit, le terme **restriction alimentaire de la mère** ("maternal feed restriction" en anglais) sera utilisé,

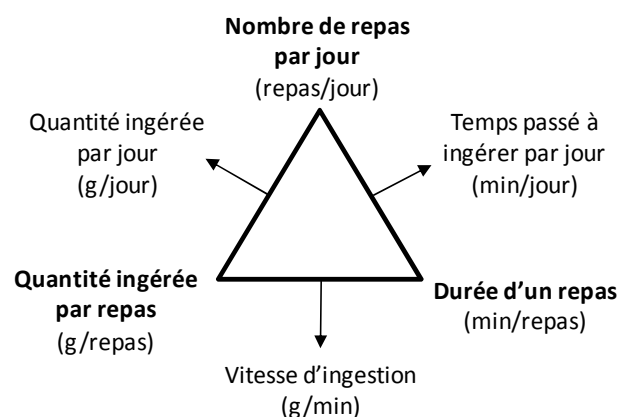
faisant référence à une diminution de l'apport énergétique à la femelle gestante par rapport au groupe témoin.

Undernutrition is defined as the insufficient supply of dietary energy. Fetal undernutrition can be caused by modifying the supply of nutrients at several levels as they transit through the maternal or fetal compartments (Figure 2). In the present work, the term **maternal feed restriction** will be used, in reference to a quantitative reduction in the amount of feed given to pregnant goats.

### 3.4. Comportement alimentaire : définitions, régulations

Le **comportement alimentaire** peut se définir comme "l'ensemble des actions de l'animal ayant pour finalité la recherche, le choix des aliments et leur ingestion en quantité adaptée à la satisfaction des besoins en énergie et en nutriments de l'organisme" (Jean-Blain, 2002). Chez les animaux de rente élevés en bâtiment, sevrés ou non, peu de temps est consacré à la recherche et au choix des aliments.

Que les animaux soient sevrés ou non, l'ingestion est divisée en **repas** (ou en tétées). Un repas peut être défini par des critères comme la taille, la durée et la fréquence (Nielsen, 1999). Ces critères sont à définir en fonction de l'espèce, de l'âge et du stade physiologique. Tous les épisodes d'ingestion n'entrant pas dans la définition sont considérés comme du grignotage (Heinrichs et Conrad, 1987). Nielsen (1999) a résumé le profil d'ingestion par les trois paramètres de base : nombre de repas par unité de temps (généralement 24h), durée d'un repas et quantité ingérée par repas, qui permettent de calculer trois autres critères utilisés pour décrire le comportement alimentaire : temps passé à ingérer par unité de temps, vitesse d'ingestion et quantité ingérée par unité de temps (Figure 3).



**Figure 3 :** Paramètres permettant de décrire un repas et la relation entre les repas. Les trois éléments de base : nombre de repas par jour, durée d'un repas et quantité ingérée par repas permettent de calculer trois autres critères utilisés pour décrire le

comportement alimentaire : temps passé à ingérer par jour, vitesse d'ingestion et quantité ingérée par jour. D'après Nielsen (1999).

Dans la plupart des études les jeunes sont élevés sous la mère ce qui complique l'observation du comportement alimentaire et introduit un biais dû au comportement de la mère. Chez le jeune non sevré, la **tétée** est généralement définie par l'intervalle séparant un lâcher et une reprise de tétine (Waltl *et al.*, 1995; Cameron, 1998; Das *et al.*, 2000) ou par sa durée (Bungo *et al.*, 1998; Paranhos da Costa *et al.*, 2006). Certains auteurs ne prennent en compte les tétées que s'ils constatent des déglutitions (Paranhos da Costa *et al.*, 2006). Ces méthodes ne permettent pas une mesure directe de la quantité ingérée au cours de la tétée. A cet effet, des méthodes indirectes sont utilisées, telle que l'étude du comportement de tétée (temps passé à téter ou fréquence des tétées) (Cameron, 1998) ou la pesée des animaux avant et après tétée (Hernandez *et al.*, 2006), mais elles sont peu précises ou peu pratiques. Des marqueurs radioactifs (Dove, 1988) ou des isotopes stables (Riek *et al.*, 2007) sont aussi parfois utilisés pour calculer la consommation de lait.

**Feeding behaviour** relates to searching, selecting and eating food in sufficient amounts to cover nutritional requirements.

A **meal (or suckling bout)** can be defined by its size, duration and frequency.

#### 3.4.1. *Le comportement alimentaire chez le petit ruminant non sevré*

Le comportement alimentaire apparaît dès la vie foetale, lorsque le foetus déglutit ("swallowing") et ingère du liquide amniotique (Ross et Nijland, 1998). Ce comportement est important pour la maturation du tube digestif (Ross et Nijland, 1998). En effet, lorsque la déglutition est empêchée par ligature de l'œsophage du fœtus à partir de 90 jours de gestation, le poids du tractus digestif à la naissance est réduit, le mucus est moins abondant dans les cellules glandulaires, sa composition est altérée et l'épaisseur des tissus digestifs est modifiée (Avila et Harding, 1991).

Dans les minutes qui suivent la naissance, le chevreau se lève et cherche les mamelles de sa mère (Stephens et Linzell, 1974). La majorité des chevreaux parvient à téter dans les 4 heures qui suivent la naissance (Stephens et Linzell, 1974), alors que la majorité des agneaux parvient à téter plus rapidement, dans les 2 heures suivant la naissance (Nowak et Poindron, 2006). La capacité à téter rapidement dépend principalement de 2 facteurs corrélés, le poids et la vigueur de l'animal à la naissance. Un faible poids de naissance est souvent associé à une vigueur moindre et des difficultés à téter (Nowak et Poindron, 2006). La tétée, en plus de son importance nutritionnelle, joue un rôle très important dans la reconnaissance mère-jeune (Nowak *et al.*, 1997). Enfin, la prise du colostrum (premier lait) est fondamentale pour la survie du jeune. En effet, chez les ruminants, les

immunoglobulines ne passent pas la barrière placentaire. La protection immunitaire du jeune est dépendante du transfert passif des immunoglobulines colostrales. Ce transfert est possible dans les 2 premiers jours suivant la naissance chez l'agneau, car le tube digestif reste perméable aux immunoglobulines durant cette période (Trahair et Robinson, 1989). De plus, l'ingestion de colostrum est indispensable pour la thermorégulation du jeune car c'est un substrat très énergétique et les réserves d'énergie du nouveau-né sont limitées (Mellor et Cockburn, 1986).

La fréquence et la durée de tétée diminuent avec l'âge chez les chevreaux et les agneaux élevés sous la mère (Munro, 1956; Ewbank, 1967; Morgan et Arnold, 1974; Hinch, 1989; Gordon et Siegmann, 1991; Bungo *et al.*, 1998). Selon les études, les auteurs trouvent une diminution de 28 à 49% de la fréquence de tétée entre 1 et 5 semaines d'âge (Ewbank, 1967; Gordon et Siegmann, 1991; Bungo *et al.*, 1998). Chez les chevreaux élevés sous la mère, entre les âges de 1 et 9 semaines, les fréquences passent de 51 à 14 tétées sur 9h d'observation et les durées passent de 144 secondes de tétée par heure à 17 secondes par heure (Bungo *et al.*, 1998). Les diminutions de fréquence et de durée de tétée ont également été retrouvées dans une étude menée en 2007 sur 31 chevreaux élevés avec un aliment d'allaitement dès la naissance (Annexe 1).

Des tétées non alimentaires sont aussi observées, plus fréquemment chez les animaux élevés avec un aliment d'allaitement. Il s'agit de tétées de congénères ("cross-suckling") (Stephens et Baldwin, 1971; Margerison *et al.*, 2003; Froberg *et al.*, 2007) ou de tétées de tétines factices placées dans l'enclos (Hammell *et al.*, 1988), que l'on explique en général par un besoin de stimulations orales insatisfait. Ce phénomène a d'abord été observé chez des chiots élevés artificiellement, qui font plus de tétées non alimentaires que ceux restés sous la mère (Ross, 1951). Lorsque ces chiots sont rendus à leur mère, ces tétées disparaissent quasiment.

En plus de l'âge, d'autres facteurs font varier le comportement de tétée :

- Le **moment de la journée** : Hinch (1989) a observé un pic de tétées le matin et un autre en fin d'après-midi chez des agneaux élevés sous la mère. Des pics similaires ont été observés chez des chevreaux élevés avec un aliment d'allaitement (Annexe 1). De plus, la majorité des tétées a lieu durant la journée. A l'âge de 2 semaines, 57% de la quantité journalière de lait ingéré, est ingérée en 12h (entre 7h et 17h) alors qu'à 5 semaines, plus de 77% de la quantité journalière est ingérée entre 7h et 17h (Annexe 1).

- Le **type d'allaitement : maternel ou artificiel**. Napolitano *et al.* (2002) ont montré que les agneaux en allaitement artificiel passent plus de temps à téter et ont plus d'interactions sociales que les agneaux élevés sous la mère.

- Le **type d'allaitement artificiel** : des veaux buvant à la tétine tètent plus et plus longtemps que les veaux buvant le lait dans des bassines (Hammell *et al.*, 1988). La



fermeté et la longueur de la tétine peuvent aussi jouer sur la durée de tétée (Fraser, 1987).

- L'**environnement social** : dans le cas d'allaitement artificiel, il existe un effet d'entraînement. Lorsqu'un agneau va téter, il est généralement suivi de 2 ou 3 autres congénères (Stephens et Baldwin, 1971). Cet entraînement permet une facilitation sociale : en allaitement artificiel, les groupes de nouveau nés comprenant un agneau expérimenté apprendront plus rapidement à téter un seau avec des tétines que ceux uniquement constitués d'agneaux inexpérimentés (Veissier et Stefanova, 1993). On observe donc, comme chez les adultes (Benham, 1982; Rook et Penning, 1991; Nielsen *et al.*, 1996), une synchronisation des activités alimentaires et de repos, en particulier chez les animaux élevés en lots.

La synchronisation de la tétée entre les jeunes d'une même portée se met progressivement en place. Dans le cas de jumeaux, dans la première semaine, la mère appelle les agneaux et attend que les 2 soient présents avant de les laisser téter (Ewbank, 1967; Hinch, 1989). Ewbank (1967), a observé qu'après 7 semaines, les jumeaux semblent avoir appris à s'attendre pour téter. Mandiki *et al.* (1989) ont également mis en évidence cette synchronisation entre les jumeaux d'une même portée. Ils ont observé que ceux-ci ne tètent pas la mère en même temps jusqu'à 3 semaines puis tètent ensemble dans 80% des cas par la suite.

- La **taille de portée** : les fréquences de tétée et de tentatives de tétée augmentent et la durée de tétée diminue avec la taille de portée chez les agneaux en allaitement maternel (Hinch, 1989; Mandiki *et al.*, 1989). A la naissance, les triplets sont plus lents que les doubles ou les simples pour aller téter (Dwyer *et al.*, 2005). De plus, le nombre et le poids des cotylédons placentaires et le poids du placenta augmentent entre les simples et doubles mais pas pour les portées triples laissant penser qu'il y a une insuffisance placentaire dans les portées triples, qui pourrait être à l'origine de la faiblesse des triplets à la naissance (Dwyer *et al.*, 2005). La température rectale inférieure observée chez les triplets est aussi un signe de faiblesse de ces animaux (Dwyer *et al.*, 2005).

- Le **sex** de la progéniture : à la naissance, les mâles sont plus lents que les femelles pour essayer de téter (Dwyer *et al.*, 2005).

- La **race** : Dwyer *et al.* (2005) ont montré qu'à la naissance, les agneaux de race Suffolk étaient plus lents à parvenir à téter que ceux de race Blackface (Dwyer *et al.*, 2005). Cependant, Hinch *et al.* (1989) n'ont pas observé d'effet de la race (Booroola x Merinos vs Merinos) sur le comportement de tétée des agneaux en allaitement maternel.

- La **parité** de la mère : les agneaux issus de primipares mettent plus de temps à atteindre la tétine à la naissance que ceux de multipares (Dwyer *et al.*, 2005).

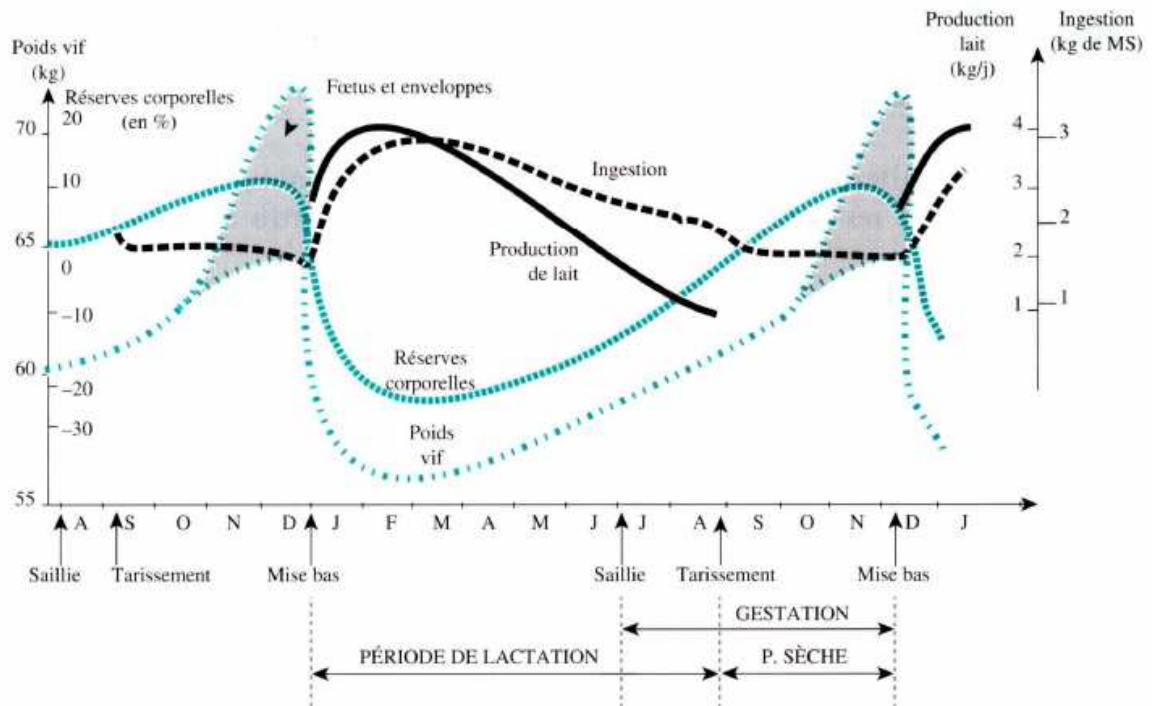
Suckling behaviour varies according to age, time in the day, rearing system (artificial or maternal), social environment, litter size, sex, breed and the parity of the dam.

#### 3.4.2. Comportement alimentaire chez le petit ruminant après le sevrage

Les ruminants passent 3 à 12h par jour à ingérer leurs aliments (Dulphy et Faverdin, 1987). Ils font 2 repas principaux, l'un en début, l'autre en fin de journée, qu'ils soient au pâturage ou en stabulation (Dulphy et Faverdin, 1987). En stabulation, les activités alimentaires sont rythmées par les distributions de nourriture. En effet, la distribution des aliments incite l'animal à manger (Dulphy et Faverdin, 1987). Il existe aussi des repas diurnes spontanés et une petite partie de l'ingestion a lieu la nuit, en particulier lorsque les journées sont chaudes (Dulphy et Faverdin, 1987). Le nombre de repas varie avec la composition du régime : les chèvres font plus de repas spontanés lorsque la ration est riche en fourrages (Abijaoudé *et al.*, 2000a).

En stabulation, les repas principaux de chèvres nourries 2 fois par jour représentent de 60 à 68 % de l'ingestion totale pour des régimes comprenant de 45 à 70 % de concentré (Abijaoudé *et al.*, 2000b). Chez les chèvres, lorsque la proportion de concentré du régime augmente, la quantité totale ingérée est plus fortement corrélée avec celle ingérée lors des repas spontanés qu'avec celle ingérée lors des repas principaux (Abijaoudé *et al.*, 2000a). Plus la ration est riche en concentré plus la quantité ingérée quotidiennement augmente (Geoffroy, 1974; Abijaoudé *et al.*, 2000a). La prise alimentaire et le temps passé à ingérer dépendent aussi du stade physiologique de l'animal (croissance, gestation, lactation) (Forbes, 1971; Das *et al.*, 1999). Les animaux en fin de gestation ingèrent moins qu'en début de gestation (Figure 4), essentiellement à cause de leur capacité d'ingestion réduite (place occupée par les fœtus et annexes) et des changements hormonaux (augmentation des oestrogènes) (Forbes, 1971). Après la mise bas, les quantités ingérées réaugmentent pour être au maximum au pic de lactation (Figure 4) (Forbes, 1971).

Les adultes se mettent à manger préférentiellement lorsque les autres congénères mangent (Forbes, 1996; Jørgensen *et al.*, 2009). De plus, les expériences passées influencent aussi l'ingestion : un animal aura plus tendance à manger les aliments qu'il connaît et qui n'ont pas créé de troubles digestifs antérieurement (Forbes, 1996). D'autres paramètres tels que la température extérieure (Morand Fehr et Doreau, 2001), le manque d'eau, les maladies infectieuses, le parasitisme gastro-intestinal ou un temps excessif passé à rechercher de la nourriture (Doreau *et al.*, 2000) modifient le comportement alimentaire.



**Figure 4 :** Evolution de l'état physiologique de la chèvre au cours du cycle de production (Gadoud *et al.*, 1992).

La rumination, composante importante du comportement alimentaire du ruminant sevré, a principalement lieu la nuit et en milieu de journée, lorsque les animaux se reposent (Dulphy et Faverdin, 1987). Contrairement aux périodes d'ingestion, plus ou moins dispersées et de durées variables, les périodes de rumination sont relativement individualisées. Leurs durées et l'intervalle de temps séparant deux périodes consécutives sont rarement inférieurs à 20 minutes. La durée quotidienne de rumination pour les bovins et ovins varie entre 5 et 9h (Dulphy et Faverdin, 1987).

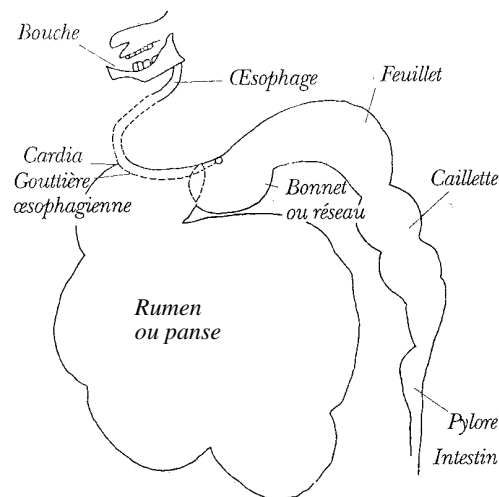
In ruminants, there are generally two main daily meals, corresponding to feeding time in indoor rearing systems, in addition to smaller meals called spontaneous meals. Intake mainly depends on the physiological stage, social environment, time of the day, diet composition and individual experience.

### 3.4.3. Régulation du comportement alimentaire

La régulation du comportement alimentaire chez les ruminants est proche de celle des monogastriques (Gallouin et Focant, 1980). Il existe cependant des différences liées à la physiologie et morphologie digestives des ruminants.

En effet, les ruminants possèdent quatre réservoirs gastriques (Gadoud *et al.*, 1992 ; Figure 5). Le plus volumineux, le rumen (ou panse) contient en permanence une masse alimentaire fibreuse en fermentation, contenant en général 85 à 90% d'eau. Une

importante population microbienne joue un rôle essentiel dans la digestion des aliments et notamment leur fermentation. Le réseau (ou bonnet), deuxième réservoir, se trouve entre le rumen et le diaphragme, et apparaît comme un diverticule du rumen. Le réseau et à moindre degré, le feuillet, troisième réservoir gastrique, possèdent eux aussi une population microbienne importante. Enfin, la caillette, dernier réservoir, correspond à l'estomac des monogastriques, sa muqueuse est sécrétrice contrairement à celles des autres compartiments gastriques. Une gouttière œsophagienne, qui s'étend du cardia au feuillet, se ferme au passage des aliments liquides chez le jeune ruminant non sevré, l'alimentation lactée arrivant directement au feuillet, sans passer par le rumen. Cette gouttière est ouverte chez les ruminants adultes chez qui les aliments ingérés passent donc dans le rumen.

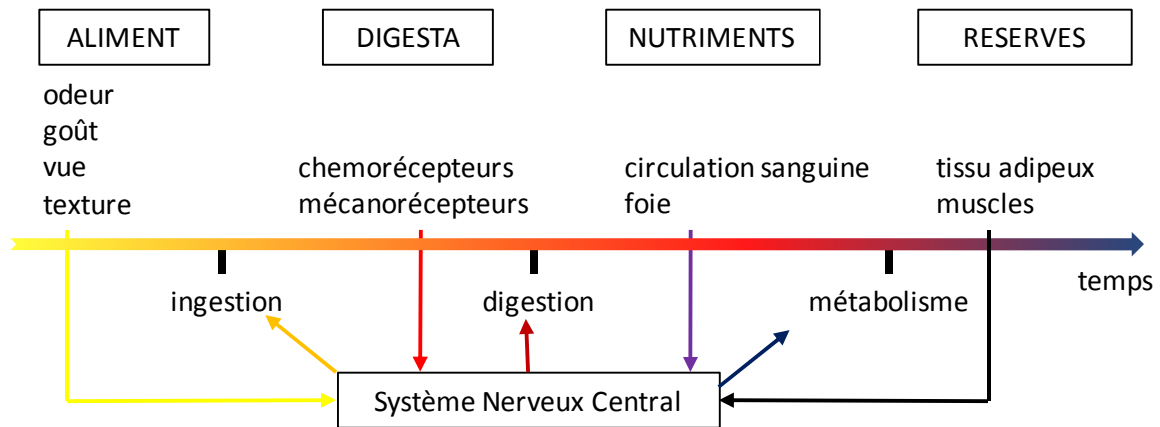


**Figure 5** : Schéma de l'appareil digestif de la chèvre (Simiane, 2002)

La prise alimentaire est à la fois régulée sur le court (taille d'un repas) et le long terme. Les moments de début et de fin d'un repas sont contrôlés par les sensations de faim et de satiété. La **faim** peut se définir comme un état d'éveil spécifique ou de "motivation" du système nerveux central, provoqué par des signaux internes résultant du déficit énergétique de l'organisme requérant l'apport d'aliment et/ou par des stimulations sensorielles externes issues des aliments. Cet état est associé à une perception identifiée chez l'homme, dite "sensation de faim" (Gallouin et Le Magnen, 1987). C'est un état considéré comme négatif (Gallouin et Focant, 1980; D'Eath *et al.*, 2009). La **satiété** est également un état interne, euphorique, apparaissant après une ingestion capable en général de satisfaire les besoins organiques (Gallouin et Focant, 1980). C'est un état positif (Gallouin et Focant, 1980).

L'**appétit** est l'attraction et la stimulation à manger que suscitent les aliments en général ou, à des degrés divers, des aliments particuliers quand l'animal est dans un état de faim

(Gallouin et Le Magnen, 1987). Blundell et Halford (1994) ont proposé le concept de "cascade de satiété" (Figure 6). Cette cascade représente l'expression de l'appétit comme une relation entre le comportement alimentaire, le métabolisme, la physiologie et l'activité du cerveau. La quantité et la qualité des aliments vont déterminer l'intensité et l'évolution des processus biologiques mis en jeu.



**Figure 6** : Cascade de satiété, d'après Blundell et Halford (1994). Cette cascade décrit l'expression de l'appétit qui inclut comportement alimentaire, métabolisme, physiologie et activité du cerveau.

Le choix des aliments est d'abord guidé par l'odorat, le goût, le toucher et la vue (Forbes, 1998). Des mécano- et chémorécepteurs du tube digestif transmettent, via le nerf vague, des informations au système nerveux central, ce qui peut moduler l'ingestion (Forbes, 1996). Ainsi, les signaux périphériques tels que la distension du rumen, le changement d'osmolarité des fluides corporels, le pH ruminal, la concentration ruminale en acides gras volatils et en particulier l'acétate et le propionate influencent la prise alimentaire des ruminants (Baile et Della-Fera, 1981). Il existe une relation négative entre le niveau d'ingestion et le temps de rétention des particules dans le rumen (Doreau *et al.*, 2003). Contrairement aux monogastriques, il semblerait que la glycémie ne joue pas sur la prise alimentaire chez les ruminants (Baile et Della-Fera, 1981).

Sur le long terme, l'ingestion dépend de l'état des réserves corporelles de l'animal et de ses besoins nutritionnels (Dulphy et Faverdin, 1987; Baumont *et al.*, 1997). La couverture des besoins en acides aminés et leur équilibre sont impliqués dans la régulation du comportement alimentaire à long terme (Gallouin et Focant, 1980). Un déficit en azote dégradable des régimes entraîne une diminution de l'ingestion (Faverdin *et al.*, 2003). Au contraire, la perfusion duodénale (mais pas ruminale) de protéines augmente les quantités ingérées chez la vache (Faverdin *et al.*, 2003). Cet apport protéique augmente également la vitesse d'ingestion et diminue le nombre de repas des animaux. L'augmentation d'ingestion est proportionnelle à la quantité de protéines apportée à condition qu'il n'y ait pas simultanément une baisse importante de la quantité d'azote

dégradable dans le rumen. Les quantités ingérées augmentent également avec la durée du traitement. Cette augmentation, suite à une supplémentation protéique, est d'autant moins importante que les besoins protéiques sont couverts. La modulation de l'ingestion par la supplémentation en protéines dépend aussi des autres composants de la ration (Faverdin *et al.*, 2003). Ainsi, l'ingestion augmente avec la proportion de concentré. Cette régulation de l'ingestion par les protéines pourrait se faire de plusieurs manières. Directement par les acides aminés : certains acides aminés sont des précurseurs de neuropeptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire. Les acides aminés pourraient directement informer le cerveau des déséquilibres en acides aminés et provoquer la modification de la prise alimentaire mais ce mécanisme n'a pas été montré chez les ruminants. L'augmentation de l'ingestion de protéines entraîne l'augmentation de l'utilisation de l'acétate et du propionate chez le mouton. Cette captation accrue pourrait stimuler l'ingestion mais cette hypothèse n'a jamais été vérifiée. La supplémentation en protéines s'accompagne d'une augmentation de la production laitière, plus rapide que l'augmentation de l'ingestion. Faverdin *et al.* (2003) supposent qu'à long terme le métabolisme protéique jouerait sur le métabolisme énergétique en provoquant la mobilisation des réserves corporelles avant de stimuler l'ingestion.

#### Hormones impliquées dans la régulation de la prise alimentaire

Les hormones participent à la régulation de la prise alimentaire et notamment les hormones impliquées dans la régulation de la balance énergétique.. Leur action semblerait résulter en une inhibition de la prise alimentaire (effet anorexigène). Seule la ghréline augmenterait la prise alimentaire (effet orexigène) mais les résultats sont encore controversés. Une synthèse très complète de la littérature a été publiée par Roche et co-auteurs en 2008 (Roche *et al.*, 2008a).

L'**insuline**, sécrétée pendant le repas, va entraîner la diminution de la glycémie qui sera rééquilibrée grâce à la sécrétion de glucagon. En effet, le **glucagon**, autre hormone pancréatique, provoque la néoglucogénèse hépatique. La concentration basale en insuline est en général proportionnelle à la masse adipeuse, elle joue donc le rôle de signal d'adiposité pour le système nerveux central dans la régulation à long terme du poids corporel. Cependant, cette relation n'est pas si évidente quand les animaux perdent du poids ou le maintiennent, bien que la corrélation soit retrouvée quand les animaux prennent du poids. Le taux circulant d'insuline dépendant de la sensibilité des tissus à celle-ci, il faut prendre en compte les changements de poids et l'histoire nutritionnelle lorsque l'on interprète la concentration périphérique d'insuline, en particulier si l'adiposité des animaux diffère de son optimum physiologique (Roche *et al.*, 2008a).

Les études sur l'effet de l'insuline sur la prise alimentaire sont contradictoires (revue de Henry, 2003). Certains auteurs constatent une diminution de la prise alimentaire suite à une injection d'insuline (Roche *et al.*, 2008a). Il a été montré chez le rongeur que

l'insuline agit directement au niveau du cerveau pour réguler la prise alimentaire en modulant les effets de la leptine (Ingvartsen et Andersen, 2000; Schwartz *et al.*, 2000; Roche *et al.*, 2008a). Il pourrait en être de même chez les ruminants. En effet, chez les ruminants, la présence de récepteurs à l'insuline a été démontrée dans les régions impliquées dans l'olfaction, dans les circuits de la récompense et de la motivation qui régulent la production des signaux orexigènes et anorexigènes, et dans les régions hypothalamiques régulatrices de la dépense énergétique et du contrôle de la prise alimentaire (Roche *et al.*, 2008a). De plus une hyperinsulinémie peut induire une augmentation de l'expression de la leptine (Roche *et al.*, 2008a). Chez le ruminant, la sécrétion d'insuline pendant le repas est stimulée par des projections du nerf vague depuis la caillette, le pyllore et le duodénum (Roche *et al.*, 2008a). L'insuline est également sécrétée après la prise alimentaire, la régulation se faisant par le système central histaminergique qui stimule la libération d'histamine au niveau central, entraînant une augmentation de l'insulinémie et une diminution de la prise alimentaire chez le mouton (Roche *et al.*, 2008a).

La **somatostatine**, peptide produit à la fois par le tractus digestif et le cerveau, est également sécrétée par le pancréas et inhibe la sécrétion d'insuline (Roche *et al.*, 2008a). Chez le ruminant, son niveau plasmatique augmente en réponse à la prise alimentaire. Elle a un effet inhibiteur sur celle-ci et semble jouer un rôle dans la régulation à long terme de l'homéostasie (Roche *et al.*, 2008a). D'autres hormones pancréatiques diminuent elles aussi la prise alimentaire : l'**amyline**, dont la concentration est proportionnelle à la quantité de tissu adipeux, et le **polypeptide pancréatique (PP)**. Ces hormones ont été peu ou pas étudiées chez les ruminants (Roche *et al.*, 2008a).

La **leptine**, hormone peptidique produite notamment par le tissu adipeux, diminue la prise alimentaire (Chilliard *et al.*, 2001) par une action directe au niveau de l'hypothalamus. Sa sécrétion à court terme est régulée par une interaction complexe entre plusieurs métabolites sanguins (glucose, AGNE, corps cétoniques...) et plusieurs hormones (insuline, GH, catécholamines, glucocorticoïdes...) (Chilliard *et al.*, 2001). Chez les ruminants, les concentrations plasmatiques sont corrélées à la masse de tissu adipeux et la leptine participe à la régulation de la masse adipeuse à long terme (Roche *et al.*, 2008a). Son action dépend de la photopériode chez les animaux soumis à une régulation saisonnière des cycles reproductifs, la baisse de la prise alimentaire suite à une injection de leptine ayant été observée en automne (saison de reproduction) mais pas au printemps (Roche *et al.*, 2008a).

La **résistine**, autre hormone produite par le tissu adipeux, aurait un rôle dans la satiété chez les rongeurs. Son rôle chez les ruminants est inconnu, elle pourrait être impliquée dans les phénomènes d'insulino-résistance (Roche *et al.*, 2008a).

Certaines **cytokines** (interleukine 6 (IL-6) et tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )), également secrétées par le tissu adipeux, semblent impliquées dans la régulation de la prise alimentaire chez les rongeurs et l'humain mais aucune recherche n'a été faite à ce jour chez les ruminants (Roche *et al.*, 2008a).

La **ghréline**, d'abord identifiée comme ligand du récepteur à la GH, est une hormone produite par l'estomac et le système nerveux central chez les rongeurs. Elle serait un indicateur du statut nutritionnel ou métabolique (Henry, 2003). Elle est produite par la caillette chez les ruminants et son taux plasmatique décline après un repas (Roche *et al.*, 2008a). Sa perfusion périphérique ou centrale provoque une augmentation transitoire de la prise alimentaire chez les rongeurs (Henry, 2003), les humains (Roche *et al.*, 2008a) et les ruminants (Wertz-Lutz *et al.*, 2006). Néanmoins, les résultats restent contradictoires (Roche *et al.*, 2008a). En effet, Iqbal *et al.* (2006) et Roche *et al.* (2008b) ne trouvent aucun effet de l'injection de ghréline intrapéritonéale ou intraveineuse sur les quantités ingérées chez le mouton et la vache laitière, tandis que Wertz-Lutz *et al.* (2006) trouvent chez le bœuf une augmentation de la quantité ingérée dans l'heure qui suit l'injection. Cette hormone jouerait le rôle de signal périphérique pour initier un repas (Roche *et al.*, 2008a). Elle est produite de façon pulsatile et Sugino *et al.* (2004) ont montré que les pulses préprandiaux sont plus élevés chez des moutons nourris deux fois par jour que chez les moutons nourris quatre fois par jour. Ce résultat pourrait refléter une plus grande sensation de faim chez les animaux nourris moins souvent. La ghréline semble également impliquée dans le stockage des réserves et aurait donc aussi un rôle indirect sur la prise alimentaire (Roche *et al.*, 2008a). La régulation de sa sécrétion est mal connue. La photopériode l'influencerait (Roche *et al.*, 2008a).

L'**obestatine**, découverte en 2005 (Zhang *et al.*, 2005), serait un peptide anorexigène (Roche *et al.*, 2008a). Très peu d'études sont disponibles sur les ruminants.

La **satiétine**, hormone isolée chez l'humain en 1979 (Knoll, 1979), est anorexigène. Elle a également été purifiée chez le rat et le bovin (Nagy, 1994). Elle agirait dans le cerveau, notamment dans les noyaux impliqués dans la prise alimentaire (Rowland *et al.*, 1996). Elle a peu été étudiée chez les ruminants.

D'autres hormones gastro-intestinales participent à la régulation de la prise alimentaire. Les **cholécystokinines (CCK)** et notamment l'octopeptide terminal (CCK8), le **gastric inhibitory polypeptide ou glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP)**, l'**entéroglucagon** sont des inhibiteurs de la prise alimentaire et sont secrétés au cours du repas chez le ruminant (Dulphy et Faverdin, 1987). D'autres peptides gastro-intestinaux inhibent la prise alimentaire tels que la **bombésine** (Dulphy et Faverdin, 1987) et les **glucagon-like peptide (GLP-1 et GLP-2)** (Burrin *et al.*, 2003). Le GIP et les GLP sont tous de la famille du glucagon, dérivés du pro-glucagon produit dans le pancréas, les intestins et le cerveau (notamment le noyau du tractus solitaire) (Burrin *et al.*, 2003).



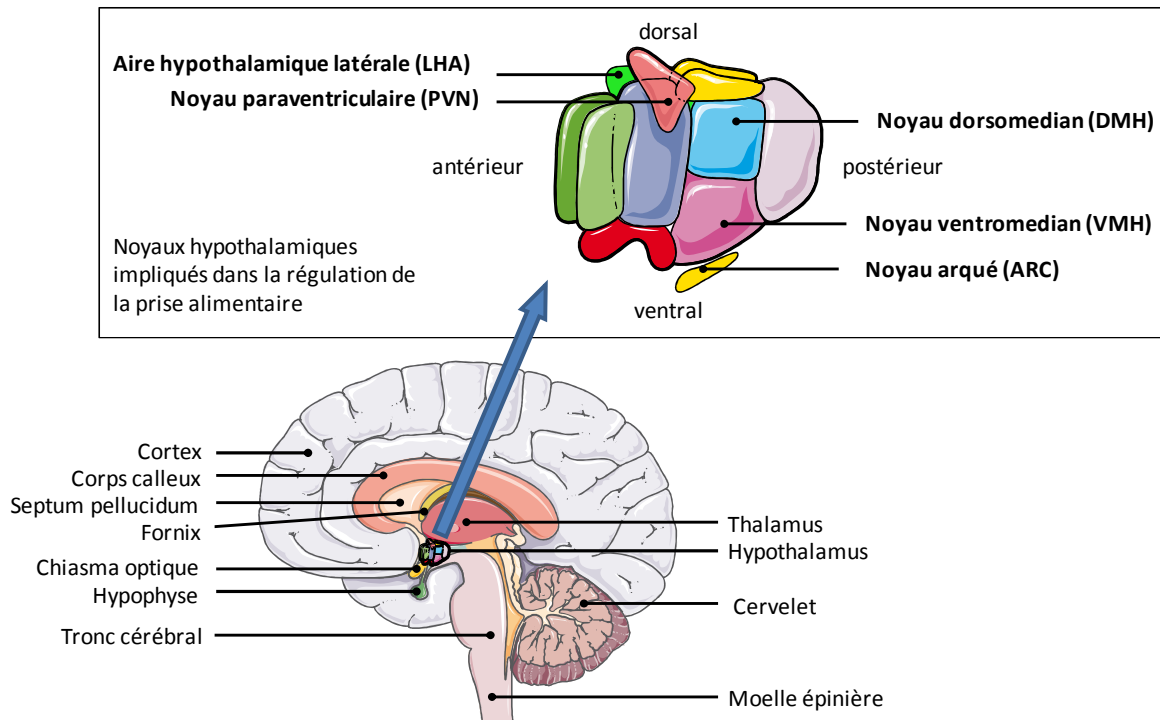
Les hormones sexuelles sont également impliquées. Des injections d'**œstrogènes** chez des ruminants diminuent la prise alimentaire (revue d'Ingvarsen et Andersen, 2000). La **progestérone** agirait indirectement en bloquant les effets des œstrogènes (revue d'Ingvarsen et Andersen, 2000). De plus, Clarke *et al.* (2001b) ont montré que la diminution de la prise alimentaire est moins sensible à l'injection de leptine chez des béliers castrés par rapport à des brebis ovariectomisées au printemps. Ces résultats suggèrent une interaction entre la photopériode, la leptine, les stéroïdes sexuels

Ces hormones agissent dans le système nerveux central.

### Régulation centrale de la prise alimentaire

Une description détaillée des structures cérébrales impliquées dans la régulation de la prise alimentaire a été mise en annexe 2.

Les messages nerveux et hormonaux, mis en jeu lors de l'ingestion, sont intégrés au niveau du système nerveux central, directement dans l'hypothalamus ou via des noyaux du tronc cérébral. Les informations sensorielles provenant des mécano- et chemorécepteurs du tractus digestif et des viscères abdominaux sont acheminées via le nerf vague jusqu'au tronc cérébral. Les noyaux du tronc cérébral relaient les informations sensorielles à l'**hypothalamus**, principale structure cérébrale régulatrice de la prise alimentaire et de la balance énergétique (Baile et Della-Fera, 1981). Celui-ci intègre ces informations sensorielles ainsi que des informations provenant du cortex et du système limbique (système impliqué dans les émotions) qui jouent un rôle dans le déclenchement de la faim et de la satiété. L'hypothalamus est situé à la base du diencephale, il est limité par le chiasma optique à l'avant, par le mésencéphale à l'arrière et se trouve au-dessous du thalamus (Figure 7). Il est constitué de plusieurs noyaux dont certains ont un rôle dans la régulation de la prise alimentaire (Figure 7).



**Figure 7** : Schéma du cerveau humain et situation de l'hypothalamus. Dans l'encart sont détaillés les noyaux hypothalamiques ayant un rôle dans la prise alimentaire. D'après le site <http://www.servier.fr>

Ces noyaux sont interconnectés (Annexe 2) et leurs neurones et ceux de régions extra-hypothalamiques, expriment des neuropeptides orexigènes, qui stimulent la prise alimentaire, et anorexigènes, qui l'inhibent (Chaillou et Tillet, 2005). Ces neuropeptides ne seraient pas seulement impliqués dans la régulation du comportement alimentaire mais aussi notamment dans la régulation de la fonction de reproduction (Qi *et al.*, 2008). Parmi les principaux neuropeptides orexigènes on trouve, l'agouti-related peptide (AgRP), la melanin-concentrating hormone (MCH), le neuropeptide Y (NPY) et les orexines (ORX). Les principaux neuropeptides anorexigènes sont le cocaine-amphetamine regulated transcript (CART), la cholécystokinine (CCK), la corticotropin releasing hormone (CRH), l'alpha-melanocyte-stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH), la pro-opiomelanocortine (POMC) et la somatostatine.

Mechanical and chemical cues from the digestive tract and endocrine glands on one hand and the brain on the other hand control short term regulation of food intake (from hunger to satiety). Signals such as ruminal distension, volatile fatty acid concentrations, pH and changes in the osmolarity of body fluids also play a role.

A wide range of hormones are involved in food intake behaviour regulation, most of them being anorexigenic (inhibiting intake).

The hypothalamus is the most important brain structure involved in the regulation of food intake. It produces orexigen and anorexigen neuropeptides which stimulate or inhibit intake, respectively.

#### 3.4.4. *Ontogénie des structures impliquées dans la prise alimentaire chez le fœtus et le jeune ruminant*

La régulation du comportement alimentaire chez le jeune non sevré n'a pas été beaucoup étudiée chez les ruminants. Chez les ovins, l'hypothalamus est actif en fin de gestation et sa maturation a également lieu en fin de gestation (Matthews et Challis, 1996). Dickinson *et al.* (2008) ont montré qu'un neuropeptide hypothalamique (l'orexine A), impliqué entre autres dans la régulation de la faim, est présent durant le dernier tiers de gestation et à la naissance chez l'agneau. L'un des principaux régulateurs cérébraux de la prise alimentaire est donc actif dès la naissance chez les ovins. De plus, Adam *et al.* (2008) ont montré que les gènes d'autres neuropeptides régulateurs de la prise alimentaire chez l'adulte (NPY, POMC, CART) étaient exprimés dans l'hypothalamus ovin à 81 jours de gestation. Les récepteurs à l'insuline et à la leptine sont également exprimés à ce stade (Adam *et al.*, 2008). Les neuropeptides NPY, AgRP, POMC et CART et le récepteur à la leptine OB-Rb sont également exprimés à 140 et 150 jours de gestation (Mühlhäusler *et al.*, 2004). L'expression de POMC, AgRP et NPY et de leurs récepteurs augmente entre la naissance et l'âge de 1 an (Sébert *et al.*, 2009). Enfin, à la naissance, les peptides intestinaux impliqués dans la régulation de la prise alimentaire participent à la maturation du tractus digestif, également favorisée par l'ingestion de colostrum (Blum, 2006).

Les signaux mécaniques et métaboliques conduisant à la satiété chez les adultes ruminants ne peuvent pas être retrouvés chez les jeunes. En effet, le jeune ruminant non sevré peut être considéré comme un monogastrique : le lait, à partir de l'œsophage, ne passe pas par le rumen et le réseau mais rejoint directement le feuillet grâce à la gouttière œsophagienne (Mornet et Espinasse, 1977). La caillette est le compartiment gastrique le plus développé chez le jeune non sevré. Ainsi, la distension du rumen, le pH ruminal et la concentration en acides gras volatils du rumen ne peuvent pas jouer de rôle chez le jeune. Les neuropeptides et hormones régulant la prise alimentaire chez l'adulte étant présents dès la fin de la vie foetale, la régulation de la prise alimentaire chez le jeune non sevré semble différer de l'adulte ruminant seulement au niveau de ces signaux spécifiques aux ruminants.

The main structures and peptides which regulate intake in adults are functional and already expressed in late gestation in fetuses. However, the control of feed intake in ruminant offspring before weaning is probably similar to that observed in monogastrics.

### 3.4.5. Programmation de l'appétit

Des expériences de restriction protéique maternelle pendant différentes périodes de la gestation et de la lactation ont été effectuées chez les rongeurs. Elles montrent que les jeunes issus de femelles restreintes deviennent hyperphagiques à l'âge adulte (Vickers *et al.*, 2000; Coupé *et al.*, 2009; Orozco-Sólis *et al.*, 2009). Si ces jeunes sont nourris avec un régime hyperlipidique, ces effets sont exacerbés (Vickers *et al.*, 2000). Les effets varient selon le sexe des jeunes, l'âge auquel ils sont testés et le moment de la restriction (Bellinger *et al.*, 2004; Bellinger et Langley-Evans, 2005; Bellinger *et al.*, 2006). Deux études chez le rat ont montré que l'hyperphagie constatée après restriction protéique pendant la gestation et la lactation, s'accompagnait de la diminution de l'expression hypothalamique des peptides anorexigènes CART et POMC, et d'une augmentation de l'expression des peptides orexigènes AgRP et NPY, chez les jeunes âgés de 35 et 60 jours (Orozco-Sólis *et al.*, 2009) et à 22 et 25 semaines (Coupé *et al.*, 2009), mais pas ensuite.

Chez les ovins, les préférences alimentaires postnatales peuvent être orientées par l'expérience vécue pendant la vie foetale : si on expose le fœtus entre 50 et 130 jours de gestation à de l'huile essentielle d'origan en mélangeant l'huile à la nourriture maternelle, il préférera le concentré imprégné de cette odeur dans un test de choix à l'âge de 3 et 7,5 mois (Simitzis *et al.*, 2008). Dans une étude chez l'agneau, des agneaux issus de mères restreintes en fin de gestation ingéraient moins de lait quotidiennement que des agneaux témoins (Geraseev *et al.*, 2006). En revanche, une autre expérience de restriction alimentaire en fin de gestation n'avait pas mis en évidence de différences de quantités ingérées entre agneaux issus de mères restreintes et agneaux témoins après le sevrage (Sibbald et Davidson, 1998). Enfin, une expérience récente chez le mouton a montré qu'une restriction alimentaire maternelle en milieu de gestation (ration couvrant 50% des recommandations de 30 à 80 jours de gestation) entraînait, chez les agneaux âgés d'un an, une diminution de la prise alimentaire sur 24h lorsqu'ils étaient placés en conditions qualifiées d'obésogènes (concentré à volonté et diminution de l'activité physique) (Sébert *et al.*, 2009). Cette diminution de l'ingestion ne s'accompagnait pas d'une modification de l'expression des facteurs orexigènes (AgRP, NPY et son récepteur) ou anorexigènes (POMC et ses récepteurs) étudiés bien qu'à l'âge 7 jours, l'expression de NPY, mais pas des autres facteurs, ait été réduite. Chez le mouton, une seule étude a montré une augmentation de l'expression du neuropeptide orexigène NPY dans l'hypothalamus foetal suite à une restriction alimentaire maternelle en fin de gestation (Warnes *et al.*, 1998). Cependant, aucun lien avec la prise alimentaire n'a été établi.

D'autres mécanismes semblent entrer en jeu dans cette programmation de l'appétit. Des expériences chez le rat montrent qu'une restriction protéique maternelle pendant la gestation et/ou la lactation modifie la vascularisation du cerveau, augmente la population neuronale dans PVN et VMH mais la part de neurones intervenant dans la régulation de la

prise alimentaire (NPY, CCK) diminue (Langley-Evans *et al.*, 2005). En conséquence, les auteurs supposent que la programmation de l'appétit peut se faire par une modification des structures impliquées dans la régulation de la prise alimentaire et notamment une modification de l'expression des neuropeptides hypothalamiques (El-Haddad *et al.*, 2004; Langley-Evans *et al.*, 2005). En effet, l'expression de plusieurs gènes hypothalamiques est programmée par une restriction protéique pendant la gestation chez le raton et la plupart de ces gènes sont ceux qui codent pour les peptides régulateurs de la prise alimentaire (Langley-Evans *et al.*, 2005). L'expression des gènes hypothalamiques codant les récepteurs impliqués dans la perception du goût est également modifiée.

Certains auteurs pensent que la leptine jouerait un rôle dans la modification de l'expression des neuropeptides hypothalamiques (revue de El-Haddad *et al.*, 2004). En effet, chez l'adulte, la leptine diminue la prise alimentaire. Chez l'humain et le rat, elle agirait en réduisant l'expression du neuropeptide orexigène NPY et en stimulant le système de la mélanocortine ( $\alpha$ -MSH, inhibiteur chez le rat), au niveau de l'ARC (revue de El-Haddad *et al.*, 2004). Ce système serait également présent chez le mouton. De plus, l'injection de leptine dans le cerveau de moutons adultes diminue à la fois l'expression de NPY dans l'ARC et la prise alimentaire (Henry *et al.*, 1999).

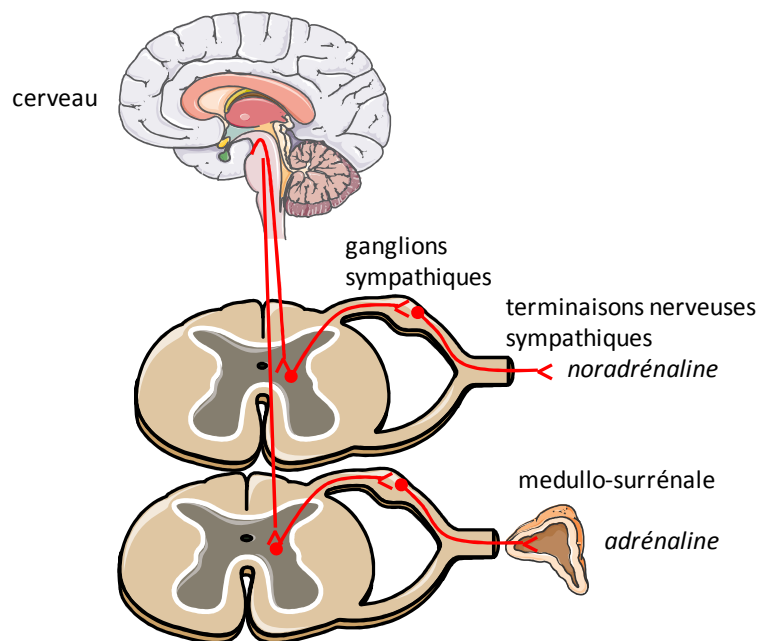
En cas de diminution du flux sanguin utérin par embolisation des artères utérines, une augmentation de la leptinémie fœtale a été observée chez l'ovine (Buchbinder *et al.*, 2001). Cette augmentation de la leptinémie pourrait être due à l'hypoxie causée par l'embolisation ou consécutive à l'augmentation de l'activité de l'axe corticotrope. En effet, chez le fœtus ovin, la concentration plasmatique en leptine est corrélée négativement à la pression partielle en oxygène et positivement avec la concentration en cortisol (Forhead *et al.*, 2002). Il a été suggéré qu'un excès de leptine durant les périodes critiques de développement pourrait diminuer de façon permanente l'expression des récepteurs à la leptine dans les neurones de l'ARC synthétisant NPY (revue de El-Haddad *et al.*, 2004). Cette leptino-résistance pourrait entraîner une sécrétion de NPY incontrôlée et une hyperphagie chez l'animal après la naissance. Cependant, dans des conditions de sous-nutrition maternelle, il est rare d'observer une hyperleptinémie fœtale chez l'ovine (revue de Forhead et Fowden, 2009).

L'ensemble de ces données ne permet donc pas de conclure sur les mécanismes précis de la programmation de l'appétit. Des études supplémentaires restent donc nécessaires chez le fœtus et chez le jeune.

Studies in rodents and sheep showed that maternal feed restriction during pregnancy led to modifications in feed intake. Modifications in the expression of hypothalamic neuropeptides involved in appetite regulation during foetal development could lead to the programming of postnatal appetite.

### 3.4.6. Stress et comportement alimentaire

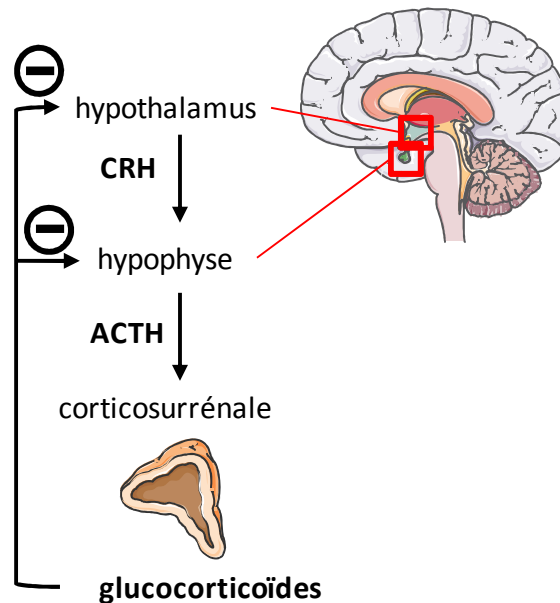
Un **stress** peut être défini comme une réponse générale, non spécifique, de l'organisme à tout facteur qui submerge ou menace de submerger les capacités de l'organisme à maintenir l'homéostasie (Torres et Nowson, 2007). En réponse au stress, le **système catécholaminergique** est mis en jeu (Figure 8), ce qui permet à l'animal de faire face en fuyant ou en agressant. L'**adrénaline** est libérée par la médullo-surrénale et les terminaisons nerveuses sympathiques libèrent la **noradrénaline**. L'ensemble entraîne une augmentation de la fréquence et de la force des contractions cardiaques, une augmentation de la libération des globules rouges par la rate, une augmentation de la glycogénolyse et une vasodilatation qui privilégie l'irrigation cérébrale et musculaire (Dantzer et Mormède, 1979).



**Figure 8** : Le système catécholaminergique : les stimulations de l'environnement activent le système nerveux sympathique, ce qui aboutit à la libération de noradrénaline par les terminaisons nerveuses sympathiques et d'adrénaline par les médullo-surrénales. D'après le site <http://www.servier.fr>

Le syndrome général d'adaptation (Selye, 1950) apparaît ensuite. Il se déroule en trois phases : une réaction d'alarme où les glucocorticoïdes sécrétés par la corticosurrénale prolongent et complètent les effets des catécholamines, une phase de résistance où l'animal s'adapte en trouvant un nouvel équilibre, et une phase d'épuisement qui précède la mort de l'animal si l'action de l'agresseur est prolongée et si aucun équilibre ne s'instaure. Au niveau physiologique, l'**axe corticotrope** est activé (Figure 9) : la corticolibérine (ou **Cortico-Releasing Hormone (CRH)** ou **Cortico-Releasing Factor (CRF)**) sécrétée par l'hypothalamus stimule la sécrétion de l'**hormone adénocorticotrope (ACTH)**

par l'adénohypophyse qui, à son tour, stimule la production de cortisol par le cortex surrénalien.



**Figure 9** : L'axe corticotrope : l'hypothalamus libère de la Cortico-Releasing Hormone (CRH) (ou corticolibérine ou Cortico-Releasing Factor (CRF)) qui stimule la sécrétion d'hormone adénocorticotrope (ACTH). Cette libération d'ACTH dans la circulation stimule la sécrétion de glucocorticoïdes par le cortex surrénalien et notamment du cortisol. Les glucocorticoïdes exercent un rétrocontrôle négatif sur leur production au niveau de l'hypophyse et l'hypothalamus. D'après le site <http://www.servier.fr>

Chez les ruminants, il semble que les glucocorticoïdes soient peu ou indirectement (par l'intermédiaire du métabolisme énergétique) impliqués dans la régulation de la prise alimentaire dans les conditions normales (revue de Gallouin et Focant, 1980). En cas de stress, la noradrénaline et la CRH suppriment l'appétit et par la suite le cortisol stimule la prise alimentaire pendant la période de récupération chez l'homme (revue de Torres et Nowson, 2007). Les effets du stress sur la prise alimentaire dépendent de l'intensité de l'agent stressant et de la nourriture proposée. Chez le rat, un stress important ou modéré appliqué de manière aiguë ou chronique réduit la prise alimentaire (revue de Torres et Nowson, 2007). Un stress de faible intensité n'a pas d'effet sur la prise alimentaire si la nourriture présentée a des caractéristiques hédoniques limitées mais augmente la prise alimentaire si la nourriture est très appétante (revue de Torres et Nowson, 2007).

Les interactions entre le stress et la prise alimentaire ont été rarement étudiées chez les ruminants à notre connaissance, mis à part les effets de la chaleur (revue de Silanikove, 2000) et de la restriction alimentaire (Melin *et al.*, 2007) ou en eau (Misra et Singh, 2002). On sait cependant que des injections répétées de glucocorticoïdes pendant plusieurs

semaines augmentent la prise alimentaire chez les ruminants (Baile et Della-Fera, 1981; Henry *et al.*, 2010).

Les études des effets de la restriction alimentaire en fin de gestation sur la réactivité de l'axe corticotrope et la réactivité émotionnelle de la progéniture sont aussi très rares. Plusieurs travaux montrent que la réactivité de l'axe corticotrope d'une part, et la réaction comportementale face à un stress, d'autre part, peuvent être augmentées chez la progéniture suite à une restriction alimentaire maternelle pendant la gestation. Bloomfield *et al.* (2003) ont montré une augmentation de la concentration plasmatique en ACTH mais pas en cortisol, suite à une injection de CRH et vasopressine chez des brebis de 30 mois, lorsque leurs mères avaient été sévèrement sous-nourries de 105 à 115 jours de gestation. Ce résultat n'a pas été retrouvé chez les femelles issues de mères restreintes de 105 à 125 jours de gestation, soit 10 jours de plus (Bloomfield *et al.*, 2003). Hawkins *et al.* (2000) ont observé une augmentation des concentrations en ACTH et cortisol après un challenge à CRH et vasopressine à 80 jours chez des agneaux issus de mères sous-nourries en début-milieu de gestation. De plus, la réactivité émotionnelle a été augmentée chez l'agneau âgé de 18 mois suite à une restriction alimentaire maternelle de 50%, par rapport aux témoins, entre le premier et le 95<sup>ème</sup> jour de gestation (Erhard *et al.*, 2004). En revanche, des tests de réactivité émotionnelle effectués à 2 et 5 mois sur des agneaux nés de brebis sous-nourries en début ou milieu de gestation (de 1 à 30 jours ou de 31 à 100 jours de gestation) n'ont pas montré de différence comportementale avec des agneaux nés de mères témoins (Simitzis *et al.*, 2009).

En conclusion, la restriction alimentaire durant la gestation influence à la fois la réactivité de l'axe corticotrope impliqué dans la réaction au stress, la réaction comportementale au stress et la prise alimentaire. Des interactions entre prise alimentaire et stress ayant été montrées chez certaines espèces, il semble intéressant de prendre en compte cet aspect dans l'étude des conséquences de la restriction alimentaire maternelle sur le jeune. Pourtant, les interactions entre stress et prise alimentaire suite à une restriction alimentaire maternelle pendant la gestation n'ont jamais été testées à notre connaissance.

In response to stress, the sympatho-adrenomedullary (SAM) system is activated followed by HPA axis activation. Even though mechanisms remain unidentified, stress can modify feed intake in rats and humans. An increase in feed intake is generally observed when animals are exposed to mild stress whereas a decrease is observed with severe stress. Some parameters can modulate the interaction between stress and feed intake such as food palatability.

Maternal feed restriction during gestation can induce modifications in the HPA axis response to CRH and vasopressin challenges in lambs and emotional reactivity can be



impaired. Moreover, maternal feed restriction during gestation can affect feeding behaviour.

It could be therefore interesting to investigate interactions between stress and feeding behaviour in offspring born to feed-restricted gestating dams.

**4. CONSEQUENCES OF FEED RESTRICTION DURING PREGNANCY ON  
OFFSPRING DEVELOPMENT IN SMALL RUMINANTS**

CONSEQUENCES D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LA GESTATION SUR LE  
DEVELOPPEMENT DU JEUNE RUMINANT

A soumettre à Animal



## **Consequences of feed restriction during pregnancy on offspring development in small ruminants**

B. Laporte<sup>1,2,3</sup>, C. Duvaux-Ponter<sup>1,2</sup>, S. Roussel<sup>1,2</sup>, A.A. Ponter<sup>4</sup>, P. Chavatte-Palmer<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institut National de la Recherche Agronomique, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris cedex 05, France

<sup>2</sup>AgroParisTech, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris cedex 05, France

<sup>3</sup>Institut National de la Recherche Agronomique, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

<sup>4</sup>Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, 7 avenue du Général de Gaulle, F-94700 Maisons-Alfort, France

Corresponding author: Bérengère Laporte. E-mail: berengere.laporte@jouy.inra.fr

### **Abstract:**

The effects of maternal feed restriction during pregnancy on offspring have been widely studied in mammals. In small ruminants, most of the studies deal with growth, physiology and metabolism but rarely with behaviour and neuroendocrine modifications in offspring after maternal restriction. These studies indicate direct and indirect effects of maternal feed restriction. These changes can occur both over the long or short term according to several factors, mainly the timing and the duration of restriction. Programming mechanisms proposed in humans and rodents, such as excessive glucocorticoid exposure and epigenetic processes, have rarely been explored in small ruminants.

**Keywords:** undernutrition, ruminants, foetal programming

### **Introduction**

Since the pioneering work of Barker and Hales in the early nineties, nutrient supply during prenatal life has been extensively shown to affect foetal development and to induce subsequent consequences in adult life (Hales and Barker, 1992, Barker *et al.*, 1994). Observations in the human population following the Dutch famine in 1944 have provided epidemiological data demonstrating the link between foetal undernutrition and the development of diseases in human adult life (Ravelli *et al.*, 1998, Painter *et al.*, 2005). Metabolic programming refers to a permanent alteration in physiological and metabolic processes following a stimulus or an insult during critical periods of development, such as foetal or neonatal life (Waterland and Garza, 1999, Bertram and Hanson, 2002) and is at the inception of the creation of the Developmental Origins of Health And Disease scientific society (DOHAD).

In order to understand the underlying mechanisms of metabolic programming, animal models have been widely developed (Armitage *et al.*, 2004, Ergaz *et al.*, 2005, Vuguin, 2007). So far, most of the studies have used rodents and sheep, although data are also available in other domestic species. If physiological and pathological effects of programming are being intensively studied, there is currently much less data available on the behavioural consequences of metabolic programming.

Sheep are often used as models for obstetrical and neurobiological studies of fetal development because of their long *in utero* development compared to rodents and because of the delivery of a precocious young (Carter, 2007). Like in humans, the maximal brain growth spurt occurs *in utero* in contrast to non-precocious species (e.g. rats, mice, rabbits) (Dobbing and Sands, 1979). In addition, their large size enables *in utero* monitoring and surgery.

Ruminant species are therefore good models to study the effects of feed restriction during pregnancy on offspring development. In physiological conditions in ruminants, energy needs increase during gestation but may not be entirely covered by feed supply in late-gestation due to reduced rumen volume because of the growing foetus(es). Food intake is decreased and animals tend to mobilize their body reserves (Morand Fehr and Sauvant, 1988). Ruminants can therefore be physiologically underfed and in negative energy balance in late-pregnancy and early-lactation.

This paper summarises the effects of feed restriction during pregnancy on offspring development in small ruminants (sheep and goats) with emphasis being placed on energy metabolism and behaviour. Rodent and primate references were used when information on ruminants was not available.

## **Feed restriction: neuroendocrine and metabolic consequences in ruminants**

### ***Neuroendocrine responses to feed restriction: basic mechanisms***

Energy balance and feeding behaviour are regulated through the central nervous system and in particular the hypothalamus, in response to peripheral energy availability (Della-Fera and Baile, 1984). In sheep, the ventromedial and lateral nuclei are involved in satiety and hunger responses, respectively (Della-Fera and Baile, 1984) through the production of neuropeptides which regulate food intake. Orexigenic neuropeptides stimulate food intake while anorexigenic neuropeptides inhibit it (Chaillou and Tillet, 2005). Other hypothalamic nuclei and brain stem nuclei are also involved (Forbes, 1996, Qi *et al.*, 2008).

Because steroid hormones may interfere with food intake responses at the hypothalamic level, basic mechanisms are usually studied in neutered animals. In general, in restricted ovariectomized or castrated sheep feed restriction either induces an increase in orexigenic peptide expression and secretion (NPY, galanin, AgRP) (Ober and Malven, 1992, McShane *et al.*, 1993, Adam *et al.*, 2002) or concentrations remain unchanged (Iqbal *et*

*al.*, 2003). In contrast, anorexigenic peptide expression is either reduced (somatostatin, CART, POMC) or remains unchanged (POMC or CCK mRNA) in undernourished sheep (Chaillou and Tillet, 2005). Peptide secretion also varies according to the area of the hypothalamus studied: enkephalin secretion is lower in the paraventricular nucleus (**PVN**) and the ventromedial hypothalamus (**VMH**) but higher in the periventricular area in restricted ovariectomized ewes (Henry *et al.*, 2000).

### ***Metabolic effects of feed restriction in ruminants: basic mechanisms***

The main source of energy in ruminants is provided by the ingestion of carbohydrates which are fermented to Volatile Fatty Acids (**VFA**: mainly acetate, propionate and butyrate) in the rumen so that glucose supply comes mainly from neoglucogenesis in the liver and kidneys. Propionate, acetate and butyrate are the major precursors for glucose, fatty acids and ketone bodies, respectively (Brockman and Laarveld, 1986). In case of a decrease in glucose supply (i.e. feed restriction), energy supply through ruminal VFA production and absorption drops (Chilliard *et al.*, 1998) and body reserves are subsequently mobilized. Protein is catabolised to produce glucose. Protein catabolism produces urea and amino acids, some of them being glucose precursors (Lobley, 1992). When dams are underfed during pregnancy, despite a possible increase in the conversion of propionate into glucose, amino acids become the main limiting substrate for neoglucogenesis, particularly in late-gestation (Rémésy and Demigne, 1979).

There are two sources of body reserves: the main one is triglyceride and to a lesser extent glycogen. When glucose supply drops, body stores are mobilized (figure 1). First, triglycerides are metabolized, leading to a rise in plasma Non Esterified Fatty Acids (**NEFA**) and glycerol concentrations, the latter being converted to glucose via neoglucogenesis. This source of glycerol accounts for only 20% of glucose carbon production (Chilliard *et al.*, 1998). NEFA enter the Krebs cycle as AcetylCoA and can be converted to ketone bodies (beta-hydroxybutyrate, **BHB** and aceto-acetate) in the liver. Ketone body production is therefore shifted from the rumen (butyrate transformation) to the liver (NEFA transformation) and consequently increases. Ketones may be used as alternative sources of energy to glucose in some tissues. Ketosis, however, is a pathological condition which can lead to animal death, particularly in late gestation, if not treated (see Rook, 2000 for review).

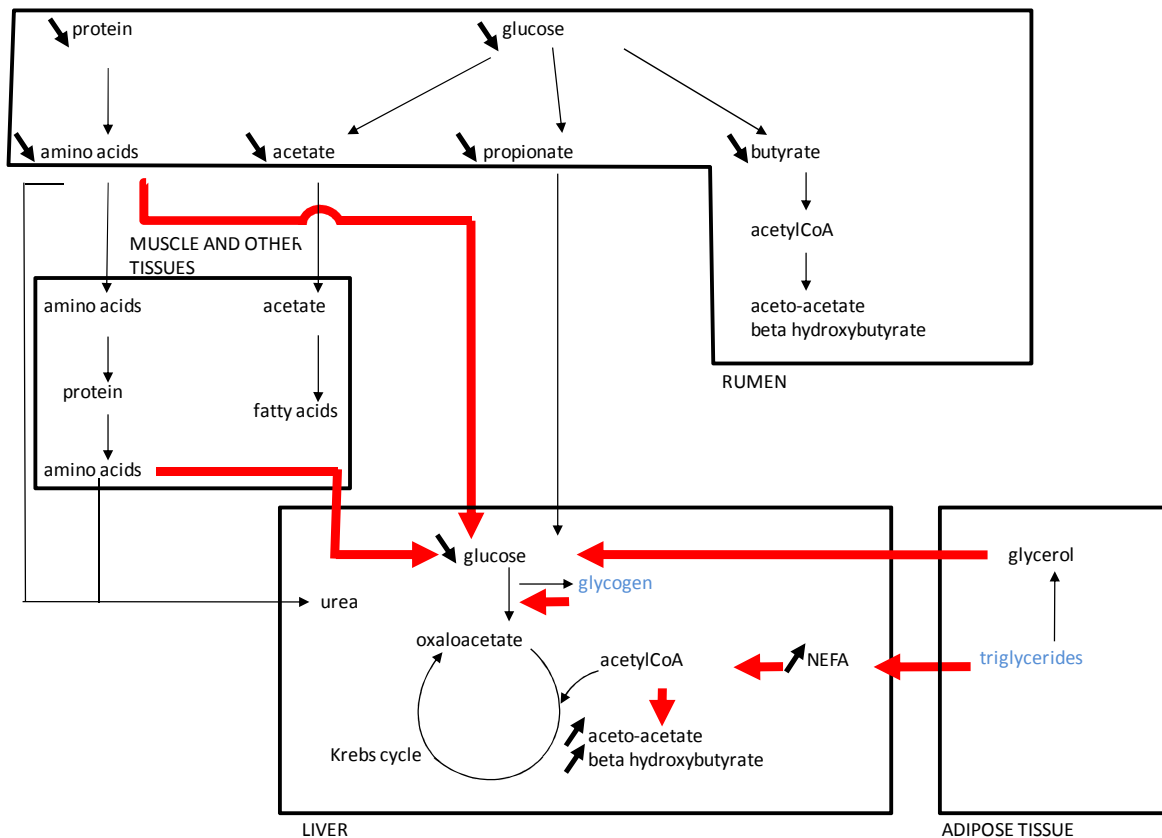


Figure 1: Simplified scheme of metabolic adaptations (red arrows) to maternal feed restriction in ruminants: in case of insufficient energy supply, protein, glucose and volatile fatty acid supply decreases in the rumen. Protein catabolism increases and body reserves (in blue) are mobilized to produce glucose. Ketone production shifts from the rumen to the liver.

Metabolic adaptations to feed restriction are accompanied by hormonal adaptations aimed at maintaining homeostasis. Lipid mobilization, proteolysis and neoglucogenesis are favoured through a decrease in the synthesis of hormones that are anabolic (insulin, thyroid hormones, i.e. triiodothyronine –**T3**– and thyroxine –**T4**–, and IGF-1). In contrast, the synthesis of hormones that promote proteolysis, lipolysis and neoglucogenesis, is increased (adrenaline, cortisol), with the noticeable exception of glucagon (Chilliard *et al.*, 2001). Glucagon secretion, which promotes hepatic neoglucogenesis from amino acid utilization, is indeed decreased in undernourished animals (Chilliard *et al.*, 1998). Chilliard *et al.* (2001) suggested that dynamic interactions between leptin, insulin and cortisol could play an important role in ruminant adaptations to underfeeding and refeeding (figure 2). Hypoglycaemia induces hypoinsulinaemia which in turn promotes ketogenesis. Feed restriction also leads to a decrease in leptin concentrations, which favours an increase in cortisol, which induces metabolic adaptations (activation of neoglucogenesis, protein mobilization...) and stimulates feeding behaviour. Refeeding leads to a rise in insulin levels which, together with high cortisol levels, stimulates leptin secretion. Leptin could

normalize cortisol and insulin levels (Chilliard *et al.*, 2001). However, no differences in plasma leptin concentrations between control and late-pregnancy restricted goats (Celi *et al.*, 2008, 20% reduction of requirements) or ewes (Tygesen *et al.*, 2008b, 50% nutrient restriction) were found.

According to the duration and intensity of restriction, these adaptations lead to maternal insulin-resistance associated with a reduction in GLUT 4 in maternal skeletal muscle and perirenal adipose tissue (Robinson *et al.*, 1999). GLUT 4 (SLC2A4) is an insulin dependent transporter found in adipose tissue and striated muscle. It is responsible for insulin-regulated glucose disposal. As GLUT 4 is reduced in maternal tissues, glucose availability is subsequently increased for foetal growth in pregnant animals.

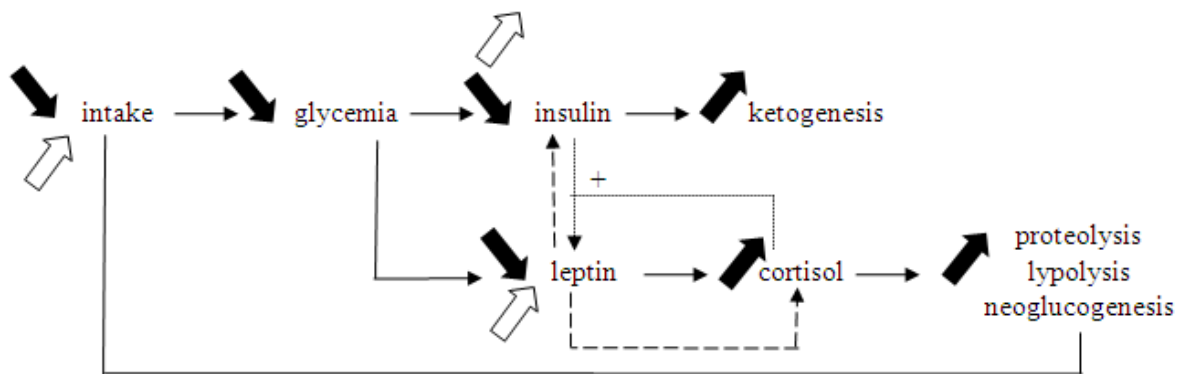


Figure 2: Chilliard *et al.* (2001) suggested that dynamic interactions between leptin, insulin and cortisol could play an important role in ruminant adaptation to underfeeding and refeeding. Solid arrows: hypoglycaemia induces hypoinsulinemia which in turn promotes ketogenesis. Undernutrition also leads to a decrease in leptin concentrations, which favours an increase in cortisol, which induces metabolic adaptations (activation of neoglucogenesis, protein mobilization...) and stimulates feeding behaviour. Open arrows: increased feed intake leads to a rise in insulin levels which, together with high cortisol levels, stimulates leptin secretion. Leptin normalizes cortisol and insulin levels.

### Foetal nutrition in ruminants

Interactions between the dam and foetus have a “Russian doll” structure: dam, utero-placental unit and foetus cooperate rather than act independently (Schröder, 2003). The placenta is crucial as an intermediary between mother and foetus. Substrate (nutrient and oxygen) transfer from dam to foetus depends mainly on uterine and umbilical blood flow, concentration gradient between maternal and foetal blood and placental permeability (Père, 2003). In contrast to the hemochorial placenta found in humans, the ruminant placenta is synepitheliochorial: the uterine epithelium is modified into a foetomaternal syncytium formed by the migration and fusion of the foetal cells and those of uterine epithelium (Wooding, 1992). Moreover, the ruminant placenta is cotyledonary, i.e. the materno-foetal



interface is aggregated into a species-specific number of placentomes. A placentome is a tuft of foetal villi (a cotyledon) in intimate contact with maternal crypts (a caruncle) (Wooding, 1992). This structure makes the ruminant placenta less permeable to large molecules than human and rodent placentae (Père, 2003).

Glucose is the main foetal substrate, used essentially for brain function and growth (Rémésy and Demigne, 1979). The transporter proteins GLUT 1 and GLUT 3 transfer glucose across the placenta through facilitated diffusion (Wooding *et al.*, 2005, Barry and Anthony, 2008). In ruminants, lactate is the other main foetal substrate and results from the conversion of glucose to lactate in the placenta (Bell and Bauman, 1997, Père, 2003). Ketones have been reported to cross the placenta in small amounts and are subsequently turned into lactate (Harding *et al.*, 1992, Harding, 2001). Under normal conditions, the contribution of ketones and fatty acids to foetal energy needs is almost negligible (Père, 2003).

In sheep, at the end of gestation, the placenta uses up to 60% of the glucose and oxygen taken up from the uterine circulation (Harding, 2001). Placental metabolism is also important in sheep for the supply of foetal amino acids (Battaglia and Regnault, 2001) and amino acid catabolism represents 20% of foetal oxidative metabolism (Monget *et al.*, 2001). Essential amino acids are transported across the placenta to the foetal circulation. Non-essential amino acids are produced by the foetus or the placenta or transported by the placenta (Battaglia and Regnault, 2001).

Hormones present in the foetal circulation can originate from the placenta or the foetus itself. The hormonal environment during gestation is dependent on the stage of pregnancy and varies in response to the nutritional context and to other stimuli (Fowden and Forhead, 2004). The major hormones of pregnancy are progesterone (maintenance of pregnancy), placental lactogen and growth hormone (foetal growth and nutrition), glucocorticoids (GCs) and prostaglandins (foetal maturation and parturition) (Redmer *et al.*, 2004, Lewis *et al.*, 2006). In contrast to what has been shown in humans and rodents, the sheep placenta does not produce (or produces negligible amounts) of leptin (Ehrhardt *et al.*, 2002). The foetus itself produces insulin and IGFs (growth), thyroid hormones (growth and differentiation), GCs (maturation and inhibition of growth in late pregnancy) (Fowden and Forhead, 2004). Maternal GCs are prevented from reaching the foetus through the activity of the enzyme 11- $\beta$  hydroxysteroid dehydrogenase type 2 (11- $\beta$ HSD2) which converts active cortisol into inactive cortisone in the placenta (Seckl *et al.*, 1995). This enzyme is present in the ovine foetal placenta and kidney by day 85 of pregnancy (Langlois *et al.*, 1995).

