

SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Communications orales

**VERS UNE ALIMENTATION DE PRECISION CHEZ LE POULET DE CHAIR :
 MODELISATION DES BESOINS EN ENERGIE, LYSINE ET PHOSPHORE A
 PARTIR DES PERFORMANCES DE CROISSANCE**

Méda Bertrand¹, Talineau Marie¹, Chéret Candy¹, Narcy Agnès¹, Dusart Léonie²

¹*BOA, INRA, Université de Tours, 37380 NOUZILLY, France*

²*Institut Technique de l'Aviculture, Centre INRA Val-de-Loire, 37380 NOUZILLY, France*

bertrand.meda@inra.fr

RÉSUMÉ

L'application du concept d'alimentation de précision en élevage de poulet de chair pourrait permettre de réduire le coût alimentaire et les rejets en élevage de poulet de chair. Cependant, afin d'ajuster en dynamique la ration distribuée, il est nécessaire d'évaluer quotidiennement les besoins des animaux en fonction de leurs performances. L'objectif de cette étude était donc de développer un modèle prédisant les besoins quotidiens en énergie métabolisable, en lysine digestible et phosphore disponible à partir de performances de croissance. Pour cela, des allométries prédisant la composition corporelle en fonction du poids vif ont été développées. A partir de ces équations, du poids et du gain de poids des animaux, les dépôts de lipides et de protéines sont estimés, puis les besoins en énergie et en lysine digestible. Une équation de la littérature reliant directement poids vif et gain de poids au besoin journalier en phosphore disponible a également été ajoutée dans le modèle. Le modèle a été validé en comparant les prédictions (Y) à des mesures d'ingestion journalière d'énergie métabolisable, de lysine digestible et de phosphore disponible (X ; n = 325). Pour l'énergie métabolisable, les prédictions sont très proches des données observées ($Y = 1,04 X$; $R^2 = 96\%$) tandis que la qualité de prédiction pour la lysine digestible et le phosphore disponible, est un peu plus faible, mais toujours acceptable ($Y = 0,93 X + 139$; $R^2 = 75\%$ et $Y = 0,99 X + 31$; $R^2 = 71\%$ respectivement). Ces résultats permettent d'envisager une utilisation du modèle pour i) calculer les besoins des animaux à croissance rapide dans différents contextes de production (vitesse de croissance, âge à l'abattage) et/ou ii) ajuster en dynamique la composition de la ration, en fonction du niveau de performances réel d'un lot, dans une démarche d'alimentation de précision.

ABSTRACT

Towards precision feeding in broilers: Modelling of energy, lysine and phosphorus requirements using growth performance

Applying precision feeding in broiler production could help reducing feed cost and nitrogen and phosphorus excretion. However, in order to dynamically adjust feed composition, it is necessary to evaluate the daily requirements of the birds according to their actual performance. The objective of this study was thus to develop a model predicting daily requirements for metabolizable energy, digestible lysine and available phosphorus, with growth performance as inputs. Allometric relationships predicting body composition were developed. From these equations, and using growth performance of the birds, lipid and protein depositions are estimated, from which energy and digestible lysine requirements are then estimated. An equation from the literature, directly linking body weight and body weight gain to daily requirements for available phosphorus was also added to the model. The model was validated by comparing predictions (Y) to measurements of metabolizable energy, digestible lysine and available phosphorus daily intake (X, n = 325). For metabolizable energy, predictions are very close to observed data ($Y = 1.04 X$, $R^2 = 96\%$) while the predictive quality for digestible lysine and available phosphorus is slightly lower but still acceptable ($Y = 0.93 X + 139$, $R^2 = 75\%$ and $Y = 0.99 X + 31$, $R^2 = 71\%$ respectively). These results suggest that the model could be used to i) evaluate daily requirements of fast growing birds for different production objectives (growth rate, slaughter age) and / or ii) dynamically adjust feed composition, based on the actual performance of a batch, in a precision feeding approach.

INTRODUCTION

Dans les filières poulet de chair, l'alimentation des animaux représente environ 2/3 des coûts de production (Dusart *et al.*, 2016). En pratique, les plans d'alimentation sont aujourd'hui constitués de 3 à 4 aliments successivement distribués au cours de l'élevage. Toutefois, la composition de ces aliments ainsi que les âges des transitions alimentaires sont définis à l'avance et ne peuvent être ajustés en cours de lot en fonction des performances réelles des animaux. Une alimentation avec des changements d'aliments plus fréquents doit en théorie permettre de réduire le coût alimentaire et les rejets d'azote et de phosphore (Hauschild *et al.*, 2015a). En pratique sur le terrain, une telle approche pourrait passer par l'utilisation de deux aliments, mélangés quotidiennement pour reformer une ration complète.

Dans une telle stratégie alimentaire, les performances réelles des animaux ne sont encore pas intégrées. La démarche d'alimentation de précision proposée par Pomar *et al.* (2009) permet d'ajuster quotidiennement la ration distribuée en s'appuyant sur les performances réelles des animaux et sur l'évaluation de leurs besoins. Cette approche a été testée avec succès chez le porc en croissance avec des réductions du coût alimentaire de 5 à 10% et de l'excrétion d'azote d'environ 30% (Pomar *et al.*, 2009 ; Andretta *et al.*, 2016).

En poulet de chair, selon Dusart *et al.* (2019), l'application de cette démarche permettrait une réduction importante du coût alimentaire (-6%) et des rejets d'azote et de phosphore (-11%). Toutefois, sa mise en pratique requiert l'utilisation de modèles permettant de calculer les besoins journaliers en fonction des performances des animaux. L'objectif de cette étude était donc de développer un modèle capable de prédire les besoins quotidiens en énergie métabolisable (EM), en lysine digestible (dLys) et en phosphore disponible (Pdispo), à partir de performances de croissance observées ou attendues.

1. DESCRIPTION DU MODELE

La représentation conceptuelle du modèle est présentée dans la Figure 1. Le Tableau 1 regroupe l'ensemble des équations utilisées pour prédire les besoins d'un poulet Ross 308 « tout-venant » (*i.e.* 50% de mâles et 50% femelles mélangés). Le modèle est également paramétré pour simuler les besoins des poulets sexés pour différentes souches à croissance rapide.

1.1. Estimation de la composition corporelle et des dépôts journaliers

Le poids vif vide (PVv) et le gain de poids vif vide (GPv) de l'animal (*i.e.* sans contenus digestifs) sont considérés comme égaux à 95% du poids vif et du gain de poids (Lopez *et al.*, 2007), fournis en entrée du modèle (Figure 1 ; Eqs. 1 et 2). A partir de ces variables, des allométries (paramétrées selon la souche et le sexe) sont utilisées pour déterminer les masses de lipides et de protéines dans l'animal (Figure 1 ; Eqs. 3

à 5). Les coefficients de ces équations ont été estimés à partir de données issues de la littérature (Danisman et Gous, 2011, 2013 ; Silva *et al.*, 2015). Puis les dépôts journaliers de lipides et de protéines sont estimés en dérivant les équations 3 à 5 par rapport au temps (Figure 1 ; Eqs. 6 à 8). La masse d'eau et de cendres est calculée par différence entre le PVv et les masses de lipides et de protéines (Figure 1 ; Eq. 9).

1.2. Estimation des besoins en lysine digestible

Les besoins en lysine digestible sont répartis entre les besoins d'entretien (Figure 1 ; Eqs. 10 et 11) et les besoins pour réaliser les dépôts protéiques dans le corps et les plumes (Figure 1 ; Eqs. 12 et 13) à partir des équations de Hauschild *et al.* (2015b). Le besoin total est ensuite calculé comme la somme des besoins d'entretien et pour les dépôts (Figure 1 ; Eq. 14).

1.3. Estimation des besoins en énergie métabolisable

La production de chaleur totale (chaleur liée à l'entretien + extrachaleur liée à la croissance) de l'animal est calculée d'après Sakomura *et al.* (2005) en fonction du poids vif. Les quantités d'énergie déposées sous forme de protéines et d'énergie sont calculées à partir des dépôts protéiques et lipidiques (*cf.* 1.1.) en considérant qu'1 g de protéines et de lipides contiennent respectivement 5,7 et 9,5 kcal (Lopez et Leeson, 2005). Ces trois équations permettent ensuite de calculer le besoin total en énergie métabolisable (Figure 1 ; Eqs. 15 à 18).

1.4. Estimation des besoins en phosphore disponible

Le besoin total en phosphore disponible est calculé en sommant les besoins en phosphore disponible d'entretien et pour la croissance, estimés à partir des équations proposées par Khaksarzareha *et al.* (2017) utilisant respectivement le poids vif et le gain de poids comme prédictors (Figure 1 ; Eqs. 19 à 21).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Validation du modèle

Les performances de croissance (tout-venant) mesurées quotidiennement entre J1 et J31 lors d'un essai zootechnique comparant deux stratégies alimentaires, ont été utilisées afin de valider le modèle (données moyennes par parquet). Ces données (poids vif et gain de poids) ont été utilisées comme données d'entrée pour prédire les besoins en EM, dLys et Pdispo. Les prédictions ont ensuite été comparées aux quantités journalières réellement ingérées par les animaux (Figure 2).

Pour l'énergie, les prédictions (kcal/j) sont très proches des quantités réellement ingérées par les animaux avec une pente proche de 1 (1,04), une ordonnée à l'origine non significativement différente de 0 et un coefficient de détermination proche de 1 ($R^2 = 96\%$; Figure 2a). Cette qualité de prédiction est en accord avec les données de la littérature puisque le poulet de chair est

capable de réguler sa consommation d'aliment sur la base de l'ingéré énergétique (Bouvarel *et al.*, 2010). Le modèle pourrait donc également servir à prédire l'ingéré journalier si la teneur en énergie métabolisable de l'aliment est par ailleurs connue.

Pour la lysine digestible et le phosphore disponible, la qualité de prédiction est également satisfaisante, avec des coefficients de détermination de 75 et 71% et des pentes de 0,93 et 0,99 respectivement, malgré des ordonnées à l'origine significativement différentes de 0 (+139 et +31 mg/j respectivement ; Figures 2b et 2c). Ces différences de qualité de prédiction, par rapport à l'EM, peuvent s'expliquer par deux hypothèses. D'une part, si les animaux régulent leur ingéré énergétique, les quantités de dLys et de Pdispo ingérées ont donc été « subies » par les animaux. D'autre part, les teneurs en dLys et Pdispo dans les aliments ont été obtenues à partir de teneurs théoriques dans les matières premières (Sauvant *et al.*, 2004). Il est donc probable que les teneurs réelles des aliments diffèrent des teneurs théoriques obtenues lors de la formulation.

2.2. Exemple de simulations

La Figure 3 présente les résultats d'une simulation réalisée pour un poulet Ross 308 « tout-venant » entre 0 et 35 jours d'âge. Les données de poids vif et de gain de poids issues du guide sélectionneur (Aviagen, 2014) ont été utilisées en entrée du modèle.

Entre 0 et 35 jours d'âge, le dépôt de protéines représente en moyenne 22% du gain de poids de l'animal (Figure 3a). Cette valeur évolue peu dans le temps, mais la quantité déposée quotidiennement augmente fortement, se traduisant par une accélération de la croissance (<30 g/j en première semaine *vs.* >90 g/j en dernière). Dans le même temps, le dépôt lipidique augmente et représente moins de 5% du gain de poids en début d'élevage contre plus de 10% en fin d'élevage : l'animal s'engraisse. Enfin, le dépôt d'eau et de cendres représente environ 70% du gain de poids.

Les besoins en dLys pour l'entretien augmentent de façon importante avec l'âge de l'animal, et passent de moins de 2% à 1 j à plus de 12% du besoin total en dLys à 35 j. Les besoins pour les autres acides aminés digestibles (dAA) peuvent être déduits du besoin en dLys en utilisant des ratios dAA:dLys (protéine idéale). Les besoins pour le dépôt de protéines dans les plumes restent faibles durant toute la période (<10% du besoin total ; Figure 3b), en lien avec les masses de protéines totales déposées dans les plumes et le corps (20-30% *vs.* 70-80% du dépôt total de protéines ; Figure 3a), et également une plus faible teneur en lysine des protéines des plumes (2% contre 7% ; Hauschild *et al.*, 2015b). Concernant l'énergie, le besoin total en EM des animaux augmente entre moins de 100 kcal/j dans la première semaine de vie et plus de 500 kcal/j dans la dernière semaine d'élevage. Sur toute la période d'élevage, les pertes liées à la production de chaleur représentent environ 55% du besoin total en ME, tandis que les dépôts de lipides et de protéines représentent 21 et 24% du besoin total

(Figure 3c), mais avec une part de l'EM déposée dans les lipides qui augmente au détriment de l'énergie déposée dans les protéines (Figure 3c), en lien avec l'engraissement de l'animal. De plus, ces valeurs sont susceptibles de varier en fonction de la composition de l'aliment (notamment en fonction de la source d'énergie : amidon, lipides...) ainsi que des conditions d'ambiance dans le bâtiment (température, hygrométrie), en lien avec la régulation de l'ingéré énergétique (Bouvarel *et al.*, 2010). Enfin, concernant le Pdispo, les besoins en entretien sont très faibles (5% en moyenne) devant les besoins pour la croissance, (70-400 mg/j ; Figure 3d). Ce besoin est toutefois ici estimé pour un animal au potentiel avec une minéralisation osseuse optimale. Compte-tenu de multiples interactions possibles entre phosphore et calcium, une approche plus mécaniste pourrait être nécessaire (Couture *et al.*, 2019).

2.3. Perspectives d'utilisation du modèle : vers une alimentation de précision du poulet de chair

Outre son utilisation pour établir des recommandations nutritionnelles en fonction d'objectifs de performance, ce modèle pourrait servir dans une démarche d'alimentation de précision. En effet, la mesure automatique du poids des animaux est aujourd'hui largement répandue dans les élevages. A partir de cette donnée, et en prédisant le gain de poids « le plus probable » à venir (Figure 1), le modèle présenté ici permettrait alors de réévaluer les besoins d'un lot, et de réajuster la composition de l'aliment. Puis, selon l'approche proposée par Dusart *et al.* (2019), une ration complète pourrait être recomposée à l'aide de plusieurs « pré-mélanges ». Toutefois, à l'inverse du porc, où l'approche a déjà été testée avec succès (Pomar *et al.*, 2009 ; Andretta *et al.*, 2016), l'alimentation de précision nécessite encore des développements méthodologiques et technologiques (pesée/mélange des aliments, algorithmes de pilotage) pour être déployée sur le terrain en poulet de chair.

CONCLUSIONS

Le modèle présenté ici permet de prédire les besoins en énergie métabolisable, lysine digestible et phosphore disponible chez le poulet de chair à croissance rapide, à partir du poids vif observé et du gain de poids attendu. Il pourra donc être utilisé pour établir des recommandations nutritionnelles en fonction d'objectifs de croissance spécifiques. Par ailleurs, comme les données d'entrées sont facilement mesurables, ce modèle pourrait être utilisé en élevage, dans une approche d'alimentation de précision.

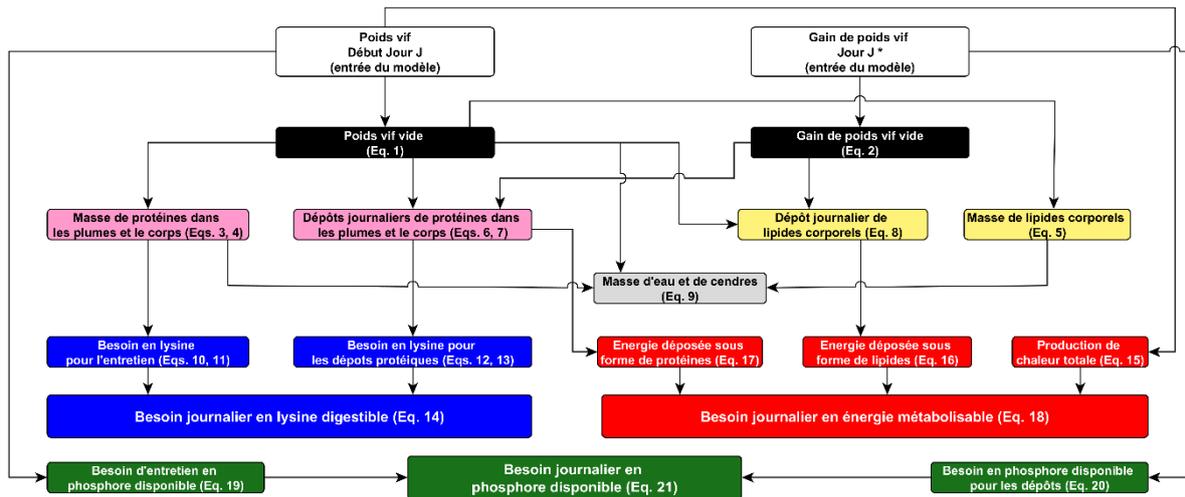
REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée avec le soutien financier du programme européen pour la recherche et l'innovation H2020 (projet Feed-a-Gene, n°633531). Les auteurs remercient également M. Quentin (INZO°) pour ses conseils durant le développement du modèle.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Andretta I, Pomar C., Rivest J., Pomar J., Radünz J., 2016. *Animal*, (10), 1137-1147.
 Aviagen, 2014. *Ross 308 Broiler : Performance Objectives*. 14 p.
 Bouvarel I., Tesseraud S., Leterrier C., 2010. *INRA Prod. Anim.*, (23), 391-404.
 Couture C., Méda B., Narcy A., Létourneau-Montminy M.-P., 2019. *JRA-JRFG*, (13), sous presse.
 Danisman R., Gous R.M., 2011. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, (41), 194-208.
 Danisman R., Gous R.M., 2013. *S. Afr. J. Anim. Sci.*, (43), 25-37.
 Dusart L., Chenut R., Dezat E., Henninot E., Chevalier D., Bouvarel I., 2016. *Tema*, (37), 11-18.
 Dusart L., Rhoulam Y., Méda B., 2019. *JRA-JRFG*, (13), sous presse.
 Hauschild L., Feirrerera Delfim Bueno C., Remus A., De Paula Gobi J., Di Giovanni Isola R., Sakomura N.K., 2015a. *Sci. Agric.*, (72), 210-214.
 Hauschild L., Sakomura N. K., Silva E.P., 2015b. In: *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry* (Eds. Sakomura, Gous, Kyriazakis et Hauschild). CABI Publishing, Wallingford, 188-207.
 Khaksarzareha, V., Méda, B., Narcy, A., 2017. *Proc. of the 21th Europ. Symp. on Poult. Nut. (ESPN)*, 124-129.
 Lopez G., Leeson S., 2005. *Poult. Sci.*, (84), 1069-1076.
 Lopez G., de Lange K., Leeson S., 2007. *Poult. Sci.*, (86), 2162-2171
 Pomar C., Hauschild L., Zhang G.-H., Pomar J., Lovatto P. A. 2009. *Rev. Bras. Zootec.*, (38), 226-237.
 Silva E.P., Sakomura N.K., Marcato S.M, Neme R., 2015. In: *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry* (Eds. Sakomura, Gous, Kyriazakis et Hauschild). CABI Publishing, Wallingford, 250-258.
 Sauvant D., Perez J.M., Tran G., 2004. *Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage*. 2nde édition, INRA ed., Paris, 301 p.

Figure 1. Diagramme conceptuel du modèle permettant d'estimer les besoins en lysine digestible, énergie métabolisable et phosphore disponible chez le poulet de chair Ross 308 « tout-venant » en croissance.



* Gain de poids au jour J : i) différence entre les poids vif des jours J+1 et J dans le cas d'une évaluation des besoins à partir d'une courbe de poids ou ii) gain de poids « le plus probable » estimé sur la base des performances des jours précédents, dans le cas d'une évaluation au jour le jour des besoins (alimentation de précision).

Figure 2. Validation du modèle pour la prédiction des besoins journaliers en a) énergie métabolisable (EM), b) lysine digestible (dLys) et c) phosphore disponible (Pdispo).

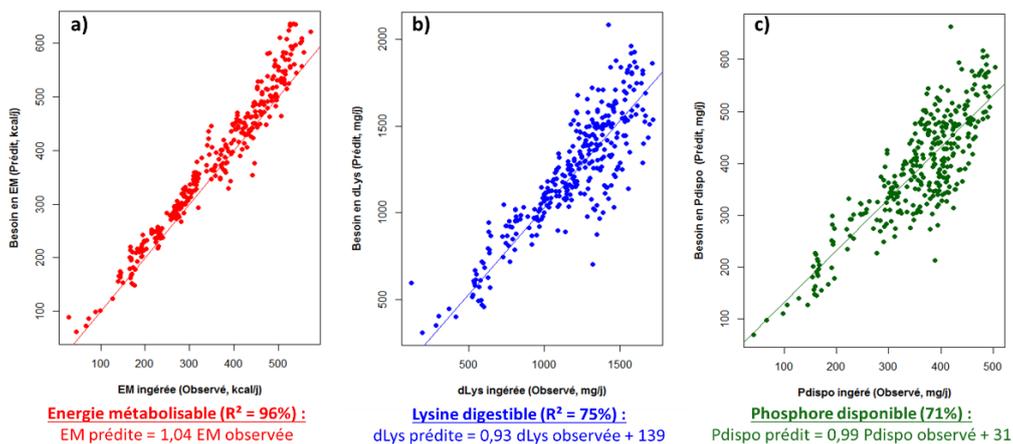


Figure 3. Evolution a) de la composition corporelle et des besoins journaliers en b) lysine digestible, c) énergie métabolisable et d) phosphore disponible chez un poulet Ross 308 « tout-venant » entre 0 et 35 jours d'âge.

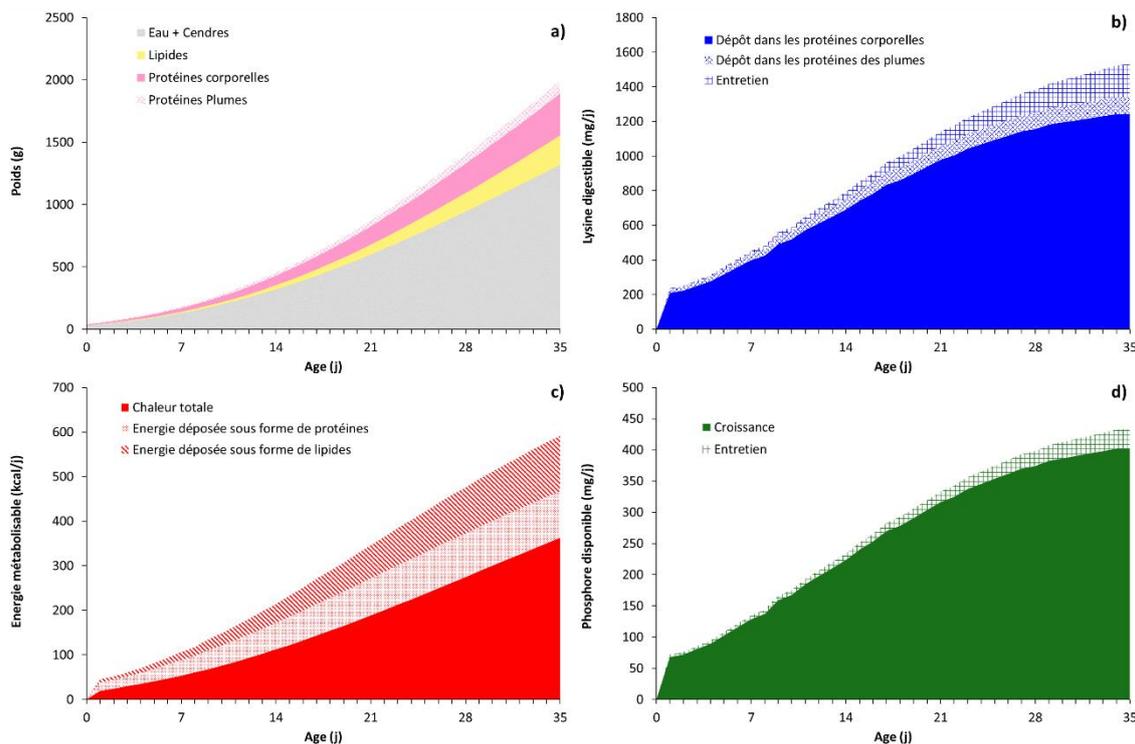


Tableau 1. Equations du modèle permettant d'estimer les besoins en lysine digestible (dLys), énergie métabolisable et phosphore disponible chez le poulet de chair Ross 308 « tout-venant » en croissance. Les deux entrées du modèle sont le poids vif de l'animal (PV, g) et son gain de poids attendu (GP, g).