### ***Consequences of maternal restriction on placenta function and on the foetus***

There is a complex interaction between mother, placenta and foetus. The nutrients and oxygen are shared within the foeto-placental unit. Any modification to the foetal or the

placental side will affect the other. For the sake of understanding, the effects of maternal restriction in the dam are described first in the placenta and then in the foetus.

The effects of maternal restriction on placental growth in sheep have been thoroughly reviewed by Fowden *et al.* (2006). Observations from different studies indicate that early maternal feed restriction induces placental overgrowth whereas placental weight is decreased compared to controls when feed restriction takes place in the third trimester of pregnancy (Fowden *et al.*, 2006). Controversial observations were obtained when feed was restricted in mid-pregnancy. Some authors found an enlarged placenta at term when restriction occurred in early- or mid-pregnancy (Faichney and White, 1987, Symonds *et al.*, 2001). They suggested that this finding was due to an inhibition of the normal decline in placental mass up to term. In contrast, reduced placental weight after early- and mid-pregnancy feed restriction which involved foetal growth retardation was observed in late-pregnancy in sheep (McCrabb *et al.*, 1992, McMullen *et al.*, 2005). After refeeding, differences were no longer found in placental weight between control and restricted ewes, but the distribution of placentomes shifted towards the everted (more mature) phenotype (McMullen *et al.*, 2005). This phenotype (described in Ward *et al.*, 2006) was also observed in other studies in early- or mid-pregnancy restricted ewes (Clarke *et al.*, 1998, Osgerby *et al.*, 2002, Rumball *et al.*, 2008). Although oxygen exchange efficiency may have been improved (Rumball *et al.*, 2008), placental glucose delivery to the foetus was decreased (Fowden *et al.*, 2006). Indeed, maternal food restriction may affect placental structure and function, thereby affecting nutrient transfer capacity and the secretion of growth factors. Clarke *et al.* (1998) showed that only the weight of the foetal part of the placenta (cotyledon) and not the maternal part (caruncle) was reduced in restricted ewes and the DNA content of these placentae was also reduced.

It has been shown in mice that the foetus is able to increase placental nutrient transfer capacity to cover its needs (Constancia *et al.*, 2005). This increase in transfer capacity is reflected in an increase in the expression of placental glucose and amino acid transporters. Placental IGF-2 directly controls the supply of maternal nutrients to the foetus (Constancia *et al.*, 2005). The study of IGF-2 knockout mice allowed the demonstration of the action of this imprinted gene in the placenta (Constancia *et al.*, 2005).

Placental growth and placental nutrient transfer capacities rely on the utero-placental vascular system (Reynolds and Redmer, 1995). Numerous studies showed that a decrease in uterine blood flow leads to a reduced placental weight and affect foetal development (McMillen *et al.*, 2001, Lang *et al.*, 2003). Some factors regulating transport between mother and foetus can be affected by maternal feed restriction in sheep. For instance, placental mRNA expression of VEGF, which is implicated in capillary growth, vascular permeability and placental blood flow regulation, was reduced after mid-pregnancy fasting (McMullen *et al.*, 2005). However, Newnham *et al.* (1991) found no modification of placental or umbilical blood flow velocity after feed restriction during mid-pregnancy in sheep.

In case of environmental disturbances in ruminants (i.e. maternal feed restriction), dam metabolism will shift to protect the foetus from these disturbances (Rook, 2000). When glucose supply decreases, placental lactogen and growth hormone are produced, which promote foetal IGF production. Maternal insulin resistance is induced, so that more nutrients are available in maternal circulation for the foetus (Robinson *et al.*, 1999, Harding, 2001). At the same time, the placenta glucose transfer capacity is enhanced (Robinson *et al.*, 1999). In one study, it was shown that in case of a rapid decrease in glucose supply, glucose and amino acids can even be taken up by the placenta from the foetal circulation for its own metabolism (Harding, 2001). Harding and Evans (1991) suggested that BHB in the foetal blood could be used as an alternative source of energy by the foetal brain in the case of a drop in glucose supply. Moreover, Faichney and White (1987) showed an increase in amino acid oxidation in the foetuses of restricted ewes, amino acids becoming the main substrate for endogenous hepatic neoglucogenesis. The reduction in foetal growth rate could be explained by the use of amino acids for energy supply instead of protein synthesis.

In general, when nutrient availability is reduced, the concentrations of anabolic hormones are also reduced (e.g. insulin, IGF-1, T4) while the concentrations of catabolic hormones are increased (e.g. cortisol, catecholamines, GH) in the foetal circulation (Fowden and Forhead, 2004). Decreased leptin mRNA levels in foetal adipose tissue have been observed in chronic hypoglycaemic and hypoinsulinemic ewes. However, plasma leptin concentrations do not seem to change with maternal feed restriction in the ovine foetus (Forhead and Fowden, 2009). Plasma leptin concentrations at birth are probably not regulated by maternal nutrition, at least during late-pregnancy, as Celi *et al.* (2008) found no differences in leptin levels in kids born to feed-restricted goats compared to control kids at birth.

Maternal feed restriction has been shown to lead to a decrease in 11- $\beta$ HSD2 activity or mRNA in rat and sheep placenta (Langley-Evans, 1996, Whorwood *et al.*, 2001) allowing increased levels of GCs to reach the foetus. The reduction in 11- $\beta$ HSD2 activity or mRNA was observed in sheep foetuses only when the restriction was long-lasting (more than 50 days, McMullen *et al.*, 2004). However, it was not associated with a modification in the foetal plasmatic cortisol:cortisone ratio (McMullen *et al.*, 2004). The placenta may be an important mediator in the effects of GCs on foetal growth since the direct administration of GCs to foetal sheep did not retard foetal growth whereas maternal administration did (Newnham *et al.*, 1999, Kerzner *et al.*, 2002).

### **Effects of dietary restriction during pregnancy on the offspring**

The effects of dietary restriction during pregnancy depend on various factors including time and severity of the restriction, but also post-natal conditions and breed. Most of the

studies deal with three types of effects: effects on growth, on physiology and metabolism and effects on behaviour.

### *Effects on growth*

*Growth rate.* Although one study in red deer hypothesized that a delay in foetal growth due to feed restriction during pregnancy could be compensated by a longer pregnancy (Asher *et al.*, 2005), most studies in ruminants did not report any differences in gestation length between controls and animals born to underfed dams. However, premature delivery was reported after periconceptional feed restriction in sheep (Kumarasamy *et al.*, 2005) although a reduction in gestational length was not reported in another study (Debus *et al.*, 2009). In general, whenever maternal feed restriction occurred during pregnancy, it induced a reduction in foetal live weight and body dimensions shortly after the restriction (Alexander, 1978, Newnham *et al.*, 1991, McCrabb *et al.*, 1992). However, when the restriction took place in early- or mid-pregnancy and was of short duration, the foetus exhibited catch-up growth afterwards, and returned to the normal growth curve (Hawkins *et al.*, 2000, Edwards and McMillen, 2002) resulting in a similar birth weight compared to control offspring (McCrabb *et al.*, 1992, Hawkins *et al.*, 2000, Khan *et al.*, 2005, McMullen *et al.*, 2005, Ford *et al.*, 2007). Four-month old lambs born to early-pregnancy restricted ewes, however, were shown to be heavier and to have more adipose tissue than controls (Ford *et al.*, 2007, Debus *et al.*, 2009). In contrast, Hawkins (2000) found no differences between three-month old lambs born to restricted ewes and control lambs even though feed restriction was applied during the same period (up to 70 days of pregnancy) as in the work of Ford *et al.* (2007) and Debus *et al.* (2009). This may be due to different feeding levels because the restriction was more severe in the Ford and Debus experiments (dams were fed 50% of requirements) than in the Hawkins study (85% of requirements).

When restriction occurred in late-pregnancy, lower birth weights were observed in sheep and goats (Alexander, 1978, Koritnik *et al.*, 1981, Bajhau and Kennedy, 1990, Oliver *et al.*, 2001, Borwick *et al.*, 2003, Husted *et al.*, 2007). Catch-up growth could occur after birth (Oliver *et al.*, 2001) but generally not immediately: Husted *et al.* (2007) showed slower growth rate in lambs born to restricted ewes up to 10 weeks of age but the differences no longer existed 9 weeks later. However, lambs born to restricted dams were still lighter than control lambs at 19 weeks of life. In one study in goats (Celi *et al.*, 2008) these observations were not confirmed: there were no differences in live weight and growth rate between kids born to late-pregnancy and early-lactation restricted dams and controls up to 5 weeks of age.

*Organ and tissue growth.* Changes in growth rate were associated with changes in organ growth and with tissue modifications whenever maternal restriction occurred. Koritnik *et al.* (1981) found a decrease in spleen, liver, kidneys, heart, thyroid, pituitary, cerebellum and cerebrum but not change in adrenal weight of lambs born to late-pregnancy restricted ewes. Despite the fact that there were no differences in foetal weight, a decrease in the

weight of the *extensor digitorum lateralis* but not in other muscles (*semitendinosus*, *soleus*, *semimembranosus* and *peroneus longus* muscles) was observed in foetuses born to late-gestation restricted ewes (Greenwood *et al.*, 1999). Slower muscle accretion was also reported in these foetuses. Moreover, lung growth and development was altered in foetuses from dams restricted for seven days during late pregnancy (McMullen *et al.*, 2005). Wool production was also altered in lambs born to late- or whole-gestation restricted ewes, suggesting an effect on wool follicles (Taplin and Everitt, 1964, Robinson *et al.*, 1999).

*Fat deposition and thermoregulation.* Thyroid hormone concentrations, which are indicators of thermoregulation and are involved in organ growth and metabolism (Todini, 2007), were reduced in five-week old kids born to late-pregnancy restricted goats (Celi *et al.*, 2008). As a consequence, thermoregulatory and breathing control could have been altered (Symonds *et al.*, 1995). Moreover, modifications in adipose tissue, which is involved in thermoregulation (brown fat), were observed. Indeed, Alexander (1978) found less perirenal fat in foetuses from late pregnancy restricted dams although the difference was only significant in 123-126 day foetuses but not in older foetuses. Reduced fat depots in the foetus could lead to impaired thermoregulation and decreased lamb survival after birth (Dwyer, 2008). However, Edwards *et al.* (2005) found more perirenal fat in twin lambs (but not in singletons) born to ewes restricted during the whole pregnancy. These results can be explained by differences in foetal age (older animals in Edwards' study) and the timing of restriction: Alexander (1978) restricted ewes from the 90<sup>th</sup> day of pregnancy until birth whereas Edwards *et al.* (2005) restricted ewes throughout pregnancy. Bispham *et al.* (2003) underfed ewes between 28 and 80 days of gestation and found an increase in fat depots at term in restricted foetuses, as shown by Edwards *et al.* (2005). Symonds *et al.* (2004) summarized these experimental results: maternal feed restriction in early pregnancy results in increased adiposity which is in favour of later obesity whereas maternal feed restriction in late pregnancy results in decreased adipose tissue mass.

### ***Effects on metabolism and physiology***

*Glucose homeostasis.* Maternal dietary restriction during pregnancy can alter energy metabolism and its regulation, depending on the timing of restriction. Rumball *et al.* (2008) found no modification in insulin sensitivity but a decrease in glucose Area Under the Curve in foetuses from early-gestation restricted ewes after a glucose challenge. These authors suggested a faster glucose disposal unlikely to be due to greater insulin sensitivity. No changes were observed in foetal insulin and IGF-1 concentrations after the ewes were fasted for 5 days in mid-pregnancy, suggesting that glucose homeostasis was maintained (McMullen *et al.*, 2005). Burt *et al.* (2007) observed a rise in basal fasting glycaemia at two months of age in lambs born to mid-pregnancy restricted ewes but differences did not persist in 4- and 12-month old lambs. Oliver *et al.* (2002) found no effects of feed restriction in mid-pregnancy on glycaemia, insulinaemia and IGF-1 levels in lambs between birth and 30 months of age. The offspring of goats restricted in late-gestation and early-lactation showed a lower fasting glycaemia until 5 weeks of age and an increased

insulinaemia during the first week of life but there was no effect on leptin levels (Celi *et al.*, 2008). When considering long-term effects of maternal dietary restriction, Husted *et al.* (2007) showed that insulin-sensitivity was impaired in 19-week old lambs born to late-pregnancy restricted dams during an intravenous glucose tolerance test (IVGTT) but it seemed that their tissue sensitivity to insulin and lipolytic capacity increased during a 24h-fast. Finally, an IVGTT revealed an impaired glucose tolerance in one-year old lambs born to feed restricted dams in late pregnancy but not in those born to feed restricted dams in early pregnancy (Gardner *et al.*, 2005).

These data suggest that late-gestation maternal restriction reduces insulin sensitivity in sheep whereas the effects on glucose homeostasis were not very marked in lambs when restriction occurred in early gestation.

*Cardiovascular system function.* Khan *et al.* (2005) showed an increased basal tone and sensitivity to phenylephrine (vasoconstrictor) in the left internal thoracic artery in lambs born to early-pregnancy restricted ewes, which is consistent with the results of Hawkins *et al.* (2000) who showed an increased arterial pressure in lambs born to early-restricted dams. Moreover, Edwards *et al.* (2002) showed an increase in arterial blood pressure in twin foetuses, but not in singletons, from sheep undernourished in the periconceptional period. However, blood pressure remained unchanged in lambs after maternal restriction in mid-pregnancy (Oliver *et al.*, 2002). Gopalakrishnan *et al.* (2004) reported an increased blood pressure before feeding and altered baroreflex responses to noradrenaline infusion in 3-year old sheep born to ewes restricted throughout pregnancy. An increase in arterial blood pressure was also observed in adult offspring born to ewes underfed in early- or late-gestation, in association with a greater activation of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal (HPA) axis (Hawkins *et al.*, 2000, Bloomfield *et al.*, 2003). Similar modifications of the cardiovascular system were also reported in rats after maternal protein deprivation during pregnancy (Langley-Evans, 1996).

### ***Effects on behaviour***

Maternal dietary restriction may result in a modification in offspring behaviour, although this aspect has not been addressed extensively. Maternal dietary restriction can alter emotional reactivity as well as laterality and feeding behaviour of the offspring.

*Locomotor behaviour and emotional reactivity.* At birth, goat kids born to underfed dams (from 70 days of pregnancy to birth) exhibited impaired locomotor behaviour compared to control kids (Terrazas *et al.*, 2009). Several hypotheses can explain this result such as the lower birth weight of the lambs born to feed restricted dams (Dwyer *et al.*, 2003) or abnormal maternal behaviour as observed in feed restricted ewes (Dwyer *et al.*, 2003) and goats (Terrazas *et al.*, 2009). Prenatal undernutrition can also increase emotional reactivity in lambs born to restricted ewes (Erhard *et al.*, 2004), even if others did not find any modifications in reactivity (Simitzis *et al.*, 2009). Different durations of restriction (feed

restriction from day 1 to day 95 of pregnancy in Erhard's study vs. from day 1 to day 30, or day 31 to 100 of pregnancy in Simitzis' study) may explain the different results obtained. In addition, sheep were tested at different ages (18 months vs. 2-5 months, respectively). However, both studies showed a shift in side preference in lambs born to underfed ewes, when restriction occurred at the beginning of pregnancy. This shift was also reported in lambs born to periconceptional-restricted ewes (Hernandez *et al.*, 2009). Data in mice show an increase in emotional reactivity after maternal periconceptional feed restriction (Watkins *et al.*, 2008). However, it is difficult to discriminate between the effect of maternal feed restriction per se from a possible psychological maternal stress due to feed restriction (direct or indirect effect). Indeed, psychological maternal stress during pregnancy can result in the modification of emotional reactivity in lambs (Braastad, 1998), as well as a modification in ewe maternal behaviour (Roussel *et al.*, 2006) which could indirectly modify the emotional reactivity of offspring after birth (Roussel-Huchette *et al.*, 2008).

*Feeding behaviour.* Only a few studies have dealt with the effects of maternal feed restriction on offspring feeding behaviour despite its possible implications on the occurrence of later diseases (Langley-Evans *et al.*, 2005). Feeding behaviour is regulated by the hypothalamus both in rats (Williams *et al.*, 2001) and sheep (Della-Fera and Baile, 1984). As discussed before, the hypothalamus secretes neuropeptides that stimulate (orexigenic) or inhibit (anorexigenic) food intake. Most of the studies on hypothalamic changes, or more generally modifications of the brain, due to feed restriction during pregnancy, have been performed in human and rodents (Levitsky and Strupp, 1995, Kehoe *et al.*, 2001, Walker, 2005).

In lambs, indirect consequences of maternal restriction have been described. Lambs born to restricted ewes were lighter at birth and these lighter lambs suckled less frequently than heavier lambs (Dwyer *et al.*, 2003). Moreover, maternal nutrition during pregnancy can influence the food preferences of offspring: lambs exposed to oregano essential oil during foetal life showed a preference for a concentrate supplemented with this compound in a choice test from 3 to 7.5 months of age (Simitzis *et al.*, 2008). Food preferences could therefore be programmed *in utero*, as shown in rats where exposure to a low protein diet during gestation induced a change in high fat food consumption in the offspring (Bellinger *et al.*, 2004, Bellinger and Langley-Evans, 2005, Bellinger *et al.*, 2006). However, longer term experiments are needed. Whether changes in feeding behaviour are triggered by a modification in hypothalamic peptide expression in ruminant offspring still needs to be clarified. In sheep, one author reported that the expression of neuropeptide Y mRNA (orexigenic factor) was increased in foetal hypothalamus following late-pregnancy maternal restriction (Warnes *et al.*, 1998). In rats, two recent experiments showed a decrease in the hypothalamic expression of anorexigenic (CART, POMC) and orexigenic peptides (AgRP and NPY) in rats born to pregnancy- and lactation-restricted dams which was associated with hyperphagia in 35- and 60-day old rats (Orozco-Sólis *et al.*, 2009) and in 22- to 25-week old rats (Coupé *et al.*, 2009) but not in older rats.

### ***Factors of variation***

Despite a large variety of nutritional insults (calorie and protein deprivation, deficiency in specific nutrients), a narrow range of phenotypic changes is observed in the offspring (hypertension, glucose intolerance, insulin resistance, obesity) (Fowden and Forhead, 2004, Langley-Evans *et al.*, 2005). However, the same phenotypes can result from different nutrition insults. For example, in rats, both protein- and calorie-deprivation led to a decrease in  $\beta$ -cell mass and insulin content of the foetal pancreas. However, this decrease appeared to be due to a lower rate of  $\beta$ -cell proliferation in the first case, and to a lower number of islets and reduced  $\beta$ -cell neogenesis in the second (Fowden and Hill, 2001). The effects of restriction during pregnancy on the offspring could be modulated by several parameters, such as factors specific to the stressor (timing, intensity and duration of feed restriction) but also factors specific to the dam, i.e. breed, size, sex of the offspring and competition between foetuses.

Studies in humans exposed to the Dutch famine during foetal life showed that the timing of feed restriction is important: foetuses exposed during early- or late-pregnancy did not develop the same diseases. Early-pregnancy feed restriction predisposed individuals to cardiovascular diseases while mid-pregnancy feed restriction led to obstructive airway diseases and microalbuminuria. Late-pregnancy feed restriction was associated with impaired glucose tolerance (Painter *et al.*, 2005, Sinclair and Singh, 2007). These observations suggest the existence of critical windows of development for specific organs as suggested by McCance in the 70's (McCance, 1976) and demonstrated in animal studies (Sinclair and Singh, 2007). Indeed, Chadio *et al.* (2007) showed an increase in the sensitivity of the HPA axis at 2 months of age (not thereafter), exclusively in lambs born to early-pregnancy restricted ewes and not in those born to mid-pregnancy restricted ewes. Periconceptional feed restriction increased the number of everted placentomes in sheep placenta (Rumball *et al.*, 2008) and increased foetal plasma ACTH concentrations (Edwards *et al.*, 2002). Feed restriction during gestation and lactation reduced growth rate in goat kids (Sibanda *et al.*, 1999). Feed restriction during late pregnancy can induce confusing effects. Indeed, a reduction in milk production and its quality was observed in late-pregnancy restricted goats (Morand Fehr, 2000, Celi *et al.*, 2008, Tygesen *et al.*, 2008b). Modifications in kid metabolism and growth were observed in these studies and could be due to a reduction in the amount and quality of milk rather than to direct effects of maternal feed restriction.

Observations made in rodent models are in agreement with findings in ruminants. Female rats born to restricted dams ate less fat than control females but only females born to early-pregnancy restricted dams showed a greater preference for a carbohydrate-rich food (Bellinger and Langley-Evans, 2005). Moreover, rats born to early- and late-pregnancy calorie-restricted dams showed hyperinsulinaemia compared to controls whereas rats born to mid-pregnancy restricted dams showed higher total cholesterol concentrations than controls and rats born to late-pregnancy restricted dams (Bellinger and Langley-Evans,



2005). A low-protein diet fed during oocyte maturation resulted in altered anxiety-related behaviour and cardiovascular abnormalities in mouse offspring (Watkins *et al.*, 2008).

As previously discussed, the effects of feed restriction depend on the duration of the insult: the placenta from restricted ewes was lighter than control placentae only when feed restriction occurred for 67 days (from the 30<sup>th</sup> day of pregnancy) but not for 47 days or 22 days (from the 50<sup>th</sup> or 75<sup>th</sup> days of pregnancy) (McCrabb *et al.*, 1992). The intensity of restriction also modulates the effects: Russel *et al.* (1977) showed that birth weight was decreased less in twin lambs born to moderate restricted ewes (11.6 MJ ME/day) compared to control twins than in twin lambs born to severe restricted ewes (10.0 MJ ME/day) compared to control twins.

In addition to the specific characteristics of the stressor, maternal factors can influence the future consequences of restriction. Placentae from low body condition score (BCS) ewes had less placentomes and the crown-rump lengths of foetuses from these ewes were shorter (Osgerby *et al.*, 2003). Paternal and maternal genotypes also play an important role: maternal feed restriction affected growth and metabolic parameters in lambs differently according to sire of the lamb (Tygesen *et al.*, 2008a). No effect of early feed restriction was found in lambs born to ewes adapted to limited nutritional supplies during several generations whereas it had an impact on lambs born to ewes which were always fed to requirements or above (Burt *et al.*, 2007, Jobgen *et al.*, 2008).

Litter size and sex of the offspring have to be taken into account when studying the effect of maternal diet restriction. The number of foetuses influences the metabolic parameters of the dam and the metabolic parameters of the fetuses (Rumball *et al.*, 2008). A correlation was found between the maternal and foetal plasma concentrations of leptin in twins but not in singletons in late gestation (Edwards *et al.*, 2005). Fat depots were higher in single vs. twin bearing ewes and in the foetuses from the single vs. twin bearing ewes in late pregnancy (Alexander, 1978). Grigore *et al.* (2008) reviewed in several species sex differences in the programming of cardiovascular diseases: male offspring appear to be more sensitive to insults during development than females. A sex effect was also reported in sheep: only male lambs born to restricted dams had an impaired cognitive flexibility at 18 months of age (Erhard *et al.*, 2004). Hawkins *et al.* (2000) reported greater responses of the HPA axis in females from early restricted ewes at 5.5 and 10 months of age but not at 2 months of age, compared to males.

Sex effects were also reported in rodents. In rats, when a low-protein diet was given to the dam, a sex effect was reported on feeding behaviour, fat depots, energy intake and pancreatic function of the offspring (Fowden and Hill, 2001, Bellinger *et al.*, 2004, Bellinger and Langley-Evans, 2005). Sex specific gene expression and epigenetic programming have been reported in these species (Gabory *et al.*, 2009).

### **Mechanisms underlying foetal programming**

### ***General mechanisms***

Foetal programming of later disease could appear because of a mismatch between prenatal and postnatal environment (Gluckman and Hanson, 2004). This hypothesis was confirmed for the cardiovascular system by Cleal *et al.* (2007). Ewes were fed 50% of requirements for the first 31 days of gestation and then their offspring (Underfed, U and Control, C) were subdivided and were either restricted (UU and CU) or adequately fed (UC and CC) between 12 and 25 weeks of age. Altered heart structure and blood pressure was observed only in mismatched groups (CU and UC). Similarly, alterations in vascular reactivity to agonists due to feed restriction during gestation of ewes disappeared when lambs were also restricted during postnatal life (Khan *et al.*, 2005).

Two hypotheses have been proposed to explain the changes observed in the offspring as a consequence of impaired foetal environment (Gluckman and Hanson, 2004):

1) the foetus developed a Predictive Adaptative Response (PAR): an anticipation to sustained conditions in the long-term environment

or

2) changes observed in the offspring are the result of disrupted development and the foetus adapts its phenotype to an expected deprived postnatal food environment (“thrifty phenotype”)

### ***Role of glucocorticoids***

The precise mechanisms of foetal adaptation to maternal feed restriction are unknown. However, GCs, and therefore the HPA axis, seem to be strongly implicated in tissue programming. In sheep, 90% of the cortisol in the foetal circulation is of maternal origin until close to term when the foetal adrenal becomes functional (Fowden and Forhead, 2004). GCs act directly and indirectly, both at a cellular and molecular level. They lead to changes in cellular secretion of proteins, growth factors and metabolites but also act on gene transcription, translation and post-translational processing during foetal development (Fowden and Forhead, 2004). They are involved in controlling the growth of some tissues (kidneys, lung, heart, nervous system, adipose tissue), in the expression of hippocampal genes and are responsible for dopamine and serotonin sensitivity in the central nervous system (Bertram and Hanson, 2002).

Placental 11- $\beta$ HSD2 prevents high GCs concentrations in the foetus but undernutrition can reduce its activity, possibly leading to an increase in GCs concentrations in foetal blood and a decrease in foetal and placental growth. High GCs concentrations in the foetus can inhibit tissue growth and promote maturation and cellular differentiation. Excessive activity of GCs is possibly involved in insulin resistance and associated with hypertension, obesity, growth retardation, dyslipidaemia, endothelial dysfunction and altered

myelinisation in the central nervous system (Langley-Evans, 1996, Bertram and Hanson, 2002). Experiments in rats suggest that GCs may be involved at various levels in programming hypertension, by promoting angiotensin II production and by exerting adverse effects on kidney development, implicated in the regulation of blood pressure (Langley-Evans *et al.*, 1999). Since the early work of Liggins (1969), the effects of endogenous or exogenous GCs on foetal development have been widely reviewed (Dalle *et al.*, 1985, Seckl, 2004, Owen *et al.*, 2005, Seckl and Holmes, 2007, Kapoor *et al.*, 2008, Cottrell and Seckl, 2009). However, although a decrease in 11- $\beta$ HSD2 activity was found by Jaquierey *et al.* (2006), no increase in plasma cortisol concentrations was observed in ewes and 50-day old foetuses after periconceptional feed restriction. These authors do not exclude an increase in foetal cortisol concentrations in late-pregnancy. Moreover, it seems that the induction of long term effects can occur well before the placenta is formed and independently of the changes in GCs levels (Gluckman and Hanson, 2004). One of the proposed mechanisms is epigenetic processes.

### ***Epigenetics***

At a molecular level, epigenetic modifications, such as DNA methylation, are another good candidate to explain programming (Lewis *et al.*, 2006). Epigenetic modifications refer to expression and transmission processes of genetic information without changing DNA sequence but changing chromatin organization (Parnet *et al.*, 2007). In rats, protein deprivation during pregnancy led to a decrease in DNA methylation of GC receptor (**GR**) and PPAR in weaned pups (Lillycrop *et al.*, 2005). In sheep, embryos from ewes fed a “methyl-deficient” diet before conception have a modified DNA methylation profile compared to control embryos at gestational day 90 (Sinclair *et al.*, 2007). Epigenetic mechanisms can also modify behaviour (McGowan *et al.*, 2008).

Moreover, during certain periods of development, the human genome is more susceptible to epigenetic processes. During pre-implantation, the genome of the embryo undergoes intense demethylation and re-methylation occurs after implantation. As methylation relies on the presence of methyl groups supplied by maternal food, this period is particularly dependant on maternal food supplies (Parnet *et al.*, 2007).

These epigenetic mechanisms have been reviewed in humans and rodents (Godfrey *et al.*, 2007, Paoloni-Giacobino, 2007) but not in ruminant species. Epigenetic changes could lead to changes in gene expression in offspring and could be, at least in part, be responsible for growth, physiology and metabolic changes observed in offspring born to restricted dams.

### **Conclusion**

One of the roles of the changes in maternal and placental metabolism and physiology induced by pregnancy diet restriction is probably to sustain foetal growth and survival. Maternal diet restriction during pregnancy leads to various modifications in small ruminant offspring morphology, physiology, metabolism and sometimes behaviour. These

modifications are often consistent with the effects observed in other species such as rodents or humans. The effects of maternal restriction during foetal development seem to depend on the duration of diet restriction but also on the timing: restriction in early-pregnancy is associated with alterations in the cardiovascular system and restriction in late-gestation with metabolic diseases. Unfortunately, most of the studies have not investigated at the same time neurobiological, physiological and behavioural changes. Moreover, the effects of diet restriction are not easy to study. Prenatal effects can be modulated by the post-natal environment, thus giving the possibility to post-natal therapeutic interventions. For instance, in rats leptin injections can reverse the detrimental effects of feed restriction, on such factors as hyperphagia, growth, metabolism and locomotor activity (Vickers *et al.*, 2005). Similar results were observed in intra-uterine growth restricted (IUGR) pigs receiving a neonatal leptin supplementation (Attig *et al.*, 2008).

Metabolic programming is also directly relevant to food animal husbandry as production and breeding performance may be affected (Symonds and Gardner, 2006, Wu *et al.*, 2006). In husbandry, ruminants are sometimes undernourished because of low availability of feed resources, particularly in tropical and arid areas (Moron-Fuenmayor and Clavero, 1999), or for economic reasons in temperate areas (Doreau *et al.*, 2000) and the consequences on offspring development need to be taken into account.

Further studies are needed at the molecular and cellular level on the mechanisms underlying the modifications observed in offspring. The consequences of feed restriction on the brain and particularly on hypothalamic and pituitary function need to be investigated in ruminants.

### References:

Adam CL, Archer ZA, Findlay PA, Thomas L and Marie M 2002. Hypothalamic gene expression in sheep for cocaine- and amphetamine-regulated transcript, pro-opiomelanocortin, neuropeptide Y, agouti-related peptide and leptin receptor and responses to negative energy balance. *Neuroendocrinology* 75, 250-256.

Alexander G 1978. Quantitative development of adipose tissue in foetal sheep. *Australian Journal of Biological Sciences* 31, 489-503.

Armitage JA, Khan IY, Taylor PD, Nathanielsz PW and Poston L 2004. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: how strong is the evidence from experimental models in mammals? *Journal of Physiology* 561, 355-377.

Asher GW, Mulley RC, O'Neill KT, Scott IC, Jopson NB and Littlejohn RP 2005. Influence of level of nutrition during late pregnancy on reproductive productivity of red deer I. Adult and primiparous hinds gestating red deer calves. *Animal Reproduction Science* 86, 261-283.

Attig L, Djiane J, Gertler A, Rampin O, Larcher T, Boukthir S, Anton PM, Madec JY, Gourdou I and Abdennebi-Najar L 2008. Study of hypothalamic leptin receptor expression

in low-birth-weight piglets and effects of leptin supplementation on neonatal growth and development. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 295, E1117-E1125.

Bajhau HS and Kennedy JP 1990. Influence of pre- and postpartum nutrition on growth of goat kids. *Small Ruminant Research* 3, 227-236.

Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K and Clark PM 1994. Type 2 diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetologia* 37, 150-154.

Barry JS and Anthony RV 2008. The pregnant sheep as a model for human pregnancy. *Theriogenology* 69, 55-67.

Battaglia FC and Regnault TR 2001. Placental transport and metabolism of amino acids. *Placenta* 22, 145-161.

Bell AW and Bauman DE 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 2, 265-278.

Bellinger L and Langley-Evans SC 2005. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clinical Science* 109, 413-420.

Bellinger L, Lilley C and Langley-Evans SC 2004. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British Journal of Nutrition* 92, 513-520.

Bellinger L, Sculley DV and Langley-Evans SC 2006. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. *International Journal of Obesity* 30, 729-738.

Bertram CE and Hanson MA 2002. Prenatal programming of postnatal endocrine responses by glucocorticoids. *Reproduction* 124, 459-467.

Bispham J, Gopalakrishnan GS, Dandrea J, Wilson V, Budge H, Keisler DH, Broughton Pipkin F, Stephenson T and Symonds ME 2003. Maternal endocrine adaptation throughout pregnancy to nutritional manipulation: consequences for maternal plasma leptin and cortisol and the programming of fetal adipose tissue development. *Endocrinology* 144, 3575-3585.

Bloomfield FH, Oliver MH, Giannoulas CD, Gluckman PD, Harding JE and Challis JRG 2003. Brief undernutrition in late-gestation sheep programs the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in adult offspring. *Endocrinology* 144, 2933-2940.

Borwick SC, Rae MT, Brooks J, McNeilly AS, Racey PA and Rhind SM 2003. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Animal Reproduction Science* 77, 61-70.

Braastad BO 1998. Effects of prenatal stress on behaviour of offspring of laboratory and farmed mammals. *Applied Animal Behaviour Science* 61, 159-180.

Brockman RP and Laarveld B 1986. Hormonal regulation of metabolism in ruminants; a review. *Livestock Production Science* 14, 313-334.

Burt BE, Hess BW, Nathanielsz PW and Ford SP 2007. Flock differences in the impact of maternal dietary restriction on offspring growth and glucose tolerance in female offspring. *Society of Reproduction and Fertility supplement* 64, 411-424.

Carter AM 2007. Animal models of human placentation--a review. *Placenta* 28 Suppl A, S41-S47.

Celi P, Di Trana A and Claps S 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Ruminant Research* 79, 129-136.

Chadio SE, Kotsampasi B, Papadomichelakis G, Deligeorgis S, Kalogiannis D, Menegatos I and Zervas G 2007. Impact of maternal undernutrition on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis responsiveness in sheep at different ages postnatal. *Journal of Endocrinology* 192, 495-503.

Chaillou E and Tillet Y 2005. Nutrition and hypothalamic neuropeptides in sheep: histochemical studies. *Histology and Histopathology* 20, 1209-1225.

Chilliard Y, Bocquier F and Doreau M 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 38, 131-152.

Chilliard Y, Bonnet M, Delavaud C, Faulconnier Y, Leroux C, Djiane J and Bocquier F 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic Animal Endocrinology* 21, 271-295.

Clarke KE, Heasman L, Juniper DT and M.E. S 1998. Maternal nutrition in early-mid gestation and placental size in sheep. *British Journal of Nutrition* 79, 359-364.

Cleal JK, Poore KR, Boullin JP, Khan O, Chau R, Hambidge O, Torrens C, Newman JP, Poston L, Noakes DE, Hanson MA and Green LR 2007. Mismatched pre- and postnatal nutrition leads to cardiovascular dysfunction and altered renal function in adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 9529-9533.

Constancia M, Angiolini E, Sandovici I, Smith P, Smith R, Kelsey G, Dean W, Ferguson-Smith A, Sibley CP, Reik W and Fowden A 2005. Adaptation of nutrient supply to fetal demand in the mouse involves interaction between the *Igf2* gene and placental transporter systems. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102, 19219-19224.

Cottrell EC and Seckl JR 2009. Prenatal stress, glucocorticoids and the programming of adult disease. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 3, 1-9.

Coupé B, Grit I, Darmaun D and Parnet P 2009. The timing of "catch-up growth" affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 297, R813-R824.

Dalle M, Pradier P and Delost P 1985. The regulation of glucocorticosteroid secretion during the perinatal period. *Reproduction Nutrition Development* 25, 977-991.

Debus N, Chavatte-Palmer P, Viudes G, Berthelot V, Camous S and Hassoun P 2009. Post-natal consequences of a periconceptional nutritional restriction in sheep: preliminary data. In *Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare* (eds. Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier, F Bocquier, I Veissier and M Doreau), p. 740. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, Netherlands.

Della-Fera MA and Baile CA 1984. Control of feed intake in sheep. *Journal of Animal Science* 59, 1362-1368.

Doreau M, Grimaud P and Michalet Doreau B 2000. La sous alimentation chez les ruminants ; ses effets sur la digestion. *INRA Productions Animales* 13, 247-255.

Dwyer CM 2008. The welfare of the neonatal lamb. *Small Ruminant Research* 76, 31-41.

Dwyer CM, Madgwick AJ, Ward SS and Stickland NC 1995. Effect of maternal undernutrition in early gestation on the development of fetal myofibres in the guinea-pig. *Reproduction Fertility and Development* 7, 1285-1292.

Dwyer CM, Lawrence AB, Bishop SC and Lewis M 2003. Ewe-lamb bonding behaviours at birth are affected by maternal undernutrition in pregnancy. *British Journal of Nutrition* 89, 123-136.

Edwards LJ and McMillen IC 2002. Periconceptional nutrition programs development of the cardiovascular system in the fetal sheep. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 283, R669-R679.

Edwards LJ, Bryce AE, Coulter CL and McMillen IC 2002. Maternal undernutrition throughout pregnancy increases adrenocorticotrophin receptor and steroidogenic acute regulatory protein gene expression in the adrenal gland of twin fetal sheep during late gestation. *Molecular and Cellular Endocrinology* 196, 1-10.

Edwards LJ, McFarlane JR, Kauter KG and McMillen IC 2005. Impact of periconceptional nutrition on maternal and fetal leptin and fetal adiposity in singleton and twin pregnancies. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 288, R39-R45.

Ehrhardt RA, Bell AW and Boisclair YR 2002. Spatial and developmental regulation of leptin in fetal sheep. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative Comparative Physiology* 282, R1628-R1635.

Ergaz Z, Avgil M and Ornoy A 2005. Intrauterine growth restriction-etiology and consequences: what do we know about the human situation and experimental animal models? *Reproductive Toxicology* 20, 301-322.

Erhard HW, Boissy A, Rae MT and Rhind SM 2004. Effects of prenatal undernutrition on emotional reactivity and cognitive flexibility in adult sheep. *Behavioural Brain Research* 151, 25-35.

Faichney GJ and White GA 1987. Effects of maternal nutritional-status on fetal and placental growth and on fetal urea synthesis in sheep. *Australian Journal of Biological Sciences* 40, 365-377.

Forbes JM 1996. Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. *Journal of Animal Science* 74, 3029-3035.

Ford SP, Hess BW, Schwoppe MM, Nijland MJ, Gilbert JS, Vonnahme KA, Means WJ, Han H and Nathanielsz PW 2007. Maternal undernutrition during early to mid-gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in male offspring. *Journal of Animal Science* 85, 139-144.

Forhead AJ and Fowden AL 2009. The hungry fetus? Role of leptin as a nutritional signal before birth. *Journal of Physiology* 587, 1145-1152.

Fowden AL and Hill DJ 2001. Intra-uterine programming of the endocrine pancreas. *British Medical Bulletin* 60, 123-142.

Fowden AL and Forhead AJ 2004. Endocrine mechanisms of intrauterine programming. *Reproduction* 127, 515-526.

Fowden AL, Ward JW, Wooding FPB, Forhead AJ and Constancia M 2006. Programming placental nutrient transport capacity. *Journal of Physiology* 572, 5-15.

Gabory, A, Attig, L, et Junien, C 2009. Sexual dimorphism in environmental epigenetic programming. *Molecular and Cellular Endocrinology* 304, 8-18.

Gardner DS, Tingey K, Van Bon BWM, Ozanne SE, Wilson V, Dandrea J, Keisler DH, Stephenson T and Symonds ME 2005. Programming of glucose-insulin metabolism in adult sheep after maternal undernutrition. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 289, 947-954.

Gluckman PD and Hanson MA 2004. Living with the past: evolution, development, and patterns of disease. *Science* 305, 1733-1736.



Godfrey KM, Lillycrop KA, Burdge GC, Gluckman PD and Hanson MA 2007. Epigenetic mechanisms and the mismatch concept of the developmental origins of health and disease. *Pediatric Research* 61, 5R-10R.

Gopalakrishnan GS, Gardner DS, Rhind SM, Rae MT, Kyle CE, Brooks AN, Walker RM, Ramsay MM, Keisler DH, Stephenson T and Symonds ME 2004. Programming of adult cardiovascular function after early maternal undernutrition in sheep. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 287, R12-R20.

Greenwood PL, Slepatis RM, Hermanson JW and Bell AW 1999. Intrauterine growth retardation is associated with reduced cell cycle activity, but not myofibre number, in ovine fetal muscle. *Reproduction Fertility and Development* 11, 281-291.

Grigore D, Ojeda NB and Alexander BT 2008. Sex differences in the fetal programming of cardiovascular disease. *Gender Medicine* 5 Suppl A, S121-S132.

Hales CN and Barker DJ 1992. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 35, 595-601.

Harding JE 2001. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *International Journal of Epidemiology* 30, 15-23.

Harding JE and Evans PC 1991. Beta-Hydroxybutyrate is an alternative substrate for the fetal sheep brain. *Journal of Developmental Physiology* 16, 293-299.

Harding JE, Charlton VE and Evans PC 1992. Effects of beta-hydroxybutyrate infusion on hind limb metabolism in fetal sheep. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 166, 671-676.

Hawkins P, Steyn C, McGarrigle HH, Calder NA, Saito T, Stratford LL, Noakes DE and Hansona MA 2000. Cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reproduction Fertility and Development* 12, 443-456.

Henry BA, Tilbrook AJ, Dunshea FR, Rao A, Blache D, Martin GB and Clarke IJ 2000. Long-term alterations in adiposity affect the expression of melanin-concentrating hormone and enkephalin but not proopiomelanocortin in the hypothalamus of ovariectomized ewes. *Endocrinology* 141, 1506-1514.

Hernandez CE, Harding JE, Oliver MH, Bloomfield FH, Held SD and Matthews LR 2009. Effects of litter size, sex and periconceptional ewe nutrition on side preference and cognitive flexibility in the offspring. *Behavioural Brain Research* 204, 82-87.

Husted SM, Nielsen MO, Tygesen MP, Kiani A, Blache D and Ingvarsten KL 2007. Programming of intermediate metabolism in young lambs affected by late gestational maternal undernourishment. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 293, E548-E557.

- Iqbal J, Henry BA, Pompolo S, Rao A and Clarke IJ 2003. Long-term alteration in bodyweight and food restriction does not affect the gene expression of either preproorexin or prodynorphin in the sheep. *Neuroscience* 118, 217-226.
- Jaquiery AL, Oliver MH, Bloomfield FH, Connor KL, Challis JR and Harding JE 2006. Fetal exposure to excess glucocorticoid is unlikely to explain the effects of periconceptual undernutrition in sheep. *Journal of Physiology* 572, 109-118.
- Jobgen WS, Ford SP, Jobgen SC, Feng CP, Hess BW, Nathanielsz PW, Li P and Wu G 2008. Baggs ewes adapt to maternal undernutrition and maintain conceptus growth by maintaining fetal plasma concentrations of amino acids. *Journal of Animal Science* 86, 820-826.
- Kapoor A, Petropoulos S and Matthews SG 2008. Fetal programming of hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis function and behavior by synthetic glucocorticoids. *Brain Research Reviews* 57, 586-595.
- Kehoe P, Mallinson K, Bronzino J and McCormick CM 2001. Effects of prenatal protein malnutrition and neonatal stress on CNS responsiveness. *Developmental Brain Research* 132, 23-31.
- Kerzner LS, Stonestreet BS, Wu KY, Sadowska G and Malee MP 2002. Antenatal dexamethasone: effect on ovine placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression and fetal growth. *Pediatric Research* 52, 706-712.
- Khan OA, Torrens C, Noakes DE, Poston L, Hanson MA, Green LR and Ohri SK 2005. Effects of pre-natal and early post-natal undernutrition on adult internal thoracic artery function. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 28, 811-815.
- Koritnik DR, Humphrey WD, Kaltenbach CC and Dunn TG 1981. Effects of maternal undernutrition on the development of the ovine fetus and the associated changes in growth hormone and prolactin. *Biology of Reproduction* 24, 125-137.
- Kumarasamy V, Mitchell MD, Bloomfield FH, Oliver MH, Campbell ME, Challis JR and Harding JE 2005. Effects of periconceptual undernutrition on the initiation of parturition in sheep. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 288, R67-R72.
- Lang U, Baker RS, Braems G, Zygmunt M, Kunzel W and Clark KE 2003. Uterine blood flow--a determinant of fetal growth. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 110 Suppl 1, S55-S61.
- Langley-Evans SC 1996. Intrauterine programming of hypertension: nutrient-hormone interactions. *Nutrition Reviews* 54, 163-169.

- Langley-Evans SC, Bellinger L and McMullen S 2005. Animal models of programming: early life influences on appetite and feeding behaviour. *Maternal & Child Nutrition* 1, 142-148.
- Langley-Evans SC, Sherman RC, Welham SJ, Nwagwu MO, Gardner DS and Jackson AA 1999. Intrauterine programming of hypertension: the role of the renin-angiotensin system. *Biochemical Society Transactions* 27, 88-93.
- Langlois DA, Matthews SG, Yu M and Yang K 1995. Differential expression of 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 1 and 2 in the developing ovine fetal liver and kidney. *Journal of Endocrinology* 147, 405-411.
- Levitsky DA and Strupp BJ 1995. Malnutrition and the brain: changing concepts, changing concerns. *Journal of Nutrition* 125, 2212S-2220S.
- Lewis RM, Poore KR and Godfrey KM 2006. The role of the placenta in the developmental origins of health and disease - Implications for practice. *Reviews in Gynaecological and Perinatal Practice* 6, 70-79.
- Liggins GC 1969. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. *Journal of Endocrinology* 45, 515-523.
- Lillycrop KA, Phillips ES, Jackson AA, Hanson MA and Burdge GC 2005. Dietary protein restriction of pregnant rats induces and folic acid supplementation prevents epigenetic modification of hepatic gene expression in the offspring. *Journal of Nutrition* 135, 1382-1386.
- Lobley GE 1992. Control of the metabolic fate of amino acids in ruminants: a review. *Journal of Animal Science* 70, 3264-3275.
- McCance RA 1976. Critical periods of growth. *Proceedings of the Nutrition Society* 35, 309-313.
- McCrabb GJ, Hosking BJ and Egan AR 1992. Changes in the maternal body and fetoplacental growth following various lengths of feed restriction during mid-pregnancy in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 43, 1429-1440.
- McGowan, PO., Meaney, MJ, et Szyf, M 2008. Diet and the epigenetic (re)programming of phenotypic differences in behavior. *Brain Research* 1237, 12-24.
- McMillen JC, Adams MB, Ross JT, Coulter CL, Simonetta G, Owens JA, Robinson JS and Edwards LJ 2001. Fetal growth restriction: adaptations and consequences. *Reproduction* 122, 195-204.
- McMullen S, Osgerby JC, Milne JS, Wallace JM and Wathes DC 2005. The effects of acute nutrient restriction in the mid-gestational ewe on maternal and fetal nutrient status, the expression of placental growth factors and fetal growth. *Placenta* 26, 25-33.

McMullen S, Osgerby JC, Thurston LM, Gadd TS, Wood PJ, Wathes DC and Michael AE 2004. Alterations in placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11 beta HSD) activities and fetal cortisol:cortisone ratios induced by nutritional restriction prior to conception and at defined stages of gestation in ewes. *Reproduction* 127, 717-725.

McShane TM, Petersen SL, McCrone S and Keisler DH 1993. Influence of food restriction on neuropeptide-Y, proopiomelanocortin, and luteinizing hormone-releasing hormone gene expression in sheep hypothalami. *Biology of Reproduction* 49, 831-839.

Monget P, Etienne M and Rosetta L 2001. Métabolisme énergétique et reproduction. In *La reproduction chez les mammifères et l'homme* (eds. C Thibault and MC Levasseur), pp. 749-767. INRA-Ellipse, Paris, France.

Morand Fehr P 2000. Effects of feeding on the quality of goat milk and cheeses. In *7th International Conference on Goats*, (eds. L Grunier and Y Chabert), pp. 53-58. Institut de l'élevage, Paris, France.

Morand Fehr P and Sauvant D 1988. Alimentation des caprins. In *Alimentation des bovins, ovins et caprins* (ed. R Jarrige), pp. 282-304. INRA, Paris, France.

Moron-Fuenmayor OE and Clavero T 1999. The effect of feeding system on carcass characteristics, non-carcass components and retail cut percentages of lambs. *Small Ruminant Research* 34, 57-64.

Newnham JP, Kelly RW, Patterson L and James I 1991. The influence of maternal undernutrition in ovine twin pregnancy on fetal growth and Doppler flow-velocity waveforms. *Journal of Developmental Physiology* 16, 277-282.

Newnham JP, Evans SF, Godfrey M, Huang W, Ikegami M and Jobe A 1999. Maternal, but not fetal, administration of corticosteroids restricts fetal growth. *Journal of Maternal-Fetal Medicine* 8, 81-87.

Ober JA and Malven PV 1992. Effect of growth retardation on pituitary luteinizing hormone and hypothalamic neuropeptide Y in ovariectomized sheep. *Neuroendocrinology* 56, 331-339.

Olausson H and Sohlstrom A 2003. Effects of food restriction and pregnancy on the expression of insulin-like growth factors-I and -II in tissues from guinea pigs. *Journal of Endocrinology* 179, 437-445.

Oliver MH, Harding JE and Gluckman PD 2001. Duration of maternal undernutrition in late gestation determines the reversibility of intrauterine growth restriction in sheep. *Prenatal and Neonatal Medicine* 6, 271-279.

Oliver MH, Breier BH, Gluckman PD and Harding JE 2002. Birth weight rather than maternal nutrition influences glucose tolerance, blood pressure, and IGF-I levels in sheep. *Pediatric Research* 52, 516-524.

- Orozco-Sólis R, Lopes de Souza S, Barbosa Matos RJ, Grit I, Le Bloch J, Nguyen P, Manhães de Castro R and Bolaños-Jiménez F 2009. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiology & Behavior* 96, 481-492.
- Osgerby JC, Gadd TS and Wathes DC 2003. Effect of maternal body condition on placental and fetal growth and the insulin-like growth factor axis in Dorset ewes. *Reproduction* 125, 717-731.
- Osgerby JC, Wathes DC, Howard D and Gadd TS 2002. The effect of maternal undernutrition on ovine fetal growth. *Journal of Endocrinology* 173, 131-141.
- Owen D, Andrews MH and Matthews SG 2005. Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 209-226.
- Painter RC, Roseboom TJ and Bleker OP 2005. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reproductive Toxicology* 20, 345-352.
- Paoloni-Giacobino A 2007. Epigenetics in reproductive medicine. *Pediatric Research* 61, 51R-57R.
- Parnet P, Bolaños-Jimenez F and Amarger V 2007. Syndrome métabolique : une histoire d’empreinte nutritionnelle et d’épigénétique ? . *Obésité* 2, 158-165.
- Père MC 2003. Materno-foetal exchanges and utilisation of nutrients by the foetus: comparison between species. *Reproduction Nutrition Development* 43, 1-15.
- Prins GS, Tang WY, Belmonte J and Ho SM 2008. Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 102, 134-138.
- Qi Y, Iqbal J, Oldfield BJ and Clarke IJ 2008. Neural connectivity in the mediobasal hypothalamus of the sheep brain. *Neuroendocrinology* 87, 91-112.
- Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN and Bleker OP 1998. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351, 173-177.
- Redmer DA, Wallace JM and Reynolds LP 2004. Effect of nutrient intake during pregnancy on fetal and placental growth and vascular development. *Domestic Animal Endocrinology* 27, 199-217.
- Rémésy C and Demigne C 1979. Effects of undernutrition during late pregnancy on gluconeogenesis and ketogenesis in twin-pregnant ewes. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 19, 241-250.

- Reynolds LP and Redmer DA 1995. Utero-placental vascular development and placental function. *Journal of Animal Science* 73, 1839-1851.
- Robinson JJ, Sinclair KD and McEvoy TG 1999. Nutritional effects on foetal growth. *Animal Science* 68, 315-331.
- Rook JS 2000. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Metabolic Disorders in Ruminants* 16, 293-317.
- Roussel-Huchette S, Hemsworth PH, Boissy A and Duvaux-Ponter C 2008. Repeated transport and isolation during pregnancy in ewes: Differential effects on emotional reactivity and weight of their offspring. *Applied Animal Behaviour Science* 109, 275-291.
- Roussel S, Hemsworth PH, Leruste H, White C, Duvaux-Ponter C, Nowak R and Boissy A 2006. Repeated transport and isolation during pregnancy in ewes: Effects on the reactivity to humans and to their offspring after lambing. *Applied Animal Behaviour Science* 97, 172-189.
- Rumball CW, Harding JE, Oliver MH and Bloomfield FH 2008. Effects of twin pregnancy and periconceptional undernutrition on maternal metabolism, fetal growth and glucose-insulin axis function in ovine pregnancy. *Journal of Physiology* 586, 1399-1411.
- Russel AJF, Maxwell TJ, Sibbald AR and McDonald D 1977. Relationships between energy intake, nutritional state and lamb birth weight in Greyface ewes. *Journal of Agricultural Science* 89, 667-673.
- Schröder HJ 2003. Models of fetal growth restriction. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 110 Suppl 1, S29-S39.
- Seckl JR 2004. Prenatal glucocorticoids and long-term programming. *European Journal of Endocrinology* 151, U49-U62.
- Seckl JR and Holmes MC 2007. Mechanisms of Disease: glucocorticoids, their placental metabolism and fetal 'programming' of adult pathophysiology. *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism* 3, 479-488.
- Seckl JR, Benediktsson R, Lindsay RS and Brown RW 1995. Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the programming of hypertension. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 55, 447-455.
- Sibanda LM, Ndlovu LR and Bryant MJ 1999. Effects of a low plane of nutrition during pregnancy and lactation on the performance of Matebele does and their kids. *Small Ruminant Research* 32, 243-250.
- Simitzis PE, Deligeorgis SG, Bizelis JA and Fegeros K 2008. Feeding preferences in lambs influenced by prenatal flavour exposure. *Physiology & Behavior* 93, 529-536.

Simitzis PE, Charismiadou MA, Kotsampasi B, Papadomichelakis G, Christopoulou EP, Papavlasopoulou EK and Deligeorgis SG 2009. Influence of maternal undernutrition on the behaviour of juvenile lambs. *Applied Animal Behaviour Science* 116, 191-197.

Sinclair K, Allegrucci C, Singh R, Gardner D, Sebastian S, Bispham J, Thurston A, Huntley J, Rees W, Maloney C, Lea R, Craigon J, McEvoy T and Young L 2007. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 19351-19356.

Sinclair KD and Singh R 2007. Modelling the developmental origins of health and disease in the early embryo. *Theriogenology* 67, 43-53.

Symonds ME, Pearce S, Bispham J, Gardner DS and Stephenson T 2004. Timing of nutrient restriction and programming of fetal adipose tissue development. *Proceedings of the Nutrition Society* 63, 397-403.

Symonds ME and Gardner DS 2006. Experimental evidence for early nutritional programming of later health in animals. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 9, 278-283.

Symonds ME, Budge H, Stephenson T and McMillen IC 2001. Fetal endocrinology and development - manipulation and adaptation to long-term nutritional and environmental challenges. *Reproduction* 121, 853-862.

Symonds ME, Bird JA, Clarke L, Gate JJ and Lomax MA 1995. Nutrition, temperature and homeostasis during perinatal development. *Experimental Physiology* 80, 907-940.

Taplin DE and Everitt GC 1964. The influence of prenatal nutrition on postnatal performance of Merino lambs. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production* 5, 72-81.

Terrazas A, Robledo V, Serafin N, Soto R, Hernandez H and Poindron P 2009. Differential effects of undernutrition during pregnancy on the behaviour of does and their kids at parturition and on the establishment of mutual recognition. *Animal* 3, 294-306.

Todini L 2007. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors. *Animal* 1, 997-1008.

Tygesen MP, Tauson AH, D. B, Husted SM and Nielsen MO 2008a. Late foetal life nutrient restriction and sire genotype affect postnatal performance of lambs. *Animal* 2, 574-581.

Tygesen MP, Nielsen MO, Norgaard P, Ranvig H, Harrison AP and Tauson AH 2008b. Late gestational nutrient restriction: effects on ewes' metabolic and homeorhetic adaptation, consequences for lamb birth weight and lactation performance. *Archives of Animal Nutrition* 62, 44-59.

Vickers MH, Gluckman PD, Coveny AH, Hofman PL, Cutfield WS, Gertler A, Breier BH and Harris M 2005. Neonatal leptin treatment reverses developmental programming. *Endocrinology* 146, 4211-4216.

Vuguin PM 2007. Animal models for small for gestational age and fetal programming of adult disease. *Hormone Research* 68, 113-123.

Walker CD 2005. Nutritional aspects modulating brain development and the responses to stress in early neonatal life. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 29, 1249 – 1263.

Ward JW, Forhead AJ, Wooding FB and Fowden AL 2006. Functional significance and cortisol dependence of the gross morphology of ovine placentomes during late gestation. *Biology of Reproduction* 74, 137-145.

Warnes KE, Morris MJ, Symonds ME, Phillips ID, Clarke IJ, Owens JA and McMillen IC 1998. Effects of increasing gestation, cortisol and maternal undernutrition on hypothalamic neuropeptide Y expression in the sheep fetus. *Journal of Neuroendocrinology* 10, 51-57.

Waterland RA and Garza C 1999. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 69, 179-197.

Watkins AJ, Wilkins A, Cunningham C, Perry VH, Seet MJ, Osmond C, Eckert JJ, Torrens C, Cagampang FRA, Cleal J, Gray WP, Hanson MA and Fleming TP 2008. Low protein diet fed exclusively during mouse oocyte maturation leads to behavioural and cardiovascular abnormalities in offspring. *Journal of Physiology* 586, 2231-2244.

Whorwood CB, Firth KM, Budge H and Symonds ME 2001. Maternal undernutrition during early to midgestation programs tissue-specific alterations in the expression of the glucocorticoid receptor, 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms, and type 1 angiotensin 2 receptor in neonatal sheep. *Endocrinology* 142, 2854-2864.

Williams G, Bing C, Cai XJ, Harrold JA, King PJ and Liu XH 2001. The hypothalamus and the control of energy homeostasis Different circuits, different purposes. *Physiology & Behavior* 74, 683– 701.

Wooding FB 1992. Current topic: the synepitheliochorial placenta of ruminants: binucleate cell fusions and hormone production. *Placenta* 13, 101-113.

Wooding FB, Fowden AL, Bell AW, Ehrhardt RA, Limesand SW and Hay WW 2005. Localisation of glucose transport in the ruminant placenta: implications for sequential use of transporter isoforms. *Placenta* 26, 626-640.

Wu G, Bazer FW, Wallace JM and Spencer TE 2006. Intrauterine growth retardation: Implications for the animal sciences. *Journal of Animal Science* 84, 2316–2337.



Wyrwoll CS, Seckl JR and Holmes MC 2009. Altered Placental Function of 11 beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase 2 Knockout Mice. *Endocrinology* 150, 1287-1293.

## **5. METHODOLOGIE GENERALE**

### **5.1. Animaux expérimentaux**

#### *5.1.1. Généralités*

Les expérimentations ont été faites à la chèvrerie expérimentale INRA de Grignon. Les recherches menées à la chèvrerie concernent la digestion, la valeur des aliments, la nutrition lipidique et le comportement, en particulier le comportement alimentaire. Le troupeau se compose de 110 chèvres laitières de 2 races différentes (Alpine et Saanen). Ce troupeau est représentatif des élevages caprins français puisqu'il possède 60% de chèvres de race Saanen et 40% d'Alpines, les 2 races majoritaires en France.

La chèvre est largement répandue dans le monde, le cheptel caprin mondial était estimé par la FAO à 837 millions de têtes en 2006. Les ruminants en général et les caprins en particulier sont confrontés au problème de sous-nutrition surtout à cause des conditions climatiques peu favorables qui limitent la croissance des végétaux et donc la disponibilité des ressources alimentaires, en particulier dans les régions arides et tropicales (Chilliard *et al.*, 1998). Par exemple, lors de sécheresses en Australie, il est fréquent que les chèvres manquent de nourriture (Conway *et al.*, 1996). La sous-nutrition est également impliquée dans les taux élevés d'avortement (jusqu'à 70%) et de mortalité des chevreaux au Mexique (Mellado *et al.*, 2004). Il est à noter que la sévérité de la sous-nutrition dans ces régions du monde dépend des caractéristiques génétiques de l'animal. En effet, si dans les régions tropicales les conditions agro-climatiques sont difficiles, les animaux qui y vivent sont généralement mieux adaptés à ces conditions que les animaux des régions tempérées. Par exemple certaines chèvres africaines présentent un métabolisme mieux adapté aux conditions de sous-nutrition que des chèvres européennes (Morand-Fehr, 2005).

Les petits ruminants, souvent le mouton, sont utilisés pour les études en obstétrique, en raison du long développement intra-utérin et parce qu'ils donnent naissance à des jeunes plus autonomes que chez les rongeurs. Leur taille permet un suivi et une manipulation des fœtus plus facile. La chèvre présente des intérêts très spécifiques. En production animale, la chèvre laitière peut être utilisée comme modèle de la vache laitière. Elle est plus facilement manipulable, son élevage est moins coûteux et les 2 espèces présentent des similitudes physiologiques et métaboliques (Larson, 1978). La spécificité de son comportement alimentaire en fait également un modèle de choix pour l'étude du comportement alimentaire. Dans le domaine biomédical, elle représente un bon modèle pour l'homme en orthopédie en raison des caractéristiques morphologiques de son squelette (Pearce *et al.*, 2007; Simon et Aberman, 2010). Enfin, elle est préférée au

mouton pour les expérimentations conduites en Asie, en raison de sa meilleure adaptation aux régions chaudes et humides (Pearce *et al.*, 2007).

### 5.1.2. Spécificité du comportement alimentaire de la chèvre

Le comportement alimentaire de la chèvre présente quelques particularités. La chèvre, contrairement aux autres ruminants, sélectionne fortement les aliments (Morand-Fehr, 2005). Cette sélection augmente le temps passé à ingérer et diminue la vitesse d'ingestion par rapport aux moutons (Dulphy *et al.*, 1990). Dans le cas de deux distributions par jour, en plus des 2 repas principaux par jour induits par la distribution de nourriture, comme chez le mouton, les chèvres recommencent à ingérer entre 4 et 7h après le repas du matin. Cette reprise d'ingestion n'a pas été constatée après le repas du soir (Geoffroy, 1974). Elles passent moins de temps à ruminer que les moutons et ruminent plutôt la nuit (Geoffroy, 1974). Chez les ruminants, les expériences passées jouent un rôle important dans le choix des aliments, particulièrement chez les chèvres qui mémorisent facilement ces expériences (Morand-Fehr, 2005). Le tri et la mémorisation des expériences alimentaires leurs permettent de s'adapter aux environnements difficiles en sélectionnant les plantes qui couvrent leurs besoins et en évitant les plantes toxiques (Morand-Fehr, 2005). Elles adaptent leur comportement alimentaire en fonction de la composition du régime : lorsque la ration passe de 30% à 55% de fourrages, les temps d'ingestion et rumination augmentent (Abijaoudé *et al.*, 2000a). Ces caractéristiques font de la chèvre un modèle intéressant pour des expériences sur le comportement alimentaire.

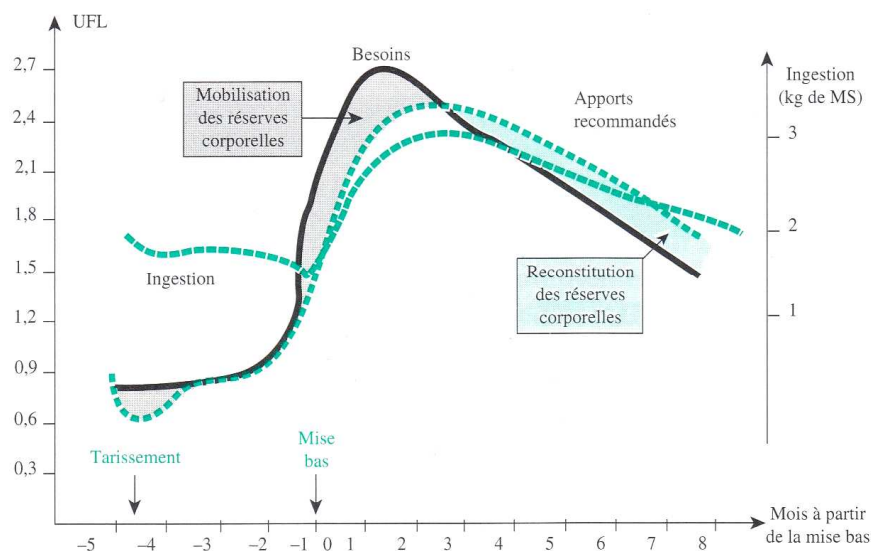
### 5.1.3. Atouts d'un élevage laitier

Les chèvres utilisées dans les expériences de cette thèse étant issues d'un élevage laitier, la conduite d'élevage consiste à séparer les chevreaux de la mère dès la naissance et à les élever en allaitement artificiel. Cette absence de la mère permet d'une part de mesurer les quantités ingérées dès la première tétée et, d'autre part, de s'affranchir des interactions possibles avec le comportement maternel qui peut être modifié à cause de la sous-nutrition pendant la gestation (Terrazas *et al.*, 2009). De plus, l'allaitement artificiel permet de s'affranchir d'éventuels effets indirects de la restriction alimentaire sur la qualité et la quantité de lait et de colostrum produites, comme certains auteurs l'ont montré après une restriction alimentaire en fin de gestation chez des chèvres (Morand Fehr, 2000; Celi *et al.*, 2008; Tygesen *et al.*, 2008) et des brebis (Banchemo *et al.*, 2006). Dans la plupart des études les jeunes, rongeurs ou ruminants, sont élevés sous la mère. Ce modèle permet donc d'éviter des confusions entre les effets directs de la restriction maternelle sur le chevreau et les effets indirects sur le chevreau *via* des effets sur la chèvre.

## 5.2. Restriction alimentaire

### 5.2.1. Durée, période et intensité de la restriction

Chez les ruminants, en particulier dans les troupeaux laitiers, les animaux se retrouvent souvent en déficit nutritionnel en fin de gestation et en début de lactation (Figure 10). Les deux derniers mois de gestation représentent la période de croissance exponentielle du/des foetus : les besoins énergétiques augmentent alors que la capacité d'ingestion diminue (Gadoud *et al.*, 1992). Les besoins augmentent également en début de lactation, principalement chez les animaux laitiers (Gadoud *et al.*, 1992). Une prolificité élevée et un rang social bas peuvent également accentuer cette sous-nutrition (Conway *et al.*, 1996; Mercier et Chartier, 2002). En effet, ce sont les animaux de rang supérieur qui ont un accès prioritaire à l'auge (Conway *et al.*, 1996).



**Figure 10** : Evolution de la capacité d'ingestion, des besoins et des apports énergétiques recommandés au cours du cycle de production chez la chèvre. Source : Gadoud *et al.* (1992)

Chez les ruminants, c'est en fin de gestation qu'a lieu la maturation du principal centre cérébral impliqué dans la régulation de la prise alimentaire, l'hypothalamus (Matthews et Challis, 1996) (voir chapitre 1, partie 3.4.4). De plus, on sait qu'une restriction alimentaire pendant la gestation peut modifier la sécrétion des neuropeptides régulateurs de la prise alimentaire et la prise alimentaire elle-même (voir chapitre 1, partie 3.4.5). L'ensemble de ces données nous a conduits à appliquer la restriction alimentaire en fin de gestation dans ce projet.

L'objectif de cette étude était de réduire la quantité d'aliment distribuée à des chèvres en gestation par rapport à des chèvres témoins. La sous-nutrition devait être suffisamment

forte et d'une durée suffisamment importante pour qu'elle ait un impact sur les chevreaux. En cas de perturbation de l'environnement telle que la restriction alimentaire maternelle, le métabolisme de la mère est modifié afin de préserver le fœtus (Rook, 2000). Au moins à court terme, la chute de glycémie chez la mère ne modifie pas l'apport de glucose au fœtus (Hay *et al.*, 1983). Parmi les mécanismes de protection du fœtus par le placenta, l'activité de l'enzyme 11- $\beta$  hydroxystéroïde déshydrogénase de type 2 (11- $\beta$ HSD2) placentaire, qui métabolise le cortisol en cortisone inactif, jouerait un rôle important. L'activité de cette enzyme est diminuée en cas de restriction alimentaire maternelle, ce qui conduirait à une augmentation de la cortisolémie fœtale et aux altérations de la croissance et de la physiologie observées chez les fœtus de mères restreintes (chapitre 1, partie 4). Or, la réduction de l'activité de la 11- $\beta$ HSD2 n'a été constatée chez le mouton que pour une restriction alimentaire de plus de 50 jours (McMullen *et al.*, 2004). Nous pouvons donc supposer qu'une durée de restriction de 50 jours au minimum aurait des conséquences sur le jeune. Dans les expériences réalisées au cours de cette thèse, la restriction a duré 50 à 60 jours, selon l'expérience.

Dans ces expériences, l'énergie apportée aux chèvres restreintes a été calculée en fonction de ce qui a été consommé par les chèvres témoins *ad libitum*. La composition des régimes a été faite à partir de ce qui est habituellement pratiqué à la chèvrerie expérimentale et de manière à ce que le poids des chèvres témoins reste stable entre le tarissement et le début de la lactation, plutôt que directement basée sur des calculs à partir des tables INRA.

### 5.2.2. Gestion des risques de toxémie et éthique

En cas de restriction alimentaire pendant la gestation chez les petits ruminants, si le déficit énergétique est trop important, une toxémie de gestation peut se produire. Il faut donc trouver un compromis pour conserver les mères en bonne santé jusqu'au bout de la gestation et en même temps suffisamment réduire les apports pour potentiellement avoir des conséquences sur le fœtus.

La toxémie est une maladie métabolique qui touche particulièrement les petits ruminants du fait de leur prolificité élevée (Morand-Fehr *et al.*, 1984; Mercier et Chartier, 2002). Elle se manifeste en cas de déficit énergétique et est provoquée par l'accumulation de corps cétoniques (béta hydroxybutyrate (BHB) et acéto-acétate) dans l'organisme qui, à une concentration élevée, deviennent toxiques pour l'animal (Mercier et Chartier, 2002). Le premier symptôme de la toxémie est la diminution de l'ingestion (Morand-Fehr *et al.*, 1984). Les animaux sont abattus, peuvent avoir des difficultés pour se déplacer et s'isolent du troupeau. Si les animaux ne sont pas rapidement traités, ils s'affaiblissent encore, ne parviennent plus à se lever et peuvent avoir des problèmes neurologiques qui se manifestent par des convulsions, une salivation excessive, des nystagmus. Quelques jours après les premiers symptômes, les animaux meurent (Rook, 2000). Au niveau

métabolique, la glycémie est faible, la cétonémie et la cétonurie sont élevées. Cette pathologie métabolique peut entraîner jusqu'à 80% de mortalité chez les animaux atteints, surtout si elle n'est pas prise en charge à temps (Rook, 2000).

Les traitements (Rook, 2000) visent à rétablir rapidement l'homéostasie glucidique. On utilise des injections intra-veineuses de glucose ou de dextrose et d'électrolytes et des distributions par voie orale de sirop de maïs, de glycérol, de dextrose ou de propylène glycol ou de solutions utilisées pour la réhydratation qui contiennent du glucose, du chlorure de sodium, de la glycine et d'autres électrolytes. Ces produits permettent de faire remonter la glycémie. Egalement, les vitamines du groupe B et le borogluconate de calcium qui permettent d'augmenter la motricité du rumen et de stimuler l'appétit peuvent être administrés. La séparation de l'animal atteint des autres animaux lui permet d'aller à l'auge quand il le souhaite sans être gêné par ses congénères.

Cette maladie est imprévisible. Néanmoins, l'utilisation du profil métabolique peut être utile, notamment afin d'évaluer le taux sérique de beta hydroxybutyrate (BHB) qui peut aider à déterminer le statut nutritionnel du troupeau (Rook, 2000). En cas de taux de BHB élevé, on peut craindre l'apparition de toxémie de gestation. Une alimentation adaptée aux besoins en fin de gestation et un état corporel suffisant compris entre 3 et 3,5 (sur une échelle de 5) à la parturition permettent de diminuer l'incidence de la toxémie (Rook, 2000).

Dans les expériences menées pendant cette thèse, les chèvres ont été régulièrement suivies par rapport à leur métabolisme énergétique, leur poids vif, leur état corporel et leur ingestion. Du propylène glycol a été ajouté à la ration (40 g/chèvre/jour, DIFAGRI PICOT SA, France) en prévention de la toxémie de gestation. En cas de toxémie, la chèvre était retirée de l'expérience et traitée par des injections intra-veineuses de glucose (Energidex, Vetoquinol, France). Les chèvres retirées étaient alors nourries *ad libitum*. A partir de 3 chèvres atteintes, les quantités distribuées à tous les animaux restreints étaient augmentée de 10%.

Afin de réduire la sensation de faim des chèvres restreintes et donc le stress psychologique induit par la restriction, les animaux restreints ont reçu de la paille à volonté en plus de leur ration. La paille, peu digestible et apportant peu d'énergie, augmente l'encombrement du rumen et diminue la sensation de faim et le stress psychologique associé (Mason, 1971; INRA, 1988).

### 5.3. Suivi des chevreaux

Deux stratégies expérimentales ont été utilisées :

- un suivi régulier des animaux au niveau des paramètres sanguins, de la croissance et du comportement. Le suivi régulier permet de voir les effets d'un traitement (ici, la restriction alimentaire de la mère) sur les paramètres mesurés à un niveau "basal".
- des tests ponctuels au niveau métabolique et des tests comportementaux en mettant les animaux dans des situations de challenge (soit métabolique, soit comportemental). Les objectifs de ces tests sont de permettre la mise en évidence ou l'exacerbation des effets du traitement qui n'apparaissent pas ou ne peuvent être évalués par le suivi régulier en conditions classiques.

Les tests comportementaux et métaboliques présentés ci-dessous décrivent brièvement les objectifs et la méthodologie des tests utilisés dans le cadre de cette thèse. Certains détails peuvent différer selon les expériences (chapitre 2, 3, 4 et 5). Le suivi régulier des animaux au niveau des paramètres sanguins et de croissance est présenté dans chaque article.

#### 5.3.1. Détermination de la composition corporelle

La composition corporelle des jeunes peut être modifiée suite à une restriction pendant la gestation de la mère. Une étude chez le mouton a montré que la restriction maternelle à partir de 90 jours de gestation diminuait la quantité de tissu adipeux périrénal chez les fœtus de 123-126 jours mais pas chez les fœtus à terme (Alexander, 1978). Une autre étude a montré qu'une diminution des quantités ingérées de 50% entre 115 et 145 jours de gestation chez la brebis réduisait la quantité de tissu adipeux chez les fœtus à 145 jours de gestation (Symonds *et al.*, 1998). La diminution du nombre de fibres musculaire est plutôt observée dans les études où la restriction a lieu en début de gestation chez le mouton, au moment de la formation et de la différenciation des muscles (revue d'Ashworth *et al.*, 2009).

Chez les animaux, la composition corporelle peut être évaluée de façon indirecte par des mesures corporelles (Doeschl-Wilson *et al.*, 2005) ou des indices (Edwards *et al.*, 2002; Johnson et Nugent, 2003) ou par imagerie, et de façon directe et invasive en disséquant les animaux (revue de Stanford *et al.*, 1998). En pratique, chez l'adulte, la note d'état corporel est la méthode la plus utilisée pour évaluer l'adiposité des animaux (Morand-Fehr, 2005). Pour les expérimentations, on peut aussi évaluer l'adiposité par la méthode à l'eau lourde (revue de Stanford *et al.*, 1998) ou par échographie pour estimer l'épaisseur du tissu adipeux sous-cutané (Lima *et al.*, 2009) ou des muscles (Stanford *et al.*, 1995).

Chez le jeune ruminant, au début de cette thèse, il n'existait pas de méthode validée, en dehors de la dissection, pour estimer la composition corporelle.

Dans la seconde expérience (chapitre 4), une méthode récente de mesure de la composition corporelle a été utilisée : l'absorptiométrie biphotonique à rayons X (Dual-energy X-ray absorptiometry – DXA, General Electric's Lunar iDXA). Cette méthode est basée sur la différence d'absorption des différents tissus quand ils sont placés sous rayons X. L'appareil détermine la masse d'os et de tissu mou d'une part, et les masses adipeuses et non-adipeuses d'autre part. En combinant ces informations, il détermine la masse osseuse, maigre et adipeuse du corps. Cette méthode commence à être utilisée chez les moutons (Mercier *et al.*, 2006; Pearce *et al.*, 2009; Rhodes *et al.*, 2009; Henry *et al.*, 2010). En pratique, l'appareil est composé d'une table d'examen à laquelle est fixé un bras qui émet les rayons X et se déplace au-dessus de la table. L'animal doit être immobile, et une anesthésie générale est donc nécessaire. L'utilisation de cette technique lors de la deuxième expérience a permis d'évaluer la composition corporelle d'un plus grand nombre d'animaux, et plus particulièrement des femelles gardées pour le renouvellement du troupeau, sans avoir besoin de les abattre. Elle nous a permis de rechercher une interaction entre le sexe du chevreau et le régime maternel en fin de gestation sur la composition corporelle des chevreaux.

### 5.3.2. Test métabolique : le test de tolérance au glucose intraveineux (IVGTT)

Le **test de tolérance au glucose** est utilisé pour mesurer à la fois la réactivité de la sécrétion d'insuline et la sensibilité des tissus à l'insuline (Muniyappa *et al.*, 2008). Ce test consiste à injecter une forte dose de glucose et à effectuer des prises de sang régulières pour suivre l'insulinémie et la glycémie jusqu'au retour aux concentrations basales (Muniyappa *et al.*, 2008). Il permet d'apprécier la capacité d'un organisme à normaliser rapidement une hyperglycémie.

Ce test a permis de mettre en évidence une insulino-résistance chez des agneaux suite à une restriction alimentaire maternelle pendant la gestation (Burt *et al.*, 2007; Husted *et al.*, 2007) ou une absence d'effet (Oliver *et al.*, 2002; Rumball *et al.*, 2008). Il existe des tests de réponse à l'injection d'insuline, parfois réalisés chez les ruminants (Oguro *et al.*, 2003; Kerestes *et al.*, 2009; Rhodes *et al.*, 2009) qui permettent d'évaluer la sensibilité des tissus à l'insuline et qui n'ont pas été réalisés ici en raison de la lourdeur des protocoles.

### 5.3.3. Tests de la réactivité émotionnelle des chevreaux

La **réactivité émotionnelle** peut se définir comme la tendance d'un animal à réagir plus ou moins à des événements sollicitants (Désiré *et al.*, 2002). On étudie généralement la réaction face à un événement négatif (environnement nouveau, objet nouveau,



évènement surprenant) associé à deux émotions proches, la peur et l'anxiété. La **peur** est définie comme une réaction à la perception d'un danger actuel et l'**anxiété** comme la réaction à un danger potentiel qui menace l'intégrité de l'individu (Forkman *et al.*, 2007). La nature anxiogène de cet évènement négatif dépend de ses caractéristiques (nouveau, caractéristiques physiques, proximité, soudaineté, intensité, durée...) mais aussi de l'expérience de l'animal et de son interprétation de la situation (Désiré *et al.*, 2002; Forkman *et al.*, 2007). Chez les animaux sociaux et notamment les espèces grégaires telles que les moutons et les chèvres, l'isolement social est très utilisé pour tester la réactivité émotionnelle des animaux (Forkman *et al.*, 2007). En effet l'isolement social est considéré comme anxiogène pour les espèces à forte motivation sociale (Forkman *et al.*, 2007). Il est d'ailleurs probable que ce soit l'isolement, plus que la nouveauté, qui provoque les réactions observées chez les moutons et les chèvres dans le test d'environnement nouveau (ou open-field) où l'animal est placé seul dans un enclos inconnu (Forkman *et al.*, 2007). La contention, la nouveauté, la soudaineté et la réaction face à l'humain sont également très utilisées comme évènement sollicitant pour tester la réactivité émotionnelle (Forkman *et al.*, 2007).

Les critères les plus souvent étudiés sont les critères comportementaux. En général, les comportements relevés sont les déplacements (marche, immobilité, sauts, vitesse de déplacement, distance parcourue), l'exploration de l'environnement (flairages), les déjections et les vocalisations (Forkman *et al.*, 2007). Leur interprétation doit être faite avec précaution en s'appuyant sur plusieurs critères.

Afin de compléter les mesures comportementales, des mesures physiologiques sont parfois effectuées telles que l'enregistrement du rythme cardiaque pendant les tests de comportement (Roussel *et al.*, 2005), la mesure de la concentration en cortisol (Roussel *et al.*, 2005) ou la réactivité de l'axe corticotrope (Bloomfield *et al.*, 2003; Mormède *et al.*, 2007). La réactivité de l'axe corticotrope peut être évaluée par des mesures régulières de la cortisolémie suite à une injection d'ACTH ou de CRH (Mormède *et al.*, 2007). Le poids des surrénales peut également être considéré comme indicateur de l'activité de l'axe corticotrope (Dantzer et Mormède, 1979).

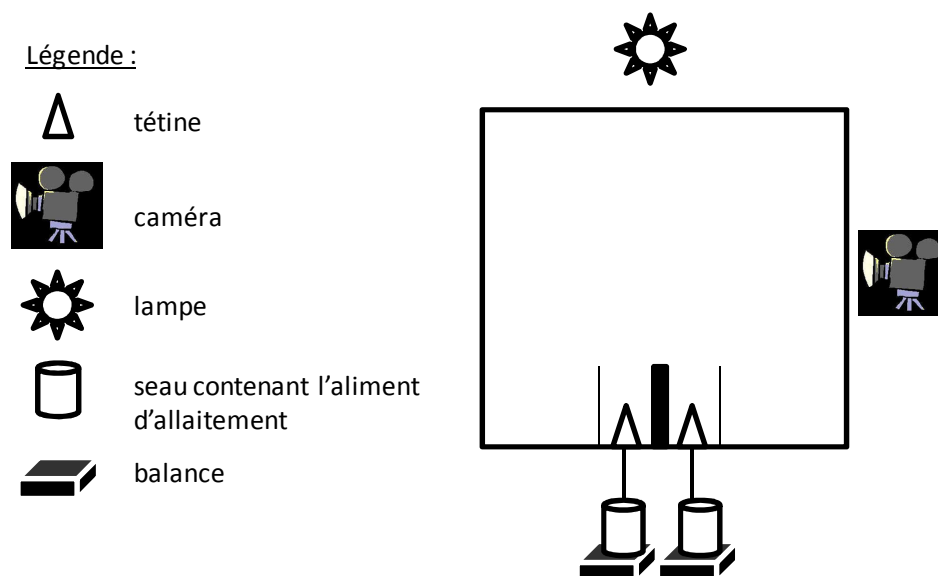
#### 5.3.4. Tests de vitesse d'ingestion en situation stressante et non stressante

L'objectif de ce test était d'étudier la présence éventuelle d'une interaction entre le stress et le comportement alimentaire des chevreaux issus de mères sous-nourries pendant la gestation. En effet, il a été montré que la vitesse d'ingestion augmente en cas d'exposition à des facteurs de stress tels que la réduction importante de la quantité de nourriture ou du temps d'accès à l'auge (Dulphy et Faverdin, 1987) ainsi qu'en présence d'un niveau sonore élevé (rat, Krebs *et al.*, 1997). Suivant l'intensité de l'agent stressant, le stress peut augmenter ou réduire les quantités ingérées chez l'homme et le rat (revue de Torres et Nowson, 2007). Ce test mesure tout d'abord la vitesse d'ingestion des

animaux en conditions non stressantes, puis la vitesse d'ingestion des animaux après un stress important tel que la contention et l'isolement social ou la mise en présence d'un chien.

### 5.3.5. Comportement alimentaire des chevreaux

Les expériences chez les rongeurs ayant montré des modifications du comportement alimentaire chez les jeunes issus de mères restreintes pendant la gestation (chapitre 1, partie 3.4.5 et partie 4), le comportement alimentaire des chevreaux a été étudié. Il a été analysé en continu sur 24h chez les animaux élevés en lot. Afin de connaître les quantités ingérées, les tétines étaient reliées à un bidon isotherme contenant l'aliment d'allaitement placé sur une balance (Figure 11). Un logiciel enregistrait régulièrement le poids des seaux. La création de macros Excel a permis la mise en parallèle des fichiers d'analyse vidéo et des fichiers de poids des seaux pour déterminer les quantités ingérées par chaque chevreau. Pour appliquer cette méthode, un travail de mise au point méthodologique a été fait en 2007 sur 31 chevreaux (dont les résultats sont présentés en Annexe 1. Les résultats de ce travail ont contribué à la mise en place d'un système de mesures automatisées des quantités ingérées chez l'agneau à l'unité SAGA de l'INRA de Toulouse.



**Figure 11** : enclos d'élevage des chevreaux en groupe. Une lampe était allumée en continu, permettant de filmer la nuit. Chaque enclos expérimental était équipé de 2 stalles ayant chacune une tétine reliée à un seau posé sur une balance.

Lors du suivi à long terme (chapitre 5), le comportement alimentaire des chevrettes issues de mère témoin ou restreintes pendant la gestation a été filmé et analysé à 12 et 21 mois. Les animaux étaient en cases individuelles et le bac contenant la nourriture était posé sur

une balance. Ce dispositif a été validé lors de travaux antérieurs réalisés à la chèvrerie (Desnoyers *et al.*, 2009 ; Komara, 2009).

## CHAPITRE 2

### **RESTRICTED FEEDING OF GOATS DURING THE LAST THIRD OF GESTATION MODIFIES BOTH METABOLIC PARAMETERS AND BEHAVIOUR**

UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LE DERNIER TIERS DE GESTATION MODIFIE A  
LA FOIS LE METABOLISME ET LE COMPORTEMENT DES CHEVRES

Livestock Science (sous presse)



## **UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LE DERNIER TIERS DE GESTATION MODIFIE A LA FOIS LE METABOLISME ET LE COMPORTEMENT DES CHEVRES**

Les besoins énergétiques des petits ruminants sont très importants en fin de gestation. En effet, c'est à ce moment là que la croissance fœtale est la plus importante tandis que la capacité d'ingestion diminue. Les réserves corporelles sont mobilisées et les animaux sont particulièrement exposés à une hypoglycémie et une hypercétonémie, pouvant conduire à une toxémie de gestation. Le comportement peut également être modifié, ce sujet ayant été peu étudié jusqu'à aujourd'hui.

### **Objectifs**

Etudier les conséquences métaboliques et comportementales d'une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de gestation sur les chèvres.

Identifier les facteurs permettant de détecter les animaux risquant de développer une toxémie de gestation.

### **Matériels et méthodes**

Soixante chèvres multipares ont été réparties en 2 groupes, témoin et restreint en équilibrant la race, le poids vif, et l'état corporel. Chaque groupe a été subdivisé en deux sous-groupes de poids moyen de 60 kg et 80 kg. Entre 90 jours de gestation et la mise-bas, les chèvres témoins ont été nourries *ad libitum* (5% de refus) avec une ration complète. Les chèvres restreintes ont reçu de 50% à 80% de la quantité distribuée aux chèvres témoins la semaine précédente et de la paille à volonté. Malgré l'ajout de propylène glycol (Propypact®), 4 chèvres ont présenté des symptômes de toxémie de gestation. En conséquence, les quantités distribuées aux chèvres restreintes ont été augmentées en cours d'expérience pour atteindre 80% en fin de gestation. Après la mise-bas les chèvres ont toutes été alimentées *ad libitum*.

Les chèvres ont été pesées avant le début du traitement puis toutes les semaines ensuite jusqu'à 6 semaines après la mise-bas. L'état corporel a été évalué tous les 15 jours. Des prises de sang ont été réalisées toutes les semaines et les concentrations en glucose, AGNE, urée et BHB ont été dosées. L'insuline et la leptine ont été dosées avant le traitement, puis 4 et 1 semaine avant la mise-bas. Le budget-temps a été évalué sur 14 chèvres de chaque traitement en réalisant un échantillonnage par balayage (scan sampling) pendant 12h, sept semaines et une semaine avant mise-bas. Des épreuves de l'environnement nouveau et de l'objet nouveau ont été réalisées 7 et 2 semaines avant mise bas et 2 semaines après.

## Résultats

La restriction alimentaire n'a pas eu d'effet sur la durée de gestation, la taille et le poids de portée, et la mortalité des chevreaux.

Le poids et l'état corporel des chèvres restreintes ont diminué dès la première semaine de restriction par rapport aux chèvres témoins. Les chèvres restreintes ont perdu plus de poids pendant la période de restriction que les chèvres témoins. La différence de poids s'est maintenue pendant 6 semaines post-partum. Cinq semaines après la mise-bas, il n'y avait plus de différence d'état corporel entre chèvres restreintes et témoins.

Durant la restriction, la glycémie a baissé et les concentrations en AGNE ont augmenté chez les chèvres restreintes par rapport aux chèvres témoins. Les concentrations en BHB, urée, insuline et leptine ont été plus basses chez les chèvres restreintes que chez les témoins. Après la mise-bas, l'inverse a été observé avec une glycémie supérieure et des concentrations en AGNE plus faibles chez les chèvres restreintes pendant la gestation. Les concentrations en BHB sont restées plus faibles chez les chèvres restreintes que chez les témoins, même après mise-bas. Les chèvres ayant développé des symptômes de toxémie avaient des concentrations élevées en urée et AGNE, faibles en glucose et un état corporel faible avant le début de la restriction alimentaire.

Lors de la première semaine de restriction, les chèvres restreintes ont passé plus de temps à marcher, moins de temps immobiles et plus de temps à ingérer au cornadis que les chèvres témoins. Les chèvres restreintes ont eu moins d'interactions positives avec leurs congénères que les témoins. Une semaine avant la mise-bas, les chèvres restreintes ont passé plus de temps immobiles, plus de temps à marcher et moins de temps couchées. Aucune différence pour les comportements agonistiques n'a été observée entre chèvres restreintes et témoins. Lors de l'épreuve de l'environnement nouveau une semaine après le début de la restriction, les chèvres restreintes ont passé plus de temps vers l'entrée de l'enclos et ont marché plus que les chèvres témoins. Dans l'épreuve de l'objet nouveau 2 semaines avant mise-bas, les chèvres restreintes ont passé plus de temps à flairer l'objet et ont eu tendance à le flairer plus rapidement que les chèvres témoins.

## Discussion et conclusion

Les besoins des chèvres restreintes n'étaient pas couverts puisqu'elles ont perdu du poids, de l'état corporel et ont mobilisé beaucoup plus leurs réserves que les chèvres témoins.

Les concentrations en urée ont été réduites chez les chèvres restreintes, probablement parce que les animaux ont ingéré moins de protéines mais aussi parce qu'elles ont mieux

recyclé l'azote puisqu'elles ont passé plus de temps à ingérer que les témoins (plus de mastication).

Il est possible de détecter les chèvres susceptibles de faire une toxémie selon leur profil métabolique, leur état corporel et leur poids avant le début de la restriction alimentaire.

Les résultats comportementaux suggèrent que les chèvres restreintes seraient plus motivées pour explorer leur environnement que les témoins, probablement à la recherche de nourriture. Elles n'ont cependant pas exprimé plus de comportements agonistiques que les témoins.



## **Restricted feeding of goats during the last third of gestation modifies both metabolic parameters and behaviours**

Bérengère Laporte <sup>(1,2)</sup>, Christine Duvaux-Ponter <sup>(1,2)</sup>, Sabine Roussel <sup>(1,2)</sup>, Julie Promp <sup>(1,2)</sup>, Pascale Chavatte-Palmer <sup>(3,4)</sup>, and Andrew A. Ponter <sup>(3,4)\*</sup>

(1) AgroParisTech UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, 75005 Paris, France

(2) INRA UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, 75005 Paris, France

(3) INRA UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, Domaine de Vilvert, 78350 Jouy-en-Josas, France

(4) Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, 7 avenue du Général-de-Gaulle, 94704 Maisons-Alfort Cedex, France

\* Corresponding author

Tel. and Fax: 33 (0)1 43 96 70 79; E-mail address: [aponter@vet-alfort.fr](mailto:aponter@vet-alfort.fr)

### **Abstract**

Underfeeding of gestating dairy goats can occur for a number of reasons. If underfeeding is severe it can provoke pregnancy toxæmia which can lead to welfare problems and even mortality. Behaviour may also be modified in the context of underfeeding and it is important to integrate this information in management practices. The objectives of this experiment were to study the effect of restricted feeding during the last third of gestation on metabolism and behaviour of goats. Special attention was paid to the feed restricted group of goats to define characteristics which could be used to identify animals at risk before they develop pregnancy toxæmia. A total of 60 Alpine and Saanen dairy goats were used. Starting from -8wk before parturition the goats were allocated to one of two dietary treatments, control (C) or restricted (R). The C group was fed ad libitum (5%orts) a TMR (C, n=30) and the R group (R, n=30) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the C group between -8 and -4wk, 60% between -5 and -4wk, 70% between -4 and -3wk and 80% from -2wk to parturition. The R goats were also given free access to straw. Both metabolism and behaviour were modified by food restriction. The R goats put on less weight and their body condition score (BCS) decreased more steeply than the C goats during late gestation. Plasma glucose and  $\beta$ -hydroxybutyrate (BHB) were lower while non-esterified fatty acids (NEFA) were higher in the R goats compared to the C goats during the period of feed restriction. The R goats spent more time in activities involved with feeding and moving than the C goats. Four of the R goats developed pregnancy toxæmia as a result of dietary restriction. A principal component analysis (PCA) was performed on variables analysed before the start of dietary restriction: liveweight (LW), BCS, fasting plasma glucose, urea, NEFA and BHB. The four R animals that developed toxæmia were characterised by high NEFA and low plasma glucose together with low BCS and high urea before dietary restriction. This particular

profile may therefore be useful to determine which animals are at risk of developing pregnancy toxæmia.

**Keywords:** restricted feeding, end of gestation, behaviour, emotional reactivity, goat

## 1. Introduction

Nutritional requirements during the last third of gestation are very high in small ruminants due to the high prolificacy of these animals. In goats, the conceptus acquires 80% of its birthweight in the last 2 months of gestation (Conway et al., 1996). This means that a pregnant goat's daily energy requirements just before parturition can be increased by 2.5 compared to those observed for the same animal in early gestation (INRA, 1988).

In order to cover the requirements for foetal growth, the goat must either eat more or mobilise its reserves. Physiologically, food intake is not optimal at the end of gestation due to the extra space occupied in the abdomen by the uterus (foetus and its annexes) which compresses the rumen and limits rumen filling. In addition, there may be underdevelopment of the rumen papillae, which reduces the rate at which the products of fermentation-synthesis are absorbed (Mayer et al., 1986). Due to a reduction in the rate of absorption of fatty acids, rumen pH is reduced and so is the efficiency by which feedstuffs are fermented in the rumen, therefore reducing feed intake even further. Other factors, such as the breeding of intensively reared goats to produce kids in the winter can have negative effects. Indeed, during winter, conserved feedstuffs are used and their quality may be poor. Farmers may also decide to decrease concentrate levels in the diet to try to reduce feed costs. Finally, goats can be particularly aggressive at the food trough if feed resources are limited, so that some individuals get very little access to food (Conway et al., 1996).

The health of the dam can be impacted negatively by feed restriction. Small ruminants are particularly prone to developing pregnancy toxæmia at the end of gestation in situations of dietary restriction and it is a major problem in production systems (Mavrogianni and Brozos, 2008). Both obese and thin animals at the end of gestation are more likely to develop the disease than animals in correct body condition. The latter through lack of energy stores in late gestation and the former due to excessive intra-abdominal fat storage which may reduce feed intake and lead to excessive fat mobilization. Hyperketonaemia and hypoglycaemia are classically observed in both cases.

At the end of gestation, ketotic animals are usually in poor body condition, show depression and can suffer from selective anorexia. The animals often isolate themselves from the rest of the herd. At a later stage neurological signs can develop: head and neck tremors, excessive salivation, wandering, lack of blink-to-threat reflex, unusual carriage of the head and even blindness. Finally, coma and death occur (Sargison, 2007). If not treated rapidly, animals in an advanced stage of the disease are likely to die.

Goat feeding behaviour has been studied extensively. One aspect of feeding behaviour which has been thoroughly investigated is the ability of the goat to sort between different

foodstuffs. This behaviour is influenced by the nutritional value of the diet as well as its availability. Barroso et al. (2000) have shown that when food offer is plentiful but of poor nutritive value the goat will spend much time sorting between the different components of the diet. If, however, the quantity of feed available is reduced, the goat will eat all that is available, including foodstuffs that are not usually consumed. Moreover, agonistic activity between goats is reduced with poor dietary quality whereas agonistic activity is increased with increasing food quality. This may be due to the large amount of time spent sorting poor quality diets, in contrast to the relatively short time when the quality is high. Competition and aggressive behaviour at the feeding trough probably induce, at least in animals of low social rank, high levels of stress, which could decrease productivity and welfare (Bouissou et al., 2001). To highlight the presence of chronic stress, the modification of emotional reactivity can be studied after the occurrence of the stressor, as shown in calves in an unstable environment (Boissy et al., 2001). Emotional reactivity can be assessed by exposing goats to social isolation (Fisher and Matthews, 2001) or novelty (Roussel et al., 2005).

The objective of the present experiment was to study the effect of restricted feeding on the metabolism and behaviour of goats during the last third of gestation. Special attention was paid to the feed restricted group to try and identify characteristics which could be used to identify animals at risk of developing pregnancy toxemia and to prevent its occurrence.

## **2. Materials and methods**

The present study was carried out according to French legislation on animal experimentation (code rural: articles R 214-87 to R214-94) in line with the European Convention for the Protection of Vertebrates used for Experimental and other Scientific Purposes (European Directive 86/609). The scientist in charge of the experiments was licensed to perform experiments on animals and the staff who applied the experimental procedures had attended a special course approved by the French Ministry of Agriculture.

### ***2.1. Animals and diets***

Sixty Alpine and Saanen dairy goats were used for the experiment. Goats were synchronized prior to mating so that parturition should occur over a 10d period. The goats used in the experiment were housed on straw bedding. Following AI, all the goats were given free access to the same total mixed ration (TMR; beet pulp silage 35%, perennial ryegrass hay 25%, lucerne hay 29%, barley 10% and a mineral and vitamin mix 1% on a dry matter basis), to water and to mineral fortified salt licks (containing Na 370g, Mg 3g, Zn 0.9g, Mn 0.75g, Cu 0.15g, Fe 0.4g, I 0.1g, Co 0.06g, and Se 0.015g/kg). The TMR contained 50% dry matter.

Gestation was confirmed at 60d by ultrasonography. Starting at  $89\pm 3$ d of gestation, the goats were allocated to one of two dietary treatments: control (C) or restricted (R) according to breed, age, liveweight (LW) and body condition score (BCS). Litter size was not directly used because it could not be determined precisely at the time when pregnancy diagnosis was performed. The composition of the TMR was modified in the last weeks of gestation to take into account the proportionally faster increase in protein requirements compared to energy. The composition and proximate analysis of the diets are given in Table 1. Each dietary treatment group was sub-divided into two on the basis of LW. A heavy (C,  $82\pm 2.5$ kg and R,  $83\pm 2.5$ kg) and a light group (C,  $61\pm 1.6$ kg and R,  $62\pm 1.4$ kg) were defined in order to reduce aggression between light and heavy R goats at the feeding trough and to better adjust the amount of food in relation to body weight. All the R goats were individually blocked at the feeding trough by a neck lock for 30 min during feeding to avoid competition at the trough and to ensure that all goats were able to eat undisturbed. The C group (n=30) was fed ad libitum (5% orts) the above TMR for the last third of gestation and the R group (n=30) was given the same TMR but at a lower level. The quantity given was adjusted each week from an initial 50% of the amount given to the control sub-group of similar LW, with a gradual increase up to 80% from -2wk to parturition. Indeed, when 3 goats presented symptoms of toxemia in the restricted subgroups (physiology measurements, see below), it was decided prior to the experiment to increase progressively the amount of feed for ethical reasons. Therefore, each restricted subgroup received 50% of the amount of feed given to their pair-fed control subgroup for 4 wk, 60% for 1 wk, 70% for 1 wk and 80% the last 2 wk of pregnancy. In addition, the R group received ad libitum barley straw (3.13MJ Net energy, 24g PDIN (true intestinal digestible protein, when fermentable N is the limiting factor), 46g PDIE (true intestinal digestible protein, when fermentable energy is the limiting factor), 420g crude fibre, 3.5g calcium and 1.0g phosphorus, per kg DM). This was aimed at limiting behavioural problems (such as eating hair) that are usually associated with an unfilled rumen and to reduce as much as possible the psychological stress due to feed restriction (Mason, 1971).

Finally, all the goats received the equivalent of 40g per head and per day mono-propylene glycol (DIFAGRI PICOT SA, France) mixed in the TMR, to limit the onset of ketosis. The diets were given twice daily at 07:00h and 15:00h until parturition, thereafter all the goats were fed a TMR designed to cover the requirements of early lactation (INRA, 1988).

The nutrition value of the diet was estimated using equations (Olsen et al., 1987) based on the chemical composition of each foodstuff measured using methods approved by the Association Française de Normalisation and the European Commission (Olsen et al., 1987).

Table 1.

Composition and proximate analysis of the diets given to dairy goats during the experimental period

	- 8 wk to - 4 wk <sup>1</sup>	- 4 wk to - 2 wk	- 2 wk to 0	After parturition
Composition, % DM				
Sugar-beet pulp	35	30	30	28
Perennial ryegrass hay	25	25	25	17
Lucerne hay	29	29	29	32
Protein concentrate	0	5	10	17
Barley	10	10	5	5
Mineral and vitamin mix	1	1	1	1
Nutrients, /kg DM				
Net energy, MJ	5.7	5.6	5.5	5.7
PDI, g	69	73	76	84
CP, g	112	116	120	90
Crude fiber, g	292	285	287	270
Calcium, g	9.0	8.5	8.7	8.8
Phosphorus, g	2.0	2.3	2.4	2.8

<sup>1</sup> weeks in reference to parturition (parturition = 0).

NEL = Net energy for maintenance and lactation

PDIN = true intestinal digestible protein, when fermentable N is the limiting factor

PDIE = true intestinal digestible protein, when fermentable energy is the limiting factor.

## ***2.2. Treatment of goats which developed pregnancy toxaemia***

During the experiment, four goats in the R group developed pregnancy toxaemia as assessed by physiological measurements (see below). The goats were removed from the experiment, treated with Energidex (Vetoquinol, France) infusions and fed the same quantity of feed as that given to the C group.

## ***2.3. Measurements***

The goats were weighed before the beginning of the experiment and weekly thereafter. Body condition was scored by the same person before the beginning of the experiment and every other week thereafter. The goats were also weighed 24h post-parturition and the kids were weighed at birth. Blood samples were collected weekly from the goats starting before the beginning of the dietary treatment period until after parturition (parturition -8 to +6wk).

Blood was collected by jugular venipuncture into heparinised tubes in the morning, before the distribution of the diet. The blood was immediately centrifuged at 2000 x g for 15min at 4°C after collection. Plasma was removed and stored at -20°C until required for analysis. Plasma was assayed for glucose, NEFA, BHB and urea on weekly samples. Three samples were selected for insulin and leptin measurements: before treatment, -4wk and -1wk prior to parturition. Glucose, NEFA and BHB were assayed on the day immediately after sampling so that the results could be used to identify goats developing pregnancy toxemia (low glucose associated with high NEFA and high BHB in addition to a reduction in feed intake).

The results concerning the kids born to these goats have been presented elsewhere (Laporte et al., 2009).

## **2.4. Assays**

Weekly plasma samples were analysed by photometric methods for glucose (Glucose-RTU<sup>®</sup>, BioMérieux, Lyon, France), NEFA (NEFA C<sup>®</sup>, Wako Chemicals, Neuss, Germany), BHB (method adapted from Barnouin et al., 1986) and urea (Urea-kit S<sup>®</sup>, BioMérieux, Lyon, France).

Insulin and leptin were analysed by radioimmunoassay, respectively based on a RIA rat insulin kit (Millipore, Molsheim, France; 100% of specificity for sheep insulin) and ovine leptin (Delavaud et al., 2000). Inter-assay coefficients of variation were 4.3% at 3.47mmol/L, 12.7% at 0.31mmol/L, 6.5% at 0.82mmol/L and 8.3% at 2.99mmol/L for glucose, NEFA, BHB and urea respectively. Intra-assay coefficients of variation were 9.7% at 153.8pmol/L for insulin and 4.0% at 57.45ng/mL for leptin.

## **2.5. Behavioural measurements**

The procedures used in all the situations were designed to ensure that the handling protocol was standardized.

### **2.5.1. Time budget**

Goats were continuously filmed for two periods of 12 hours (8:00h to 20:00h) at 7wk and 1wk before parturition. The cameras were placed on the wall in front of the goats. Due to coat colour, it was difficult to identify the Alpine goats. Therefore, only the white Saanen goats were individually identified by blue paint marks and their behaviour observed (C, n=14 and R, n=14). Video recordings were analysed by scan sampling every 2min which is an accurate method compared to continuous recording when studying major activities (such as standing, walking...) (Mitlöhner et al., 2001). All the goats were observed at the same time and the different behaviours were noted over 5s periods for each individually identified goat. The following variables were analysed: the percentage of time spent lying

down, standing immobile (no movement of the limbs), standing at neck-lock (either feeding or not), feeding (TMR or straw) and walking. The number of agonistic behaviours were recorded (attack i.e. threatening, chasing, butting and avoiding behaviour). In addition, the number of self-grooming and positive interactions (nuzzling, sniffing or rubbing a conspecific) were also noted (see Andersen et al., 2008 for more precise definitions). The time the goats spent ruminating was not analysed due to the lack of precision when the animals were not facing the camera.

#### 2.5.2. Novel arena and novel object tests

The novel arena and object tests were performed in a straw floored, 3.1m x 4.3m, empty enclosure built with laminated wood panels. This enclosure was located in a room which is not used during normal management of the farm. A camera was placed above the test arena. The novel arena test was performed 7 and 2wk prior to parturition and again two weeks after parturition. Each goat was gently pushed into the novel arena and the test lasted 3min. The goat was then returned to the corridor while a road traffic hazard cone was placed in the centre of the novel arena. The goat was then reintroduced into the novel arena for a further 3min. At the end of the tests, the goats were returned to their home pen. The films were subsequently analysed using the Observer 5.0® Software System for Behavioral Research (Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands). A total of 28 goats were tested 7wk prior to parturition (C, n=14 and R, n=14), 25 goats 2 wk prior to parturition (C, n=12 and R, n=13) and 22 goats two weeks after parturition (C, n=10 and R, n=12). The following variables were analysed for the novel arena test: the percentage of time spent immobile (no movement of the limbs), walking, climbing (two limbs on the wall and two limbs on the floor), the percentage of time spent in the entrance area (1m x 1m), the number of vocalisations and the number of goats performing defecations and mictions. The number of times that the novel object was sniffed (muzzle <5cm for the object) and the latency before the first sniff were also recorded for the novel object test.

### 2.6. *Statistical analysis*

Statistical analysis was performed using the SPAD programme (CISIA, 1996) for principal component analysis and the SAS (SAS Institute Inc, 2000) for the other procedures. When assumptions of homogeneity of variance and normal distribution of the residuals were not confirmed, a  $\ln(x + 1)$  or  $1/(x + 1)$  or  $\sqrt{x}$  transformation was performed before carrying out the analyses. When the transformation did not allow the hypotheses to be confirmed, a Wilcoxon Mann Whitney (non parametric test) was used. Results are presented as LSmean $\pm$ SEM. A  $P < 0.05$  was considered to be statistically significant and a  $P < 0.10$  a trend.

The effect of treatment on litter size and litter weight was tested using the GLM procedure of SAS. Total weight gain during gestation (goat plus conceptus) and goat LW loss during

the period of dietary treatment were analysed using the GLM procedure of SAS where litter weight was used as a covariable.

Liveweight and BCS changes were analysed using the PROC MIXED procedure of SAS for repeated measures over time including a random female effect. The effects of time, dietary regimen and their interaction were tested using litter weight as a covariable. The LW and BCS in pre-experimental period were also used as covariables in the LW and BCS models, respectively.

The metabolite and hormone data were also analysed using the PROC MIXED procedure of SAS for repeated measures (as above).

A principal component analysis (PCA) was performed on the data obtained from the R group of goats (23 healthy and 4 toxaemic goats) at -9wk prior to parturition, i.e., before the start of the period of dietary restriction. The aim was to ascertain which factors could be correlated with the risk of developing pregnancy toxaemia. The variables analysed were: LW, BCS, plasma glucose, urea, NEFA and BHB. The quality of the representation of the individuals on each axis (cos2) and their dispersion on axis 1 and axis 2 were analysed.

The GLM procedure (SAS Institute Inc, 2000) was used to analyse the time budget, novel arena and novel object data. The number of goats performing defecations and mictions during the novel arena and object tests was analysed using  $\chi^2$ .

Using SAS, 'estimates' were calculated in order to allow comparisons time point by time point.

### **3. Results**

#### **3.1. Animal husbandry measurements**

Even though pregnancy diagnosis was performed, 4 control goats were found to be non-pregnant at the expected date of parturition or had aborted and some goats experienced an accident during the experiment (2 control and 2 restricted goats) and were therefore withdrawn from the study. In addition, 4 R goats developed pregnancy toxaemia. Therefore, 25 goats in the C group and 23 goats in the R group were used in the analyses of length of gestation, litter size and litter weight and the evolutions in LW, BCS, plasma metabolites and hormones during the experiment.

During the first 4wk of dietary treatment the average quantities of diet ingested were: for light control goats: 1.9 kg DM/d, for heavy control goats: 2.4kg DM/d, for light restricted goats: 1.0kg DM/d and for heavy restricted goats: 1.3kg DM/d. When straw intake was integrated into the calculations (0.4kg DM/d), the energy intake of the restricted goats was 60% of that of the controls. During the last four weeks of dietary treatment, the average quantities ingested were: for light control goats: 1.9 kg DM/d, for heavy control goats: 2.2kg DM/d, for light restricted goats: 1.3kg DM/d and for heavy restricted goats:



1.6kg DM/d. When straw intake was integrated into the calculations (0.4kg DM/d), energy intake of the restricted goats was 80% of that of the controls.

### 3.1.1. Length of gestation, litter size and litter weight

There was no effect of dietary regimen on the length of gestation (C,  $151 \pm 2$ d vs. R,  $151 \pm 2$ d, respectively), litter size (C,  $2.1 \pm 0.2$  vs. R,  $2.0 \pm 0.1$ , respectively) nor litter weight (C,  $8.56 \pm 0.60$ kg vs. R,  $8.63 \pm 0.44$ kg, respectively). Kid mortality rate (foetus mummified, still-birth or death in first 48h) was not different between groups (data not shown).

### 3.1.2. Goat LW and BCS changes

#### Before parturition

The evolution in goat LW prior to parturition is shown in Figure 1a. There was no difference between groups before the start of the experimental period but after the introduction of the dietary regimens, the LW of the C goats was systematically higher than the R goats ( $P < 0.001$ ). In addition, the litter weight and basal LW covariables affected the evolution in LW prior to parturition ( $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ , respectively). Across treatments, goat LW increased more in animals which produced heavy litters compared to goats which produced light litters. In addition, goats which had a high basal LW gained more weight prior to parturition than goats which had a low basal LW.

The evolution in BCS during the experimental period is shown in Figure 1b. There was no difference between groups before the start of the experimental period but after the introduction of the dietary regimens, BCS was affected by treatment ( $C > R$ ,  $P < 0.001$ ). In addition, there was an effect of time (decrease then increase in BCS,  $P < 0.05$ ) and BCS before treatment on the evolution in BCS prior to parturition (across treatments, goat BCS decreased more in animals which started with a high BCS before dietary treatment compared to goats which started with a low BCS,  $P < 0.001$ ). There was no effect of litter weight or an interaction regimen x time on BCS.

A summary of the changes in weight during the gestation period and at parturition is given in Figure 2. There was an effect of dietary regimen on goat weight gain during pregnancy (C,  $7.54 \pm 0.88$ kg vs. R,  $1.44 \pm 1.26$ kg, respectively,  $P < 0.01$ ) and goat weight loss during the dietary treatment period (C,  $-0.43 \pm 0.80$ kg vs. R,  $-6.65 \pm 0.92$ kg, respectively,  $P < 0.001$ ).

#### Post partum

The live weight of the animals during the post partum period is shown in Figure 3a. The live weight of the C goats was initially higher than the R goats ( $P < 0.05$ ). Although the difference gradually decreased, it was still statistically significant 5 weeks after parturition.

The body condition score post partum is shown in Figure 3b. BCS was initially higher in C goats than in R goats ( $P < 0.05$ ) and the difference had disappeared by 5wk post partum.

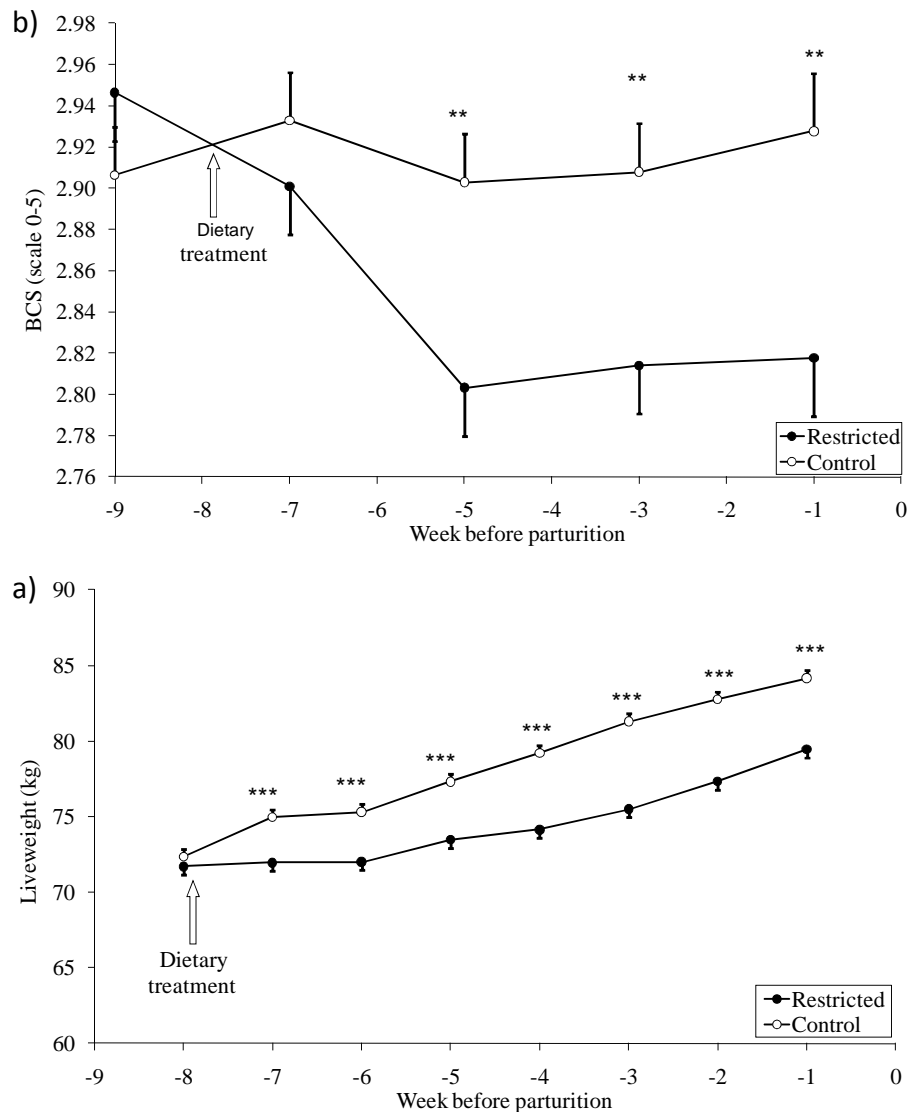


Figure 1. a) Liveweight and b) Body condition score (BCS) measurements during the period preceding parturition (-8wk to parturition) in healthy goats (no toxæmia). One of two dietary regimens was used between -8wk to parturition: C group (n=25) was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group (n=23) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group. Differences time point by time point between treatments are shown, \*\* P<0.01 and \*\*\* P<0.001. The start of the dietary treatment period is indicated with an arrow.

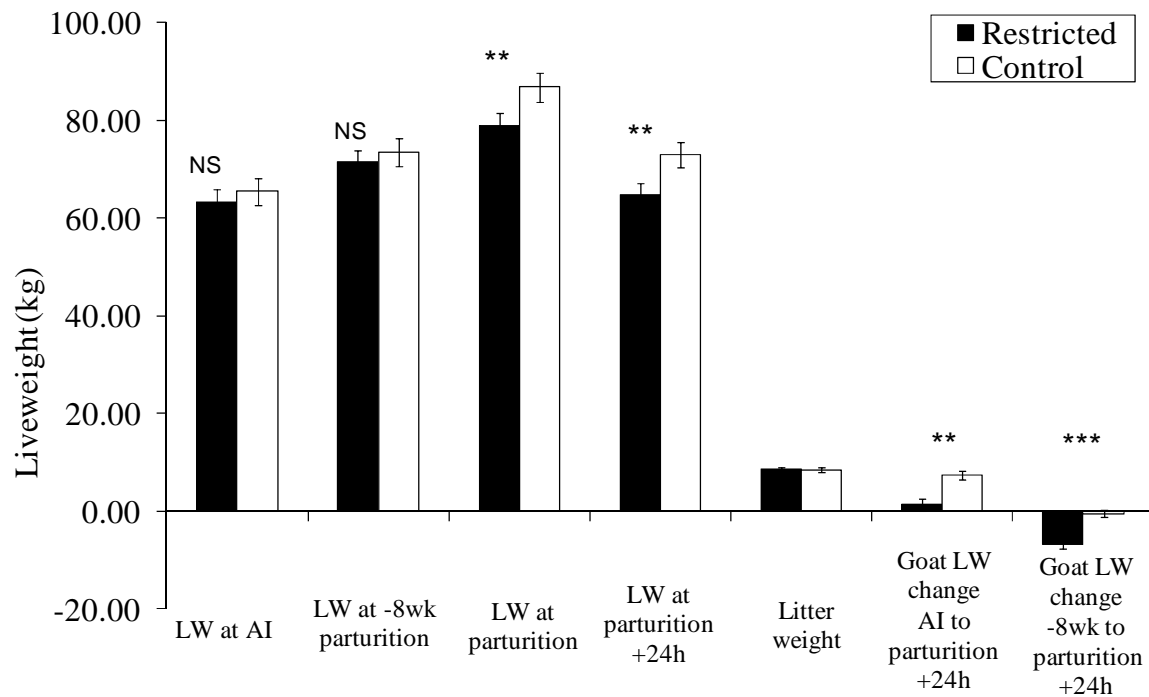


Figure 2. Goat liveweight (LW), litter weight and changes in goat LW during the period between: artificial insemination (AI) up to 24 hours post partum and start of treatment up to 24 hours post partum in healthy goats (no toxemia). One of two dietary regimens were used between -8wk to parturition: C group (n=25), was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group (n=23) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group. Differences between treatments are shown, NS non significant, \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$ .

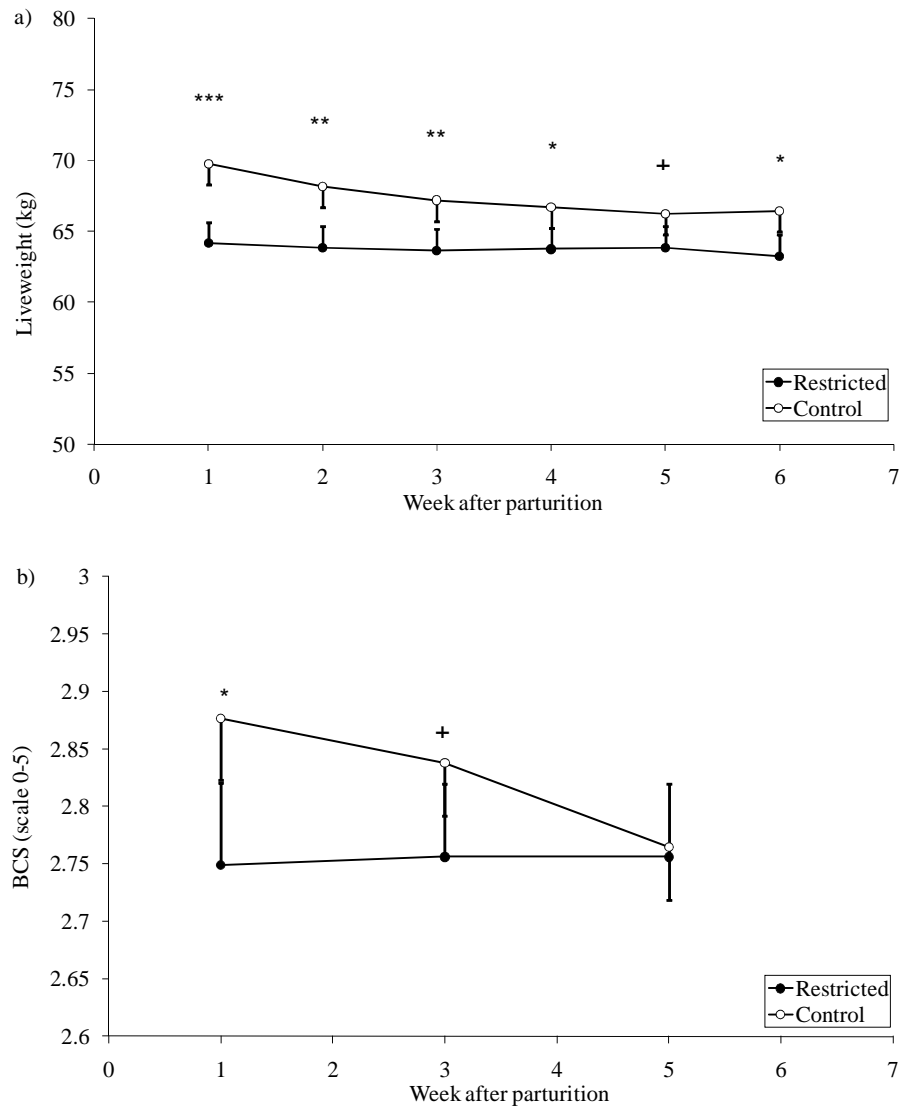


Figure 3. a) Liveweight and b) Body condition score (BCS) measurements during the period post partum (parturition to +6wk) in healthy goats (no toxæmia). One of two dietary regimens were used between -8wk to parturition: C group (n=25) was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group (n=23) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group. After parturition the same TMR, designed to cover the requirements for lactation, was given to all the goats. Differences time point by time point between treatments are shown, + P<0.1, \* P<0.05, \*\* P<0.01 and \*\*\* P<0.001.

## 3.2. Physiological responses

### 3.2.1. Blood measurements

#### Pre-partum

Glucose concentrations gradually decreased in both groups during the experimental period ( $P < 0.001$ , Figure 4a) and  $C > R$  ( $P < 0.001$ ). The covariable litter weight had a significant effect on glucose concentrations ( $P < 0.01$ ), where heavy litters had lower glucose concentrations than light litters.

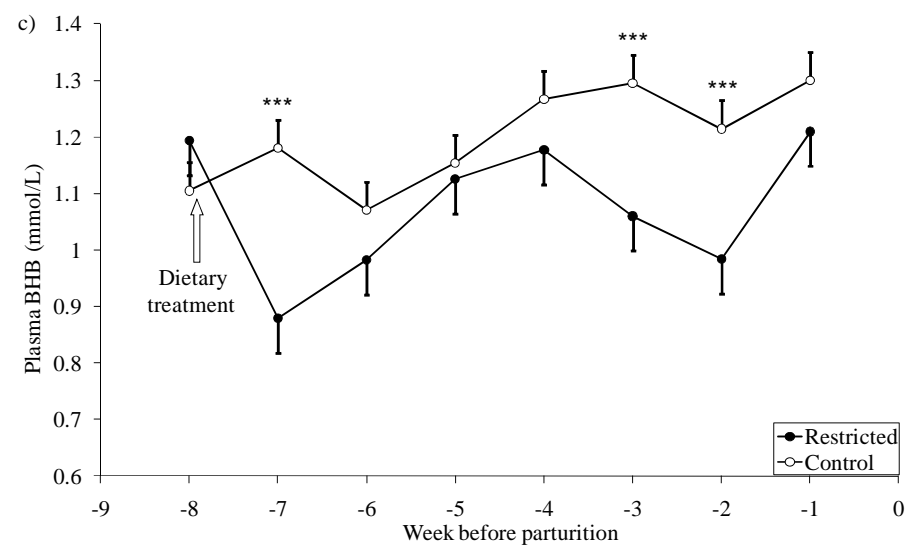
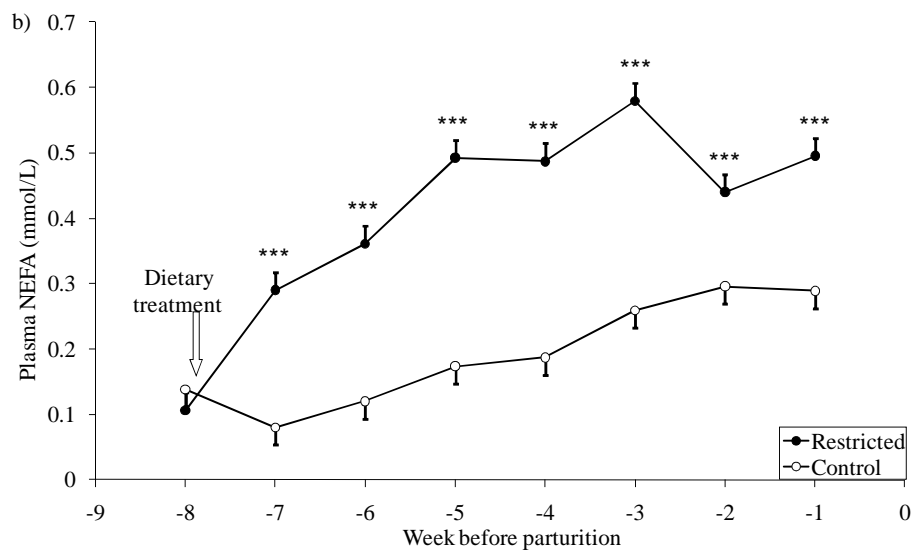
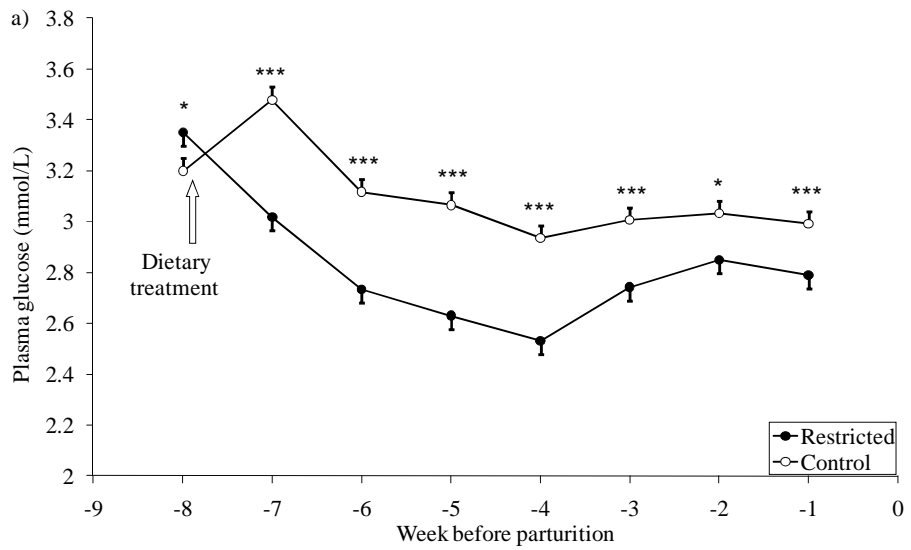
Plasma NEFA concentrations increased with time during the experimental period ( $P < 0.001$ , Figure 4b). There was an effect of dietary regimen ( $C < R$ ,  $P < 0.001$ ) and an interaction between regimen and time ( $P < 0.001$ ). The NEFA concentrations increased more in R goats compared to C goats. The covariable litter weight had a significant effect on NEFA concentrations ( $P < 0.01$ ), where heavy litters had higher NEFA concentrations than light litters.

Plasma BHB concentrations increased with time during the experimental period ( $P < 0.001$ , Figure 4c). There was an effect of dietary regimen ( $C > R$ ,  $P < 0.01$ ) and an interaction between regimen and time ( $P < 0.001$ ) on BHB. The BHB concentrations increased more in C goats compared to R goats. The covariable litter weight tended to have an effect on BHB concentrations ( $P < 0.10$ ), where heavy litters had lower BHB concentrations than light litters.

Plasma urea concentrations increased with time during the experimental period ( $P < 0.001$ , Figure 4d) and there was an effect of dietary treatment ( $C > R$ ,  $P < 0.01$ ).

Plasma insulin concentrations were higher in the R group than the C group prior to the start of treatment ( $P < 0.05$ , Figure 5a) this effect was reversed 4wk before parturition ( $P < 0.05$ ). The concentrations of insulin decreased with time ( $P < 0.001$ ).

There was no difference between groups for the leptin concentrations prior to the start of the dietary treatment. Four weeks before parturition, leptin concentrations were significantly higher in the C group compared to the R group ( $P < 0.05$ , Figure 5b). The concentrations of leptin decreased with time ( $P < 0.001$ ).



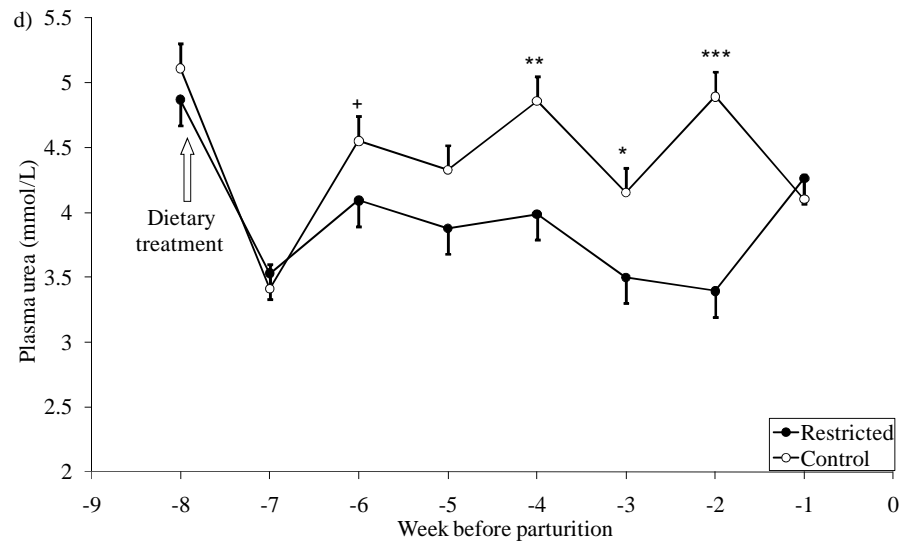


Figure 4. Plasma concentrations of a) glucose, b) NEFA, c) BHB and d) urea during the period preceding parturition (-8wk to parturition) in healthy goats (no toxæmia). One of two dietary regimens were used between -8wk to parturition: C group (n=25), was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group (n=23) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group. Differences time point by time point between treatments are shown, + P<0.1, \* P<0.05, \*\* P<0.01 and \*\*\* P<0.001. The start of the dietary treatment period is indicated with an arrow

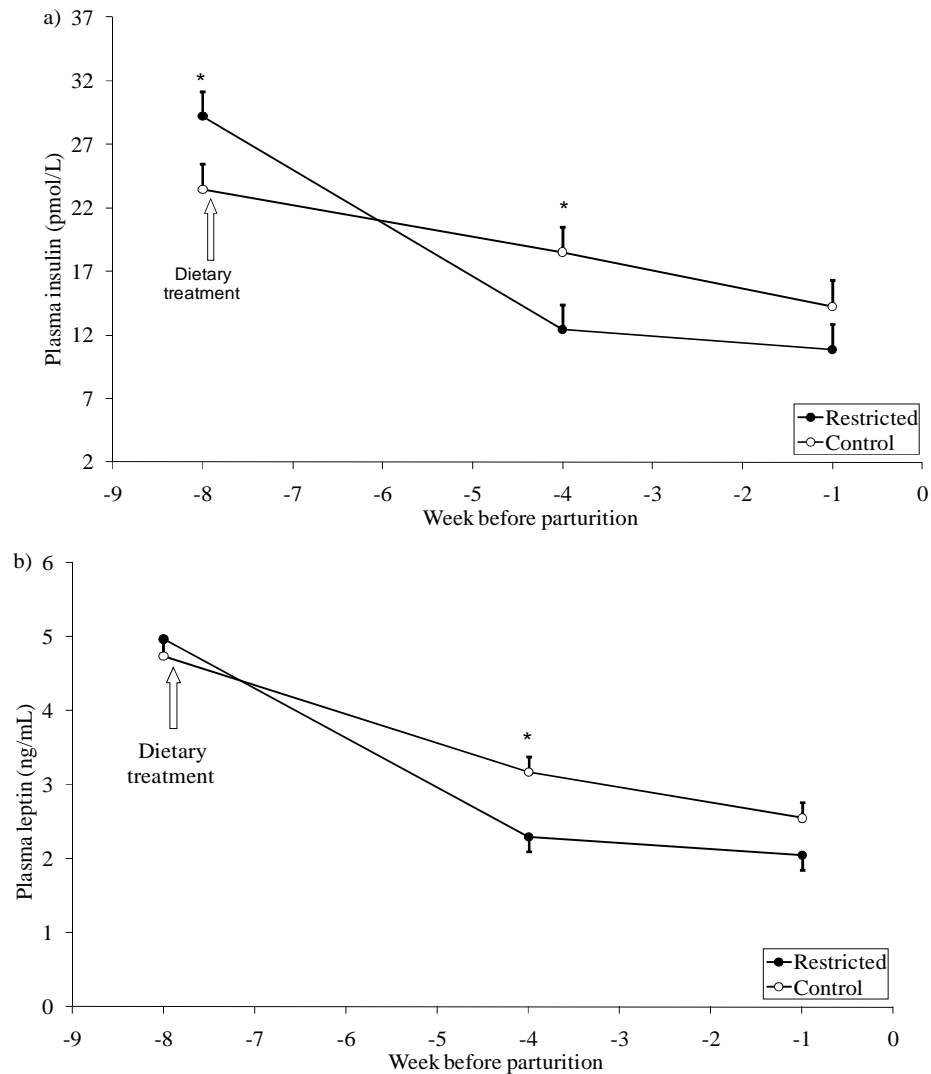


Figure 5. Plasma concentrations of a) insulin and b) leptin during the period preceding parturition (-8wk to parturition) in healthy goats (no toxæmia). One of two dietary regimens were used between -8wk to parturition: C group (n=25), was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group (n=23) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group. Differences time point by time point between treatments are shown, \*  $P < 0.05$ . The start of the dietary treatment period is indicated with an arrow

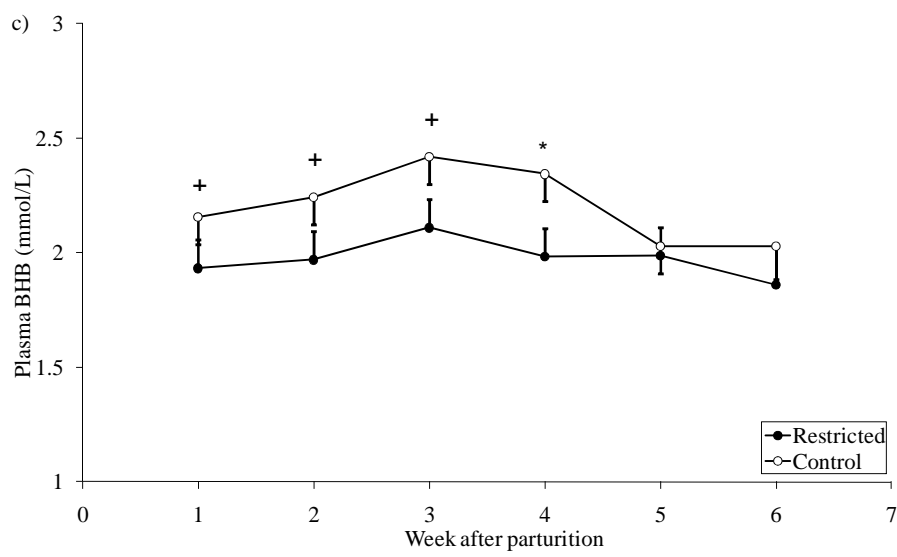
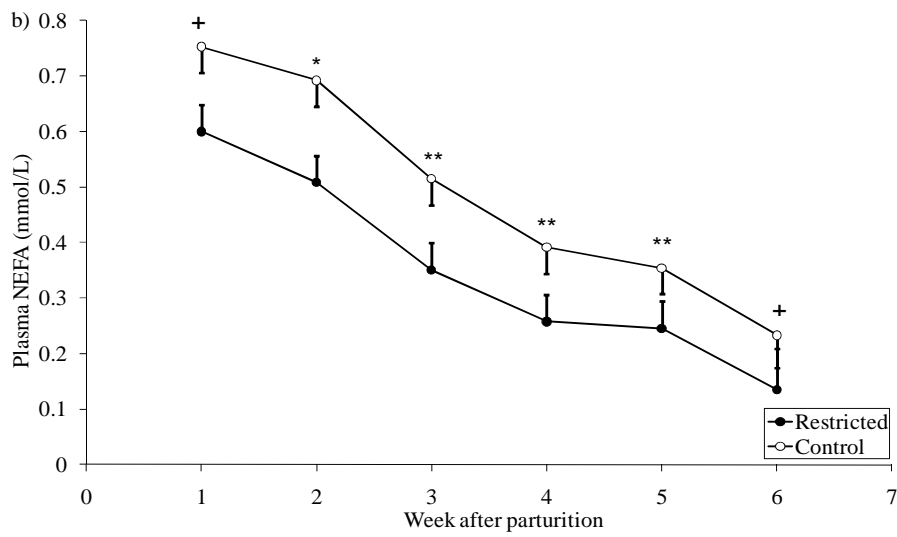
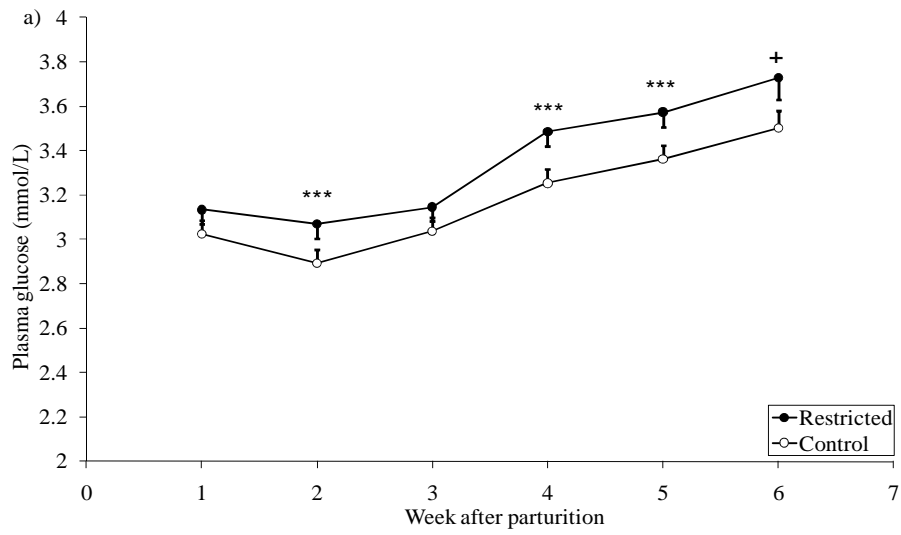


### Post partum

Plasma glucose concentrations gradually increased in both groups during the post partum period ( $P < 0.001$ , Figure 6a) and  $R > C$  ( $P < 0.001$ ) while NEFA concentrations gradually decreased with time post partum ( $P < 0.001$ , Figure 6b) and  $C > R$  ( $P < 0.01$ ). There was a trend for BHB concentrations to be higher in the C group compared to the R group (between  $P < 0.1$ , Figure 6c). There were no consistent differences in plasma urea concentrations post partum (Figure 6d).

#### 3.2.2. Principal component analysis of pregnancy toxaemia

The results of the PCA are presented in Figure 7. The variables for each axis are shown and the variability of each variable explained by the axis is also given ( $r^2$  = variable-factor correlation coefficient). The first two principal components (PC 1 and 2) accounted for 29% and 25% of the variation in the dataset. PC 1 was mainly explained by high plasma glucose ( $r^2=0.89$ ) and low plasma NEFA ( $r^2=-0.81$ ) and PC 2 by high BCS ( $r^2=0.77$ ) and low urea ( $r^2=-0.64$ ). The goats which went on to show clinical signs of pregnancy toxaemia (goats: 4026, 5008, 5123 and 6110) are mainly represented in the same quadrant of the PCA whereas the other goats, which did not go on to develop toxaemia, are mainly represented in the remaining quadrants.



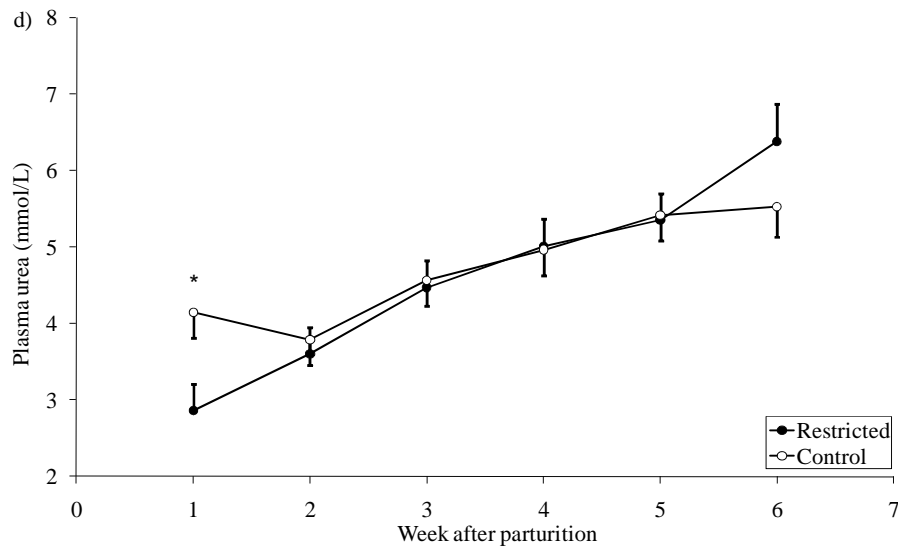


Figure 6. Plasma concentrations of a) glucose, b) NEFA, c) BHB and d) urea during the period post partum (parturition to 6wk) in healthy goats (no toxæmia). One of two dietary regimens were used between -8wk to parturition: C group (n=25), was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group (n=23) was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wks) of the amount given to the C group. After parturition the same TMR, designed to cover the requirements for lactation, was given to all the goats. Differences time point by time point between treatments are shown, +  $P < 0.1$ , \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$ .

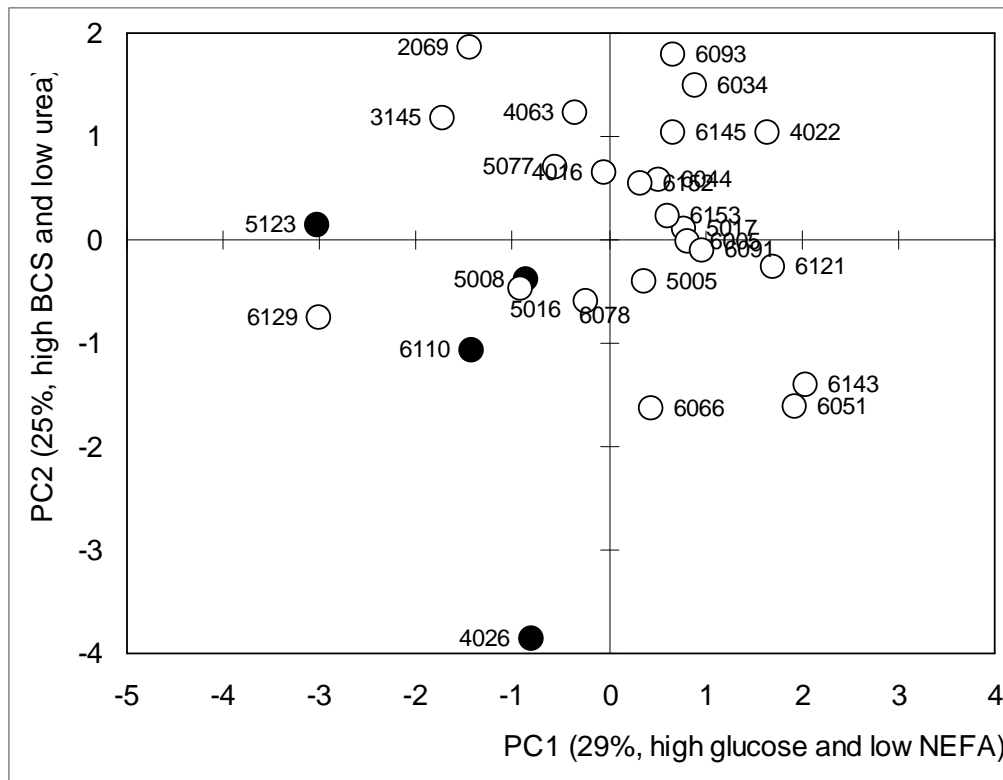


Figure 7. A principal component analysis was performed on parameters measured in goats (n=27) at -9 wk in relation to parturition. The goats subsequently received a dietary restriction prior to parturition. The dietary restriction was performed by giving a TMR which corresponded to 50% (week -8 to -5), 60% (week -4), 70% (week -3) and 80% (-2wk to parturition) of the quantity of feed given to a group of control goats. Each circle and number represents a goat. The four goats which became toxæmic during the dietary restriction period are represented by their number and a black circle.

### ***3.3. Behavioural responses***

#### **3.3.1. Time budget**

One week after the start of the experimental period (-7wk in relation to parturition) the R goats spent less time standing immobile ( $P < 0.05$ ), more time walking ( $P > 0.001$ ) and more time standing at neck-lock ( $P > 0.001$ ) compared to C goats (Table 2). The increase in time spent in the neck-lock was explained by an increase in feeding time ( $P < 0.001$ ) in R goats compared to C goats. When studying more specifically the total time spent feeding, R goats ate their TMR for 18% of the time and straw for the remaining time. No difference in agonistic behaviour was observed between dietary treatments. However, the number of self-grooming and positive interactions was lower in R goats compared to C goats ( $P < 0.001$ ).

After 7wk of dietary treatment (-1wk before parturition), R goats spent more time standing immobile ( $P < 0.01$ ), more time walking ( $P < 0.001$ ) and less time lying down ( $P < 0.05$ ) compared to C goats (Table 2). However, there was no effect of dietary treatment on time spent standing at neck-lock or feeding. When studying more specifically the total time spent feeding, R goats ate their TMR for 44% of the time and straw during the remaining time. The number of attacks tended to be lower in R goats compared to C goats ( $P < 0.10$ ).

#### **3.3.2. Novel arena and novel object**

One wk after the start of the restriction period (-7wk prior to parturition), the R goats spent more time in the entrance area ( $P < 0.05$ ) and walked more ( $P < 0.05$ ) during the novel arena test than the C goats (Table 3). No effect of dietary treatment was observed during the novel object test.

Two weeks prior to parturition, while no differences were observed during the novel arena test, the R goats sniffed more often the novel object ( $P < 0.05$ ), tended to sniff it more quickly ( $P < 0.10$ ) and spent more time walking ( $P < 0.05$ ) than C goats during the novel object test.

After parturition no differences were observed between treatments.

Table 2. Behaviour of goats measured over 12h at -7 and -1wk before parturition. Dietary regimens (Control (C) or Restricted (R)) were started -8wk before parturition <sup>1</sup>.

In relation to parturition Behaviour	-7 weeks		<i>P</i> -value	-1 week		<i>P</i> -value
	Dietary regimen			Dietary regimen		
	C (n=14)	R (n=14)		C (n=14)	R (n=12)	
Time spent (%)						
- lying down	18.6 ± 4.67	17.8 ± 4.24	ns	38.7 ± 5.21	25.5 ± 4.90	+
- standing immobile	45.7 <sup>b</sup> ± 4.44	31.7 <sup>a</sup> ± 4.30	*	28.3 <sup>b</sup> ± 4.48	45.3 <sup>a</sup> ± 4.21	**
- walking	1.6 <sup>b</sup> ± 0.41	5.1 <sup>a</sup> ± 0.37	***	0.4 <sup>b</sup> ± 0.11	1.0 <sup>a</sup> ± 0.10	***
- standing at neck-lock	33.5 <sup>b</sup> ± 2.66	48.1 <sup>a</sup> ± 2.42	***	32.4 ± 2.17	28.6 ± 2.04	ns
- feeding	27.8 <sup>b</sup> ± 2.41	42.5 <sup>a</sup> ± 2.19	***	29.1 ± 1.85	25.6 ± 1.74	ns
Number of						
- attacks	1.4(3.2) ± 0.20	1.4(2.9) ± 0.18	ns †	1.5(3.6) ± 0.23	0.9(1.4) ± 0.21	+ †
- avoidance behaviour	4.2 ± 0.78	3.4 ± 0.70	ns	0.9(1.4) ± 0.21	1.1(2.1) ± 0.20	ns †
- self-grooming	2.9 <sup>b</sup> (17.2) ± 0.12	2.5 <sup>a</sup> (10.6) ± 0.11	** †	9.6 ± 1.69	12.4 ± 1.59	ns
- positive interactions	15.9 <sup>b</sup> ± 1.95	4.9 <sup>a</sup> ± 1.77	***	1.4(2.9) ± 0.21	1.3(2.6) ± 0.19	ns †

<sup>1</sup> C group was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group.

† transformation  $\ln(x + 1)$  (back-transformed value). <sup>w</sup> Wilcoxon Mann Whitney test.

Means within a row for a time period with different letters are significantly different (ns=not significant; +,  $P < 0.1$ ; \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ ).

Table 3. Behaviour observed during a novel arena test (3min) and novel object test (3 min) performed -7, -2 and 2wk in relation to delivery. Dietary regimens; Control (C) or Restricted (R) were started -8wk before parturition<sup>1</sup>.

Behaviour	-7 wk			-2 wk			2 wk		
	Dietary regimen		P-value	Dietary regimen		P-value	Dietary regimen		P-value
	C (n=14)	R (n=14)		C (n=14)	R (n=14)		C (n=14)	R (n=14)	
<b>Novel arena test</b>									
Time spent in the entrance area (%)	1.9 <sup>b</sup> (5.4) ± 0.24	2.6 <sup>a</sup> (12.3) ± 0.24	* †	3.1(20.1) ± 0.29	3.1(20.5) ± 0.28	ns †	21.3 ± 2.45	15.1 ± 2.24	+
Time spent immobile (%)	64.6 ± 5.59	61.5 ± 5.59	ns	62.6 ± 7.51	55.2 ± 7.24	ns	57.8 ± 4.68	61.4 ± 4.27	ns
Time spent walking (%)	13.0 <sup>b</sup> ± 1.45	18.4 <sup>a</sup> ± 1.45	*	14.6 ± 2.43	16.9 ± 2.34	ns	27.4 ± 2.16	23.9 ± 1.97	ns
Time spent climbing (%)	2.5(10.9) ± 0.37	2.5(11.7) ± 0.37	ns †	2.1(7.5) ± 0.52	2.5(11.4) ± 0.50	ns †	14.5 ± 4.12	14.7 ± 3.76	ns
Number of vocalisations	29.3 ± 6.09	36.7 ± 6.09	ns	32.6 ± 5.94	28 ± 5.73	ns	51 ± 7.00	51.8 ± 6.39	ns
<b>Novel object test</b>									
Time spent in the entrance area (%)	2.1(7.0) ± 0.36	2.8(15.4) ± 0.36	ns †	39 ± 7.98	26.7 ± 7.69	ns	24.9 ± 6.24	27.1 ± 5.69	ns
Time spent immobile (%)	67.7 ± 6.58	68.1 ± 6.58	ns	64.3 ± 7.81	60.3 ± 7.53	ns	71.3 ± 5.22	69.7 ± 4.76	ns
Time spent walking (%)	2.2(8.1) ± 0.15	2.5(10.8) ± 0.15	ns †	2.1(7.3) ± 0.15	2.5(10.9) ± 0.15	+ †	14 ± 2.57	16.3 ± 2.35	ns
Time spent climbing (%)	2.2(8.3) ± 0.42	2.2(7.7) ± 0.42	ns †	27.5 ± 7.94	26.5 ± 7.65	ns	14.7 ± 4.24	14 ± 3.87	ns
Number of times that the object was sniffed	1.1(2.1) ± 0.15	1.3(2.7) ± 0.15	ns †	1.8 <sup>b</sup> ± 0.4	3.1 <sup>a</sup> ± 0.39	*	2.4 ± 0.54	3.5 ± 0.49	ns
Latency before the first sniff of the object (s)	3.4(28.1) ± 0.31	2.9(17.9) ± 0.31	ns †	56.6 ± 1.79	27.6 ± 1.36	+	3.3(27.2) ± 0.24	2.8(15.6) ± 0.22	ns †
Number of vocalisations	29.3 ± 6.09	36.7 ± 6.09	ns	22.8 ± 3.92	25.3 ± 3.78	ns	40 ± 6.55	48.1 ± 5.98	ns

<sup>1</sup> C group was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and R group was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the C group.