Variable	Unité	Equation
Poids vif vide	PVv g	(1) $PVv = 0,95 \times PV$
Gain de poids vif vide	GPv g/j	(2) $GPv = 0,95 \times GP$
Poids de protéines (corps)	Pc g	(3) $Pc = 0,169 PVv^{0,999}$
Poids de protéines (plumes)	Pp g	(4) $Pp = 0,086 \times PVv^{0,928}$
Poids de lipides (corps)	Lc g	(5) $Lc = 0,011 \times PVv^{1,316}$
Dépôt de protéines (corps)	DPc g/j	(6) $DPc = 0,169 \times PVv^{-0,001} \times GPv$
Dépôt de protéines (plumes)	DPp g/j	(7) $DPp = 0,080 \times PVv^{-0,072} \times GPv$
Dépôt de lipides (corps)	DLc g/j	(8) $DLc = 0,014 \times PVv^{0,316} \times GPv$
Dépôts d'eau et de cendres	EC g/j	(9) $EC = PVv - (Pc + Pp + Lc)$
Besoin en dLys pour l'entretien (corps)	$dLys_{ec}$ mg/j	(10) $dLys_{ec} = 0,537 \times Pc$
Besoin en dLys pour l'entretien (plumes)	$dLys_{ep}$ mg/j	(11) $dLys_{ep} = 0,197 \times Pp$
Besoin en dLys pour le dépôt protéique (corps)	$dLys_{dc}$ mg/j	(12) $dLys_{dc} = 85,9 \times DPc$
Besoin en dLys pour le dépôt protéique (plumes)	$dLys_{dp}$ mg/j	(13) $dLys_{dp} = 24,6 \times DPp$
Besoin total en lysine digestible	$dLys$ mg/j	(14) $dLys = (dLys_{ec} + dLys_{ep}) + (dLys_{dc} + dLys_{dp})$
Production de chaleur totale	C_{tot} kcal/j	(15) $C_{tot} = 212 \times PVv^{0,75}$
Energie déposée sous forme de lipides	E_L kcal/j	(16) $E_L = 9,5 \times DLc$
Energie déposée sous forme de protéines	E_p kcal/j	(17) $E_p = 5,7 \times (DPc + DPp)$
Besoin total en énergie métabolisable	EM kcal/j	(18) $EM = C_{tot} + E_L + E_p$
Besoin en phosphore disponible pour l'entretien	$Pdispo_e$ mg/j	(19) $Pdispo_e = 3,4 + 0,0185 \times PV - 2,1 \cdot 10^{-9} \times PV^2$
Besoin en phosphore disponible pour les dépôts	$Pdispo_d$ mg/j	(20) $Pdispo_d = 4,68 \times GP$
Besoin total en phosphore disponible	$Pdispo$ mg/j	(21) $Pdispo = Pdispo_e + Pdispo_d$

Les références bibliographiques associées aux différentes équations sont précisées dans la section 1 de l'article.

INTERET DE LA PROTEOMIQUE POUR ETUDIER LA CINETIQUE DE DIGESTION DES PROTEINES DE COLZA CHEZ LE POULET DE CHAIR

Recoules Emilie¹, Lessire Michel¹, Labas Valérie^{2,3}, Duclos Michel J.¹, Combes-Soia Lucie^{2,3}, Lardic Lionel¹, Peyronnet Corinne⁴, Quinsac Alain⁵, Narcy Agnès¹, Réhault-Godbert Sophie¹

¹BOA INRA, UNIVERSITE DE TOURS - 37380 NOUZILLY,

²PRC INRA, CNRS, IFCE, UNIVERSITE DE TOURS - 37380 NOUZILLY,

³PLATE-FORME CIRE, POLE D'ANALYSES ET D'IMAGERIE DES BIOMOLECULES,
INRA, UNIVERSITE DE TOURS, CHRU DE TOURS - 37380 NOUZILLY

⁴TERRES UNIVIA - 11 rue de Monceau - 75008 PARIS

⁵TERRES INOVIA - 11 rue Monge, Parc industriel - 33600 PESSAC

emilie.recoules@inra.fr ou sophie.rehault-godbert@inra.fr

RÉSUMÉ

Pour mieux comprendre le processus de digestion des protéines de colza chez le poulet de chair, nous avons analysé leur cinétique de dégradation dans les différents segments du tractus digestif. Des poulets de chair (n = 24) ont reçu un régime semi-synthétique contenant du tourteau de colza comme seule source de protéines. A 21 jours, les animaux ont été mis à jeun, puis réalimentés et euthanasiés à trois temps différents après la fin de la période d'alimentation (A : 0 mn, B : 1h30 et C : 3h). Les contenus digestifs des différents segments ont été collectés et leur contenu en protéines a été analysé par électrophorèse, zymographie en gélatine et spectrométrie de masse. Les résultats montrent que les profils protéiques du jabot, proventricule/gésier et duodénum sont très différents tandis que le jéjunum et l'iléon présentent des profils électrophorétiques très similaires. Une activité protéolytique est visible dès le proventricule/gésier et se révèle particulièrement intense dans le jéjunum et l'iléon. L'analyse par spectrométrie de masse des contenus de tous les compartiments a permis d'identifier 86 protéines de poulet (*Gallus gallus*) et 38 protéines végétales. Nous avons également mis en évidence des spécificités de composition protéique par segment digestif, ce qui nous a permis de préciser leurs fonctions respectives. En outre, nous avons identifié 9 protéines de colza qui ne sont pas complètement dégradées et ce, même après 3h de digestion. Ce travail souligne l'intérêt des approches protéomiques pour mieux caractériser la chronologie des processus digestifs chez le poulet lors de l'utilisation de matières premières variées. A terme, ces nouvelles connaissances permettront de proposer des leviers d'amélioration de la digestibilité des aliments, en jouant notamment sur les procédés de fabrication et/ou l'ajout d'enzymes exogènes.

ABSTRACT

Studying the digestion kinetics of rapeseed proteins along the digestive tract in broiler chickens using proteomics

To better understand the digestion of rapeseed proteins in chickens, we studied their kinetic of digestion all along the digestive tract. Ross PM3 broilers (n = 24) were fed a semi-synthetic experimental diet containing rapeseed meal as the unique protein source. On day 21, after 5 hours of fasting followed by 3 hours of synchronized feeding, birds were euthanized at three different times after feed withdrawal (A: 0 mn ; B: 1h30 and C: 3h). The digestive content of the different digestive segments (crop, proventriculus/gizzard, duodenum, jejunum, ileum) were collected for further analyses by SDS-PAGE, zymography and mass spectrometry. Results showed that proteolytic profiles of the crop, proventriculus/gizzard and duodenum contents were quite different whereas those of jejunum and ileum were very similar. Proteolytic activities were detectable from the proventriculus/gizzard onwards, while intensity was progressively increased in distal segments. Mass spectrometry analysis allowed the identification of 86 chicken (*Gallus gallus*) proteins and 38 rapeseed (*Brassica napus*) proteins, including proteins that were "segment-specific". In addition, we identified 9 poorly digestible rapeseed proteins (recovered in the ileum), even after 3h of digestion. This works provides insights on the role of each digestive segment in protein digestion and highlights the usefulness of proteomic approaches to better characterize the kinetic of protein digestion in broilers. In a longer term, these knowledges could help identifying levers to improve protein digestion of various feedstuffs using different technological processes (to denaturate proteins resisting digestion) or enzyme supplementation (to increase protein digestibility).

INTRODUCTION

Le tourteau de colza est une ressource protéique intéressante dans l'alimentation du poulet de chair. Sa teneur en protéines, bien qu'inférieure à celle du tourteau de soja reste élevée et son profil en acides aminés est bien équilibré. Cependant, plusieurs constituants limitent son incorporation dans les aliments, notamment ses facteurs antinutritionnels, sa teneur en fibres et une digestibilité des protéines inférieure à celle du tourteau de soja. Cette différence de valeur nutritionnelle peut s'expliquer par des différences en termes de composition chimique mais aussi par la nature de certaines protéines constitutives. Chez le poulet de chair, les napines et cruciférines ont été rapportées pour être relativement bien digérées (Kasprzak *et al.* 2016) bien que certaines protéines soient présentes en fin de tractus digestif. Ces données indiquent que les acides aminés issus de ces protéines ne seront pas ou seulement partiellement absorbés et disponibles pour l'animal. Au-delà de ces exemples, très peu de données sont disponibles sur les autres protéines et sur les facteurs qui peuvent restreindre l'utilisation des protéines de colza par le poulet de chair. Afin de permettre une meilleure valorisation du colza dans les aliments, il convient d'avoir une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la digestion des protéines afin d'identifier des leviers potentiels permettant une amélioration de leur digestibilité. Les objectifs de l'étude étaient 1) de caractériser le rôle des différents segments digestifs dans la digestion des protéines, 2) d'identifier les protéines impliquées dans les processus de digestion, 3) d'identifier d'éventuelles protéines de colza résistantes à la digestion.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Nous avons utilisé des poulets de chair Ross PM3 (n = 24) pendant une période d'élevage de 21 jours. De J0 à J7 les animaux ont été élevés au sol. A J7 les animaux ont été placés en cage individuelle. De J0 à J13 les animaux ont reçu un régime démarrage à base de blé, maïs et tourteau de soja. Pendant la période d'adaptation (J13-J17), l'aliment était un mélange d'aliment démarrage et d'aliment expérimental (50/50) puis pendant la phase expérimentale (J17-J21), les animaux ont reçu 100% d'aliment expérimental. Celui-ci était un régime semi-synthétique (tourteau de colza : 56,5%, amidon de maïs : 22,43%, saccharose : 11,05%) avec le tourteau de colza comme source unique de protéines. Du dioxyde de titane a été ajouté à l'aliment (0,5%) afin de mesurer la digestibilité iléale de l'azote. Des mesures hebdomadaires de poids vif et consommation d'aliment ont été réalisées. Les apports en eau et en aliments granulés étaient fournis *ad libitum* pendant toute la période d'élevage. Sur la base du poids vif à

J17 et du gain de poids entre J13 et J17, les animaux ont été répartis en 3 groupes homogènes (A, B et C, soit n = 8 par groupe). A J21, les animaux qui avaient préalablement été mis à jeun pendant 5h ont été réalimentés de manière synchronisée pendant 3h puis euthanasiés par injection de pentobarbital sodique. L'euthanasie a eu lieu à 3 temps différents après la fin de la période de réalimentation (groupe A : 0 mn, groupe B : 1h30 et groupe C : 3h). Les contenus de 5 compartiments digestifs (jabot, proventricule/gésier, duodénum, jéjunum, iléon) ont été collectés et conservés à - 80 °C.

1.2. Analyses des contenus digestifs

Le pH des contenus des différents segments digestifs ont été mesurés (pH-mètre SevenGo™ SG2, électrodes InLabbs Solids Pro ; Mettler-Toledo, France). Les échantillons de digesta ont été préparés selon la méthode décrite dans Recoules *et al.* (2017). Pour chaque échantillon, le poids initial (prise d'essai + tampon) ainsi que le poids final (poids du culot après centrifugation et récupération du surnageant) ont été utilisés pour calculer le poids de la part insoluble : $(\text{poids final} / \text{poids initial}) * 100$. La concentration en protéines des surnageants a été mesurée par DC Biorad (Biorad, Marnes-la-Coquette, France). Après avoir vérifié l'homogénéité des échantillons individuels par SDS-PAGE, les échantillons ont été poolés par groupe et segments digestifs (n = 8). Les pools ont été constitués sur la base de la concentration protéique afin que chaque échantillon contribue à part égale à la concentration protéique du pool. Les pools ont ensuite été analysés par SDS-PAGE puis zymographie (Réhault-Godbert *et al.* 2008; Recoules *et al.* 2017). La zymographie a été réalisée à pH physiologiques pour les différents segments digestifs afin de se rapprocher au mieux des conditions *in vivo*. Les échantillons (aliment, n=1 et contenus digestifs, n=15 : 3 groupes*5 segments) ont ensuite été inclus dans un gel d'acrylamide sans réaliser de fractionnement (concentration des protéines en une seule bande), colorées au bleu de Coomassie puis analysées par nanoLC-MS/MS (Marie *et al.* 2015).

1.3 Analyses statistiques

Les effets du segment digestif et/ou du groupe (A, B ou C) sur le pH, la part insoluble, la concentration en protéines du surnageant ont été analysés avec le logiciel R en utilisant le modèle linéaire généralisé ou le test non-paramétrique de Kruskal-Wallis selon la distribution des variables. La différence a été considérée significative pour $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Consommation, pH et digestibilité

La consommation d'aliment pendant les 3 heures de réalimentation a été similaire pour les 3 groupes (A :

35 ± 6,7 g; B : 31 ± 5,7 g et C : 34 ± 3,6 g). Les pH des contenus des différents segments digestifs sont représentés sur la figure 1. Les valeurs varient de 4,0 ± 0,85 (Prov/Gésier) à 8,2 ± 0,25 (Iléon). Une différence significative a été observée entre le proventricule/gésier, le jéjunum et l'iléon. La digestibilité iléale apparente de l'azote était de 72 ± 5,3 % en moyenne. Aucune différence significative n'a été observée entre les groupes (A : 69 ± 5,8%, B : 74 ± 3,8% et C : 72 ± 5,4%).

2.2 Concentration en protéines et part insoluble des contenus digestifs

La comparaison des concentrations en protéines entre les segments digestifs n'a été faite que pour le groupe A (jabots vides pour la plupart des animaux des groupes B et C). La teneur en protéines varie de 12,4 ± 3,7 mg/ml (Iléon) à 25,8 ± 10,5 mg/ml (Duodénum). La concentration en protéines dans le duodénum est significativement supérieure à celles obtenues dans les autres segments. La part relative d'échantillon insoluble varie de 11,4 ± 3,1% (Duodénum) à 34,7 ± 3,3% (Iléon). Elle diminue du jabot au duodénum et augmente dans le jéjunum et l'iléon (résultats non montrés). Ces résultats indiquent que le contenu digestif contient principalement des composés solubles. La part plus importante de composés insolubles (indigestibles) en fin de tractus digestif pourrait s'expliquer par l'absorption des composés solubles. Si l'on compare les groupes A, B et C (résultats non montrés), la teneur en protéines est plus faible dans le groupe C certainement due à l'hydrolyse progressive et l'absorption des protéines par l'animal au cours du temps. Cependant, la part insoluble reste relativement stable entre les groupes ce qui indique qu'une partie de l'aliment reste insoluble et potentiellement indigestible.

2.3 Identification des protéines et activité protéolytique

L'analyse par électrophorèse (Figure 2A) a permis d'identifier des bandes dans le jabot qui sont visibles dans les groupes A, B et C. Ces bandes correspondent aux protéines de l'aliment. Le profil protéique reste identique quel que soit le groupe, ce qui suggère qu'il n'y a pas d'hydrolyse des protéines dans ce compartiment digestif. Dans le proventricule/gésier, certaines bandes visibles dans le jabot sont toujours présentes (groupe A) mais disparaissent progressivement au cours du temps (groupes B et C). Dans le duodénum, de très nombreuses bandes sont visibles et aucune différence notable n'a pu être détectée entre les groupes A, B et C. Dans le jéjunum et l'iléon, les profils sont similaires et aucune différence notable n'a été mise en évidence entre les groupes.

Les approches par zymographie ont permis d'évaluer l'activité protéolytique dans les différents segments (Figure 2B). Une légère activité a été relevée dans le

jabot des animaux du groupe B mais serait certainement liée à un reflux puisqu'elle n'est pas visible dans les autres groupes. De nombreuses bandes protéolytiques ont été détectées dans le proventricule/gésier avec une plus forte intensité pour le groupe B. L'intensité de l'activité protéolytique semble augmenter du duodénum à l'iléon, et ce dans chacun des groupes A, B et C.

2.4 Caractérisation des protéines par spectrométrie de masse

L'analyse par spectrométrie de masse à haute résolution a permis d'identifier 86 protéines de poulet (*Gallus gallus*). Le nombre de protéines identifiées dans chaque segment et pour les groupes A, B et C est présenté en Figure 3A. Pour le proventricule/gésier, le nombre de protéines le plus élevé est observé dans le groupe B. Le duodénum est le segment qui contient le plus grand nombre de protéines (n=69) et la plupart des protéines identifiées étaient spécifiques de ce segment (non retrouvées dans les autres compartiments digestifs). Ce nombre diminue légèrement avec la progression de la digestion. Dans le jéjunum, 33 protéines ont pu être identifiées. Le nombre de protéines augmente au fur et à mesure de la digestion. Cette tendance, inverse à celle observée dans le duodénum, suppose que les protéines qui disparaissent du duodénum au cours du temps, sont celles que l'on retrouve dans le jéjunum. Dans l'iléon, 23 protéines ont été identifiées et ce nombre reste relativement stable entre les groupes A, B et C.

L'annotation fonctionnelle des protéines identifiées a montré que dans le duodénum, les enzymes protéolytiques représentent environ 20% des protéines identifiées, la majorité des protéines étant impliquée dans le métabolisme des lipides, des sucres et des vitamines. La moitié des protéines est impliquée dans le maintien de l'homéostasie intestinale et la réponse au stress. Le duodénum semble donc être un segment important pour le maintien de l'intégrité et du bon fonctionnement de l'ensemble du tractus digestif. La fonction majeure du jéjunum et de l'iléon apparaît très similaire, les protéases représentant la majorité des protéines identifiées (60-70%). Ces deux segments intestinaux distaux participent davantage à la protéolyse des protéines de l'aliment.

Concernant les protéines de colza, 38 ont pu être identifiées (Figure 3B). Le jabot est un lieu de stockage de l'aliment ce qui explique que seule des protéines végétales ont été identifiées dans ce compartiment. Globalement, dans les autres compartiments, le nombre de protéines végétales diminue entre les groupes A et C, en accord avec la progression de la digestion. Les résultats indiquent que 9 protéines de colza sont encore présentes dans l'iléon, ce qui suggère qu'elles résistent partiellement à la digestion (Tableau 1).

Les principales protéines de colza identifiées au niveau iléal sont des cruciférines et des inhibiteurs

trypsiques. Les napines qui étaient visibles dans le jabot et proventricule/gésier et ce même après 3h de digestion, n'ont pas été retrouvées dans les autres segments, ce qui confirme que ces protéines sont relativement bien digérées par le poulet (Kasprzak *et al.* 2016).

CONCLUSION

Ce travail a permis de souligner le rôle des différents segments digestifs dans la digestion des protéines, soulignant notamment 1) le rôle clé du duodénum dans le maintien de l'intégrité digestive et la réponse

au stress et 2) la grande similarité entre le jéjunum et l'iléon. Par ailleurs, l'identification de protéines de colza plus difficiles et plus longues à digérer ainsi que la présence de facteurs antinutritionnels (inhibiteur trypsique) témoigne d'une perturbation du processus digestif et peut expliquer la présence accrue de protéines impliquées dans la réponse au stress et le maintien de l'homéostasie. Ce travail permet une meilleure compréhension du rôle des segments digestifs, de la nature des protéines non digérées et des facteurs antinutritionnels et doit conduire vers des leviers pour améliorer la digestibilité des protéines de colza.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Kasprzak, M. M., Houdijk, J. G., Liddell, S., Davis, K., Olukosi, O. A., Kightley, S., White, G. A. & Wiseman, J.(2016). Rapeseed napin and cruciferin are readily digested by poultry. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*.

Marie, P., Labas, V., Brionne, A., Harichaux, G., Hennequet-Antier, C., Nys, Y. & Gautron, J.(2015). Quantitative proteomics and bioinformatic analysis provide new insight into protein function during avian eggshell biomineralization. *J Proteomics* 113, 178-193.

Recoules, E., Sabboh-Jourdan, H., Narcy, A., Lessire, M., Harichaux, G., Labas, V., Duclos, M. J. & Rehault-Godbert, S.(2017). Exploring the in vivo digestion of plant proteins in broiler chickens. *Poultry Science* 96, 1735-1747.

Réhault-Godbert, S., Gautron, J., Labas, V., Belghazi, M. & Nys, Y.(2008). Identification and Characterization of the Precursor of Chicken Matrix Metalloprotease 2 (pro-MMP-2) in Hen Egg. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6294-6303.

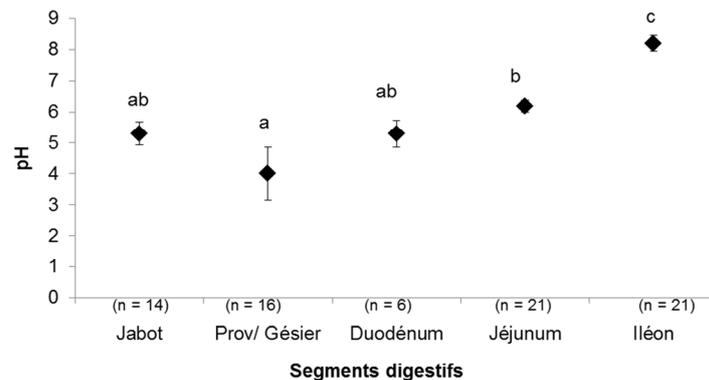


Figure 1. Valeurs de pH des contenus des différents segments digestifs (groupes A, B et C confondus).

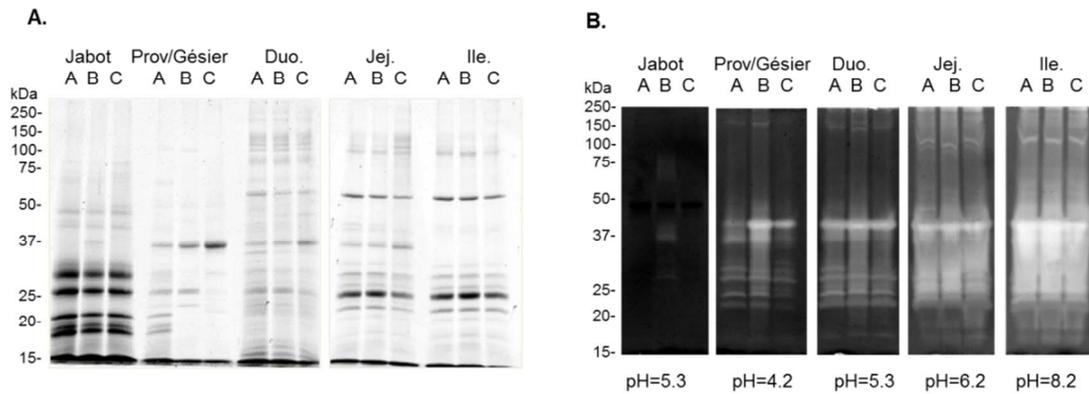


Figure 2. Profils des contenus digestifs obtenus par SDS-PAGE 12.5% (A) et zymographie (12.5%) en gélatine aux pH physiologiques (Fig. 1) (B). Prov/Gésier., proventricule-gésier ; Duo., Duodénum ; Jej., Jéjunum ; Ile., Iléon. Marqueur de taille en kDa à gauche des gels et zymographies. Dépôts de 40µg (SDS-PAGE) et 5µg (Zymographie) de protéines.