† transformation  $\ln(x + 1)$  (retransformed value).

Means within a row for a time period with different letters are significantly different (ns=not significant; +,  $P < 0.1$ ; \*,  $P < 0.05$ ).

## 4. Discussion

Although the LW of the goats was modified by the treatment, it is interesting to note that the weight of the litter in the two treatment groups was the same. These results confirm those of Celi et al. (2008) in goats and Petterson et al. (1993) and Simitzis et al. (2009) in sheep. However, lower birth weights have been observed in sheep and goats underfed in late-pregnancy (Alexander, 1978; Koritnik et al., 1981; Bajhau and Kennedy, 1990; Oliver et al., 2001; Borwick et al., 2003; Husted et al., 2007). In addition, some authors have reported that there are modifications in organ growth and overall foetal development following restricted feeding during pregnancy (Koritnik et al., 1981; Greenwood et al., 1999). In the present experiment, the foetal compartment seemed to have been protected at the expense of the dam. However, when only the twin and triplet bearing goats were studied, the birthweight of male kids born to restricted goats was reduced compared to controls (Laporte et al., 2009), emphasizing the importance of taking into account litter size when studying the effect of food restriction during pregnancy on the offspring.

The difference between LW at the beginning of treatment and LW 24h post partum indicated that the food restricted goats lost on average 6.65kg ( $\square$ 10% of initial LW) between the start of treatment and 24h after parturition whereas the controls lost the negligible amount of 0.43kg (<1% of initial LW). These results indicate that the requirements for the control goats were met during the treatment period (stable dam LW) whereas the restricted goats were forced to mobilise body reserves because requirements were not covered. Sahlu et al. (1995) have produced similar results. They showed that dairy goats gained very little LW between 90d of pregnancy and parturition. The metabolic environment at the end of gestation may result in the redirection of nutrients towards the conceptus and therefore dam LW gain at the end of pregnancy may be physiologically difficult to achieve.

### *4.1. Physiological responses*

#### 4.1.1. Metabolic profile

The decrease observed in plasma glucose and the increase in plasma NEFA during dietary restriction confirms that requirements were not covered for the R goats (Sykes and Field, 1972; Schlumbohm and Harmeyer, 2008). The response of the animals was very rapid, since within 1wk of starting the dietary treatments there was already a difference between groups. Conway et al. (1996) showed that when a severe dietary restriction (35% of metabolisable energy requirements for the last third of gestation) in goats was started at about the same stage of gestation, then a difference in glucose concentrations appeared, but only after 4wk. The difference observed between experiments may be due to the fact that in the present experiment glucose concentrations were higher to start with compared to Conway et al. (1996). The change in plasma glucose caused by restricted feeding was



relatively small compared to the change observed in NEFA concentrations as was observed by Caldeira et al. (2007) in sheep. Glucose concentrations are maintained within a very tight range due to its essential role in metabolism. NEFA concentrations, however, were increased 5-fold in the restricted group as they become a major energy source when requirements are not covered. The increase in the amount of feed given to the R group of goats in the last 4wk of gestation (60%, 70% and then 80% of controls) had a very marginal effect on glucose concentrations but a large effect on NEFA concentrations. This is probably due to a combination of several factors: reduced lipid mobilisation due to more food being ingested and improved NEFA oxidation due to higher availability of glucose.

Plasma ketone bodies (BHB) originate from two sources: metabolism of butyric and acetic acid in the wall of the rumen and incomplete oxidation of NEFA in the Krebs cycle. In the present experiment the former source appears to be predominant since BHB concentrations were higher in C goats compared to R. Harmeyer and Schlumbohm (2006) have previously shown that lipid mobilisation causes an increase in BHB and that liver production of ketone bodies is greater than that of the rumen epithelium in restricted feeding. This indicates that in their experiments glucose supply was probably more limiting than in the present experiment. The BHB concentrations in the present experiment were similar to those found by others (0.4-1.2 mmol/L, Ramin et al., 2005) but significantly lower than concentrations considered to be synonymous with pregnancy toxemia (4-5mmol/L, Ford et al., 1990; Henze et al., 1998).

Plasma urea concentrations are influenced by a balance between several factors: dietary nitrogen intake, its fixation in the body and the turnover of body protein. In addition, hepatic and renal function controls the production and elimination of urea. In ruminants there is another pathway which is active. Ruminants are capable of recycling salivary nitrogen via microbial protein synthesis (INRA, 1988). Restricted feeding can increase plasma urea concentrations through body protein catabolism (Oldham, 1984). However, the relative degree of energy compared to nitrogen restriction is important in deciding which tissues are mobilized: adipose or lean tissue. In the present experiment urea concentrations were higher in the controls compared to restricted goats. This may reflect the fact that the R goats had both a lower N intake but also recycled more N since they spent more time feeding and therefore probably salivated more (Table 2).

#### 4.1.2. Pregnancy toxemia

Pregnancy toxemia is associated with a marked increase in circulating ketone bodies and low glucose concentrations (Scott et al., 1995). It is believed that this results from the inability of the pregnant animal to meet the increasing glucose requirements of the uteroplacental unit towards the end of gestation (Reid, 1968; Rook, 2000). Indeed, glucose is the principal carbon source for oxidative metabolism and tissue synthesis in the uteroplacental compartment (Hay, 1991). However, in early lactation the requirements for glucose are 40-100% higher than those at the end of gestation (Perry et al., 1994). Therefore, the early lactating ruminant should be more susceptible to ketosis than the late

gestating animal. Recent results in late pregnant sheep using a perfusion of BHB to cause constant hyperketonaemia showed that hypoglycaemia was caused by reduced maternal glucose production rather than increased glucose uptake by the conceptus (Schlumbohm and Harmeyer, 2008). Hay et al. (1984) and Leury et al. (1990a and 1990b) measured simultaneously both foetal and maternal glucose utilization in sheep and they showed that the rate of foetal uptake of glucose was always linearly related to the maternal glucose concentrations in a variety of situations.

Pethick and Dunshea (1993) showed that the rate of liver ketone body production in the fasting state was the same in late-pregnant and non-pregnant sheep. However, they also noted that increased ketone body production resulted in a 4-fold increase in circulating BHB in the pregnant sheep compared to the non-pregnant sheep. Therefore, the rate of BHB disposal in late twin-pregnant sheep is lower compared to lactating and dry animals (Harmeyer and Schlumbohm, 2006).

In the present experiment four animals in the R group showed clinical signs of pregnancy toxemia. They were all carrying 3 or 4 fetuses. They showed a very similar metabolic and physiological pattern; lowered glucose, elevated NEFA and low BCS and high urea before the experimental period had started (Figure 7). This means that it may be possible to use metabolic and physiological measurements to predict ketosis susceptibility before goats enter the critical risk period at the end of pregnancy.

#### ***4.2. Behavioural responses***

After 1wk of restricted feeding, the time budget analysis showed that R goats were generally more active than C goats. During the novel arena test, R goats also spent more time walking compared to C goats. After 7wk of restricted feeding, the R goats still walked more than C goats. In addition, during the novel object test, R goats sniffed more often the novel object and tended to be quicker to sniff it compared to C goats. These results may indicate that the feed restricted animals were more motivated to explore their environment to try and find new sources of feed resulting in them walking more. Similar results were observed in sows: an increase in the time spent exploring the environment was reported in sows when they were given a small volume of a very nutrient dense diet (energy and protein requirements were covered) compared to sows receiving a more diluted diet (de Leeuw and Ekkel, 2004). De Leeuw et al. (2005) suggested that when the motivation to feed remains high exploration increases. However, even if it is difficult to interpret individual behaviour (de Passillé et al., 1995), exploration was probably not related to a sensation of hunger in the present experiment but was probably related to a metabolic drive to try and cover requirements, since the feed restricted animals had free access to straw.

It should be noted that while positive social behaviour such as self-grooming and positive interactions were reduced in R goats compared to C goats in the first week of restricted feeding, agonistic behaviour was not affected by a reduction in the quantity of feed given.

During feeding the animals were blocked at the neck-lock so that the possibility to express agonistic behaviour was limited. For the remainder of the time they had free access to straw. Barroso et al. (2000) showed that when a poor quality feed resource is available ad libitum then goats rarely fought. Another reason which could explain the low levels of agonistic behaviour in the R goats is that group hierarchy was already established before the experimental period started (Conway et al., 1996).

## 5. Conclusion

In conclusion, both metabolism and behaviour were modified by late-pregnancy restricted feeding. Nutrient restricted goats were more active than control goats, this may indicate a metabolic drive to search for foodstuffs which are more nutrient dense than the actual diet. As early as -9wk parturition, animals which went on to develop pregnancy toxaemia had high plasma NEFA and low glucose, and low BCS and high plasma urea. This profile may be useful in determining which animals are at risk from pregnancy toxaemia.

## Acknowledgments

The authors would like to thank J. Tessier and his team at the goat unit of the Institut National de la Recherche Agronomique (INRA) for care of the animals, J. Perault, C. Ficheux and S. Camous for technical assistance and J.-Y. Picot (DIFAGRI PICOT SA, France) for the gift of the propylene glycol supplement. Special thanks goes to P. Morand-Fehr for fruitful discussion during the experiment.

## References

- Alexander, G., 1978. Quantitative development of adipose tissue in foetal sheep. *Aust. J. Biol. Sci.* 31, 489-503.
- Andersen, I.L., Roussel, S., Ropstad, E., Braastad, B.O., Steinheim, G., Janczak, A.M., Jorgensen, G.M., Boe, K.E., 2008. Social instability increases aggression in groups of dairy goats, but with minor consequences for the goats ' growth, kid production and development. *Appl. Anim. Behavi. Sci.* 114, 132-148.
- Bajhau, H.S., Kennedy, J.P., 1990. Influence of pre- and postpartum nutrition on growth of goat kids. *Small Rumin. Res.* 3, 227-236.
- Barnouin, J., Chillard, Y., Chacornac, J.P., Lefaiivre, R., 1986. Microdosage automatisé sans déprotéïnisation du 3-hydroxy-butyrates plasmatique chez les bovins. *Ann. Rech. Vet.* 17, 129-139.
- Barroso, F.G., Alados, C.L., Boza, J., 2000. Social hierarchy in the domestic goat: effect on food habits and production. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 69, 35-53.
- Boissy, A., Veissier, I., Roussel, S., 2001. Behavioural reactivity affected by chronic stress: an experimental approach in calves submitted to environmental instability. *Anim. Welf.* 10, S175-S185.

- Borwick, S.C., Rae, M.T., Brooks, J., McNeilly, A.S., Racey, P.A., Rhind, S.M., 2003. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Anim. Reprod. Sci.* 77, 61-70.
- Bouissou, M.F., Boissy, A., Le Neindre, P., Veissier, I., 2001. The social behaviour of cattle. In L. J. Keeling and H. W. Gonyou (Eds.), *Social behaviour in farm animals*, CABI Publishing, Oxon, UK, pp 113-146.
- Caldeira, R.M., Belo, A.T., Santos, C.C., Vazques, M.I., Portugal, A.V., 2007. The effect of long-term feed restriction and over-nutrition on body condition score, blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Rumin. Res.* 68, 242-255.
- Celi, P., A. Di Trana, A., Claps, S., 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Rumin. Res.* 79, 129-136.
- CISIA (centre international de statistique et d'informatique appliquées), 1996. SPAD version 3: manuel de référence.
- Conway, M.L.T., Blackshaw, J.K., Daniel, R.C.W., 1996. The effects of agonistic behaviour and nutritional stress on both the success of pregnancy and various plasma constituents in Angora goats. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 48, 1-13.
- Delavaud, D., Bocquier, F., Chilliard, Y., Keisler, D.H., Gertler, A., Kann, G., 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *J. Endocrinol.* 165, 519-526.
- de Leeuw, J.A., Ekkel, E.D., 2004. Effects of feeding level and the presence of a foraging substrate on the behaviour and stress physiological response of individually housed gilts. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 86, 15-25.
- de Leeuw, J.A., Zonderland, J.J., Altena, H., Spoolder, H.A.M., Jongbloed, A.W., Verstegen, M.W.A., 2005. Effects of levels and sources of dietary fermentable non-starch polysaccharides on blood glucose stability and behaviour of group-housed pregnant gilts. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 94, 15-29.
- de Passillé, A.M., Rushen, J., Martin, F., 1995. Interpreting the behaviour of calves in an open-field test: a factor analysis. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 45, 201-213.
- Fisher, A., Matthews, L., 2001. The social behaviour of sheep. In L. J. Keeling and H. W. Gonyou (Eds.), *Social behaviour in farm animals*, CABI Publishing, Oxon, UK, pp. 211-245.
- Ford, E.J., Evans, J., Robinson, I., 1990. Cortisol in pregnancy toxæmia of sheep. *Br. Vet. J.* 146, 539-542.

- Greenwood, P.L., Slepatis, R.M., Hermanson, J.W., Bell, A.W., 1999. Intrauterine growth retardation is associated with reduced cell cycle activity, but not myofibre number, in ovine fetal muscle. *Reprod. Fertil. Dev.* 11, 281-291.
- Harmeyer, J., Schlumbohm, C., 2006. Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Res. Vet. Sci.* 81, 254-264.
- Hay, W.W., 1991. The role of placental-fetal interaction in fetal nutrition. *Semin. Perinatol.* 15, 424-433.
- Hay, W.W., Sparks, J.W., Wilkening, R.B., Battaglia, F.C., Meschia, G., 1984. Fetal glucose uptake and utilization as functions of maternal glucose concentration. *Am. J. Physiol.* 246, E237-E242.
- Henze, P., Bickhardt, K., Fuhrmann, H., Sallmann, H.P., 1998. Spontaneous pregnancy toxemia (ketosis) in sheep and the role of insulin. *Zentralbl. Veterinarmed.* 45, 255-266.
- Husted, S.M., Nielsen, M.O., Tygesen, M.P., Kiani, A., Blache, D., Ingvarsen, K.L., 2007. Programming of intermediate metabolism in young lambs affected by late gestational maternal undernourishment. *Am. J. Physiol.* 293, E548-E557.
- INRA, 1988. *Alimentation des Bovins, Ovins, Caprins*, INRA, Paris, 471 pp.
- Koritnik, D.R., Humphrey, W.D., Kaltenbach, C.C., Dunn, T.G., 1981. Effects of maternal undernutrition on the development of the ovine fetus and the associated changes in growth hormone and prolactin. *Biol. Reprod.* 24, 125-137.
- Laporte, B., Chavatte-Palmer, P., Roussel-Huchette, S., Perault, J., Duvaux-Ponter, C., 2009. Consequences of maternal nutritional restriction during pregnancy on kid morphology and weight at birth. In: *Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare* (eds. Y Chilliard, F Glasser, Y Faulconnier, F Bocquier, I Veissier and M Doreau), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands, 750.
- Leury, B.J., Bird, A.R., Chandler, K.D., Bell, A.W., 1990a. Glucose partitioning in the pregnant ewe: effects of undernutrition and exercise. *Br. J. Nutr.* 64, 449-462.
- Leury, B.J., Chandler, K.D., Bird, A.R., Bell, A.W., 1990b. Effects of maternal undernutrition and exercise on glucose kinetics in fetal sheep. *Br. J. Nutr.* 64, 463-472.
- Mason J.W., 1971. A re-evaluation of the concept of "non-specificity" in stress theory. *J. Psychiatr. Res.* 8, 323-333.
- Mavrogianni, V.S., Brozos, C., 2008. Reflections on the causes and the diagnosis of periparturient losses of ewes. *Small Rumin. Res.* 76, 77-82.

- Mayer, E., Liebich, H.G., Arbitman, R., Hagemester, H., Dirksen, G., 1986. Nutritionally-induced changes in the rumenal papillae and in their capacity to absorb short chain fatty acids in high producing dairy cows. Proc. 14th World Congress on Diseases of Cattle 806-817.
- Mitlohner, F.M., Morrow-Tesch, J.L., Wilson, S.C., Dailey J.W., McGlone, J.J., 2001. Behavioral sampling techniques for feedlot cattle. J. Anim. Sci. 79, 1189-1193.
- Oldham, J.D., 1984. Protein-Energy Interrelationships in Dairy Cows. J. Dairy Sci. 67, 1090-1114.
- Oliver, M.H., Harding, J.E., Gluckman, P.D., 2001. Duration of maternal undernutrition in late gestation determines the reversibility of intrauterine growth restriction in sheep. Prenat. Neonat. Med. 6, 271-279.
- Olsen, S.F., Hansen, H.S., Sorensen, T., Jensen, B., Secher, N.J., Sommer, S., Knudsen, L.B., 1987. Hypothesis: dietary (N-3)-fatty acids prolong gestation in human beings. Prog. Clin. Biol. Res. 242, 51-56.
- Perry, K.W., Janes, A.N., Weekes, T.E., Parker, D.S., Armstrong, D.G., 1994. Glucose and L-lactate metabolism in pregnant and in lactating ewes fed barley- or ground maize-based diets. Exp. Physiol. 79, 35-46.
- Pethick, D.W., Dunshea, F.R., 1993. Fat metabolism and turnover. In J.M. Forbes and J. France (Eds.), Quantitative Aspects of Ruminant Digestion and Metabolism, CABI Publishing, Oxon, UK, pp. 291-311.
- Petterson, J.A., Dunshea, F.R., Ehrhardt, R.A., Bell, A.W., 1993. Pregnancy and undernutrition alters glucose metabolic responses to insulin in sheep. J. Nut. 123, 1286-1295.
- Ramin, A.G., Asri, S., Majdani, R., 2005. Correlations among serum glucose, beta-hydroxybutyrate and urea concentrations in non-pregnant ewes. Small Rumin. Res. 57, 265-269.
- Reid, R.L., 1968. The physiopathology of undernourishment in pregnant sheep, with particular reference to pregnancy toxemia. Adv. Vet. Sci. 12, 163-238.
- Rook, J.S., 2000. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. Vet. Clin North Am Food Anim Pract. 16, 293.
- Roussel, S., Boissy, A., Montigny, D., Hemsworth, P. H., Duvaux-Ponter, C., 2005. Gender-specific effects of prenatal stress on emotional reactivity and stress physiology of goat kids. Horm. Behav. 47, 256-266.

- Sahlu, T., Hart, S.P., Le-Trong, T., Jia, Z., Dawson, L., Gipson, T., Teh, T.H., 1995. Influence of prepartum protein and energy concentrations for dairy goats during pregnancy and early lactation. *J. Dairy Sci.* 78, 378-387.
- Sargison, N.D., 2007. Pregnancy toxaemia. In I.D. Aitken (Ed.), *Diseases of sheep* (4th edn.), Blackwell, Oxford, pp. 359-363.
- SAS Institute Inc., 2000. *SAS/STAT Software: User's Guide*, Release 8.0. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- Schlumbohm, C., Harmeyer, J., 2008. Twin-pregnancy increases susceptibility of ewes to hypoglycaemic stress and pregnancy toxaemia. *Res. Vet. Sci.* 84, 286-299.
- Scott, P.R., Sargison, N.D., Penny, C.D., Pirie, R.S., Kelly, J.M., 1995. Cerebrospinal fluid and plasma glucose concentrations of ovine pregnancy toxaemia cases, inappetant ewes and normal ewes during late gestation. *Br. Vet. J.* 151, 39-44.
- Simitzis, P.E., Charismiadou, M.A., Kotsampasi, B., Papadomichelakis, G., Christopoulou, E.P., Papavlasopoulou, E.K., Deligeorgis, S.G., 2009. Influence of maternal undernutrition on the behaviour of juvenile lambs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 116, 191-197.
- Sykes, A.R., Field, A.C., 1972. Effects of dietary deficiencies of energy, protein and calcium on the pregnant ewe. *J. Agric. Sci.* 78, 127-133.

## CHAPITRE 3

### **SHORT TERM EFFECTS OF MATERNAL FEED RESTRICTION DURING PREGNANCY ON GOAT KID MORPHOLOGY, METABOLISM AND BEHAVIOR**

CONSEQUENCES A COURT TERME D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE CHEZ LA CHEVRE EN  
GESTATION SUR LA MORPHOLOGIE, LE METABOLISME ET LE COMPORTEMENT DES  
CHEVREAUX

Soumis à Journal of Animal Science (accepté)





## CONSEQUENCES A COURT TERME D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE CHEZ LA CHEVRE EN GESTATION SUR LA MORPHOLOGIE, LE METABOLISME ET LE COMPORTEMENT DES CHEVREAUX

Une restriction alimentaire en fin de gestation peut affecter la croissance, le métabolisme et la physiologie de la descendance. Les structures impliquées dans la régulation du stress et du comportement alimentaire peuvent également être modifiées. Pourtant, les conséquences sur le comportement alimentaire et la réactivité émotionnelle ont rarement été étudiées chez les ruminants.

### Objectifs

Etudier les conséquences d'une restriction alimentaire en fin de gestation sur la croissance, le métabolisme énergétique et le comportement de jeunes chevreaux mâles.

### Matériels et méthodes

Soixante chèvres multipares de race Alpine et Saanen ont été réparties en 2 groupes, témoin et restreint, en prenant en compte la race, le poids vif, l'état corporel et le père des chevreaux. Entre 90 jours de gestation et la mise-bas, les témoins ont été nourries *ad libitum* (5% de refus) avec une ration complète. Les chèvres restreintes ont reçu de 50% à 80% de la quantité distribuée aux chèvres témoins la semaine précédente et de la paille à volonté. Des pesées et des prises de sang ont été effectuées tout au long de la gestation afin de quantifier la restriction.

A la naissance, 78 chevreaux (26 femelles et 14 mâles issus de chèvres témoins, et 21 femelles et 17 mâles issus de chèvres restreintes) de portées doubles et triples ont été conservés. Entre 1 et 6 semaines, seuls les mâles ont été étudiés (15 mâles issus de chèvres restreintes et 13 mâles issus de chèvres témoins). Les animaux ont été séparés de leur mère à la naissance. Au 5<sup>e</sup> jour, tous les mâles ont été mélangés dans 3 enclos expérimentaux. Chaque enclos était équipé d'une caméra et relié à un distributeur automatique de lait ou à un bidon isotherme contenant de l'aliment d'allaitement chaud et placé sur des balances les jours de mesure du comportement alimentaire.

*Mesures morphométriques, poids et abattage.* Le poids des animaux a été suivi toutes les semaines de la naissance à 6 semaines. Des mesures morphométriques ont été effectuées à la naissance, puis toutes les semaines jusqu'à 4 semaines. Le body mass index (BMI, poids/ longueur vertex-queue au carré), la densité (poids/longueur vertex-queue) et le GMQ ont été calculés. A 6 semaines, 10 mâles issus de chèvres restreintes et 10 mâles témoins ont été abattus pour peser leurs organes et le tissu adipeux.

*Mesures métaboliques.* Les concentrations plasmatiques en glucose et AGNE ont été dosées à la naissance et à 1, 3 et 5 semaines. Les concentrations de leptine et insuline ont été dosées à la naissance et à 5 semaines.

*Comportement.* Des épreuves de l'environnement nouveau et de l'objet nouveau ont été effectuées à 5 semaines. Deux épreuves de vitesse d'ingestion ont été successivement effectuées à 3 et 5 semaines, la première sans stress et la seconde suite à un stress de contention. Le comportement alimentaire en enclos d'élevage a été analysé à l'âge de 5 semaines pendant 24h.

### **Résultats**

Les chèvres restreintes dont les chevreaux ont été gardés ont perdu 8,2% de poids pendant la période de traitement contre 1,3% pour les témoins. Leurs concentrations en AGNE ont été plus élevées, leur glycémie plus forte et leur état corporel plus faible que les témoins pendant cette période.

Le poids des chevreaux mâles issus des chèvres restreintes en gestation était plus faible à la naissance, de même que le tour abdominal, le BMI et la densité. Dans les semaines suivantes aucune différence n'a été observée entre mâles issus des chèvres restreintes et témoins sur le poids, la croissance et les mesures morphométriques. A l'abattage, les chevreaux mâles issus des chèvres restreintes avaient des surrénales plus lourdes que les témoins, et le tissu adipeux total et en particulier le tissu adipeux omental tendait à être moins développé que celui des témoins.

Une plus faible concentration en AGNE et une tendance à une plus faible concentration en glucose ont été observées à la naissance chez les chevreaux mâles issus des chèvres restreintes par rapport aux témoins. A 1 semaine, les chevreaux issus des mères restreintes avaient une concentration en AGNE plus élevée. Aucune différence n'a été observée par la suite pour les autres paramètres.

Aucune différence entre chevreaux issus des chèvres restreintes et témoins n'a été observée sur le comportement alimentaire à 5 semaines, les épreuves de réactivité émotionnelle et les épreuves de vitesse d'ingestion.

### **Discussion et conclusion**

La restriction alimentaire maternelle pendant la gestation, même si elle a été effective, n'a eu qu'un effet limité sur la morphologie et le métabolisme des jeunes. La réduction de poids et de taille observée à la naissance a disparu dès la première semaine après la naissance.

La taille plus importante des surrénales chez les chevreaux issus des chèvres restreintes suggère que la restriction maternelle pendant la gestation pourrait être associée à une

modification fonctionnelle de l'axe corticotrope de la progéniture. Une sécrétion accrue de glucocorticoïdes et catécholamines pourrait expliquer la réduction de leur tissu adipeux, ces hormones étant impliquées dans la mobilisation des réserves.

La restriction alimentaire maternelle pendant la gestation n'a eu aucun effet sur le comportement alimentaire et la réactivité émotionnelle du jeune chevreau. Il est probable que les effets de la restriction apparaissent surtout à l'âge adulte, ou lorsque l'environnement postnatal favorise l'apparition de différences.

## Short term effects of maternal feed restriction during pregnancy on goat kid morphology, metabolism and behavior<sup>1</sup>

B. Laporte-Broux,<sup>\*†‡<sup>2</sup></sup> S. Roussel,<sup>\*†</sup> A.A. Ponter,<sup>‡§</sup> J. Perault,<sup>\*†§</sup> P. Chavatte-Palmer,<sup>‡</sup> and C. Duvaux-Ponter<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>INRA, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris cedex 05, France

<sup>†</sup>AgroParisTech, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris cedex 05, France

<sup>‡</sup>INRA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

<sup>§</sup>ENVA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, 7 avenue du Général de Gaulle, F-94704 Maisons-Alfort cedex, France

<sup>1</sup> The authors thank S. Camous, N. Charpentier, M. Dahirel, O. Dhumez and C. Ficheux for conducting assays, J. Tessier and his team at the Chèvrerie expérimentale INRA for the care of the animals and J.-Y. Picot (DIFAGRI PICOT SA, France) for the gift of the propylene glycol supplement.

<sup>2</sup> Corresponding author: berengere.laporte@agroparistech.fr

**ABSTRACT:** Morphometric, metabolic and behavioral modifications were studied in goat kids after maternal feed restriction during the last third of pregnancy. At birth, only kids from twin and triplet litters were studied ( $n = 40$  kids born to control dams (**CONT**) and  $n = 38$  born to restricted dams (**REST**)) and only males thereafter ( $n = 13$  CONT and 15 REST kids), until slaughter at 6 wk of age. Kids born to restricted goats had a smaller abdominal girth at birth ( $P < 0.01$ ) and tended to have a lower BMI ( $P = 0.10$ ) and a lower density index ( $P = 0.09$ ) than kids born to control goats. Male REST kids had a lower birth weight ( $P = 0.03$ ) than male CONT kids but no differences were found for weight and morphometric measurements thereafter. Omental dissected adipose tissue/body weight ratio tended to be lower ( $P = 0.07$ ) and adrenal/body weight ratios were higher in male REST kids than in male CONT kids at 6 wk of age ( $P = 0.05$  and 0.01 for left and right adrenals respectively). Nonesterified fatty acid concentrations suggested that male REST kids were mobilizing body reserves less at birth ( $P < 0.01$ ) and more at 1 wk of age than CONT kids ( $P = 0.05$ ). No modifications in drinking tests at 3 and 5 wk of age were observed, nor in feeding behavior and emotional reactivity at 5 wk of age. In conclusion, maternal feed restriction in the last third of pregnancy resulted in a decrease in the percentage of dissected adipose tissue at 6 wk of age. This effect was not associated with changes in behavior, morphology or metabolism during rearing but with changes observed at birth.

**Key words:** emotional reactivity, feeding behavior, fetal programming, goat, maternal feed restriction, metabolism

## INTRODUCTION

Maternal feed restriction during pregnancy can have various effects on offspring development and in adult life, depending on timing (Sinclair and Singh, 2007), duration (McCrabb et al., 1992), intensity of restriction (Russel et al., 1977), sex (Grigore et al., 2008) and litter size (Rumball et al., 2008). During late pregnancy, feed restriction was associated with insulin resistance and increased adiposity in human and animal offspring (Sinclair and Singh, 2007; Symonds et al., 2007).

Changes in offspring feeding behavior after maternal feed restriction in late pregnancy could be expected in some species. The hypothalamus is the main brain structure involved in the control of feed intake and its maturation mainly occurs in late gestation in sheep (Matthews and Challis, 1996). Warnes et al. (1998) showed an increase in the amount of NPY mRNA, an orexigenic neuropeptide, in near-term fetal sheep from late-gestation restricted dams. Studies in rodents born to pregnancy and lactation-restricted dams showed changes in neuropeptide expression associated with hyperphagia (Orozco-Sólis et al., 2009) and changes in feed preference (Bellinger et al., 2004; Bellinger and Langley-Evans, 2005; Bellinger et al., 2006). Moreover, maternal feed restriction in the ruminant can cause intra-uterine growth restriction (Anthony et al., 2003) which is associated with very low birth weight. Feed intake in very low birth weight lambs was higher in proportion to body weight when fed ad libitum, compared to high birth weight lambs (Greenwood et al., 1998).

Emotional reactivity can modify feeding behavior (Torres and Nowson, 2007) and is increased in 18-month old lambs born to early-pregnancy restricted dams (Erhard et al., 2004). However, the interaction between emotional reactivity and feeding behavior has never been taken into consideration when studying the effects of restriction during pregnancy on feeding behavior.

As structures involved in emotional reactivity and feeding behavior can be programmed in utero and the maturation of the hypothalamus mainly occurs in late pregnancy, we hypothesized that maternal feed restriction in the last third of pregnancy could change feeding behavior and emotional reactivity in kids. The consequences of maternal feed restriction on growth, composition, metabolites and hormones associated with energy metabolism, and morphology were also evaluated.

## MATERIALS AND METHODS

### Animals and procedures

***Pregnant goats.*** The present study was carried out according to French legislation on animal experimentation (code rural: articles R 214-87 to R214-94) in-line with the European Convention for the Protection of Vertebrates used for Experimental and other Scientific Purposes (European Directive 86/609). The scientist in charge of the

experiments was licensed to perform experiments on animals and the staff who applied the experimental procedures had attended a special course approved by the French Ministry of Agriculture.

Sixty multiparous gestating Saanen and Alpine dairy goats were divided into two groups according to body weight, body condition score, kid sire and breed. The goats were synchronised prior to mating in order to ensure birth within a period of 10 days. At 90 d of gestation, each group (control,  $n = 13$  Alpine and  $n = 17$  Saanen and restricted,  $n = 14$  Alpine and  $n = 16$  Saanen) was divided into two subgroups on the basis of body weight (15 heavy goats and 15 light goats) in order to reduce aggression between light and heavy restricted goats at the feeding trough and to better adjust the amount of feed to body weight. Both control subgroups were fed ad libitum a Total Mixed Ration (TMR) allowing 5%orts. Each feed restricted subgroup was pair-fed to the corresponding control subgroup and received a proportion of the amount given to the pair-fed control subgroup. Light control subgroup (mean BW:  $61 \pm 1.6$  kg) was pair-fed to light restricted subgroup (mean BW:  $62 \pm 1.4$  kg) and the heavy control subgroup (mean BW:  $82 \pm 2.5$  kg) was pair-fed to the heavy restricted subgroup (mean BW:  $83 \pm 2.5$  kg). The amount of feed given to the restricted subgroup was calculated from the amount of feed given to the control subgroup the previous week. The composition of the TMR was modified in the last weeks of gestation to take into account the proportionally faster increase in protein requirements compared to energy (table 1). Propylene glycol (Propypact®) was added to the TMR ( $40 \text{ g.d}^{-1}$  per goat) to avoid pregnancy toxemia which can occur in late-pregnancy feed restriction (Rook, 2000) and can result in death. When 3 goats presented symptoms of toxemia in the restricted subgroups, it was decided to increase progressively the amount of feed for ethical reasons. Therefore, each restricted subgroup received 50% of the amount of feed given to their pair-fed control subgroup for 4 wk, 60% for 1 wk, 70% for 1 wk and 80% the last 2 wk of pregnancy.

Feed was offered twice daily at 0700 h and 1400 h. The restricted goats were restrained in a neck-lock for 30 min during feeding to avoid competition at the trough and to make sure that all goats were able to eat. All groups had free access to water and salt licks. The restricted goats received barley straw (net energy:  $3.1 \text{ MJ.kg}^{-1}$  DM; PDI (true protein digested in the small intestine:  $24 \text{ g.kg}^{-1}$  DM and 88% DM) ad libitum after feeding to reduce as much as possible the psychological stress due to feed restriction (Mason, 1971).

Among the 60 goats, 5 control goats and 8 restricted goats (of the latter 4 became toxemic) were removed because of abortion or health problems. The forty-seven remaining goats gave birth to single ( $n = 12$ ), twin ( $n = 21$ ), triplet ( $n = 12$ ) and quadruplet ( $n = 2$ ) litters. Only the kids born to healthy twin and triplet bearing does were studied thereafter. Gestation length, dry matter intake, weight loss and glucose and NEFA plasma concentration of the 33 corresponding goats ( $n = 11$  Saanen and  $n = 6$  Alpine for control goats and  $n = 10$  Saanen and  $n = 6$  Alpine for feed restricted goats) were measured at the beginning of the restriction period (90 d of pregnancy), during the feed restriction period and the last week of pregnancy.

Table 1: Composition and energy content of the diet given to feed-restricted and control goats starting from 90 d of pregnancy. PDI = true protein digested in the small intestine.

	- 8 wk to - 4 wk	- 4 wk to - 2 wk	- 2 wk to parturition
Composition, g.kg DM <sup>-1</sup>			
Sugar-beet pulp	350	300	300
Grass hay	250	250	250
Lucerne hay	290	290	290
Protein concentrate	0	50	100
Barley	100	100	50
Mineral and vitamin mix	10	10	10
Nutrients, .kg DM <sup>-1</sup>			
Net energy, MJ	5.7	5.6	5.5
PDI, g	69	73	76
CP, g	112	116	120
Crude fiber, g	292	285	287
NDF, g	493	452	479
Calcium, g	9.0	8.5	8.7
Phosphorus, g	2.0	2.3	2.4

**Kids.** At birth, 78 kids, 40 CONT kids (n = 26 female and n = 14 male) and 38 REST kids (n = 21 female and n = 17 male) born to 33 goats were studied. Thereafter, females were kept elsewhere for herd renewal and were therefore not included in the rest of the study. From 1 wk of age until the end of the experiment, 28 male kids, 13 CONT kids (n = 8 twin and n = 5 triplet litters; n = 7 Alpine and n = 6 Saanen) and 15 REST kids (n = 9 twin and n = 6 triplet litters; n = 4 Alpine and n = 11 Saanen) were studied. At 6 wk of age, for practical reasons, only twenty males could be slaughtered (10 REST and 10 CONT). They were chosen in order to balance treatment and breed, and only one male per litter was kept to avoid an effect of the dam. If more than one male was available per litter, it was chosen randomly.

At birth, kids were immediately removed from their dam and ear-tagged. Two meals of good quality pooled colostrum were given ad libitum on the first day and a 150 g.kg<sup>-1</sup> fresh weight diluted milk replacer (235 g.kg<sup>-1</sup> protein, 240 g.kg<sup>-1</sup> fat, 70 g.kg<sup>-1</sup> ash, 3 g.kg<sup>-1</sup> cellulose, 50000 IU.kg<sup>-1</sup> vitamin A, 2000 IU.kg<sup>-1</sup> vitamin D<sub>3</sub>, 85 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin E, 10 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin B1, 11.5 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin K3 and 750 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin C) was given ad libitum the following days. On the fifth day, the kids were identified with paint and placed in one of 3 experimental pens (2 x 2.5 m). In each pen, 9 or 10 REST and CONT kids were mixed and there was a maximum of 4 days between the youngest and the oldest kid.



A camera was placed above each pen and linked to a time-lapse video recorder to allow 24-h recording of suckling activity. A neon light (36 W) was fitted to the ceiling and was activated continuously to allow behavior to be recorded during the night. The intensity of the light was weak in order not to disturb kid behavior.

### **Weight, morphometric and slaughter measurements**

Body weight was recorded at birth and weekly until 6 wk of age. Crown-rump length (distance between crown and sacrococcygeal joint), height at withers, heart girth (taken just behind the forelimbs), abdominal girth (circumference of the abdominal cavity taken just in front of the hindlimbs) and femoral length were measured with a flexible tape on standing kids at birth and once a week before feeding until 4 wk of age. Body Mass Index (**BMI**,  $BW/(\text{crown-rump length})^2$ ,  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ), density index ( $BW/\text{crown-rump length}$ ,  $\text{g}\cdot\text{cm}^{-1}$ ) as used in swine (Johnson and Nugent, 2003) and ADG were calculated.

At 6 wk of age, after 12-h of fasting, kids were slaughtered by exsanguination after electro-narcosis. Weight of liver, kidneys, adrenals, pancreas, fore-stomachs (rumen, reticulum, omasum), abomasum, thymus, brain, heart and lungs, and adipose tissue (perirenal, pericardiac and omental tissue mass) was recorded after dissection. All the results for organs and tissues are presented as organ or tissue weight/body weight ratio (% BW). The total body fat/body weight ratio was calculated as the sum of the three dissected adipose tissues divided by body weight.

### **Behavioral tests and measurements**

In addition to the 24-h suckling activity, standardized tests were performed in order to measure suckling behavior as well as to test the emotional reactivity of the kids.

All video files were encoded and analyzed using The Observer 5.0<sup>®</sup> Software System for Behavioral Research (Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands).

**Novel arena test** (Forkman et al., 2007). The novel arena test was performed in an open-sided shed (50 m away from the rearing pens) in a 4 x 3.2 x 1.5 m arena (width x depth x height) in 5-week old kids (a few days after other behavioral measurements). A starting cage measuring 1.2 x 0.6 m provided access to the arena. Each kid was carried by an experimenter from the rearing pen to the testing pen, gently placed in the starting cage, and released 30 s later into the arena using a sliding gate. The procedure was designed to ensure that the handling was standardized. The test lasted 3 min once the kid entered the arena. Time spent still (kid with four legs still), time spent sniffing (nose less than 5 cm from the floor or walls) and number of jumps and bleats were measured. This test was performed alternatively on one kid from each treatment between 0800 h and 1200 h.

**Novel object test** (Forkman et al., 2007). Immediately after the novel arena test (on the same day), the kid was placed in the starting cage (30 s) for a second test of 3 min in the same arena which contained a red polypropylene road hazard cone (0.4 x 0.7 m) placed on the floor against the wall opposite to the entrance. The same behavioral measurements as

those in the novel arena test were conducted. Time spent sniffing the cone (nose less than 5 cm from the cone) was also recorded.

**Drinking test.** Drinking tests were performed in a familiar pen at 3 and 5 wk of age (after suckling activity measurement and a few days before the arena and novel object tests). The test was performed in a pen (3 x 2 m) containing a bucket with a teat. The bucket was filled with milk replacer and fixed on the opposite wall from the entrance. A video camera was placed above the pen to videotape behavior. To familiarize the kids with the testing pen, kids from the same experimental pen were placed in the pen at 1700 h the day before the test and were allowed to drink for two hours from the bucket. After removing the bucket, and leaving the kids overnight in the pen (12-h fasting), an open partition was added in order to keep all the kids on one side of the pen, near the entrance. The bucket filled with milk replacer was fixed on the wall and each kid was individually placed in the part of the pen containing the bucket. This test was performed alternatively on one kid from each treatment between 0800 h and 1200 h. The test ended when the kid spent 1 min without drinking. The bucket was weighed before and after the test. The percentage of time spent drinking, the amount of milk drunk and the drinking rate (amount of milk drunk divided by the time spent drinking) were recorded.

**Drinking test after isolation acute stress.** This test was performed the following day using the same procedure and measuring the same variables as the previous test, except that kids were stressed before entering the testing pen by spending 20 minutes alone in a small cage with no visual contact with peers (0.95 x 0.57 x 0.33 m).

**Suckling activity.** In each experimental pen, the kids had 24-h access to two individual stalls equipped with one teat each where they could drink milk replacer ad libitum through an automatic milk feeder. When feeding behavior was measured, an isotherm container containing warm milk replacer was connected to one teat and placed outside the pen on a weighing device connected to a computer which recorded container weight every 10 s. Suckling activity was videotaped over 24h in the rearing pen at 5 wk of age. Time spent with a teat in the mouth per 24 h ( $t_M$ ) and number of suckling bouts per 24 h ( $n_S$ ) were recorded. A suckling bout begun when a kid took a teat in its mouth and ended when the kid released the teat. Mean duration of a suckling bout was calculated ( $m_D = t_M / n_S$ ). Correspondence between videotaped behavior and milk consumption was assessed using automatic weighing devices. The following variables could be calculated for each kid: amount of milk consumed per 24 h, and efficient suckling time per 24 h ( $t_D$ ). Efficient suckling time was the time during which the kid had a teat in the mouth while at the same time the amount of milk in the container decreased. Sometimes the kid had a teat in the mouth but did not drink. The percentage of efficient suckling time ( $t_{DM} = 100 t_D/t_M$ ) was calculated.

### Physiological measurements

Blood samples (10 mL) were collected into heparinized tubes by jugular venipuncture and were immediately centrifuged at 3000 g for 10 min at 4°C to harvest plasma. Blood samples were taken from the 28 male kids within an hour of birth (before colostrum feeding) and after 12 h of fasting at 1, 3 and 5 wk of age. Plasma was stored at -20°C until analysis. Leptin and insulin concentrations were measured at birth and at 5 wk of age. Glucose and NEFA concentrations were measured at birth, 1, 3 and 5 wk of age.

### Biological assays

Plasma concentrations of leptin were quantified using double-antibody leptin radioimmunoassay procedures adapted from Delavaud et al. (2000). Leptin antiserum (Ab 7137, 50 µL) was diluted 1:2200 in a 0.01 M phosphate buffer, 0.15 M NaCl, pH 7.1 containing 0.01 M EDTA, 0.1% gelatine, 0.01% sodium azide, 0.025% Tween 20 and 1% normal rabbit serum. Both standard and sample tubes were incubated with antiserum (final dilution: 1:17600) for 24 h at room temperature (**RT**). After an initial incubation in 300 µL, 100 µL of <sup>125</sup>I-ovine leptin (diluted in the same buffer without EDTA) were added and incubation continued for an additional 24 h at RT. Assay sensitivity was 1 ng.mL<sup>-1</sup> and the intra-assay coefficient was 4%.

Insulin concentrations were determined using a RIA rat insulin kit (Millipore, Molsheim, France; 100% of specificity for sheep insulin). Assay sensitivity was 0.1 ng.mL<sup>-1</sup>. Intra-assay coefficient was 9.7% and inter-assay coefficient 14%.

A Cobas Mira S (La Roche & Co., Diagnostics Division, Basle, Switzerland) was used to measure plasma glucose (hexokinase reaction) and plasma NEFA (NEFA C, ACS-ACOD Method). The intra-assay coefficients were 2% and 1% for glucose and NEFA respectively. The inter-assay coefficients were 8.7% and 3.4% for glucose and NEFA respectively.

### Statistical analysis

All data were analyzed using the MIXED model procedure of Statistical Analysis Systems Institute (SAS<sup>®</sup>).

For goats, the following model was used:

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + L_j + B_k + \varepsilon_{ijk}$$

where  $\mu$  represents the overall mean,  $T_i$  the fixed effect of the treatment  $i$  (control and feed-restricted),  $L_j$  the fixed effect of the litter size  $j$  (twins or triplets),  $B_k$  the fixed effect of the breed  $k$  (Alpine or Saanen) and  $\varepsilon_i$  is the residual error.

For kids, the following models were used:

$$(1) Y_{ijklm} = \mu + T_i + L_j + B_k + S_l + TL_{ij} + TS_{il} + D_{m/i} + \varepsilon_{ijklm}$$

$$(2) Y_{ijkq} = \mu + T_i + L_j + B_k + P_o + BW_q + TL_{ij} + \varepsilon_{ijkq}$$

The model (1) was used to analyze birth data (males and females) and the model (2) for the other variables. In the models (1) and (2),  $\mu$  represents the overall mean,  $T_i$  the fixed effect of the treatment  $_i$  (CONT and REST),  $L_j$  the fixed effect of the litter size  $_j$  (twins or triplets),  $B_k$  the fixed effect of the breed  $_k$  (Alpine or Saanen),  $S_1$  the fixed effect of the sex  $_1$  (male or female),  $P_o$  the fixed effect of the rearing pen  $_o$  (1, 2 or 3),  $TL_{ij}$  and  $TS_{il}$  represent the interactions between treatment and litter size and sex, respectively. Body weight ( $BW_q$ ) was added as a covariable only for suckling data (time spent with a teat in the mouth per 24h, amount of milk consumed per day, percentage of efficient suckling time and mean duration of a suckling bout). The random effect of the dam  $_m$  ( $D_{m/i}$ ) was taken into account and  $\varepsilon_{ijklm}$  and  $\varepsilon_{ijkq}$  are the residual errors.

Transformations were used when the assumptions of homogeneity of variance and normal distribution of the residuals were not verified. Body weight at 3 wk of age and ADG between 3 and 4 wk of age were transformed using  $\log(x+1)$  transformation. Square root of NEFA concentration was used at 3 wk of age, and reverse transformation ( $1/(x+1)$ ) for mean duration of a suckling bout (24 h suckling activity). All data are presented as least square means (lsmeans)  $\pm$  standard errors (SE) except when otherwise stated.

## RESULTS

### Pregnant goats

Among the 47 pregnant goats, light subgroups ate on average 1.9 and 1.1 kg DM.d<sup>-1</sup> (control and restricted goats respectively; straw not included) and heavy subgroups ate on average 2.3 and 1.5 DM.d<sup>-1</sup> (control and restricted goats respectively, straw not included) during the feed restriction period. Straw consumption was estimated as 0.4 DM.d<sup>-1</sup>. Restricted dams were therefore provided with around 70% of the energy given to the control goats between 90 d of gestation and parturition.

No difference in gestation length was observed between control ( $151 \pm 0.4$  d) and restricted goats ( $152 \pm 0.5$  d,  $P = 0.80$ ). The 33 restricted goats from which male kids were included in the experiment lost 8.2% BW between the start of feed restriction ( $73 \pm 11.4$  kg) and 24 h after birth whereas control goats almost maintained their BW: -1.3% BW compared to the start of the treatment ( $75 \pm 12.6$  kg) ( $P < 0.001$ , figure 1).

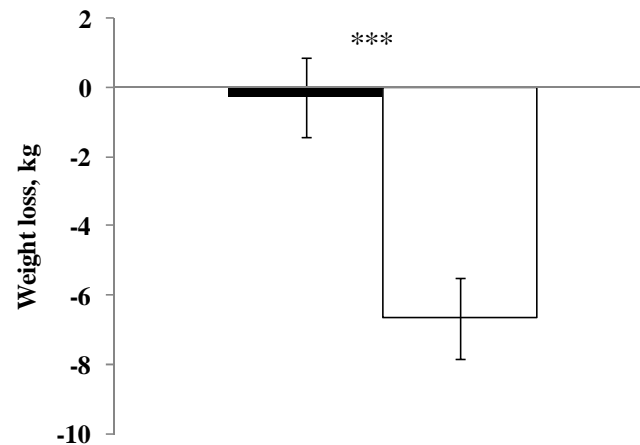


Figure 1: Weight loss during the feed restriction period (from 90 d of pregnancy to 24 h after parturition) in control (■, n= 17) and feed-restricted goats (□, n = 16). The control group was fed a TMR ad libitum for the last third of gestation and the feed-restricted group was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4 wk), 60% (for 1 wk), 70% (for 1 wk) and 80% (for 2 wk) of the amount given to the control group. Differences between treatments are shown, \*\*\*  $P < 0.001$ .

At 90 d of pregnancy, NEFA concentrations were  $0.11 \pm 0.032$  mM and  $0.15 \pm 0.031$  mM, in feed-restricted and control goats, respectively. At 90 d of pregnancy, glucose concentrations were  $3.32 \pm 0.068$  mM and  $3.18 \pm 0.066$  mM, in feed-restricted and control goats, respectively. During the feed restriction period, NEFA concentrations increased more ( $P < 0.001$ , figure 2) and glucose concentrations decreased more in restricted goats than in control goats ( $P = 0.02$ , figure 2).

There was an effect of litter size: triplet bearing goats lost more weight than twin bearing goats ( $P = 0.05$ ). There was a trend for NEFA concentrations to be higher in triplet bearing goats compared to twin bearing goats during the first half of the feed restriction period ( $P = 0.09$ ) and for the whole feed restriction period NEFA were higher in triplet bearing goats compared to twin bearing goats ( $P = 0.04$ ).

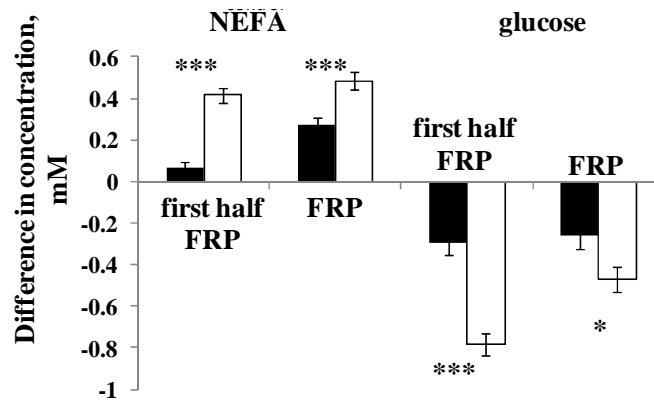


Figure 2: Differences in plasma NEFA and glucose concentrations during the first 4 wk of the feed restriction period (FRP) and during the whole FRP (from 90 d of pregnancy to parturition) in control (■, n = 17) and feed-restricted goats (□, n = 16). The control group was fed a TMR ad libitum for the last third of gestation and the feed-restricted group was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4 wk), 60% (for 1 wk), 70% (for 1 wk) and 80% (for 2 wk) of the amount given to the control group. Differences between treatments are shown, \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$

## Kids

**Morphometric parameters in male and female kids at birth.** Morphometric measurements at birth are summarized in table 2 for the 78 male and female kids. There was an interaction between sex and treatment on birth weight (table 2): CONT male kids were heavier than REST male kids ( $P = 0.03$ ) but there was no treatment difference in body weight for females ( $P = 0.84$ ). Male kids were heavier than females ( $4.5 \pm 0.11$  kg vs  $3.9 \pm 0.10$ ,  $P < 0.001$ ), and twins heavier than triplets (table 3  $P < 0.001$ ). Abdominal girth was lower in REST kids than in CONT kids ( $28.0 \pm 0.68$  cm vs  $30.7 \pm 0.68$  cm,  $P < 0.01$ ), greater in twins than in triplets (table 3,  $P = 0.01$ ) and in male kids than in females ( $30.3 \pm 0.68$  cm vs  $28.5 \pm 0.55$  cm,  $P = 0.03$ ). Height at withers was also greater in males than in females ( $40.3 \pm 0.62$  cm vs  $38.8 \pm 0.53$  cm,  $P = 0.01$ ). No effect was found on crown-rump length, femoral length and heart girth. Body mass index tended to be higher in CONT kids than in REST kids ( $18.0 \pm 0.45$  kg.m<sup>2</sup> vs  $17.0 \pm 0.44$  kg.m<sup>2</sup>,  $P = 0.10$ ), was higher in male kids than in females ( $18.4 \pm 0.41$  kg.m<sup>2</sup> vs  $16.7 \pm 0.35$  kg.m<sup>2</sup>,  $P < 0.001$ ), and in twins than in triplets (table 3,  $P < 0.01$ ). The same results were observed for density index: density index tended to be higher in CONT kids than in REST kids ( $88.3 \pm 2.10$  g.cm<sup>-1</sup> vs  $83.0 \pm 2.13$  g.cm<sup>-1</sup>,  $P = 0.09$ ), was higher in male kids than in females ( $90.6 \pm 1.87$  g.cm<sup>-1</sup> vs  $80.6 \pm 1.62$  g.cm<sup>-1</sup>,  $P < 0.001$ ), and in twins than in triplets (table 3,  $P < 0.001$ ). There was no interaction between litter size and treatment ( $P > 0.10$ ).

Table 2: Morphometric parameters of kids born to restricted dams (REST) during the last third of pregnancy or born to control dams (CONT), according to sex at birth. The control goats were fed a TMR ad libitum for the last third of gestation and the feed-restricted goats were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4 wk), 60% (for 1 wk), 70% (for 1 wk) and 80% (for 2 wk) of the amount given to the control goats.

Item <sup>1</sup>	CONT (n = 40)		REST (n= 38)		P-value		
	male (n = 14)	female (n = 26)	male (n = 17)	female (n = 21)	treatment	sex	treatment*sex
Birth weight, kg	4.7 ± 0.16 <sup>a</sup>	3.9 ± 0.13	4.3 ± 0.14 <sup>b</sup>	3.9 ± 0.14	0.29	< .0001	0.03
BMI, kg.m <sup>-2</sup>	18.9 ± 0.61	17.2 ± 0.48	17.8 ± 0.55	16.2 ± 0.49	0.10	< 0.001	0.98
Density index, g.cm <sup>-1</sup>	94.5 ± 2.75	82.0 ± 2.24	86.8 ± 2.51	79.1 ± 2.30	0.09	< 0.001	0.20
Abdominal girth, cm	32.1 ± 1.03	29.3 ± 0.76	28.4 ± 0.90	27.7 ± 0.79	< 0.01	0.03	0.20
Heart girth, cm	35.8 ± 0.86	34.8 ± 0.69	35.1 ± 0.69	34.6 ± 0.64	0.61	0.18	0.65
Crown-rump length, cm	50.1 ± 1.02 <sup>a</sup>	47.7 ± 0.79	48.6 ± 0.91 <sup>(b)</sup>	48.8 ± 0.82	0.83	0.14	0.07
Femoral length, cm	12.5 ± 0.47	12.6 ± 0.41	12.5 ± 0.45	12.1 ± 0.42	0.64	0.48	0.30
Height at withers, cm	40.8 ± 0.91	39.8 ± 0.73	39.9 ± 0.83	37.8 ± 0.75	0.16	0.01	0.34

<sup>1</sup> BMI = Body Mass Index.

<sup>a, b</sup>: within a sex, values with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ); <sup>(a), b</sup>: within a sex, values with different superscript within brackets <sup>(a)</sup> tend to differ from values with superscript <sup>b</sup> ( $P < 0.10$ )

Lsmeans ± SE are presented

Table 3: Morphometric parameters of kids from twin or triplet litters during the first four weeks of age. At birth males and females were included while only males were kept afterwards.

Item <sup>1</sup>	Birth		Week 1		Week 2		Week 3		Week 4	
	twins (n=41)	triplets (n=37)	twins (n= 17)	triplets (n= 11)	twins (n= 17)	triplets (n= 11)	twins (n= 17)	triplets (n= 11)	twins (n= 17)	triplets (n= 11)
Body weight, kg	4.6± 0.11 <sup>a</sup>	3.9± 0.14 <sup>b</sup>	5.5± 0.21 <sup>a</sup>	4.3± 0.29 <sup>b</sup>	7.4± 0.23 <sup>a</sup>	5.7± 0.32 <sup>b</sup>	2.3 (8.6)± 0.03 <sup>a*</sup>	2.1 (7.0)± 0.04 <sup>b*</sup>	10.3± 0.3 <sup>a</sup>	8.3± 0.4 <sup>b</sup>
ADG, g.day <sup>-1</sup>			96± 23.6	47± 32.1	253± 15.2	212± 20.6	192± 14.1	194± 19.2	5.4 (225)± 0.10 <sup>a*</sup>	5.0 (160)± 0.13 <sup>b*</sup>
BMI, kg.m <sup>2</sup>	18.4± 0.38 <sup>a</sup>	16.6± 0.49 <sup>b</sup>	16.3± 0.52 <sup>(a)</sup>	14.5± 0.71 <sup>b</sup>	17.9± 0.34 <sup>a</sup>	16.5± 0.46 <sup>b</sup>	18.4± 0.42	17.6± 0.57	19.6± 0.32 <sup>(a)</sup>	18.5± 0.45 <sup>b</sup>
Density index, g.cm <sup>-1</sup>	91.1± 1.83 <sup>a</sup>	80.1± 2.35 <sup>b</sup>	94.3± 3.21	78.5± 4.36	115.1± 2.76 <sup>a</sup>	96.8± 3.75 <sup>b</sup>	126.1± 2.81 <sup>a</sup>	110.8± 3.81 <sup>b</sup>	141.6± 2.78 <sup>a</sup>	124.7± 3.89 <sup>b</sup>
Crown rump length, cm	49.6± 0.63	48.0± 0.80	57.8± 0.68 <sup>a</sup>	54.2± 0.92 <sup>b</sup>	64.3± 0.71 <sup>a</sup>	58.6± 0.97 <sup>b</sup>	68.7± 0.78 <sup>a</sup>	63.2± 1.06 <sup>b</sup>	72.3± 0.91 <sup>a</sup>	67.4± 1.27 <sup>b</sup>
Height at withers, cm	40.2± 0.59	38.9± 0.76	42.0± 0.55 <sup>a</sup>	38.3± 0.75 <sup>b</sup>	44.0± 0.49 <sup>a</sup>	40.5± 0.66 <sup>b</sup>	46.9± 0.50 <sup>a</sup>	41.9± 0.68 <sup>b</sup>	49.0± 0.62 <sup>a</sup>	45.3± 0.86 <sup>b</sup>
Abdominal girth, cm	30.6± 0.60 <sup>a</sup>	28.1± 0.74 <sup>b</sup>	30.5± 0.79	28.9± 1.08	35.5± 0.59 <sup>a</sup>	32.2± 0.80 <sup>b</sup>	36.3± 0.62 <sup>a</sup>	33.5± 0.85 <sup>b</sup>	39.1± 0.81 <sup>a</sup>	35.8± 1.13 <sup>b</sup>
Heart girth, cm	38.3± 1.05	36.6± 1.23	39.3± 0.60 <sup>a</sup>	36.2± 0.82 <sup>b</sup>	43.7± 0.72 <sup>a</sup>	39.3± 0.97 <sup>b</sup>	44.7± 0.57 <sup>a</sup>	42.2± 0.78 <sup>b</sup>	47.2± 0.60 <sup>a</sup>	43.7± 0.83 <sup>b</sup>
Femoral length, cm	12.6± 0.34	12.2± 0.45	13.3± 0.17 <sup>a</sup>	12.6± 0.23 <sup>b</sup>	14.1± 0.15 <sup>a</sup>	13.1± 0.21 <sup>b</sup>	15.2± 0.21 <sup>a</sup>	14.3± 0.28 <sup>b</sup>	15.6± 0.22 <sup>a</sup>	14.8± 0.30 <sup>b</sup>

<sup>1</sup> BMI = Body Mass Index, ADG = Average Daily Gain. ADG at a given age was calculated as the weight gain between the studied age and the previous week.

<sup>a, b</sup>: within an age, values with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ); <sup>(a), b</sup>: within an age, values with different superscript within brackets <sup>(a)</sup> tend to differ from values with superscript <sup>b</sup> ( $P < 0.10$ )

\*log transformation



**Male kids. Metabolic parameters.** At birth, restricted male kids tended to have lower glucose concentrations ( $P = 0.09$ ) and had lower NEFA concentrations than CONT male kids (figure 3,  $P < 0.01$ ). No treatment effect was observed for insulin concentrations and leptin concentrations at birth (figure 3). Restricted male kids had higher plasma NEFA concentrations than CONT kids at 1 wk of age (figure 3,  $P = 0.05$ ) but not thereafter. No treatment effect was observed at 1, 3 and 5 wk of age on glucose concentrations or on insulin and leptin concentrations at 5 wk of age (figure 3). Glucose concentrations were higher in twins than in triplets at 1 ( $5.8 \pm 0.29$  mM vs  $4.0 \pm 0.40$  mM,  $P < 0.001$ ) and 3 wk of age ( $7.0 \pm 0.22$  mM vs  $6.1 \pm 0.30$  mM,  $P = 0.04$ ) and insulin concentrations tended to be higher in twins than in triplets at 5 wk of age ( $155 \pm 22.4$  pM vs  $86 \pm 31.0$  pM,  $P = 0.07$ ). There was no interaction between litter size and treatment ( $P > 0.10$ ).

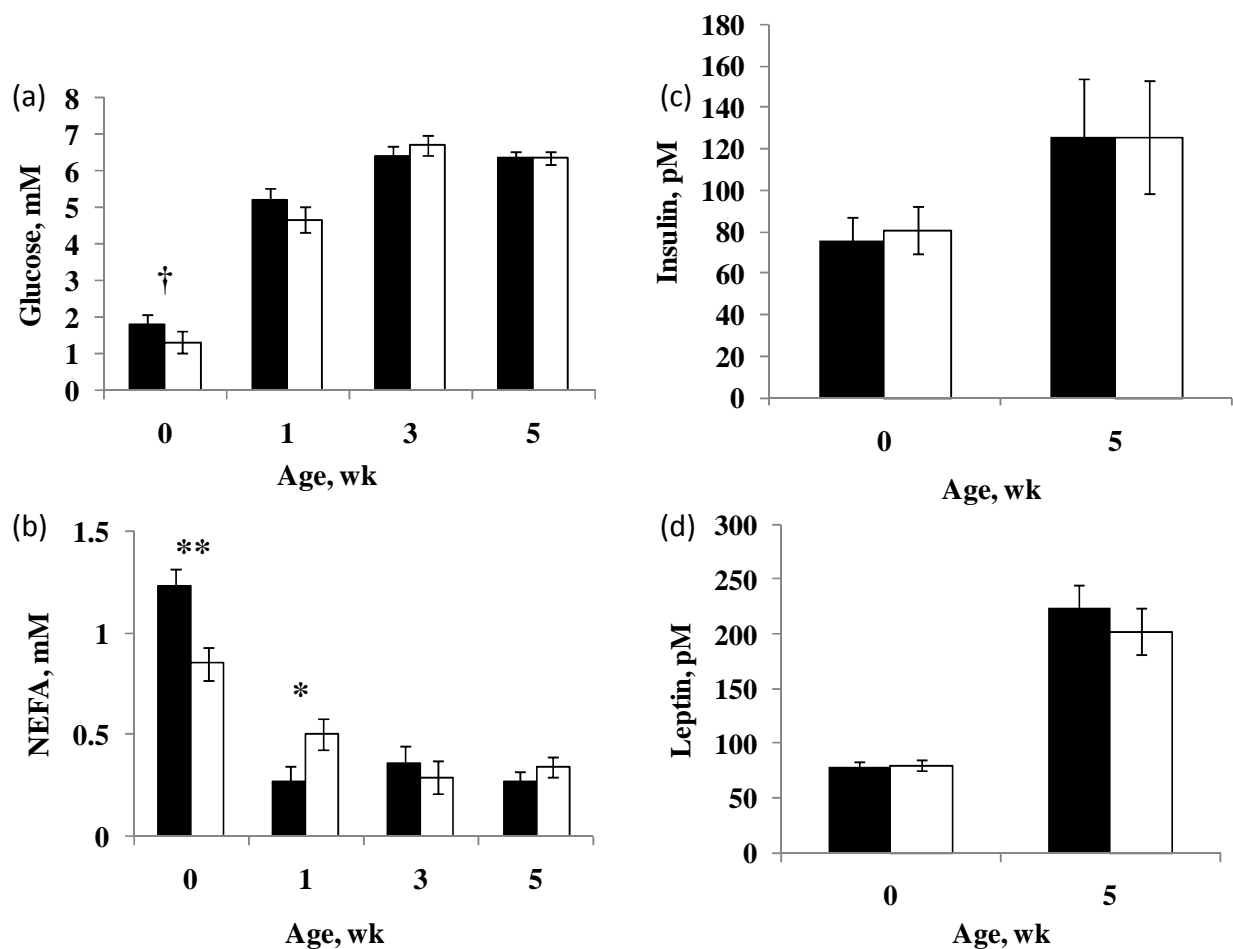


Figure 3: Plasma (a) glucose, (b) NEFA, (c) insulin and (d) leptin concentrations in male kids born to goats feed-restricted during the last third of gestation (□, n = 15) or to control dams (■, n = 13) at birth and at 1, 3 and 5 wk of age. The control goats were fed a TMR ad libitum for the last third of gestation and the feed-restricted goats were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4 wk), 60% (for 1 wk), 70% (for 1 wk) and 80% (for 2 wk) of the amount given to the control goats. Differences between treatments are shown, †  $P < 0.1$ , \*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$

**Behavioral parameters.** No effect of treatment, litter size or interaction between treatment and litter size were observed on the percentage of time spent drinking, the amount of milk drunk and the drinking rate in the drinking tests before and after an acute stress (all  $P > 0.10$ ).

Moreover, no treatment effect was observed on kid suckling behavior at 5 wk of age in the home pen: the amount of milk consumed per day, the time spent suckling, the percentage of efficient suckling time and the mean duration of a suckling bout did not differ between CONT and REST male kids (all  $P > 0.18$ , table 4).

No effect of treatment, litter size or interaction between treatment and litter size were found on any behavioral parameters measured in the novel arena and novel object tests (all  $P > 0.10$ ).

**Morphometric and slaughter measurements.** No effect of treatment was found on body weight (figure 4) and on any of the morphometric measurements in the 28 males included in the experiment between 1 and 5 wk of age. There were no significant differences between CONT and REST kid daily weight gains between 1 wk and 5 wk of age (figure 4, all  $P > 0.10$ ). Twins remained heavier ( $P < 0.01$ ) than triplets: all body measurements were greater in twins than in triplets (table 3) at least until 4 wk of age. Body mass index tended to be greater at 1 and 4 wk of age (table 3,  $P = 0.06$ ) and was greater at 2 wk of age ( $P = 0.02$ ) in twins than in triplets. Density was greater in twins than in triplets at 2 ( $P < 0.001$ ), 3 ( $P < 0.001$ ) and 4 ( $P = 0.002$ ) weeks of age (table 3). Daily weight gain was greater in twins than in triplets between 3 and 4 wk of age (table 3,  $P = 0.04$ ) and between 4 and 5 wk of age ( $192 \pm 17.2 \text{ g}\cdot\text{day}^{-1}$  and  $123 \pm 22.6 \text{ g}\cdot\text{day}^{-1}$ , respectively,  $P = 0.02$ ).

At slaughter, the omental dissected adipose tissue/body weight ratio tended to be higher in the 10 CONT than in the 10 REST kids ( $2.0 \pm 0.15 \%$  vs  $1.6 \pm 0.15 \%$ ,  $P = 0.07$ ). No differences between CONT and REST kids were found for the perirenal dissected adipose tissue/body weight ratio ( $1.2 \pm 0.13 \%$  vs  $1.0 \pm 0.12 \%$ ,  $P = 0.25$ ) or for the pericardiac dissected adipose tissue/body weight ratio ( $0.13 \pm 0.015 \%$  vs  $0.12 \pm 0.014 \%$ ,  $P = 0.66$ ). The total body fat/body weight ratio tended to be higher in CONT than in REST kids ( $3.3 \pm 0.23 \%$  vs  $2.7 \pm 0.23 \%$ ,  $P = 0.08$ ). The adrenal/body weight ratio was higher in REST than in CONT kids: left adrenal:  $(5.2 \pm 0.19) \times 10^{-3} \%$  vs  $(4.6 \pm 0.20) \times 10^{-3} \%$  for REST and CONT kids, respectively ( $P = 0.05$ ) and right adrenal:  $(4.7 \pm 0.17) \times 10^{-3} \%$  vs  $(4.0 \pm 0.17) \times 10^{-3} \%$  for REST and CONT kids, respectively ( $P = 0.01$ ).

Twins had a greater omental dissected adipose tissue/body weight ratio than triplets ( $2.1 \pm 0.13 \%$  vs  $1.5 \pm 0.16 \%$ ,  $P = 0.02$ ) and a higher total body fat/body weight ratio than triplets ( $3.4 \pm 0.21 \%$  vs  $2.6 \pm 0.26 \%$ ,  $P = 0.05$ , respectively).

Table 4: Suckling activity in the living pen during 24h at 5 wk of age in male kids born to goats feed-restricted during the last third of pregnancy or to control goats. The control goats were fed a TMR ad libitum for the last third of gestation and the feed-restricted goats were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4 wk), 60% (for 1 wk), 70% (for 1 wk) and 80% (for 2 wk) of the amount given to the control goats.

Item	Control (n = 13)	Restricted (n = 15)	p-value
Time spent with a teat in the mouth (i.e. suckling), min	29.5 ± 3.96	27.7 ± 4.01	0.76
Mean duration of a suckling bout*, s	0.044 (21.7) ± 0.005	0.038 (25.3) ± 0.005	0.39
Percentage of efficient suckling time**	38.1 ± 4.2	40.8 ± 4.3	0.18
Amount of milk, L/d	1.7 ± 0.1	1.6 ± 0.1	0.71

\*1/(x+1) transformation

\*\* Time spent with a teat in the mouth and drinking

Lsmeans (back transformed Lsmeans) ± SE are presented

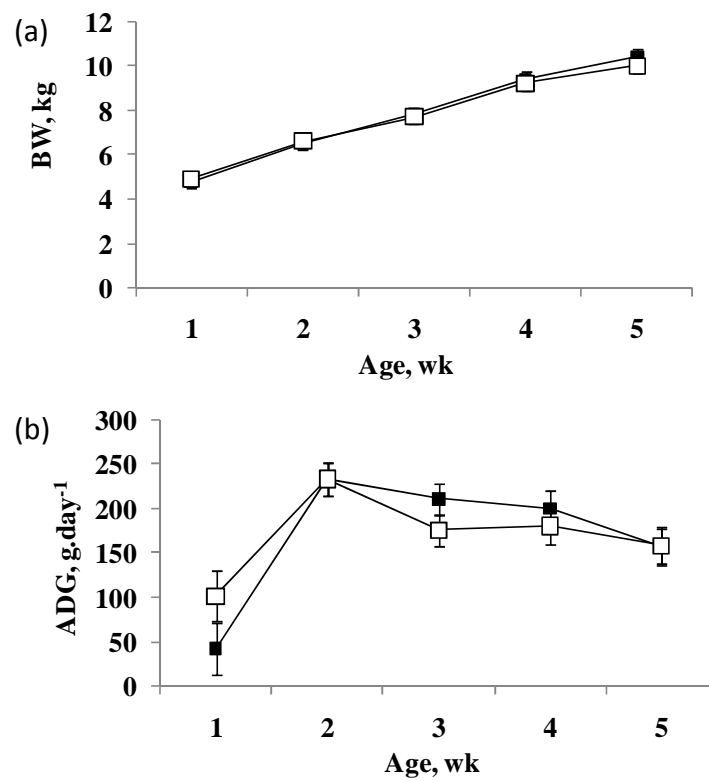


Figure 4: (a) body weight and (b) average daily weight gain in male kids born to goats feed-restricted during the last third of gestation (□, n = 15) or to control dams (■, n= 13) from 1 wk until 5 wk of age. The control goats were fed a TMR ad libitum for the last third of gestation and the feed-restricted goats were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4 wk), 60% (for 1 wk), 70% (for 1 wk) and 80% (for 2 wk) of the amount given to the control goats. No differences were observed between groups.

## DISCUSSION

In this experiment, half of the goats were feed-restricted between 90 d of pregnancy and parturition. During this experimental period, control goats maintained their body weight whereas restricted goats lost 8.2% BW on average. Moreover, the increase in plasma NEFA concentrations and the decrease in plasma glucose concentrations over the same period were greater in feed-restricted goats than in the control goats. These data show that the restriction of 70% compared to the energy eaten by ad libitum control goats was effective in inducing a loss in body weight in the feed-restricted goats and inducing an increase in body reserve mobilization compared to control goats. On the basis of these results we can conclude that the restricted goats were energy restricted and that the control goats were close to maintenance (no modification of body weight, only a slight decrease in glucose and a smaller increase in NEFA compared to the restricted goats). In addition, some feed-restricted goats became toxemic. Because kids of toxemic goats could not be studied and the health of the pregnant animals was compromised due to toxemia (Rook, 2000), the feed restriction was less severe at the end of gestation.

However, the treatment was effective because some morphometric and metabolic modifications were observed in kids. The birth weight of kids from triplet and twin litters was reduced in males born to feed-restricted goats. This reduction in birth weight has been already observed in male and female lambs (Koritnik et al., 1981; Oliver et al., 2001; Borwick et al., 2003; Husted et al., 2007) and in male and female goat kids in one study (Bajhau and Kennedy, 1990) but not in two others (Khan et al., 2005; Celi et al., 2008). In the present experiment kid morphology was slightly influenced by maternal undernutrition during pregnancy but only at birth: the reduction in kid birth weight was associated with reduced abdominal girth and a trend for a reduction in BMI and density index. Oliver et al. (2001) found a reduction in birth weight associated with a reduction in crown-rump length and hock to toe length in lambs born to 20 day-restricted ewes in late-pregnancy. Three months later, crown-rump length was shorter in males born to 20 day-restricted ewes. Thereafter and until 1 year after birth, no differences were found for any measurements. In the present experiment, no treatment effect was observed on male kid body weight and morphometric measurements from 1 to 5 wk after birth. However, REST male kids caught-up their lower birth weight during the first week after birth.

Morphometric parameters were influenced by litter size: triplets were lighter and smaller at birth and remained lighter and smaller than twins until 5 wk of age. Metabolism was also influenced by litter size: glucose concentrations were greater in twins at 1 and 3 wk of age and insulin concentrations tended to be greater in twins 5 wk after birth. At slaughter, twins had a greater total body fat/body weight ratio than triplets. Even if most of the studies in sheep mainly compared single and twins, the same trend was always observed: the bigger the litter size, the lighter the offspring. Twin fetuses, regardless of maternal nutrition during pregnancy, were lighter and smaller than single fetuses (Edwards et al., 2005; Rumball et al., 2008) and single lambs had a greater percentage of body fat and greater insulin concentrations than twins (Muhlhausler et al., 2008). Rumball et al. (2008)

found decreased food intake and lower glucose concentrations in late pregnancy in twin bearing ewes compared to single bearing ewes. In our study, there was no effect of litter size on glucose concentrations but the NEFA concentration differences between the beginning and the end of feed restriction were greater in feed restricted goats. Moreover, weight loss during the feed restriction period was higher in twin bearing goats than in single bearing goats. It is therefore important to take into account litter size, even between two and three kids per litter, when studying kid metabolism and development. However, Mulhausler et al. (2008) suggested that body weight rather than litter size per se may influence growth and body composition. Several studies showed relationships between birth weight and pathologies. A very low birth weight has been shown to impair growth and metabolism in humans (Rosenberg, 2008), sheep (Greenwood et al., 1998) and pigs (Attig et al., 2008). Offspring with a very low birth weight are considered as intra-uterine growth retarded animals (Anthony et al., 2003). However, in the work presented here, maternal feed restriction reduced birth weight in the male offspring but did not elicit growth retardation.

At birth, plasma NEFA concentrations were lower and glucose concentrations tended to be lower in male and female kids born to feed-restricted dams compared to male and female kids born to control dams. However, at 1 wk of age, NEFA concentrations were higher in kids born to feed-restricted dams than in kids born to control dams. In contrast to Celi et al. (2008) who found higher NEFA concentrations from birth to 5 wk of age in kids born to underfed goats, our results suggest that kids born to feed-restricted dams mobilized less adipose tissue reserves than kids born to control dams at birth, but mobilized more at 1 wk of age. No treatment effect was observed on insulin and leptin concentrations at birth and at 5 wk of age as well as on glucose concentrations from 1 to 5 wk after birth.

Despite the fact that the difference in body weight was only observed at birth, the omental dissected adipose tissue/body weight ratio was reduced and the adrenal/body weight ratio was greater in kids born to feed-restricted dams than in kids born to control dams six weeks after birth. In kids born to late-pregnancy stressed goats (transportation), a higher medulla weight and greater phenylethanolamine N-methyl transferase activity were observed in adrenals, suggesting an over-reactivity of the sympatho-adrenomedullary system (Duvaux-Ponter et al., 2003). In rats born to late-pregnancy stressed dams (handling and saline injection), an increase in adrenal weight and in basal corticosterone concentration was observed (Ward et al., 2000), whereas in another study an increase in basal corticosterone concentrations but a decrease in adrenal weight were found (Fameli et al., 1994). This difference in adrenal weight could be related to the difference in omental dissected adipose tissue mass. Glucocorticoids and catecholamines are involved in fat mobilization (Brockman and Laarveld, 1986). The decrease in omental dissected adipose tissue mass in REST kids could be due to a difference in adrenal function. Further investigation on the adrenal anatomy of kids born to feed-restricted dam is necessary.

In kids, food intake is highly correlated to body weight (Bas et al., 1985). A study in sheep showed that lambs born to feed restricted dams were lighter and drunk less milk replacer

than control lambs (Geraseev et al., 2006). The authors hypothesized that lambs born to feed restricted dams ate less because of a reduced digestive tract size. Differences in feeding behavior may not have been seen in our experiment because the differences in body weight and therefore in the digestive tract were not large enough and disappeared rapidly after birth. Even if digestive tract size may be a limiting factor for feed intake, intake does not only depend on body weight. Changes in feeding behavior and emotional reactivity were expected in the offspring after maternal nutritional restriction in late-gestation. The maturation and activation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis occurs in late-pregnancy in sheep (Matthews and Challis, 1996). The hypothalamus is an important regulator of feed intake (Della-Fera and Baile, 1984) and is involved in responses to stress (Hargreaves, 1990). Studies have shown in utero programming of both thirst and feeding behavior in rats (Ross and Nijland, 1998; Langley-Evans et al., 2005) and of emotional reactivity in sheep (Erhard et al., 2004). However, five weeks after birth, no modification in suckling behavior or emotional reactivity due to feed restriction during gestation was observed. This could be due to several reasons. Firstly, undernutrition during the last third of pregnancy may not modify emotional and feeding behavior of goat kids. Studies in sheep and goats feed-restricted in early pregnancy showed no modification in offspring reactivity up until 5 months of age (Hernandez et al., 2009; Simitzis et al., 2009). Modifications in offspring born to late-pregnancy feed restricted dams have never been investigated. The effects of undernutrition during gestation on the offspring may, however, only be observed in adults: Erhard et al. (2004) showed an increase in emotional reactivity in 18-month old lambs born to early-pregnancy underfed ewes. Moreover, in rodents, protein restriction during pregnancy and/or lactation modified intake behavior of the offspring after weaning and in adult life (Bellinger et al., 2004; Bellinger and Langley-Evans, 2005; Bellinger et al., 2006; Orozco-Sólis et al., 2009). In Erhard's study, however, restriction was performed during early-pregnancy. The effects on offspring emotional reactivity may not be the same depending on the timing of feed-restriction, as already observed for metabolism and physiology. Maternal undernutrition in early-pregnancy in humans and animal models leads to an increase in arterial blood pressure whereas undernutrition in late-pregnancy leads to insulin resistance and obesity problems (Symonds et al., 2009).

Secondly, the postnatal environment imposed in the present study may not favor maintenance of metabolic or behavioral differences between restricted and control kids. Suckling behavior in maternally fed lambs and kids is influenced by body weight, age, breed, litter size, and dam experience, condition and behavior (Ewbank, 1967; Festa-Bianchet, 1988; 1996; Dwyer et al., 2003). Feed restriction during pregnancy can affect maternal behavior (Terrazas et al., 2009) and milk production (Celi et al., 2008; Tygesen et al., 2008). Metabolic and behavioral modifications observed in kids or lambs reared by their mothers may therefore be due to impaired maternal behavior and milk production. Here, in artificially reared kids, the dam was not present. If some modifications were observed in kids born to restricted dams in this experiment, it would result directly from the maternal feed restriction during late pregnancy and not from impaired maternal

behavior and milk production. There can be social facilitation which leads to a synchronization of behaviors in the rearing pens as shown for feeding and resting behavior in pigs (Nielsen et al., 1996), sheep (Rook and Penning, 1991) and cattle (Benham, 1982). Some authors also reported in pigs a desire to eat simultaneously with peers when the animal was observed in a social context (Hsia and Wood-Gush, 1984). Nielsen et al. (1996) showed that when groups of pigs had access to multi-space troughs, these pigs preferred feeding at the same time as, and adjacent to, other pigs which were eating. The synchronization of kid activities may have hid, if it existed, the effect of maternal feed restriction.

In conclusion, maternal nutrition affected kid metabolism and morphology at birth but these effects did not persist during the next 5 wk. In addition, kid emotional reactivity as well as suckling behavior at 3 and 5 wk of age was not affected by maternal feed restriction. However, there might be an effect of maternal feed restriction on adrenal weight and function. Nevertheless, the effects are relatively small at a young age and experiments need to be carried out for longer periods to study the effects at adult age of maternal feed restriction.

#### LITTERATURE CITED

- Anthony, R. V., A. N. Scheaffer, C. D. Wright, and T. R. H. Regnault. 2003. Ruminant models of prenatal growth restriction Reproduction in domestic ruminants v. Proceedings of the sixth international symposium on reproduction in domestic ruminants held in crieff, scotland, UK, august 2002. p 183-194.
- Attig, L., J. Djiane, A. Gertler, O. Rampin, T. Larcher, S. Boukthir, P. M. Anton, J. Y. Madec, I. Gourdou, and L. Abdennebi-Najar. 2008. Study of hypothalamic leptin receptor expression in low-birth-weight piglets and effects of leptin supplementation on neonatal growth and development. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 295: E1117-E1125.
- Bajhau, H. S., and J. P. Kennedy. 1990. Influence of pre- and postpartum nutrition on growth of goat kids. *Small Rumin. Res.* 3: 227-236.
- Bas, P., A. Rouzeau, and P. Morand-Fehr. 1985. [weight and metabolism of lipid reserves during the growth of kids]. *Reprod. Nutr. Dev.* 25: 275-285.
- Bellinger, L., and S. C. Langley-Evans. 2005. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clin. Sci.* 109: 413-420.
- Bellinger, L., C. Lilley, and S. C. Langley-Evans. 2004. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *Br. J. Nutr.* 92: 513-520.
- Bellinger, L., D. V. Sculley, and S. C. Langley-Evans. 2006. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. *Int. J. Obes.* 30: 729-738.



- Benham, P. F. J. 1982. Synchronization of behaviour in grazing cattle. *Appl. Anim. Ethol.* 8: 403-404.
- Borwick, S. C., M. T. Rae, J. Brooks, A. S. McNeilly, P. A. Racey, and S. M. Rhind. 2003. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Anim. Reprod. Sci.* 77: 61-70.
- Brockman, R. P., and B. Laarveld. 1986. Hormonal regulation of metabolism in ruminants; a review. *Livest. Prod. Sci.* 14: 313-334.
- Celi, P., A. Di Trana, and S. Claps. 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Rumin. Res.* 79: 129-136.
- Delavaud, C., F. Bocquier, Y. Chilliard, D. H. Keisler, A. Gertler, and G. Kann. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific ria in sheep. *J. Endocrinol.* 165: 519-526.
- Della-Fera, M. A., and C. A. Baile. 1984. Control of feed intake in sheep. *J. Anim. Sci.* 59: 1362-1368.
- Duvaux-Ponter, C., S. Roussel, J. Tessier, D. Sauvart, C. Ficheux, and A. Boissy. 2003. Physiological effects of repeated transport in pregnant goats and their offspring. *Anim. Res.* 52: 553-566.
- Dwyer, C. M., A. B. Lawrence, S. C. Bishop, and M. Lewis. 2003. Ewe-lamb bonding behaviours at birth are affected by maternal undernutrition in pregnancy. *Br. J. Nutr.* 89: 123-136.
- Dwyer, C. M., A. B. Lawrence, H. E. Brown, and G. Simm. 1996. Effect of ewe and lamb genotype on gestation length, lambing ease and neonatal behaviour of lambs. *Reprod. Fertil. Dev.* 8: 1123-1129.
- Edwards, L. J., J. R. McFarlane, K. G. Kauter, and I. C. McMillen. 2005. Impact of periconceptional nutrition on maternal and fetal leptin and fetal adiposity in singleton and twin pregnancies. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 288: R39-R45.
- Erhard, H. W., A. Boissy, M. T. Rae, and S. M. Rhind. 2004. Effects of prenatal undernutrition on emotional reactivity and cognitive flexibility in adult sheep. *Behav. Brain. Res.* 151: 25-35.
- Ewbank, R. 1967. Nursing and suckling behaviour amongst clun forest ewes and lambs. *Anim. Behav.* 15: 251-258.

- Fameli, M., E. Kittraki, and F. Stylianopoulou. 1994. Effects of hyperactivity of the maternal hypothalamic-pituitary-adrenal (hpa) axis during pregnancy on the development of the hpa axis and brain monoamines of the offspring. *Int. J. Dev. Neurosci.* 12: 651-659.
- Festa-Bianchet, M. 1988. Nursing behaviour of bighorn sheep: Correlates of ewe age, parasitism, lamb age, birth date and sex. *Anim. Behav.* 36: 1445-1454.
- Forkman, B., A. Boissy, M. C. Meunier-Salaün, E. Canali, and R. B. Jones. 2007. A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiol. Behav.* 92: 340-374.
- Geraseev, L. C., J. R. O. Perez, R. P. Carvalho, F. A. de Oliveira, F. A. Quintao, and A. L. Lima. 2006. Effects of pre and postnatal feed restriction on growth and production of santa inês lambs from birth to weaning. *Revista Brasileira de Zootecnia* 35: 245-251.
- Greenwood, P. L., A. Hunt, J. W. Hernanson, and A. W. Bell. 1998. Effects of birth weight and postnatal nutrition on neonatal sheep: 1. Body growth and composition, and some aspects of energetic efficiency. *J. Anim. Sci.* 76: 2354-2367.
- Grigore, D., N. B. Ojeda, and B. T. Alexander. 2008. Sex differences in the fetal programming of cardiovascular disease. *Gend. Med.* 5 Suppl A: S121-S132.
- Hargreaves, K. 1990. Neuroendocrine markers of stress. *Anesth. Prog.* 37: 99-105.
- Hernandez, C. E., L. R. Matthews, M. H. Oliver, F. H. Bloomfield, and J. E. Harding. 2009. Effects of sex, litter size and periconceptional ewe nutrition on the ewe-lamb bond. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 120: 76-83.
- Hsia, L. C., and D. G. M. Wood-Gush. 1984. The temporal pattern of food intake and allelomimetic feeding by pigs of different ages. *Appl. Anim. Ethol.* 11: 271-282.
- Husted, S. M., M. O. Nielsen, M. P. Tygesen, A. Kiani, D. Blache, and K. L. Ingvarsten. 2007. Programming of intermediate metabolism in young lambs affected by late gestational maternal undernourishment. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293: E548-E557.
- Johnson, Z. B., and R. A. Nugent, III. 2003. Heritability of body length and measures of body density and their relationship to backfat thickness and loin muscle area in swine. *J. Anim. Sci.* 81: 1943-1949.
- Khan, O. A., C. Torrens, D. E. Noakes, L. Poston, M. A. Hanson, L. R. Green, and S. K. Ohri. 2005. Effects of pre-natal and early post-natal undernutrition on adult internal thoracic artery function. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 28: 811-815.
- Koritnik, D. R., W. D. Humphrey, C. C. Kaltenbach, and T. G. Dunn. 1981. Effects of maternal undernutrition on the development of the ovine fetus and the associated changes in growth hormone and prolactin. *Biol. Reprod.* 24: 125-137.

- Langley-Evans, S. C., L. Bellinger, and S. McMullen. 2005. Animal models of programming: Early life influences on appetite and feeding behaviour. *Matern. Child Nutr.* 1: 142-148.
- Mason, J. W. 1971. A re-evaluation of the concept of "Non-specificity" In stress theory. *J. Psychiatr. Res.* 8: 323-333.
- Matthews, S. G., and J. R. G. Challis. 1996. Regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in fetal sheep. *Trends Endocrinol. Metab.* 7: 239-246.
- McCraib, G. J., B. J. Hosking, and A. R. Egan. 1992. Changes in the maternal body and fetoplacental growth following various lengths of feed restriction during mid-pregnancy in sheep. *Aust. J. Agric. Res.* 43: 1429-1440.
- Muhlhausler, B. S., V. Ritorto, C. Schultz, B. E. Chatterton, J. A. Duffield, and I. C. McMillen. 2008. Birth weight and gender determine expression of adipogenic, lipogenic and adipokine genes in perirenal adipose tissue in the young adult sheep. *Domest. Anim. Endocr.* 35: 46-57.
- Nielsen, B. L., A. B. Lawrence, and C. T. Whittemore. 1996. Feeding behaviour of growing pigs using single or multi-space feeders. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 47: 235-246.
- Oliver, M. H., J. E. Harding, and P. D. Gluckman. 2001. Duration of maternal undernutrition in late gestation determines the reversibility of intrauterine growth restriction in sheep. *Prenat. Neonatal Med.* 6: 271-279.
- Orozco-Sólis, R., S. Lopes de Souza, R. J. Barbosa Matos, I. Grit, J. Le Bloch, P. Nguyen, R. Manhães de Castro, and F. Bolaños-Jiménez. 2009. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiol. Behav.* 96: 481-492.
- Rook, A. J., and P. D. Penning. 1991. Synchronisation of eating, ruminating and idling activity by grazing sheep. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 32: 157-166.
- Rook, J. S. 2000. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Metabolic Disorders in Ruminants* 16: 293-317.
- Rosenberg, A. 2008. The iugr newborn. *Semin. Perinatol.* 32: 219-224.
- Ross, M. G., and M. J. M. Nijland. 1998. Development of ingestive behavior. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 274: R879-R893.
- Rumball, C. W., J. E. Harding, M. H. Oliver, and F. H. Bloomfield. 2008. Effects of twin pregnancy and periconceptional undernutrition on maternal metabolism, fetal growth and glucose-insulin axis function in ovine pregnancy. *J. Physiol.* 586: 1399-1411.

- Russel, A. J. F., T. J. Maxwell, A. R. Sibbald, and D. McDonald. 1977. Relationships between energy intake, nutritional state and lamb birth weight in greyface ewes. *J. Agric. Sci.* 89: 667-673.
- Simitzis, P. E., M. A. Charismiadou, B. Kotsampasi, G. Papadomichelakis, E. P. Christopoulou, E. K. Papavlasopoulou, and S. G. Deligeorgis. 2009. Influence of maternal undernutrition on the behaviour of juvenile lambs. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 116: 191-197.
- Sinclair, K. D., and R. Singh. 2007. Modelling the developmental origins of health and disease in the early embryo. *Theriogenology* 67: 43-53.
- Symonds, M. E., S. P. Sebert, M. A. Hyatt, and H. Budge. 2009. Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5: 604-610.
- Symonds, M. E., T. Stephenson, D. S. Gardner, and H. Budge. 2007. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: Mechanisms and critical windows. *Reprod. Fertil. Dev.* 19: 53-63.
- Terrazas, A., V. Robledo, N. Serafin, R. Soto, H. Hernandez, and P. Poindron. 2009. Differential effects of undernutrition during pregnancy on the behaviour of does and their kids at parturition and on the establishment of mutual recognition. *Animal* 3: 294-306.
- Torres, S. J., and C. A. Nowson. 2007. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 23: 887-894.
- Tygesen, M. P., M. O. Nielsen, P. Norgaard, H. Ranvig, A. P. Harrison, and A. H. Tauson. 2008. Late gestational nutrient restriction: Effects on ewes' metabolic and homeorhetic adaptation, consequences for lamb birth weight and lactation performance. *Arch. Anim. Nutr.* 62: 44-59.
- Ward, H. E., E. A. Johnson, A. K. Salm, and D. L. Birkle. 2000. Effects of prenatal stress on defensive withdrawal behavior and corticotropin releasing factor systems in rat brain. *Physiol. Behav.* 70: 359-366.
- Warnes, K. E., M. J. Morris, M. E. Symonds, I. D. Phillips, I. J. Clarke, J. A. Owens, and I. C. McMillen. 1998. Effects of increasing gestation, cortisol and maternal undernutrition on hypothalamic neuropeptide y expression in the sheep fetus. *J. Neuroendocrinol.* 10: 51-57.



## CHAPITRE 4

### **EFFECTS OF MATERNAL FEED RESTRICTION DURING PREGNANCY ON FEMALE AND MALE GOAT KID MORPHOLOGY, METABOLISM AND BEHAVIOR AROUND WEANING**

CONSEQUENCES D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LA GESTATION SUR LA  
MORPHOLOGIE, LE METABOLISME ET LE COMPORTEMENT DES CHEVREAUX MALES ET  
FEMELLES AUTOUR DU SEVRAGE

A soumettre à Journal of Animal Science



## CONSEQUENCES D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LA GESTATION SUR LA MORPHOLOGIE, LE METABOLISME ET LE COMPORTEMENT DES CHEVREAUX MALES ET FEMELLES AUTOUR DU SEVRAGE

La fin de gestation est une période critique chez les ruminants, qui sont généralement en bilan énergétique négatif. Plusieurs études ont montré un effet différentiel d'une restriction alimentaire en gestation suivant le sexe de la progéniture. La progéniture peut de plus se trouver face à des stress nutritionnels après la naissance, en particulier au moment du sevrage.

### Objectifs

Etudier les conséquences d'une restriction alimentaire en fin de gestation sur la croissance, le métabolisme énergétique et le comportement en fonction du sexe de la progéniture.

Etudier les conséquences d'une restriction alimentaire maternelle à une période d'importants changements physiologiques et comportementaux telle que la période du sevrage.

### Matériels et méthodes

Cinquante-six chèvres multipares ont été réparties en 2 groupes, témoin et restreint en équilibrant la race, le poids vif, l'état corporel et le père des chevreaux. Les chèvres témoins étaient nourries *ad libitum* (5% de refus) avec une ration complète. Entre 104 jours de gestation et la mise-bas, les chèvres restreintes ont reçu 50% de la quantité distribuée aux chèvres témoins la semaine précédente et de la paille à volonté. Des pesées et des prises de sang ont été effectuées afin d'évaluer le niveau de restriction chez les chèvres restreintes.

A la naissance, 50 chevreaux (13 femelles et 12 mâles issus de chèvres témoins, et 14 femelles et 11 mâles issus de chèvres restreintes) de portées doubles et triples ont été gardés. Les animaux ont été séparés de leur mère à la naissance. Entre le 5<sup>ème</sup> jour et la 5<sup>ème</sup> semaine, tous les animaux ont été mélangés dans 4 enclos expérimentaux. Les chevreaux ont ensuite été répartis dans 2 enclos pour le sevrage effectué à 8 semaines.

*Mesures morphométriques, poids et abattage.* Le poids des animaux a été suivi toutes les semaines de la naissance à 10 semaines. Des mesures morphométriques ont été effectuées à la naissance, puis tous les 15 jours entre 1 et 9 semaines. La densité (poids/longueur vertex-queue) et le GMQ ont été calculés. A 10 semaines, la composition corporelle de 36 chevreaux a été estimée par absorptiométrie (DXA). Puis, 10 mâles nés de chèvres restreintes et 10 mâles témoins ont été disséqués pour peser leur tissu adipeux.



*Mesures physiologiques.* Les concentrations en glucose et AGNE ont été dosées à la naissance et à 1, 3, 5, 7 et 9 semaines. Les concentrations de leptine et insuline ont été dosées à la naissance et 9 semaines. La température rectale a été prise avant les prises de sang. La température et l'humidité de la pièce ont également été notées pour calculer l'index température-humidité (THI).

*Comportement.* Le comportement alimentaire en enclos d'élevage a été analysé à l'âge de 2 semaines sur 24h. Le budget-temps sur 24h a été étudié à 9 semaines, après le sevrage.

### **Résultats**

Les chèvres restreintes dont les chevreaux ont été gardés ont perdu 9,8% de poids pendant la période de traitement contre 0,5% pour les témoins. Elles ont également perdu de l'état corporel et leurs concentrations en AGNE ont été plus élevées et leur glycémie plus faible que les témoins pendant cette période.

Le poids et la densité des chevreaux issus des chèvres restreintes en gestation étaient plus faibles à la naissance par rapport aux chevreaux issus des chèvres témoins et tendaient à être plus faibles une semaine plus tard. Dans les semaines suivantes aucune différence n'a été observée entre les chevreaux issus des chèvres restreintes et témoins sur la croissance. Les quantités de tissu adipeux total et de tissu adipeux abdominal des chevreaux issus de chèvres restreintes, estimées par absorptiométrie, tendaient à être plus faibles que chez les témoins. Ce résultat n'a pas été retrouvé chez les mâles disséqués.

La concentration en insuline a eu tendance à être augmentée et la température rectale a été augmentée à 9 semaines chez les chevreaux issus des chèvres restreintes.

Aucune différence n'a été observée sur le comportement alimentaire à 2 semaines et sur le budget-temps à 9 semaines, entre les chevreaux issus de chèvres restreintes et témoins.

Aucune interaction entre le traitement et le sexe n'a été observée pour les mesures de croissance, physiologiques et comportementales.

### **Discussion et conclusion**

Les résultats zootechniques et métaboliques obtenus chez les chèvres confirment la présence d'une restriction alimentaire effective pendant le dernier tiers de la gestation.

La restriction alimentaire maternelle pendant la gestation n'a eu qu'un effet limité sur la morphologie et le métabolisme des chevreaux.

La quantité de tissu adipeux a eu tendance à être plus faible chez les chevreaux issus de chèvres restreintes après le sevrage.

La tendance pour une insulïnémie plus élevée chez les chevreaux sevrés issus des chèvres restreintes est cohérente avec l'insulino-résistance observée chez des agneaux issus de mères restreintes en fin de gestation. Cependant ce résultat reste à confirmer.

La restriction alimentaire maternelle pendant la gestation n'a eu aucun effet sur le comportement alimentaire. Il est probable que les effets de la restriction sur le comportement apparaissent surtout à l'âge adulte.

L'effet différentiel d'une restriction alimentaire en gestation suivant le sexe de la progéniture n'a pas été confirmé dans cette étude pour des animaux de moins de 3 mois.

## EFFECTS OF MATERNAL FEEDING RESTRICTION DURING PREGNANCY ON FEMALE AND MALE GOAT KID MORPHOLOGY, METABOLISM AND BEHAVIOR AROUND WEANING

B. Laporte-Broux,<sup>\*†‡<sup>1</sup></sup> A.A. Ponter,<sup>‡§</sup> S. Roussel,<sup>\*†</sup> P. Chavatte-Palmer,<sup>‡</sup> and C. Duvaux-Ponter<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>INRA, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris cedex 05, France

<sup>†</sup>AgroParisTech, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75231 Paris cedex 05, France

<sup>‡</sup>INRA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

<sup>§</sup>ENVA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, 7 avenue du Général de Gaulle, F-94700 Maisons-Alfort, France

<sup>1</sup> The authors thank S. Camous, M. Carrière, N. Charpentier, D. Couttenier, M. Dahirel, O. Dhumez, W. Visalvethaya and C. Ficheux for technical assistance, J. Tessier and his team at the Chèvreerie expérimentale INRA for the care of the animals and J.-Y. Picot (DIFAGRI PICOT SA, France) for the gift of the propylene glycol supplement.

<sup>2</sup> Corresponding author: berengere.laporte@agroparistech.fr

**ABSTRACT**

The first objective of this experiment was to investigate the effects of maternal feed restriction in late pregnancy on kid morphology, metabolism and behaviour according to the sex of the offspring. The second objective was to focus on the weaning period, a challenging period for ruminants. Twenty-eight goats were feed restricted during the last third of pregnancy and 28 goats were fed a TMR *ad libitum*. At birth, only kids from twin and triplet litters were studied (n = 25 kids born to control dams (**CONT**), among them 14 females and 11 males, and n = 25 born to restricted dams (**REST**), 13 females and 12 males) and were monitored until 10 wk of age. Kids born to restricted goats were lighter at birth ( $P = 0.007$ ) and had a lower density index ( $P < 0.001$ ) than kids born to control goats. These differences tended to persist until 1 wk of age ( $P = 0.09$  for both live weight and density index) and disappeared thereafter. No differences in morphometric measurements were found between CONT and REST kids but REST kids tended to have less total body fat and less abdominal fat than CONT kids at 10 wk of age ( $P = 0.09$  and  $P = 0.08$

respectively). Insulin concentrations tended to be higher ( $P = 0.09$ ) and rectal temperature was increased ( $P = 0.02$ ) in REST kids compared to CONT kids at 9 wk of age, possibly suggesting a modification on thermogenesis. No modification in kid behaviour was observed as a result of maternal feed restriction in late pregnancy. This study confirms that the effects of maternal restriction on the offspring depend on age and physiological status (before vs after weaning). In any case, the hypothesis of a differential effect of feed restriction during pregnancy depending on the sex of the offspring was not confirmed for kids before puberty.

**Key words:** feeding behavior, fetal programming, goat, maternal feed restriction, metabolism

## INTRODUCTION

Maternal feed restriction in late pregnancy has been associated with insulin resistance and increased adiposity in humans and animals (Sinclair and Singh, 2007, Symonds *et al.*, 2007). One mechanism proposed to explain this programming is an over-exposure to glucocorticoids (Laporte *et al.*, submitted). Owen *et al.* (2005) reviewed HPA axis programming and reported that glucocorticoid exposure during pregnancy altered the way the HPA axis functioned in the offspring in a sex-dependant manner (Owen *et al.*, 2005). Moreover, several studies, mostly performed in rodents, show differential effects of maternal feed restriction on offspring according to the sex of the offspring. In sheep, maternal feed restriction in early pregnancy impaired emotional reactivity in both sexes but only male lambs had impaired cognitive flexibility (Erhard *et al.*, 2004). In rats altered cardiovascular function has been reported in rats born to dietary restricted dams but this effect was more pronounced in males than in females (Ozaki *et al.*, 2001, Woods *et al.*, 2005). Several studies in rats reported differential effects of maternal dietary restriction on male and female offspring appetite, physiology and metabolism, depending on the period and duration of maternal feed restriction (Bellinger *et al.*, 2004, Bellinger and Langley-Evans, 2005, Bellinger *et al.*, 2006).

Late pregnancy is a critical period in ruminants, especially dairy ruminants. Indeed, this is the main period for fetal growth and energy requirements are very high (INRA, 2007). Because of the growing volume of the uterus, rumen capacity is reduced especially

in multiple pregnancies, resulting in a negative energy balance and body reserve mobilization (Morand Fehr and Sauvant, 1988). Undernutrition can be more severe when the animals are reared in groups because food supply is given according to the average requirements for the group (Chilliard *et al.*, 1998) and because of the hierarchy existing in herds (Conway *et al.*, 1996). Animals positioned at or near the top of the hierarchical herd structure have access to the feeding trough in priority and may prevent low ranking animals from eating (Conway *et al.*, 1996).

Offspring performance can also be affected. Maternal feed restriction during late pregnancy can affect offspring survival by modifying vigour (Terrazas *et al.*, 2009) and birth weight (Oliver *et al.*, 2001, Borwick *et al.*, 2003, Husted *et al.*, 2007, Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). Growth can be altered thereafter (Husted *et al.*, 2007, Tygesen *et al.*, 2007). Ashworth *et al.* (2009) recently reviewed the effects of maternal feed restriction during mid- to late-pregnancy on animal production and reported impaired wool production in sheep born to ewes feed restricted in mid- to late- pregnancy. Other studies in small ruminants showed that maternal feed restriction in late-pregnancy can modify glucose and insulin metabolism (Gardner *et al.*, 2005, Husted *et al.*, 2007), HPA axis and cardiovascular function (Bloomfield *et al.*, 2003) and behavior (Terrazas *et al.*, 2009, Laporte-Broux *et al.*, submitted-a).

Our previous results showed no effect of maternal feed restriction in late-pregnancy on male kid feeding behavior until five weeks after birth (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). However, differences were found on male kid morphology at birth and adiposity at 6 wk of age. While the short-term effects of maternal feed restriction have been little investigated (Celi *et al.*, 2008, Tygesen *et al.*, 2008), most studies concentrate on long-term effects of maternal feed restriction (Bloomfield *et al.*, 2003, Borwick *et al.*, 2003, Erhard *et al.*, 2004, Gardner *et al.*, 2005, Cleal *et al.*, 2007). Weaning, however, is a critical period for ruminants with significant modifications in terms of behavior, metabolism and physiology. Important changes in rumen and gut epithelia structures, digestive tract growth and liver metabolism are observed at weaning because of the transition from a single-stomached state to a ruminant one (Baldwin *et al.*, 2004). Moreover, the weaning-induced stress may exacerbate differences between kids born to feed restricted dams and control kids.

The first objective of this study was to investigate the effects of maternal feed restriction in late-pregnancy on kid morphology, metabolism and behaviour in the neonatal

period according to the sex of the offspring. The second objective was to focus on the weaning period, a physiological challenging period for ruminants.

## MATERIALS AND METHODS

### *Animals and procedures*

**Goats.** The present study was carried out according to French legislation on animal experimentation (code rural: articles R 214-87 to R214-94) in line with the European Convention for the Protection of Vertebrates used for Experimental and other Scientific Purposes (European Directive 86/609). The scientist in charge of the experiments was licensed to perform experiments on animals and the staff who applied the experimental procedures had attended a special course approved by the French Ministry of Agriculture. Fifty-six multiparous Saanen and Alpine dairy goats were synchronized prior to mating in order to give birth within a period of 10 days. At one hundred days post-IA, they were divided into two groups (control and feed-restricted). Groups were balanced for live weight (LW), body condition score (BCS), kid sire and breed. Within each of these groups, two subgroups were made on the basis of LW (14 heavy goats and 14 light goats in each group) in order to reduce aggression between light and heavy restricted goats at the feeding trough and to better adjust the amount of feed to body weight.

Both control subgroups were fed *ad libitum* a Total Mixed Ration (TMR) allowing minimum 5% orts. The light control subgroup ( $68 \pm 5.4$  kg LW) was pair-fed to the light restricted subgroup ( $67 \pm 6.1$  kg LW), and the heavy control subgroup ( $84 \pm 8.0$  kg LW) was pair-fed to the heavy restricted subgroup ( $84 \pm 6.9$  kg LW). The amount of feed given to the restricted subgroup was calculated from the amount of feed given to the control subgroup the previous week. The amount of food given to the restricted group was decreased in 3 days to reach 50% of the amount of food given to the control group between d104 and parturition.

Feed was offered twice daily at 0700 h and 1400 h. The feed-restricted goats were restrained in a neck-lock for 30 min during feeding to avoid competition at the trough and to make sure that all goats were able to eat. All groups had free access to water and salt licks. The feed-restricted goats received barley straw (net energy:  $3.1 \text{ MJ.kg}^{-1} \text{ DM}$ ; PDI (true protein digested in the small intestine):  $24 \text{ g.kg}^{-1} \text{ DM}$  and  $880 \text{ g.kg}^{-1} \text{ DM}$ ) *ad libitum*

after feeding to reduce as much as possible the psychological stress due to feed restriction (Mason, 1971). After parturition, all goats were fed *ad libitum*.

The composition of the TMR was modified in the last weeks of gestation to take into account the proportionally faster increase in protein requirements compared to energy (table 1) Propylene glycol (Propypact®) was added to the TMR (40 g/goat/d) to avoid pregnancy toxemia which can occur in situations of feed restriction (Rook, 2000) and can result in death.

Among the 56 goats, 1 control goat became toxemic and was therefore removed from the experiment. The 55 remaining goats gave birth to single (n = 3), twin (n = 32), triplet (n = 17) and quadruplet (n = 3) litters. Only the kids from twin and triplet litters were kept and therefore goat data are presented only for the 41 goats whose kids were included in the study. Live weight and plasma glucose and NEFA concentrations were measured weekly and BCS every other week from the week before the beginning of the restriction period to parturition. The quantity of feed ingested by the goats was estimated by the quantity of feed given to each subgroup divided by the number of goats. Gestation length and weight loss between the week before the beginning of the feed restriction period (93 days of pregnancy) and 24h after parturition were calculated.

Table 1: Composition and proximate analysis of the Total Mixed Ration given to pregnant goats between d100 post-IA and parturition.

gestating age (d post-IA)	100	129	137
composition (% as fed):			
Sugar-beet pulp	35	35	33
Grass hay	30	25	22
Lucerne hay	29	29	29
Protein concentrate	5	10	15
Mineral and vitamin mix	1	1	1
Nutrients (/kg dry matter):			
Net energy (MJ)	5.5	5.6	5.7
PDI (g)	75	77	80

**Kids.** Only kids from twin and triplet litters were studied to limit the litter size effect and a maximum of one male and one female per litter was kept. At birth, 25 kids born to 20

control goats (CONT) and 25 kids born to 21 feed restricted goats (REST) were studied. Breed, sex and litter size were balanced between CONT and REST kids (table 2). At birth, kids were immediately removed from their dam and ear-tagged. Two meals of good quality pooled colostrum were given *ad libitum* on the first day and a 15% diluted milk replacer (23.5% protein, 24% fat, 7% ash, 0.3% cellulose, 50000 IU.kg<sup>-1</sup> vitamin A, 2000 IU.kg<sup>-1</sup> vitamin D3, 85 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin E, 10 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin B1, 11.5 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin K3 and 750 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin C) *ad libitum* the following days. On the fifth day, a maximum of one male and one female per litter (n = 25 kids born to control goats and n = 25 kids born to restricted goats) were identified with paint brands and placed according to their breed (Alpine or Saanen) and date of birth in one of 4 experimental pens (2 x 2.5 m). In each pen, kids were mixed in order to equilibrate the breed and the treatment, and to have a maximum of 5 days between the youngest and the oldest kid. In each pen, the kids had 24-h access to two individual stalls equipped with one teat each where they could drink milk replacer *ad libitum* through an automatic milk feeder.

A camera was placed above each pen and linked to a time-lapse video recorder to allow 24-h recording of suckling activity. A neon light (36 W) was fitted to the ceiling and was switched on 24h/24 to allow behavior to be recorded during the night. The intensity of the light was weak in order not to disturb kid behavior.

At 6 wk of age, kids were placed into two experimental pens depending on their weight in order to homogenize LW for weaning. The number of CONT and REST kids was balanced in each group. Each group was housed in a straw bedded pen (2.2 m x 3 m), had free access to water, to milk replacer through an automatic milk feeder and to hay. Kids were weaned on average at 8 wk of age when milk replacer was removed. As in their previous pen, a camera and a neon light allowed 24-h recording of kid activity.

Table 2: Sex and breed repartition of 25 kids born to 20 control goats (CONT) and 25 kids born to 21 feed restricted goats (REST). The control group was fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation and the feed restricted group was given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the control group.

	sex	Breed		TOTAL
		Saanen	Alpine	
REST	F	7	7	<b>14</b>
	M	7	4	<b>11</b>
<b>Total REST</b>		<b>14</b>	<b>11</b>	<b>25</b>
CONT	F	6	7	<b>13</b>
	M	6	6	<b>12</b>
<b>Total CONT</b>		<b>12</b>	<b>13</b>	<b>25</b>



Several kids died for unknown reasons. One REST Saanen female died at 8 days of age and another at 6 wk of age. One REST Alpine male died at 8 wk of age. One REST Alpine female was excluded because of a health problem at 6 wk of age. For practical reasons, only twenty males were slaughtered at 10 wk of age (10 REST and 10 CONT). They were chosen in order to balance treatment and breed and to have the smallest difference in age between the youngest and the oldest kid.

### ***Live weight and morphometric measurements***

Live weight was recorded at birth and every the other week until 10 wk of age. Crown-rump length (distance between crown and sacrococcygeal joint), height at withers, heart girth (taken just behind the forelimbs), abdominal girth (circumference of the abdominal cavity taken just in front of the hindlimbs) and femoral length were measured with a flexible tape on standing kids at birth and every other week before feeding until 10 wk of age. Density index (weight/crown-rump length in  $\text{g.cm}^{-1}$ ) as used in swine (Johnson and Nugent, 2003) and average daily weight gain ((body weight<sub>wk x+1</sub> – body weight<sub>wk x</sub>) / 7 days) were calculated.

### ***Organ weight and body composition***

At 10 wk of age, after 12h of fasting, body composition was assessed with a densitometer, dual-energy X-ray absorptiometry (Lunar DXA, GE Healthcare, Aulnay sous Bois, France). Due to technical problems, only 36 kids (17 REST and 19 CONT) were analyzed for body composition. Sixteen kids were anesthetized for the examination with a thiopental solution (Nesdonal, 0.015 g.kg LW<sup>-1</sup>). Ten CONT and 10 REST males were euthanatized (doléthal, 15 mL per kid) and immediately examined using the Lunar DXA prior to subsequent dissection. The examination was run twice for each kid. Lean tissue weight, adipose tissue weight and bone weight were calculated for total body, thoracic and abdominal regions. The weight of the adipose tissue (perirenal, pericardiac and omental deposits) was recorded at post-mortem in the 20 euthanatized kids. Adipose tissue weights are presented as organ or tissue weight / LW ratio (%). The total body fat / LW ratio (TBF / LW) was calculated as the sum of the 3 adipose tissues divided by live weight. Abdominal fat / LW ratio (AF / LW) was calculated as perirenal added to omental depot, divided by live weight. Ratios between adipose tissue weight assessed by dissection and

adipose tissue weight assessed by densitometry were calculated for the 20 males which were dissected.

### ***Behavioral measurements***

All video files were encoded and analyzed using The Observer<sup>®</sup> 5.0 Software System for Behavioral Research (Noldus Information Technology, Wageningen, The Netherlands). Suckling activity was videotaped during 24h in the home pen at 2 wk of age. A suckling bout was defined as the time spent with the teat in the mouth. When the kid released the teat, the bout ended. Total time spent with the teat in the mouth and mean duration of a suckling bout were measured for each kid.

Time-budget during 24h was assessed on 9-wk old kids, one week after weaning. Due to coat colour, it was difficult to identify the Alpine kids. Therefore, only the white Saanen kids were individually identified by green paint marks and their behaviour observed (CONT, n=13 and REST, n=11). The time spent eating, drinking, standing (immobile with 4 legs on the floor), lying (body resting on the floor), walking and playing (climbing and butting) were calculated for each kid.

### ***Physiological measurements***

Blood samples (10 mL) were collected into heparinized tubes by jugular venipuncture within an hour after birth (before colostrum feeding) and after 12h of fasting at 1, 3, 5, 7 and 9 wk of age. They were immediately centrifuged at 3000 g for 10 min at 4°C. Plasma was stored at -20°C until analysis.

Immediately after birth and at 1, 3, 5 and 9 wk of age, at 0700h in the morning, the rectal temperature of each kid was measured before blood sampling using a digital thermometer. Room temperature and humidity were also recorded so as to calculate the temperature-humidity index (THI) defined as follows:

$$\text{THI} = \text{db } ^\circ\text{C} - \{(0.31 - 0.31 \text{ RH})(\text{db } ^\circ\text{C} - 14.4)\}$$

where db °C is the dry bulb temperature (°C) and RH is the relative humidity (RH%)/100. The values obtained are indicative of the following: <22.2 = absence of heat stress; 22.2 to <23.3 = moderate heat stress; 23.3 to <25.6 = severe heat stress and 25.6 and above = extreme severe heat stress (Marai *et al.*, 2007). In the present experiment, there was no heat stress as THI remained between 5 and 13. However THI was taken into account in the

statistical analysis with three classes: 1 ( $5 < \text{THI} < 7$ ), 2 ( $8 < \text{THI} < 10$ ) and 3 ( $11 < \text{THI} < 13$ ).

### ***Hormonal assays***

Leptin and insulin concentrations were measured at birth and at 9 wk of age. Plasma concentrations of leptin were quantified in one single assay using double-antibody leptin radioimmunoassay procedures described by Delavaud *et al.* (2000) with some modifications. Leptin antiserum (Ab 7137) was diluted 1:2200 in assay buffer with 1% normal rabbit serum. Both standard and sample tubes were incubated for 24h at room temperature (RT) with 50  $\mu\text{L}$  of antiserum (final dilution: 1:17600 in 400  $\mu\text{L}$ ). The sensitivity of the assay was 1 ng/mL and intra-assay coefficient was 4%.

Insulin concentrations were determined in one single assay using a RIA rat insulin kit (Millipore, Molsheim, France; 100% of specificity for sheep insulin). Assay sensitivity was 0.1 ng/mL. Intra-assay coefficient was 9.7%.

Glucose and non esterified fatty acid (NEFA) concentrations were measured at birth and at 1, 3, 5, 7 and 9 wk of age. A Cobas Mira S (La Roche & Co., Diagnostics Division, Basle, Switzerland) was used to measure plasma glucose (hexokinase reaction) and plasma NEFA (NEFA C, ACS-ACOD Method). The intra-assay coefficients were 2% and 1% for glucose and NEFA respectively. The inter-assay coefficients were 8.7% and 3.4% for glucose and NEFA respectively.

### ***Statistical analysis***

All data were analyzed using the MIXED model procedure of Statistical Analysis Systems Institute (SAS<sup>®</sup>).

For the goats, the following model was used:

$$Y_i = \mu + T_i + W_j + TW_{ij} + \varepsilon_i$$

where  $\mu$  represents the overall mean,  $T_i$  the fixed effect of the treatment  $i$  (control and feed restricted),  $W_j$  the fixed effect of time (i.e. weeks),  $TW_{ij}$  the interaction and  $\varepsilon_i$  the residual error. Litter weight was used as a covariable. For goat weight loss during the restriction period and gestation length, only the fixed effect of the treatment was taken into account.

For kid birth data, the following models was used:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + L_j + B_k + S_l + TL_{ij} + TS_{il} + D_{m/i} + \varepsilon_{ijklm}$$

where  $\mu$  represents the overall mean,  $T_i$  the fixed effect of the treatment (CONT and REST)  $i$ ,  $L_j$  the fixed effect of litter size  $j$  (twins or triplet),  $B_k$  the fixed effect of breed  $k$  (Alpine or Saanen),  $S_l$  the fixed effect of sex  $l$  (male or female),  $TL_{ij}$  and  $TS_{il}$  represents the interactions between treatment and litter size and sex, respectively.  $D_{m/i}$  represents the random effect of the dam  $m$ .  $\varepsilon_{ijklm}$  and  $\varepsilon_{ijklmo}$  are the residual errors.

For the variables measured after birth, the same model was used with the fixed effect of the living pen  $P_o$  (1, 2, 3 or 4) added to it. THI (classes 1, 2 or 3) was added as a fixed effect for rectal temperature measurement.

For slaughter measurements, because only males were studied, the sex effect  $S_l$  and the interaction  $TS_{il}$  were removed from the model.

For behavioral parameters, the following model was used:

$$Y_{ijklm} = \mu + T_i + S_l + P_o + TS_{il} + \varepsilon_{ijklm}$$

where  $\mu$  represents the overall mean,  $T_i$  the fixed effect of the treatment (CONT and REST)  $i$ ,  $S_l$  the fixed effect of sex  $l$  (male or female),  $P_o$  the fixed effect of living pen and  $TS_{il}$  represents the interactions between treatment and sex.  $\varepsilon_{ijklm}$  and  $\varepsilon_{ijklmo}$  are the residual errors. Body weight was added as a covariable. For behavioral parameters at 2 wk of age only, the random effect of the dam was added.

Log, square root and inverse transformations were used when the assumptions of homogeneity of variance and normal distribution of the residuals were not verified. All data are presented as least square means (lsmeans)  $\pm$  standard errors (SE) except when otherwise stated.

## RESULTS

### *Goats*

During the feed restriction period, light and heavy feed-restricted goats consumed on average 1.4 and 1.5 kg DM/d of TMR respectively while light and heavy control goats consumed 2.4 and 2.6 kg DM/d. Straw consumption was estimated as 0.4 kg DM/d. Restricted dams were therefore provided with around 70 % of the energy given to the control goats between 100 d of gestation and parturition.

No difference was found between the 20 control and the 21 feed restricted dams for gestation length ( $151 \pm 0.4$  d for both groups). Restricted dams remained lighter than control goats during the whole feed-restriction period (figure 1,  $P < 0.001$ ). Moreover, they lost more weight ( $-7.2 \pm 1.1$  kg, about 9.8% LW) between the week before the beginning

of the feed restriction period (93 days of pregnancy) and 24h after parturition compared to control dams ( $-0.4 \pm 1.03$  kg, about 0.5% LW,  $P < 0.001$ ). Three weeks after the beginning of feed restriction, BCS decreased in restricted goats and remained lower than control goats until parturition (figure 2,  $P < 0.001$ ).

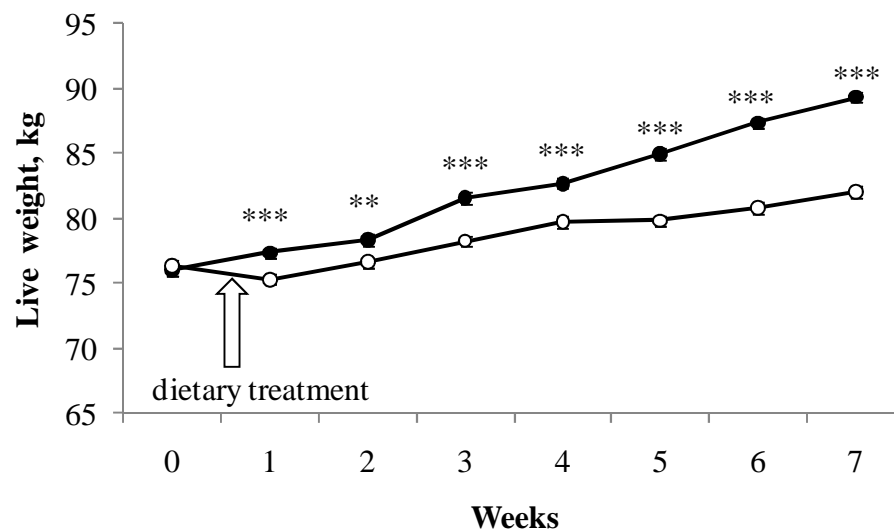


Figure 1: Live weight in control ( $n = 21$ , ●) and feed restricted dams ( $n = 20$ , ○) from the beginning of the restriction period (week 0 or d100 post-IA) to parturition (week 7). Control dams were fed a TMR *ad libitum* and feed restricted dams were given the same TMR but only 50% of the amount given to the control dams. Differences between treatments are shown, \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$ .

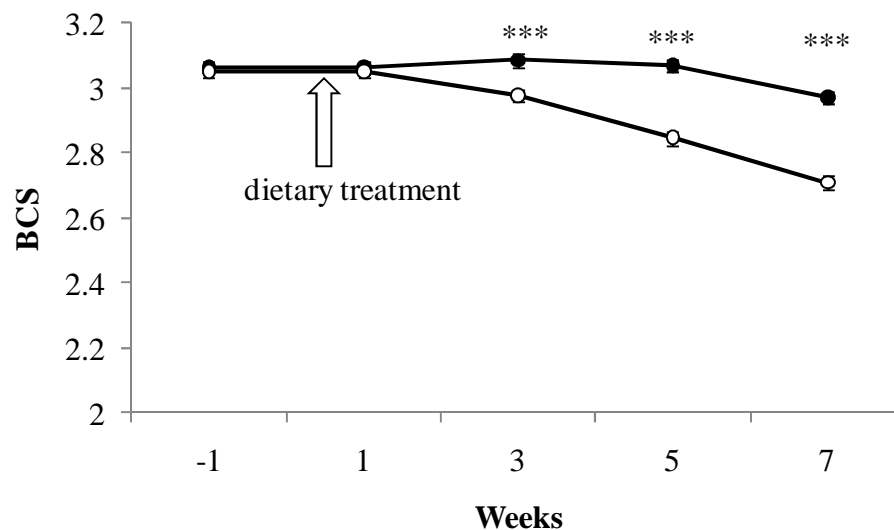


Figure 2: BCS in control ( $n = 21$ , ●) and feed restricted dams ( $n = 20$ , ○) from the week before the restriction period (week -1 or d93 post-IA) to parturition (week 7). Control dams were fed a TMR *ad libitum* and feed restricted dams were given the same TMR but only 50% of the amount given to the control dams. Differences between treatments are shown, \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$ .

Plasma glucose and NEFA concentrations did not differ before feed restriction between control and feed restricted dams ( $P > 0.10$ ). Glucose concentrations remained lower and NEFA concentrations remained higher in feed restricted dams than in control dams during the whole feed restriction period (figure 3 and 4). Litter weight, taken as a covariable, influenced plasma glucose ( $P < 0.001$ ) and NEFA concentrations ( $P = 0.006$ ).

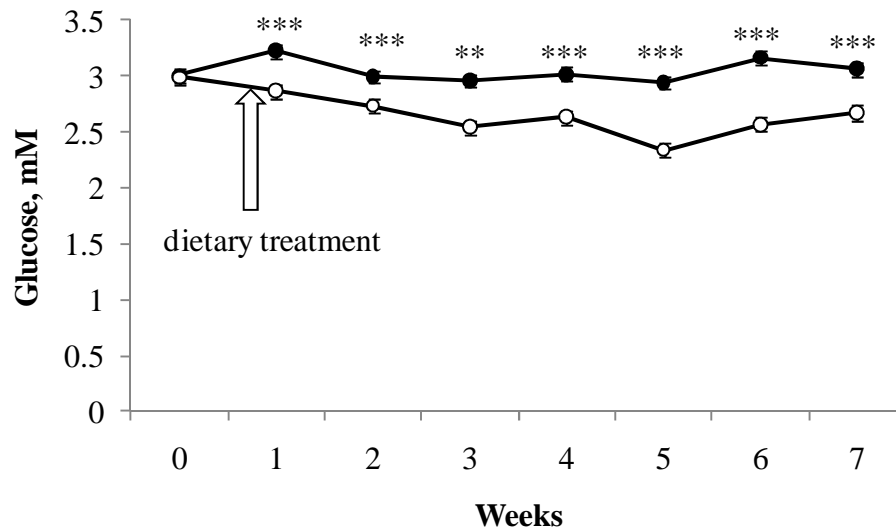


Figure 3: Plasma glucose concentration in control ( $n = 21$ , ●) and feed restricted dams ( $n = 20$ , ○) from the beginning of the restriction period (week 0 or d100 post-IA) to parturition (week 7). Control dams were fed a TMR *ad libitum* and feed restricted dams were given the same TMR but only 50% of the amount given to control dams. Differences between treatments are shown, \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$ .

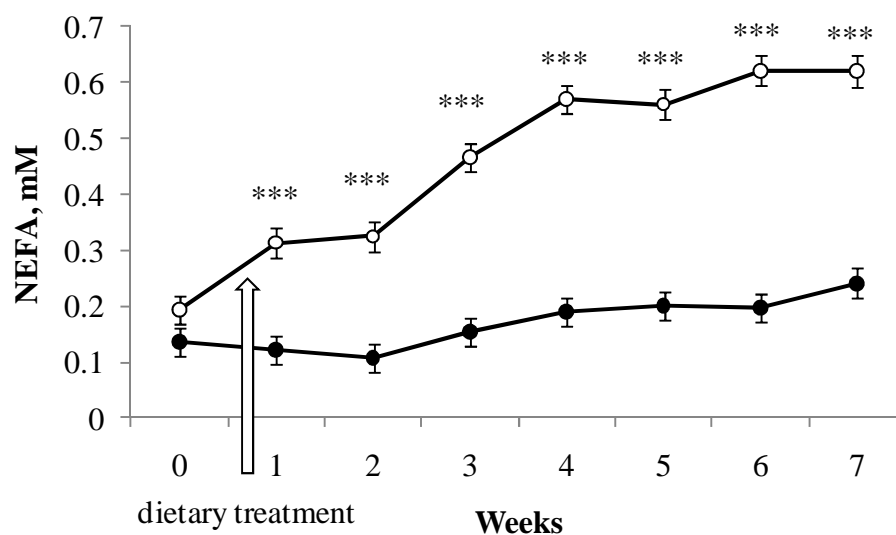


Figure 4: Plasma NEFA concentration in control (●) and feed restricted dams (○) from the beginning of the restriction period (week 0 or d100 post-IA) to parturition (week 7). Control dams were fed a TMR *ad libitum* and restricted dams were given the same TMR but only 50% of the amount given to control dams. Differences between treatments are shown, \*\*  $P < 0.01$  and \*\*\*  $P < 0.001$ .

## Kids

### Live weight and morphometric measurements

Birth weight was lower in REST kids than in CONT kids ( $4.0 \pm 0.11$  kg and  $4.5 \pm 0.10$  kg,  $P = 0.007$ ) and tended to be lower at 1 wk of age ( $4.7 \pm 0.16$  kg and  $5.1 \pm 0.15$  kg,  $P = 0.09$ , figure 5) but not thereafter. Males were heavier than females at birth ( $4.5 \pm 0.11$  and  $4.1 \pm 0.10$ ,  $P = 0.02$ ). No interaction between sex and treatment was observed.

Density index was lower in REST than in CONT kids at birth ( $9.0 \pm 0.19$  kg.m<sup>-1</sup> and  $10.0 \pm 0.18$  kg.m<sup>-1</sup> respectively,  $P < 0.001$ ), higher in males than in females ( $10.0 \pm 0.19$  kg.m<sup>-1</sup> and  $9.0 \pm 0.17$  kg.m<sup>-1</sup> respectively,  $P = 0.006$ ) and tended to be higher in twins than in triplets ( $9.7 \pm 0.17$  kg.m<sup>-1</sup> and  $9.2 \pm 0.20$  kg.m<sup>-1</sup>, respectively,  $P = 0.09$ ). One week later, density index tended to be lower in REST kids than in CONT kids ( $9.4 \pm 0.27$  kg.m<sup>-1</sup> and  $10.0 \pm 0.25$  kg.m<sup>-1</sup> respectively,  $P = 0.09$ ) and tended to be higher in males than in females ( $10.1 \pm 0.25$  kg.m<sup>-1</sup> and  $9.3 \pm 0.24$  kg.m<sup>-1</sup> respectively,  $P = 0.06$ ). Males also tended to have a higher density index than females at 3 wk of age ( $12.2 \pm 0.24$  kg.m<sup>-1</sup> and  $11.4 \pm 0.23$  kg.m<sup>-1</sup> respectively,  $P = 0.08$ ), there was no difference thereafter.

No differences in average daily weight gain or in any morphometric measurements between CONT and REST kids were found at birth or later on. Abdominal girth at birth tended to be higher in twins than in triplets ( $P = 0.09$ ).

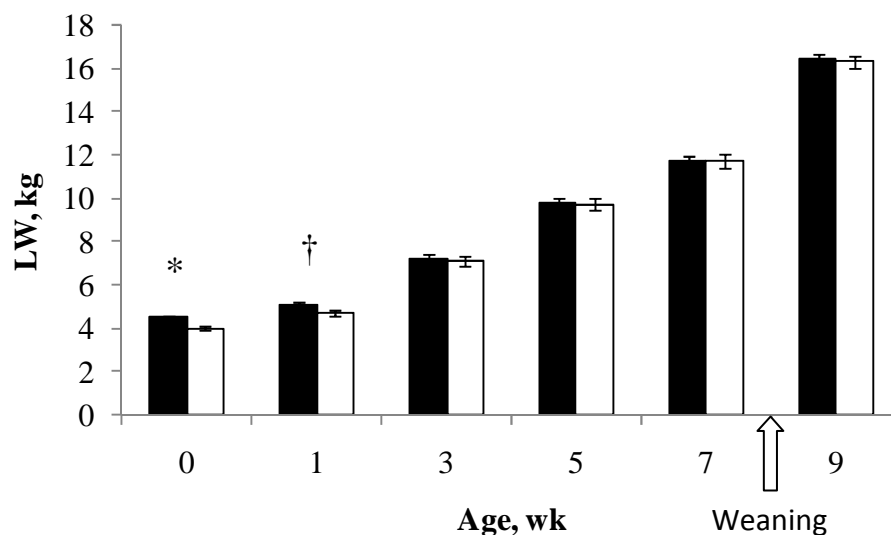


Figure 5: Live weight between birth and 9 wk of age in female and male kids born to control goats (■, n = 25) or feed restricted goats (□, n = 25). The control dams were fed a TMR *ad libitum* between 100 d post-IA and parturition and the feed restricted dams were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the control dams. Differences between treatments are shown, †  $P < 0.10$  and \*  $P < 0.05$ .

**Organ weight and body composition**

Percentage of omental, perirenal, pericardiac adipose tissue, TBF and AF did not differ between CONT and REST male kids (table 3).

Table 3: Adipose tissue/LW ratios for pericardiac, omental, perirenal and total body deposits in 20 male kids slaughtered at 10 wk of age and born to control or late gestation feed restricted dams. The control dams were fed a TMR *ad libitum* between 100 d post-IA and parturition and the feed restricted dams were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the control dams.

adipose tissue weight (% LW)	CONT (n = 10)	REST (n = 10)
Pericardiac	0.11 ± 0.007	0.10 ± 0.007
Omental	0.8 ± 0.09	0.9 ± 0.09
Perirenal	0.7 ± 0.10	0.6 ± 0.09
Abdominal fat	1.5 ± 0.19	1.5 ± 0.18
Total body fat	1.6 ± 0.15	1.7 ± 0.16

Lsmeans ± SE are presented

When body composition was assessed by densitometry, CONT kids tended to have more total and abdominal adipose tissue than REST kids (table 4,  $P = 0.09$  and  $0.08$  respectively). Lean tissue and bone body content did not differ between CONT and REST kids ( $P > 0.10$ ).

Table 4: Tissue weight assessed by dual-energy X-ray absorptiometry on male and female kids born to control or late gestation feed restricted goats. The control dams were fed a TMR *ad libitum* between 100 d post-IA and parturition and the feed restricted dams were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the control dams.

tissue weight (g)	CONT kids (n = 19)	REST kids (n = 17)
thoracic bone	18.39 × 10 <sup>-3</sup> (53) ± 0.728 × 10 <sup>-3</sup>	19.73 × 10 <sup>-3</sup> (50) ± 0.788 × 10 <sup>-3</sup>
thoracic lean tissue	0.379 × 10 <sup>-3</sup> (2638) ± 9.71 × 10 <sup>-6</sup>	0.396 × 10 <sup>-3</sup> (2524) ± 1.0 × 10 <sup>-5</sup>
thoracic adipose tissue	183 ± 17.1	154 ± 18.4
abdominal bone	69 ± 2.3	67 ± 2.5
abdominal lean tissue	8249 ± 223.5	8104 ± 239.8
abdominal adipose tissue	541 ± 33.6 <sup>(a)</sup>	450 ± 36.0 <sup>b</sup>
total bone	427 ± 11	410 ± 11.8
total lean tissue	15315 ± 352.3	15122 ± 377.5
total adipose tissue	1216 ± 68.7 <sup>(a)</sup>	1039 ± 73.7 <sup>b</sup>

<sup>(a), b</sup>: within a line, values with different superscript within brackets <sup>(a)</sup> tend to differ from values with superscript <sup>b</sup> ( $P < 0.10$ )

Lsmeans ± SE are presented except for thoracic lean tissue and bone, 1/(x+1) transformation: lsmeans (back transformed Lsmeans) ± SE are presented



There were good correlations between adipose tissue weight assessed by dissection and by densitometry (table 5) Total body fat assessed by dissection ( $TBF_{dissection}$ ) was highly correlated to total adipose tissue assessed by the densitometer ( $TBF_{densitometry}$ ). Abdominal fat assessed by dissection was highly correlated to abdominal adipose tissue weight assessed by the densitometer and to  $TBF_{densitometry}$ . Pericardiac adipose tissue weight assessed by dissection was correlated to thoracic adipose tissue weight assessed by densitometry. Density index was correlated to  $TBF_{densitometry}$  ( $r^2 = 0.62$ ,  $P = 0.02$ ) and to abdominal adipose tissue weight assessed by densitometry ( $r^2 = 0.66$ ,  $P = 0.01$ ).

$TBF_{dissection} / TBF_{densitometry}$  ratio was of 23 % on average, 54 % for AF and 11% for thoracic fat.

Table 5: Pearson's correlation coefficients between adipose tissue weight assessed by dissection and by with dual-energy X-ray absorptiometry. TBF = total body fat

		Densitometer					
		$TBF_{densitometry}$		$AF_{densitometry}$		Thoracic fat	
		$r^2$	p-value	$r^2$	p-value	$r^2$	p-value
Dissection	$TBF_{dissection}$	<b>0.91</b>	< 0.0001	0.88	< 0.0001	0.83	< 0.0001
	$AF_{dissection}$ (omental+perirenal)	<b>0.92</b>	< 0.0001	<b>0.90</b>	< 0.0001		
	Pericardiac fat	0.80	0.001			<b>0.84</b>	< 0.0001

### *Physiological parameters*

No differences in plasma glucose and NEFA concentrations were found between CONT and REST kids whatever the age (figure 6).

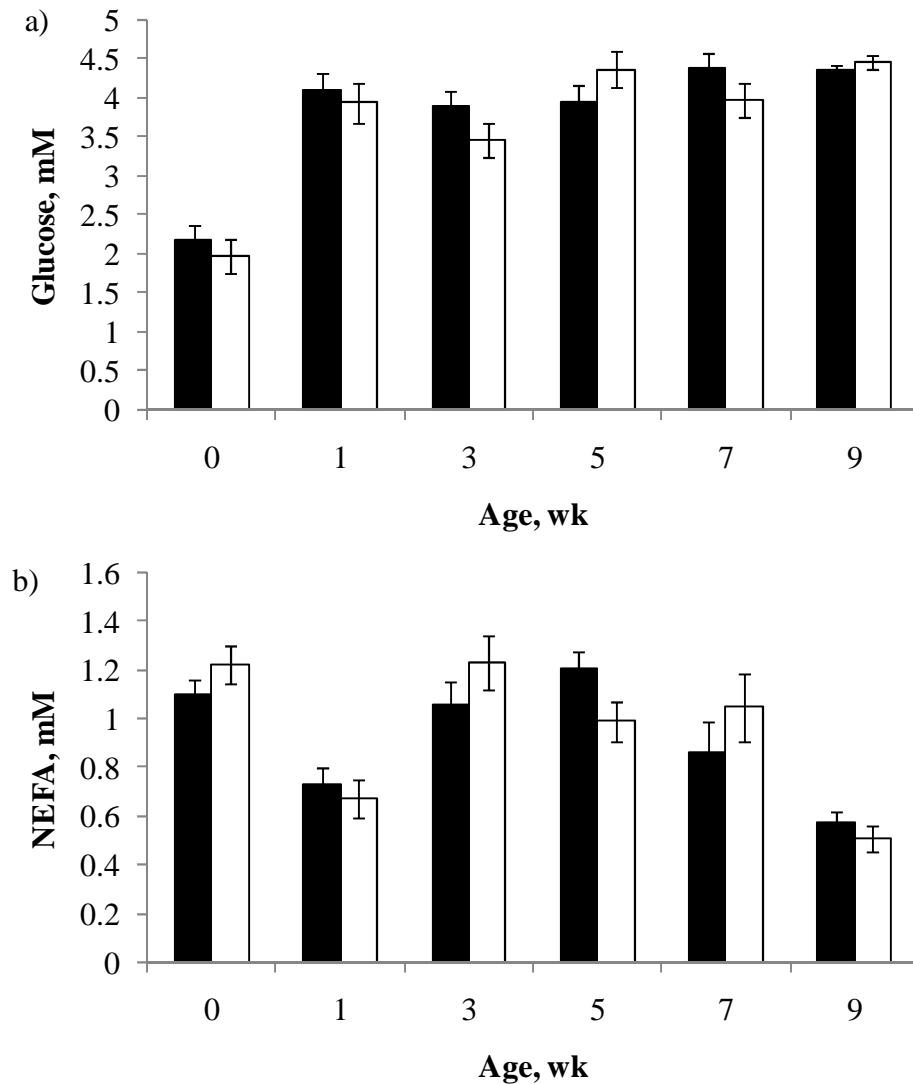


Figure 6: Plasma glucose (a) and NEFA (b) concentration in kids born to feed restricted goats (□, n = 25) or to control dams (■, n = 25) at birth and at 1, 3, 5, 7 and 9 wk of age. Kids were weaned between 7 and 9 wk of age. The control dams were fed a TMR *ad libitum* between 100 d post-IA and parturition and the feed restricted dams were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the control dams.

There were no statistical differences in insulin concentrations at birth between REST and CONT kids ( $P > 0.10$ ). At 9 weeks of age, insulin concentrations tended to be higher in REST kids than in CONT kids ( $0.29 \pm 0.023 \text{ ng.ml}^{-1}$  and  $0.24 \pm 0.019 \text{ ng.ml}^{-1}$  respectively,  $P = 0.09$ ). No differences in plasma leptin concentrations were found between CONT and REST kids at birth and at 9 wk of age ( $P > 0.10$ ).

Rectal temperature was not different between CONT and REST kids except at 9-wk of age. Rectal temperature in 9-wk old kids was higher in REST kids than in CONT kids ( $38.8 \pm 0.07$  °C and  $38.6 \pm 0.06$  °C respectively,  $P = 0.02$ , figure 7).

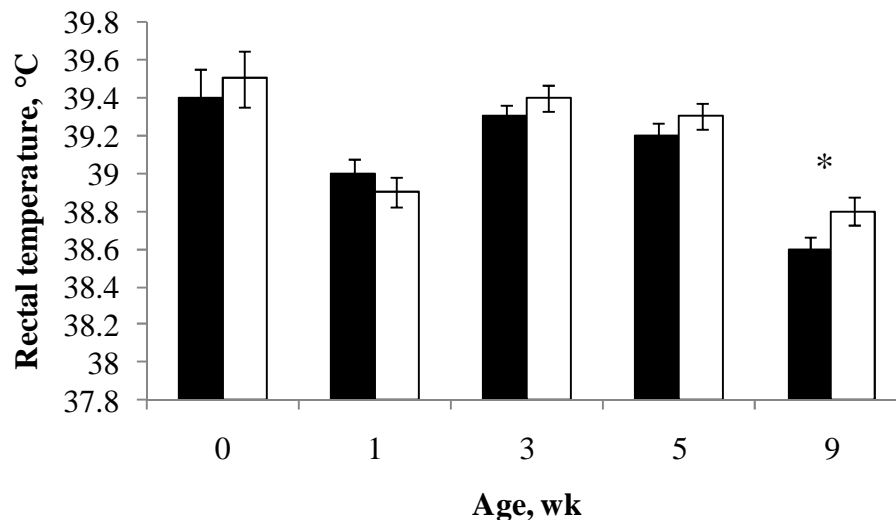


Figure 7: Rectal temperature in kids born to feed restricted goats (□, n = 25) or to control dams (■, n = 25) at birth and at 1, 3, 5 and 9 wk of age. Kids were weaned between 7 and 9 wk of age. The control dams were fed a TMR *ad libitum* between 100 d post-IA and parturition and the feed restricted dams were given the same TMR but the quantity corresponded to 50% of the amount given to the control dams. Differences between treatments are shown, \*  $P < 0.05$

### ***Behavioral parameters***

No differences between CONT and REST kids were found in the total time spent with the teat in the mouth ( $805 \pm 144.8$  s and  $1004 \pm 158.3$  s respectively,  $P > 0.1$ ) or in the mean duration of a suckling bout ( $10 \pm 4.4$  s and  $13 \pm 5.0$  s respectively,  $P > 0.1$ ). No differences between CONT and REST kids were found in the time-budget at 9 wk of age (all  $P > 0.1$ ).

## **DISCUSSION**

In late pregnancy in ruminants, body reserves are mobilized and insulin sensitivity decreases. Feed restriction generally exacerbates these modifications (Bell and Bauman, 1997). In the present experiment, feed restricted dams were fed 50% of the amount of feed given to the control dams between 104 days of pregnancy and parturition plus barley straw *ad libitum*. They ate on average 70% of the energy eaten by control goats. As a consequence, feed restricted goats lost 9.8 % of their live weight and 0.4 point of BCS during the 7 weeks of the experimental period. In addition, they had lower plasma glucose

concentrations and higher NEFA concentrations than control goats. In the present experiment the feed restricted goats' glucose and NEFA concentrations were similar to those found in goats given a diet covering 80% of energy requirements in the last 4 wk of pregnancy (Celi *et al.*, 2008). We can therefore conclude that the goats in our study were energy restricted.

Feed restriction during late-pregnancy reduced weight and density index of the offspring at birth and tended to reduce them one week later but not thereafter. The reduction in birth weight has been observed previously in lambs and kids born to late-pregnancy feed restricted dams (Oliver *et al.*, 2001, Borwick *et al.*, 2003, Husted *et al.*, 2007, Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). No differences in morphometric measurements were found between CONT and REST kids, in contrast to the results of Oliver *et al.* (2001) and our previous results (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). Moreover, the kids caught-up a few days after birth, in contrast to the results reported in lambs born to feed restricted dams which remained lighter than control lambs until 3 months of age (Husted *et al.* (2007). One hypothesis which could explain these discrepancies is the fact that in Husted *et al.*'s study, the lambs remained with their mothers. Feed restriction probably reduced ewe milk production whereas the kids of the present experiment were removed from their dams after birth and fed milk replacer. Indeed, it has been shown that the amount of milk was reduced by feed restriction in goats (Celi *et al.*, 2008, Tygesen *et al.*, 2008).

No effects of late-pregnancy maternal feed restriction were observed on NEFA and glucose concentrations, which is the opposite to the results obtained in 5-wk old kids born to late-pregnancy restricted goats (Celi *et al.*, 2008). Once again, these kids were reared by their mothers so the effects on kid metabolism may have been due to a smaller amount of milk being consumed. A tendency for higher insulin concentrations was observed in 9-wk old kids born to late-pregnancy feed restricted dams compared to control kids. Human studies have shown that maternal feed restriction in late-pregnancy can be associated with impaired insulin sensitivity in adult offspring (Ravelli *et al.*, 1998, Painter *et al.*, 2005). In sheep, one study showed that lambs born to feed restricted dams secreted less insulin in a glucose tolerance test at 19 wk of age but not at 10 wk of age (Husted *et al.*, 2007) whereas Oliver *et al.* (2002) found no effect of maternal feed restriction on lamb glucose tolerance. The lack of difference in the study of Oliver *et al.* (2002) could be due to the short duration of feed restriction (10 or 20 days in mid-pregnancy). Insulin resistance was associated with a decrease in the amount of GLUT 4 in perirenal adipose tissue and to an increase in the

amount of insulin receptors in muscle and perirenal adipose tissue in one year old lambs born to late-pregnancy feed restricted dams (Gardner *et al.*, 2005). The insulin-responsive transporter GLUT 4 is responsible for glucose uptake in adipose tissue and muscle in mammals (Trayhurn *et al.*, 1993). An increase in the number of insulin receptors could promote an increase in adipose deposition despite a lower initial amount of adipose tissue in lambs born to feed restricted dams (Gardner *et al.*, 2005). However, because there was only a trend for a difference in insulin concentrations and it was only observed at 9-wk of age, further studies are needed on insulin secretion and signaling pathway to confirm insulin resistance in our kids.

An increase in rectal temperature was found at 9 wk of age in kids born to feed restricted dams. Heat stress is known to increase rectal temperature (Al-Tamimi, 2007). However, the room temperature was on average 12.8°C so the kids were not heat stressed. More investigation on thermoregulation around weaning and more data after 10 wk of age are needed to conclude.

One hypothesis to explain the difference in abdominal fat mass between kids could have been a different response to weaning. Weaning is known to be very stressful in farm animals especially when it is associated with a separation from the mother (Weary *et al.*, 2008). Despite the fact that nutritional stress was probably reduced by the habituation to solid food on average 17 days before weaning, weaning may lead to weight loss. Experiments in goat kids showed that 14 days after weaning, adipose tissue mass was decreased compared to unweaned kids or compared to adipose tissue mass 56 days after weaning (Bas *et al.*, 1985 and 1986). In our experiment, slaughter occurred on average 12 days after weaning which might have been too soon to counteract fat mobilization due to weaning.

However, control kids and kids born to feed restricted goats could have mobilized similarly body reserves and the differences in abdominal fat mass could have been already present before weaning. Indeed, our previous results showed that this difference in abdominal fat mass was already present at 6 wk of age (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). Moreover, several studies showed that fetuses from late pregnancy feed restricted ewes had less adipose tissue than control fetuses (Alexander, 1978, Symonds *et al.*, 1998).

Behavioral changes after maternal feed restriction have rarely been studied in ruminants. One study reported a decrease in milk intake in lambs born to feed restricted dams during the last third of pregnancy (Geraseev *et al.*, 2006). The authors hypothesized

that lambs born to feed restricted dams ate less due to a reduction in the size of their digestive tract. Contrary to the present results, lambs born to feed restricted dams remained lighter until 8 wk of age. However, in addition to a possible impact of gastro-intestinal tract size, maternal feed restriction was also associated with changes in the expression of neuropeptides regulating food intake in the offspring. In rodents, maternal feed restriction during pregnancy and/or lactation led to an increase in food intake, an increase in the expression of orexigenic hypothalamic neuropeptides (AgRP, NPY) and a decrease in the expression of anorexigenic hypothalamic neuropeptides (POMC) (Coupé *et al.*, 2009, Orozco-Sólis *et al.*, 2009). In sheep, an increase in the expression of NPY was observed near term in the hypothalamus of fetuses collected from dams that were feed restricted during late pregnancy (Warnes *et al.*, 1998). Here, no differences were found in the feeding behavior between control kids and kids born to late-pregnancy feed restricted dams before and after weaning. This result is in agreement with the lack of difference already observed in unweaned kids (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). Indeed, it is probably only in adults or sub-adults that the effects of maternal feed restriction on offspring feeding behavior appear, as shown in rodents (Bellinger *et al.*, 2004, Bellinger *et al.*, 2006, Coupé *et al.*, 2009, Orozco-Sólis *et al.*, 2009) and in goats (Laporte-Broux *et al.*, submitted-a). Interactions between sex hormones and intake behavior have been shown in humans and rodents leading to differences in feeding behavior (Asarian and Geary, 2006). Moreover, reproduction and feed intake are regulated by the same brain structures (Qi *et al.*, 2008).

No interaction between sex and treatment, neither at birth, nor later were observed on any physiological or behavioral results on the contrary to previous experiments. Indeed in a review by Grigore *et al.* (2008) on the programming of cardiovascular diseases in several species, male offspring appeared to be more sensitive to insults during development than females. In sheep, only male lambs born to feed restricted dams had an impaired cognitive flexibility at 18 months of age (Erhard *et al.*, 2004). Hawkins *et al.* (2000) reported greater responses of the HPA axis in females from early restricted ewes at 5.5 and 10 months of age but not at 2 months of age, compared to males. The absence of interaction between the sex of the offspring and the dam dietary regimen during pregnancy in the present study might be due to the fact that sex differences are mainly caused by sex hormones and therefore are more pronounced after puberty.