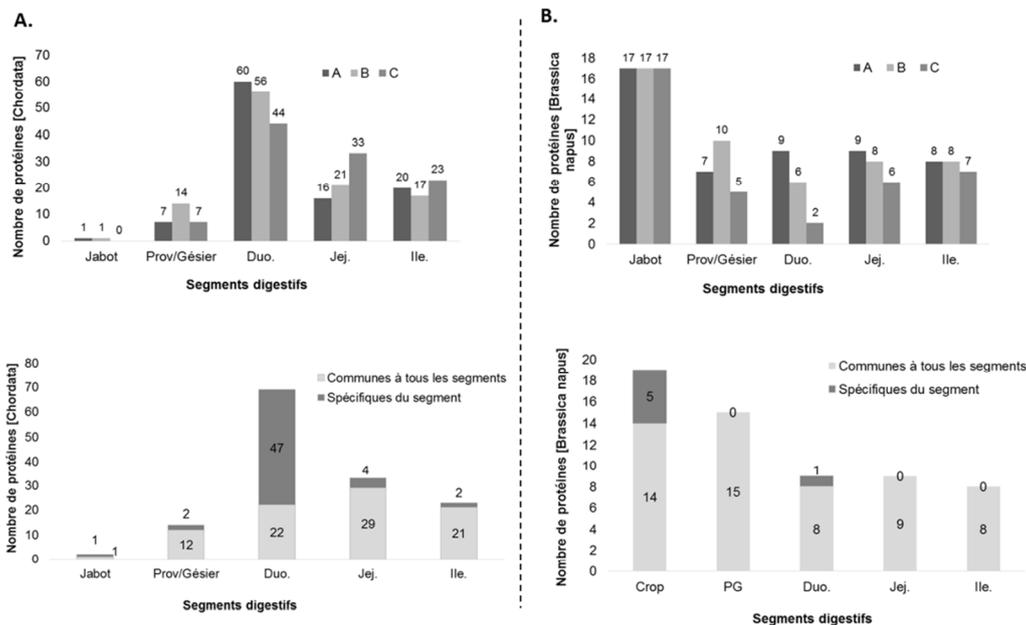


Figure 3. Nombre de protéines animales (A) et végétales (B) par segments digestifs, en fonction des groupes A, B, et C (en haut), et spécificité des protéines par segment digestif (en bas). Prov/Gésier., Proventricule-Gésier ; Duo., Duodénum ; Jej., Jéjunum ; Ile., Iléon.

Tableau 1 : Liste des 9 protéines de colza identifiées dans l'iléon

Protéines	Accession number
Rapeseed trypsin inhibitor 3	CAJ44307.1
PREDICTED: putative phosphatidylglycerol/phosphatidylinositol transfer protein DDB_G0282179	XP_013714672.1
GDSL esterase/lipase At1g54020-like precursor	NP_001302825.1
PREDICTED: trypsin inhibitor DE-3-like	XP_013713143.1
BnaA08g13680D	CDY14237.1
Cruciferin subunit,	AAK07609.1
BnaA06g36310D/cruciferin precursor	CDY22309.1
BnaA10g02240D	CDX89858.1
BnaA09g04300D	CDY19777.1

MODÉLISATION DE L'UTILISATION DU PHOSPHORE ALIMENTAIRE CHEZ LE POULET DE CHAIR

Couture Catherine¹, Méda Bertrand², Narcy Agnès², Létourneau-Montminy Marie-Pierre¹

¹UNIVERSITÉ LAVAL - Département des sciences animales - 2425 rue de l'Agriculture - G1V 0A6, QUÉBEC, Canada

²BOA, INRA, Université de Tours, 37380 NOUZILLY, France

marie-pierre.letourneau@fsaa.ulaval.ca

RÉSUMÉ

Dans un contexte de durabilité des productions animales, il est primordial de définir des stratégies alimentaires permettant d'optimiser l'utilisation du phosphore alimentaire par les poulets de chair compte tenu des impacts environnementaux et économiques du phosphore. L'objectif de cette étude était de développer un modèle simulant la réponse des poulets de chair aux apports de phosphore en prenant en compte les principaux facteurs de variation i.e. teneurs en calcium et phytase microbienne de l'aliment. Le modèle comporte deux sous-modules intégrant respectivement la croissance de l'animal, soit la somme des dépôts quotidiens de protéines, d'eau, de lipides et de cendres. Les cendres sont prédites à partir du second module de prédiction du devenir métabolique du phosphore et du calcium. Les dépôts journaliers protéiques (plumes et corps) sont estimés à partir du poids de l'animal (allométries) puis modulés en fonction de l'ingéré quotidien de lysine. Le dépôt lipidique journalier est ensuite quantifié par différence entre l'énergie métabolisable ingérée et les pertes sous forme d'extra chaleur et les dépôts sous forme de protéines. Enfin, le second sous-module prédit le dépôt de cendres qui dépend des apports phosphocalciques dans l'aliment. Dans ce dernier sous-module, des équations d'absorption du phosphore et du calcium ainsi que des teneurs en phosphore et en calcium dans les tissus sont utilisées pour estimer les dépôts de phosphore, de calcium et de cendres dans les os, les tissus mous et les plumes. Ce modèle permet de mieux prédire l'utilisation du phosphore alimentaire ainsi que l'impact du phosphore, du calcium et de la phytase microbienne sur les performances chez le poulet de chair. Dans une perspective d'outil d'aide à la décision, ce modèle permettra de définir des stratégies alimentaires intégrant de nouvelles contraintes environnementales, économiques ou sociétales.

ABSTRACT

Modelling dietary phosphorus utilization by broilers

In a context of sustainability of animal production, it is essential to define feed strategies to optimize the use of dietary phosphorus by broilers given the environmental and economic impacts of phosphorus. The objective of this study was to develop a model simulating the response of broilers to phosphorus intake by taking into account the main factors of variation i.e. levels of calcium and microbial phytase of the feed. The model has two submodules integrating respectively the growth and the metabolic fate of phosphorus and calcium. For the growth aspect, weight gain is calculated as the sum of daily deposits of protein, water, fat and ash. The daily protein deposits (feathers and body) are estimated from the weight of the animal (allometries) and then modulated according to the daily intake of lysine. Daily lipid deposition is then quantified by the difference between ingested energy and losses in the form of heat and deposits in the form of proteins. Finally, the second submodule predicts ash deposition, which depends on P and Ca amounts in the feed. In this last submodule, digestive absorption equations of phosphorus and calcium, as well as phosphorus and calcium levels in tissues are used to estimate phosphorus, calcium and ash depositions in bone, soft tissues and feathers. This model allowed a better prediction of the use of dietary phosphorus and the impact of phosphorus, calcium and microbial phytase on performance in broiler chickens. This model can be used as a decision-making tool while defining food strategies integrating new environmental, economic or social constraints.

INTRODUCTION

La production avicole fait face à d'importants défis pour sa compétitivité dont l'utilisation plus efficace du phosphore (P). La diminution des apports de P permettrait une baisse du coût de l'alimentation et de l'excrétion de l'élément dans l'environnement contribuant à inscrire la production dans un contexte plus durable. Améliorer l'efficacité d'utilisation de P par les poulets est donc essentielle. Le défi est d'autant plus difficile à relever que les mouvements (disponibilité et variation de prix) sur le marché des matières premières sont constants (ex. : phosphate, phytase, drêches). Actuellement, aucun système de formulation ne permet de prédire simultanément les différentes réponses des animaux aux apports phosphocalciques en termes de performances de croissance, de rejets et de rétention corporelle ni de prendre en compte les interactions entre les composés de la matrice alimentaire. Afin d'optimiser l'utilisation de P par les poulets, il est donc important d'améliorer notre capacité à prédire les quantités absorbées et retenues en considérant les principaux facteurs influant sur ces réponses.

Le modèle présenté dans ce travail permet de simuler les performances de croissance et la répartition de P et de Ca entre les différents compartiments à l'échelle de l'animal en fonction des teneurs en P, Ca et phytase microbienne de l'aliment. Il contribuera à définir des stratégies de formulation adaptées en fonction des objectifs de production fixés.

1. MATERIELS ET METHODES

Le modèle a été développé sur le logiciel Vensim (Version 6.4) et paramétré pour des poulets mâles Ross 308.

1.1. Prédiction de la consommation journalière

La consommation journalière théorique d'aliment est un paramètre d'entrée du modèle et renseignée par l'utilisateur. Dans cette étude, les données du sélectionneur Aviagen pour le poulet Ross 308 mâle ont été utilisées. La consommation réelle est ensuite calculée en modulant la consommation théorique en fonction des niveaux en P, Ca et phytase microbienne dans l'aliment selon les travaux de Hedhli *et al.* (2018).

1.2. Prédiction du devenir du phosphore et du calcium ingéré et du dépôt de cendres corporelles

Le présent modèle est un modèle mécaniste à compartiments à l'échelle de l'animal dans lequel le tractus gastro-intestinal, le milieu extracellulaire, les tissus mous (protéines et lipides), les plumes et l'os sont représentés (Figure 1). Les sorties correspondent aux pertes fécales et urinaires de P et de Ca.

1.2.1. Devenir digestif du phosphore et du calcium

L'absorption de P a été obtenue à partir d'une méta-analyse récente (Couture *et al.*, 2019) et dépend principalement des formes et de l'apport de P, du niveau de Ca, de la présence de phytase exogène et des interactions entre P et Ca au niveau digestif. L'absorption de Ca a été estimée à partir des données de la même base lorsque le Ca avait été mesuré également. Pour la phytase exogène pour l'absorption de Ca et de P, les données d'équivalence des matrices de formulation pour les différentes phytases disponibles sur le marché ont été utilisées afin d'ajuster l'effet (les coefficients) de l'enzyme au plus près des produits de dernière génération. Le P et le Ca non absorbés sont excrétés dans les fèces.

1.2.2. Devenir métabolique du phosphore et du calcium

Au niveau corporel, les cendres sont distribuées entre les tissus osseux et mous et les plumes. Les cendres liées à l'os sont la somme du dépôt de Ca, de P et des autres minéraux mineurs ((divers, **Div**). Le dépôt de calcium lorsque l'animal est à son potentiel de dépôt (**CaOsPot**) dans les cendres osseuses a été simulé à l'aide de données de dissection de poulets de 2 à 85 jours d'âge recevant des apports élevés de P et Ca (Angel *et al.*, Hamdi *et al.*, données non publiées) selon l'équation suivante :

$$\text{Dépôt de Ca osseux, g/jour} = -0.005052 + 0.025046 * \text{Âge} - 0.000255 * \text{Âge}^2$$

Le ratio Ca:P a été considéré fixe à 2,0 et est utilisé pour simuler le potentiel de dépôt de P dans l'os. Avec les mêmes données, il a été estimé que les autres minéraux (**Div**) représentent 48% des cendres.

Par ailleurs, il a été considéré dans le modèle que le dépôt de P dans les tissus mous et les plumes était prioritaire par rapport à celui dans l'os, en accord avec la littérature (Feaster *et al.*, 1953; Brautbar *et al.*, 1979). De plus, la concentration de P par unité de protéine et de lipide dans les tissus mous a été déterminée à partir des mêmes données de dissection (Hamdi *et al.*, données non publiées) alors que celle des plumes provient de Nancy *et al.* (données non publiées). Enfin, les pertes urinaires de P et de Ca correspondent aux pertes obligatoires et à la part absorbée qui n'est pas retenue en raison soit d'un excès par rapport au potentiel de dépôt corporel soit d'un déséquilibre entre Ca et P au niveau osseux. Les pertes obligatoires ont été calculées comme étant l'excrétion urinaire de Ca et de P les plus faibles (Manangi *et al.*, 2018) et sont de 0,768 mg/kg PV et de 0,874 mg/kg PV, respectivement. Les pertes obligatoires de P et de Ca dans les fèces sont estimées

selon le poids vif (Khaksarzareha *et al.*, 2017) et selon la consommation de matière sèche (Anwar *et al.*, 2016, 2017, 2018 ; Anwar et Ravindran, 2016), respectivement.

1.3. Prédiction des dépôts protéiques et lipidiques et calcul du gain de poids journalier

Selon une approche similaire à celle utilisée dans le modèle InraPorc (van Milgen *et al.*, 2008), le poids vif vide est considéré comme la somme de l'**Eau**, des cendres, des protéines (**Prot**) et des lipides (**Lip**). Les cendres sont prédites indépendamment de la protéine et dépendent des apports phosphocalciques (Létourneau-Montminy *et al.*, 2015 ; section 1.2.2). Les dépôts protéiques sont divisés en deux compartiments: les protéines corporelles (**Protc**) et les protéines des plumes (**Protp**) (Figure 1). Les dépôts protéiques réels sont calculés en deux temps. Tout d'abord, les dépôts protéiques potentiels (plumes et corporels, **ProtPot**) sont estimés en fonction du poids vif vide à partir des données de Silva *et al.* (2015). À partir de ces dépôts protéiques potentiels quotidiens, un besoin théorique journalier en lysine digestible pour la croissance (dépôt) des plumes et des protéines corporelles est estimé en considérant le coefficient d'efficacité d'utilisation de la lysine proposé par Sakomura *et al.* (2015) et la teneur en lysine dans 1g de protéine corporelle (Stillborn *et al.*, 2010) et des plumes (Stillborn *et al.*, 1997). Le besoin d'entretien quotidien des plumes et des protéines corporelles est également estimé selon la masse protéique des plumes et du corps (Hauschild *et al.*, 2015). La somme des besoins théoriques pour l'entretien et la croissance constitue alors l'ingéré théorique quotidien de lysine digestible.

Enfin, l'ingéré réel de lysine digestible (consommation réelle x teneur en lysine digestible de l'aliment) est comparé à l'ingéré théorique décrit précédemment. Lorsque que l'ingéré réel est inférieur au théorique, les dépôts protéiques théoriques dans les plumes et le corps sont pondérés par le ratio entre l'ingéré réel et théorique. Dans le cas inverse, les dépôts réels sont égaux aux dépôts théoriques. Le dépôt d'eau dans le corps est calculé en fonction du dépôt protéique corporel (Silva *et al.*, 2015). Enfin, le dépôt lipidique est calculé par différence entre l'énergie ingérée et l'énergie déposée dans les protéines (Znaniacka, 1967) et perdue sous forme de chaleur (Sakomura *et al.*, 2005). Avec ces données, la perte de chaleur en bas âge était surestimée. Pour y pallier, un coefficient a été estimé pour les oiseaux de 10 jours et moins basé sur la perte de chaleur estimée par Sakomura *et al.* (2005) et sur la balance énergétique. La balance énergétique est définie comme l'ingéré d'énergie métabolisable moins l'énergie déposée dans les protéines et les lipides et a été estimé à partir des dépôts protéiques (plumes et corporel) et lipidique de Silva *et al.* (2015).

Le gain de poids journalier de l'animal est finalement calculé comme la somme des dépôts corporels (cendres, protéines, eau, lipides) et de la croissance des plumes, calculée à partir du dépôt protéique dans les plumes et en considérant que les protéines représentent 84% du poids des plumes (Silva *et al.*, 2015).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Comportement du modèle

Un poulet de 21 jours nourri au niveau de ses besoins, journaliers dans tous les nutriments à l'exception de ceux de Ca et de P, a été simulé pour évaluer le comportement du modèle.

2.1.1. Dépôt corporel de calcium et de phosphore

Chez un poulet alimenté au besoin en P et qui reçoit des doses croissantes de Ca (Figure 2a), on observe une amélioration de la rétention globale du Ca à 5,0 g/kg Ca dans l'aliment qui est plus faible qu'à 10 g/kg de Ca dans l'aliment du fait de l'augmentation des quantités de Ca absorbé. La rétention de Ca diminue, cependant, pour un apport de Ca de 12,5 g/kg. Cette diminution est due à la baisse de consommation liée aux hauts niveaux de Ca (Hedhli *et al.*, 2018). Le Ca est majoritairement déposé dans l'os (95%) puis dans la protéine corporelle (4%). Lorsque le poulet reçoit un apport adéquat de Ca et que l'apport de P non-phytique (PNP) varie de 1 à 5 g/kg (fig 2b), on peut observer une augmentation du dépôt de P dans le compartiment osseux : présence d'un dépôt très faible à bas P en raison d'un manque de substrat pour la trame minérale de l'os. Notons toutefois qu'à 1 g de PNP, équivalent au PNP d'origine végétale présent dans un aliment sans phosphate, il n'y a aucun dépôt osseux alors que la concentration en P dans les autres tissus n'est pas modifiée (Figure 2b) qui démontre une priorité des tissus mous et des plumes par rapport à l'os tel que précédemment discuté. Dans l'aliment apportant 5 g de PNP/kg, 62% du P est déposé dans l'os, 33% dans la protéine corporelle, 3% associés aux lipides et 2% dans la protéine des plumes.

2.1.2. Effets de déséquilibres des apports phosphocalciques

En accord avec les hypothèses du modèle, une augmentation de l'apport de PNP accompagnée d'un apport adéquat de Ca se traduit par une rétention de Ca accrue. Ceci s'explique par le fait que le Ca est déposé selon un ratio constant avec le P (Figure 3a). En parallèle, les pertes urinaires de Ca sont réduites en raison d'un meilleur dépôt dans l'os. Les pertes fécales sont quant à elles peu modifiées. Dans un régime bien pourvu en P, l'augmentation de l'apport de Ca de 5,0 à 10 g/kg se traduit par une amélioration

de P retenu avec une réduction des pertes urinaires (Figure 3b). Cependant, lors d'un apport élevé de Ca (12,5 g/kg), la consommation de P est diminuée entraînant une diminution de la quantité de P retenu (par rapport à l'aliment apportant 10 g/kg. Ceci est cohérent avec les résultats d'excrétion urinaire de Manangi et al. (2018) obtenus à la suite de colostomies.

CONCLUSION

Bien qu'il soit un nutriment vital pour l'animal, le P, apporté en excès, peut engendrer des problèmes environnementaux. Son métabolisme est complexe,

notamment en raison de ses interactions avec le Ca dans les sphères digestives et métaboliques. Aussi, seule une approche de modélisation permet de prendre en compte simultanément les principaux mécanismes impliqués et de prédire l'effet de déséquilibres phosphocalciques. De plus, cette approche permet de rendre compte de différents objectifs de production tels que les performances de croissance, la qualité des produits et l'environnement. Cette démarche est particulièrement utile pour l'évaluation de stratégies alimentaires visant la formulation d'aliments à hautes performances économique et environnementale.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anwar M.N., Ravindran V., 2016. In : Phytate destruction – consequences for precision animal nutrition (eds C.L. Walk, I. Kühn, H.H. Stein, M.T. Kidd, M. Rodehutsord), Wageningen Academic Publishers, Wageningen, p.191-205.
- Anwar M.N., Ravindran V., Morel P.C.H., Ravindran G., Cowieson A.J., 2016. *Poult. Sci.*, (95), 70-76.
- Anwar M.N., Ravindran V., Morel P.C.H., Ravindran G., Cowieson A.J., 2017. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (224), 39-45.
- Anwar M.N., Ravindran V., Morel P.C.H., Ravindran G., Cowieson A.J., 2018. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (237), 118-128.
- Brautbar N., Lee D.N., Coburn J.W., Kleeman C.R., 1979. *Am. J. Physiol.*, (236), E283-E288.
- Couture C., Narcy A., Létourneau-Montminy M.-P., 2019. Journées de la Recherche avicole et Palmipèdes à foie gras, (13), sous presse.
- Feaster J.P., Shirley R.L., McCall J.T., Davis J.K., 1953. *J. Nutr.*, (51), 381-392.
- Hauschild L., Sakomura N.K., Silva E.P., 2015 In: *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry* (eds Sakomura N.K., Gous R., Kyriazakis I., Hauschild L.) CABI Publishing, Oxfordshire, 188-208.
- Hedhli A. 2018. Effet des apports de Phosphore (P) et calcium (Ca) sur les performances de croissance chez le poulet: Approche par méta-analyse. Mémoire de maîtrise, Université de Tours, Tours, France.
- Létourneau-Montminy M.-P., Narcy A., Dourmad J.Y., Crenshaw T.D., Pomar C., 2015. *J. Anim. Sci.*, (93), 1200-1217.
- Khaksarzareha V., Méda B., Narcy A., 2017. In: *Proceedings of the 21st European Symposium on Poultry Nutrition*, p.124-129
- Manangi K.M., Maharjan P., Coon C.N., 2018. *Poult. Sci.*, (97), 522-530.
- Sakomura N.K., Longo F.A., Oviedo-Rondon E.O., Boa-Viagem C., Ferraudo A., 2005. *Poult. Sci.*, (84), 1363-1369.
- Sakomura N.K., Silva E.P., Dorigam J.C.P., Gous R.M., St-Pierre N., 2015. *J. Appl. Poult. Res.*, (24), 267-282.
- Silva E.P., Sakomura N.K., Marcato S.M., Neme R., 2015 In: *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry* (eds Sakomura N.K., Gous R., Kyriazakis I., Hauschild L.) CABI Publishing, Oxfordshire, 188-208.
- Stillborn H.L., Moran E.T., Gous R.M., Harrison M.D., 1997. *J. Appl. Poult. Res.*, (6), 269-304.
- Stillborn H.L., Moran E.T., Gous R.M., Harrison M.D., 2010. *J. Appl. Poult. Res.*, (19), 13-23.
- van Milgen J., Valancogne, A. Dubois S., Dourmad J.-Y., Sève B., Noblet J., 2008. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (143), 387-405.
- Znanięcka, G. 1967. In *Proc. 4th EAAP Symp. Energy Metab. Farm Anim.* (eds K. L. Blaxter, J. Kielanowski, G. Thorbek), UK. Eur. Assoc. Anim. Prod., Rome, p.407-408.

Figure 1. Schéma général du modèle du devenir de calcium et de phosphore et de la croissance des différents tissus. .

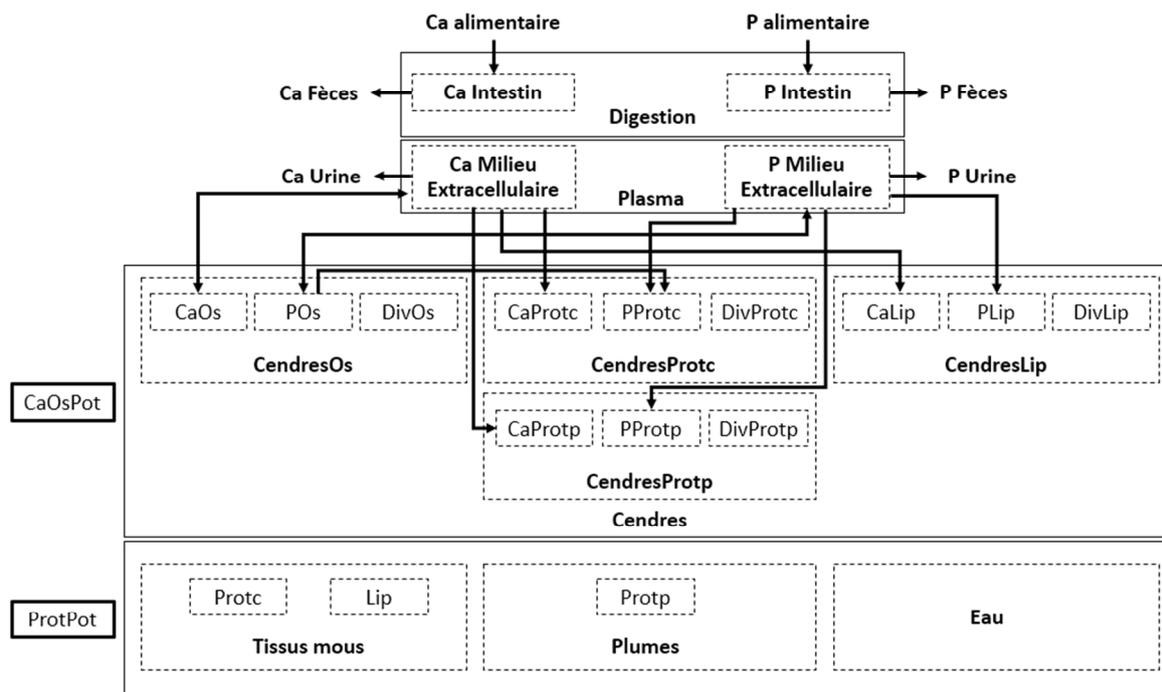


Figure 2. Dépôt corporel de calcium (a) et de phosphore (b) en fonction des apports phosphocalciques.

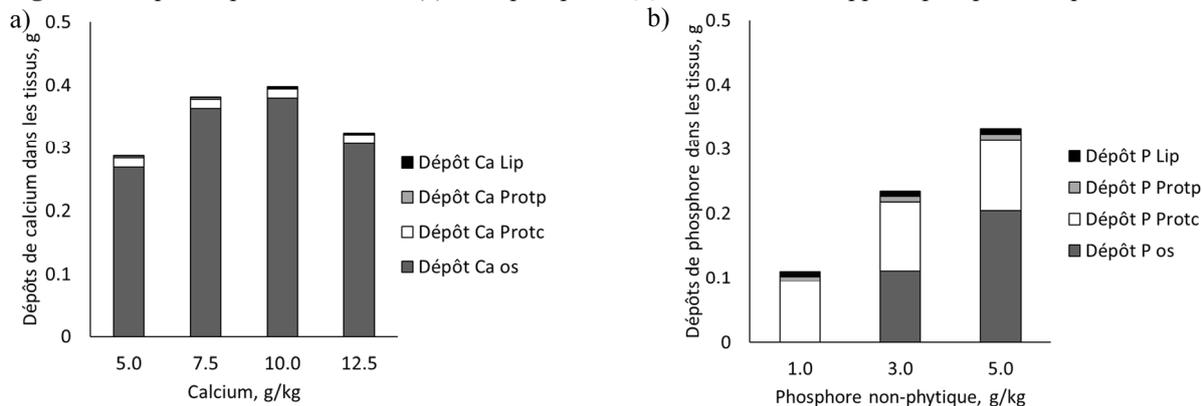
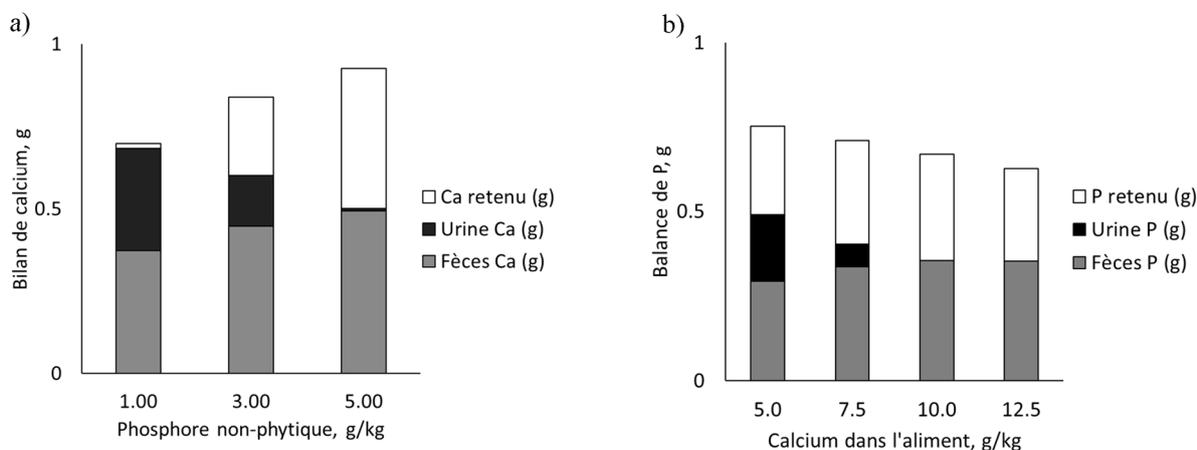


Figure 3. Bilan de calcium (a) et de phosphore (b) en fonction des apports phosphocalciques.



EVALUATION DU CONTENU EN PHOSPHORE PHYTIQUE D'ALIMENTS COMMERCIAUX POULET STANDARD ET LABEL

Gigaud V erane¹, Smith Adam², Arroyo Juan-Jose³, Thoby Jean-Marc¹

¹ *DSM Nutritional Products France, 92250 La Garenne Colombes, France*

² *DSM Nutritional Products (UK) Ltd, Heanor Gate Industrial Estate, United Kingdom*

³ *DSM Nutritional Product Spain, Alcal a de Henares, 28806 Madrid, Spain*

Verane.gigaud@dsm.com

RÉSUMÉ

L'acide phytique est un facteur antinutritionnel majeur de l'alimentation des monogastriques, repr esentant 60 à 80 % du phosphore des plantes. L'étude a évalué les teneurs en phosphore phytique de 22 gammes d'aliments poulet, standard ou label, fabriqués en France (78 échantillons collectés de mai à juin 2017). Les cendres, le phosphore total et le calcium ont été quantifiés par analyse chimique. Les teneurs en protéine et phosphore phytique ont été analysées par SPIR. Les statistiques descriptives ont été analysées par stade physiologique. Le Phosphore non phytique (PnP) a été calculé (par différence) ainsi que différents ratios (Ca/PnP, Ca/Pphytique, Pphytique/P total et Pphytique/protéine).

La teneur moyenne en phosphore phytique dans l'aliment est de 0,27%, variant de 0,20% à 0,41%. Respectivement pour les aliments démarrage, croissance, finition et retrait, les niveaux moyens sont de 0,30 ; 0,27 ; 0,26 et 0,26 % avec des coefficients de variation allant de 10,5 à 14,6% selon les stades.

En fonction des contextes de formulation, certains ratios (Ca/PnP) apparaissent très variables. La connaissance des teneurs en phosphore phytique des aliments, comme évaluées dans cette enq ete, permet aux nutritionnistes de quantifier les doses de phytases exogènes à incorporer, libérant une quantité de phosphore disponible permettant d'ajuster finement ces équilibres selon l'objectif recherché (croissance ou minéralisation).

Cette enq ete a montré que les niveaux de phosphore phytique dans les différents aliments poulet, comme source de phosphore, sont globalement élevés notamment dans les aliments démarrage. La variabilité des teneurs en phosphore phytique et le potentiel antinutritionnel important de l'acide phytique doivent être considérés dans les stratégies nutritionnelles pour une alimentation de précision.

ABSTRACT

Survey of the phytic phosphorus content of commercially available complete broiler feeds

Phytic acid is the main storage form of phosphorus in plant-based feed ingredients and is found in concentrations from 60 to 80 %. Phytic acid is also an antinutritional factor, binding essential nutrients and making them unavailable for the animal. The addition of an exogenous phytase to the diet of monogastric animals is a way to increase phosphorus bioavailability and to decrease the antinutritional effect of phytate.

The aim of this study was to evaluate the level and variability of phytic phosphorus (phytic P) in poultry feeds typical of the French market. Seventy-eight feed samples were collected between May and June 2017 and analyzed for Phytic P and Protein content by NIR. Ash, total Phosphorus and Ca were analyzed by chemical analysis. Non-Phosphorus phytic acid (NPP) was calculated (by difference) and different important ratios as Ca/PnP, Ca/Pphytic, Pphytic/Total P and Pphytic/protein were also calculated.

The results (n=22 feeding program) were collated according to the four physiological stages of poultry production and analyzed statistically (minimum, maximum, mean, median, quartiles, coefficient of variation).

The mean level of phytic P in all feeds was 0,27% ranging from 0,20% to a maximum of 0,41%. The levels of phytic P for starter, grower, finisher and withdraw feeds were 0,30; 0,27; 0,26 and 0,26% respectively. The coefficient of variation (CV) varied from 10,5 Å 14,6% depending on the type of feed.

This survey demonstrated that phytic P constitutes a significant proportion of the total phosphorus in commercially available poultry feeds. More of this phosphorus could be made available to the animal if an exogenous phytase was added to the feed, while at the same time decreasing the antinutritional effect of phytate.

INTRODUCTION

L'acide phytique est la première forme de stockage du phosphore dans la plupart des matières premières végétales utilisées en alimentation animale. Dans les céréales, co-produits de céréales et tourteaux d'oléoprotéagineux communément utilisés en France, le phosphore sous forme phytique représente de 55 à 90 % du phosphore total présent (de 7-8 g/kg dans les céréales et jusqu'à 50-60 g/kg dans les tourteaux et certaines issues) (Eekhout and Paepe, 1994). Au-delà du contenu en P phytique, c'est la variabilité au sein d'une même famille de matière première qui rend l'estimation du contenu dans les aliments difficile (Gady et Dalibard, 2011 ; Aureli et al, 2016).

Naturellement peu digestible pour les monogastriques (Shan et David, 1994) sans ajout de phytase exogène, la maîtrise du contenu en P phytique des aliments est un enjeu important, aussi bien en termes de valorisation de cette ressource végétale pour la couverture des besoins en P des animaux, que pour la limitation des rejets associés. Enfin l'acide phytique, par sa forte capacité de chélation (minéraux, protéines), est un facteur antinutritionnel majeur de l'alimentation des monogastriques (Cowieson et al., 2016). La connaissance de son niveau est nécessaire pour la mise au point de stratégies nutritionnelles de réduction de ses effets. L'objectif de cette étude était par conséquent double et consistait à 1) quantifier dans les aliments les niveaux de phosphore phytique, substrat disponible pour les phytases et 2) mettre ces niveaux en relation avec d'autres nutriments (Protéine, Ca) afin de mieux évaluer le pouvoir antinutritionnel des phytates dans les aliments poulet de chair.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1 Collecte des échantillons

Soixante-dix-huit échantillons d'aliments complets pour poulets de chair ont été collectés auprès des fabricants d'aliments du bétail français durant la période allant de mai à juin 2017. Un quart des échantillons collectés (25,8%) étaient des aliments Poulet Label Rouge. L'ensemble des aliments contenait un phytase. La distribution des échantillons par origine géographique est représentative de la répartition de la production en France (avec 34 % des échantillons collectés en Bretagne, 25% en Nouvelle Aquitaine, 14 % en Pays de la Loire et 27% sur le reste du territoire. Le stade physiologique de l'animal destinataire était renseigné par le fabricant et correspondait à l'un des quatre stades couramment utilisés : démarrage, croissance, finition et retrait.

1.2. Mesure du contenu en phosphore phytique

Le contenu en phosphore phytique ($R^2 = 0.91$; $SECV = 0.36$, $SEP = 0.41$) ainsi que la teneur en protéines ont été déterminés par spectroscopie proche infrarouge (SPIR) selon la méthode décrite par Aureli et al. (2016). L'appareil utilisé est un FOS DS2500. Le contenu en phosphore total ainsi que le taux de cendres ont été analysés par spectrophotométrie après minéralisation selon la méthode officielle (Reg, CE N°152/2009). Le calcium a été analysé après minéralisation suivi d'un titrage par complexation à l'EDTA (méthode interne).

1.3. Analyse des résultats de l'enquête

Les statistiques descriptives ont été réalisées par stade physiologique. Le Phosphore non phytique (PnP) a été calculé (par différence : $P_{tot} - P_{phytique}$) ainsi que différents ratios (Ca/PnP, Ca/Pphytique, Pphytique/P total et Pphytique/protéine) avec le logiciel Microsoft Excel 365.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les 78 aliments collectés répartis par stade physiologique, représentent entre 17 et 22 échantillons par sous-population. Les échantillons Label Rouge et standard ont été regroupés pour l'analyse. En effet, les aliments standard et Label Rouge sont comparables sur les critères d'intérêt de cette étude, à savoir, les niveaux de phosphore, phosphore phytique et calcium.

En fonction des stades, la moyenne du contenu en phosphore total (Tableau 1) varie de 4,0 g/kg dans les aliments retrait jusqu'à 5,9 g/kg dans les aliments démarrage. Les aliments croissance et finition ont des niveaux intermédiaires de 5,1 g/kg et 4,4 g/kg respectivement. La variabilité du contenu en P Total, appréciée par le coefficient de variation, est faible dans les aliments démarrage et croissance (autour de 10%) et beaucoup plus élevée dans les aliments finition (20 %).

Les moyennes de contenu en P phytique s'échelonnent de 2,6 g/kg pour les aliments retrait et finition jusqu'à 3,0 g/kg pour les aliments démarrage en lien avec l'utilisation plus importante de tourteaux dans ces aliments. Les aliments croissance et finition sont moins variables ($CV = 11$ %) que les aliments démarrage et retrait ($CV = 16$ et 15 % respectivement).

Bien qu'une corrélation existe entre P Phytique et P Total au niveau de l'aliment ($r=0,55$), ce dernier n'explique que 30 % de la variabilité totale observée.

Si l'on considère la part du P Phytique dans le P Total, celui-ci représente en moyenne 50,6 % du P Total dans les aliments démarrage et plus de 67 % dans les aliments finition. Ces données confirment que les aliments contiennent toujours une part

importante de P minéral (notamment en démarrage). Le phosphore phytique est par conséquent la forme de phosphore majoritaire dans les aliments poulet de chair, objets de l'enquête. Quel que soit le stade physiologique concerné, la plage de valeurs (Minimum-Maximum) observées pour ce ratio P Phytique / P Total est importante et dans tous les cas, supérieure à 20 points. Ceci traduit la diversité des stratégies nutritionnelles employées pour couvrir le besoin en phosphore des animaux (appréciation du besoin, niveau de sécurité, quantité de P phytique valorisée par la phytase), et/ou réduire l'incidence de l'effet facteur antinutritionnel des phytates par l'emploi de doses de phytase supérieures.

Dans tous les cas observés, les niveaux de P phytique dans les aliments étaient supérieurs à 2,0 g/kg, ce qui paraît suffisant pour servir de substrat à la phytase, (Cowieson et al., 2016), Cependant, selon le même auteur, tous les aliments avec un niveau de P phytique supérieur à 3,0 g/kg sont susceptibles de présenter des performances dégradées liés aux effets antinutritionnels associés à une telle quantité de P Phytique. En effet, à ces niveaux, les phytates s'ils ne sont pas hydrolysés par des phytases exogènes au niveau stomacal, réduisent la digestibilité des acides aminés et augmentent les pertes endogènes associées (Cowieson et al., 2017). L'acide phytique impacte la solubilité des protéines et par conséquent leur digestibilité (Selle et al., 2012). D'après Cowieson et al. (2016), un ratio intermédiaire Phosphore phytique/protéine conduit à une chélation forte entre les deux molécules, réduisant fortement la solubilité de la protéine. Dans cette étude, le ratio Phosphore phytique/Protéine a été calculé (Tableau 2) et comparé avec les valeurs maximales de turbidité de la protéine de Colza comprises entre 0,0085 – 0,020, d'après Mothes et al (1990). Il apparaît, sur cette seule donnée, que les ratios obtenus pour l'ensemble des aliments poulet de chair sont systématiquement compris dans la zone de turbidité maximale. Ainsi, l'ajout d'une phytase exogène permet aisément de diminuer ce ratio et augmenter la solubilité des protéines.

Enfin, selon Narcy et al (2009), l'optimisation de la minéralisation tibiale requiert des quantités de PnP

plus élevées que pour les performances de croissance. En effet, pour 10 g/kg de Ca, 5,0 et 4,4 g/kg de PnP sont nécessaires respectivement pour maximiser les cendres tibiales et le GMQ, alors que pour 6 g/kg de Ca, 4,2 et 3,0 g/kg de PnP sont nécessaires, respectivement. Ces données ont été confrontées avec les ratios obtenus dans nos aliments (Tableau 2 et Figure 1A, aliment finition présenté uniquement). Pour l'ensemble des stades étudiés, le ratio Ca/PnP, pris en tant que tel sans intégrer le phosphore libéré par la phytase, n'est pas satisfaisant pour obtenir des performances, zootechniques ou de minéralisation, optimales. Une forte variabilité de ce ratio est également observée, qui traduit une fois de plus la diversité des stratégies nutritionnelles employées pour couvrir le besoin en phosphore des animaux. Néanmoins, les aliments contenaient tous une phytase microbienne qui permet de rééquilibrer ce ratio en libérant du phosphore que l'on peut qualifier de non phytique (PnP) à partir du phosphore phytique, et ainsi couvrir les besoins (Figure 1B). Enfin, l'étude met en évidence des ratios qui ne permettront jamais d'atteindre les besoins de l'animal, en particulier les besoins de minéralisation, y compris en baissant les niveaux de calcium et/ou en augmentant la dose de phytase. Dans ce cas, il est nécessaire de revoir les stratégies nutritionnelles, et/ou de mieux qualifier les matières premières afin de répondre aux besoins de l'animal.

CONCLUSION

Les résultats de cette enquête montrent que le contenu en P Phytique dans les aliments poulets de chair produits en France est élevé, mais aussi variable. Cette variabilité est à relier aux écarts existants entre et au sein même des matières premières utilisées dans la fabrication des aliments complets poulet de chair. Étant donné ces niveaux élevés et leur variabilité, l'utilisation de techniques d'analyse rapide et peu coûteuse, telles que la spectroscopie en proche infrarouge permet d'ajuster de manière dynamique les stratégies nutritionnelles (dose de phytase, niveaux de Ca), pour potentialiser l'utilisation du P Phytique des aliments et réduire ses effets antinutritionnels.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aureli R., Ueberschlag Q., Klein F., Noël C., Guggenbuhl P., 2016, *Poult Sci*, (96), 160-168.
- Cowieson A.J., Ruckebusch J.P., Knap I., Guggenbuhl P., Fru-Nji F., 2016, *Anim, Feed Sci, and Tech.*, (222), 180-189.
- Cowieson A.J., Ruckebusch J.P., Sorbara J.O.B., Wilson J.W., Guggenbuhl P., Tadini L., Ross F.F., 2017, *Anim, Feed Sci, and Tech*, (225), 182-194.
- Eekhout and Paepe, 1994. *Anim.Feed.Sci.Tech*, (47), 19-29.
- Gady C., Dalibard P., 2011, 15th International Conference on Near Infrared Spectroscopy, 13-20 May 2011 – Cape Town, South Africa, pp361-362
- Mothes, R., Schwenke, K.D., Zirwer, D., Gast, K., 1990. *Nahrung*, (34), 375–385.
- Narcy A., Létourneau-Montminy M.P., Magnin M., Nys Y., Jondreville C., 2009, *Journée de Recherche Avicole* 102-109.
- Selle, P.H., Cowieson, A.J., Cowieson, N.P. and Ravindran, V. (2012) *Nutr. Res. Rev.*, (25), 1-17.
- Shan A.S ; David R.H, 1994. *Br.Poult.Sci.* 35,725-741.

Tableau 1. Description du contenu en P phytique, P total, Calcium dans les aliments poulets (standard + label).

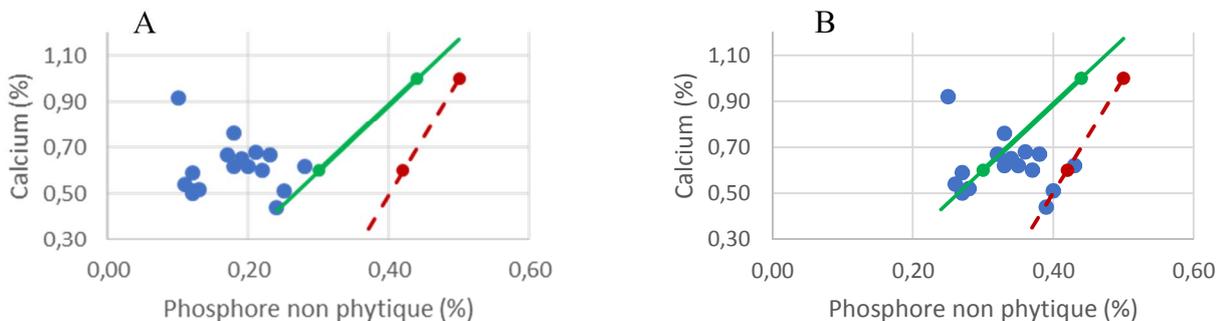
	Démarrage	Croissance	Finition	Retrait
Nombre d'échantillons	22	18	17	21
P Total (g/kg sur brut)				
Moyenne	5,90	5,1	4,4	4,0
Ecart-type (CV ¹ %)	0,6 (10,2%)	0,5 (9,8%)	0,6 (13,6%)	0,8 (20%)
Q1 ² – Médiane – Q3 ³	5,6 – 5,90 – 6,2	4,8 – 5,1 – 5,4	4,2-4,5-4,8	3,4-3,8-4,3
Min – Max	4,90 – 7,70	4,0 – 6,1	3,3-6,0	3,2-6,4
P Phytique (g/kg sur brut)				
Moyenne	3,0	2,7	2,6	2,6
Ecart-type (CV ¹ %)	0,5 (16,7 %)	0,3 (11,1%)	0,3 (11,5%)	0,4 (15,4%)
Q1 ² – Médiane – Q3 ³	2,70 – 2,90 – 3,20	2,6-2,7-2,8	2,4-2,6-2,7	2,4-2,7-2,9
Min – Max	2,40 – 4,10	2,1-3,3	2,2-3,2	2,0-3,4
P Phytique / P total (%)				
Moyenne	50,6	53,0	59,5	67,3
Ecart-type	6,3	6,2	8,0	10,9
Q1 ² – Médiane – Q3 ³	47 – 50,0 – 54,0	50,0-53,0-58,0	54-60-69	59-66-73
Min – Max	39,0 – 61,0	43-63	49-72	51-91
Ca (g/kg sur brut)				
Moyenne	7,9	6,9	6,1	5,5
Ecart-type	1,0 (12,6%)	1,0 (14,5%)	1,1 (18,0%)	1,2 (21,8%)
Q1 ² – Médiane – Q3 ³	7,5 – 8,0 – 8,5	6,4-7,0-7,5	5,2-6,2-6,7	4,8-5,5-5,9
Min – Max	6,2 – 9,4	4,8-8,2	4,4-9,2	3,8-8,8

¹CV : Coefficient de variation, ²Q1 : 1^{er} quartile, ³Q3 : 3^{ème} quartile

Tableau 2. Description des ratios P non Phytique/Ca et P Phytique/Protéine dans les aliments poulets (standard + label).