Good correlations were found between adipose tissue mass assessed by dissection and dual-energy X-ray absorptiometry. Similar correlations have been found recently in

sheep between dual X-ray absorptiometry and chemical body composition (Pearce *et al.*, 2009). Dual-energy X-ray absorptiometry is therefore a good tool to assess body composition especially because it avoids slaughtering. However, considering  $TBF_{\text{dissection}} / TBF_{\text{densitometry}}$  ratio, absolute values given by the machine do not match real adipose tissue mass. It is therefore better to consider relative values until the prediction of adipose tissue mass in goats or sheep with dual-energy X-ray absorptiometry is made possible through modeling.

## CONCLUSION

Maternal feed restriction in late-pregnancy reduced the live weight of the offspring at birth but this effect disappeared a few days after birth. No effect of maternal feed restriction was observed on metabolism, growth or behavior from birth to weaning. After weaning, kids born to feed restricted goats had a higher rectal temperature, a tendency to have higher insulin concentrations and had lower abdominal and total fat mass than control kids. Weaning-induced stress could trigger metabolic differences in kids born to feed restricted dams compared to control kids. However, the hypothesis of a differential effect of feed restriction during pregnancy depending on the sex of the offspring was not confirmed.

## REFERENCES

- Al-Tamimi HJ 2007. Thermoregulatory response of goat kids subjected to heat stress. *Small Ruminant Research* 71, 280-285.
- Alexander G 1978. Quantitative development of adipose tissue in foetal sheep. *Australian Journal of Biological Sciences* 31, 489-503.
- Asarian L and Geary N 2006. Modulation of appetite by gonadal steroid hormones. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361, 1251-1263.
- Ashworth CJ, C.M. D, McEvoy TG, Rooke JA and Robinson JJ 2009. The impact of in utero nutritional programming on small ruminant performances. *Options mditerranennes* 85, 337-349.
- Baldwin RL, McLeod KR, Klotz JL and Heitmann RN 2004. Rumen Development, Intestinal Growth and Hepatic Metabolism In The Pre- and Postweaning Ruminant. *Journal of Dairy Science* 87, E55-E65.
- Bas P, Rouzeau A and Morand-Fehr P 1985. [Weight and metabolism of lipid reserves during the growth of kids]. *Reproduction Nutrition Development* 25, 275-285.
- Bas P, Rouzeau A and Morand-Fehr P 1986. [Lipogenesis in adipose tissues of kids weaned at 4, 6, and 8 weeks]. *Reproduction Nutrition Development* 26, 649-658.

- Bell AW and Bauman DE 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 2, 265-278.
- Bellinger L and Langley-Evans SC 2005. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clinical Science* 109, 413-420.
- Bellinger L, Lilley C and Langley-Evans SC 2004. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British Journal of Nutrition* 92, 513-520.
- Bellinger L, Sculley DV and Langley-Evans SC 2006. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. *International Journal of Obesity* 30, 729-738.
- Bloomfield FH, Oliver MH, Giannoulis CD, Gluckman PD, Harding JE and Challis JRG 2003. Brief undernutrition in late-gestation sheep programs the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in adult offspring. *Endocrinology* 144, 2933-2940.
- Borwick SC, Rae MT, Brooks J, McNeilly AS, Racey PA and Rhind SM 2003. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Animal Reproduction Science* 77, 61-70.
- Celi P, Di Trana A and Claps S 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Ruminant Research* 79, 129-136.
- Chilliard Y, Bocquier F and Doreau M 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 38, 131-152.
- Cleal JK, Poore KR, Boullin JP, Khan O, Chau R, Hambidge O, Torrens C, Newman JP, Poston L, Noakes DE, Hanson MA and Green LR 2007. Mismatched pre- and postnatal nutrition leads to cardiovascular dysfunction and altered renal function in adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104, 9529-9533.
- Conway MLT, Blackshaw JK and Daniel RCW 1996. The effects of agonistic behaviour and nutritional stress on both the success of pregnancy and various plasma constituents in Angora goats. *Applied Animal Behaviour Science* 48, 1-13.
- Coupé B, Grit I, Darmaun D and Parnet P 2009. The timing of "catch-up growth" affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 297, R813-R824.
- Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, Keisler DH, Gertler A and Kann G 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *Journal of Endocrinology* 165, 519-526.
- Erhard HW, Boissy A, Rae MT and Rhind SM 2004. Effects of prenatal undernutrition on emotional reactivity and cognitive flexibility in adult sheep. *Behavioural Brain Research* 151, 25-35.
- Gardner DS, Tingey K, Van Bon BWM, Ozanne SE, Wilson V, Dandrea J, Keisler DH, Stephenson T and Symonds ME 2005. Programming of glucose-insulin metabolism in



- adult sheep after maternal undernutrition. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 289, 947-954.
- Geraseev LC, Perez JRO, Carvalho RP, de Oliveira FA, Quintao FA and Lima AL 2006. Effects of pre and postnatal feed restriction on growth and production of Santa Inês lambs from birth to weaning. *Revista Brásilia de Zootecnia* 35, 245-251.
- Grigore D, Ojeda NB and Alexander BT 2008. Sex differences in the fetal programming of cardiovascular disease. *Gender Medicine* 5 Suppl A, S121-S132.
- Hawkins P, Steyn C, McGarrigle HH, Calder NA, Saito T, Stratford LL, Noakes DE and Hansona MA 2000. Cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reproduction Fertility and Development* 12, 443-456.
- Husted SM, Nielsen MO, Tygesen MP, Kiani A, Blache D and Ingvarsten KL 2007. Programming of intermediate metabolism in young lambs affected by late gestational maternal undernourishment. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 293, E548-E557.
- INRA 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins, INRA.
- Johnson ZB and Nugent RA, III 2003. Heritability of body length and measures of body density and their relationship to backfat thickness and loin muscle area in swine. *Journal of Animal Science* 81, 1943-1949.
- Laporte-Broux B, Roussel S, Ponter AA, Chavatte-Palmer P and Duvaux-Ponter C submitted-a. Long-term consequences of maternal feed restriction during late pregnancy on morphology, physiology and behaviour of goats. *Livestock Science*.
- Laporte-Broux B, Roussel S, Ponter AA, Perault J, Chavatte-Palmer P and Duvaux-Ponter C submitted-b. Short term effects of maternal feed restriction during pregnancy on goat kid morphology, metabolism and behavior. *Journal of Animal Science*.
- Laporte B, Duvaux-Ponter C, Roussel S, Ponter AA and Chavatte-Palmer P submitted. Consequences of feed restriction during pregnancy on offspring development in small ruminants, *Animal*.
- Marai IFM, El-Darawany AA, Fadiel A and Abdel-Hafez MAM 2007. Physiological traits as affected by heat stress in sheep--A review. *Small Ruminant Research* 71, 1-12.
- Mason JW 1971. A re-evaluation of the concept of "non-specificity" in stress theory. *Journal of Psychiatric Research* 8, 323-333.
- Morand Fehr P and Sauvant D 1988. Alimentation des caprins. In *Alimentation des bovins, ovins et caprins* (ed. R Jarrige), pp. 282-304. INRA, Paris, France.
- Oliver MH, Harding JE and Gluckman PD 2001. Duration of maternal undernutrition in late gestation determines the reversibility of intrauterine growth restriction in sheep. *Prenatal and Neonatal Medicine* 6, 271-279.
- Oliver MH, Breier BH, Gluckman PD and Harding JE 2002. Birth weight rather than maternal nutrition influences glucose tolerance, blood pressure, and IGF-I levels in sheep. *Pediatric Research* 52, 516-524.
- Orozco-Sólis R, Lopes de Souza S, Barbosa Matos RJ, Grit I, Le Bloch J, Nguyen P, Manhães de Castro R and Bolaños-Jiménez F 2009. Perinatal undernutrition-induced

- obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiology & Behavior* 96, 481-492.
- Owen D, Andrews MH and Matthews SG 2005. Maternal adversity, glucocorticoids and programming of neuroendocrine function and behaviour. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 29, 209-226.
- Ozaki T, Nishina H, Hanson MA and Poston L 2001. Dietary restriction in pregnant rats causes gender-related hypertension and vascular dysfunction in offspring. *J Physiol* 530, 141-152.
- Painter RC, Roseboom TJ and Bleker OP 2005. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reproductive Toxicology* 20, 345-352.
- Pearce KL, Ferguson M, Gardner G, Smith N, Greef J and Pethick DW 2009. Dual X-ray absorptiometry accurately predicts carcass composition from live sheep and chemical composition of live and dead sheep. *Meat Science* 81, 285-293.
- Qi Y, Iqbal J, Oldfield BJ and Clarke IJ 2008. Neural connectivity in the mediobasal hypothalamus of the sheep brain. *Neuroendocrinology* 87, 91-112.
- Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN and Bleker OP 1998. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351, 173-177.
- Rook JS 2000. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Metabolic Disorders in Ruminants* 16, 293-317.
- Sinclair KD and Singh R 2007. Modelling the developmental origins of health and disease in the early embryo. *Theriogenology* 67, 43-53.
- Symonds ME, Stephenson T, Gardner DS and Budge H 2007. Long-term effects of nutritional programming of the embryo and fetus: mechanisms and critical windows. *Reproduction Fertility and Development* 19, 53-63.
- Symonds ME, Phillips ID, Anthony RV, Owens JA and McMillen IC 1998. Prolactin receptor gene expression and foetal adipose tissue. *Journal of Neuroendocrinology* 10, 885-890.
- Terrazas A, Robledo V, Serafin N, Soto R, Hernandez H and Poindron P 2009. Differential effects of undernutrition during pregnancy on the behaviour of does and their kids at parturition and on the establishment of mutual recognition. *Animal* 3, 294-306.
- Trayhurn P, Thomas ME and Keith JS 1993. Postnatal development of uncoupling protein, uncoupling protein mRNA, and GLUT4 in adipose tissues of goats. *American Journal of Physiology* 265, R676-682.
- Tygesen MP, Harrison AP and Therkildsen M 2007. The effect of maternal nutrient restriction during late gestation on muscle, bone and meat parameters in five month old lambs. *Livestock Science* 110, 230-241.
- Tygesen MP, Nielsen MO, Norgaard P, Ranvig H, Harrison AP and Tauson AH 2008. Late gestational nutrient restriction: effects on ewes' metabolic and homeorhetic adaptation, consequences for lamb birth weight and lactation performance. *Archives of Animal Nutrition* 62, 44-59.

Warnes KE, Morris MJ, Symonds ME, Phillips ID, Clarke IJ, Owens JA and McMillen IC 1998. Effects of increasing gestation, cortisol and maternal undernutrition on hypothalamic neuropeptide Y expression in the sheep fetus. *Journal of Neuroendocrinology* 10, 51-57.

Weary DM, Jasper J and Hötzel MJ 2008. Understanding weaning distress. *Applied Animal Behaviour Science* 110, 24-41.

Woods LL, Ingelfinger JR and Rasch R 2005. Modest maternal protein restriction fails to program adult hypertension in female rats. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 289, R1131-R1136.

## CHAPITRE 5

### **LONG-TERM CONSEQUENCES OF FEED RESTRICTION IN THE GOAT DURING LATE PREGNANCY ON MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND BEHAVIOR OF FEMALE OFFSPRING**

CONSEQUENCES A LONG TERME D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE MATERNELLE EN FIN  
DE GESTATION SUR LA MORPHOLOGIE, LA PHYSIOLOGIE ET LE COMPORTEMENT DES  
CHEVRETTES

En préparation



## CONSEQUENCES A LONG TERME D'UNE RESTRICTION ALIMENTAIRE MATERNELLE EN FIN DE GESTATION SUR LA MORPHOLOGIE, LA PHYSIOLOGIE ET LE COMPORTEMENT DES CHEVRETTES

Les ruminants en fin de gestation peuvent se retrouver en bilan énergétique négatif. Une restriction alimentaire en fin de gestation peut affecter les performances zootechniques mais aussi le métabolisme et la physiologie de la descendance à long terme.

### Objectifs

Etudier les conséquences d'une restriction alimentaire en fin de gestation sur la croissance, le métabolisme énergétique et l'évolution du comportement alimentaire des chevrettes jusqu'à l'âge adulte.

### Matériels et méthodes

Soixante chèvres multipares, de race Saanen et Alpine, ont été réparties en 2 groupes, témoin et restreint en équilibrant la race, le poids vif, l'état corporel et le père des chevreaux. Entre 90 jours de gestation et la mise-bas, les témoins ont été nourries *ad libitum* (5% de refus) avec une ration complète. Les chèvres restreintes ont reçu de 50% à 80% de la quantité distribuée aux chèvres témoins la semaine précédente.

A la naissance, 17 femelles issues de chèvres témoins et 15 femelles issues des chèvres restreintes, de portées doubles et triples, ont été étudiées. Les animaux ont été séparés de leur mère à la naissance et ont été sevrés à 2 mois. A partir de 21 mois, seules 8 chèvres issues des chèvres restreintes et 8 témoins choisies aléatoirement ont été suivies jusqu'à 24 mois.

*Mesures morphométriques et poids.* Les animaux ont été pesés toutes les semaines et l'état corporel a été évalué tous les 15 jours à partir de 6 mois jusqu'à 24 mois. Des mesures morphométriques ont été effectuées à la naissance, à 6 et 12 mois. La densité (poids/longueur vertex-queue) et le GMQ ont été calculés.

*Mesures physiologiques.* Les concentrations en glucose et AGNE ont été dosées sur des prises de sang faites à la naissance et à 6, 12, 21 et 24 mois. La concentration de leptine a été dosée à la naissance et à 6, 12 et 18 mois. Les concentrations basales en cortisol ont été mesurées et un challenge à l'ACTH a été effectué à 14 mois (sur 4 chèvres issues de chèvres restreintes et 4 témoins). Un test de tolérance au glucose a été réalisé à 18 mois.

*Comportement.* Des épreuves de l'environnement nouveau et de l'objet nouveau, et deux épreuves visant à étudier l'interaction entre ingestion et stress ont été effectuées à 12 mois. Au même âge, le budget-temps sur 24h a été évalué. A 12 et 21 mois, le comportement alimentaire a été analysé sur 24h, sur 4 jours consécutifs.

## Résultats

Sur les deux années de mesure, les chèvres issues de chèvres restreintes ont été plus légères et ont eu un état corporel inférieur à celui des chèvres témoins. Aucune différence n'a été observée pour la densité, la croissance et les mesures morphométriques.

A 12 mois, les chèvres issues de chèvres restreintes ont mangé plus vite et des quantités plus importantes que les chèvres témoins. Au même âge, les chèvres issues des chèvres restreintes ont mangé plus longtemps durant les épreuves visant à étudier l'interaction entre l'ingestion et le stress. A 21 mois, les chèvres issues des chèvres restreintes ont mangé également de plus grandes quantités que les témoins. Aucune différence de réactivité émotionnelle n'a été observée entre les 2 groupes de chèvres.

Aucune différence de concentration basale en cortisol n'a été observée mais les chèvres issues des chèvres restreintes ont sécrété plus de cortisol lors du test à l'ACTH. Aucun effet de la restriction maternelle n'a été observé ni pour les paramètres sanguins (glucose, AGNE, leptine et insuline) ni pour les concentrations en glucose et insuline mesurées lors du test de tolérance au glucose.

## Discussion et conclusion

La restriction alimentaire maternelle pendant le dernier tiers de gestation a diminué le poids et l'état corporel de la descendance sur le long terme.

Les chèvres issues de chèvres restreintes ont mangé plus à l'âge adulte que les chèvres témoins. Cette modification ne s'est pas accompagnée de changements du métabolisme alors que des études chez le mouton ont montré une intolérance au glucose chez des animaux issus de mères restreintes en gestation. Cette intolérance au glucose pourrait n'apparaître que lorsque l'alimentation est riche, comme l'a montré une expérience chez le mouton. Comme chez les rongeurs, cette modification du comportement alimentaire pourrait résulter de la modification des neuropeptides régulateurs de la prise alimentaire.

La différence de réponse à l'injection d'ACTH laisse supposer que la physiologie des glandes surrénales pourrait avoir été modifiée chez les chèvres issues des chèvres restreintes mais il faudrait le confirmer avec un plus grand nombre d'animaux.

## Long-term consequences of feed restriction in the goat during late pregnancy on morphology, physiology and behavior of female offspring

B. Laporte-Broux,<sup>\*†‡<sup>1</sup></sup> S. Roussel,<sup>\*†</sup> A.A. Ponter,<sup>‡§</sup>, P. Chavatte-Palmer,<sup>‡</sup> and C. Duvaux-Ponter<sup>\*†</sup>

<sup>\*</sup>INRA, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris, France

<sup>†</sup>AgroParisTech, UMR 791 Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, 16 rue Claude Bernard, F-75005 Paris, France

<sup>‡</sup>INRA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, F-78350 Jouy-en-Josas, France

<sup>§</sup>ENVA, UMR 1198 Biologie du Développement et Reproduction, 7 avenue du Général de Gaulle, F-94700 Maisons-Alfort, France

<sup>1</sup> The authors thank S. Camous, N. Charpentier, M. Dahirel, C. de la Calle, O. Dhumez and C. Ficheux for conducting assays and J. Tessier and his team at the Chèvrerie expérimentale INRA for the care of the animals.

<sup>2</sup> Corresponding author: berengere.laporte@agroparistech.fr

### Abstract

Under-nutrition during pregnancy can have detrimental effects on offspring development both during the juvenile period and during adult life. Long-term effects of maternal feed restriction of the goat during the last third of pregnancy were studied on growth, metabolism and behavior of female kids with a focus on feeding behavior. Female kids born to control (CONT, n = 17) or to feed restricted goats (REST, n = 15) were artificially reared and studied from birth to 24 months of age. Maternal feeding restriction globally reduced live weight ( $P < 0.0001$ ) and the body condition score ( $P = 0.02$ ) of REST goats compared to CONT goats. No differences in plasma concentrations of glucose, NEFA, leptin or insulin were found. No differences were observed in glucose or insulin responses to an intravenous glucose tolerance test. However, the HPA response to an ACTH injection was greater in REST than in CONT goats: higher peak cortisol ( $P = 0.04$ ) and greater area under the curve were found ( $P = 0.009$ ) at 14 months of age. Moreover, at 12 months of age, REST goats had a higher daily feed intake ( $P = 0.05$ ) and ate more rapidly ( $P = 0.02$ ) than CONT goats. At 21 months of age, REST goats still ate more food than CONT goats ( $P = 0.01$ ) but no differences in feeding rate or the duration of eating were found. No differences in time-budget or in emotional reactivity were found at 12 months of age. Maternal feed restriction during late-pregnancy modified both feeding behavior and the stress physiology of female offspring when adult.

**Keywords** emotional reactivity, feeding behavior, fetal programming, goat, maternal feed restriction, metabolism



## INTRODUCTION

Investigating offspring performance after maternal feed restriction is interesting for animal production for two reasons. Firstly, maternal under-nutrition can occur in ruminants, particularly in late-pregnancy and early-lactation in dairy animals. In small ruminants, fetal growth mainly occurs in the last two months of gestation (Conway *et al.*, 1996). Due to the growth of the fetuses, rumen capacity is reduced in late-pregnancy, and gestating dams tend to mobilize their body reserves (Morand Fehr and Sauvant, 1988). Therefore, they can be physiologically underfed and in negative energy balance (Gadoud *et al.*, 1992). Feeding practice can favor this negative energy balance, group-fed animals can be underfed when food supply is given according to the average requirements of the group (Chilliard *et al.*, 1998). Moreover, under-nutrition often occurs because of unfavorable climatic conditions, especially in arid and tropical areas (Chilliard *et al.*, 1998).

Secondly, maternal feed restriction affects offspring performance. Malnutrition in sheep can decrease the amount of colostrum produced (Banchero *et al.*, 2006) and sufficient colostrum in terms of both quantity and quality are essential for offspring survival (Mellor and Stafford, 2004), especially in relation to the passive transfer of immunity. Moreover, maternal feed restriction during late pregnancy can affect other important factors for offspring survival such as vigor (Terrazas *et al.*, 2009) and weight at birth (Koritnik *et al.*, 1981, Bajhau and Kennedy, 1990, Oliver *et al.*, 2001, Borwick *et al.*, 2003, Husted *et al.*, 2007, Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). Growth can also be altered thereafter (Husted *et al.*, 2007, Tygesen *et al.*, 2007). Ashworth *et al.* (Ashworth *et al.*, 2009) recently reviewed the effects of maternal feed restriction during mid-late pregnancy on animal production and reported impaired wool production in sheep born to feed-restricted ewes. Maternal feed restriction during late-pregnancy impaired reproductive rates in adult sheep (Rhind, 2004). Also in sheep, feed restriction during late pregnancy affected the offsprings' cardiovascular system, the HPA axis (Bloomfield *et al.*, 2003), and their metabolism (Celi *et al.*, 2008) particularly glucose metabolism (Gardner *et al.*, 2005, Husted *et al.*, 2007). Consequences of late-gestation maternal restriction on offspring behavior and more specifically on offspring feeding behavior have rarely been studied in ruminants despite the fact that the maturation of the hypothalamus, the main brain structure regulating feed intake, occurs in late-gestation in sheep (Matthews and Challis, 1996).

The first objective of this experiment was to study the consequences of late-gestation feed restriction in goats on feeding behavior, emotional reactivity, stress physiology, metabolism and growth in their female offspring at different physiological stages. The second objective was to try to exacerbate the effects of maternal feed restriction by putting the animals in challenging behavioral or physiological situations.

## MATERIALS AND METHODS

### *Animals and procedures*

**Goats.** The present study was carried out according to French legislation on animal experimentation (code rural: articles R 214-87 to R214-94) in line with the European Convention for the Protection of Vertebrates used for Experimental and other Scientific Purposes (European Directive 86/609). The scientist in charge of the experiments was licensed to perform experiments on animals and the staff who applied the experimental procedures had attended a special course approved by the French Ministry of Agriculture.

Sixty multiparous gestating Saanen and Alpine dairy goats were divided into two groups according to live weight (LW), body condition score (BCS), kid sire and breed. The goats were synchronized prior to mating in order to ensure birth within a period of 10 days. At 90 d of gestation, each group (control, n = 30 and restricted, n = 30) was divided into two subgroups on the basis of live weight (15 heavy goats and 15 light goats). Both control subgroups were fed *ad libitum* twice a day a Total Mixed Ration (TMR) allowing 5% orts. The TMR contained 350 g.kg<sup>-1</sup> beet pulp silage, 250 g.kg<sup>-1</sup> perennial ryegrass hay, 290 g.kg<sup>-1</sup> lucerne hay 100 g.kg<sup>-1</sup> barley and 10 g.kg<sup>-1</sup> of a mineral and vitamin mix, on a dry matter basis (net energy: 5.7 MJ.kg<sup>-1</sup> DM; PDI (true protein digested in the small intestine): 69 g.kg<sup>-1</sup> DM; crude fiber: 292 g.kg<sup>-1</sup> DM; calcium: 9 g.kg<sup>-1</sup> DM; phosphorus: 2 g.kg<sup>-1</sup> DM; and 52.1% DM). Each restricted subgroup was pair-fed with the corresponding control subgroup and received 50% of the amount of feed given to its pair-fed control subgroup for 4 wk, 60% for 1 wk, 70% for 1 wk and 80% during the last 2 wk of pregnancy. The composition of the TMR was modified in the last weeks of gestation to take into account the proportionally faster increase in protein requirements compared to energy. The restricted goats received barley straw (net energy: 3.1 MJ.kg<sup>-1</sup> DM; PDI: 24 g.kg<sup>-1</sup> DM and DM was 880 g.kg<sup>-1</sup>) *ad libitum* after feeding to reduce as much as possible the psychological stress due to feed restriction (Mason, 1971). All groups had free access to water and salt licks. Over the whole experimental period, the restricted goats received 70% of the energy eaten by the control goats. The details concerning goat management and the behavioral and physiological responses of the goats to feed restriction are provided elsewhere (Laporte-Broux *et al.*, submitted-a).

**Kids.** After parturition, only the female kids born to healthy twin and triplet bearing does were kept. From birth to 18 months of age, thirty-two females born to control goats (CONT, n = 17) or to restricted goats (REST, n = 15) were studied and from 18 months to 24 months of age, 16 female kids were randomly chosen (REST, n = 8; CONT, n = 8) (Figure 1). At birth, kids were immediately removed from their dam and ear-tagged. Two meals of good quality pooled colostrum were given *ad libitum* on the first day and a 150 g.kg<sup>-1</sup> fresh weight diluted milk replacer (235 g.kg<sup>-1</sup> protein, 240 g.kg<sup>-1</sup> fat, 70 g.kg<sup>-1</sup> ash, 3 g.kg<sup>-1</sup> cellulose, 50000 IU.kg<sup>-1</sup> vitamin A, 2000 IU.kg<sup>-1</sup> vitamin D<sub>3</sub>, 85 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin E, 10 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin B1, 11.5 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin K3 and 750 mg.kg<sup>-1</sup> vitamin C) the following days until weaning at 2 months of age. After weaning, goats were fed a total mixed ration

(TMR, with dehydrated lucerne, Fluvialac, chopped hay, sugar-beet pulp and barley) which was adjusted to requirements (INRA, 1988). At 12 and 21 months of age, TMR net energies were 5.8 MJ.kg<sup>-1</sup> DM and 6.0 MJ.kg<sup>-1</sup> DM respectively and PDI were 83 g.kg<sup>-1</sup> DM at both ages. Goats had free access to fresh water and salt licks at all times. The female kids were reared together until 24 months of age in straw-bedded pens.

Mating was performed at 8 and 20 months of age. Lactation occurred between 13 and 23 months of age. Growth, behavioral and physiological measurements are described in figure 1.

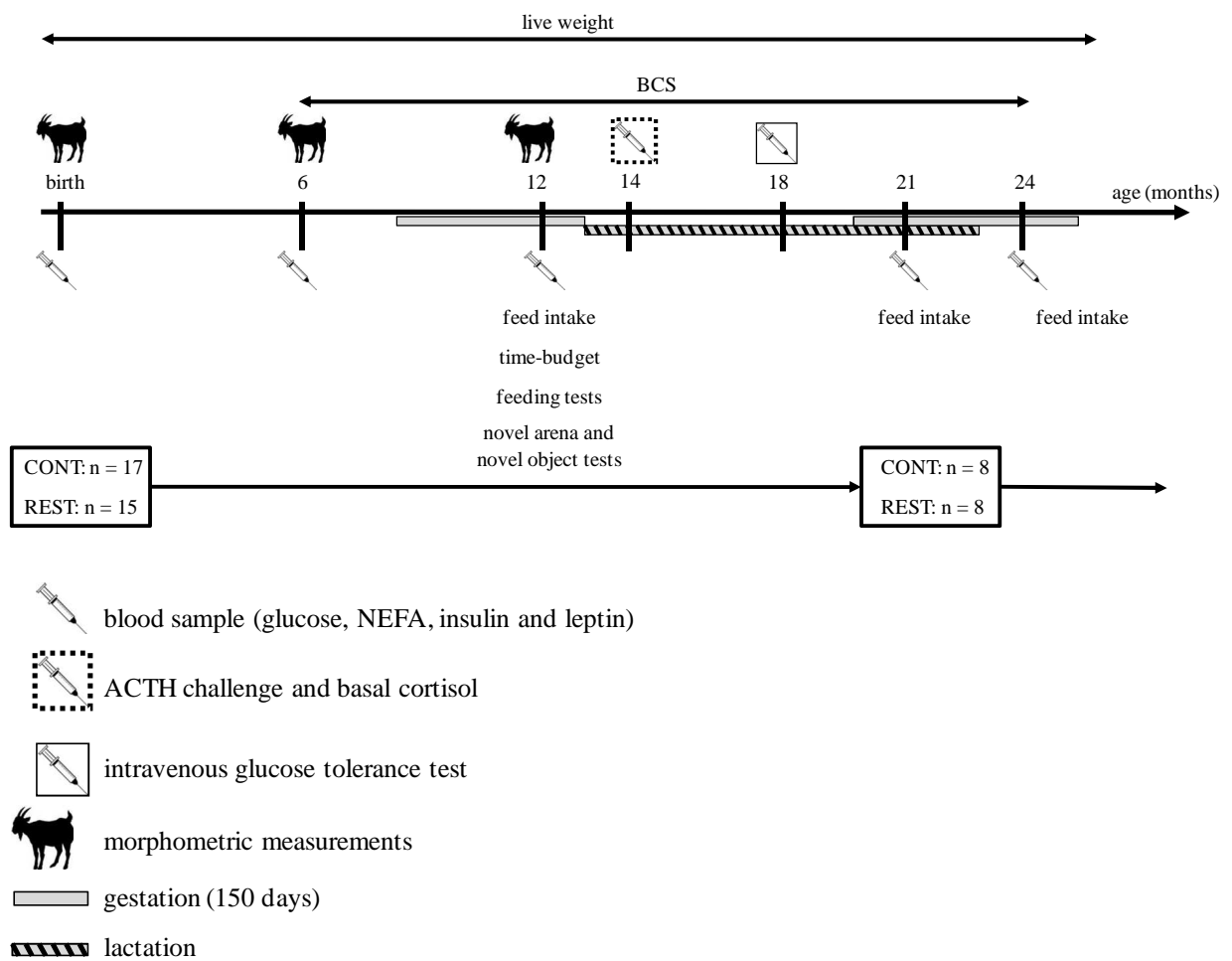


Figure 1: Measurements performed in female kids from birth upto 24 months of age. The female kids either came from does fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation (CONT) or from does given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the CONT group (REST). Live weight was measured weekly and body condition score (BCS) every other week. Feed intake and time-budget was monitored when the goats were in individual pens. Feeding tests with or without stress and novel arena and novel object tests were performed at 12 months of age.

### ***Weight, BCS and morphometric measurements***

Live weight (**LW**) was recorded at birth and weekly until 24 months of age. Body condition score (**BCS**) was evaluated every other week between 6 and 24 months of age. Crown-rump length (distance between crown and sacrococcygeal joint), height at withers, heart girth (taken just behind the forelimbs), abdominal girth (circumference of the abdominal cavity taken just in front of the hind limbs) and femoral length were measured with a flexible tape on standing kids at birth, 6 months and 1 year old. Density index (weight/crown-rump length in g/cm) (Johnson and Nugent, 2003) and average daily weight gain ( $(\text{body weight}_{\text{wk } x+1} - \text{body weight}_{\text{wk } x}) / 7 \text{ days}$ ) were calculated.

### ***Behavioral tests***

Three types of behavioral test were performed. Firstly, feed intake was studied at 12 and 21 months of age. Secondly, the interaction between feed intake and stress, and time budget were studied at 12 months of age. Thirdly, a novel environment and a novel object test were also performed at 12 months of age.

***Feed intake and time budget.*** The same method as described by Desnoyers *et al.* (2009) was used. Feed intake and time budget were measured in individual pens (2 x 1 m) in which each goat could see and touch its neighbors. The goats were placed in the individual pens for at least 48 hours before the beginning of recording to become accustomed to the pen. Feed was offered *ad libitum* individually twice daily (after milking when goats in milk), in the proportion of two thirds at 1500 h and one third at 0800 h. The goats had free access to water (one watering-place per two goats). At 12 months of age, for practical reasons, the goats were divided into 2 subgroups of 16 goats (CONT, n = 8, REST, n = 8) to study their behavior. The behavior of the second subgroup was measured one week after the first subgroup.

Time-budget was analyzed using eight video cameras which recorded two goats at a time. They were fitted to the ceiling above the individual pens and linked to a quad splitter, allowing cyclic sequences to be recorded with a time-lapse video recorder. Eight light bulbs (40 W) were fitted to the ceiling above the individual pens to allow video observations during the night. Nycthemeral activity of the goats was recorded for 24 hours and analyzed by scan sampling for five seconds every four minutes using The Observer<sup>®</sup> software (version 5.0, 2004, Noldus Information Technology, The Netherlands). The behavior observed in each scan sample was considered as having lasted four minutes according to a method proposed by Mitlöhner *et al.* (2001). This method has been validated previously in goats (Desnoyers *et al.*, 2009). The time spent ruminating, eating, immobile and walking were calculated for each goat.

Feed intake was measured with a weighing device placed under each feed trough. The system recorded the weight of the feed contained in the trough every two minutes with a precision of 5 g and allowed simultaneous recording of 16 goats. Cumulated dry matter intake (g DMI) per kilogram of LW was calculated after each feeding, using the live

weight of the previous week and the dry matter percentage of the diet measured weekly (ISO, 1983). Only the data obtained after the afternoon feeding were used (15h of recording). The cumulative quantity of feed eaten by goats is called thereafter a kinetic. At each age tested (12 and 21 months), kinetics of four consecutive days were analyzed, including the day of time-budget measurement. Each kinetic was analyzed with a segmentation/clustering method allowing the extraction of different characteristics (Giger-Reverdin, submitted). For each kinetic, four clusters of segments were built, which represented feeding rate. Cluster 1 represents the lowest feeding rates and cluster 4 the highest feeding rates (table 1). The time spent eating in each cluster and the latency to achieve cluster 1 for the first time after feeding were extracted from each kinetic. This latency meant that the goat either stopped eating or ate only a small amount. The quantity of feed eaten 15h after feeding was calculated and called 15-h feed intake. Daily feed intake and time taken to eat 50% of the amount eaten in 24 h were also calculated.

Table 1: Number of segments (n), minimum, maximum, mean and standard deviation of the slope in each of the 4 clusters of segments obtained from 298 intake kinetics using 32 goats at 12 months of age and 16 goats at 21 months of age, and corresponding intake rate. These parameters were calculated for a "standard" goat weighing 52 kg.

cluster	n	slope (g DMI.LW <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )				intake rate (g DMI.min <sup>-1</sup> )
		minimum	maximum	mean	standard deviation	
1	1623	0.000	0.010	0.002	0.0022	0.101
2	403	0.006	0.078	0.023	0.0167	1.136
3	884	0.025	0.176	0.080	0.0353	4.007
4	569	0.123	0.690	0.255	0.1184	12.747

**Interaction between feed intake and stress.** These tests were adapted from Laporte-Broux *et al.* (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b) They were performed on two consecutive days (day 1: test without stress; day 2: test with stress) in the same individual pens as for the feed intake and time-budget recordings. Goats were fasted overnight. The test without stress began when the feed troughs were placed on the weighing devices at 0800 h. Feeding behavior was video recorded continuously over 1 h, and feed intake was measured with the weighing devices for 4 h. The following parameters were calculated: time spent eating, idling and standing. The latency to the first rumination period was also recorded (it was sometimes necessary to analyze the video for more than one hour for the latter parameter). Feed intake, the time spent eating in each of the four clusters, the latency to achieve cluster 1 for the first time after feeding and the amount of feed eaten 4 hours after feeding (4-h feed intake) were calculated.

The test with stress was performed the following day using the same procedure and measuring the same variables, except that the goats were stressed before feeding. For this purpose, the goats were grouped together in a familiar pen at 0730 h. An unknown shepherd dog walked in front of the pen repeatedly for 1 min, four times over a 20 min

period in order to stress the goats (Terlouw *et al.*, 2008). A blood sample was taken by venipuncture before and just after stress to check its effectiveness.

**Novel arena and novel object tests** (Forkman *et al.*, 2007). The novel arena and novel object tests were performed in a 3.3 x 3.2 x 1.5 m arena (w x l x h) in a separate building. Each goat was gently pushed by an experimenter from the corridor next to the testing pen into the testing pen. The procedure was designed to ensure that handling was standardized. The novel arena test lasted 3 min once the goat entered the arena. Time spent standing immobile (goat with four legs immobile), time spent sniffing (nose less than 5 cm from the floor or walls), time spent walking and number of jumps and bleats were measured. Immediately after the novel arena test, the goat was placed for a second test of 3 min in the same arena which contained a red polypropylene road hazard cone (0.4 x 0.7 m, w x h) placed on the floor against the wall opposite to the entrance. The same behavioral measurements as those in the novel arena test were conducted. Time spent sniffing the cone (nose less than 5 cm from the cone) was also recorded. At the end of the second test, the goat was taken back to its pen. These tests were performed alternatively on one goat from each treatment between 0800 and 1200 h.

### **Physiological measurements**

#### Metabolism

Blood samples (10 ml) were collected into heparinized tubes by jugular venipuncture and were immediately centrifuged at 3000 g for 10 min at 4°C to harvest plasma. Blood samples were taken within an hour of birth (before colostrum feeding) and at 6, 12, 21 and 24 months of age, before feeding. Plasma was stored at -20°C until analysis. Insulin, glucose and non esterified fatty acid (NEFA) concentrations were measured at birth, 6, 12, 21 and 24 months of age. Leptin concentrations were assessed at birth, 6, 12 and 18 months of age.

An intravenous glucose tolerance test (**IVGTT**) was performed at 18 months of age. The goats were divided into two groups for practical reasons. One group was tested on one morning and the other the following morning. The goats were fasted overnight and did not have access to feed until the end of the test. The goats were blocked at the trough and were injected with 0.25 g.kg<sup>-1</sup> LW of a 50% glucose solution. Blood samples were taken from the jugular vein 5 min before (t-5) and 2, 10, 20, 30, 60 and 120 min after the injection. The goats were released from the neck-lock between the t60 and t120 samples. Glucose and insulin concentrations were measured and the area under the curve (**AUC**) was calculated using the following formula:  $AUC = \sum (C_t + C_{t+1})/2 \times dt$ , where  $C_t$  is the concentration at time t,  $C_{t+1}$  the concentration at time t + 1 and dt is the time (min) between samples taken at t and t + 1.

#### Stress physiology

At 14 months of age, basal cortisol concentrations were measured by taking two blood samples at 0900h and 1000h. Sixteen randomly chosen goats (CONT, n = 8 and REST,

n = 8) were blocked at the trough and sampled at the same time. The basal cortisol concentrations corresponded to the average of the two measurements. An ACTH challenge was performed on the same day to assess the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Four CONT and four REST goats were injected ACTH (Synacthene, Novartis-Pharma, Rueil-Malmaison, France) at a dose of 0.5 IU.kg<sup>-1</sup> of LW in the jugular vein. Blood samples were collected 30, 60, 120, and 240 min after the injection. The goats were released from the neck-lock after the 60 min sample. In addition to the peak plasma cortisol concentration, the integrated response to exogenous ACTH was determined by calculating the AUC (as described above).

### **Biological assays**

Plasma concentrations of leptin were quantified using double-antibody leptin radioimmunoassay procedures adapted from Delavaud *et al.* (2000). Leptin antiserum (Ab 7137, 50 µl) was diluted 1:2200 in a 0.01 M phosphate buffer, 0.15 M NaCl, pH 7.1 containing 0.01 M EDTA, 0.1% gelatine, 0.01% sodium azide, 0.025% Tween 20 and 1% normal rabbit serum. Both standard and sample tubes were incubated with antiserum (final dilution: 1:17600) for 24 h at room temperature (**RT**). After an initial incubation in 300 µl, 100 µl of <sup>125</sup>I-ovine leptin (diluted in the same buffer without EDTA) were added and the incubation continued for an additional 24 hours at RT. Assay sensitivity was 1 ng/mL and the intra-assay coefficient was 4%.

Insulin concentrations were determined using a RIA rat insulin kit (Millipore, Molsheim, France; 100% of specificity for sheep insulin). Assay sensitivity was 0.1 ng/mL and the intra-assay coefficient was 9.7%.

Cortisol Analysis. Cortisol was measured by ECLIA using an automated method (Elecsys, Roche Diagnostics, Meylan, France). The sensitivity of the cortisol assay was 0.36 ng.mL<sup>-1</sup>. The inter-assay coefficient of variation was 4.5%.

Glucose and NEFA were analyzed by photometric methods (Glucose-RTU, BioMérieux, Lyon, France and NEFA C, Wako Chemicals, Neuss, Germany, respectively)

### **Statistical analysis**

All data were analyzed using the MIXED model procedure of Statistical Analysis Systems Institute (SAS<sup>®</sup>). The following models were used:

$$(1) Y_{ijkl} = \mu + T_i + B_j + A_k + TA_{ik} + \varepsilon_{ijkl}$$

$$(2) Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \varepsilon_{ij}$$

$$(3) Y_{ijlm} = \mu + T_i + B_j + G_m + \varepsilon_{ijlm}$$

In these models,  $\mu$  represents the overall mean,  $T_i$  the fixed effect of the treatment  $i$  (CONT and REST),  $B_j$  the fixed effect of the breed  $j$  (Alpine or Saanen),  $A_k$  the age as a repeated factor  $k$  (from birth to 24 months of age),  $G_m$  the fixed effect of the subgroup  $m$  at 12

months of age (1 or 2) and  $TA_{jk}$  represents the interactions between treatment and age.  $\varepsilon_{ijkl}$  and  $\varepsilon_{ijlm}$  are the residual errors.

**Weight, morphometric and physiological measurements.** Live weight, average daily weight gain, BCS, body measurements, density index and plasma measurements except for the IVGTT and ACTH challenge were analyzed using the model (1). For the IVGTT and ACTH challenge parameters, the model (2) was used.

**Behavioral tests and measurements.** Model (2) was also used for behavioral parameters in the novel arena and object tests. Model (3) was used to test all behavioral and intake parameters in interaction between feeding and stress tests, time-budget and intake behavior at 12 months old. The repeated effect of time was added in the model for intake behavior parameters as it was measured on 4 consecutive days per goat.

Log, square root and inverse transformations were used when the assumptions of homogeneity of variance and normal distribution of the residuals were not verified. All data are presented as least square means (lsmeans)  $\pm$  standard errors (SE) except when otherwise stated.

## RESULTS

### *Weight, BCS and morphometric measurements*

Live weight and BCS were lower in REST goats compared to CONT goats (figure 2,  $P < 0.001$  and figure 3,  $P = 0.02$  respectively). Average daily weight gain was not affected. Density index, crown-rump length, height at withers, heart girth, abdominal girth and femoral length did not differ between CONT and REST goats at any age.

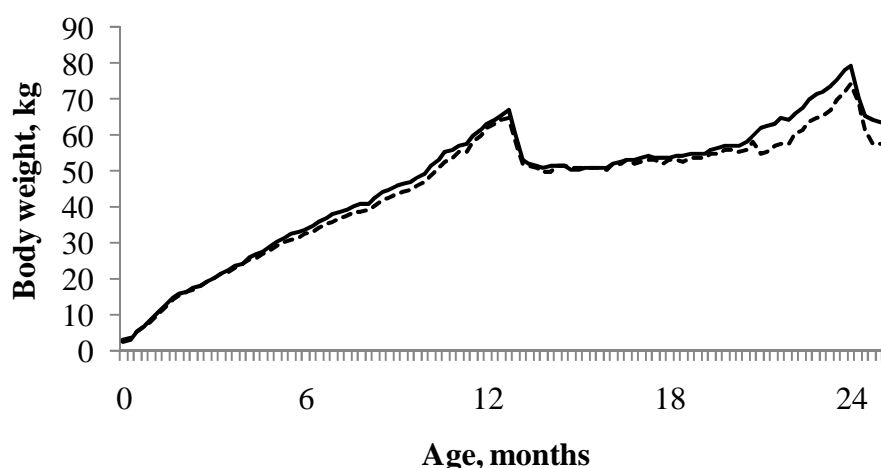


Figure 2: Live weight of female goats measured weekly between birth and 24 months of age. The female goats either came from does fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation (CONT, full line) or from does given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the control group (REST, dotted line). SE varied between 1.6 and 2.3.



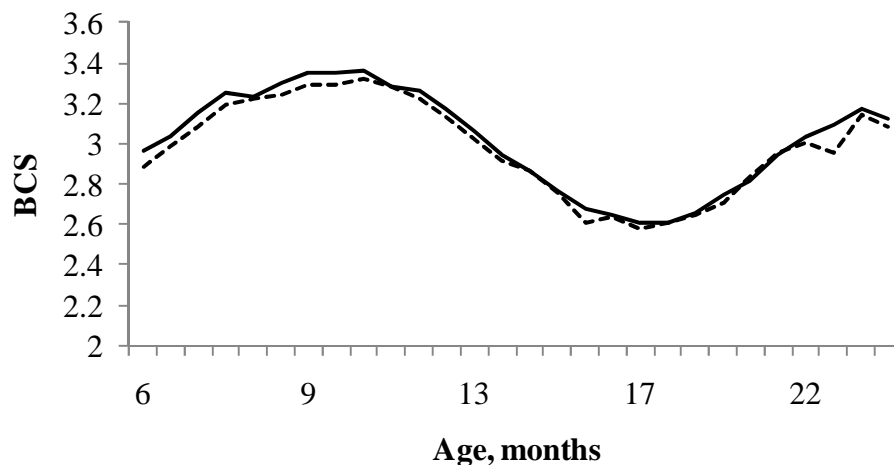


Figure 3: BCS of female goats measured every other week between birth and 24 months of age. The female goats either came from does fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation (CONT, full line) or from does given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the control group (REST, dotted line). SE varied between 0.05 and 0.07.

### ***Behavioral parameters***

***Feed intake and time-budget.*** At 12 months of age, no difference in time-budget was observed between REST and CONT goats (data not shown).

At 12 months of age, the time spent eating at the highest feeding rate (cluster 4) was greater in REST goats than in CONT goats (table 2,  $P = 0.02$ ). No difference was observed at the lowest feeding rates (clusters 1, 2 and 3). The latency to achieve cluster 1 for the first time after feeding tended to be longer in REST than in CONT goats ( $P = 0.08$ ). In REST goats, 15-h feed intake tended to be higher than in CONT goats ( $P = 0.08$ ) and daily feed intake ( $P = 0.05$ ) was higher than in CONT goats. There was no difference in the time taken to eat 50% of the total amount of feed eaten in 24 h between REST and CONT goats.

At 21 months of age, CONT goats tended to spend more time eating at a low feeding rate (cluster 1) than REST goats ( $P = 0.08$ ) whereas REST goats tended to spend more time eating in cluster 2 than CONT goats ( $P = 0.07$ ). No differences were found for higher feeding rates (clusters 3 and 4) or for the latency to achieve cluster 1 for the first time after feeding. Both 15-h feed intake ( $P = 0.05$ ) and daily feed intake ( $P = 0.01$ ) were higher in REST goats than in CONT goats. Goats from the REST group took more time to eat 50% of the amount eaten in 24 h than CONT goats ( $P = 0.002$ ).

Table 2: Feed intake in female goats housed in individual pens measured at 12 and 21 months of age. The female goats were either born to does fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation (CONT) or to does given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the control group (REST). Statistical analysis was performed on 4 consecutive days for each goat, lsmeans ± SE are presented.

	12 months		21 months	
	CONT (n = 17)	REST (n = 15)	CONT (n = 8)	REST (n = 8)
15-h feed intake (g DM.kg LW <sup>-1</sup> )	16.8 ± 0.30 <sup>a</sup>	17.5 ± 0.31 <sup>(b)</sup>	28.0±0.71 <sup>a</sup>	30.0± 0.71 <sup>b</sup>
Daily feed intake (g DM.kg LW <sup>-1</sup> )	26.7 ± 0.39 <sup>a</sup>	27.8 ± 0.40 <sup>b</sup>	41.6±1.03 <sup>a</sup>	45.6± 1.03 <sup>b</sup>
Time to eat 50% of the amount eaten in 24h (min)*	529 ± 31.6	518 ± 32.4	6.5 x 10 <sup>-3</sup> (153)±0.53 x 10 <sup>-3</sup> <sup>a</sup>	3.9 x 10 <sup>-3</sup> (255)± 0.53 x 10 <sup>-3</sup> <sup>b</sup>
latency to achieve cluster 1 for the first time after feeding (min)	140 ± 19.1 <sup>a</sup>	188 ± 19.5 <sup>(b)</sup>	159±36.6	185± 36.6
Time spent eating in cluster 1 (min)	735 ± 8.5	733 ± 8.7	684±31.6 <sup>a</sup>	606± 31.6 <sup>(b)</sup>
Time spent eating in cluster 2 (min)**	49 ± 6.5	42 ± 6.7	8 (64)±32.6 <sup>a</sup>	11 (121)± 32.6 <sup>(b)</sup>
Time spent eating in cluster 3 (min)	97 ± 7.0	97 ± 7.2	85±8.2	82± 8.2
Time spent eating in cluster 4 (min)**	4 (16) ± 0.2 <sup>a</sup>	5 (25) ± 0.2 <sup>b</sup>	5 (25)±0.4	5 (25)± 0.4

<sup>a, b</sup>: within an age, values with different superscripts differ ( $P < 0.05$ ); <sup>(a), (b)</sup>: within an age, values with different superscript within brackets (a) tend to differ from values with superscript b ( $P < 0.10$ ).

\* 1/(x + 1) transformation; \*\* square root transformation. lsmeans (lsmeans back transformed) ± SE are presented

**Interaction between feeding and stress tests.** In the test without stress, REST goats tended to spend more time eating than CONT goats ( $46 \pm 2.1$  min and  $41 \pm 2.0$  min respectively,  $P = 0.08$ ) during the first hour after feeding whereas the time spent idling was longer in CONT than REST goats ( $11 \pm 1.3$  min and  $6 \pm 1.3$  min respectively,  $P = 0.02$ ). No difference was found on the latency to ruminate. The time spent standing was longer in REST goats than in CONT goats ( $55 \pm 1.6$  min and  $50 \pm 1.5$  min respectively,  $P = 0.02$ ). The 4-h feed intake tended to be higher in REST goats than in CONT goats ( $14.1 \pm 0.52$  g DM.kg LW<sup>-1</sup> and  $12.8 \pm 0.49$  DM.kg LW<sup>-1</sup> respectively,  $P = 0.07$ ). No differences were found for the other variables.

Mean cortisol concentrations were  $29 \pm 5.2$  nM before stress and  $55 \pm 5.2$  nM after stress ( $P = 0.001$ ). In the test after acute stress, REST goats spent more time eating than CONT goats ( $35 \pm 1.8$  min and  $30 \pm 1.7$  min respectively,  $P = 0.05$ ) during the first hour. The latency to ruminate was longer in CONT goats than in REST goats ( $97 \pm 4.7$  min and  $83 \pm 4.4$  min respectively,  $P = 0.04$ ). No differences between CONT and REST goats were found for the other types of behavior, or for 4-h feed intake, time spent eating in each of the four clusters or latency to achieve cluster 1 for the first time after feeding.

**Novel arena and novel object tests.** No differences between CONT and REST goats were found for activities or positions in the novel arena and novel object tests.

#### ***Physiological parameters***

No differences between CONT and REST goats were found for glucose, NEFA, insulin or leptin concentrations at any of the ages studied. Responses to glucose injection did not differ between CONT and REST goats: AUC for circulating glucose was  $595 \pm 25.7$  mM.min.L<sup>-1</sup> and  $612 \pm 28.3$  mM.min.L<sup>-1</sup> respectively,  $P > 0.10$  and AUC for circulating insulin:  $84 \pm 8.1$  mM.min.L<sup>-1</sup> and  $90 \pm 9.0$  mM.min.L<sup>-1</sup>,  $P > 0.10$ ). However, after an ACTH injection, REST goats had higher peak cortisol concentrations than CONT goats ( $105 \pm 6.9$  nM and  $82 \pm 8.1$  nM for REST and CONT goats respectively,  $P = 0.04$ ), and a greater integrated cortisol response (figure 4,  $P = 0.009$ ).

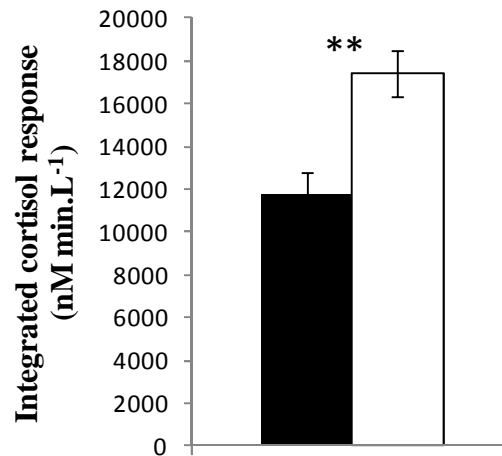


Figure 4: Integrated cortisol response to exogenously injected ACTH. The female goats either came from does born to control goats fed a TMR *ad libitum* for the last third of gestation (CONT, n = 4, black bar) or from does given the same TMR but the quantity corresponded to 50% (for 4wk), 60% (for 1wk), 70% (for 1wk) and 80% (for 2wk) of the amount given to the control group (REST, n = 4, white bar). Blood samples were taken 30, 60, 120 and 240 min after the injection. Ismeans  $\pm$  SE are presented. \*\*  $P < 0.01$

## DISCUSSION

Growth, metabolic and behavioral parameters were measured until 24 months of age in goats born to feed restricted does during late-pregnancy or born to control does. Over the 2 years, female goats born to feed restricted dams were lighter and their BCS was lower than goats born to control dams but no differences in morphometric or growth measurements were found. Other experiments found reduced birth weight (Bajhau and Kennedy, 1990, Borwick *et al.*, 2003, Husted *et al.*, 2007) and reduced live weight in 10 and 19 month old lambs (Husted *et al.*, 2007) after maternal feed restriction in late-pregnancy. This modification in live weight was also reported in another paper from the same experiment but focused on the short-term effects of maternal feed restriction on male kids: birth weight was lower in male kids born to feed-restricted dams during late-pregnancy (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). No difference was found thereafter (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b). This modification in live weight is sometimes accompanied by lower growth rate as observed in the first 10 months of life in lambs born to feed restricted ewes (Husted *et al.*, 2007), but not always (Oliver *et al.*, 2001) depending on the duration and intensity of feed restriction.

In this experiment, maternal feed restriction in late-pregnancy seemed to have no effects on energy metabolism. No differences between female goats born to control or feed-restricted dams were found for the concentrations of hormones involved in energy homeostasis (insulin and leptin) or for metabolites (NEFA and glucose). No differences in glucose or insulin concentrations resulting from a glucose injection were found between female goats born to control or feed-restricted dams at 18 months of age although feed restriction in late-pregnancy is known to affect glucose homeostasis. Indeed, human studies reported

decreased glucose tolerance in adults born to mothers exposed to the Dutch famine in late-pregnancy (Ravelli *et al.*, 1998, Painter *et al.*, 2005). Similar results have been found in sheep: IVGTT revealed glucose intolerance in one-year old sheep born to late-gestation feed restricted dams (Gardner *et al.*, 2005). However, in another experiment lambs born to late-gestation feed-restricted dams secreted less insulin than control lambs during an IVGTT at 19 weeks of age (Husted *et al.*, 2007).

Differences in intake behavior during basal conditions were found. When intake behavior was assessed for the first time during 24 h at 12 months of age, goats born to feed-restricted dams ate larger amounts of food, spent more time eating and at higher rates than control goats. Almost one year later, at 21 months of age, goats born to feed-restricted dams still ate larger amounts of food than control goats. These results on intake behavior observed in goats are in accordance with those recently found in rodents. Studies performed in rats showed hyperphagia in adult offspring born to restricted dams during whole gestation and (or) lactation (Bellinger *et al.*, 2004, Coupé *et al.*, 2009, Orozco-Sólis *et al.*, 2009). In our experiment, the difference in daily feed intake between goats born to control and feed restricted dams (REST > CONT) increased between 12 months of age (1 g DM.kg LW<sup>-1</sup>) and 21 months of age (4 g DM.kg LW<sup>-1</sup>). The daily feed intake of goats born to feed-restricted dams were in the normal range of intake for Saanen and Alpine goats reared under similar conditions (INRA, 2007).

The consequences of maternal feed restriction in late-gestation on offspring feed intake also depends on postnatal environmental conditions, including diet. Postnatal diet can modify the effects of maternal feed restriction during pregnancy. For example, in rats, feed restriction during pregnancy led to hyperphagia, which was exacerbated when rats were given high fat diets (Vickers *et al.*, 2000). In one study, although there was no difference in intake behavior between adult sheep born to feed restricted dams and control sheep, glucose tolerance was impaired in the former group but only when sheep were reared in an “obesogenic” environment (diet with a high metabolizable energy content given at 150% of requirements and with limited physical activity) (Rhodes *et al.*, 2009). Sébert *et al.* (2009) used the same method to induce obesity (increased stocking rate: 17 animals per 50 m<sup>2</sup> and concentrate pellets and hay given *ad libitum*) and found a decrease in daily feed intake and an increase in basal insulin concentrations in the obese sheep born to feed restricted dams compared to obese control sheep and to lean control sheep. Other studies in ruminants are necessary to find out if different types of diets could have differential effects on the feed intake of animals born to feed restricted dams during pregnancy compared to control animals.

The change in intake behavior observed in our study was not accompanied by a modification in the time-budget at 12 months of age. The nycthemeral activity of animals has never been studied in offspring born to feed-restricted dams even though it is an interesting way to bring to light modifications in behavior due to feed restriction. This method has however been used to highlight behavioral changes according to diet composition (Desnoyers *et al.*, 2008). It has also been used as an indicator for studying the

effect of chronic stress (Veissier *et al.*, 2001, Rigalma *et al.*, 2010). However, feed restriction during pregnancy did not seem to modify the nycthemeral activity of the offspring.

After 12 h fasting, goats born to feed-restricted dams ate larger amounts of food and spent more time eating during the feeding tests than control goats although no differences in feeding rates were found. This result observed in a non-stressful situation - apart from fasting -, partially confirms the higher intake behavior observed during a basal situation. As expected and as already shown in other experiments (Terlouw *et al.*, 2008), the dog presence was stressful for all the goats. However, acute stress before feeding did not modify the results: goats born to feed-restricted dams still spent more time eating than control goats. The hypothesis that there was an interaction between feeding behavior and stress was not confirmed in this experiment. This result is however consistent with the absence of modification of emotional reactivity in goats born to feed-restricted goats compared to control goats at 12 months of age. In the literature, the effects of feed restriction on offspring emotional reactivity are contradictory: some authors showed an increase in emotional reactivity in 18-month old lambs born to feed-restricted ewes during the beginning of pregnancy (Erhard *et al.*, 2004) whereas others found no effect of maternal restriction during early- or mid-pregnancy on 2- and 5-month old lambs (Simitzis *et al.*, 2009).

However, even if no modification was observed on emotional reactivity, the HPA axis was more reactive in goats born to feed-restricted dams than in control goats after an ACTH injection, with a higher peak cortisol concentrations and a higher AUC. Although these results have to be considered carefully because there were only 4 goats per group, they are in accordance with the literature. Indeed, Bloomfield *et al.* (2003) found that the HPA axis was more responsive in ewes born to 10-day restricted dams in late-pregnancy than in control ewes or in ewes born to 20-day restricted dams in late-pregnancy, with greater ACTH concentrations and a larger AUC in response to a CRH+AVP challenge. Hawkins *et al.* (2000) also found increased ACTH and cortisol concentrations after a CRH+AVP challenge in 80-day old lambs born to early to mid-gestation feed-restricted dams compared to control lambs. Hawkins *et al.* (2000) explained this difference by the presence of larger adrenals in lambs born to feed-restricted dams and Bloomfield *et al.* (2003) suggested altered sensitivity at the adrenal level. In another paper which focused on the short-term effects of maternal feed restriction in late-pregnancy on male kids, an increase in the adrenal weight was also reported in 6-wk old male kids born to feed-restricted dams (Laporte-Broux *et al.*, submitted-b).

Different hypotheses could explain the increase in feed intake in goats born to feed-restricted dams. An increase in basal cortisol concentrations could have increased feed intake since cortisol injection increases feed intake in sheep (Baile and Della-Fera, 1981, Henry *et al.*, 2010). However, no differences in basal cortisol concentrations were observed at 14 months of age although it cannot be excluded that differences could appear at a later date. Another explanation for the increase in intake could be a modification in the

expression of neuropeptides regulating food intake. In obese sheep born to feed-restricted dams, no change in the expression of orexigenic (AgRP, NPY, Ob-R, NPY1R) and some anorexigenic (POMC and MC3R) peptides and their receptors was found. However, the expression of one anorexigenic factor, melanocortin receptor types 4 (MC4R), was decreased compared to lean control sheep (Sébert *et al.*, 2009). In hyperphagic rodents born to dams restricted during gestation, the expression of the anorexigenic peptides, CART and POMC, was reduced whereas the expression of the orexigenic peptides AgRP and NPY was increased (Coupé *et al.*, 2009, Orozco-Sólis *et al.*, 2009).

Maternal feed restriction during pregnancy and its consequences on growth, metabolism and behavior in the offspring have rarely been investigated in ruminants. Our results showed that goat feed restriction during late-pregnancy durably increased feed intake and increased HPA axis reactivity in adult female offspring. The increase in feed intake was however not accompanied by metabolic changes. Further investigations on HPA axis reactivity and on the adrenals are needed to confirm these results.

## REFERENCES

- Ashworth CJ, C.M. D, McEvoy TG, Rooke JA and Robinson JJ 2009. The impact of in utero nutritional programming on small ruminant performances. *Options méditerranéennes* 85, 337-349.
- Baile CA and Della-Fera MA 1981. Nature of Hunger and Satiety Control Systems in Ruminants. *Journal of Dairy Science* 64, 1140-1152.
- Bajhau HS and Kennedy JP 1990. Influence of pre- and postpartum nutrition on growth of goat kids. *Small Ruminant Research* 3, 227-236.
- Banchero GE, Perez Clariget R, Bencini R, Lindsay DR, Milton JT and Martin GB 2006. Endocrine and metabolic factors involved in the effect of nutrition on the production of colostrum in female sheep. *Reproduction Nutrition Development* 46, 447-460.
- Bellinger L, Lilley C and Langley-Evans SC 2004. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British Journal of Nutrition* 92, 513-520.
- Bloomfield FH, Oliver MH, Giannoulis CD, Gluckman PD, Harding JE and Challis JRG 2003. Brief undernutrition in late-gestation sheep programs the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in adult offspring. *Endocrinology* 144, 2933-2940.
- Borwick SC, Rae MT, Brooks J, McNeilly AS, Racey PA and Rhind SM 2003. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Animal Reproduction Science* 77, 61-70.
- Celi P, Di Trana A and Claps S 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Ruminant Research* 79, 129-136.

Chilliard Y, Bocquier F and Doreau M 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 38, 131-152.

Conway MLT, Blackshaw JK and Daniel RCW 1996. The effects of agonistic behaviour and nutritional stress on both the success of pregnancy and various plasma constituents in Angora goats. *Applied Animal Behaviour Science* 48, 1-13.

Coupé B, Grit I, Darmaun D and Parnet P 2009. The timing of "catch-up growth" affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 297, R813-R824.

Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, Keisler DH, Gertler A and Kann G 2000. Plasma leptin determination in ruminants: effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep. *Journal of Endocrinology* 165, 519-526.

Desnoyers M, Béchet G, Duvaux-Ponter C, Morand-Fehr P and Giger-Reverdin S 2009. Comparison of video recording and a portable electronic device for measuring the feeding behaviour of individually housed dairy goats. *Small Ruminant Research* 83, 58-63.

Desnoyers M, Duvaux-Ponter C, Rigalma K, Roussel S, Martin O and Giger-Reverdin S 2008. Effect of concentrate percentage on ruminal pH and time-budget in dairy goats. *Animal* 2, 1802-1808.

Erhard HW, Boissy A, Rae MT and Rhind SM 2004. Effects of prenatal undernutrition on emotional reactivity and cognitive flexibility in adult sheep. *Behavioural Brain Research* 151, 25-35.

Forkman B, Boissy A, Meunier-Salaün MC, Canali E and Jones RB 2007. A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92, 340-374.

Gadoud R, Joseph MM, Jussiau R, Lisberney MJ, Mangeol B, Montmeas L and Tarrit A 1992. *Nutrition et alimentation des animaux d'élevage*, Foucher-INRA, Paris, France.

Gardner DS, Tingey K, Van Bon BWM, Ozanne SE, Wilson V, Dandrea J, Keisler DH, Stephenson T and Symonds ME 2005. Programming of glucose-insulin metabolism in adult sheep after maternal undernutrition. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 289, 947-954.

Giger-Reverdin S, Lebarbier E, Duvaux-Ponter C and Desnoyers M (submitted). A simple method to describe feeding behaviour from cumulative intake patterns. *Journal of Theoretical Biology*.

Hawkins P, Steyn C, McGarrigle HH, Calder NA, Saito T, Stratford LL, Noakes DE and Hansona MA 2000. Cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reproduction Fertility and Development* 12, 443-456.



- Henry BA, Blache D, Dunshea FR and Clarke IJ 2010. Altered "set-point" of the hypothalamus determines effects of cortisol on food intake, adiposity, and metabolic substrates in sheep. *Domestic Animal Endocrinology* 38, 46-56.
- Husted SM, Nielsen MO, Tygesen MP, Kiani A, Blache D and Ingvarsten KL 2007. Programming of intermediate metabolism in young lambs affected by late gestational maternal undernourishment. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 293, E548-E557.
- INRA 1988. *Alimentation des bovins, ovins, caprins*, INRA, Paris, France.
- INRA 2007. *Alimentation des bovins, ovins et caprins*, INRA.
- ISO 1983. *Animal feedingstuffs. Determination of moisture and other volatile matter content*. ISO 6496, 10.
- Johnson ZB and Nugent RA, III 2003. Heritability of body length and measures of body density and their relationship to backfat thickness and loin muscle area in swine. *Journal of Animal Science* 81, 1943-1949.
- Koritnik DR, Humphrey WD, Kaltenbach CC and Dunn TG 1981. Effects of maternal undernutrition on the development of the ovine fetus and the associated changes in growth hormone and prolactin. *Biology of Reproduction* 24, 125-137.
- Laporte-Broux B, Duvaux-Ponter C, Roussel S, Promp J, Chavatte-Palmer P and Ponter AA submitted-a. Restricted feeding of goats during the last third of gestation modifies both metabolic parameters and behaviour. *Livestock Science*.
- Laporte-Broux B, Roussel S, Ponter AA, Perault J, Chavatte-Palmer P and Duvaux-Ponter C submitted-b. Short term effects of maternal feed restriction during pregnancy on goat kid morphology, metabolism and behavior. *Journal of Animal Science*.
- Mason JW 1971. A re-evaluation of the concept of "non-specificity" in stress theory. *Journal of Psychiatric Research* 8, 323-333.
- Matthews SG and Challis JRG 1996. Regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in fetal sheep. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 7, 239-246.
- Mellor DJ and Stafford KJ 2004. Animal welfare implications of neonatal mortality and morbidity in farm animals. *The Veterinary Journal* 168, 118-133.
- Mitlohner FM, Morrow-Tesch JL, Wilson SC, Dailey JW and McGlone JJ 2001. Behavioral sampling techniques for feedlot cattle. *Journal of Animal Science* 79, 1189-1193.
- Morand Fehr P and Sauvant D 1988. *Alimentation des caprins*. In *Alimentation des bovins, ovins et caprins* (ed. R Jarrige), pp. 282-304. INRA, Paris, France.
- Oliver MH, Harding JE and Gluckman PD 2001. Duration of maternal undernutrition in late gestation determines the reversibility of intrauterine growth restriction in sheep. *Prenatal and Neonatal Medicine* 6, 271-279.

- Orozco-Sólis R, Lopes de Souza S, Barbosa Matos RJ, Grit I, Le Bloch J, Nguyen P, Manhães de Castro R and Bolaños-Jiménez F 2009. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiology & Behavior* 96, 481-492.
- Painter RC, Roseboom TJ and Bleker OP 2005. Prenatal exposure to the Dutch famine and disease in later life: an overview. *Reproductive Toxicology* 20, 345-352.
- Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, Osmond C, Barker DJ, Hales CN and Bleker OP 1998. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351, 173-177.
- Rhind SM 2004. Effects of maternal nutrition on fetal and neonatal reproductive development and function. *Animal Reproduction Science* 82-83, 169-181.
- Rhodes P, Craigon J, Gray C, Rhind SM, Loughna PT and Gardner DS 2009. Adult-onset obesity reveals prenatal programming of glucose-insulin sensitivity in male sheep nutrient restricted during late gestation. *PLoS One* 4, e7393.
- Rigalma K, Duvaux-Ponter C, Barrier A, Charles C, Ponter AA, Deschamps F and Roussel S 2010. Medium-term effects of repeated exposure to stray voltage on activity, stress physiology, and milk production and composition in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93, 3542-3552.
- Sébert SP, Hyatt MA, Chan LLY, Patel N, Bell RC, Keisler D, Stephenson T, Budge H, Symonds ME and Gardner DS 2009. Maternal nutrient restriction between early and midgestation and its impact upon appetite regulation after juvenile obesity. *Endocrinology* 150, 634-641.
- Simitzis PE, Charismiadou MA, Kotsampasi B, Papadomichelakis G, Christopoulou EP, Papavlasopoulou EK and Deligeorgis SG 2009. Influence of maternal undernutrition on the behaviour of juvenile lambs. *Applied Animal Behaviour Science* 116, 191-197.
- Terlouw EMC, Arnould C, Auperin B, Berri C, Le Bihan-Duval E, Deiss V, Lefèvre F, Lensink BJ and Mounier L 2008. Pre-slaughter conditions, animal stress and welfare: current status and possible future research. *Animal* 2, 1501-1517.
- Terrazas A, Robledo V, Serafin N, Soto R, Hernandez H and Poindron P 2009. Differential effects of undernutrition during pregnancy on the behaviour of does and their kids at parturition and on the establishment of mutual recognition. *Animal* 3, 294-306.
- Tygesen MP, Harrison AP and Therkildsen M 2007. The effect of maternal nutrient restriction during late gestation on muscle, bone and meat parameters in five month old lambs. *Livestock Science* 110, 230-241.
- Veissier I, Boissy A, dePassille AM, Rushen J, van Reenen CG, Roussel S, Andanson S and Pradel P 2001. Calves' responses to repeated social regrouping and relocation. *Journal of Animal Science* 79, 2580-2593.

Vickers MH, Breier BH, Cutfield WS, Hofman PL and Gluckman PD 2000. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism* 279, E83-E87.

## CHAPITRE 6

### DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION



## **1. RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LE DERNIER TIERS DE GESTATION CHEZ LES CHEVRES**

### **1.1. Quantifier l'intensité de la restriction**

La comparaison entre les expériences de restriction alimentaire pendant la gestation est rendue difficile par l'existence de différents systèmes d'alimentation selon les pays. Les apports alimentaires aux animaux sont exprimés en unités différentes et les besoins des animaux en gestation sont mal connus (voir partie 3.2 de l'introduction). De plus, la description de l'alimentation des animaux est parfois très succincte. Par exemple, pour les animaux au pâturage, ce sont simplement les espèces végétales présentes qui sont données sans préciser les valeurs énergétiques (Bajhau et Kennedy, 1990).

Les indices tels que la perte de poids des femelles restreintes par rapport aux femelles témoins donnent concrètement une idée de l'intensité de restriction. Dans nos expériences, les chèvres restreintes ont perdu environ 10 % de leur poids entre 90 jours de gestation et 24 h après mise-bas alors que les chèvres témoins ont pratiquement maintenu leur poids pendant la période de traitement.

Le profil métabolique a permis de confirmer la mobilisation plus importante chez les chèvres restreintes. Toutes les chèvres étaient physiologiquement en bilan énergétique négatif en fin de gestation, comme l'ont montré les profils métaboliques des chèvres témoins : la glycémie, les concentrations en insuline et leptine ont diminué et les concentrations en BHB et AGNE ont augmenté avec le temps à partir de la mise en lot (chapitre 2), démontrant ainsi la mobilisation des réserves. La chute plus forte de glycémie et l'augmentation plus importante des AGNE, apparues dès la première semaine de restriction, montrent l'impact important de la restriction alimentaire sur le métabolisme des chèvres restreintes.

The comparison of studies on feed restriction is difficult due to the use of different systems to evaluate energy requirements. Metabolic profiles and variations in body weight can be used to compare studies.

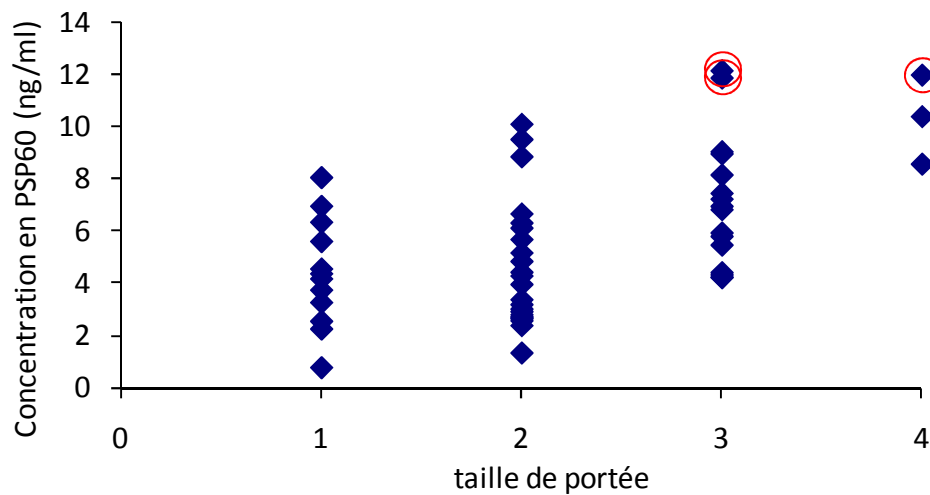
### **1.2. Prévenir la toxémie**

Malgré les précautions prises pour éviter les toxémies de gestation, 4 chèvres ont présenté les symptômes de la maladie lors de la première expérience (chapitre 2). La toxémie de gestation est une maladie métabolique qui se manifeste en cas de déficit énergétique. Elle est causée par une accumulation de corps cétoniques (dont le BHB), toxiques pour l'animal lorsqu'ils sont en grande concentration. Les animaux diminuent leur ingestion (Morand-Fehr *et al.*, 1984), sont abattus et peuvent présenter des signes

d'atteinte neurologique (Rook, 2000). Au niveau métabolique, la glycémie est faible et la cétonurie élevée. Les animaux affectés peuvent mourir dans les jours qui suivent en l'absence de traitement (Rook, 2000).

A posteriori, une analyse en composante principale (ACP) incluant poids vif, état corporel, concentrations en glucose, AGNE, urée et BHB avant le début de la restriction a été réalisée. Cette ACP a montré que les chèvres qui ont présenté les symptômes d'une toxémie étaient des chèvres avec un taux d'AGNE fort, une glycémie faible, une urémie faible et un état corporel faible avant le début de la restriction. De plus, les chèvres ayant développé des symptômes de toxémie avaient des taux de PSP60 très élevés avant le début de la restriction (Figure 12). La PSP60 est une protéine associée à la gestation (PAG). Sa concentration a été mesurée à partir d'une prise de sang effectuée à 90 jours de gestation, initialement pour réaliser un diagnostic de gestation (González *et al.*, 2001; Gonzalez *et al.*, 2004).

D'abord découvertes chez le bovin, les protéines associées à la gestation sont des glycoprotéines existant chez les mammifères euthériens, qui sont synthétisées et secrétées par les cellules mono et binuclées du trophoctoderme (Sousa *et al.*, 2006). Chez les petits ruminants, ces protéines de gestation sont en concentration plus élevée chez les animaux gestants d'une portée multiple que chez les animaux ayant une portée simple (Batalha *et al.*, 2001; Vandaele *et al.*, 2005). Ce résultat a été confirmé dans notre première expérience : une corrélation de 0,51 ( $P < 0,001$ ) a été obtenue entre le poids de portée et la concentration en PSP60 à 90 jours de gestation. De plus, les chèvres toxémiques avaient les poids de portée les plus élevés par rapport aux autres chèvres (données non montrées). Une corrélation positive existant entre poids de portée et taille du placenta (Konyali *et al.*, 2007), la masse placentaire des chèvres toxémiques était très probablement plus élevée que la masse placentaire des autres chèvres. On peut penser que le prélèvement placentaire de glucose était plus important chez ces animaux, entraînant ainsi le déficit énergétique à l'origine de la pathologie.



**Figure 12:** Concentration plasmatique en PSP60 chez les chèvres à 90 jours de gestation (avant la restriction) selon la taille de portée. Chaque losange bleu représente un animal. Les cercles rouges entourant les points correspondent à 3 des 4 chèvres ayant présenté des symptômes de toxémie durant la restriction alimentaire (entre 90 jours de gestation et mise-bas). La quatrième chèvre toxémique est morte avant la mise-bas.