	Démarrage	Croissance	Finition	Retrait
Nombre d'échantillons	22	18	17	21
Ca / P non Phytique (%)				
Moyenne	2,80	2,97	3,73	5,3
Ecart-type	0,68	0,68	1,64	3,68
Q1 ² – Médiane – Q3 ³	2,23-2,72-3,22	2,59-2,9-3,45	2,77-3,43-4,21	3,43-4,25-5,58
Min – Max	1,67-4,27	1,73-4,32	1,83-9,2	1,90-18,3
P Phytique/ Protéine (%)				
Moyenne /10 ²	1,4	1,49	1,51	1,64
Ecart-type/10 ²	0,22	0,25	0,24	0,38
Q1* ² – Médiane* – Q3* ³ (/10 ²)	1,3-1,4-1,5	1,31-1,49-1,61	1,31-1,43-1,62	1,44-1,54-1,90
Min – Max (/10 ²)	1,1-2,1	1,1-2,0	1,3-2,1	1,1-2,4

²Q1 : 1^{er} quartile, ³Q3 : 3^{ème} quartile

Figure 1. Représentation des échantillons « finition » selon l'équilibre Ca / PnP : A (sans phytase) - B (avec phytase valorisée 0.15 % PnP)

***droite pleine** : ratio optimal pour les performances zootechniques ; ***droite en pointillé** : ratio optimal pour la minéralisation, en fonction de deux niveaux de calcium 6g/kg et 10g/kg d'après Narcy et al 2009.

SESSION NUTRITION

Synthèse

LES DEFIS DE LA TECHNOLOGIE DE L'ALIMENT EN NUTRITION VOLAILLE PERTINENCE ET ENJEUX POUR REpondre AUX ATTENTES INDUSTRIELLES ET SOCIETALES

A.F.B van der Poel¹, T. Condy², P.C.A. Moquet², R.P. Kwakkel¹

¹*ANIMAL NUTRITION GROUP - Wageningen University, PO Box 338 - 6700 AH
WAGENINGEN*

²*MIXSCIENCE - 2/4 Avenue de Ker Lann - 35172 BRUZ CEDEX
thomas.vanderpoel@wur.nl*

RÉSUMÉ

Les défis de la technologie de l'aliment en nutrition volaille pertinence et enjeux pour répondre aux attentes industrielles et sociétales

Au cours des dernières années, des innovations technologiques sont apparues en nutrition avicole : l'alimentation humide, le broyage grossier, l'utilisation de nouveaux critères décrivant les propriétés physiques de l'aliment ou encore le déploiement de la spectroscopie par proche infrarouge sur les lignes de production. Ces innovations influencent le comportement alimentaire et la physiologie digestive des volailles. En ce sens, elles peuvent permettre aux filières avicoles œufs et chair d'améliorer les performances zootechniques mais aussi de réduire l'impact environnemental et l'utilisation des antibiotiques, répondant ainsi à un double enjeu industriel et sociétal. A l'heure actuelle, ces innovations restent néanmoins cantonnées à une utilisation expérimentale. Leur utilisation à l'échelle industrielle requiert une meilleure connaissance du comportement alimentaire des volailles: la technologie de l'aliment doit servir à soutenir le développement intestinal des oiseaux.

ABSTRACT

The feed technology challenge in poultry nutrition. Relevance and concerns in addressing industrial and societal expectations

Numerous feed technology innovations have been communicated over the last years in poultry nutrition: wet feeding, coarse grinding, use of novel criteria describing the physical properties of the feed and on-line near infrared reflectance spectroscopy. Such innovations influence both the feeding behavior and the digestive physiology of poultry. Hence, they may help egg and poultry meat producers to improve zootechnical performance while reducing environmental impact and antibiotics use, thereby addressing both industrial and societal concerns. Nowadays, the use of such innovations remains, however, experimental. Industrial upscaling of such innovations requires a better understanding of the feeding behavior of poultry: feed technology should be fully committed to support the gut development of birds.

INTRODUCTION

Poultry production is facing a challenging future. Production efficiency needs to be further improved to fulfill the growing global demand for human-edible protein sources (Mottet and Tempio, 2017) while being under societal scrutiny in western societies (e.g. environmental impact of poultry production and antibiotics use; Smith, 2011).

Visual and olfactory cues influence the feeding behavior of poultry (Picard et al., 2000). The digestive tract of birds allows, in addition, the sensing of nutrients and structural properties of the feed in the beak and beyond, thereby affecting feed intake, digestive physiology and growth performance of poultry (Niknafs and Roura, 2018). Feed particle size, degree of processing and feed form are, therefore, key aspects for the efficiency of broiler and laying hen farming.

The purpose of the present paper is threefold. Firstly, to describe the specific objectives of broiler and layer production regarding feed intake management and nutrient digestibility. Secondly, to illustrate how such specific objective may be addressed by alternative feed technology such as wet or coarse feeding. Thirdly, to illustrate how alternative feed technology processes may help to address societal and industrial concerns.

1. IMPROVING PERFORMANCE IN BROILER AND LAYER PRODUCTION THROUGH FEED TECHNOLOGY

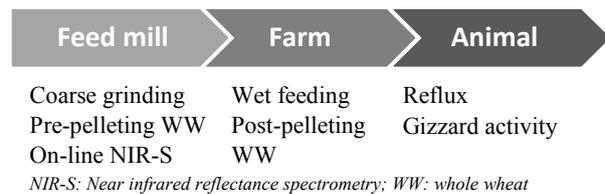
1.1. Specific objectives of broiler and layer productions

Feed intake capacity is the main driver of growth performance of poultry and seems to reach a biological limit in broilers (Tallentire et al., 2018). Broilers may also face a suboptimal digestion of several nutrients such as starch as a result of a too fast passage of digesta through the gastro-intestinal tract (Svihus, 2011). A challenge of broiler nutrition is, therefore, to keep steady or increase nutrient intake of birds without compromising nutrient digestibility.

Conversely, one of the main challenges in layer nutrition is to match nutrient intake and requirement on a day-to-day basis and to manage egg production and egg weight.

Changes in feed technology at different levels (Figure 1) may help to meet the specific objectives of broiler and layer production, as highlighted below.

Figure 1. Scientific developments related to feed technology and poultry nutrition occurring at different levels



1.2. Improving feed intake by increasing feed moisture content

The most prominent factors affecting feed intake are related to gut distension and digesta passage rate (Scott, 2007). Initial moisture content of the feed may influence hydration rate of the bolus in the crop. This phenomenon is known to influence particle size reduction in the gizzard, a digestion step that is thought to set the pace of digestion in birds, as reviewed by Rodrigues and Choct (2018).

In practical poultry nutrition, initial moisture content of the feed can be influenced by the addition of water to ground ingredients prior pelleting. Dilution of the diet without re-formulation with 2 to 4% water has, however little to no impact on the feed intake of broilers and turkeys (unpublished MiXscience data). Such dilution decreased the final dry matter content of the feed (-1,5 and 3 %; respectively) and improved pellet durability (+ 2 pts; irrespective of the level of water added).

Dilution rates far larger than 4 % can be achieved experimentally by soaking the feed. Such wet feeding has been reported to improve dry matter intake in both broilers and layers (e.g. Khoa, 2007; Elling-Staats et al., 2015; Dijkslag et al, submitted). Scott (2007) speculated that variation in feed intake was due to hydration rate of the grain after examining the relationship between wheat type and feed moisture on growth performance of broilers (Table 1).

Wet feeding may prove useful therefore as a strategy to further increase feed intake of broilers and potentially of layers at the onset of lay. Implementation of such systems in commercial poultry enterprises requires, however, the development of new feeding systems to reach water:feed ratio larger than 1. Such systems could be inspired from those commonly used in swine production facilities.

1.3. Improving nutrient digestibility with coarse diets

For decades, the feed industry has been driven by the concept that fine grinding enables digestive secretions

to access substrate easily, thereby improving digestibility (Kwakkel and Moquet, 2013). Counter-intuitively, feeding a more structural – coarser - diet may result in even greater nutrient digestibility (Abdollahi et al., 2016). Coarse diets stimulate the grinding activity of the gizzard, digestive enzymes secretion and specific avian retrograde peristaltic contractions that are also known as reflux (Svihus, 2011).

Three sites of intensive reflux are documented in birds (Duke, 1994). The gastro-duodenal reflux (2 to 4 cycles per min) occurs between the proventriculus and proximal duodenum. The duodenal and upper ileal reflux (about 4 times per hour) increases intestinal retention time. Finally, colonic reflux transfers urinary nitrogen to the cloaca via the colon particularly when a diet is limiting in protein (Karasawa, 1999). Such mechanisms contribute to nutrient digestibility (Svihus, 2011). The existence of an ileo-cecal reflux remains putative. The latter may facilitate the conversion of urinary nitrogen (N) into microbial protein and the subsequent absorption of microbial amino acids in the ileum (Kwakkel and Moquet, 2014). Such N-recycling mechanism would contribute greatly to the N-efficiency of birds.

As said before, coarse diets stimulate contractions in the gut and thereby may enhance absorption rates. Feeding whole grains is an effective way to increase the coarseness of a diet. Commonly used methods have been described as pre- or post-pelleting inclusion of whole grain (Singh et al., 2014). Pre-pelleting inclusion means that whole grains are bound to a balanced complementary part in one pellet. In a post-pelleting system, whole wheat is mixed with the balanced complementary part. Achieving good durability indexes may be challenging in pre-pelleting systems (Elling-Staats et al., 2017), whilst post-pelleting systems may result in lower flock homogeneity as a result of dietary selection. To avoid particle selection thereby ingesting an unbalanced diet in the post-pelleting system can be avoided by feeding a larger pellet that includes the whole grain. Results from our lab illustrate that in a choice feeding experiment young birds do not prefer automatically small pellets and it may indicate that we have to increase pellet size with the age of birds (Figure 2).

Next to feeding whole grain, coarse grinding is another method to increase the coarseness of poultry diets. Such method is, however, associated with inconsistent results. This may be due to differences in milling methods used or in differences in feed presentation across studies (Kilburn and Edwards, 2001). Indeed, different grinding methods including roller mills, hammer mills, multi-cracker systems and multi-stage grinding combined with sieving actions are currently used. The roller mill tends to produce

materials having a more uniform particle size distribution (PSD) and consumes less energy, whilst hammer mills have a great grinding capacity for a wide variety of ingredients, even fiber rich (Thomas et al., 2018). The multicracker system, a grinding system using two contra-revolving rows of discs, was considered saving energy and ensure grinding capacity (Thomas et al., 2012). Since the advantages of different grinding method vary, multi-stage grinding, combining different grinding methods, might result in a desired particle size distribution. In most studies, coarse grinding is solely applied to the cereal fraction. Interestingly, results from our lab illustrate that coarse grinding of protein-rich by products such as rapeseed meal may further improve nutrient digestibility (Klein et al., 2019).

As in pre-pelleting inclusion of whole wheat, the use of coarser particles in pellets may lead to a poorer pellet quality in terms of its durability that may adversely affect feed intake in broilers. It was formerly described, that birds may distinguish between high and low energy diets and prefer high energy diets (Bouvarel et al., 2009). The distance between roller and die and hole diameter/die thickness of the pellet press therefore may both have a relevant role in establishing a pellet that contains coarsely ground or whole grains while maintaining a good physical quality as measured by pellet durability and hardness indexes.

Such considerations illustrate, again, that feed presentation is crucial for maximizing feed intake of poultry. This holds true especially for fast-growing broilers, which seems to avoid low-durability pellets (Elling-Staats et al., 2017). At the same time, such modern broilers tend to refuse eating hard pellets (Moquet, 2018; personal observations). Feed producers have, therefore, to adjust constantly their process to find a balance between low hardness and high durability to reach the “marshmallow” pellet that maximizes the feed intake of commercial broiler flocks.

Concerning layers, offering a mash with a wide range of particle sizes may result in segregation in the feed through and nutrient asynchrony, e.g. for starch (Ruhnke et al., 2015). Segregation may also lead to particle selection and will affect the hens ability to meet their daily nutrient requirements. Especially nutrients contained in smaller particles, e.g. vitamins were observed to be insufficiently consumed by the hens (Tang et al., 2006).

A large part of variation in feed intake remains, however, unexplained (Scott, 2007). In other words, feeding behavior of birds may change unexpectedly

despite the feed complying with the quality indicators measured by the industry, e.g. dry sieving, hardness or durability. Novel quality indicators are therefore needed to better predict the feeding behavior of birds and, especially, broilers.

The effect of variation in feed particle sizes and diet uniformity on bird performance is not fully understood (Amerah et al., 2007). This may be due to the way we measure and express PSD. Current methods of particle size determination include dry/wet sieving, laser diffraction, microscope, and static/dynamic image analysis. According to the ASAE standard (2008), after sieving and weighing, PSD can be approximated by using a logarithmic calculation and expressed as geometric mean diameter (GMD or D_{50}) and geometric standard deviation (GSD). The choice of sieves at sieving, however, largely determines the results. Additional particle characteristics can be measured by diffraction and image analysis (Fang et al., 2019). These quick methods result in novel PSD criteria such as the median volume distribution (D_{50}), the ‘Sauter diameter’ (a surface weighted mean diameter), the ‘de Brouckere diameter’ (a volume weighted mean diameter) and the span of the size distribution (Fang et al., 2019). Such novel PSD criteria may be useful in improving our understanding of feeding behavior of poultry.

The physical characteristics of pellets are commonly evaluated using durability tests (e.g. Holmen test or Pfost’s tumbling can test) and hardness tests. The latter indicates the breaking strength of pellets. Birds, however, resort to palpation rather than breaking when assessing a novel food source (Picard et al., 2000). Hence, measuring novel physical characteristics of the feed such as the modulus of elasticity, e.g. with an Instron device, may provide additional insights into the feeding behavior of poultry. The strong effect of physical properties of the diet on the feeding behavior of poultry highlights the importance of quality measurement systems in the feed mill. With regards to the latter, interesting developments are provided by near infrared reflectance spectroscopy (NIR-S) techniques.

1.4. Matching precisely the requirement and supply of nutrients with online quality measurement

The current NIR-S use in the modern feed mill covers the control of ingredient analysis between laboratories, of ingredient origins and of nutrient levels of ingredients (e.g. work of Doret-Auberteau et al., 2019). In addition, current data derived from NIR-S also comprises the prediction of digestibility

(van Barneveld et al., 2018), the presence of undesirable substances such as phytate phosphorus (Tahir et al., 2012), wheat endosperm hardness (Rose et al., 2001) and e.g. heat damage of soybean meal (T. Hulshof, 2017, pers. comm.). NIR-S may, therefore, provide additional data to predict the chemico-physical characteristics of raw materials and compound feeds and help better prediction of the growth performance of poultry (Owens et al., 2009).

Notably, NIR-S may allow the control of in-line, real time accuracy of formulation to be carried out in the feed mill. The use of NIR-S in the production line the so-called ‘in-line feed formulation’, can be installed in the transportation line of ingredients before the dosing process takes place as described by Penz (2017). Such system allows the immediate reading of nutrient values of ingredient, consequent formulation and dosing. Precision and accuracy of NIR-S is sufficient to evaluate nutrient levels upon reception (e.g. Doret-Auberteau et al., 2019), but currently, online use of NIR is seldom and still a proposal.

Such system operates, however, under two prerequisites. Firstly, NIR-S evaluation of ingredients has to be accurate. Secondly, all processes downstream such as agglomeration (e.g. pelleting) must be well controlled to avoid damages of nutrients (e.g. amino acids such as lysine; Fernandez and Parsons (1996) or heat-sensitive additives (e.g. enzymes).

The use of ‘in-line feed formulation’ may prove especially useful in layer nutrition, wherein nutrient provision must be tightly matched to requirements to prevent overfeeding and where levels of specific nutrients are commonly used to manage egg weight. Overall, recent developments in feed technology, e.g. wet feeding, coarse feeding, novel quality criteria or NIR-S, have the potency to further improve the performance of both broiler and layer production. Beyond the economical scope, such development may also help addressing societal concerns.

2. ROLE OF FEED TECHNOLOGY IN ADDRESSING SOCIETAL CONCERNS

2.1. Minimizing environmental impact

The use of cereals and oilseeds by-products such as dried distillers grains or rapeseed meal in poultry diets may be limited by the variability of nutrient levels and digestibility of such ingredients. Variability is attributable to the ingredient origin (plant genetics, environment, harvest and storage conditions), the production process and composition of the solubles added (Batal and Dale, 2006).

Use of NIR-S may provide a quicker evaluation of nutrient levels of ingredients (Doret-Auberteau et al., 2019) as well as their digestibility (van Barneveld et al., 2018). Hence, NIR-S may facilitate the use of cereals and oilseeds by-products, thereby reducing the use of human-edible raw material in poultry nutrition. Next to reducing feed/food competition, NIR-S may also allow to formulate diets that minimize both over-formulation and excretion of non-digestible materials. Collectively, such effects are prone to reduce the environmental impact of poultry production. Minimizing the non-digestible nitrogen fraction in poultry diets may, in addition, contribute to gut health and thereby reduce the use of antibiotics in poultry farming.

2.2. Reduced use of antibiotics

Proteins that escape the ileum undigested may serve as substrate for proteolytic fermentation substrates that are detrimental for the health of birds (Apajalahti and Vienola, 2016). As NIR-S may provide immediate digestibility values for single AA, it also allows to formulate diets that are low in undigestible protein. Besides, feeding coarse diets has been shown to affect gut health and microbiota composition in a manner that is considered to be positive for the broilers' health (Qaisrani, 2014). Finally, wet feeding seems to improve the functionality of the foregut (Scott, 2007) and a healthy crop is considered to be important in reducing antibiotic use in poultry (Classen, 2016).

2.3. Beak trimming

The study of Persyn et al. (2004) indicated that beak-trimmed hens spent significantly more time with eating (3.3 vs 2.0 h/d) with a slower bout size as compared with their non-trimmed beak counterparts. Shorter time intervals spent on eating with hens having intact beaks may have detrimental effects on feather pecking behavior. Previous research indicated that a longer eating time partly prevented feather pecking behavior (van Krimpen et al., 2009). Novel feed technologies presented in this paper may improve the feed intake of birds (Tables 1 and 2). It is hitherto unclear whether such technologies will affect the occurrence of feather pecking behavior in hens having intact beaks.

and broilers. Such changes can, in addition, help the poultry industry to address several societal concerns, to move forward to a more sustainable poultry production.

Poultry nutritionists may, however, face some dilemma when applying novel feed technologies. The use of coarser diets may, for instance, reduce pellet quality while the use of water sanitized with peroxide or chlorine in wet feeding systems may compromise vitamin stability. Additional research is therefore warranted to fully exploit the potential of novel feed technologies, starting with a better understanding of the feeding behavior of poultry species (Table 2).

CONCLUSIONS

Changes in feed technology at factory level (e.g. use of coarser diets, on line NIR-S or novel feed quality criteria) and at farm level (e.g. use of wet feeding) may help to reach higher performance for both layer

Table 1. Effects of wheat type and wet/dry feeding on broiler performance (0-21 d; Scott, 2007).

	Feed intake g/bird/d	Body weight 21d	Feed conversion ratio, 0-21 d	Feed:water ratio 0-21 d
Total (144 cages)	41.4 ± 4.1	637 ± 57.7	1.57 ± 0.142	0.52 ± 0.074
Wheat type (significance)	**	NS	**	NS
Durum	37.5	638	1.42	0.53
Hard red spring	45.3	636	1.72	0.53
Dry vs wet (1.2g water:1g feed)	**	**	**	NS
Dry	35.7	591	1.47	0.52
Wet	47.2	682	1.67	0.51
Wheat type x Dry/wet	**	NS	**	NS
Durum x dry	34.1 d	591	1.40 c	0.54
Durum x wet	40.9 b	685	1.44 c	0.52
Hard red spring x dry	37.2 c	592	1.55 b	0.51
Hard red spring x wet	53.4 a	679	1.89 a	0.49

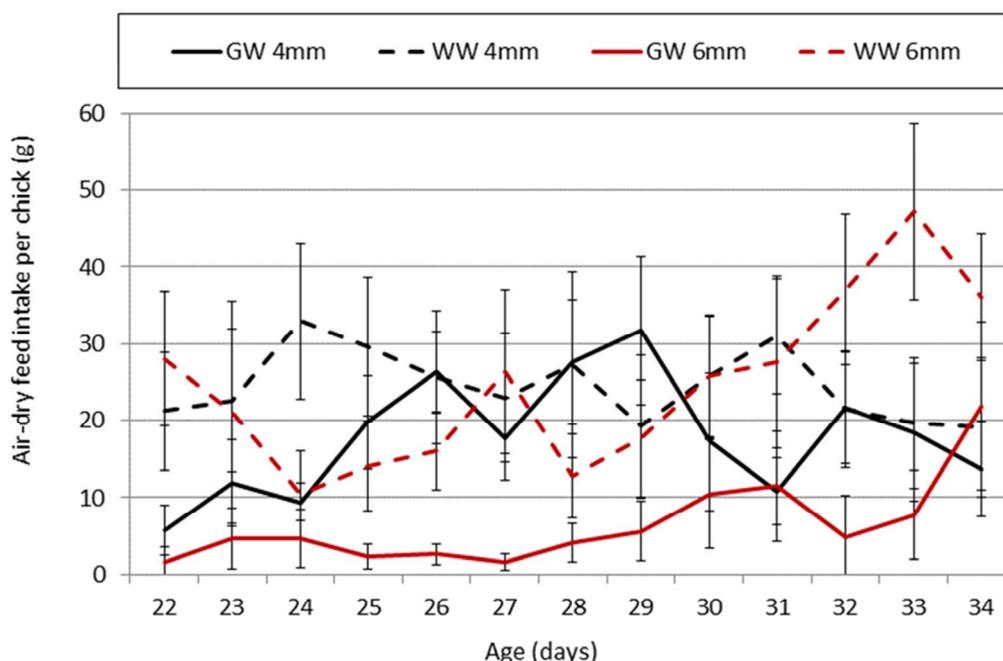
*, **, a-d, NS Significance at $P < 0.05$, $P < 0.01$, not significant, respectively

Table 2. Expected benefits and current limitations associated with the use of novel feed technologies to poultry nutrition.

Technology	Production	Expected benefits					Current limitations
		Animal & Industrial			Societal		
		↗ Gut health	↗ Feed intake	↘ Feed conversion ratio	↘ Carbon footprint	↘ Antibiotics use	
Wet feeding	Broiler	x	x		x	x	Microbial overgrowth if water is untreated; Vitamin stability if water is treated with peroxide or chlorine
Coarse diets	Broiler Layer	x	x	x	x	x	Reduced pellet quality
Novel quality criteria, e.g. elasticity	Broiler Layer		x		x		Poor understanding of feeding behavior
NIR-S	Broiler Layer	x		x	x	x	Accuracy of NIR-S equations, control of downstream process to avoid damages to nutrients

NIR-S: Near infrared reflectance spectroscopy

Figure 2. Feed intake of broilers (22-34 d) choice-fed pellets (4 or 6 mm diameter) with either ground wheat (GW) or whole wheat (WW).



REFERENCE LIST

- Abdollahi MR, Ravindran V, Amerah AM, 2016. *J Anim Physiol Anim Nutr*, 100 (5): 929-37.
- Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG, Thomas DG, 2007. *W. Poult. Sci. J.*, 63, 439-455.
- Apajalahti K, Vienola K, 2016. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 221, 323-330.
- Bouvarel I, Chagneau AM, Lecuelle S, Lescoat P, Ferreira G, Duvaux-Ponter C and Leterrier C, 2009. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 118 (1-2):62-68.
- Carré B, 2000. *INRA Prod. Anim.*, 13 (2), 131-136.
- Doret-Aubertot M, Faivre JF, Nolwenn B, Stéphanie K, Anne-Marie J, 2019. *Proceedings 13th JRAPFG, Tours, 20/21 March 2019.*
- Duke GE 1994. *Proc. 21st Annual Carolina Poultry Nutrition Conference, 7-8 December 1994. Charlotte, North Carolina, USA, 46-51.*
- Classen HL, Apajalahti ., Svihus B, Choct M, 2016. *W. Poult. J.*, 72 (3), 459-472.
- Elling-Staats M, Akinloye KA Loeffen J, Dijkslag A, Kwakkel RP, 2015. *Proc. 20th Eur. Symp. Poult. Nutr.* 27-28 August 2015, Prague, Czech Republic, 213.
- Elling-Staats M, van Loon J, Raaijmakers MMP, van der Poel AFB., Kwakkel RP, 2017. *Proc. 21th Eur. Symp. Poult. Nutr.* 05-11 August 2017, Salou/Vila-Seca, Spain, 217-221.
- Fang L, Thomas M, Hendriks WH, van der Poel AFB, 2019. *Anim. Feed Sci. Technol.*, submitted.
- Fernandez SR, and Parsons CM, 1996. *Poult. Sci.* 75:224-231
- Karasawa Y, 1999. *J. Exp. Zool.* 283, 418-425.
- Khoa M., 2007. PhD Thesis dissertation, Wageningen University, The Netherlands, 141 p.
- Kilburn, J, Edwards, Jr, H, 2001. *Br. Poult. Sci.*, 42, 484-492.
- Klein S, Thoraval Y, Mathiaud A, Mansuy E, 2019. *Proc. 11th JRAPFG, Tours, 25-26 March 2015.*
- Kwakkel RP, Moquet PCA, 2013. *Proc. Curso de Especialización FEDNA. Madrid, Spain.* 103-110.
- Mottet A, and Tempio G 2017. *W. Poult. Sci. J.*, 73, 245-256.
- Niknafs S, and Roura E. 2018. *Nutr. Res. Rev.*, 31:2, 256-266.
- Owens, B, McCann, MEE, McCracken, KJ, Park, RS, 2009. *Br. Poult. Sci.*, 50, 1, 103-122.
- Penz AM, 2017. *Proc. 21st Eur. Symp. Poult. Nutr, Salou/Vila-seca, Spain, 144-147.*
- Persyn KE, Xin H., Nettyleton D, Ikeguchi A, Gates, RS, 2004. *ASEA*, 47 (2), 591-596.
- Picard M, Le Fur C, Melcion JP, Bouchot C, 2000. *INRA Prod. Anim.*, 13 (2), 117-130.

- Ruhnke I, Röhe I, Krämer C, Goodarzi Borojjeni F, Knorr F, Mader A, Schulze E, Hafeez A, Neumann K, Löwe R, Zentek J, 2015. *Poult. Sci.*, 94: 692-699.
- Qaisrani SN, Moquet PCA, van Krimpen MM, Kwakkel RP, Verstegen MWA, Hendriks WH, 2014. *Poult. Sci.*, 93 (12), 3053-3064.
- Rodrigues I and Choct M 2018. *Poult. Sci.*, 97:9, 3188-3206.
- Rose SP, Tucker LA, Kettlewell PS, Collier JDA, 2001. *J. Chem. Sci.*, 34, 181-190.
- Scott T, 2007. Proc. 16th Eur. Symp. Poult. Nutr., 26-30 August, Strasbourg, France. 447-454.
- Singh Y Amerah AM, Ravindran V, 2014. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 190, 1-18.
- Smith JA 2011. *Poult. Sci.* 90:2670-2678.
- Svihus B, 2011. *Anim. Prod. Sci.*, 51, 583-589.
- Tahir M, Shim MY, Ward NE, Westerhaus O, Pesti GM, 2012. *Poult. Sci.*, 91, 2540-2547.
- Tallentire CW, Leinonen I and Kyriazakis I, 2018. *Sci. Rep.*, 8, 1168-1178.
- Tang P, Patterson PH, Puri VM, 2006. *J. Appl. Poult. Res.*, 15: 564-573.
- Thomas M, Vrij M, Zandstra T, van der Poel AFB, 2012. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 175, 182-192.
- Thomas M, Hendriks WH, van der Poel AFB., 2018. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 240, 11-21.
- Van Barneveld RJ, Graham H, Diffey, 2018. *Anim. Prod. Sci.*, 58, 709-718.
- Van Krimpen, MM, Kwakkel, RP, van der Peet-Schwering, CMC, den Hartog, LA, Verstegen, MWA, 2009. *Poult. Sci.*, 88 (4), 759-773.

SESSION NUTRITION

Communications orales

PHYTASE DE NOUVELLE GENERATION : EVALUATION D'UNE DOSE STANDARD ET DU SUPERDOSING CHEZ LES ANIMAUX REPRODUCTEURS

Rousseau Xavière¹, Michard Jacky², Alleno Christophe³, Gomes Gilson¹

¹ AB VISTA, Marlborough Business Park, SN8 4AN – MARLBOROUGH, Angleterre

² HUBBARD - Mauguerand, 22800 – LE FOEIL, France

³ ZOOTEESTS – Parc Technologique du Zoopôle – 22440 PLOUFRAGAN, France

Xaviere.rousseau@abvista.com

RÉSUMÉ

La formulation des aliments chez les animaux reproducteurs représente un enjeu crucial en termes de coût alimentaire et de performances. L'utilisation de phytase de nouvelle génération PhyNG représente un levier non négligeable pour répondre à ces enjeux. Dans cette étude, 3 régimes ont été testés : 1) régime témoin-CTR (phytase *E.coli* à 500 FTU/kg avec une contribution de 0,10% de P disponible et 0,10% de calcium), 2) régime supplémenté avec 300 FTU/kg d'une phytase de nouvelle génération-PhyNG300 (avec une contribution de 0,15% de P disponible et 0,165% de calcium) et 3) régime 2+1000 FTU/kg-PhyNG1300 (même contribution que PhyNG300). Un total de 1080 femelles Hubbard (grands-parentaux) de 41 semaines ont été placées en cages de 4 animaux ainsi que 168 reproducteurs mâles Hubbard de 40 semaines en cages individuelles. Les performances des pondeuses ont été mesurées à 45, 52 et 61 semaines alors que le sperme de 150 mâles a été collecté à 51 et 60 semaines pour en évaluer la quantité et qualité. Les données ont été traitées par ANOVA avec une comparaison des moyennes en utilisant le test de t-Student. Les poules avec PhyNG 300 avaient un meilleur taux de ponte ($P<0,05$) que le CTR et le PhyNG1300. L'utilisation de 1300 FTU/kg a entraîné une augmentation du poids d'œuf ($P=0,04$) et de hauteur d'albumen ($P=0,03$) ainsi qu'une amélioration de la fertilité des œufs comparé au RC ($P<0,10$) et une proportion de poussins de 1^{ère} qualité améliorée ($P=0,037$). L'utilisation de 1300 FTU/kg a permis d'augmenter la quantité de sperme ($P=0,039$) comparé au CTR (+13,9%) et au régime PhyNG300 (+11,0%). L'utilisation de PhyNG permet avec une dose plus faible et une meilleure valorisation d'améliorer les performances tout en réduisant considérablement le coût alimentaire alors que l'utilisation de doses plus élevées sans valorisation pourrait être un outil pour limiter les effets négatifs lié à l'âge sur la qualité du sperme.

ABSTRACT

New generation phytase: evaluation of standard dose and superdosing in breeders

Feed formulation for breeders represents a crucial challenge in terms of dietary cost and performance. New generation phytase PhyNG can be a substantial way to cope with. This study tested 3 dietary treatments: 1) control diet – CTR (E.Coli phytase at 500 FTU/kg with a contribution of 0.10% available P and 0.10% of calcium), 2) diet supplemented with 300 FTU/kg of a new generation phytase-PhyNG300 (with a contribution of 0.15% available P and 0.165% calcium) and 3) treatment 2 +1000 FTU/kg – PhyNG1300 (with the same contribution as PhyNG300). A total of 1080 Hubbard females (grandparents) at 41 weeks were placed 4 per cages and 168 Hubbard roosters at 40 weeks were placed in individual cages. Laying hens performance were measured at 45, 52 and 61 weeks whereas sperm was collected on 150 males at 51 and 60 weeks to evaluate quantity and quality. Data were analysed in using ANOVA and treatments means were separated using Student's T-test. Females with PhyNG300 had a better laying rate ($P<0.05$) than CTR and PhyNG1300. An increase of egg weight ($P=0.04$) and albumen height ($P=0.03$) was observed with the use of 1300 FTU/kg with a concomitant improvement of egg fertility compared to CTR ($P<0.10$) and of 1st chick's quality proportion of ($P=0.037$). The quantity of sperm was increased ($P=0.039$) by the use of PhyNG1300 compared to CTR (+13.9%) and PhyNG300 (+11.0%). PhyNG allow using a lower dose with a higher matrix contribution with better performance in reducing considerably the dietary cost whereas using high dose without any valorisation could serve as a tool to mitigate negative effects related to the age on sperm quality

INTRODUCTION

La formulation des aliments chez les animaux reproducteurs représente un enjeu crucial en termes de coût alimentaire et de performances. L'utilisation de phytase de nouvelle génération (**PhyNG**) représente un levier non négligeable pour répondre à ces enjeux. En effet, il est aujourd'hui reconnu que la supplémentation en phytase est un outil d'épargne des phosphates inorganiques et de nombreuses études ont été menées pour les différentes productions avicoles permettant de donner des valeurs matricielles robustes aux phytases en termes de phosphore, calcium et autres nutriments. Le concept de « superdosing » (i.e utilisation de la phytase sans valorisation matricielle) permet en dégradant de façon optimale les différents esters de phytates (IP6, IP5, IP4, IP3, IP2) d'épargner en partie les effets négatifs que peuvent avoir ces derniers. En effet, les phytates représentent un réservoir de phosphore quasiment indisponible sans phytase exogène chez les monogastriques mais peuvent aussi apparaître comme facteurs antinutritionnels. En effet, les différents esters de phytate ont des effets négatifs liés à leur capacité de chélation des cations (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , etc.). Ces phytates, mêmes présents à faibles concentrations, diminuent aussi l'activité de certaines enzymes digestives (Yu et al., 2012 ; Liu et al., 2009) et augmentent les pertes endogènes (Cowieson et Ravindran, 2017). Le superdosing est un concept visant à s'affranchir de l'ensemble de ces effets négatifs au-delà de la réponse au phosphore (Walk et al., 2013) pour libérer les nutriments possiblement chélatés (Selle et al., 2012), diminuer les pertes endogènes (Cowieson et Ravindran, 2007 ; Zouaoui et al., 2018) et potentialiser la production d'inositol (Laird et al., 2016 ; Lee et al., 2017) afin d'augmenter les performances de croissance (Walk et al., 2013). Si les effets et l'intérêt de ce concept apparaissent clairs chez les poulets de chair, l'information sur son utilisation chez les animaux reproducteurs est rare voire inexistante.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1 Traitements expérimentaux

Trois traitements alimentaires expérimentaux ont été évalués (Tableau 1) : 1) régime témoin-CTR (phytase *E.coli* à 500 FTU/kg avec une contribution de 0,10% de P disponible et 0,10% de calcium), 2)

régime supplémenté avec 300 FTU/kg d'une phytase de nouvelle génération-**PhyNG300** (Quantum Blue, AB Vista, formulée en accord avec les valeurs matricielles minérales recommandées ; 0,15% de P disponible et 0,165% de calcium) et 3) régime 2+1000 FTU/kg-**PhyNG1300** (Quantum Blue, AB Vista, total 1300 FTU/kg ; avec une contribution de 0,15% de P disponible et 0,165% de calcium).

L'essai a été mené par Zootests dans une ferme commerciale adaptée pour des études en conditions de terrain.

1.2 Dispositif et mesures : Femelles grands-parentales

Un total de 1080 femelles (Hubbard) grands-parentales, âgées de 41 semaines au début de l'essai ont été placées dans 270 cages comprenant 4 oiseaux par cage. Une unité expérimentale était constituée de 6 cages et chaque traitement répété 14 fois (84 cages par traitement). Une répétition de 6 cages par traitement (18 cages) a été conservée comme tampon pour pouvoir maintenir l'équité en nombre d'animaux par cage. L'aliment était distribué à raison de 155g/poule/jour et ce pour les 14 répétitions. L'aliment se présentait sous forme de farine grossière après traitement thermique à 80°C pendant 2 minutes. Les performances ont été suivies pendant les 140 jours d'essai (poules de 61 semaines à la fin de l'essai). La mortalité (journalière), le taux de ponte (journalier) et la qualité des œufs ont été évalués à 45,52 et 61 semaines. L'évaluation de la qualité des œufs a été effectuée à partir de 28 œufs/traitement à 50 et 60 semaines pour déterminer la hauteur d'albumen et le calcul de l'unité Haugh. La qualité de coquille a été évaluée à l'aide d'une machine à compression MTS Synergie 200. L'insémination artificielle a été adoptée pendant l'essai et les mâles ont reçu le même aliment que les femelles. A 51 (1800 œufs/trt), 57 (1800 œufs/trt) et 60 semaines (900 œufs/trt), les œufs ont été envoyés dans un couvoir commercial où les mesures suivantes ont été effectuées : fertilité, taux d'éclosion, % de poussins de 1^{ère} et 2nd qualité (Les principaux critères de classification sont la présence d'ombilics noirs, semaine d'éclosion, autres défauts morphologiques).

1.3 Dispositif et mesures : Mâles grands-parentaux

Un total de 168 mâles reproducteurs (Hubbard) de 40 semaines ont été placés en cages individuelles (56

oiseaux par traitement). La distribution d'aliment était restreinte à 120 g/oiseau/jour. A 51 et 60 semaines, le sperme a été collecté sur 150 mâles (50 oiseaux/traitement). La qualité du sperme a été évaluée pour chaque mâle. L'animal est donc considéré comme unité expérimentale. Les critères d'évaluation étaient la quantité de sperme, la concentration, la motilité (évaluer visuellement sous microscope : 1 (non motile) à 8 (motilité excellente)) et le pourcentage de spermatozoïdes vivants.

Les données ont été soumises à une analyse de variance ANOVA (JMP 13.0, SAS). Les moyennes par traitements ont été comparées *via* un test de Student. La significativité a été acceptée pour des valeurs de $P \leq 0,05$ et les tendances analysées pour des valeurs de $P \leq 0,10$.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats d'analyse phytasique étaient en accord avec les valeurs attendues pour les 3 lots de fabrication (en moyenne 472, 446 et 1187 FTU/kg pour CTR, PhyNG300 et PhyNG1300 respectivement).

Les résultats de cet essai ont logiquement montré un effet délétère de l'âge quel que soit le critère considéré. Les poules nourries avec le régime PhyNG300 ont montré un meilleur taux de ponte ($P < 0,05$) que les animaux ayant reçu le régime CTR supplémenté avec 500 FTU/kg d'*E.Coli* phytase ou le régime PhyNG1300 (Tableau 2).

Tableau 2. Performance des femelles grands-parentales

Traitement	Taux de ponte, % (moyenne/écart-type)
CTR, E.Coli 500FTU/kg	51,5 ^b ±12,9
PhyNG 300	53,2 ^a ±12,1
PhyNG 1300	52,0 ^b ±12,9
	P-value
Effet régime	0,001
Effet semaine	< 0,001
Interaction régime*semaine	0,571

Les moyennes par colonne suivies de lettres différentes sont statistiquement différentes

Les poules nourries avec l'aliment « superdosing », PhyNG1300 montrent un poids d'œuf ($P = 0,044$), une hauteur d'albumen ($P = 0,027$) et unité Haugh ($P = 0,025$) plus élevés. Ceci est probablement lié à une digestibilité améliorée des protéines et acides aminés de l'aliment *via* la dégradation plus importante des phytates comme observé par Walk et

Rama Rao (2018) chez le poulet de chair et par le travail de méta-analyse de Zouaoui et al. (2018) chez le porc (Tableau 3).

Tableau 3. Performance des femelles grands-parentales

Traitement	Poids oeuf,g	Jaune, %	Albumen, %	Hauteur Albumen, mm	Unité Haugh
CTR	69,3 ^{ab}	31,6 ^{AB}	59,8 ^B	6,47 ^b	76,4 ^b
PhyNG 300	68,7 ^b	31,0 ^B	60,5 ^A	6,44 ^b	76,3 ^b
PhyNG 1300	69,5 ^a	31,6 ^A	59,9 ^{AB}	6,66 ^a	77,9 ^a
Régime, P-value	0,044	0,075	0,075	0,027	0,025

Les moyennes par colonne suivies de lettres différentes sont statistiquement différentes (^{a-b} $P < 0,05$ et ^{A-B} $P < 0,10$)

En effet, plusieurs auteurs ont démontré que l'utilisation de phytase de nouvelle génération, à hautes doses, permettait d'améliorer la digestibilité des acides aminés engendrant un meilleur gain de poids et un meilleur IC chez le poulet de chair (Walk et al., 2013) ou encore chez le porc (Cordero et al., 2014). Il est à noter qu'il y eu dans cette étude un effet de l'âge ($P < 0,001$) sur tous les paramètres d'évaluation de la qualité des œufs mesurés où le poids des œufs devient de plus en plus lourd avec relativement plus de jaune et moins d'albumen (données non montrées).

Cependant, il n'a pas été observé d'interaction entre le régime et les semaines ($P > 0,010$, données non montrées). La fertilité des œufs (Tableau 4) des poules ayant reçu le régime PhyNG1300 (63,8%) tendent à être meilleure que les animaux ayant reçu le régime CTR (59,3%) alors que les animaux ayant reçu le régime PhyNG300 présente un niveau intermédiaire (63,4%, $P=0,082$) (Tableau 4).

Tableau 4. Résultats des paramètres d'éclosion

Traitement	Fertilité, %	Taux d'éclosion, %	Poussin de 1 ^{ère} qualité, %	Poussin de 2 ^{ème} qualité, %
CTR	59,3 ^B	60,1	71,0 ^b	29,0 ^a
PhyNG* 300	63,4 ^{AB}	62,2	77,0 ^a	23,0 ^b
PhyNG* 1300	63,8 ^A	62,3	74,3 ^{ab}	25,7 ^{ab}
Régime, P-value	0,082	0,577	0,037	0,037

Les moyennes par colonne suivies de lettres différentes sont statistiquement différentes (^{a-b} $P < 0,05$ et ^{A-B} $P < 0,10$)

Un effet de l'âge a pu aussi être noté sur tous les paramètres évalués concernant le taux d'éclosion ($P < 0,01$) avec, en général, un déclin de la fertilité, du taux d'éclosion et de la qualité des poussins

(données non montrées). Aucune interaction n'a été montrée entre les régimes et les semaines ($P > 0,10$). Les animaux ayant reçu le PhyNG300 ont montré de meilleures performances et, numériquement, un meilleur taux d'éclosion comparé au régime CTR représentant 3 poussins de plus par poule et 5 poussins gradés de 1^{ère} qualité supplémentaire (données non montrées). Le régime PhyNG1300 a montré des performances intermédiaires. Une destruction plus importante des phytates avec l'utilisation de 1300 FTU/kg de cette nouvelle génération de phytase a probablement engendré le poids d'œuf plus important qui par conséquent a pu affecter les performances de ponte.

Concernant les mâles, un effet de l'âge sur l'ensemble des paramètres de qualité du sperme a été noté ($P \leq 0,05$) (Tableau 5). La quantité de sperme et la viabilité ont été positivement influencées avec le régime PhyNG1300 ($P \leq 0,05$). Une interaction entre le régime et l'âge a été observée sur la viabilité du sperme ($P = 0,006$). A 51 semaines d'âge, le pourcentage de spermatozoïdes vivants du régime CTR était inférieur (50,0%) comparé aux régimes

supplémentés avec la phytase de nouvelle génération (69,0% et 63,4% pour PhyNG300 et PhyNG1300 respectivement). A 60 semaines le régime « superdosing » PhyNG1300 montre un pourcentage de spermatozoïdes vivants supérieur comparé au pourcentage à 51 semaines observé avec le régime CTR (+7 points).

CONCLUSIONS

L'utilisation de 300 FTU/kg de la phytase de nouvelle génération améliore les performances et réduit le coût de l'aliment en comparaison au régime CTR *via* la meilleure valorisation matricielle. Le superdosing à 1300 FTU/kg en augmentant la destruction des phytates améliore la disponibilité des nutriments ce qui pourrait augmenter la taille des œufs. L'utilisation de phytase à haute dose devrait donc être pris en compte et valorisée en termes de formulation. Cependant, le concept de superdosing pourrait servir d'outil pour modérer les effets néfastes de l'âge sur la qualité du sperme et améliorer potentiellement la fertilité de ces derniers.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cordero C., Rousseau X., Philipps P., Walk C., Wilcock P., 2014. Journées de la Recherche Porcine, Paris 04-05 Février 2014.
- Cowieson A.J. et Ravindran V., 2007. Br.J.Nutr. 98 :745-752.
- Laird S., Kühn I., Wilcock P., and H.M. Miller., 2016. J. Anim. Sci. 2016.94:142-145.
- Lee S.A., Nagalakshmi D., Raju M.V.L.N, Rama Rao S.V., Bedford M.R., 2017. Animal Nutrition Journal 2017, doi :10.1016/j.aninu.2017.07.002.
- Liu N., Ru Y.J., Li F.D., Wang J. and Lei X., 2009. Arch. Anim. Nutr. 63 :292-303.
- Selle P.H., Cowieson A.J., Cowieson N.P., Ravindran V., 2012. Nutr. Res. Rev. 13,255-278.
- Walk C.L., Bedford M.R., Santos T.S., Paiva D., Bradley J.R., Wlodecki H., Honaker C., and McElroy A.P., 2013. Poult. Sci. 92 :719-725.
- Walk C.L. and Rama Rao S.V., 2018. Poult. Sci. 0 :1-12.
- Yu S., Cowieson A., Gilbert C., Plumstead P. and Dalsgaard S., 2012. J. Anim. Sci. 90 :1824-1832.
- Zouaoui M., Létourneau-Montminy M.P., Guay F., 2018. Anim. Feed Sci. And Tech. 238 :18-28.