Lors de la deuxième expérience, nous avons choisi de doser la PSP60 à 60 jours de gestation afin de compléter les informations sur les tailles de portée données par échographie. Dans la littérature, c'est à ce stade que les portées simples et doubles sont les mieux distinguées chez les caprins (Gonzalez *et al.*, 2000; Chentouf *et al.*, 2008). Pourtant, la corrélation entre le poids de portée de nos chèvres et la concentration en PSP60 à 60 jours de gestation n'était pas très bonne ( $r^2 = 0,24$ ,  $P = 0,09$ ). L'ensemble de ces résultats permet de montrer que la concentration en PSP60 à 90 jours de gestation pourrait être un bon indicateur des poids de portée les plus extrêmes contrairement à la concentration en PSP60 à 60 jours de gestation. La concentration en PSP60 à 90 jours de gestation ne permet pas de prédire la taille de portée (Figure 12) mais elle peut venir en complément des informations apportées par l'échographie. En effet, le dénombrement par échographie nécessite une bonne expérience de l'échographie et permet surtout de distinguer les portées simples des portées multiples (quelle que soit la taille de ces portées multiples) (Goel et Agrawal, 1992; Amer, 2010).

Les résultats obtenus lors de la première expérience ont été utilisés pour l'allotement des animaux dans la deuxième expérience (chapitre 4) afin de limiter les risques de toxémie. Ainsi, les chèvres présentant au moins deux des critères suivants : concentrations très élevées par rapport à l'ensemble du troupeau en PSP60, AGNE et BHB, et note d'état corporel inférieure à 3, n'ont pas été placées dans le groupe restreint mais ont été placées dans le groupe témoin. Dans cette deuxième expérience, seule une chèvre témoin a présenté des symptômes de toxémie alors que les paramètres sanguins mesurés



lors de la deuxième expérience ont varié de la même façon et avec la même amplitude que lors de la première expérience. Bien que la restriction ait commencé plus tard lors de la deuxième expérience (100 jours contre 90 jours de gestation), la sélection des animaux en amont a probablement permis d'éviter l'apparition de toxémies.

The metabolic profile and plasma PAG concentrations (pregnancy-associated glycoproteins) at 90 days of pregnancy have been shown in the first experiment to be predictive of an increased risk of pregnancy toxemia. These criteria have been used successfully in the second experiment to prevent toxemia.

### 1.3. Effets de la restriction alimentaire sur les chèvres gestantes

Dans la première expérience (chapitre 2), une partie des chèvres a été restreinte entre 90 jours de gestation et la mise-bas. Les chèvres ont reçu 50% de la quantité de ration complète distribuée aux témoins pendant 4 semaines, puis 60% pendant 1 semaine, 70% pendant 1 semaine et 80% les 2 dernières semaines de la gestation, ainsi que de la paille à volonté tout au long de cette période. Sur l'ensemble de la période de restriction, les chèvres restreintes ont ingéré 70% de l'énergie ingérée par les témoins. Les effets de la restriction alimentaire sur les mesures zootechniques, métaboliques et comportementales effectuées sur ces chèvres sont résumés dans le Tableau 1. La restriction alimentaire a entraîné une baisse de poids vif de  $7 \pm 0,9$  kg en moyenne pendant la période de traitement (10%) et une baisse de la note d'état corporel jusqu'à 4 semaines après la mise-bas (chapitre 2) alors que les chèvres témoins n'ont perdu que  $0,4 \pm 0,8$  kg en moyenne pendant la période de traitement (0,6%). Dès la première semaine de restriction, la glycémie des chèvres restreintes a baissé tandis que la concentration en AGNE a fortement augmenté, montrant une mobilisation des réserves corporelles, de façon beaucoup plus importante que chez les chèvres témoins. La diminution de la leptinémie et de l'insulinémie observée chez les chèvres restreintes met en avant une probable mobilisation du tissu adipeux, car les concentrations en leptine et insuline sont corrélées à l'adiposité (Blache *et al.*, 2000; Delavaud *et al.*, 2000; Ehrhardt *et al.*, 2000; Caldeira *et al.*, 2007). La baisse de l'insulinémie a probablement commencé peu de temps après le début de la restriction, en réponse à l'hypoglycémie (Chilliard *et al.*, 1998). Les concentrations en BHB et urée ont aussi diminué durant la restriction par rapport aux concentrations mesurées chez les témoins, reflétant la baisse d'ingestion pour le BHB et la baisse d'ingestion de protéines pour l'urée (chapitre 2). La diminution de la concentration en urée peut également refléter un recyclage de l'azote salivaire plus important du fait de l'augmentation du temps passé à mastiquer (majoritairement due à l'ingestion de paille).

Dans la seconde expérience (chapitre 4), les chèvres ont été restreintes entre 100 jours de gestation et la mise-bas. Elles ont reçu en moyenne 50% de la quantité de ration

complète distribuée aux témoins et de la paille à volonté durant toute cette période. Les résultats obtenus sont similaires à ceux de la première expérience. Les chèvres restreintes ont ingéré 70% de l'énergie ingérée par les témoins, avec une perte du poids vif de 10 % entre 93 jours de gestation et 24h après la mise-bas. Les concentrations plasmatiques en glucose et AGNE et leur évolution ont été similaires à celles obtenues lors de la 1<sup>ère</sup> expérience, indiquant que la restriction était de même amplitude.

Dans la littérature, les expériences de restriction alimentaire traitent essentiellement des conséquences observées chez la progéniture. Peu de travaux détaillent les effets de la restriction chez les mères elles-mêmes. Trois études décrivent les effets d'une restriction alimentaire chez des chèvres (Conway *et al.*, 1996; Celi *et al.*, 2008) et des brebis (Tygesen *et al.*, 2008) pendant les 4 ou les 6 dernières semaines de gestation. Conway *et al.* (1996) ont donné aux chèvres restreintes 35% des recommandations pour ce qui est de l'apport énergétique et 61% des recommandations pour l'apport protéique. Dans l'étude de Tygesen *et al.* (2008), les brebis restreintes ont reçu 50% de l'énergie métabolisable donnée aux brebis témoins et dans celle de Celi *et al.* (2008), les chèvres restreintes ont reçu un régime couvrant 80% des besoins tandis que les témoins ont reçu un régime couvrant 140% des besoins. L'ensemble de ces études montre une diminution du poids vif et de l'état corporel ainsi que de la glycémie, et une augmentation de la concentration en AGNE chez les animaux restreints par rapport aux témoins. En fin de gestation, les concentrations en AGNE chez nos chèvres témoins (0,2-0,3 mM) et celles chez les chèvres restreintes (0,5-0,6 mM) sont similaires à celles mesurées durant les 4 dernières semaines de gestation chez les chèvres témoins et restreintes de Celi *et al.* (2008).

En plus du métabolisme, la perte de poids pendant la période de restriction chez les chèvres restreintes montre que la restriction était réelle. Dans une étude où les brebis restreintes recevaient une ration couvrant 38% des besoins tandis que celle des témoins couvrait 76% des besoins, les brebis restreintes ont perdu 24% de leur poids contre 5% pour les brebis témoins entre 90 jours de gestation et la première semaine après mise bas (Koritnik *et al.*, 1981). Dans l'expérience de Tygesen *et al.* (2008), les brebis restreintes avaient perdu 14% de leur poids vif entre le début de la restriction et une semaine après mise-bas contre 4% pour les témoins. Les chèvres restreintes dans l'expérience de Conway *et al.* (1996) n'avaient pas pris de poids pendant la restriction tandis que les témoins avaient pris 20% de leur poids durant les 6 dernières semaines de gestation.

**Tableau 1:** Effets de la restriction alimentaire entre 90 jours de gestation et la mise bas (151 jours) chez 23 chèvres par rapport à 25 chèvres témoins (chapitre 2). Les animaux ont reçu 50% de la quantité distribuée aux témoins pendant 4 semaines, puis 60% pendant 1 semaine, 70% pendant 1 semaine et 80% les 2 dernières semaines de la gestation.

zootchnie	<p>Pas de différence sur la durée de gestation</p> <p>Pas de différence sur le poids de portée</p> <p>Pas de différence sur la mortalité des chevreaux</p> <p>Augmentation moins forte du poids vif dès la première semaine de restriction et jusqu'à 6 semaines après la mise-bas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>↘ poids vif (10%) entre 90 jours de gestation et 24h après mise-bas</li> <li>↘ état corporel dès la première semaine de sous-nutrition jusqu'à 3 semaines après la mise-bas, plus de différence 5 semaines après la mise-bas</li> </ul>	
métabolisme	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ glycémie dès la première semaine de sous-nutrition et ↗ après la mise-bas</li> <li>↗ concentration en AGNE dès la première semaine de sous-nutrition et ↘ après la mise-bas</li> <li>↘ concentration en BHB pendant la restriction et jusqu'à 5 semaines après mise-bas</li> <li>↘ urémie dès la 2<sup>ème</sup> semaine de restriction. Plus de différence 2 semaines après mise-bas</li> </ul> <p>insulinémie supérieure avant la restriction, inférieure en milieu de restriction, pas de différence 1 semaine avant mise-bas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>↘ leptinémie en milieu de restriction, pas de différence 1 semaine avant mise-bas.</li> </ul>	
comportement	après 1 semaine de restriction	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ temps passé à marcher</li> <li>↗ temps passé à manger (ration + paille)</li> <li>↘ temps passé immobile</li> <li>↘ toilettage</li> <li>↘ interactions positives*</li> </ul> <p>Pas de différence sur le nombre d'interactions agonistiques**</p>
	après 7 semaines de restriction	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ temps passé à marcher</li> <li>pas de différence sur le temps passé à manger</li> <li>↗ temps passé immobile</li> <li>↘ temps passé couché</li> <li>↘ nombre d'attaques (tendance)</li> </ul>

\* frottements, léchages, flairages. \*\* menaces, coups de tête, poursuite, évitement.

Une des originalités de ce travail est d'avoir étudié la réactivité émotionnelle et le budget-temps de chèvres gestantes pendant la restriction alimentaire. Les animaux restreints ont passé plus de temps à marcher, ce qui pourrait être interprété comme une plus grande motivation à explorer leur environnement pour trouver de la nourriture, comme ce qui a été observé chez le porc suite à une restriction de la quantité de nourriture offerte (De Leeuw et Ekkel, 2004). Au moment de la distribution de nourriture, une agitation importante des chèvres restreintes était observée dans la zone de distribution de nourriture contrairement aux témoins qui s'approchaient du cornadis plus calmement (observations personnelles). Une semaine après le début de la restriction, les chèvres restreintes ont passé moins d'1 h à manger la ration complète contre plus de 3 h pour les témoins, sachant que les chèvres restreintes recevaient la moitié de la quantité distribuée aux témoins. En fin de restriction, elles ont passé environ 1 h 30 à ingérer leur ration alors que les témoins y passaient 3 h 30, sachant que les chèvres restreintes recevaient 80% de la quantité distribuée aux témoins. Afin d'augmenter l'encombrement du rumen pour diminuer la sensation de faim, les chèvres restreintes ont reçu de la paille à volonté. Malgré cela, en estimant les vitesses d'ingestion et en les comparant entre chèvres restreintes et témoins, la vitesse d'ingestion chez les animaux restreints est restée fortement augmentée, suggérant une forte motivation alimentaire (Nielsen, 1999). On sait en effet que l'augmentation de la vitesse d'ingestion en cas de restriction alimentaire est d'autant plus forte que la restriction est sévère (revue de Dulphy et Faverdin, 1987).

As observed in previous studies, feed restriction during the last third of gestation in goats caused weight and BCS loss during the feed restriction period compared to control goats. Moreover, the former remained lighter, with a lower BCS, up to several weeks after parturition. Glucose, BHB and urea concentrations were also decreased in the feed restricted goats whereas NEFA concentrations were increased compared to control goats. On average, feed restricted goats ate 70% of the energy consumed by control goats. Results are in agreement in both experiments.

An originality of this work was to study the behavioural modifications in feed restricted goats. Results suggest a higher motivation of restricted goats to explore their environment, probably looking for food.

#### **1.4. Variabilité de réponse à la restriction alimentaire**

Les quantités réellement ingérées individuellement par chaque chèvre ont pu varier par rapport aux quantités moyennes calculées en raison de variations de la vitesse individuelle d'ingestion et des comportements agonistiques au cornadis. Cependant, ces variations ont été minimisées: afin de réduire la compétition sociale pour accéder à la nourriture (Conway *et al.*, 1996; Barroso *et al.*, 2000), les chèvres ont été bloquées au cornadis au moment des distributions. De plus, aucune différence dans les

comportements agonistiques n'a été observée entre chèvres restreintes et témoins. Enfin, les chèvres étant alimentées en lot, les lots ont été subdivisés en deux sous-groupes en fonction du poids afin que les quantités distribuées soient mieux adaptées au poids des animaux.

La taille de portée a probablement aussi influencé l'intensité de restriction. Alexander *et al.* (1978) ont montré qu'en fin de gestation, les brebis porteuses d'un singleton avaient plus de tissu adipeux que les porteuses de jumeaux. En fin de gestation, les brebis gestantes de jumeaux ingéraient moins que les gestantes d'un agneau simple. Les concentrations plasmatiques en glucose et en insuline sont aussi diminuées avec le nombre de fœtus (Rumball *et al.*, 2008). Dans nos expérimentations, les chèvres ayant eu des symptômes de toxémie portaient toutes 3 ou 4 chevreaux.

L'état des réserves corporelles en début de traitement semble également être un facteur important influençant la réponse métabolique des animaux restreints. Les réserves corporelles ont un rôle tampon et sont mobilisées lorsque la ration ne peut pas couvrir les besoins nutritionnels. Les chèvres laitières mobilisent leurs réserves corporelles à partir de la fin de gestation et en début de lactation et les reconstituent en fin de lactation (Gadoud *et al.*, 1992). En élevage, il est recommandé que les chèvres aient reconstitué la totalité de leurs réserves corporelles au moins 6 semaines avant la parturition et aient un état corporel de 3-3,5 au moment de la parturition pour assurer la lactation (INRA, 1988; Rook, 2000). Un état corporel trop faible ou trop fort en fin de lactation favorise l'apparition de toxémie de gestation (Rook, 2000; Mavrogianni et Brozos, 2008). L'ACP effectuée sur les paramètres métaboliques et zootechniques des chèvres avant le début de la restriction a confirmé que les chèvres qui ont eu des symptômes de toxémie avaient un état corporel faible à 90 jours de gestation. Dans d'autres études, les chèvres et les brebis présentant une diminution de la production laitière et de colostrum suite à la restriction alimentaire avaient aussi un état corporel plus faible que les témoins (Banchemo *et al.*, 2006; Celi *et al.*, 2008; Tygesen *et al.*, 2008).

In the present experiments, the animals were blocked at the trough in order to limit competition at feeding time. Moreover, agonistic behaviour, which could induce differences in food intake between individuals, did not appear to differ between groups.

Both litter size and BCS at the beginning of the restriction period influenced metabolic parameters, which may in turn influence food intake. Indeed, dams that suffered from toxemia had larger litters.

## **2. RESTRICTION ALIMENTAIRE PENDANT LA GESTATION ET CONSEQUENCE SUR LA PROGENITURE JUSQU'AU SEVRAGE**

Deux expériences ont été effectuées sur les effets à court terme de la restriction alimentaire maternelle sur les chevreaux. Dans la première, des chevreaux mâles et femelles ont été étudiés à la naissance et les mâles ont été suivis jusqu'à 6 semaines. Dans la deuxième expérience, les mâles et les femelles ont été suivis de la naissance à 10 semaines, c'est-à-dire 2 semaines après le sevrage. Dans les deux cas, 20 mâles (10 issus de chèvres restreintes et 10 de chèvres témoins) ont été abattus à la fin de l'expérience.

### **2.1. Méthodologie**

#### *2.1.1. Détermination de la composition corporelle*

La composition corporelle des jeunes peut être modifiée suite à une restriction pendant la gestation de la mère. Une étude chez le mouton a montré que la restriction maternelle à partir de 90 jours de gestation diminuait la quantité de tissu adipeux périrénal chez les fœtus de 123-126 jours mais pas chez les fœtus à terme (Alexander, 1978). Une autre étude a montré qu'une diminution des quantités ingérées de 50% entre 115 et 145 jours de gestation chez la brebis réduisait la quantité de tissu adipeux chez les fœtus (Symonds *et al.*, 1998).

Dans la seconde expérience, une méthode récente de mesure de la composition corporelle a été utilisée : l'absorptiométrie biphotonique à rayons X (Dual-energy X-ray absorptiometry – DXA, General Electrics Lunar iDXA). Cette méthode est basée sur la différence d'absorption des différents tissus quand ils sont placés sous rayons X. L'utilisation de cette technique a permis d'évaluer la composition corporelle d'un plus grand nombre d'animaux, et plus particulièrement des femelles gardées pour le renouvellement du troupeau, sans avoir besoin de les abattre.

En étudiant le rapport entre les résultats obtenus au DXA et ceux obtenus par dissection, les quantités disséquées ont paru être sous-estimées. Le rapport entre la quantité de tissu adipeux disséqué et la quantité déterminée par densitométrie était de 23% pour le tissu adipeux total, 54% pour le tissu adipeux abdominal et 11% pour le tissu adipeux thoracique. La majorité du tissu adipeux chez les jeunes chevreaux est du tissu adipeux interne (omental et périrénal), le tissu adipeux sous-cutané (Bas *et al.*, 1985) et intramusculaire (Banon *et al.*, 2006) étant très peu développés.

Les corrélations entre les masses de tissu adipeux disséquées et déterminées par la machine sont cependant très élevées. Des corrélations semblables entre composition chimique et quantités de tissu données par DXA ont été obtenues chez les moutons (Pearce *et al.*, 2009). Cependant, le DXA est une machine qui a été créée pour l'humain et

donc calibrée à partir de mesures faites chez l'humain. La validation exacte pour les petits ruminants en croissance n'a pas encore été faite. Les quantités estimées par la machine pour chaque tissu des chevreaux issus de chèvres restreintes doivent être considérées non pas en valeur absolue mais bien en valeur relative par rapport aux témoins.

### 2.1.2. Confusion d'effets

Comme l'ont souligné Symonds et Budge dans une revue récente (2009), il existe parfois des biais dans les protocoles qui conduisent à des confusions d'effet. L'exemple donné dans cette revue concerne les confusions d'effets entre restriction alimentaire maternelle et taille de portée : les nombres de singletons et de jumeaux sont parfois déséquilibrés entre les traitements. Afin de limiter l'effet taille de portée, seules les portées doubles et triples ont été sélectionnées dans nos expériences. Beaucoup de facteurs étaient à prendre en compte dans le choix des chevreaux en plus de la taille de portée : le traitement, la race, le sexe et le lien de parenté avec les autres chevreaux. Nous avons équilibré au mieux tous ces paramètres entre les chevreaux issus de chèvres restreintes et les témoins et dans tous les cas, ces facteurs ont été inclus dans les modèles statistiques.

L'utilisation de deux races, Saanen et Alpine est due au fait que nous ne pouvions pas avoir assez de chevreaux en ne prenant qu'une seule race. Le troupeau utilisé est constitué de 40% d'Alpines. Même si les chevreaux alpins étaient moins nombreux dans l'allotement, les races ont été réparties de manière équilibrée entre les traitements. L'effet de la race est souvent ressorti, en particulier sur la taille et le poids des chevreaux, les Alpines étant plus grands et plus lourds que les chevreaux de race Saanen à la naissance et dans les premières semaines. Les données concernant la race ne sont pas présentées dans la thèse mais l'effet race a été pris en compte dans les analyses statistiques.

Un autre biais peut provenir de l'utilisation des frères et sœurs dans l'étude sans prendre en compte l'effet « mère » : deux individus apparentés sont en effet plus proches que deux individus non apparentés (Symonds et Budge, 2009). Comme il n'a pas toujours été possible de ne prendre qu'un animal par portée, en particulier lorsque qu'un mâle et une femelle par portée ont été gardés pour étudier l'effet sexe, un facteur aléatoire sur la mère a été intégré dans le modèle.

Il est important de noter que dans nos travaux, l'effet « mère » correspond à l'effet de la génétique et de l'environnement prénatal car les chevreaux ont été retirés de la mère dès la naissance. Cette pratique a permis d'éviter une confusion entre les effets directs de la restriction maternelle et les effets indirects sur le jeune. En effet, les effets observés chez le jeune sont indirects s'ils résultent de la modification du comportement et de la physiologie maternelle suite à la restriction alimentaire pendant la gestation. La restriction maternelle peut altérer le comportement maternel : les mères restreintes

pendant la gestation lèchent moins longtemps le deuxième né et reconnaissent moins bien leur chevreau 8h après la mise-bas que les mères témoins, bien qu'elles l'acceptent pour téter (Terrazas *et al.*, 2009). De plus, la restriction alimentaire diminue les quantités de colostrum (Banchero *et al.*, 2006) et de lait produites (Celi *et al.*, 2008; Tygesen *et al.*, 2008) même si la qualité n'est pas altérée (Celi *et al.*, 2008). Beaucoup d'études sur les effets de la restriction alimentaire maternelle sur le jeune ont été réalisées avec des agneaux ou des chevreaux sous la mère (Husted *et al.*, 2007; Celi *et al.*, 2008; Tygesen *et al.*, 2008). Pour certaines, la restriction alimentaire maternelle a été poursuivie pendant la lactation (Borwick *et al.*, 2003; Celi *et al.*, 2008). Lors de ces situations expérimentales, il n'est pas possible de distinguer les effets directs et les effets indirects de la restriction alimentaire maternelle sur les paramètres mesurés chez la progéniture.

Body composition is difficult to assess, particularly in young animals. Imaging techniques are interesting in assessing body composition because these methods are easy to implement. Body composition was determined using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) in experimental kids. However, this method has yet not been fully validated for use with young small ruminants. Despite this, it can be used to compare treatments.

Some protocols present confusing effects. We tried to limit them by balancing litter size and breed between treatments and taking into account the dam effect when kids came from the same litter. Our model allowed us to avoid indirect post-natal effects of maternal feed restriction by separating kids from their dams at birth.

## **2.2.Effets à court terme de la restriction alimentaire maternelle sur les chevreaux**

Les effets à court terme de la restriction alimentaire maternelle ont surtout été observés à la naissance (Tableau 2) : les chevreaux issus de chèvres restreintes étaient plus petits et plus légers que les chevreaux issus de mères témoins. La densité (poids/taille) était également moins élevée. Certains résultats ont différé suivant les expériences : dans la première expérience (chapitre 3), seuls les chevreaux mâles issus de mères restreintes étaient plus légers et les chevreaux des deux sexes étaient plus petits que les témoins (mesures morphométriques). Dans la 2<sup>ème</sup> expérience (chapitre 4), tous les chevreaux issus de mères restreintes étaient plus légers à la naissance que les témoins mais il n'y avait pas de différence dans les mesures morphométriques. La plupart des études sur la restriction alimentaire en fin de gestation chez les ovins ou caprins rapportent une diminution du poids de naissance chez les descendants (Alexander, 1978; Koritnik *et al.*, 1981; Bajhau et Kennedy, 1990; Oliver *et al.*, 2001; Borwick *et al.*, 2003; Husted *et al.*, 2007; Tygesen *et al.*, 2007) bien que certains ne trouvent aucun effet (Celi *et al.*, 2008). La mesure de la taille des animaux n'est le plus souvent pas rapportée.



Dans nos expériences, les différences de poids et de densité ont disparu dans la première ou la seconde semaine après la naissance, indiquant que les chevreaux issus des mères restreintes ont rattrapé leur retard. Des résultats similaires ont été retrouvés par Olivier *et al.* (2001) : dans leur étude, le poids entre moutons issus de brebis restreintes et témoins ne différait qu'à la naissance mais pas à 3, 5 et 12 mois (Oliver *et al.*, 2001). A l'inverse, deux études ont montré que les chevreaux issus de mères restreintes en fin de gestation restaient plus légers que les témoins à 2 et 4 semaines (Terrazas *et al.*, 2009) ou 10 et 19 semaines (Husted *et al.*, 2007).

Au niveau métabolique, les chevreaux issus de mères restreintes ont moins mobilisé leurs réserves à la naissance et plus mobilisé à une semaine que les chevreaux témoins dans la 1<sup>ère</sup> expérience. Ces effets n'ont pas été retrouvés dans la 2<sup>ème</sup> expérience. Ces résultats n'ont pas été accompagnés de variations de concentrations en glucose, insuline ou leptine. D'autres auteurs ont observé que les chevreaux issus de mères restreintes mobilisaient plus que les témoins (Celi *et al.*, 2008) mais contrairement à nos expérimentations, leurs animaux étaient élevés sous la mère, restreinte également pendant la lactation. Les différences de résultats métaboliques entre nos 2 expériences peuvent s'expliquer par la différence de durée de la restriction, plus importante dans la 1<sup>ère</sup> expérience que dans la 2<sup>ème</sup> (10 jours d'écart entre les deux).

Dans la seconde expérience, l'insulinémie des chevreaux restreints tendaient à être augmentée à 9 semaines par rapport aux chevreaux témoins. Cette augmentation est en faveur de l'insulino-résistance observée chez les agneaux issus de brebis restreintes en fin de gestation. Cependant, il ne s'agit que d'une tendance donc cette hypothèse reste à vérifier.

L'augmentation de température rectale à 9 semaines chez les chevreaux issus de chèvres restreintes par rapport aux témoins est difficile à expliquer. La encore, il ne s'agit que d'une augmentation ponctuelle. Une expérience chez des chevreaux a montré une augmentation de la température rectale en cas d'exposition à la chaleur mais ce n'était pas le cas ici.

**Tableau 2 :** Effets à court terme d'une restriction alimentaire pendant la gestation sur les paramètres zootechniques, métaboliques et comportementaux des chevreaux issus de chèvres restreintes par rapport aux témoins. Dans les deux expériences réalisées, les chèvres restreintes ingéraient en moyenne 70% de l'énergie ingérée par les témoins. Dans la première expérience, les chèvres gestantes étaient restreintes entre 90 jours de gestation et la mise-bas tandis que dans la seconde expérience, les chèvres gestantes étaient restreintes de 100 jours de gestation à la mise-bas.

		1 <sup>ère</sup> expérience	2 <sup>ème</sup> expérience
		78 mâles et femelles à la naissance (40 témoins, 38 issus de chèvres restreintes) 28 mâles de 1 à 6 semaines (13 témoins, 15 issus de chèvres restreintes)	50 mâles et femelles de la naissance à 10 semaines (25 témoins, 25 issus de chèvres restreintes)
zootechnie	naissance	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ poids de naissance des mâles par rapport aux témoins, pas de différence chez les femelles</li> <li>↘ tour abdominal</li> <li>↘ densité et BMI (tendance)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ poids de naissance</li> <li>↘ densité</li> </ul>
	semaines 1 à 5 (1 <sup>ère</sup> expérience) semaines 1 à 9 (2 <sup>ème</sup> expérience)	Pas de différence sur le poids, les mesures morphométriques, la densité et le BMI	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ poids à 1 semaine</li> <li>↘ densité à 1 semaine (tendance)</li> <li>↗ température rectale à 9 semaines</li> </ul>
	abattage/DXA semaines 6 (1 <sup>ère</sup> expérience) semaine 10 (2 <sup>ème</sup> expérience)	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ poids des surrénales</li> <li>↘ masse de tissu adipeux total (tendance)</li> <li>↘ masse de tissu adipeux abdominal et notamment omental (tendance)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ masse de tissu adipeux total (tendance, DXA)</li> <li>↘ masse de tissu adipeux abdominal (tendance, DXA)</li> <li>Pas de différence de masse de tissu adipeux (dissection)</li> </ul>

métabolisme	naissance	↘ concentration en AGNE Pas de différence sur les concentrations en glucose, leptine et insuline	Pas de différence sur les concentrations en AGNE, glucose, leptine et insuline
	semaines 1 à 5 (1 <sup>ère</sup> expérience) semaines 1 à 9 (2 <sup>ème</sup> expérience)	↗ concentration en AGNE à 1 semaine Pas d'effet sur le métabolisme après 1 semaine	↗ concentration en insuline à 9 semaines (tendance) Pas d'effet sur les concentrations en AGNE, glucose et leptine
comportement	semaine 2		Pas d'effet sur le comportement alimentaire
	semaine 3	Pas d'effet sur le comportement alimentaire dans les tests de vitesse d'ingestion	
	semaine 5	Pas d'effet sur le comportement alimentaire dans les tests de vitesse d'ingestion Pas d'effet sur la réactivité émotionnelle Pas d'effet sur le comportement alimentaire	
	semaine 9 (post-sevrage)		Pas d'effet sur le budget-temps

Un effet de la restriction alimentaire maternelle a été observé sur le tissu adipeux. Dans la première expérience, les chevreaux issus de mères restreintes avaient moins de tissu adipeux abdominal et des surrénales plus grosses que les témoins. La diminution de la quantité de tissu adipeux abdominal a été retrouvée dans la deuxième expérience, avec l'analyse au DXA réalisée sur 36 chevreaux expérimentaux à 10 semaines. Cet effet dans la deuxième expérience n'a pas été confirmé lors de la dissection des 20 chevreaux. Cette différence résulte probablement du faible nombre d'individus et de la grande variabilité des masses totales de tissu adipeux (130 à 421 g pour les 10 animaux issus de chèvres restreintes et de 124 à 449 g pour les témoins), qui ont diminué la puissance au niveau

statistique. Egalement, il faut noter que cette vérification par abattage n'a été effectuée que chez les mâles alors que les mâles et les femelles ont été évalués avec le DXA.

Cette différence de masse de tissu adipeux abdominal pourrait être liée à l'augmentation du poids des surrénales. En effet, les catécholamines et les glucocorticoïdes sont impliqués dans la mobilisation des réserves (Brockman et Laarveld, 1986). Hawkins *et al.* (2000) ont montré que le poids des surrénales était augmenté chez des agneaux de 85 jours issus de mères restreintes en début de gestation, en association avec une augmentation de sécrétion de cortisol suite à l'injection de CRH et d'AVP (Hawkins *et al.*, 2000). Koritnik *et al.* (1981) et Nielsen *et al.* (2010) ont aussi observé une augmentation du poids des surrénales chez des agneaux soit nouveau nés soit âgés de 6 mois, issus de mères restreintes en fin de gestation. Cependant, cette modification du poids des surrénales n'a été pas observée chez les chevreaux âgés de 10 semaines dans notre seconde expérience. Cet effet reste donc à confirmer.

La différence de masse adipeuse entre chevreaux issus de mères restreintes et témoins a pu apparaître après le sevrage. En effet, le sevrage constitue un stress pour les animaux qui perdent alors du poids, ce qui s'accompagne d'une diminution de la masse de tissu adipeux lorsque les chevreaux sont abattus peu de temps après le sevrage (Bas *et al.*, 1985, 1986). Les chevreaux issus de chèvres restreintes pourraient avoir perdu plus de tissu adipeux que les chevreaux témoins au moment du sevrage. En effet, Husted *et al.* (2007) ont observé que les agneaux issus de mères restreintes en alimentation en fin de gestation avaient des concentrations en AGNE supérieures à celles des témoins après 24h de jeûne, suggérant une meilleure capacité de mobilisation des réserves. En effet, la concentration en AGNE reflète l'hydrolyse des triglycérides (Gadoud *et al.*, 1992). Cependant, la différence de masse de tissu adipeux existait déjà à 6 semaines dans la première expérience. Cette différence pourrait même exister dès la vie fœtale. Le tissu adipeux périrénal et omental fœtal est en quantité dissécable à partir de 70 jours de gestation chez le mouton (Alexander, 1978). En fin de gestation, il semblerait que la masse de tissu adipeux décline, et ceci en plus forte proportion pour les fœtus de mères restreintes en alimentation (Alexander, 1978). Dans nos expériences, la diminution de poids de nos chevreaux issus de mères restreintes pourrait être due à une diminution de masse de tissu adipeux. Cette hypothèse serait intéressante à vérifier.

Aucun effet de la restriction alimentaire maternelle n'a été observé sur les critères comportementaux dans les 6 semaines suivant la naissance. La réactivité émotionnelle de la progéniture dans les expériences de restriction alimentaire n'a été évaluée que chez les adultes (Erhard *et al.*, 2004; Simitzis *et al.*, 2009), il n'existe donc pas de point de comparaison.

Concernant le comportement alimentaire, aucune différence de quantités ingérées n'a été trouvée chez des moutons sevrés, entre des animaux issus de mères restreintes et des

témoins (Sibbald et Davidson, 1998) alors qu'une diminution de la consommation moyenne de lait chez des agneaux issus de brebis restreintes en fin de gestation par rapport à des agneaux témoins a été observée par ailleurs (Geraseev *et al.*, 2006). Dans une autre étude, des chevreaux issus de chèvres restreintes en fin de gestation se levaient et atteignaient plus tardivement la tétine à la naissance et étaient moins actifs quelques heures plus tard par rapport aux chevreaux témoins (Terrazas *et al.*, 2009). Dans nos expériences, il n'était pas possible d'étudier le comportement du nouveau-né. Dans l'expérience de Geraseev *et al.* (2006) les agneaux étaient en cases individuelles et la consommation était mesurée tous les jours pendant 45 jours alors que nos animaux étaient en lot et le comportement alimentaire n'a pu être évalué que sur 24h. Il est possible que des mesures répétées sur plusieurs jours et une mise en cases individuelles auraient pu permettre de mettre en évidence des effets de la restriction alimentaire maternelle sur le comportement alimentaire des chevreaux. Cependant, une absence d'effet de la restriction maternelle sur le comportement alimentaire dans le jeune âge n'est pas à exclure.

Finalement, la restriction alimentaire maternelle pendant le dernier tiers de gestation n'a eu que peu d'effets à court terme sur les paramètres mesurés, ces effets étant essentiellement observés soit à la naissance soit après le sevrage. Il est à noter, cependant, la constance de certains résultats d'une expérience à l'autre : la diminution du poids et de la densité chez les chevreaux issus de mères restreintes en fin de gestation, leur rattrapage par rapport aux témoins les premiers jours, et la diminution de l'adiposité chez ces animaux par rapport aux témoins quelques semaines après.

Two studies were performed on kids to evaluate the short-term consequences of maternal feed restriction. Maternal feed restriction had almost the same effect on kids at birth: kids born to feed restricted dams were lighter than kids born to control dams. At 6 weeks of age, abdominal adipose tissue mass was reduced and adrenal weight was increased in kids born to feed restricted dams compared to control kids. This decrease in abdominal adipose tissue mass was found in 10 week old kids. The change in abdominal fat mass may be linked to the change in adrenal mass since catecholamine and glucocorticoids are involved in fat mobilization. Differences in adipose tissue mass between kids born to feed restricted dams and control kids may appear during foetal life.

In conclusion, maternal feed restriction in the last third of pregnancy had little influence on metabolism and growth and had no effect on kid feeding behaviour and emotional reactivity from birth to ten weeks of age.

### **3. EFFETS A LONG TERME DE LA RESTRICTION ALIMENTAIRE MATERNELLE SUR LES CHEVRETTES**

Les effets à long terme de la restriction alimentaire ont été étudiés dans la première expérience. Des chevreaux femelles ont été conservés jusqu'à leur deuxième gestation et ont été étudiés à partir de l'âge de 6 mois.

L'étude à long terme de la restriction maternelle pendant la gestation a montré une diminution du poids et de la note d'état corporel des chevrettes. La diminution de l'état corporel, même à l'âge adulte, est cohérente avec la baisse d'adiposité, comme cela a été constaté chez les chevreaux plus jeunes (chapitre 3 et 4). En effet, la note d'état corporel est basée sur les palpations des régions sternale et lombaire, où le tissu adipeux sous-cutané est le plus important, et reflète l'adiposité des animaux (Morand-Fehr, 2005).

Aucun effet n'a été observé sur les paramètres métaboliques suivis régulièrement à long terme. Le test de tolérance au glucose n'a pas révélé de différence de concentration en glucose ni en insuline entre les chèvres issues de mères restreintes et les témoins. L'effet de la restriction alimentaire sur la réponse à un test de tolérance au glucose de la progéniture semble être contradictoire suivant les études. Une restriction alimentaire entre 110 jours de gestation et la mise-bas a entraîné une augmentation des concentrations plasmatiques en insuline et en glucose chez la descendance à 1 an lors d'un test d'IVGTT (Gardner *et al.*, 2005) ou au contraire une diminution de la sécrétion d'insuline à 19 semaines mais pas à 10 semaines (Husted *et al.*, 2007), tandis qu'une restriction de 10 ou 20 jours à partir de 105 jours de gestation n'a pas eu d'effet sur la sécrétion d'insuline et de glucose de la descendance à 5 ou 30 mois (Oliver *et al.*, 2002). Par rapport aux études chez l'humain qui ont montré qu'une restriction, en particulier en fin de gestation, entraînait une insulino-résistance chez les adultes (Ravelli *et al.*, 1998; Painter *et al.*, 2005), les résultats chez les petits ruminants sont plus contrastés.

La réactivité émotionnelle de la progéniture a été testée avec les épreuves de l'environnement nouveau et de l'objet nouveau, qui sont couramment utilisées pour étudier la réactivité émotionnelle des animaux d'élevage (Forkman *et al.*, 2007). La restriction alimentaire maternelle en fin de gestation n'a pas modifié la réactivité émotionnelle de la progéniture, ce qui est en contradiction avec l'augmentation de la réactivité émotionnelle observée chez des moutons âgés de 18 mois issus de mères restreintes en début de gestation (Erhard *et al.*, 2004) mais en cohérence avec les travaux de Simitzis *et al.* (2009) qui n'ont pas observé d'effets sur des agneaux de 2 à 5 mois issus de mères restreintes en début ou en milieu de gestation.

Bien que la restriction n'ait pas eu d'effet sur la réactivité émotionnelle des animaux, une augmentation plus forte de la concentration en cortisol (aire sous la courbe et concentration au pic) a été observée après injection d'ACTH chez les chèvres issues de

mères restreintes. Ce résultat est à prendre avec précaution du fait du faible nombre d'individus étudiés. Les études sur la restriction en début et milieu de gestation montrent que, les animaux issus d'animaux restreints ont une concentration en ACTH augmentée suite à une injection de CRH et AVP (Hawkins *et al.*, 2000; Bloomfield *et al.*, 2003). Hawkins *et al.* (2000) ont également trouvé des concentrations en cortisol augmentées mais pas Bloomfield *et al.* (2003). Ces derniers concluent à une sensibilité altérée des surrénales et Hawkins *et al.* (2000) relie leurs résultats au poids plus élevé des surrénales des animaux issus de mères restreintes. On pourrait donc s'attendre à une modification du fonctionnement des surrénales chez les chèvres issues de chèvres restreintes par rapport aux témoins. N'ayant pas pu prélever les surrénales des chèvres, cette hypothèse est difficile à vérifier. Néanmoins, une augmentation du poids des surrénales a été observée chez les mâles âgés de 6 semaines issus des mêmes mères que ces femelles. Il faut noter qu'aucune différence de concentration en cortisol basal n'a été observée entre les chèvres issues de mères restreintes et les témoins.

Les chèvres issues de mères restreintes passaient plus de temps à manger et ingéraient de plus grandes quantités que les témoins. La différence de quantités ingérées entre les chèvres issues de mères restreintes et témoins a augmenté entre 12 et 21 mois et est passée d'une différence d'environ 1 g MS/kg PV à une différence de 4 g MS/kg PV. Malgré le changement de stade physiologique entre les 2 périodes (gestation à 12 mois, gestation et lactation à 21 mois), nous avons observé les mêmes résultats aux deux stades (augmentation des quantités ingérées chez les chèvres issues de mères restreintes). De plus, ces résultats sont cohérents entre les tests d'interaction entre le stress et le comportement alimentaire et l'étude du comportement alimentaire pendant 24h. A 12 mois, les chèvres issues de mères restreintes mangeaient plus rapidement que les témoins et mettaient plus de temps avant de manger à des vitesses très faibles ou nulles. Ce résultat sur les vitesses d'ingestion n'est cependant pas retrouvé à 21 mois, d'autant plus que les chèvres mettent plus de temps à ingérer 50% de leur ration.

Des différences de comportement alimentaire similaires ont été retrouvées chez les rongeurs et sont associées à des changements d'expression des neuropeptides régulateurs de la prise alimentaire. Des rongeurs issus de femelles restreintes en gestation et en lactation, et élevés avec un régime classique, présentaient une hyperphagie accompagnée d'une diminution de l'expression hypothalamique des peptides anorexigènes CART et POMC, et d'une augmentation de l'expression des peptides orexigènes AgRP et NPY, chez les jeunes âgés de 35 et 60 jours (Orozco-Sólis *et al.*, 2009) et à 22 et 25 semaines (Coupé *et al.*, 2009) mais pas chez les animaux plus âgés.

Un autre facteur qui peut jouer sur l'ingestion est la taille du tractus digestif. En effet, une étude a montré une diminution du poids du tractus digestif foetal suite à une restriction maternelle en fin de gestation (Oliver *et al.*, 2001). Les quantités ingérées par les animaux issus de mères restreintes pendant la gestation seraient plus faibles car le poids du

tractus digestif serait diminué (Geraseev *et al.*, 2006; Sébert *et al.*, 2009). Dans nos expériences, nous ne savons pas si c'est le cas.

Female born to feed restricted goats remained lighter and had a lower BCS than females born to control goats throughout the experimental period. Metabolic parameters did not differ between the two groups. Despite no difference in emotional reactivity between groups, a modification of the HPA axis reactivity was observed with a higher cortisol response in goats born to feed restricted goats compared to control goats. This result suggests that goats born to feed restricted dams may have modified adrenals. It is interesting to note that heavier adrenals were found in male kids born to the same dams. Goats born to feed restricted dams ate greater quantities than control goats at both 12 and 21 months of age at different physiological states (pregnancy, and pregnancy and lactation respectively).

**Tableau 3 :** Effets à long terme d'une restriction alimentaire pendant la gestation sur les paramètres zootechniques, métaboliques et comportementaux des chevrettes issues de chèvres restreintes en fin de gestation (n = 15) par rapport aux témoins (n = 17) entre la naissance et 2 ans. Les chèvres gestantes restreintes ont ingéré 70% de l'énergie ingérée par les témoins entre 90 jours de gestation et la mise-bas.

zootechnie	<ul style="list-style-type: none"> <li>↘ poids, en moyenne sur les 2 ans</li> <li>↘ note d'état corporel, en moyenne sur les 2 ans</li> </ul> <p>Pas de différence sur les mesures morphométriques ni sur la densité</p>
métabolisme	<p>Pas d'effet sur les concentrations en glucose, AGNE, insuline, leptine à la naissance et à 6, 12, 21 et 24 mois</p> <p>↗ pic de concentration en cortisol et aire sous la courbe après injection d'ACTH à 14 mois</p> <p>Pas de différence en concentration basale en cortisol à 18 mois</p> <p>Pas de différence sur les réponses de la glycémie et de l'insulinémie à un test de tolérance au glucose à 18 mois</p>



comportement	12 mois	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ quantité ingérée sur 24h, ↗ quantité ingérée sur 15h (tendance)</li> <li>↗ temps passé à ingérer dans le groupe 4 (vitesse d'ingestion de 12,7 g MS/min en moyenne). Pas de différence pour les autres groupes</li> <li>↗ latence pour atteindre le groupe 1 (vitesse d'ingestion de 0,1 g MS/min en moyenne)</li> <li>Pas d'effet sur le budget temps ni la réactivité émotionnelle</li> <li>Test d'interaction entre stress et prise alimentaire sans stress</li> <li>↗ temps passé à manger (tendance)</li> <li>↗ quantité ingérée sur 4h (tendance)</li> <li>↘ temps passé à ne rien faire</li> <li>↗ temps passé debout</li> <li>Test d'interaction entre stress et prise alimentaire après stress</li> <li>↗ temps passé à manger</li> <li>↘ latence pour ruminer</li> </ul>
	21 mois	<ul style="list-style-type: none"> <li>↗ quantité ingérée sur 15 et 24h</li> <li>↗ latence pour ingérer 50% de la quantité ingérée sur 24h</li> <li>↗ temps passé à ingérer dans le groupe 2 (vitesse d'ingestion de 1,1 g MS/min en moyenne)</li> <li>↘ temps passé à ingérer dans le groupe 1 (vitesse d'ingestion de 0,1 g MS/min en moyenne). Pas de différence pour les groupes 3 et 4.</li> </ul>

#### **4. RESTRICTION ALIMENTAIRE ET PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES**

Les chevreaux et chevrettes ont, semble-t-il, été peu touchés par les effets de la sous-nutrition au niveau des performances zootechniques. Les chevreaux mâles ont rapidement rattrapé leur différence de poids, et les différences de poids et d'état corporel entre chevrettes issues de chèvres restreintes et témoins n'étaient pas très importantes (2 kg de poids vif et 0,1 point d'état corporel). Concernant la qualité des carcasses, les chevreaux issus de mères restreintes étaient moins gras mais leur masse musculaire ne semblait pas altérée d'après les mesures au DXA. La diminution du nombre de fibres musculaires semble plutôt observée quand la restriction a lieu en début de gestation chez le mouton, au moment de la formation et de la différenciation des muscles plutôt que pendant le dernier tiers de la gestation (revue d'Ashworth *et al.*, 2009). En revanche, chez les ovins, la restriction en milieu-fin de gestation diminue la production de laine (revue d'Ashworth *et al.*, 2009).

Une des hypothèses était que la restriction en fin de gestation pouvait modifier le comportement alimentaire de la progéniture. Le comportement alimentaire est important en élevage puisque l'alimentation conditionne en grande partie les performances des animaux. Etant donné les faibles différences de quantités ingérées et de poids vif entre les chèvres issues de chèvres restreintes en gestation et les témoins, l'effet de la restriction sur l'ingestion semble toutefois assez limité. Il pourrait exister des différences de développement tissulaire, autre que le tissu adipeux ou musculaire, entre chevreaux issus de chèvres restreintes et chevreaux témoins. Il y aurait notamment un travail intéressant à réaliser sur le développement des compartiments gastriques, qui n'a pas encore été étudié suite à une restriction alimentaire maternelle, à notre connaissance.

In our experiments, maternal late-pregnancy feed restriction had little effect on growth performance and muscle mass was not decreased, probably because muscle ontogeny occurs earlier in gestation. However, it could be interesting to study digestive tract development.

## **5. MODULATION DES EFFETS DE LA RESTRICTION ALIMENTAIRE MATERNELLE SUR LA DESCENDANCE**

### **5.1. L'environnement pré-natal**

Comme chez les mères restreintes, il est difficile de quantifier la restriction alimentaire chez le fœtus. La restriction maternelle pourrait diminuer l'apport de nutriments et d'oxygène au fœtus. Une expérience chez la brebis a montré une diminution du flux sanguin utérin mais pas ombilical et une diminution de la captation en oxygène de l'unité utéro-placentaire suite à une restriction alimentaire maternelle de 8 à 20 jours à environ 110 jours de gestation (Chandler *et al.*, 1985). Cette expérience a également montré la diminution de la concentration artérielle en glucose chez la mère restreinte et le fœtus et une diminution de la captation du glucose dans l'utérus, l'ombilic et l'unité utéro-placentaire. Une autre expérience de restriction maternelle entre 115 et 145 jours de gestation a montré une diminution des concentrations plasmatiques fœtales en glucose et en insuline (Yuen *et al.*, 2002). Plusieurs auteurs ont observé une diminution de la masse de tissu adipeux chez les fœtus de mères restreintes en fin de gestation (Alexander, 1978; Symonds *et al.*, 1998), ce qui suggère que ces fœtus n'ont pas pu faire de réserve donc n'ont pas été suffisamment nourris et donc ont dû présenter un déficit énergétique par rapport aux témoins.

Une autre hypothèse est que la protection du fœtus face aux glucocorticoïdes maternels serait altérée. Dans le cas d'une gestation sans restriction alimentaire maternelle, l'enzyme 11  $\beta$ -HSD2 protège le fœtus d'une augmentation de la concentration en cortisol

en transformant le cortisol maternel en cortisone inactive au niveau du placenta (Seckl *et al.*, 1995). Dans le cas d'une sous-nutrition chez l'ovine, il a été montré que l'expression de la 11  $\beta$ -HSD2 (Whorwood *et al.*, 2001) et son activité diminuent lorsque la restriction alimentaire dure plus de 50 jours (McMullen *et al.*, 2004). Cependant, le ratio cortisol : cortisone ne semble pas être modifié (McMullen *et al.*, 2004).

Enfin, il est possible que des mécanismes épigénétiques soient responsables des modifications observées (Lewis *et al.*, 2006; Sinclair et Singh, 2007). Les études chez le rat, montrent que l'alimentation maternelle avant et pendant la gestation peut programmer le développement fœtal par des changements de méthylation de l'ADN à des loci spécifiques, et que ces changements sont transmissibles à la descendance (Sinclair et Singh, 2007). Une autre cible des groupements méthyle peut être la modification des histones, les protéines autour desquelles est enroulé l'ADN (Parnet *et al.*, 2007). Les groupements méthyle qui sont ajoutés sur l'ADN ou les histones proviennent des nutriments, plus ou moins riches en groupements méthyle. Chez l'homme, il a été montré qu'il existe une variabilité individuelle de réponse métabolique à la présence de ces groupements méthyle (Sinclair et Singh, 2007). Une expérience chez le mouton dans laquelle l'apport de vitamines B (riches en groupements méthyle) avait été restreint chez les femelles en période péri-implantatoire, a montré une altération de la méthylation chez les agneaux (Sinclair *et al.*, 2007).

La restriction alimentaire maternelle, dans nos expériences, a visiblement touché la croissance fœtale puisqu'à la naissance, le poids et la taille des chevreaux issus de chèvres restreintes étaient inférieurs à ceux des chevreaux témoins. Cependant, il nous est impossible de savoir si cette modification est la conséquence d'une sous-nutrition fœtale, d'une hypoxie, d'une augmentation de la concentration en glucocorticoïdes chez le fœtus ou plus probablement, d'une combinaison de plusieurs facteurs.

Some studies have shown that maternal feed restriction in late pregnancy led to impaired uterine blood flow, oxygen and glucose uptake both in the utero-placental unit and the foetus. Another explanation of modifications observed in offspring could be a rise in glucocorticoid concentrations in the foetus, although this has not been demonstrated in ruminants. Epigenetic mechanisms may also account for the effects of maternal feed restriction in offspring.

## 5.2. L'environnement post-natal

Dans nos expériences, les animaux ont été élevés dans des conditions d'élevage classiques. Cependant d'autres expériences ont montré que certaines conditions de vie pourraient potentialiser ou au contraire masquer les effets de la restriction maternelle en gestation.

### 5.2.1. Environnement social

A court terme, la restriction alimentaire maternelle n'a eu aucun effet sur le comportement alimentaire du jeune. L'une des explications pourrait être que l'environnement social a masqué les effets de la restriction alimentaire maternelle. En effet, un jeune agneau, élevé avec un aliment d'allaitement, est généralement suivi de 2 ou 3 congénères lorsqu'il va téter (Stephens et Baldwin, 1971). Cette synchronisation des activités alimentaires est également observée pour les agneaux élevés sous la mère d'une même portée, qui apprennent à s'attendre pour aller téter (Ewbank, 1967; Mandiki *et al.*, 1989). La synchronisation des tétées augmente avec l'âge (Annexe 1).

Chez les jeunes élevés en groupe, une compétition pour les tétines existe. Il n'est pas rare qu'un agneau cherche à téter à la même tétine qu'un congénère alors que des tétines inoccupées sont disponibles (Stephens et Baldwin, 1971). Ce phénomène a été observé lors de l'expérience préliminaire réalisée sur le comportement alimentaire de 31 chevreaux à 2, 3 et 5 semaines (Annexe 1). Les tétées peuvent être interrompues parce que l'animal a été poussé par un congénère qui lui prend sa place à la tétine. Ainsi, les chevreaux se sont fait pousser en moyenne 10 fois sur 12h d'observation à 2 semaines et 8 fois pour les 2 autres périodes d'observation (données non montrées). Ce phénomène a été limité dans les deux expériences présentées dans la thèse par l'installation de stalles individuelles donnant accès à la tétine. Une compétition pour les tétines était quand même observée, ce qui a pu perturber le comportement spontané des jeunes et masquer les différences de comportement liées à la restriction des mères pendant la gestation.

Des mesures de comportement des chevreaux en cases individuelles auraient peut-être permis de révéler les effets de la restriction alimentaire maternelle, comme cela a été le cas chez les chèvres adultes et dans l'étude sur des agneaux issus de femelles restreintes en fin de gestation élevés en cases individuelles avec un aliment d'allaitement (Geraseev *et al.*, 2006). D'un point de vue méthodologique, il serait également intéressant de pouvoir mesurer la consommation de lait individuelle durant toute la période postnatale, ou au moins plusieurs fois au cours des premières semaines de vie. En effet, les différences de comportement d'ingestion entre chevrettes issues de chèvres restreintes et témoins ont été détectées à partir de 4 jours consécutifs de mesures à chaque période (12 et 21 mois). L'évaluation du budget-temps sur 24h n'a pas mis en évidence la différence de comportement alimentaire trouvée en analysant les vitesses d'ingestion. Il n'a pas été possible de mesurer l'ingestion des chevreaux plusieurs fois dans les expériences présentées ici car l'analyse du comportement sur les vidéos et la mise en parallèle avec les mesures de quantités de lait ingérées (seaux sur balances) prend un temps considérable. La mise en place d'un système de reconnaissance individuelle des animaux associé à la mesure de la consommation d'aliment d'allaitement permettrait de résoudre ce problème et d'augmenter les données disponibles sur le comportement alimentaire des chevreaux suite à une restriction alimentaire maternelle.

### 5.2.2. Conduite d'élevage

L'habituation et la manipulation des chevreaux dès la naissance et régulièrement jusqu'à l'âge adulte a pu réduire la réactivité émotionnelle des chevreaux, y compris des chevreaux issus des chèvres restreintes. Des études chez le rat (Núñez *et al.*, 1997) et le cheval (Fureix *et al.*, 2009) montrent que les manipulations en période néonatale et ultérieurement réduisent la réactivité émotionnelle des animaux. Ceci pourrait expliquer l'absence de différence de réactivité émotionnelle entre les chevreaux issus de chèvres restreintes en gestation et les chevreaux témoins. En effet, dès la naissance, les chevreaux sont retirés à la mère et nourris au biberon les premiers jours. Ensuite, les animaux sont habitués à des seaux multi-tétines puis à un distributeur automatique de lait sous la surveillance constante des animaliers. Les enclos sont paillés régulièrement, les femelles sont pesées toutes les semaines dès l'âge de 3 semaines et sont traitées 2 fois par jour à l'âge adulte. Les animaux sont donc très régulièrement en contact avec les humains et sont habitués à être manipulés dès la naissance.

### 5.2.3. Alimentation post-natale

Les chevreaux ont été alimentés de la même façon que les chevreaux à l'engraissement, c'est-à-dire avec un aliment d'allaitement contenant 23,5% de protéines et 24% de lipides. Ce régime n'a peut-être pas favorisé l'apparition de différences entre les chevreaux issus de mères restreintes et les chevreaux témoins. Certains auteurs ont soumis des agneaux sevrés témoins et des agneaux issus de mères restreintes en milieu de gestation (30 à 80 jours de gestation) à un régime qualifié d'obésogène c'est-à-dire avec une activité physique restreinte et une alimentation riche en concentré distribuée à volonté. Après 10 mois et demi de ce régime, tous les animaux étaient plus lourds et plus gras que les témoins à l'âge d'un an (agneaux décrits comme obèse par les auteurs). A cet âge, les agneaux issus de mères restreintes et nourris avec ce régime riche en concentré ingéraient moins d'aliment quotidiennement que les témoins (Sébert *et al.*, 2009). Après 6 mois sous un régime obésogène semblable, d'autres moutons de 2 ans, témoins et issus de mères restreintes (de 1 à 65 ou de 65 à 128 jours de gestation), avaient pris du poids et avaient engraisé, mais aucune différence d'ingestion quotidienne n'a été observée entre les animaux des deux groupes (Rhodes *et al.*, 2009).

Au niveau métabolique, Rhodes *et al.* (2009) n'ont pas constaté de différence de concentrations en insuline et glucose entre moutons issus de mères restreintes et moutons témoins lors d'un test de tolérance au glucose et lors d'un test de tolérance à l'insuline. Lorsque ces animaux ont été exposés 6 mois à un régime qualifié d'obésogène, les moutons issus de mères restreintes ont sécrété plus d'insuline que les témoins lors d'un test de tolérance au glucose, montrant une intolérance au glucose. Sébert *et al.* (2009) ont trouvé une augmentation de la concentration en insuline en conditions basales chez des moutons issus de mères restreintes et sous régime obésogène mais pas de

différence entre les deux groupes d'animaux dans un test de tolérance à l'insuline. Ces résultats incitent à penser que le régime obésogène favoriserait l'apparition d'une résistance à l'insuline. Dans l'expérience de Rhodes *et al.* (2009) seul le régime obésogène a induit une perturbation du métabolisme glucidique. Les résultats de tests de tolérance au glucose chez des moutons issus de mères restreintes et élevés en conditions classiques sont contradictoires (voir partie 3)

Effects of maternal feed restriction on kids' behaviour and metabolism may have been hidden because of the kids' social environment. Indeed, the presence of peers can change kid behaviour and kids reared in groups tend to synchronize their activities. Some experiments have shown that differences, between offspring born to feed restricted dams and offspring born to controls, only appear when both groups were raised in obesogenic conditions (food *ad libitum* and restricted pen size). In the present experiments, the diets given to kids were not obesogenic.

### 5.3. L'individu

#### 5.3.1. Effet sexe

Contrairement à ce qui avait été observé à la naissance dans la première expérience de cette thèse, dans la deuxième, aucune interaction entre régime alimentaire maternel pendant la gestation et sexe de la progéniture n'a été observée. Pourtant, de nombreuses études montrent une interaction. Une revue récente a recensé les différences de programmation fœtale selon le sexe de la progéniture concernant les maladies cardiovasculaires (Grigore *et al.*, 2008). Chez les rats, une restriction au moment de l'implantation provoquait une hypertension chez les descendants adultes mâles mais pas chez les femelles (Grigore *et al.*, 2008). Chez les rats issus de mères restreintes en début de gestation, les femelles étaient plus grasses, et la cascade de signalisation de l'insuline était altérée au niveau de l'hypothalamus (Sardinha *et al.*, 2006). Chez les rats descendants de rattes restreintes toute la gestation ou en fin de gestation, les ingestions étaient augmentées ou diminuées chez les femelles mais pas chez les mâles (Bellinger *et al.*, 2004; Bellinger et Langley-Evans, 2005; Bellinger *et al.*, 2006).

Chez le mouton, il a été montré qu'une restriction alimentaire maternelle en début de gestation provoquait une réponse plus importante de l'axe corticotrope chez les agnelles issues de mères restreintes mais pas chez les mâles (Gardner *et al.*, 2006). Les capacités d'apprentissage ont été réduites chez les mâles mais pas chez les femelles (Erhard *et al.*, 2004). Récemment, une étude chez le mouton a montré que la sécrétion d'insuline était augmentée préférentiellement chez les agneaux mâles issus de mères restreintes en fin de gestation et soumis à un régime obésogène (Rhodes *et al.*, 2009).

Il semble que l'augmentation des hormones stéroïdiennes au moment de la puberté contribue fortement à révéler les différences entre animaux sous-nourris pendant la vie fœtale par rapport aux animaux témoins. Les interactions entre régime alimentaire maternel pendant la gestation et sexe de la progéniture pourraient n'apparaître qu'à la puberté. Ceci expliquerait aussi pourquoi de nombreux effets d'une restriction alimentaire *in utero* ne sont observés qu'à l'âge adulte, et qu'aucune interaction entre le sexe et le traitement n'ait été mise en évidence lors de la deuxième expérimentation. Un des mécanismes expliquant la différence des effets de la sous-nutrition pendant le développement entre les sexes pourrait être relié à la sécrétion importante de testostérone chez le mâle et d'œstrogènes chez la femelle. Il a été montré qu'une insuffisance placentaire pendant la vie fœtale entraînait une hypertension et des concentrations en testostérone très élevées chez les mâles. La testostérone contribue à l'hypertension probablement en mettant en jeu le système rénine-angiotensine (Grigore *et al.*, 2008). Chez la femelle, les œstrogènes auraient au contraire un effet protecteur contre l'hypertension (Grigore *et al.*, 2008). Cependant, il existe également de nombreuses différences dans le développement des mâles et des femelles avant la puberté. Chez l'humain, Les protéines exprimées dans les placentas et cordons ombilicaux diffèrent selon le sexe du fœtus (revue de Clifton, 2010). De plus, les fœtus mâles et femelles ne répondent pas de la même façon à une perturbation du développement (pré-éclampsie, asthme) (Clifton, 2010). Des expressions différentielles de gènes selon le sexe existent dès le stade blastocyste chez le bovin, les chromosomes sexuels imposant la régulation de l'expression des autosomes (Bermejo-Alvarez *et al.*, 2010).

### 5.3.2. Effet de la taille de portée

Des différences de taille et de poids en fonction de la taille de portée ont été observées chez nos chevreux : les chevreux de portée triple étaient plus petits que ceux de portée double. Certains résultats sur le métabolisme allaient également dans le même sens : la glycémie des triples était inférieure à celle des doubles à 1 et 3 semaines et à 5 semaines l'insulinémie tendait à être inférieure (chapitre 3). Des études chez les ruminants mettent en évidence des différences entre les animaux issus de portée simple et double mais peu de données sont disponibles sur les portées triples, qui sont pourtant assez fréquemment rencontrées chez les races de chèvres Saneen et Alpine, et certaines races ovines comme les Romanov.

Alexander (1978) a montré qu'en fin de gestation, les brebis porteuses d'un agneau simple avaient plus de tissu adipeux que les porteuses de jumeaux et le même résultat a été constaté chez leurs fœtus : les simples avaient plus de tissu adipeux que les jumeaux. En fin de gestation, chez les brebis, les concentrations en glucose et insuline étaient plus faibles chez les fœtus jumeaux par rapport aux simples et les fœtus jumeaux étaient plus petits et plus légers que les simples (Rumball *et al.*, 2008). On trouve également des différences au niveau des placentas. La taille du placenta est corrélée à la taille de portée

(Konyali *et al.*, 2007) et est donc plus faible chez les jumeaux que chez les simples (Rumball *et al.*, 2008). Les structures qui permettent les échanges gazeux et nutritifs entre mère et fœtus chez les ruminants, les placentomes, sont moins nombreux dans les placentas de jumeaux que dans les placentas de simples (Rumball *et al.*, 2008). La morphologie des placentomes évolue au fur et à mesure de la gestation et les placentas de jumeaux possèdent moins de placentomes matures de type C et D que les simples (Rumball *et al.*, 2008). Cette particularité permettrait un meilleur passage des nutriments en compensation de la taille réduite du placenta. De manière générale, plus la taille de portée augmente, plus le nombre de placentomes diminue mais leur taille augmente (revue de Gootwine *et al.*, 2007). Egalement, le flux sanguin utérin par fœtus est diminué dans les portées multiples par rapport aux portées simples (Gootwine *et al.*, 2007). Enfin, le fonctionnement de l'axe corticotrope serait altéré chez les jumeaux car les concentrations plasmatiques fœtales en ACTH et cortisol sont plus faibles ainsi que le pic de cortisol précédant la mise-bas, par rapport aux portées simples (Gootwine *et al.*, 2007).

Interactions between sex and maternal feed restriction during gestation were observed in one study but not in the other. Sex effects may appear only in adults, probably because of increased steroid hormone secretion and because males and females produce different hormones.

Our results in kids confirm that it is important to take litter size into account. Triplets remained smaller than twins and glycaemia was lower in triplets than twins at 1 and 5 weeks of age. Insulin concentrations at 5 weeks of age tended to be lower in triplets than twins.

## **6. PERSPECTIVES**

### **6.1. Effets sur le fœtus**

Dans cette thèse, des informations ont manqué sur le développement du fœtus et des annexes pendant la restriction alimentaire des chèvres. Nous avons montré que les chèvres restreintes mobilisaient plus leurs réserves que les témoins et perdaient du poids pendant la restriction, mais nous ne connaissons pas les répercussions de ces effets sur la physiologie et la morphologie fœtale et placentaire. Il aurait été intéressant de savoir si la diminution de la masse adipeuse abdominale observée chez le jeune chevreau issu de mère restreinte en fin de gestation apparaissait dès la vie fœtale. Aujourd'hui, des technologies pointues telles que l'échographie 3D permettent d'avoir des informations très précises sur le développement fœtal et placentaire. Au laboratoire, l'utilisation de l'échographie-doppler 3D quantitative vient d'être validée pour la mesure de la perfusion placentaire chez la brebis (Morel *et al.*, 2010). Dans d'autres centres de recherches, l'IRM



est maintenant utilisé pour obtenir des images des organes avec une précision proche de l'histologie. A l'avenir, ces méthodes pourront peut-être être utilisées dans des expérimentations telles que celles présentées ici et nous permettre de mieux appréhender l'impact de la restriction maternelle au niveau de l'unité foeto-placentaire.

In the present work, no information on the development of the foeto-placental unit could be obtained. The recent purchase and validation in our laboratory of the latest generation three-dimensional Doppler equipment will allow us to precisely measure foetal growth and placental perfusion in future work.

## 6.2. Alimentation et comportement alimentaire

Il serait intéressant de voir si, comme cela a été constaté chez les rats, la modification des quantités ingérées due à la restriction alimentaire maternelle en gestation, constatée dans notre expérience, est associée à des modifications de sécrétion des neuropeptides régulateurs de la faim et la satiété. La mise en parallèle de l'expression des neuropeptides hypothalamiques régulateurs de la prise alimentaire et de la prise alimentaire elle-même suite à une restriction alimentaire maternelle en gestation a rarement été faite chez les ruminants.

Il pourrait être envisagé de différencier les conséquences directes et indirectes de la restriction alimentaire maternelle, en faisant par exemple des adoptions croisées. Le protocole comprendrait 4 groupes d'animaux selon les conditions de vie intra-utérines (mère restreinte ou témoin) et postnatales (femelle allaitante restreinte ou témoin). L'un des possibles mécanismes de la programmation foetale serait qu'un décalage entre l'environnement ante- et postnatal provoquerait un développement altéré des animaux (predictive adaptative response) (Gluckman et Hanson, 2004). Ceci suggèrerait que les chevreaux issus d'une mère restreinte avec une restriction alimentaire pendant la vie postnatale ainsi que les chevreaux issus de mères témoins recevant un régime postnatal témoin n'auraient pas un développement altéré, contrairement aux deux autres groupes. Ce résultat a été observé chez le mouton suite à une restriction en début de gestation : seuls les groupes n'ayant pas eu le même niveau d'apport énergétique *in utero* et après la naissance présentaient un fonctionnement du système cardiovasculaire altéré (Cleal *et al.*, 2007). Cependant, les résultats étaient probablement biaisés du fait du déséquilibre important entre agneaux de portées simples et doubles entre les traitements (plus de jumeaux que de simples chez les agneaux issus de mères restreintes) comme l'ont noté Symonds et ses coauteurs (Symonds et Budge, 2009).

Pour mettre plus en évidence des modifications physiologiques et comportementales entre des chevreaux issus de mères restreintes et ceux issus de mères témoins, la

création d'une rupture plus importante entre l'environnement *in utero* et après la naissance pourrait être intéressante à mettre en place, avec notamment l'utilisation d'un aliment d'allaitement plus riche en lipides. Les expériences chez les rongeurs ont montré des modifications dans les consommations d'aliment chez les femelles issues de mères restreintes en gestation. Elles préféraient les régimes riches en graisse et en consommaient plus que les témoins si leur mère avait été restreinte pendant toute la gestation (Bellinger *et al.*, 2004). Si leur mère avait été restreinte seulement en début, milieu ou fin de gestation, les femelles consommaient moins de régime riche en graisse lorsqu'elles avaient le choix (Bellinger et Langley-Evans, 2005). Lorsqu'un régime classique était imposé, les femelles issues de femelles restreintes en fin ou sur la totalité de la gestation mangeaient moins que les témoins. Les mâles issus de femelles restreintes en milieu de gestation mangeaient plus que les témoins (Bellinger *et al.*, 2006).

Une autre hypothèse à vérifier, qui rejoint la proposition précédente consiste à penser que seules des conditions dites obésogènes entraîneraient une insulino-résistance suite à la restriction maternelle pendant la gestation.

Studies on both neuropeptide expression in hypothalamus and feeding behaviour are rare in ruminants.

It would be interesting to differentiate and characterize the direct and indirect effects of maternal feed restriction with cross-fostering for example. Variations in the composition of the postnatal diet could exacerbate the effects of maternal feed restriction.

### 6.3. Performances zootechniques

Les modifications de la production laitière n'ont pas été étudiées dans nos expériences mais il a été montré que la production laitière était diminuée dans des études de restriction alimentaire en fin de gestation et en début de lactation (Celi *et al.*, 2008) ou bien en fin de gestation uniquement (Tygesen *et al.*, 2008) chez la chèvre. Les taux protéiques et butyreux et la concentration en lactose du lait ne semblent pas modifiés chez la chèvre (Celi *et al.*, 2008). En revanche, une étude chez la brebis a montré une baisse de la quantité de colostrum produite et de la concentration en lactose du colostrum, probablement dues à la baisse de concentration en glucose plasmatique des brebis restreintes (70% des besoins couverts les 2 derniers mois de gestation) (Banchemo *et al.*, 2006).

Physiologiquement, la concentration plasmatique en progestérone chute fortement en fin de gestation (Delouis et Richard, 1991). Cette chute est essentielle pour la production de lactose et donc pour l'initiation de la lactation. Chez les brebis restreintes, Banchemo *et al.* n'ont pas observé cette chute, alors qu'elle a été observée chez les témoins, probablement car les concentrations en progestérone observées en fin de gestation chez

les brebis restreintes étaient déjà basses par rapport à celles chez les témoins. L'augmentation de la concentration en prolactine est également essentielle pour la synthèse des composants du lait (Delouis et Richard, 1991) et sa concentration est diminuée en fin de gestation par la restriction alimentaire (Banchero *et al.*, 2006). De plus, l'insuline stimule la sécrétion d'IGF-1. Ces deux hormones sont impliquées dans le développement des mamelles et la galactopoïèse. Or, dans le cas d'une restriction alimentaire, les concentrations en insuline sont diminuées (Banchero *et al.*, 2006). Nous avons également constaté une diminution de la glycémie et de l'insulinémie chez nos chèvres restreintes. Il serait donc intéressant d'étudier les conséquences de la restriction alimentaire sur leur production laitière à court et probablement à moyen terme.

Une baisse de production de colostrum chez les femelles restreintes en fin de gestation (Banchero *et al.*, 2006) pourrait également compromettre la survie des jeunes. En effet, la protection immunitaire du nouveau-né est dépendante du transfert passif des immunoglobulines via le colostrum. Ce transfert passif d'immunité défectueux peut également résulter de la diminution de la vigueur constatée chez des nouveau-nés issus de femelles restreintes (Terrazas *et al.*, 2009). Les effets d'une restriction maternelle sur le développement de l'immunité ont très peu été étudiés chez les ruminants (revue d'Ashworth *et al.*, 2009). Des études complémentaires pourraient être envisagées en relation avec les conséquences d'une sous-nutrition sur la qualité et quantité de colostrum, ainsi que sur les conséquences sur le transfert passif à la progéniture.

Les effets sur la reproduction de la progéniture représentent un enjeu important pour l'élevage. La plupart des auteurs se sont intéressés au début de la gestation (revue de Chavatte-Palmer *et al.*, 2008a), mais quelques travaux se sont intéressés à la fin de gestation et rapportent les effets d'une restriction en fin de gestation (65-110 jours de gestation) sur le développement des ovaires, en particulier des follicules ovariens chez les fœtus ovins (Rae *et al.*, 2001). Chez les fœtus mâles, cette restriction maternelle en fin de gestation n'a pas affecté la taille des testicules ou la concentration de testostérone (Rae *et al.*, 2002). La période critique de développement, durant laquelle une perturbation aurait des conséquences sur la reproduction des femelles, serait entre 30-35 et 110 jours de gestation. Au-delà, la folliculogénèse est terminée et le nombre de follicules ovariens est fixé (Rhind *et al.*, 2001). Chez les mâles la période critique est moins bien délimitée puisque l'appareil reproducteur se développe en début de gestation (30-35 jours) et les cellules de Sertoli continuent à se multiplier jusqu'à environ 8 semaines après la naissance chez l'agneau (Rhind *et al.*, 2001). Cependant, l'axe hypothalamo-hypophysaire est impliqué dans la régulation de la reproduction et la maturation de cet axe a lieu en fin de gestation chez le mouton (Matthews et Challis, 1996). Une restriction en fin de gestation pourrait probablement avoir des conséquences sur la reproduction.

A la puberté, les hormones sexuelles augmentent dans la circulation sanguine. Ces hormones expliquent en partie l'effet sexe observé chez les adultes. Il serait donc

intéressant de comparer mâles et femelles au moment ou juste après la puberté. De plus, les circuits de régulation de la reproduction, et ceux de la prise alimentaire ou plus généralement de la balance énergétique, ont des éléments communs et interagissent. Les structures cérébrales comme l'hypothalamus et les noyaux du tronc cérébral interviennent dans les deux systèmes (Qi *et al.*, 2008). Les études réalisées chez l'humain et les rongeurs ont montré une baisse d'ingestion pendant la période autour de l'ovulation (revue d'Asarian et Geary, 2006). Les mécanismes précis sont encore inconnus, mais il semblerait que les variations d'ingestion au cours du cycle chez la femelle soient dues à l'action de l'œstradiol soit directement au niveau du cerveau soit via des peptides ou des hormones tels que la CCK, l'insuline, la ghréline et la leptine (revue d'Asarian et Geary, 2006). Chez les rats, l'œstradiol n'a un effet inhibiteur sur la prise alimentaire qu'après la puberté (revue d'Asarian et Geary, 2006). Une étude sur les interactions entre sexe de la progéniture et restriction maternelle en gestation sur des animaux adultes apporterait des informations intéressantes. Un travail sur les interactions entre reproduction, comportement alimentaire et neurophysiologie de l'hypothalamus suite à la restriction alimentaire maternelle serait original.

Maternal feed restriction in late-pregnancy can have a negative effect on reproduction. The amount of milk and colostrum produced and the concentrations of hormones involved in lactation were affected in some studies in goats and sheep. This may have negative consequences on the passive immunisation of offspring at birth and therefore their survival. Moreover, maternal feed restriction can impair offspring vigour and therefore may decrease colostrum intake and passive immunity. However, offspring immunity after maternal feed restriction has rarely been investigated in ruminants.

Reproduction may be impaired both in males and females. Maternal feed restriction in mid-late-pregnancy resulted in impaired ovary development but had no effect in males. Effects of maternal restriction during late-pregnancy on reproduction in offspring have rarely been studied.

Sex hormones increase at puberty revealing sex differences in behaviour and physiology of offspring born to feed restricted dams. Moreover, brain structures regulating intake (including the hypothalamus) are also involved in regulation of reproduction. It would be interesting to investigate sexual physiology differences in kids born to feed restricted goats in parallel with the hypothalamic changes and feed intake as a result of maternal feed restriction.

## 7. CONCLUSIONS

Les expériences de cette thèse ont d'abord permis d'approfondir les connaissances sur les effets d'une restriction alimentaire chez la femelle en gestation. En effet, les travaux de la littérature portent surtout sur la descendance. Les conséquences comportementales d'une restriction alimentaire étaient peu connues jusqu'à maintenant.

A court terme, la restriction maternelle a eu peu d'influence sur le jeune. A part une diminution de la taille et du poids de naissance qui ont rapidement disparu, aucune modification durable du métabolisme et du comportement alimentaire n'a été observée. Les tests ponctuels de réaction suite à un stress (épreuves de l'environnement et de l'objet nouveau, épreuve de vitesse d'ingestion en situation stressante) n'ont pas révélé de différences entre les animaux issus de chèvres restreintes et les témoins.

A plus long terme, sur 2 ans, il apparaît que les femelles issues de mères restreintes restent plus légères et ont un état corporel inférieur par rapport aux témoins. Bien qu'aucun effet n'ait été observé sur le métabolisme et sur la réactivité émotionnelle en situation d'isolement et de nouveauté, la réactivité de l'axe corticotrope suite à un stress mimé par l'injection d'ACTH a été modifiée : la sécrétion de cortisol a augmenté chez les animaux issus de mères restreintes. Une augmentation modérée mais durable des quantités ingérées a été constatée chez les animaux issus de mères restreintes. Ces expériences confirment donc que les effets de la restriction maternelle en gestation sont majoritairement visibles à l'âge adulte chez la descendance.