Tableau 1. Composition des traitements alimentaires expérimentaux

Ingrédients (g/kg)	CTR	PhyNG300	PhyNG1300
Maïs	422	420	420
Blé	250	250	250
Tourteau tournesol 36%	90	90	90
Tourteau de soja 48%	62	61	61
Drêches de maïs	30	30	30
Son de blé	23	28	28
Limestone (grossier)	54,8	55,1	55,1
Limestone (fin)	20	20	20
DiCalcium Phosphate	7,8	5,3	5,3
E.Coli phytase	0,1		
Quantum Blue 5G		0,06	0,06
Nutriments			
Calcium, %*	3,4	3,4	3,4
Phosphore, %	0,5	0,46	0,46
Phosphore disponible, %*	0,36	0,36	0,36
EMA, kcal/kg	2700	2700	2700

*les valeurs représentent les valeurs formulées obtenues pour les aliments non supplémentés en phytase

Tableau 5. Evaluation de la qualité du sperme

Traitement	Semaine	Quantité de sperme, mg	Concentration x10 ⁶ /mg	Score de motilité	spermatozoïde vivant, %
CTR		641	6,63	3,1	50,0 ^c
PhyNG300*	51	614	7,40	3,0	69,0 ^a
PhyNG1300*		684	7,23	3,2	63,4 ^{ab}
CTR		480	6,19	2,6	52,3 ^c
PhyNG300*	60	546	5,90	2,6	47,9 ^c
PhyNG1300*		621	6,68	2,8	57,0 ^{bc}
Effet régime					
CTR		563 ^b	6,42	2,9	51,1 ^b
PhyNG300*		582 ^{ab}	6,68	2,8	58,6 ^a
PhyNG1300*		654 ^a	6,97	3,0	60,3 ^a
Effet âge					
	51	646	7,09	3,1	60,8
	60	549	6,26	2,7	52,2
Régime		0,039	0,141	0,628	0,033
Semaine		0,002	< 0,0001	0,006	0,005
Régime*semaine		0,350	0,113	0,965	0,006

Les moyennes par colonne suivies de lettres différentes sont statistiquement différentes

EXPRESSION DE GÈNES CANDIDATS DE L'ABSORPTION INTESTINALE DE CA CHEZ LA POULE LORS DE LA MATURITE SEXUELLE

Audrey Gloux¹, Nathalie Le Roy¹, Aurélien Brionne¹, Emilie Bonin², Amélie Juanchich¹,
Gaëlle Benzoni³, Yves Nys¹, Joël Gautron¹, Agnès Narcy¹, Michel J. Duclos¹

¹ BOA, INRA, Université de Tours, 37380 Nouzilly, France

² GeT PlaGe INRA Auzeville 31326 Castanet Tolosan Cedex,

³ Neovia, Saint-Nolff, France

Michel.Duclos@inra.fr

RÉSUMÉ

Chez la poule en ponte, un équilibre optimal entre l'absorption intestinale de calcium (Ca) et la mobilisation osseuse doit être maintenu pour permettre la biominéralisation de la coquille. L'absorption intestinale de Ca implique deux voies majeures, l'une transcellulaire et l'autre paracellulaire. La première impliquant la calbindine-D 28K (CALB1) a été bien décrite chez *Gallus gallus*, à la différence de la seconde. Chez la poule, la protéine CALB1 et son ARNm augmentent avec l'accroissement du transfert de Ca intestinal induit à la maturité sexuelle. Cependant, la voie transcellulaire pourrait s'avérer insuffisante lorsque l'ingéré calcique est très élevé en période de ponte, avec une absorption de Ca majoritaire dans le duodénum et le jéjunum. L'objectif de cette étude est de quantifier le niveau d'expression de gènes cibles des voies transcellulaire et paracellulaire de captation du Ca dans les parties proximales de l'intestin (duodénum, jéjunum, iléum) chez la poule à la maturité sexuelle. La quantification des ARNm obtenus à partir d'échantillons de muqueuse intestinale (duodénum, jéjunum et iléum) a été réalisée par une technique de RT-qPCR microfluidique à haut-débit (BioMark HD system) sur la base des gènes candidats sélectionnés. A maturité sexuelle, les gènes de la voie transcellulaire sont fortement exprimés dans le duodénum et le jéjunum pour la CALB1, uniquement dans le duodénum pour TRPM7, ATP2B1 et ATP2B2, à des niveaux intermédiaires dans le jéjunum pour TRPM7 et ATP2B1, et sont finalement faiblement exprimés dans l'iléon. D'autre part, cette étude montre pour la première fois que les gènes de la voie paracellulaire tels que CLDN2, ZO1 et ZO2 sont induits dans les trois tissus à 23 semaines d'âge. L'ensemble des résultats suggèrent que, chez la poule pondeuse, la forte absorption intestinale de Ca est soutenue par les gènes des voies transcellulaire et paracellulaire dans le duodénum et le jéjunum. Ce travail ouvre des perspectives pour une meilleure maîtrise de l'alimentation calcique de la poule pondeuse.

ABSTRACT

Expression of candidate genes of intestinal Ca absorption in laying hen at sexual maturity

In laying hen, an optimal balance between intestinal calcium (Ca) absorption and bone mobilization must be maintained for the eggshell biomineralization. Intestinal Ca absorption involves two major pathways, one transcellular and one paracellular. The first involving calbindin-D 28K (CALB1) was well described in *Gallus gallus*, in contrast to the second pathway. In hen, quantity of CALB1 protein and transcript increases with the enhanced intestinal Ca transfer induced at sexual maturity. However, the transcellular pathway may be insufficient when calcium intake is very high during this transition period, with Ca uptake predominating in the duodenum and jejunum. The aim of this study is to investigate the expression level of genes of the transcellular and paracellular Ca absorption pathways in the proximal parts of the intestine (duodenum, jejunum, and ileum) in hen at sexual maturity. The quantification of mRNAs of selected candidate genes was performed on each intestinal mucosal samples (duodenum, jejunum and ileum) using a high throughput microfluidic qRT-PCR technique (BioMark HD system). At sexual maturity, genes of the transcellular pathway are highly expressed in duodenum and jejunum for CALB1, only in duodenum for TRPM7, ATP2B1 and ATP2B2, at intermediate levels in the jejunum for TRPM7 and ATP2B1, and at low level in the ileum. Additionally, this study highlights for the first time that genes of the paracellular pathway such as CLDN2, ZO1 and ZO2 are induced in the three tissues at 23 weeks of age. Based on these results, we suggest that the high intestinal Ca absorption is supported by genes involved in the transcellular and paracellular pathways in the duodenum and jejunum. This work opens perspectives to optimize dietary Ca nutrition of the laying hen.

INTRODUCTION

Chez la poule en ponte, la formation de la coquille dans l'utérus, est un processus très rapide se déroulant principalement la nuit, lorsque la poule ne peut accéder à son alimentation. De fortes quantités de calcium (Ca) sont exportées quotidiennement, (environ 2 g) par la glande utérine. Pour faire face à ce besoin exacerbé en Ca, la poule adapte sa physiologie à différents niveaux, en augmentant son appétit calcique quelques heures avant l'extinction de la lumière, et la sécrétion acide dans le gésier favorisant la solubilisation du Ca au cours de la période précédant la calcification (Nys, 1990, Jonchère et al., 2012). Ces processus digestifs concourent à doubler l'absorption intestinale de Ca au début de la calcification de la coquille (Hurwitz et al., 1973). Cette augmentation de la captation digestive de Ca chez la poule mature fait aussi intervenir le métabolisme de la vitamine D à travers la régulation de l'expression de gènes impliqués dans ce transfert de Ca (Nys et al., 1992).

Deux voies d'absorption du Ca sont connues chez les mammifères : la voie transcellulaire impliquant un transport actif et une autre paracellulaire permise par une diffusion passive de Ca au niveau des jonctions intercellulaires entre les entérocytes. Des gènes distincts interviennent dans ces deux voies. Chez *Gallus gallus*, seule une partie des acteurs de la voie transcellulaire a été étudiée dont l'identification dans les entérocytes de poussin d'une protéine induite par la vitamine D, la Calcium Binding Protein aussi appelée Calbindine (CALB1) (Wasserman et Taylor, 1966). Chez la poule, une induction des niveaux d'expression du gène CALB1 et de production de sa protéine a été observée simultanément à l'augmentation de l'absorption intestinale de Ca, à la maturité sexuelle (Nys et al., 1986 et 1992). Les ARNm des acteurs intervenant dans l'entrée (TRPV6) et la sortie (ATP2B1, ATP2B2, ATP2B4) transcellulaires ont également été détectés dans le duodénum de la poule (Jonchère et al., 2012). A l'inverse les acteurs de la voie paracellulaire n'ont pas été étudiés jusqu'alors.

L'objectif de cette étude est de proposer une description plus complète des gènes impliqués dans les voies transcellulaire et paracellulaire d'absorption du Ca, dans les parties proximales de l'intestin (duodénum, jéjunum, iléum) chez la poule pondeuse à la maturité sexuelle. Les travaux de Bar et Hurwitz (1966, 1968) ont montré une implication différente de ces trois segments intestinaux dans l'absorption de Ca, en proposant que la majorité du Ca est absorbé avant l'iléon. Dans ce contexte, la présente étude vise à mesurer les niveaux d'expression des gènes candidats dans les trois segments de l'intestin grêle chez des poules prélevées à un stade immature (12 semaines d'âge) et mature (23 semaines d'âge).

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental et prélèvements intestinaux

L'expérimentation a été conduite au Pôle Expérimental Avicole de Tours à l'INRA de Nouzilly, et validée par le comité d'éthique régional ainsi que le ministère français de l'éducation et de la recherche (Paris, France, autorisation : 10043). Les poules immatures (Isa Brown, Hendrix Ploufragan) ont été élevées en cages collectives à partir de 10 semaines d'âge jusque l'âge d'abattage, selon les conditions environnementales préconisées par le sélectionneur. En parallèle, les poules matures ont été installées dans des cages individuelles équipées de capteurs d'enregistrement d'heures de ponte. Le programme lumineux était de 14h de lumière et 10h de nuit. Les animaux ont reçu un aliment du commerce contenant 1% et 3,5% de Ca total pour les poules immatures et matures, respectivement. Pour chacun des deux lots, six animaux ont été mis à mort au stade 9-10h post-ovulation, par injection intraveineuse de Dolethal® (182 mg/ml, pentobarbital sodium, Vetoquinol, France) au niveau du sinus occipital. Le duodénum, le jéjunum et l'iléon ont été prélevés et rincés dans une solution de tampon phosphate salin, puis un échantillon proximal de muqueuse a été gratté pour chaque segment. Les échantillons ont ensuite été instantanément congelés dans l'azote liquide puis stockés à -80°C.

1.2. Préparation des cDNA et analyses des données

Les ARN totaux ont été extraits des échantillons de muqueuse, selon la méthode décrite par Chomczynski and Sacchi (1987) à l'aide du kit RNeasy (Qiagen, Saint-Quentin en Yvelines, France). La concentration et la qualité des ARN extraits ont ensuite été contrôlées à l'aide d'un spectrophotomètre (Nanodrop 1000 spectrophotometer, Nanodrop Technology, Wilmington, DE). Pour chaque échantillon, 5 µg d'ARN totaux ont été soumis à un traitement par la DNase (DNAfree, Invitrogen™) avant d'être rétro-transcrits en ADNc grâce à la RNase H-MMLV reverse transcriptase (Superscript II, Invitrogen, Cergy Pontoise, France) à partir d'amorces aléatoires hexamères (Amersham, Orsay, France). Sur la base des gènes sélectionnés, les amorces ont été réalisées (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>), testées (RT-qPCR) et les produits de PCR séquencés (Genewiz, United Kingdom). La mesure des niveaux d'ARNm dans chaque échantillon a été faite par RT-qPCR avec la technologie Fluidigm BioMark HD system à la plateforme GeT-Plage (INRA Auzeville, Castanet-Tolosan). La quantification relative des ARNm a été réalisée avec la méthode de calcul des $\Delta\Delta Ct$ proposée par Pfaffl et al. (2001). Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R, les niveaux relatifs d'ARNm pour chaque gène ont été comparés avec un modèle linéaire à effets mixtes à

deux facteurs (Age x Segment intestinal) en considérant la poule comme effet aléatoire avec l'aide de la fonction lme du package nlme (version 3.1-137). Lorsqu'une différence statistique est observée au seuil de 5%, les comparaisons deux à deux ont été réalisées avec la fonction emmeans du package emmeans (version 1.2.1)

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Deux gènes candidats pour l'entrée de Ca dans l'entérocyte ont été identifiés dans cette étude : TRPV2, canal ionique facilitant l'entrée de Ca dans la cellule (Kanzaki *et al.*, 1999) et TRPM7, canal à cation divalent (Owsianik *et al.*, 2006 et Chubanov *et al.*, 2004). Le niveau d'expression de TRPV2 tend à diminuer dans le jéjunum à la maturité sexuelle, conduisant à des niveaux similaires à 23 semaines pour les trois segments (Tableau 1). TRPM7 voit son expression augmenter significativement à la maturité sexuelle dans le jéjunum, ce qui conduit une expression similaire à 23 semaines d'âge dans les trois segments (Tableau 1). Ces résultats permettent de proposer TRPM7 comme un gène candidat responsable de l'entrée de Ca dans le duodénum et le jéjunum, car sa régulation est similaire dans ces deux portions intestinales alors qu'il varie peu dans l'iléon. Les ARNm codant pour TRPV6 n'ont pas été détectés dans cette étude, malgré l'utilisation d'amorces validées dans le rein. Ce gène ne semble donc pas être impliqué dans l'entrée de Ca dans l'entérocyte dans le modèle physiologique définit. La CALB1 est responsable du transit du Ca du pôle apical vers le pôle basal de l'entérocyte. Son expression est significativement stimulée à 23 semaines dans le duodénum et le jéjunum confirmant les travaux de Nys *et al.* (1992) pour le duodénum (Tableau 1). Pour les gènes responsables de la sortie de Ca au pôle basal de l'entérocyte, ATP2B1 augmente significativement entre 12 et 23 semaines d'âges dans tous les segments et a le niveau d'expression le plus élevé dans le duodénum (Tableau 1). ATP2B2 et ATP2B4 semblent aussi contribuer à ce mécanisme, mais de façon spécifique par rapport à l'âge et au segment considéré. Une forte expression d'ATP2B2 est observée à 23 semaines d'âge dans le duodénum (Tableau 1). L'expression d'ATP2B4 diminue dans le jéjunum entre 12 et 23 semaines d'âge, mais augmente dans l'iléon à la maturité sexuelle (Tableau 1). Cette augmentation dans l'iléon pourrait donc compenser la faible expression d'ATP2B1 observée. Ces résultats confirment ceux obtenus par Jonchère *et al.* (2012) dans le duodénum de poule et les étendent aux segments distaux. Le transport de Ca dans l'espace intercellulaire (*i.e* entre les entérocytes) se déroule à travers les jonctions serrées (Suzuki, 2013), qui sont composées de différentes protéines transmembranaires et cytosoliques facilitant la formation de pores perméables aux ions et à l'eau (Suzuki, 2013). La Claudin-2 (CLDN2) qui est

transmembranaire a été identifiée comme perméable au Ca^{2+} dans des cellules épithéliales intestinales (Fujita *et al.*, 2008). Dans notre étude, son expression augmente significativement entre 12 et 23 semaines d'âge dans les deux premiers segments intestinaux (Tableau 2). Ce résultat suggère que la régulation de la CLDN2 est fortement induite dans le duodénum et le jéjunum entre 12 et 23 semaines d'âge parallèlement à l'augmentation de l'absorption de Ca provoquée par l'entrée en ponte. La CLDN2 est ancrée au cytosol par les protéines des jonctions serrées, zonula occludens ZO1, ZO2 et ZO3 (Suzuki, 2013). Les niveaux d'expression de ZO1 et ZO2 augmentent avec l'âge dans les trois segments, alors que pour ZO3 son expression ne semble pas être régulée en fonction de l'âge, mais plutôt en fonction du segment intestinal avec un niveau élevé dans le jéjunum et l'iléon (Tableau 2). ZO1 et ZO2 pourraient contribuer fortement à l'ancrage des protéines transmembranaires au cours de l'augmentation de l'absorption de Ca lors de la maturité sexuelle dans les trois segments, alors que ZO3 est régulée au niveau tissulaire. Le métabolisme de la vitamine D est fortement induit à la maturité sexuelle en raison de la forte augmentation de la concentration plasmatique de la forme hormonale de la vitamine D, le 1,25(OH)₂D₃ (Nys *et al.*, 1992). L'expression du récepteur nucléaire de la Vitamine D (VDR) activée par son ligand 1,25(OH)₂D₃ (Dusso *et al.*, 2005), est induite significativement dans le jéjunum entre 12 et 23 semaines d'âge (Tableau 2).

CONCLUSION

Les travaux de Hurwitz et Bar (1966 et 1968) ont permis de montrer que l'absorption de Ca chez la poule intervient majoritairement dans le duodénum et le jéjunum, et de manière plus modeste dans l'iléon. Ces trois segments présentent des capacités d'absorption de Ca différentes car la quantité de Ca ultrafiltrable (ionisé et non ionisé), la fraction de Ca actif ainsi que la différence de potentiel électrique sont supérieures dans le duodénum par rapport au jéjunum et très faible dans l'iléon.

La forte capacité d'absorption du Ca par le jéjunum résulte du temps de transit plus long dans ce compartiment par rapport au duodénum. Les différences de capacité d'absorption du Ca dans ces trois tissus peuvent aussi être expliquées par l'implication à différents niveaux d'acteurs moléculaires comme le propose cette étude. Les acteurs moléculaires de la voie transcellulaire sont fortement exprimés dans le duodénum et le jéjunum pour la CALB1, dans le duodénum pour TRPM7, ATP2B1 et ATP2B2, à des niveaux intermédiaires dans le jéjunum pour TRPM7 et ATP2B1, et faiblement exprimés dans l'iléon sauf pour ATP2B4. Ce travail montre pour la première fois que les gènes de la voie paracellulaire, dont ceux codant pour la CLDN2, ZO1 et ZO2, sont induits dans les trois

segments à 23 semaines. D'après ces résultats, il semblerait que la forte absorption intestinale de Ca soit soutenue par les gènes des voies transcellulaire et paracellulaire dans le duodénum et le jéjunum.

.com / fr /). Les auteurs remercient Maryse Leconte et Nathalie Mème (UMR BOA INRA Université de Tours) pour leur assistance technique, Philippe Didier (UE PEAT INRA) pour le suivi des expérimentations, et Christelle Hennequet-Antier (UMR BOA INRA Université de Tours) pour son expertise sur l'analyse statistique.

REMERCIEMENTS

Le projet s'inscrit dans le cadre de l'Institut Carnot France Futur Elevage (<http://www.francefuturelevage>

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Chubanov V, Waldegger S, Schnitzler Mm, Vitzthum H, Sassen MC, Seyberth HW, et al., 2004. Proc Natl Acad Sci U S A. 101: 2894–2899.
- Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E., 2005. Am J Physiol Ren Physiol. 289: F8--F28.
- Fujita, Sugimoto K, Inatomi S, Maeda T, Osanai M, Uchiyama Y, Yamamoto Y, Wada T, Kojima T, Yokozaki H, Yamashita T, Kato S, Sawada N C., 2008. Mol Biol Cell. 19: 1912–1921.
- Owsianik G, Talavera K, Voets T, Nilius B 2006. Annu. Rev. Physiol., 68, 685-717.
- Hurwitz S, Bar A., 1968. The Journal of nutrition, 95(4), 647-654.
- Hurwitz S, Bar A., 1966. The Journal of nutrition, 89(3), 311-316.
- Hurwitz S, Bar A , Cohen I., 1973. American Journal of Physiology-Legacy Content, 225(1), 150-154.
- Jonchère, V., Brionne, A., Gautron, J., & Nys, Y., 2012. BMC physiology, 12(1), 10.
- Kanzaki, M., Zhang, Y. Q., Mashima, H., Li, L., Shibata, H., & Kojima, I., 1999. Nature cell biology, 1(3), 165.
- Nys, Y., 1990. Doctoral dissertation, Paris 6.
- Nys, Y., Parkes, C. O., & Thomasset, M. 1986. General and comparative endocrinology, 64(2), 293-299.
- Nys, Y., Baker, K., Bouillon, R., Van Baelen, H., & Lawson, D. E. M., 1992. General and comparative endocrinology, 86(3), 460-468.
- Pfaffl, M. W., 2001. Nucleic acids research, 29(9), e45-e45.
- Suzuki, T., 2013. Cellular and molecular life sciences, 70(4), 631-659.
- Wasserman, R. H., & Taylor, A. N., 1966. Science, 152(3723), 791-793.

Tableau 1. Effet de l'âge et du segment intestinal sur les niveaux d'expression d'ARNm des gènes de la voie transcellulaire (moyenne ± écart-type).

	TRPV2	TRPM7	CALB1	ATP2B1	APT2B2	ATP2B4
12 Duodénum	0,43 ± 0,14 b	0,61 ± 0,07 abc	0,16 ± 0,14 b	0,43 ± 0,1	0,46 ± 0,48 b	0,19 ± 0,07 c
Jéjunum	1,18 ± 0,13 a	0,38 ± 0,07 c	0 ± 0,15 b	0,11 ± 0,1	0,64 ± 0,48 b	1,04 ± 0,07 a
Iléon	0,54 ± 0,13 b	0,56 ± 0,07 bc	0,01 ± 0,14 b	0,24 ± 0,1	0,39 ± 0,48 b	0,51 ± 0,07 b
23 Duodénum	0,74 ± 0,12 ab	0,88 ± 0,07 a	1,43 ± 0,13 a	0,96 ± 0,1	3,81 ± 0,44 a	0,31 ± 0,06 bc
Jéjunum	0,7 ± 0,12 ab	0,86 ± 0,07 ab	1,09 ± 0,14 a	0,78 ± 0,1	0,53 ± 0,44 b	0,54 ± 0,06 b
Iléon	0,61 ± 0,12 b	0,57 ± 0,07 abc	0,47 ± 0,13 b	0,51 ± 0,1	0,75 ± 0,44 b	0,91 ± 0,06 a
12	0,71 ± 0,08	0,51 ± 0,04	0,06 ± 0,11	0,26 ± 0,06 b	0,50 ± 0,31	0,58 ± 0,04
23	0,68 ± 0,07	0,77 ± 0,04	0,99 ± 0,10	0,75 ± 0,06 a	1,69 ± 0,28	0,59 ± 0,03
Duodénum	0,58 ± 0,09	0,74 ± 0,05	0,79 ± 0,10	0,69 ± 0,07 a	2,14 ± 0,32	0,25 ± 0,04
Jéjunum	0,93 ± 0,09	0,62 ± 0,05	0,55 ± 0,10	0,45 ± 0,07 ab	0,59 ± 0,34	0,79 ± 0,44
Iléon	0,57 ± 0,09	0,56 ± 0,05	0,24 ± 0,1	0,38 ± 0,07 b	0,57 ± 0,32	0,71 ± 0,44
Age x Segment	<0,01	<0,05	<0,001	ns	<0,01	<0,001
Age	ns	<0,01	<0,001	<0,001	<0,05	ns
Segment	<0,05	<0,05	<0,001	<0,01	<0,001	<0,001

Tableau 2. Effet de l'âge et du segment intestinal sur les niveaux d'expression d'ARNm des gènes de la voie paracellulaire et le récepteur à la vitamine D (moyenne ± écart-type).