Il reste des questions quant aux mécanismes mis en jeu. Par exemple, concernant le comportement alimentaire, aucune étude chez le ruminant (à notre connaissance) n'a pris en compte à la fois les modifications comportementales et des systèmes de régulation de la prise alimentaire. Est-ce que l'augmentation d'ingestion constatée chez les chèvres issues de chèvres restreintes en gestation est liée à une augmentation de la taille du tractus digestif ? A une augmentation de l'expression des peptides orexigènes et une diminution des peptides anorexigènes ?

Des questions demeurent sur les effets de différents régimes en période postnatale suite à la restriction alimentaire maternelle en gestation. Est-ce que certains régimes exacerbent ou au contraire diminuent les différences observées entre les animaux issus de mères restreintes et les témoins ?

Cette thèse a apporté des informations pratiques pour l'élevage et l'expérimentation, et a amélioré les connaissances sur les effets d'une restriction alimentaire chez les caprins et leur descendance. Conformément aux résultats obtenus chez d'autres espèces, seuls quelques effets sont visibles à la naissance, les effets étant plutôt visibles à l'âge adulte. Aujourd'hui, il manque d'une part des expériences qui recherchent les mécanismes

responsables de ces modifications et d'autre part des expériences qui caractérisent les paramètres qui influencent ces modifications.

This Ph.D. has provided more information on the practical consequences of feed restriction in the last third of gestation on metabolism and behaviour of goats and their offspring. A few small effects have been found in young kids but larger long-term effects are seen mainly in adult females born to feed restricted goats. More research is needed on factors modulating these effects (postnatal diet for example) and the underlying mechanisms.



**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**





- Abijaoudé, J. A., Morand-Fehr, P., Tessier, J., Schmidely, P., et Sauvant, D. 2000a. Diet effect on the daily feeding behaviour, frequency and characteristics of meals in dairy goats. *Livestock Production Science* 64: 29-37.
- Abijaoudé, J. A., Morand Fehr, P., Tessier, J., Schmidely, P., et Sauvant, D. 2000b. Contribution of main and secondary meals to the daily intake of stall-housed dairy goats in mid lactation. *Options méditerranéennes Ser. A* 52: 33-37.
- Adam, C. L., Findlay, P. A., Chanet, A., Aitken, R. P., Milne, J. S., et Wallace, J. M. 2008. Expression of energy balance regulatory genes in the developing ovine fetal hypothalamus at midgestation and the influence of hyperglycemia. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 294: R1895-R1900.
- Alexander, G. 1978. Quantitative development of adipose tissue in foetal sheep. *Australian Journal of Biological Sciences* 31: 489-503.
- Amer, H. A. 2010. Ultrasonographic assessment of early pregnancy diagnosis, fetometry and sex determination in goats. *Animal Reproduction Science* 117: 226-231.
- Armitage, J. A., Khan, I. Y., Taylor, P. D., Nathanielsz, P. W., et Poston, L. 2004. Developmental programming of the metabolic syndrome by maternal nutritional imbalance: How strong is the evidence from experimental models in mammals? *Journal of Physiology* 561: 355-377.
- Asarian, L., et Geary, N. 2006. Modulation of appetite by gonadal steroid hormones. *Philosophical Transactions of the Royal Society of Biological Sciences* 361: 1251-1263.
- Ashworth, C. J., C.M., D., McEvoy, T. G., Rooke, J. A., et Robinson, J. J. 2009. The impact of in utero nutritional programming on small ruminant performances. *Options méditerranéennes* 85: 337-349.
- Avila, C. G., et Harding, R. 1991. The development of the gastrointestinal system in fetal sheep in the absence of ingested fluid. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 12: 96-104.
- Baile, C. A., et Della-Fera, M. A. 1981. Nature of hunger and satiety control systems in ruminants. *Journal of Dairy Science* 64: 1140-1152.
- Bajhau, H. S., et Kennedy, J. P. 1990. Influence of pre- and postpartum nutrition on growth of goat kids. *Small Ruminant Research* 3: 227-236.
- Banchero, G. E., Perez Clariget, R., Bencini, R., Lindsay, D. R., Milton, J. T., et Martin, G. B. 2006. Endocrine and metabolic factors involved in the effect of nutrition on the production of colostrum in female sheep. *Reproduction Nutrition Development* 46: 447-460.
- Banon, S., Vila, R., Price, A., Ferrandini, E., et Garrido, M. D. 2006. Effects of goat milk or milk replacer diet on meat quality and fat composition of suckling goat kids. *Meat Science* 72: 216-221.
- Barker, D. J., et Clark, P. M. 1997. Fetal undernutrition and disease in later life. *Reviews of Reproduction* 2: 105-112.
- Barker, D. J. P. 1997. Maternal nutrition, fetal nutrition, and disease in later life. *Nutrition* 13: 807-813.
- Barroso, F. G., Alados, C. L., et Boza, J. 2000. Social hierarchy in the domestic goat: Effect on food habits and production. *Applied Animal Behaviour Science* 69: 35-53.
- Bas, P., Rouzeau, A., et Morand-Fehr, P. 1985. [weight and metabolism of lipid reserves during the growth of kids]. *Reproduction Nutrition Development* 25: 275-285.
- Bas, P., Rouzeau, A., et Morand-Fehr, P. 1986. [lipogenesis in adipose tissues of kids weaned at 4, 6, and 8 weeks]. *Reproduction Nutrition Development* 26: 649-658.
- Batalha, E. S., Sulon, J., Figueiredo, J. R., Beckers, J. F., Martins, G. A., et Silva, L. D. M. 2001. Relationship between maternal concentrations of caprine pregnancy-associated glycoprotein in alpine goats and the number of fetuses using a homologous radioimmunoassay. *Small Ruminant Research* 42: 105-109.

- Baumont, R., Dulphy, J. P., et Demarquilly, C. 1997. Maximiser l'ingestion de fourrages conservés. 4èmes Rencontres Recherches Ruminants.
- Bellinger, L., et Langley-Evans, S. C. 2005. Fetal programming of appetite by exposure to a maternal low-protein diet in the rat. *Clinical Science* 109: 413-420.
- Bellinger, L., Lilley, C., et Langley-Evans, S. C. 2004. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for high-fat foods in the young adult rat. *British Journal of Nutrition* 92: 513-520.
- Bellinger, L., Sculley, D. V., et Langley-Evans, S. C. 2006. Exposure to undernutrition in fetal life determines fat distribution, locomotor activity and food intake in ageing rats. *International Journal of Obesity* 30: 729-738.
- Benham, P. F. J. 1982. Synchronization of behaviour in grazing cattle. *Applied Animal Ethology* 8: 403-404.
- Bermejo-Alvarez, P., Rizos, D., Rath, D., Lonergan, P., et Gutierrez-Adan, A. 2010. Sex determines the expression level of one third of the actively expressed genes in bovine blastocysts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the U S A* 107: 3394-3399.
- Bertram, C. E., et Hanson, M. A. 2001. Animal models and programming of the metabolic syndrome. *British Medical Bulletin* 60: 103-121.
- Bertram, C. E., et Hanson, M. A. 2002. Prenatal programming of postnatal endocrine responses by glucocorticoids. *Reproduction* 124: 459-467.
- Blache, D., Tellam, R. L., Chagas, L. M., Blackberry, M. A., Vercoe, P. E., et Martin, G. B. 2000. Level of nutrition affects leptin concentrations in plasma and cerebrospinal fluid in sheep. *Journal of Endocrinology* 165: 625-637.
- Bloomfield, F. H., Oliver, M. H., Giannoulis, C. D., Gluckman, P. D., Harding, J. E., et Challis, J. R. G. 2003. Brief undernutrition in late-gestation sheep programs the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in adult offspring. *Endocrinology* 144: 2933-2940.
- Blum, J. W. 2006. Nutritional physiology of neonatal calves. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90: 1-11.
- Blundell, J. E., et Halford, J. C. G. 1994. Regulation of nutrient supply: The brain and appetite control. *Proceedings of the Nutrition Society* 53: 407-418.
- Borwick, S. C., Rae, M. T., Brooks, J., McNeilly, A. S., Racey, P. A., et Rhind, S. M. 2003. Undernutrition of ewe lambs in utero and in early post-natal life does not affect hypothalamic-pituitary function in adulthood. *Animal Reproduction Science* 77: 61-70.
- Brockman, R. P., et Laarveld, B. 1986. Hormonal regulation of metabolism in ruminants; a review. *Livestock Production Science* 14: 313-334.
- Buchbinder, A., Lang, U., Baker, R. S., Khoury, J. C., Mershon, J., et Clark, K. E. 2001. Leptin in the ovine fetus correlates with fetal and placental size. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 185: 786-791.
- Bungo, T., Shimojo, M., Nakano, Y., Okano, K., Masuda, Y., et Goto, I. 1998. Relationship between nursing and suckling behaviour in tokara native goats. *Applied Animal Behaviour Science* 59: 357-362.
- Burrin, D. G., Stoll, B., et Guan, X. 2003. Glucagon-like peptide 2 function in domestic animals. *Domestic Animal Endocrinology* 24: 103-122.
- Burt, B. E., Hess, B. W., Nathanielsz, P. W., et Ford, S. P. 2007. Flock differences in the impact of maternal dietary restriction on offspring growth and glucose tolerance in female offspring. *Society of Reproduction and Fertility supplement* 64: 411-424.
- Caldeira, R. M., Belo, A. T., Santos, C. C., Vazques, M. I., et Portugal, A. V. 2007. The effect of body condition score on blood metabolites and hormonal profiles in ewes. *Small Ruminant Research* 68: 233-241.
- Cameron, E. Z. 1998. Is suckling behaviour a useful predictor of milk intake ? A review. *Animal Behaviour* 56: 521-532.

- Cannas, A., Atzori, A. S., Boe, F., et Teixeira, A. 2008. Energy and protein requirements of goats. In: A. Cannas et G. Pulina (eds.) Dairy goats feeding and nutrition. p 118-146. CAB International.
- Celi, P., Di Trana, A., et Claps, S. 2008. Effects of perinatal nutrition on lactational performance, metabolic and hormonal profiles of dairy goats and respective kids. *Small Ruminant Research* 79: 129-136.
- Chaillou, E., et Tillet, Y. 2005. Nutrition and hypothalamic neuropeptides in sheep: Histochemical studies. *Histology and Histopathology* 20: 1209-1225.
- Chandler, K. D., Leury, B. J., Bird, A. R., et Bell, A. W. 1985. Effects of undernutrition and exercise during late pregnancy on uterine, fetal and uteroplacental metabolism in the ewe. *British Journal of Nutrition* 53: 625-635.
- Chavatte-Palmer, P., Al Gubory, K., Picone, O., et Heyman, Y. 2008a. [maternal nutrition: Effects on offspring fertility and importance of the periconceptual period on long-term development]. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 36: 920-929.
- Chavatte-Palmer, P., Morel, O., Pachy, F., Tsatsaris, V., et Bonneau, M. 2008b. Animal model of intrauterine growth retardation of vascular origin. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France* 161: 461-466.
- Chentouf, M., El Amiri, B., Sulon, J., Beckers, J. F., Kirschvink, N., Boulanouar, B., et Bister, J. L. 2008. Pregnancy-associated glycoprotein secretion in north moroccan goats. *Reproduction in Domestic Animals* 43: 696-700.
- Chilliard, Y., Bocquier, F., et Doreau, M. 1998. Digestive and metabolic adaptations of ruminants to undernutrition, and consequences on reproduction. *Reproduction Nutrition Development* 38: 131-152.
- Chilliard, Y., Bonnet, M., Delavaud, C., Faulconnier, Y., Leroux, C., Djiane, J., et Bocquier, F. 2001. Leptin in ruminants. Gene expression in adipose tissue and mammary gland, and regulation of plasma concentration. *Domestic Animal Endocrinology* 21: 271-295.
- Clarke, I. J., Henry, B., Iqbal, J., et Goding, J. W. 2001a. Leptin and the regulation of food intake and the neuroendocrine axis in sheep. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology* 28: 106-107.
- Clarke, I. J., Tilbrook, A. J., Turner, A. I., Doughton, B. W., et Goding, J. W. 2001b. Sex, fat and the tilt of the earth: Effects of sex and season on the feeding response to centrally administered leptin in sheep. *Endocrinology* 142: 2725-2728.
- Cleal, J. K., Poore, K. R., Boullin, J. P., Khan, O., Chau, R., Hambidge, O., Torrens, C., Newman, J. P., Poston, L., Noakes, D. E., Hanson, M. A., et Green, L. R. 2007. Mismatched pre- and postnatal nutrition leads to cardiovascular dysfunction and altered renal function in adulthood. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 9529-9533.
- Clifton, V. L. 2010. Review: Sex and the human placenta: Mediating differential strategies of fetal growth and survival. *Placenta* 31 Suppl: S33-39.
- Conway, M. L. T., Blackshaw, J. K., et Daniel, R. C. W. 1996. The effects of agonistic behaviour and nutritional stress on both the success of pregnancy and various plasma constituents in angora goats. *Applied Animal Behaviour Science* 48: 1-13.
- Coupé, B., Grit, I., Darmaun, D., et Parnet, P. 2009. The timing of "Catch-up growth" Affects metabolism and appetite regulation in male rats born with intrauterine growth restriction. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 297: R813-R824.
- D'Eath, R. B., Tolkamp, B. J., Kyriazakis, I., et Lawrence, A. B. 2009. 'freedom from hunger' and preventing obesity: The animal welfare implications of reducing food quantity or quality. *Animal Behaviour* 77: 275-288.
- Dantzer, R., et Mormède, P. 1979. Le stress en élevage intensif. INRA et Masson, Paris.

- Das, N., Maitra, D. N., et Bisht, G. S. 1999. Genetic and non-genetic factors influencing ingestive behavior of sheep under stall-feeding conditions. *Small Ruminant Research* 32: 129-136.
- Das, S. M., Redbo, I., et Wiktorsson, H. 2000. Effect of age of calf on suckling behaviour and other behavioural activities of zebu and crossbred calves during restricted suckling periods. *Applied Animal Behaviour Science* 67: 47-57.
- De Leeuw, J. A., et Ekkel, E. D. 2004. Effects of feeding level and the presence of a foraging substrate on the behaviour and stress physiological response of individually housed gilts. *Applied Animal Behaviour Science* 86: 15-25.
- Delavaud, C., Bocquier, F., Chilliard, Y., Keisler, D. H., Gertler, A., et Kann, G. 2000. Plasma leptin determination in ruminants: Effect of nutritional status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific ria in sheep. *Journal of Endocrinology* 165: 519-526.
- Delouis, C., et Richard, P. 1991. La lactation La reproduction chez les mammifères et l'homme. p 487-514. INRA-Ellipse, Paris, France.
- Désiré, L., Boissy, A., et Veissier, I. 2002. Emotions in farm animals: A new approach to animal welfare in applied ethology. *Behavioural Processes* 60: 165-180.
- Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Sauvant, D., Bertin, G., et Duvaux-Ponter, C. 2009. The influence of acidosis and live yeast (*saccharomyces cerevisiae*) supplementation on time-budget and feeding behaviour of dairy goats receiving two diets of differing concentrate proportion. *Applied Animal Behaviour Science* 121: 108-119.
- Dickinson, H., Walker, D. W., et Castillo-Melendez, M. 2008. Onset of feeding at birth-perinatal development of the hypothalamic mechanisms that induce appetite and feeding in the newborn. *Neuroscience Letters* 436: 1-6.
- Doeschl-Wilson, A. B., Green, D. M., Fisher, A. V., Carroll, S. M., Schofield, C. P., et Whittemore, C. T. 2005. The relationship between body dimensions of living pigs and their carcass composition. *Meat Science* 70: 229-240.
- Doreau, M., Grimaud, P., et Michalet Doreau, B. 2000. La sous alimentation chez les ruminants ; ses effets sur la digestion. *INRA Productions Animales* 13: 247-255.
- Doreau, M., Michalet-Doreau, B., Grimaud, P., Atti, N., et Nozière, P. 2003. Consequences of underfeeding on digestion and absorption in sheep. *Small Ruminant Research* 49: 289-301.
- Dove, H. 1988. Estimation of the intake of milk by lambs, from the turnover of deuterium- or tritium-labelled water. *British Journal of Nutrition* 60.
- Dulphy, J. P., Carle, B., et Demarquilly, C. 1990. Quantités ingérées et activités alimentaires comparées des ovins, bovins et caprins recevant des fourrages conservés avec ou sans aliment concentré. I. Etude descriptive. *Annales de Zootechnie* 39: 95-111.
- Dulphy, J. P., et Faverdin, P. 1987. Food ingestion in ruminants: Modalities and associated phenomena. *Reproduction Nutrition Development* 27: 129-155.
- Dwyer, C. M., Calvert, S. K., Farish, M., Donbavand, J., et Pickup, H. E. 2005. Breed, litter and parity effects on placental weight and placentome number, and consequences for the neonatal behaviour of the lamb. *Theriogenology* 63: 1092-1110.
- Dwyer, C. M., Lawrence, A. B., Bishop, S. C., et Lewis, M. 2003. Ewe-lamb bonding behaviours at birth are affected by maternal undernutrition in pregnancy. *British Journal of Nutrition* 89: 123-136.
- Edwards, L., Peura, T., Hartwich, K., Rudiger, S., McMillen, I. C., et Walker, S. 2002. Postnatal growth and circulating acth and cortisol concentrations during the first month of life in cloned lambs. *Endocrinology* 143: 3699-3702.
- Ehrhardt, R. A., Slepatis, R. M., Siegal-Willott, J., Van Amburgh, M. E., Bell, A. W., et Boisclair, Y. R. 2000. Development of a specific radioimmunoassay to measure physiological changes of circulating leptin in cattle and sheep. *Journal of Endocrinology* 166: 519-528.

- El-Haddad, M. A., Desai, M., Gayle, D., et Ross, M. G. 2004. In utero development of fetal thirst and appetite: Potential for programming. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation* 11: 123-130.
- Erhard, H. W., Boissy, A., Rae, M. T., et Rhind, S. M. 2004. Effects of prenatal undernutrition on emotional reactivity and cognitive flexibility in adult sheep. *Behavioural Brain Research* 151: 25-35.
- Ewbank, R. 1967. Nursing and suckling behaviour amongst clun forest ewes and lambs. *Animal Behaviour* 15: 251-258.
- Faverdin, P., M'hamed, D., Rico-Gomez, M., et Vérité, R. 2003. La nutrition azotée influence l'ingestion chez la vache laitière. *INRA Production Animale* 16: 27-37.
- Forbes, J. M. 1971. Physiological changes affecting voluntary food intake in ruminants. *Proceedings of the Nutrition Society* 30: 135-142.
- Forbes, J. M. 1996. Integration of regulatory signals controlling forage intake in ruminants. *Journal of Animal Science* 74: 3029-3035.
- Forbes, J. M. 1998. Dietary awareness. *Applied Animal Behaviour Science* 57: 287-297.
- Ford, S. P., Hess, B. W., Schwope, M. M., Nijland, M. J., Gilbert, J. S., Vonnahme, K. A., Means, W. J., Han, H., et Nathanielsz, P. W. 2007. Maternal undernutrition during early to mid-gestation in the ewe results in altered growth, adiposity, and glucose tolerance in male offspring. *Journal of Animal Science* 85: 139-144.
- Forhead, A. J., et Fowden, A. L. 2009. The hungry fetus? Role of leptin as a nutritional signal before birth. *Journal of Physiology* 587: 1145-1152.
- Forhead, A. J., Thomas, L., Crabtree, J., Hoggard, N., Gardner, D. S., Giussani, D. A., et Fowden, A. L. 2002. Plasma leptin concentration in fetal sheep during late gestation: Ontogeny and effect of glucocorticoids. *Endocrinology* 143: 1166-1173.
- Forkman, B., Boissy, A., Meunier-Salaün, M. C., Canali, E., et Jones, R. B. 2007. A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology & Behavior* 92: 340-374.
- Fraser, D. 1987. Suckling behaviour of artificially-reared lambs: What kind of teat elicits spontaneous sucking? *Applied Animal Behaviour Science* 19: 99-109.
- Froberg, S., Aspegren-Guldorff, A., Olsson, I., Marin, B., Berg, C., Hernandez, C., Galina, C. S., Lidfors, L., et Svennersten-Sjaunja, K. 2007. Effect of restricted suckling on milk yield, milk composition and udder health in cows and behaviour and weight gain in calves, in dual-purpose cattle in the tropics. *Tropical Animal Health and Production* 39: 71-81.
- Fureix, C., Pagès, M., Bon, R., Lassalle, J.-M., Kuntz, P., et Gonzalez, G. 2009. A preliminary study of the effects of handling type on horses' emotional reactivity and the human-horse relationship. *Behavioural Processes* 82: 202-210.
- Gadoud, R., Joseph, M. M., Jussiau, R., Lisberney, M. J., Mangeol, B., Montmeas, L., et Tarrit, A. 1992. *Nutrition et alimentation des animaux d'élevage*. Les Editions Foucher ed. Foucher-INRA, Paris, France.
- Gallouin, F., et Focant, M. 1980. Bases physiologiques du comportement alimentaire chez les ruminants. *Reproduction Nutrition Development* 20: 1563-1614.
- Gallouin, F., et Le Magnen, J. 1987. Historical development of the concepts of hunger, satiety and appetite. *Reproduction Nutrition Development* 27: 109-128.
- Gardner, D. S., Bon, B. W. M. v., Dandrea, J., Goddard, P. J., May, S. F., Wilson, V., Stephenson, T., et Symonds, M. E. 2006. Effect of periconceptional undernutrition and gender on hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in young adult sheep. *Journal of Endocrinology* 190: 203-212.
- Gardner, D. S., Tingey, K., Van Bon, B. W. M., Ozanne, S. E., Wilson, V., Dandrea, J., Keisler, D. H., Stephenson, T., et Symonds, M. E. 2005. Programming of glucose-insulin metabolism in adult sheep after maternal undernutrition. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 289: 947-954.

- Geoffroy, F. 1974. Etude comparée du comportement alimentaire et mérycique de deux petits ruminants : La chèvre et le mouton. *Annales de Zootechnie* 23: 63-73.
- Geraseev, L. C., Perez, J. R. O., Carvalho, R. P., de Oliveira, F. A., Quintao, F. A., et Lima, A. L. 2006. Effects of pre and postnatal feed restriction on growth and production of santa inês lambs from birth to weaning. *Revista Brasililia de Zootecnia* 35: 245-251.
- Gluckman, P. D., et Hanson, M. A. 2004. Living with the past: Evolution, development, and patterns of disease. *Science* 305: 1733-1736.
- Goel, A. K., et Agrawal, K. P. 1992. A review of pregnancy diagnosis techniques in sheep and goats. *Small Ruminant Research* 9: 255-264.
- Gonzalez, F., Cabrera, F., Batista, M., Rodriguez, N., Alamo, D., Sulon, J., Beckers, J. F., et Gracia, A. 2004. A comparison of diagnosis of pregnancy in the goat via transrectal ultrasound scanning, progesterone, and pregnancy-associated glycoprotein assays. *Theriogenology* 62: 1108-1115.
- González, F., Sulon, J., Calero, P., Batista, M., Gracia, A., et Beckers, J. F. 2001. Pregnancy-associated glycoproteins (pag) detection in milk samples for pregnancy diagnosis in dairy goats. *Theriogenology* 56: 671-676.
- Gonzalez, F., Sulon, J., Garbayo, J. M., Batista, M., Cabrera, F., Calero, P. O., Gracia, A., et Beckers, J. F. 2000. Secretory profiles of pregnancy-associated glycoproteins at different stages of pregnancy in the goat. *Reproduction in Domestic Animals* 35: 79-82.
- Gootwine, E., Spencer, T. E., et Bazer, F. W. 2007. Litter-size-dependent intrauterine growth restriction in sheep. *Animal* 1: 547-564.
- Gordon, K., et Siegmann, M. 1991. Suckling behavior of ewes in early lactation. *Physiology & Behavior* 50: 1079-1081.
- Grigore, D., Ojeda, N. B., et Alexander, B. T. 2008. Sex differences in the fetal programming of cardiovascular disease. *Gender Medicine* 5 Suppl A: S121-S132.
- Hammell, K. L., Metz, J. H. M., et Mekking, P. 1988. Sucking behavior of dairy calves fed milk ad libitum by bucket or teat. *Applied Animal Behaviour Science* 20: 275-285.
- Harding, J. E. 2001. The nutritional basis of the fetal origins of adult disease. *International Journal of Epidemiology* 30: 15-23.
- Hawkins, P., Steyn, C., McGarrigle, H. H., Calder, N. A., Saito, T., Stratford, L. L., Noakes, D. E., et Hansona, M. A. 2000. Cardiovascular and hypothalamic-pituitary-adrenal axis development in late gestation fetal sheep and young lambs following modest maternal nutrient restriction in early gestation. *Reproduction Fertility and Development* 12: 443-456.
- Hay, W. W., Jr., Sparks, J. W., Wilkening, R. B., Battaglia, F. C., et Meschia, G. 1983. Partition of maternal glucose production between conceptus and maternal tissues in sheep. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism* 8: E347-350.
- Heinrichs, A. J., et Conrad, H. R. 1987. Measuring feed intake patterns and meal size of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 70: 705-711.
- Henry, B. A. 2003. Links between the appetite regulating systems and the neuroendocrine hypothalamus: Lessons from the sheep. *Journal of Neuroendocrinology* 15: 697-709.
- Henry, B. A., Blache, D., Dunshea, F. R., et Clarke, I. J. 2010. Altered "Set-point" Of the hypothalamus determines effects of cortisol on food intake, adiposity, and metabolic substrates in sheep. *Domestic Animal Endocrinology* 38: 46-56.
- Henry, B. A., Goding, J. W., Alexander, W. S., Tilbrook, A. J., Canny, B. J., Dunshea, F., Rao, A., Mansell, A., et Clarke, I. J. 1999. Central administration of leptin to ovariectomized ewes inhibits food intake without affecting the secretion of hormones from the pituitary gland: Evidence for a dissociation of effects on appetite and neuroendocrine function. *Endocrinology* 140: 1175-1182.

- Hernandez, C., Orihuela, A., Froberg, S., et Lidfors, L. M. 2006. Effect of restricted suckling on physiological and behavioural stress parameters in dual-purpose cattle in the tropics. *Livestock Science* 99: 21-27.
- Hernandez, C. E., Harding, J. E., Oliver, M. H., Bloomfield, F. H., Held, S. D., et Matthews, L. R. 2009. Effects of litter size, sex and periconceptional ewe nutrition on side preference and cognitive flexibility in the offspring. *Behavioural Brain Research* 204: 82-87.
- Hinch, G. N. 1989. The sucking behaviour of triplets, twin and single lambs at pasture. *Applied Animal Behaviour Science* 22: 39-48.
- Husted, S. M., Nielsen, M. O., Tygesen, M. P., Kiani, A., Blache, D., et Ingvarsten, K. L. 2007. Programming of intermediate metabolism in young lambs affected by late gestational maternal undernourishment. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 293: E548-E557.
- Ingvarsten, K. L., et Andersen, J. B. 2000. Integration of metabolism and intake regulation: A review focusing on periparturient animals. *Journal of Dairy Science* 83: 1573-1597.
- INRA. 1978. Alimentation des ruminants. INRA Publications ed, Versailles.
- INRA. 1988. Alimentation des bovins, ovins, caprins. Jarrige, R. ed. INRA, Paris, France.
- INRA. 2007. Alimentation des bovins, ovins et caprins. éditions Quae ed. INRA.
- Iqbal, J., Kurose, Y., Canny, B., et Clarke, I. J. 2006. Effects of central infusion of ghrelin on food intake and plasma levels of growth hormone, luteinizing hormone, prolactin, and cortisol secretion in sheep. *Endocrinology* 147: 510-519.
- Jean-Blain, C. 2002. Introduction à la nutrition des animaux domestiques. Ed. Tec&Doc.
- Johnson, Z. B., et Nugent, R. A., III. 2003. Heritability of body length and measures of body density and their relationship to backfat thickness and loin muscle area in swine. *Journal of Animal Science* 81: 1943-1949.
- Jørgensen, G. H. M., Andersen, I. L., Berg, S., et Bøe, K. E. 2009. Feeding, resting and social behaviour in ewes housed in two different group sizes. *Applied Animal Behaviour Science* 116: 198-203.
- Kerestes, M., Faigl, V., Kulcsár, M., Balogh, O., Földi, J., Fébel, H., Chilliard, Y., et Huszenicza, G. 2009. Periparturient insulin secretion and whole-body insulin responsiveness in dairy cows showing various forms of ketone pattern with or without puerperal metritis. *Domestic Animal Endocrinology* 37: 250-261.
- Khan, O. A., Torrens, C., Noakes, D. E., Poston, L., Hanson, M. A., Green, L. R., et Ohri, S. K. 2005. Effects of pre-natal and early post-natal undernutrition on adult internal thoracic artery function. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 28: 811-815.
- Knoll, J. 1979. Satielin: A highly potent anorexogenic substance in human serum. *Physiology & Behavior* 23: 497-502.
- Komara, M. 2009. Contribution à l'étude des réponses zootechniques, physiologiques et comportementales de la chèvre laitière à la monotraite.
- Konyali, A., Tolu, C., Das, G., et Savas, T. 2007. Factors affecting placental traits and relationships of placental traits with neonatal behaviour in goat. *Animal Reproduction Science* 97: 394-401.
- Koritnik, D. R., Humphrey, W. D., Kaltenbach, C. C., et Dunn, T. G. 1981. Effects of maternal undernutrition on the development of the ovine fetus and the associated changes in growth hormone and prolactin. *Biology of Reproduction* 24: 125-137.
- Krebs, H., Weyers, P., Macht, M., Weijers, H.-G., et Janke, W. 1997. Scanning behavior of rats during eating under stressful noise. *Physiology & Behavior* 62: 151-154.
- Kurose, Y., Iqbal, J., Rao, A., Murata, Y., Hasegawa, Y., Terashima, Y., Kojima, M., Kangawa, K., et Clarke, I. J. 2005. Changes in expression of the genes for the leptin receptor and the growth hormone-releasing peptide/ghrelin receptor in the hypothalamic arcuate nucleus with long-term manipulation of adiposity by dietary means. *Journal of Neuroendocrinology* 17: 331-340.



- Langley-Evans, S. C., Bellinger, L., et McMullen, S. 2005. Animal models of programming: Early life influences on appetite and feeding behaviour. *Maternal & Child Nutrition* 1: 142-148.
- Larson, B. L. 1978. The dairy goat as a model in lactation studies. *Journal of Dairy Science* 61: 1023-1029.
- Lewis, R. M., Poore, K. R., et Godfrey, K. M. 2006. The role of the placenta in the developmental origins of health and disease - implications for practice. *Reviews in Gynaecological and Perinatal Practice* 6: 70-79.
- Lima, L. D., Teixeira, I. A. M. A., Silva, H. G., Resende, K. T., Canola, J. C., et Neto, O. B. 2009. A technique to assess internal body fat of dairy goats using real-time ultrasound. In: F. G. Y. Chilliard, Y. Faulconnier, F. Bocquier, I. Veissier, M. Doreau (ed.) *Ruminant physiology. Digestion, metabolism, and effects of nutrition on reproduction and welfare* Wageningen Academic Publishers.
- Mandiki, S. N. M., Fossion, M., et Paquay, R. 1989. Daily variations in suckling behaviour and relationship between suckling intensity and lactation anestrus in texel ewes. *Applied Animal Behaviour Science* 23: 247-255.
- Margerison, J. K., Preston, T. R., Berry, N., et Phillips, C. J. C. 2003. Cross-sucking and other oral behaviours in calves, and their relation to cow suckling and food provision. *Applied Animal Behaviour Science* 80: 277-286.
- Mason, J. W. 1971. A re-evaluation of the concept of "Non-specificity" In stress theory. *Journal of Psychiatric Research* 8: 323-333.
- Matthews, S. G., et Challis, J. R. G. 1996. Regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in fetal sheep. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 7: 239-246.
- Mavrogiani, V. S., et Brozos, C. 2008. Reflections on the causes and the diagnosis of periparturient losses of ewes. *Small Ruminant Research* 76: 77-82.
- McCance, R. A. 1962. Food, growth and time. *The Lancet* 280: 621-626.
- McCrabb, G. J., Egan, A. R., et Hosking, B. J. 1991. Maternal undernutrition during mid-pregnancy in sheep. Placental size and its relationship to calcium transfer during late pregnancy. *British Journal of Nutrition* 65.
- McCrabb, G. J., Egan, A. R., et Hosking, B. J. 1992a. Maternal undernutrition in mid-pregnancy in sheep: Variable effects on placental growth. *Journal of Agricultural Science* 118: 127-132.
- McCrabb, G. J., Hosking, B. J., et Egan, A. R. 1992b. Changes in the maternal body and fetoplacental growth following various lengths of feed restriction during mid-pregnancy in sheep. *Australian Journal of Agricultural Research* 43: 1429-1440.
- McMillen, J. C., Adams, M. B., Ross, J. T., Coulter, C. L., Simonetta, G., Owens, J. A., Robinson, J. S., et Edwards, L. J. 2001. Fetal growth restriction: Adaptations and consequences. *Reproduction* 122: 195-204.
- McMullen, S., Osgerby, J. C., Milne, J. S., Wallace, J. M., et Wathes, D. C. 2005. The effects of acute nutrient restriction in the mid-gestational ewe on maternal and fetal nutrient status, the expression of placental growth factors and fetal growth. *Placenta* 26: 25-33.
- McMullen, S., Osgerby, J. C., Thurston, L. M., Gadd, T. S., Wood, P. J., Wathes, D. C., et Michael, A. E. 2004. Alterations in placental 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase (11 beta hsd) activities and fetal cortisol:Cortisone ratios induced by nutritional restriction prior to conception and at defined stages of gestation in ewes. *Reproduction* 127: 717-725.
- Melin, M., Pettersson, G., Svennersten-Sjaunja, K., et Wiktorsson, H. 2007. The effects of restricted feed access and social rank on feeding behavior, ruminating and intake for cows managed in automated milking systems. *Applied Animal Behaviour Science* 107: 13-21.
- Mellado, M., Valdez, R., Lara, L. M., et Garcia, J. E. 2004. Risk factors involved in conception, abortion, and kidding rates of goats under extensive conditions. *Small Ruminant Research* 55: 191-198.
- Mellor, D. J., et Cockburn, F. 1986. A comparison of energy metabolism in the new-born infant, piglet and lamb. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 71: 361-379.

- Mercier, J., Pomar, C., Marcoux, M., Goulet, F., Thériault, M., et Castonguay, F. W. 2006. The use of dual-energy x-ray absorptiometry to estimate the dissected composition of lamb carcasses. *Meat Science* 73: 249-257.
- Mercier, P., et Chartier, C. 2002. Les cétozes chez la chèvre laitière. *Le point vétérinaire*.
- Misra, A. K., et Singh, K. 2002. Effect of water deprivation on dry matter intake, nutrient utilization and metabolic water production in goats under semi-arid zone of india. *Small Ruminant Research* 46: 159-165.
- Morand-Fehr, P. 2005. Recent developments in goat nutrition and application: A review. *Small Ruminant Research* 60: 25-43.
- Morand-Fehr, P., Bas, P., Hervieu, J., et Sauviant, D. 1984. Observations de cas de cétozes chez la chèvre. Etiologie et état métabolique. *Les maladies de la chèvre, les Colloques de l'INRA* 28.
- Morand Fehr, P. 2000. Effects of feeding on the quality of goat milk and cheeses. *7th International Conference on Goats*: 53-58.
- Morand Fehr, P., et Doreau, M. 2001. Ingestion et digestion chez les ruminants soumis à un stress de chaleur. *INRA Production Animale* 14: 15-27.
- Morel, O., Pachy, F., Chavatte-Palmer, P., Bonneau, M., Gayat, E., Laigre, P., Evain-Brion, D., et Tsatsaris, V. 2010. Correlation between utero-placental three-dimensional power doppler indices and the uterine real blood flow: Evaluation in a pregnant sheep experimental model. *Ultrasound in Obstetrics and Gynecology*.
- Morgan, P. D., et Arnold, G. W. 1974. Behavioral relationships between merino ewes and lambs during the four weeks after birth. *Animal Production* 19: 169-176.
- Mormède, P., Andanson, S., Aupérin, B., Beerda, B., Guémené, D., Malmkvist, J., Manteca, X., Manteuffel, G., Prunet, P., van Reenen, C. G., Richard, S., et Veissier, I. 2007. Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior* 92: 317-339.
- Mornet, P., et Espinasse, J. 1977. *Le veau*. Maloine, Paris.
- Mühlhäusler, B. S., McMillen, I. C., Rouzaud, G., Findlay, P. A., Marrocco, E. M., Rhind, S. M., et Adam, C. L. 2004. Appetite regulatory neuropeptides are expressed in the sheep hypothalamus before birth. *Journal of Neuroendocrinology* 16: 502-507.
- Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H., et Quon, M. J. 2008. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: Advantages, limitations, and appropriate usage. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism* 294: E15-E26.
- Munro, J. 1956. Observations of the suckling behaviour of young lambs. *The British Journal of Animal Behaviour* 4: 34-36.
- Nagy, J. 1994. Purification of the anorectic agent satietin from bovine serum. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 48: 17-22.
- Napolitano, F., Braghieri, A., Cifuni, G. F., Pacelli, C., et Girolami, A. 2002. Behaviour and meat production of organically farmed unweaned lambs. *Small Ruminant Research* 43: 179-184.
- Nielsen, B. L. 1999. On the interpretation of feeding behaviour measures and the use of feeding rate as an indicator of social constraint. *Applied Animal Behaviour Science* 63: 79-91.
- Nielsen, B. L., Lawrence, A. B., et Whittemore, C. T. 1996. Feeding behaviour of growing pigs using single or multi-space feeders. *Applied Animal Behaviour Science* 47: 235-246.
- Nielsen, M. O., Kongsted, A. H., Hellgren, L. I., Tygesen, M. P., Johnsen, L., et Husted, S. M. 2010. Pre- and early postnatal dietary interactions on development, metabolic and endocrine function from birth to adulthood in sheep. In: *Annual meeting of the EAAP, Heraklion*. p 179.
- Nordby, D. J., Field, R. A., Riley, M. L., et Kercher, C. J. 1987. Effects of maternal undernutrition during early pregnancy on growth, muscle cellularity, fiber type and carcass composition in lambs. *Journal of Animal Science* 64: 1419-1427.

- Nowak, R., Murphy, T. M., Lindsay, D. R., Alster, P., Andersson, R., et Uvnas-Moberg, K. 1997. Development of a preferential relationship with the mother by the newborn lamb: Importance of the sucking activity. *Physiology & Behavior* 62: 681-688.
- Nowak, R., et Poindron, P. 2006. From birth to colostrum: Early steps leading to lamb survival. *Reproduction Nutrition Development* 46: 431-446.
- NRC. 2007. Nutrient requirements of small ruminants: Sheep, goats, cervids, and new world camelids. National Research Council of the National Academies ed. The National Academies press, Washington, D.C., USA.
- Núñez, J. F., Ferré, P., Escorihuela, R. M., Tobeña, A., et Fernández-Teruel, A. 1997. Effects of postnatal handling of rats on emotional, hpa-axis, and prolactin reactivity to novelty and conflict. *Physiology & Behavior* 60: 1355-1359.
- Oguro, M., Ishikawa, H., Ohtsuka, H., Hoshi, F., et Kawamura, S. 2003. Clinical evaluation of growth hormone secretion in cattle using insulin tolerance test. *Journal of Veterinary Medical Science* 65: 809-812.
- Oliver, M. H., Breier, B. H., Gluckman, P. D., et Harding, J. E. 2002. Birth weight rather than maternal nutrition influences glucose tolerance, blood pressure, and igf-i levels in sheep. *Pediatric Research* 52: 516-524.
- Oliver, M. H., Harding, J. E., et Gluckman, P. D. 2001. Duration of maternal undernutrition in late gestation determines the reversibility of intrauterine growth restriction in sheep. *Prenatal and Neonatal Medicine* 6: 271-279.
- Orozco-Sólis, R., Lopes de Souza, S., Barbosa Matos, R. J., Grit, I., Le Bloch, J., Nguyen, P., Manhães de Castro, R., et Bolaños-Jiménez, F. 2009. Perinatal undernutrition-induced obesity is independent of the developmental programming of feeding. *Physiology & Behavior* 96: 481-492.
- Painter, R. C., Roseboom, T. J., et Bleker, O. P. 2005. Prenatal exposure to the dutch famine and disease in later life: An overview. *Reproductive Toxicology* 20: 345-352.
- Paranhos da Costa, M. J. R., Albuquerque, L. G., Eler, J. P., et Augusto li de Vasconcelos Silva, J. 2006. Suckling behaviour of nelore, gir and caracu calves and their crosses. *Applied Animal Behaviour Science* 101: 276-287.
- Parnet, P., Bolaños-Jimenez, F., et Amarger, V. 2007. Syndrome métabolique : Une histoire d'empreinte nutritionnelle et d'épigénétique ? . *Obésité* 2: 158-165.
- Pearce, A. I., Richards, R. G., Milz, S., Schneider, E., et Pearce, S. G. 2007. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. *European Cells & Matererials* 13: 1-10.
- Pearce, K. L., Ferguson, M., Gardner, G., Smith, N., Greef, J., et Pethick, D. W. 2009. Dual x-ray absorptiometry accurately predicts carcass composition from live sheep and chemical composition of live and dead sheep. *Meat Science* 81: 285-293.
- Père, M. C. 2003. Materno-foetal exchanges and utilisation of nutrients by the foetus: Comparison between species. *Reproduction Nutrition Development* 43: 1-15.
- Qi, Y., Iqbal, J., Oldfield, B. J., et Clarke, I. J. 2008. Neural connectivity in the mediobasal hypothalamus of the sheep brain. *Neuroendocrinology* 87: 91-112.
- Rae, M. T., Palassio, S., Kyle, C. E., Brooks, A. N., Lea, R. G., Miller, D. W., et Rhind, S. M. 2001. Effect of maternal undernutrition during pregnancy on early ovarian development and subsequent follicular development in sheep fetuses. *Reproduction* 122: 915-922.
- Rae, M. T., Rhind, S. M., Fowler, P. A., Miller, D. W., Kyle, C. E., et Brooks, A. N. 2002. Effect of maternal undernutrition on fetal testicular steroidogenesis during the cns androgen-responsive period in male sheep fetuses. *Reproduction* 124: 33-39.
- Ravelli, A. C., van der Meulen, J. H., Michels, R. P., Osmond, C., Barker, D. J., Hales, C. N., et Bleker, O. P. 1998. Glucose tolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet* 351: 173-177.
- Rhind, S. M., Rae, M. T., et Brooks, A. N. 2001. Effects of nutrition and environmental factors on the fetal programming of the reproductive axis. *Reproduction* 122: 205-214.

- Rhodes, P., Craigon, J., Gray, C., Rhind, S. M., Loughna, P. T., et Gardner, D. S. 2009. Adult-onset obesity reveals prenatal programming of glucose-insulin sensitivity in male sheep nutrient restricted during late gestation. *PLoS One* 4: e7393.
- Riek, A., Gerken, M., et Moors, E. 2007. Measurement of milk intake in suckling llamas (lama glama) using deuterium oxide dilution. *Journal of Dairy Science* 90: 867-875.
- Roche, J. R., Blache, D., Kay, J. K., Miller, D. R., Sheahan, A. J., et Miller, D. W. 2008a. Neuroendocrine and physiological regulation of intake with particular reference to domesticated ruminant animals. *Nutrition Research Reviews* 21: 207-234.
- Roche, J. R., Sheahan, A. J., Chagas, L. M., Blache, D., Berry, D. P., et Kay, J. K. 2008b. Long-term infusions of ghrelin and obestatin in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91: 4728-4740.
- Rook, A. J., et Penning, P. D. 1991. Synchronisation of eating, ruminating and idling activity by grazing sheep. *Applied Animal Behaviour Science* 32: 157-166.
- Rook, J. S. 2000. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Metabolic Disorders in Ruminants* 16: 293-317.
- Ross, M. G., et Nijland, M. J. M. 1998. Development of ingestive behavior. *American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 274: R879-R893.
- Ross, S. 1951. Sucking behavior in neonate dogs. *Journal of Abnormal and Social Psychology* 46: 142-149.
- Roussel, S., Boissy, A., Montigny, D., Hensworth, P. H., et Duvaux-Ponter, C. 2005. Gender-specific effects of prenatal stress on emotional reactivity and stress physiology of goat kids *Hormones and Behavior* 47: 256-266.
- Rowland, N. E., Bellinger, L. L., Li, B. H., et Mendel, V. E. 1996. Satielin: Fos mapping of putative brain sites of action. *Brain Research* 717: 189-192.
- Rumball, C. W., Harding, J. E., Oliver, M. H., et Bloomfield, F. H. 2008. Effects of twin pregnancy and periconceptional undernutrition on maternal metabolism, fetal growth and glucose-insulin axis function in ovine pregnancy. *Journal of Physiology* 586: 1399-1411.
- Russel, A. J. F., Gunn, R. G., et Doney, J. M. 1968. Components of weight loss in pregnant hill ewes during winter. *Animal Production* 10: 43-51.
- Russel, A. J. F., Maxwell, T. J., Sibbald, A. R., et McDonald, D. 1977. Relationships between energy intake, nutritional state and lamb birth weight in greyface ewes. *Journal of Agricultural Science* 89: 667-673.
- Sardinha, F. L. C., Telles, M. M., Albuquerque, K. T., Oyama, L. M., Guimaraes, P. A. M. P., Santos, O. F. P., et Ribeiro, E. B. 2006. Gender difference in the effect of intrauterine malnutrition on the central anorexigenic action of insulin in adult rats. *Nutrition* 22: 1152-1161.
- Schröder, H. J. 2003. Models of fetal growth restriction. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 110 Suppl 1: S29-S39.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte, D., Seeley, R. J., et Baskin, D. G. 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404: 661-671.
- Sébert, S. P., Hyatt, M. A., Chan, L. L. Y., Patel, N., Bell, R. C., Keisler, D., Stephenson, T., Budge, H., Symonds, M. E., et Gardner, D. S. 2009. Maternal nutrient restriction between early and midgestation and its impact upon appetite regulation after juvenile obesity. *Endocrinology* 150: 634-641.
- Seckl, J. R., Benediktsson, R., Lindsay, R. S., et Brown, R. W. 1995. Placental 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase and the programming of hypertension. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 55: 447-455.
- Selye, H. 1950. Stress and the general adaptation syndrome. *British Medical Journal* 4667: 1383-1392.
- Shetty, P. 2006. Malnutrition and undernutrition. *Medicine* 34: 524-529.

- Sibanda, L. M., Ndlovu, L. R., et Bryant, M. J. 1999. Effects of a low plane of nutrition during pregnancy and lactation on the performance of matebele does and their kids. *Small Ruminant Research* 32: 243-250.
- Sibbald, A. M., et Davidson, G. C. 1998. The effect of nutrition during early life on voluntary food intake by lambs between weaning and two years of age. *Animal Science* 66: 697-703.
- Silanikove, N. 2000. Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science* 67: 1-18.
- Simiane, M. 2002. La chèvre. *Rustica* ed.
- Simitzis, P. E., Charismiadou, M. A., Kotsampasi, B., Papadomichelakis, G., Christopoulou, E. P., Papavlasopoulou, E. K., et Deligeorgis, S. G. 2009. Influence of maternal undernutrition on the behaviour of juvenile lambs. *Applied Animal Behaviour Science* 116: 191-197.
- Simitzis, P. E., Deligeorgis, S. G., Bizelis, J. A., et Fegeros, K. 2008. Feeding preferences in lambs influenced by prenatal flavour exposure. *Physiology & Behavior* 93: 529-536.
- Simon, T. M., et Aberman, H. M. 2010. Cartilage regeneration and repair testing in a surrogate large animal model. *Tissue engineering. Part B, Reviews* 16: 65-79.
- Sinclair, K., Allegrucci, C., Singh, R., Gardner, D., Sebastian, S., Bispham, J., Thurston, A., Huntley, J., Rees, W., Maloney, C., Lea, R., Craigon, J., McEvoy, T., et Young, L. 2007. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional b vitamin and methionine status. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 104: 19351-19356.
- Sinclair, K. D., et Singh, R. 2007. Modelling the developmental origins of health and disease in the early embryo. *Theriogenology* 67: 43-53.
- Sousa, N. M., Ayad, A., Beckers, J. F., et Gajewski, Z. 2006. Pregnancy-associated glycoproteins (pag) as pregnancy markers in the ruminants. *J Physiol Pharmacol* 57 Suppl 8: 153-171.
- Stanford, K., Jones, S. D. M., et Price, M. A. 1998. Methods of predicting lamb carcass composition: A review. *Small Ruminant Research* 29: 241-254.
- Stanford, K., McAllister, T. A., MacDougall, M., et Bailey, D. R. C. 1995. Use of ultrasound for the prediction of carcass characteristics in alpine goats. *Small Ruminant Research* 15: 195-201.
- Stephens, D. B., et Baldwin, B. A. 1971. Observations on the behaviour of groups of artificially reared lambs. *Research in Veterinary Science* 12: 219-224.
- Stephens, D. B., et Linzell, J. L. 1974. The development of sucking behaviour in the newborn goat. *Animal Behaviour* 22: 628-633.
- Sugino, T., Hasegawa, Y., Kurose, Y., Kojima, M., Kangawa, K., et Terashima, Y. 2004. Effects of ghrelin on food intake and neuroendocrine function in sheep. *Animal Reproduction Science* 82-83: 183-194.
- Sutton, J. D., et Alderman, G. 2000. The energy and protein requirements of pregnant and lactating dairy goats: The agriculture and food research council report. *Livestock Production Science* 64: 3-8.
- Symonds, M. E., et Budge, H. 2009. Nutritional models of the developmental programming of adult health and disease. *Proceedings of the Nutrition Society* 68: 173-178.
- Symonds, M. E., Phillips, I. D., Anthony, R. V., Owens, J. A., et McMillen, I. C. 1998. Prolactin receptor gene expression and foetal adipose tissue. *Journal of Neuroendocrinology* 10: 885-890.
- Symonds, M. E., Sebert, S. P., Hyatt, M. A., et Budge, H. 2009. Nutritional programming of the metabolic syndrome. *Nature Reviews Endocrinology* 5: 604-610.
- Terrazas, A., Robledo, V., Serafin, N., Soto, R., Hernandez, H., et Poindron, P. 2009. Differential effects of undernutrition during pregnancy on the behaviour of does and their kids at parturition and on the establishment of mutual recognition. *Animal* 3: 294-306.
- Torres, S. J., et Nowson, C. A. 2007. Relationship between stress, eating behavior, and obesity. *Nutrition* 23: 887-894.

- Trahair, J. F., et Robinson, P. M. 1989. Enterocyte ultrastructure and uptake of immunoglobulins in the small intestine of the neonatal lamb. *Journal of Anatomy* 166: 103-111.
- Tygesen, M. P., Harrison, A. P., et Therkildsen, M. 2007. The effect of maternal nutrient restriction during late gestation on muscle, bone and meat parameters in five month old lambs. *Livestock Science* 110: 230-241.
- Tygesen, M. P., Nielsen, M. O., Norgaard, P., Ranvig, H., Harrison, A. P., et Tauson, A. H. 2008. Late gestational nutrient restriction: Effects on ewes' metabolic and homeorhetic adaptation, consequences for lamb birth weight and lactation performance. *Archives of Animal Nutrition* 62: 44-59.
- Vandaele, L., Verberckmoes, S., El Amiri, B., Sulon, J., Duchateau, L., Van Soom, A., Beckers, J.-F., et de Kruif, A. 2005. Use of a homologous radioimmunoassay (ria) to evaluate the effect of maternal and foetal parameters on pregnancy-associated glycoprotein (pag) concentrations in sheep. *Theriogenology* 63: 1914-1924.
- Veissier, I., et Stefanova, I. 1993. Learning to suckle from an artificial teat within groups of lambs: Influence of a knowledgeable partner. *Behavioural Processes* 30: 75-82.
- Vermorel, M., et Coulon, J. B. 1998. Comparison of the national research council energy system for lactating cows with four european systems. *Journal of Dairy Science* 81: 846-855.
- Vickers, M. H., Breier, B. H., Cutfield, W. S., Hofman, P. L., et Gluckman, P. D. 2000. Fetal origins of hyperphagia, obesity, and hypertension and postnatal amplification by hypercaloric nutrition. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism* 279: E83-E87.
- Waltl, B., Appleby, M. C., et Sölkner, J. 1995. Effects of relatedness on the suckling behaviour of calves in a herd of beef cattle rearing twins. *Applied Animal Behaviour Science* 45: 1-9.
- Warnes, K. E., Morris, M. J., Symonds, M. E., Phillips, I. D., Clarke, I. J., Owens, J. A., et McMillen, I. C. 1998. Effects of increasing gestation, cortisol and maternal undernutrition on hypothalamic neuropeptide  $\gamma$  expression in the sheep fetus. *Journal of Neuroendocrinology* 10: 51-57.
- Waterland, R. A., et Garza, C. 1999. Potential mechanisms of metabolic imprinting that lead to chronic disease. *American Journal of Clinical Nutrition* 69: 179-197.
- Wertz-Lutz, A. E., Knight, T. J., Pritchard, R. H., Daniel, J. A., Clapper, J. A., Smart, A. J., Trenkle, A., et Beitz, D. C. 2006. Circulating ghrelin concentrations fluctuate relative to nutritional status and influence feeding behavior in cattle. *Journal of Animal Science* 84: 3285-3300.
- Whorwood, C. B., Firth, K. M., Budge, H., et Symonds, M. E. 2001. Maternal undernutrition during early to midgestation programs tissue-specific alterations in the expression of the glucocorticoid receptor, 11 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase isoforms, and type 1 angiotensin 2 receptor in neonatal sheep. *Endocrinology* 142: 2854-2864.
- Yuen, B. S. J., Owens, P. C., McFarlane, J. R., Symonds, M. E., Edwards, L. J., Kauter, K. G., et McMillen, I. C. 2002. Circulating leptin concentrations are positively related to leptin messenger rna expression in the adipose tissue of fetal sheep in the pregnant ewe fed at or below maintenance energy requirements during late gestation. *Biology of Reproduction* 67: 911-916.
- Zhang, J. V., Ren, P. G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C. W., Rauch, R., Klein, C., et Hsueh, A. J. 2005. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 310: 996-999.
- Zhang, Y., Li, N., Yang, J., Zhang, T., et Yang, Z. 2010. Effects of maternal food restriction on physical growth and neurobehavior in newborn wistar rats. *Brain Research Bulletin* 83: 1-8.



## ANNEXES





## Annexe 1 : Expérience réalisée en préparation de la thèse (2007). Présentation au GDR d'éthologie les 15 et 16 mai 2008 à Villetaneuse, France

### Comportement alimentaire de chevreaux élevés artificiellement

LAPORTE B., DUVAUX-PONTER C., ROUSSEL S.

UMR INRA-AgroParisTech Physiologie de la Nutrition et Alimentation, 16 rue Claude Bernard 75005 Paris



#### Introduction

L'allaitement artificiel en élevage est une pratique courante, notamment utilisée pour l'engraissement des animaux (par exemple, les chevreaux) et pour l'élevage des jeunes qui serviront pour le renouvellement. Bien que l'ingestion conditionne fortement la croissance, peu d'études se sont penchées sur le comportement alimentaire des jeunes en allaitement artificiel.

Le but de cette étude est de caractériser le comportement de tétée de chevreaux élevés artificiellement, de décrire l'évolution de leur rythme de tétée et d'étudier un lien éventuel entre le poids et les comportements de tétée.



#### Matériel et Méthodes

Le comportement alimentaire de 31 chevreaux mâles de race Saanen a été étudié de 7h à 19h, à l'âge de 2, 3, et 5 semaines à l'aide du logiciel The Observer® (Noldus, 2003)

2 jours en case chauffée



2 jours en case non chauffée



Enclos expérimental

#### Paramètres étudiés :

##### comportement

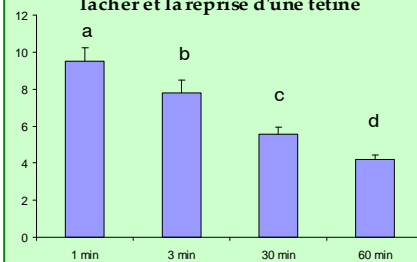
- Nombre de tétées sur 12h
- Durée totale des tétées sur 12h
- Répartition des tétées au cours de la journée

##### zootchnie

- Pesée des animaux à la naissance (de 2,5 à 5,6 kg,  $4,0 \pm 0,10$  kg en moyenne) puis tous les 4 jours

*Analyse statistique : modèle mixte sous SAS® 9.1 (2002-2003) avec l'âge en effet fixe, le poids vif en covariable et un effet aléatoire pour les chevreaux*

#### Nombre de tétées entre 7h et 19h en fonction du choix de l'intervalle de temps entre le lâcher et la reprise d'une tétine



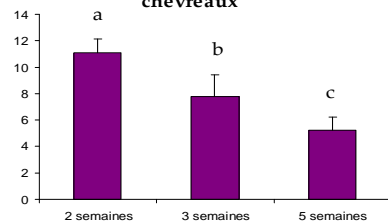
Le nombre de tétée peut fortement varier suivant la définition choisie.

Exemple : si la tétée commence lorsque le chevreau a la tétine dans la bouche et s'arrête lorsqu'il ne tète plus pendant 3 minutes au moins, on mesure environ 8 tétées en moyenne par 12h, et 9,5 tétées si on prend un intervalle de 1 minute.

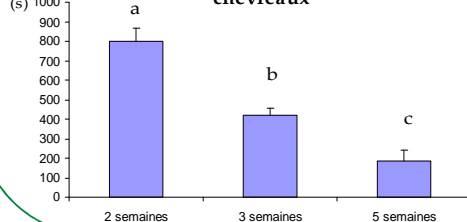
#### Résultats

- Pas d'effet du poids vif sur le comportement de tétée mais un effet significatif de l'âge

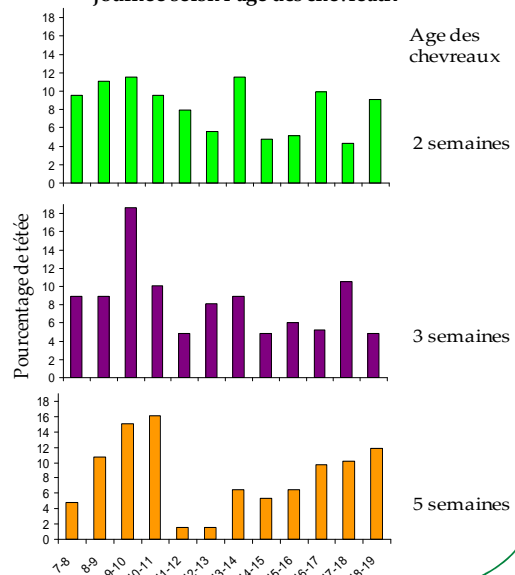
#### Nombre de tétées (sur 12h) selon l'âge des chevreaux



#### Temps moyen passé à téter (sur 12h) selon l'âge des chevreaux



#### Pourcentage de tétées aux différentes heures de la journée selon l'âge des chevreaux



#### Conclusion

Le comportement alimentaire des chevreaux ne semble pas dépendre de leur poids vif. Par contre, le comportement alimentaire évolue fortement avec l'âge. En effet, en grandissant les animaux tètent moins souvent et moins longtemps. On constate également un changement dans la répartition des tétées sur la journée : à 5 semaines les tétées se concentrent en milieu de matinée et fin d'après-midi. Ce rythme est probablement calé sur le rythme d'activité de la chèvrerie.

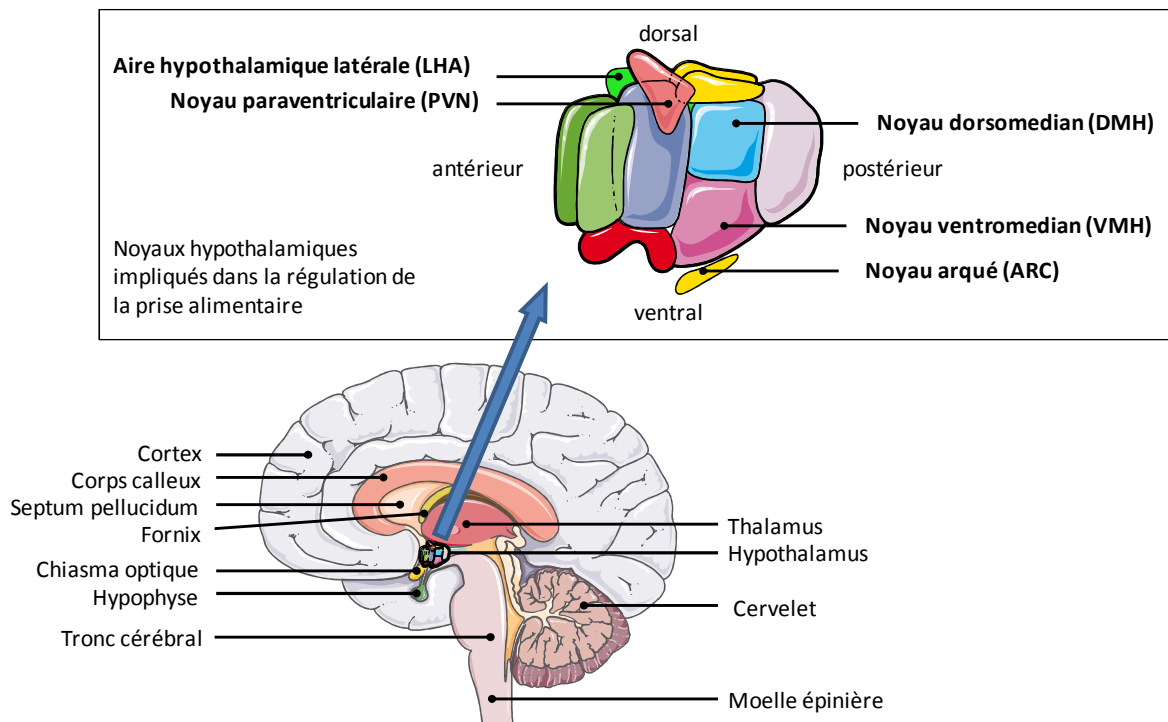
Sachant que l'écart de poids entre les animaux demeure à 5 semaines, ces données montrent qu'un allotement par âge est préférable à un allotement par poids.

## Annexe 2 : Détails sur la régulation centrale de la prise alimentaire

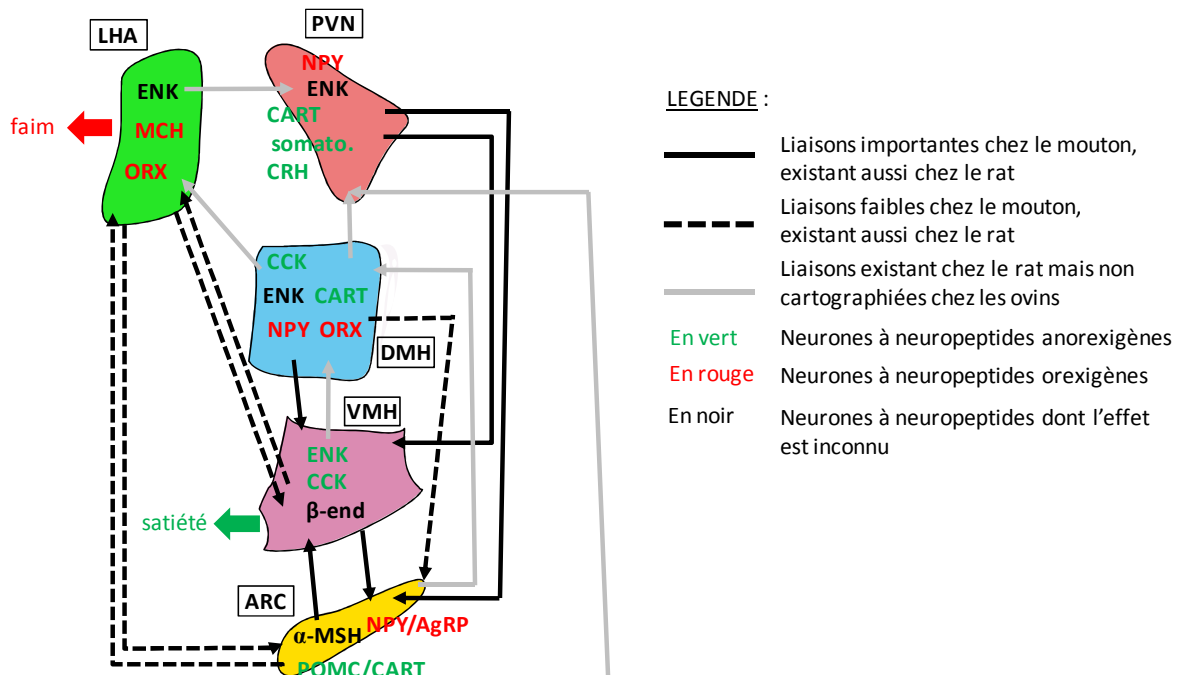
Les messages nerveux et hormonaux, mis en jeu lors de l'ingestion, sont intégrés au niveau du système nerveux central, directement dans l'hypothalamus ou via des noyaux du tronc cérébral. Les informations sensorielles provenant des mécano- et chemorécepteurs du tractus digestif et des viscères abdominaux sont acheminées via le nerf vague jusqu'au tronc cérébral.

Chez l'homme et les rongeurs, il a été montré qu'au niveau du tronc cérébral, c'est le **noyau du tractus solitaire (NTS)** qui reçoit les informations sensorielles via les afférences vagales (Schwartz *et al.*, 2000). L'importance de ce noyau n'a pas été montrée chez les ruminants mais il est probable qu'il soit impliqué dans la régulation de la prise alimentaire ainsi que d'autres noyaux encéphaliques (Forbes, 1996). Le **noyau parabrachial (PBN)**, qui appartient également au tronc cérébral, envoie des afférences aux noyaux hypothalamiques (ARC et VMH) et possède des récepteurs à la leptine, lui conférant probablement un rôle dans la régulation de la prise alimentaire (Qi *et al.*, 2008). Le PBN a un rôle connu dans la régulation de la prise d'eau et de sodium. Il possède des récepteurs aux estrogènes et fait donc probablement partie des circuits de régulation de la reproduction (Qi *et al.*, 2008). Les noyaux du tronc cérébral relaient les informations sensorielles à l'**hypothalamus**, principale structure cérébrale régulatrice de la prise alimentaire et de la balance énergétique (Baile et Della-Fera, 1981). Celui-ci intègre ces informations sensorielles ainsi que des informations provenant du cortex et du système limbique (système impliqué dans les émotions) qui jouent un rôle dans le déclenchement de la faim et de la satiété. L'hypothalamus est situé à la base du diencephale, il est limité par le chiasma optique à l'avant, par le mésencéphale à l'arrière et se trouve au-dessous du thalamus (figure 6). Il est constitué de plusieurs noyaux dont certains ont un rôle dans la régulation de la prise alimentaire (figure 6).

Ces noyaux sont interconnectés et les connexions trouvées chez les rongeurs n'ont pas toutes été retrouvées chez les ovins (Figure 13) (Qi *et al.*, 2008). Les neurones de ces noyaux, des autres noyaux hypothalamiques et de régions extra-hypothalamiques, expriment des neuropeptides orexigènes, qui stimulent la prise alimentaire, et anorexigènes, qui l'inhibent (Figure 13) (Chaillou et Tillet, 2005). Ces neuropeptides ne seraient pas seulement impliqués dans la régulation du comportement alimentaire mais aussi notamment dans la régulation de la fonction de reproduction (Qi *et al.*, 2008).



**Figure 6** : Schéma du cerveau humain et situation de l'hypothalamus. Dans l'encart sont détaillés les noyaux hypothalamiques ayant un rôle dans la prise alimentaire. D'après le site <http://www.servier.fr>



**Figure 13** : Connexions entre les noyaux de l'hypothalamus impliqués dans le comportement alimentaire. Description des liaisons existant chez le rat et chez le mouton. Pour chaque noyau les neuropeptides exprimés chez le mouton sont précisés ainsi que leur rôle dans la régulation de la prise alimentaire. AgRP = Agouti-related peptide,  $\alpha$ -MSH = alpha-melanocyte-stimulating hormone,  $\beta$ -end = beta-endorphine, CART = cocaine-

amphetamine regulated transcript, CCK = cholécystokinine, CRH = corticotropin releasing hormone, ENK = enképhalines, MCH = melanin-concentrating hormone, NPY = neuropeptide Y, ORX = orexines, POMC = pro-opiomelanocortine et somato. = somatostatine.

Les noyaux : LHA = aire hypothalamique latérale, PVN = noyau paraventriculaire, DMH = noyau dorsomédian, VMH = noyau ventromedian, ARC = noyau arqué. D'après Henry *et al.* (2003), Chaillou et Tillet (2005) et Qi *et al.* (2008).

**L'aire hypothalamique latérale (LHA)** est impliquée dans le processus de faim et responsable de l'initiation de la prise alimentaire (Baile et Della-Fera, 1981). Chez les ovins, des neurones orexigéniques qui expriment la melanin-concentrating hormone (MCH) et d'autres neurones qui expriment des orexines (ORX) sont observés dans cette zone (Chaillou et Tillet, 2005). D'autres neurones de LHA expriment des enképhalines (ENK), dont le rôle est encore mal connu, bien qu'on sache que leur action orexigène ou anorexigène dépend du noyau hypothalamique où elles sont exprimées (Chaillou et Tillet, 2005). L'aire ventrale possède également des récepteurs à l'alpha-melanocyte-stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH ou hormone mélanotrope), les melanocortin receptor-3 (MC3-R) et -4 (MC4-R) (Chaillou et Tillet, 2005). L'hormone mélanotrope a un rôle inhibiteur de la prise alimentaire chez le rat mais son rôle chez les ovins n'est pas connu (Chaillou et Tillet, 2005).

Le **noyau paraventriculaire (PVN)**, comme son nom l'indique, se dispose de part et d'autre du 3<sup>ème</sup> ventricule. Il joue un rôle dans de nombreuses fonctions: prise alimentaire, activité sympathique, sécrétion des hormones hypophysaires et homéostasie cardiovasculaire. Il envoie des projections neurales sur le système limbique et le tronc cérébral (Qi *et al.*, 2008) et possède des neurones qui expriment la corticotropin releasing hormone (CRH), la cocaine-amphetamine regulated transcript (CART) et la somatostatine, inhibiteurs de la prise alimentaire chez le mouton (Chaillou et Tillet, 2005). Il possède également des neurones orexigéniques à neuropeptide Y (NPY), d'autres à ENK et des neurones à beta-endorphine ( $\beta$ -end) dont le rôle n'est pas connu (Chaillou et Tillet, 2005). Le PVN possède également des MC3-R et MC4-R (Chaillou et Tillet, 2005).

Le **noyau dorsomédian (DMH)** exprime les récepteurs à la leptine et pourrait également être sensible à la ghréline, mais son rôle exact reste à définir (Qi *et al.*, 2008). Il contient des neurones orexigéniques à ORX, à NPY, des neurones à ENK et des neurones anorexigènes à CART et à cholécystokinine (CCK) (Chaillou et Tillet, 2005). Le DMH possède également des MC3-R et MC4-R (Chaillou et Tillet, 2005).

Le **noyau ventromedian (VMH)** a un effet inhibiteur sur la prise alimentaire et est impliqué dans la satiété (Baile et Della-Fera, 1981), dont il a longtemps été considéré comme le centre régulateur (Qi *et al.*, 2008). Il pourrait également être impliqué dans la régulation de la reproduction, possédant des récepteurs aux stéroïdes (Qi *et al.*, 2008). Il reçoit les informations périphériques puisque les distensions gastriques augmentent la

fréquence de décharge de ses neurones et inhibent celle des neurones de LHA (Forbes, 1996). Il possède aussi des récepteurs à l'insuline, à la leptine et à la ghréline mais en quantité moins importante que dans l'ARC (Qi *et al.*, 2008), ainsi que des MC3-R et MC4-R (Chaillou et Tillet, 2005). Enfin, il contient des neurones orexigéniques à ENK et des neurones anorexigéniques à CCK (Chaillou et Tillet, 2005).

Le **noyau arqué (ARC)**, est situé sous le VMH, à proximité de la barrière hémato-encéphalique, ce qui lui permet de recevoir des informations périphériques. En effet, chez le ruminant, comme chez les rongeurs et chez l'homme, la présence de récepteurs à la ghréline (Kurose *et al.*, 2005) et à la leptine (Clarke *et al.*, 2001a) dans l'ARC a été démontrée. Au contraire des rongeurs, la distribution des récepteurs à l'insuline dans le cerveau n'a pas été décrite chez les ruminants (Chaillou et Tillet, 2005), mais leur présence a été observée dans l'ARC du fœtus ovin en fin de gestation (Adam *et al.*, 2008). Le noyau arqué possède deux types de neurones impliqués dans la régulation du comportement alimentaire. D'une part, les neurones orexigéniques expriment le NPY et l'Agouti-related peptide (AgRP). D'autre part, les neurones anorexigéniques expriment la pro-opiomelanocortine (POMC) et CART et inhibent la prise alimentaire (Chaillou et Tillet, 2005). L'ARC possède également des MC3-R et MC4-R et l' $\alpha$ -MSH, dont POMC est le précurseur, a été trouvée dans ce noyau (Chaillou et Tillet, 2005). De plus, comme le VMH, ce noyau ferait partie des circuits de régulation de la reproduction, lui aussi possédant des récepteurs aux stéroïdes (Qi *et al.*, 2008). L'ARC et le VMH seraient également régulés par le système limbique (Qi *et al.*, 2008).



## **Effets d'une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de la gestation des chèvres sur le développement du comportement alimentaire de leur progéniture**

Un déficit énergétique en fin de gestation peut avoir des conséquences pathologiques pour la mère. De plus, la croissance et le métabolisme fœtaux peuvent être altérés, entraînant des adaptations physiologiques irréversibles chez la descendance. On parle alors de programmation fœtale.

Chez des chèvres, une restriction alimentaire pendant le dernier tiers de gestation a entraîné une diminution de leur prise de poids et une augmentation de la mobilisation de leurs réserves corporelles et du temps passé à chercher leur nourriture.

Entre la naissance et 10 semaines, le métabolisme des chevreaux issus des chèvres restreintes a été peu modifié. Ces chevreaux, plus petits et plus légers à la naissance, ont rattrapé leur retard de croissance dès la semaine suivante mais étaient moins gras que les témoins. Aucune modification de leur comportement alimentaire et de leur réactivité émotionnelle n'a été observée. Une interaction entre le sexe de la progéniture et la restriction maternelle n'a pas été systématiquement démontrée.

Sur une période de deux ans, les femelles issues des chèvres restreintes sont restées plus légères et avaient un état corporel réduit par rapport aux témoins. La réactivité de leur axe corticotrope était augmentée, sans modification de leur réactivité émotionnelle. A 12 et 21 mois, leur ingestion spontanée était plus élevée que celle des animaux témoins.

Les effets d'une restriction maternelle pendant la gestation observés à la naissance chez les jeunes chevreaux disparaissent rapidement. Des modifications du comportement alimentaire apparaissent cependant à l'âge adulte.

Mots clés : sous-nutrition, comportement alimentaire, chevreau, programmation fœtale

---

## **Effects of maternal feed restriction during the last third of pregnancy in goats on feeding behaviour development in offspring**

Negative energy balance in late-pregnancy can cause pathological problems to the dams. Moreover, foetal growth and metabolism can be impaired, resulting in permanent physiological adaptations in the offspring. This is called foetal programming.

In goats, feed restriction during the last third of pregnancy reduced weight gain, increased body reserve mobilization and increased the time they spent looking for feed.

Between birth and 10 weeks of age, the metabolism of kids born to feed-restricted dams was only slightly modified. Although smaller and lighter at birth, they caught up the first week after birth but their adipose tissue mass was lower than controls. Feeding behaviour and emotional reactivity were not modified. An interaction between offspring sex and maternal feed restriction was not systematically demonstrated.

Over two years of age, female kids born to feed restricted dams remained lighter and had a lower body condition score than controls. The reactivity of their HPA axis was increased while their emotional reactivity was not modified. At 12 and 21 months of age, spontaneous feed intake was increased compared to controls.

The effects of maternal feed restriction during pregnancy observed in new-born kids quickly disappeared. However, feeding behaviour was modified at adult age.

Keywords: undernutrition, feeding behaviour, goat kid, foetal programming