	CLDN2	ZO1	ZO2	ZO3	VDR
12 Duodénum	0,17 ± 0,12 cd	0,33 ± 0,08	0,35 ± 0,1	0,48 ± 0,14	0,78 ± 0,14 abc
Jéjunum	0,05 ± 0,12 d	0,34 ± 0,08	0,54 ± 0,1	0,94 ± 0,14	0,23 ± 0,14 c
Iléon	0,09 ± 0,12 cd	0,44 ± 0,08	0,48 ± 0,1	0,95 ± 0,14	0,56 ± 0,14 bc
23 Duodénum	0,87 ± 0,11 ab	0,85 ± 0,08	0,63 ± 0,09	0,85 ± 0,13	1,03 ± 0,13 ab
Jéjunum	0,99 ± 0,11 a	0,71 ± 0,08	0,79 ± 0,09	1,07 ± 0,13	1,19 ± 0,13 a
Iléon	0,59 ± 0,11 bc	0,57 ± 0,08	0,75 ± 0,09	1,37 ± 0,13	0,86 ± 0,13 ab
12	0,11 ± 0,11	0,37 ± 0,05 b	0,45 ± 0,06 b	0,79 ± 0,11	0,52 ± 0,10
23	0,82 ± 0,10	0,71 ± 0,05 a	0,72 ± 0,06 a	1,10 ± 0,11	1,02 ± 0,8
Duodénum	0,52 ± 0,08	0,59 ± 0,06	0,49 ± 0,07	0,67 ± 0,10 b	0,90 ± 0,10
Jéjunum	0,52 ± 0,08	0,52 ± 0,06	0,66 ± 0,07	1,00 ± 0,10 a	0,71 ± 0,10
Iléon	0,34 ± 0,08	0,51 ± 0,06	0,62 ± 0,07	1,16 ± 0,1 a	0,71 ± 0,10
Age x Segment	<0,001	ns	ns	ns	<0,05
Age	<0,001	<0,001	<0,05	ns	<0,01
Segment	<0,05	ns	ns	<0,001	ns

SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Synthèse

POURQUOI ET COMMENT INTEGRER LA BALANCE ELECTROLYTIQUE DANS LES CRITERES DE FORMULATION DES ALIMENTS POUR MONOGASTRIQUES

Quiniou Nathalie¹, Narcy Agnès²

¹ IFIP-Institut du Porc, La Motte au Vicomte, BP 35104, 35651 LE RHEU cedex

² UMR BOA, INRA - Université de Tours, 37380 NOUZILLY

nathalie.quiniou@ifip.asso.fr

agnes.narcy@inra.fr

RÉSUMÉ

L'évolution des conditions de production, d'une part, avec des animaux sélectionnés pour être de plus en plus performants et, d'autre part, la prise en compte de contraintes multiples (économiques, environnementales et sociétales) conduisent à formuler des aliments au plus près des besoins classiques des animaux (énergie, acides aminés essentiels, minéraux) tout en réduisant l'incorporation de certaines matières premières. Ainsi, la moindre incorporation de soja permet de réduire les rejets azotés par une baisse du taux de matières azotées totales de l'aliment, mais conduit également à une diminution de son bilan électrolytique (BE). Ce critère permet d'évaluer le caractère acidogène de l'aliment, qui influence l'équilibre acido-basique de l'animal et peut altérer ses performances. Les monogastriques, notamment le porc et les espèces avicoles, étant particulièrement sensibles au risque d'acidose, de nombreuses études ont porté sur l'étude de la relation entre le BE et le niveau de performance. Un aliment fortement acidogène (BE < 0 mEq/kg) peut être recherché de façon transitoire, par exemple en *peri-partum* chez la truie. Mais à plus long terme, un BE bas accentue le risque de déminéralisation osseuse et provoque une chute de l'ingestion spontanée d'aliment quelle que soit l'espèce. En outre, chez les reproducteurs, il entraîne une baisse de la production de lait (truie) ou de la qualité de la coquille (poule pondeuse). Chez les animaux en croissance, la vitesse croissance est pénalisée (porc et poulet) voire l'efficacité alimentaire (poulet) et l'adiposité de la carcasse (porc et poulet). Des plages de valeurs de BE sont suggérées selon l'espèce et le stade de production sur la base d'une revue des travaux disponibles dans la bibliographie.

ABSTRACT

Accounting for the electrolytic balance in dietary formulation for monogastric species

Genetic selection for high performing farm animals and expectations for a better sustainability in terms of economic return, reduced environmental impact, and improved animal welfare strongly influence conditions of animal production. Feeding strategies implemented nowadays are based on diets formulated for a better adequacy between nutrient (energy, amino acids, and minerals) and requirements, while reducing the use of some feedstuffs. Hence, the lower incorporation rate of soybean allows for reducing the N output per animal through reduced dietary crude protein content, but it induces a decrease in dietary electrolytic balance (DEB) also. This criterion is used to characterise the acidogenic property of the diet that influences the acid-basic balance of the animal and may impair its performance. Monogastric species such as pig and poultry are particularly exposed to acidosis risk, and numerous studies focused on the effect of DEB. A low DEB diet can be transitionally interesting in some situation, such as around sow farrowing (DEB < 0 mEq/kg). However, a long term use should be avoided as it induces a decrease in spontaneous feed intake and it may alter the mineralization level of bones, whatever the species considered. In reproducing animals, a low DEB is associated with a reduced milk production (sow) and egg shell quality (laying hen). In growing animals, the growth rate (pig and poultry) and eventually the feed efficiency (poultry) and carcass fatness (pig and poultry) are reduced with such a diet. Based on a review of literature, different ranges of DEB are proposed for different species and physiological stages.

INTRODUCTION

L'alimentation est une discipline sollicitée en permanence pour améliorer les performances de l'élevage. De tout temps, les niveaux d'apports nutritionnels ont été remis en cause par les progrès de la sélection génétique, puisqu'il s'agissait de permettre à des animaux de plus en plus performants d'approcher leur potentiel de production.

Dans les années 90 a émergé l'impératif de revoir la formulation des aliments en réponse aux pressions sociétales vers une réduction de l'impact environnemental des productions animales. Plus récemment, la prise en compte du bien-être animal, des conditions de logement, de la nécessité d'économiser les ressources protéiques... ont accentué la diversification des formules alimentaires. Or, en s'éloignant d'une situation de référence, stable et bien maîtrisée, il devient nécessaire de compléter l'éventail de critères utilisés en formulation pour définir les caractéristiques de l'aliment.

Le bilan électrolytique (BE) est un des composants de la formule ayant attiré l'attention suite aux recherches de solutions nutritionnelles pour baisser les rejets azotés. Ainsi, chez le porc, la baisse de la teneur en matières azotées totales (MAT) permet de réduire considérablement les rejets azotés sans modifier les performances des animaux (Dourmad et al., 1993) à condition de changer de système énergétique (énergie nette au lieu de énergie digestible), de mode d'expression des apports en acides aminés essentiels (sur la base de leur digestibilité idéale standardisée et non de leur teneur totale) et du respect des équilibres entre ces derniers et l'acide aminé limitant primaire qu'est la lysine. Or, la baisse de la MAT dans les aliments est réalisée en diminuant l'utilisation de sources de protéines telles que le tourteau de soja, ce qui conduit à des aliments plus acidogènes.

Pour les espèces avicoles, la notion de balance électrolytique suscite un intérêt plus particulier depuis les années 70 en lien avec les études physiologiques portant sur la formation de la coquille d'œuf. Cette dernière est constituée majoritairement de carbonate dont le parcours métabolique interfère directement avec l'équilibre acido-basique. Aujourd'hui, la volonté de réduire le niveau protéique des aliments chez les volailles grâce à l'utilisation d'acides aminés de synthèse (Belloir et al., 2017) sur la base d'un profil optimisé impose de reconsidérer le BE des aliments. L'objet de cet article est de synthétiser les connaissances disponibles dans la littérature établie sur le BE chez deux types de monogastriques, i.e. le porc et la volaille.

1.L'HOMEOSTASIE ACIDO-BASIQUE

1.1. Electrolytes et homéostasie acido-basique

L'eau constitue les deux tiers de l'organisme. Elle se répartit entre le compartiment intracellulaire et le

compartiment extracellulaire et l'homéostasie de l'animal dépend de l'équilibre entre ces deux compartiments. Les électrolytes exercent chacun des rôles spécifiques dans l'organisme (régulation de la pression osmotique, perméabilité des cellules, conductivité électrique...). A ce titre, ils doivent être apportés en quantité suffisante dans l'alimentation afin de ne pas constituer un frein à l'expression du potentiel de production des animaux. Cependant, leur association est tout aussi importante à prendre en compte puisqu'elle peut altérer certaines fonctions physiologiques des animaux.

L'homéostasie acido-basique correspond au maintien des concentrations intra-cellulaire et extra-cellulaire en protons (H^+) à un niveau constant. Lorsque le pH interne n'est pas régulé cela pose de gros problèmes. En effet, H^+ n'existe pas sous forme libre mais sous formes hydratées (H_3O^+ ou $H_2O_2^+$). Celles-ci peuvent interagir avec d'autres molécules telles que les protéines, entraînant une modification de la structure quaternaire de ces dernières. Concrètement, cela peut entraîner une réduction de l'activité des enzymes, une modification des propriétés contractiles des muscles, une altération de l'oxygénation des tissus...

1.2. Systèmes de régulation

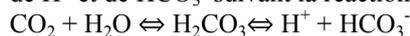
Plusieurs mécanismes permettent d'utiliser l'eau et les électrolytes apportés par l'alimentation tout en régulant l'équilibre hydrique et électrolytique de l'organisme. Des systèmes tampons ont une action immédiate pour limiter les écarts de pH : le système des phosphates, des protéines et des bicarbonates. D'après Bruggère (2009), ce dernier apparaît comme celui étant le plus facile à explorer et présente l'intérêt majeur de reposer sur un système ouvert par l'implication physiologique de la régulation pulmonaire sur la pression partielle de dioxyde de carbone (CO_2). La teneur en bicarbonate (HCO_3^-) peut varier entre 10 et 70 mM selon la valeur du pH plasmatique. L'ampleur de cette variation et la rapidité avec laquelle elle est modifiée (notamment par l'implication du système respiratoire) confèrent un rôle particulièrement important au système des bicarbonates dans la stabilisation du pH (Bruggère, 2009).

Les organes effecteurs intervenant dans l'équilibre acido-basique sont les poumons et les reins. Dans le système bicarbonates, la voie respiratoire permet d'évacuer une partie du CO_2 en excès tandis que la voie rénale assure la réabsorption/régénération de HCO_3^- . Les autres acides issus du métabolisme sont également évacués par les reins, avec par exemple l'excrétion de H^+ principalement sous forme d'ammonium (NH_4^+). Ainsi, chez le porc, le pH urinaire est normalement inférieur à 7. Il diminue quand l'alimentation conduit à une surcharge acide, mais l'excrétion urinaire de ce surplus est cependant contrainte par la valeur minimale que peut atteindre le pH urinaire (entre 4,0 et 4,5 d'après Patience (1990)).

Les poumons et les reins sont impliqués également dans d'autres fonctions de l'organisme, ce qui peut interférer avec l'équilibre acido-basique de l'animal. Ainsi par exemple en cas de stress thermique, les poumons contribuent également à la thermorégulation en évacuant de la chaleur sous forme de vapeur d'eau. Dans ce cas, la *polypnée* (ou hyperventilation) peut conduire à un état d'alcalose sous l'effet d'une diminution des réserves en CO₂. En ce qui concerne les reins, ils contribuent à l'élimination d'acides issus de nombreux processus dont le métabolisme des acides aminés et des phospholipides, mais en quantité très faible comparativement à l'acide carbonique.

1.3. Origine des acides

Les apports alimentaires sont riches en glucides et lipides, dont le métabolisme conduit à une surcharge acide que l'animal doit excréter. En effet, l'oxydation complète des glucides et des lipides conduit à la production de CO₂ et d'eau (H₂O). Bien que le CO₂ ne soit pas un acide, il se combine à une molécule d'H₂O pour former l'acide carbonique (H₂CO₃), ce qui mène potentiellement à une production importante de H⁺ et de HCO₃⁻ suivant la réaction :



Le pouvoir acidogène ou alcalogène de l'aliment peut s'apprécier à partir du calcul du bilan entre les cations (Na⁺, K⁺, Ca²⁺, Mg²⁺) et les anions (Cl⁻, H₂PO₄⁻, HPO₄²⁻, SO₄²⁻). Chez les ruminants, le bilan alimentaire cation/anion (BACA) prend en compte Na⁺, K⁺, Cl⁻ et S²⁻. Le bilan électrolytique (BE) proposé par Mongin (1981) est surtout utilisé chez les monogastriques :

$$\text{BE (mEq/kg)} = (\text{Na}/22,99 + \text{K}/39,10 - \text{Cl}/35,45) \times 1000$$

où Na, K et Cl sont exprimés en g/kg.

En situation d'apport en acides aminés soufrés (méthionine et cystine) en excès, relativement à la lysine, leur oxydation partielle génère de l'acide sulfurique (H₂SO₄). Mais compte tenu du fait que cette situation d'excès n'est pas observée chez la volaille (Mack et al., 1999) et qu'elle conduit à une production de H₂SO₄ faible chez le porc, en pratique elle n'entraîne pas une remise en question du BE comme critère d'évaluation de l'aliment chez ces deux types de monogastriques.

1.4. Indicateurs du statut acido-basique

La valeur des indicateurs sanguins permettant d'évaluer l'équilibre acido-basique de l'organisme (Tableau 1) ne change que lorsque la totalité des bases ou des acides en excès ne parvient pas à être éliminée par la respiration ou par les reins. *A contrario*, ce n'est pas parce que les valeurs de ces paramètres semblent «normales», que les mécanismes de régulation de l'équilibre acido-basique ne sont pas activés. Ainsi, chez le porc, l'étude du pH urinaire permet de mettre

en évidence une éventuelle contribution de la régulation rénale, notamment en cas d'acidose. Cette mesure non invasive n'est cependant pas possible en volaille.

Tableau 1. Indicateurs caractéristiques de l'équilibre acido-basique dans le sang.

Sang	Chez le porc ¹		Chez la volaille ²	
	Artériel	Veineux	Artériel	Veineux
pH	7,48	7,41	7,49	7,39
H ⁺ , nM	33	39	33	41
pCO ₂ , mmHg	44	54	32	43
HCO ₃ ⁻ , mM	30	33	24	25

¹D'après Patience (1990).

²D'après Wideman et al. (2003).

2. LE BE CHEZ LE PORC

La plupart des études menées pour caractériser les effets du BE de l'aliment chez les porcs sont réalisées sur des pas de temps assez longs, i.e. pendant tout le post-sevrage qui dure 5 à 7 semaines, ou l'engraissement qui dure de 3 à 4 mois pour un porc abattu vers 115 kg de poids vif.

2.1. Utilisation digestive des aliments

L'effet du BE sur le coefficient d'utilisation digestive (CUD) dépend du nutriment considéré et du site de mesure. Si le CUD mesuré au niveau fécal ne varie pas significativement selon le BE pour la plupart des composants de l'aliment, il en va autrement du CUD mesuré au niveau iléal (CUDi). En effet, le CUDi de l'énergie augmente de 9 points quand le BE augmente de -50 à 400 mEq/kg (Haydon et West, 1990). La même étude indique que le CUDi de la plupart des acides aminés s'accroît de façon linéaire sur la même plage de valeurs de BE (soit +4,2 points pour la lysine), cependant l'amélioration de +3,8 points pour la méthionine n'est pas significative (Haydon et West, 1990). En parallèle, il apparaît que le coefficient de rétention de l'azote s'améliore de 2,2 points entre -50 et 250 mEq/kg et de 1,5 point supplémentaire entre 250 et 400 mEq/kg. Dans un contexte d'apports azotés réalisés au plus juste des besoins, ces résultats renforcent l'intérêt de faire en sorte d'éviter une baisse du BE dans les aliments à basse teneur en MAT, qui pourrait conduire à pénaliser la digestibilité des acides aminés et résulter dans des apports en-deçà du besoin.

2.2. Performances de croissance

Les études sont le plus souvent réalisées en condition d'alimentation à volonté et s'accordent sur l'absence d'effet du BE sur l'indice de consommation (IC). En revanche, elles divergent pour ce qui concerne l'effet

sur la vitesse de croissance (GMQ). Après avoir exprimé les résultats avec en base 100 le GMQ maximum intra-essai, des tendances se dégagent toutefois, qui diffèrent selon le stade de production.

Pendant le post-sevrage, les travaux conduits par Austic et al. (1983) et Patience et al. (1987) avec de nombreux traitements répartis sur une large gamme de BE (respectivement de -100 à 500 et de -75 à 350 mEq/kg), permettent d'obtenir le GMQ le plus élevé vers 215 mEq/kg, sans que la variation soit importante entre 100 et 275 mEq/kg (Figure 1a). Pendant l'engraissement, le GMQ varie peu lorsque le BE varie entre 175 et 300 mEq/kg (Figure 1b), ce qui rejoint les observations d'Apper-Brossard et al. (2009). De moins bonnes performances sont observées par Utley et al. (1987) et Haydon et West (1990) pour un BE en-deçà ou au-delà de cette plage de valeurs. Dans l'essai d'Utley et al. (1987), les perturbations de l'équilibre acido-basique peuvent avoir été accentuées par l'exposition à des températures élevées.

Tous les résultats présentés dans la figure 1ab étant obtenus en conditions d'alimentation à volonté, à l'exception de ceux obtenus par Patience et Chaplin (1987), les différences de vitesse de croissance sont à mettre en relation avec les effets sur l'appétit, dès lors qu'aucun effet significatif n'est observé sur l'IC.

2.3. Qualité de carcasse

L'IC est souvent considéré comme un indicateur de l'adiposité du gain de poids, mais dans le cas présent cela ne semble pas être le cas puisque, pour un même IC, Dourmad et Lebret (2000) rapportent une adiposité de carcasse plus élevée avec un BE de seulement 150 mEq/kg (vs. 210 et plus). Ces auteurs évoquent une possible modification du métabolisme

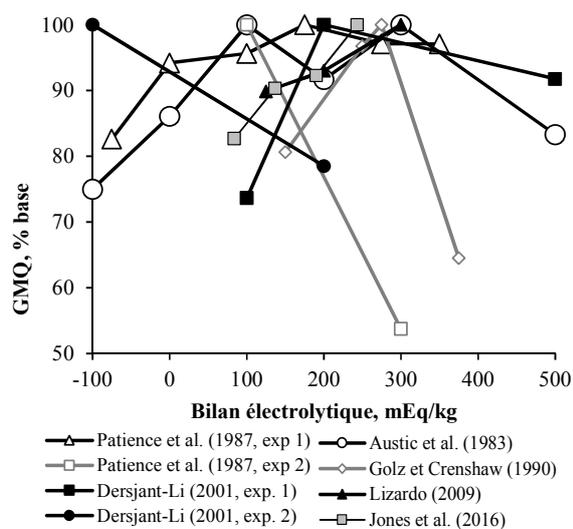
lipidique. Cette hypothèse n'a pas été vérifiée depuis lors, mais elle est cohérente avec les altérations qu'une baisse du pH sanguin peut entraîner sur l'activité des enzymes impliquées dans les voies métaboliques.

A l'arrivée à l'abattoir, certains porcs arrivent dans un état de fatigue avancée et présentent des signes d'acidose métabolique, conséquence des stress multiples ressentis (Ritter et Ellis, 2007). L'hypothèse qu'une adaptation de quelques jours à une surcharge acide d'origine alimentaire avant le transport pourrait contribuer à une meilleure homéostasie à ce stade a été avancée. Elle n'est cependant pas vérifiée par Edwards et al. (2010) qui n'observent plus de différences sur les paramètres sanguins après une mise à jeun de 10 h chez des porcs ayant reçu avant des aliments avec un BE de 121 ou 375 mEq/kg.

2.4. Santé

L'incidence du pouvoir acidogène de l'aliment sur la fréquence des ulcères gastriques chez le porc dépend du niveau de risque associé aux conditions de fabrication de l'aliment. Ainsi quand l'aliment est granulé à partir de matières premières broyées finement (355 µm en moyenne), Wondra et al. (1995) rapportent plus de problèmes d'ulcères quand le BE est de 134 (vs. 222 mEq/kg). Aucune différence significative n'est obtenue par ces auteurs sur une large plage de BE (de 177 à 399 mEq/kg) quand l'aliment est présenté sous forme de farine fabriquée avec une granulométrie plus grossière (488 µm en moyenne). La prévention des ulcères gastriques est parfois envisagée directement par l'ajout de bicarbonate de sodium dans l'eau de boisson (200 mOsm NaHCO₃ ; Cole et al., 2004) afin d'assurer que le pH gastrique ne diminue pas en dessous de 4 (Ange et al., 2000).

a – post-sevrage



b – engraissement

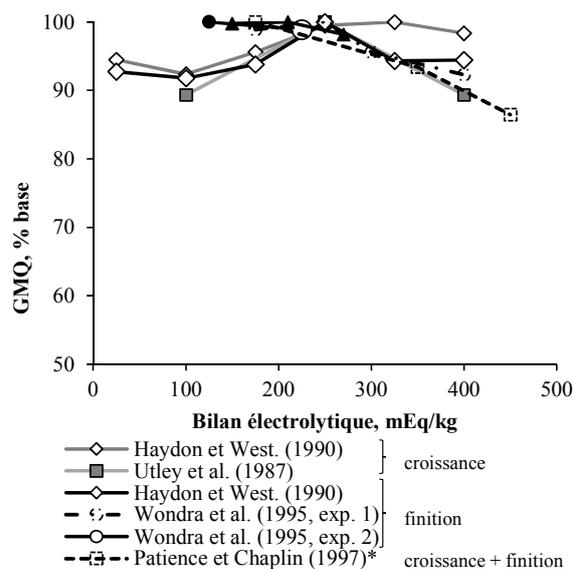


Figure 1. Evolution de la vitesse de croissance (GMQ) du porc selon le bilan électrolytique de l'aliment pendant le post-sevrage (a) ou l'engraissement (b) (revue de la littérature).

Base 100 : GMQ maximum atteint intra-essai ; * essai conduit avec des porcs alimentés de façon rationnée

D'après des résultats italiens et néerlandais rapportés par Dourmad et Meschy (1998), une augmentation de 50 mEq/kg du BE permettrait de réduire la fréquence d'apparition des problèmes d'aplombs. En effet, en cas d'acidose métabolique l'excès de protons est tamponné par les sels osseux, ce qui conduit à une déminéralisation du squelette. Ces problèmes résultent dans la plupart des cas d'une insuffisance rénale marquée ou de diarrhées chroniques (fuite de K^+), mais l'impact d'un BE faible n'est pas à négliger. Pour autant Ernst et al. (1990) n'obtiennent aucune différence entre des BE de 150 et 200 mEq/kg, de même que Dourmad et Lebret (2000) entre des BE de 150, 210 et 270 mEq/kg pendant tout l'engraissement. De même, Budde et Crenshaw (2003) ne rapportent aucune différence entre des BE de -35, 112 et 212 mEq/kg pendant 3 semaines de post-sevrage.

3. LE BE CHEZ LA TRUIE

3.1. En péri-mise bas

La taille de la portée a augmenté de plus de 25% depuis l'arrivée des lignées de truies dites hyperprolifiques dans les élevages de production (GTTT-IFIP, 2016). Parallèlement, la taille de portée au sevrage s'est accrue de 23% seulement, compte tenu des pertes plus nombreuses avant le sevrage (+43%). Dans ce contexte, toute solution permettant d'améliorer la survie des porcelets présente un intérêt majeur pour la filière. La diminution du BE de l'aliment distribué autour de la mise bas a été explorée dans cet objectif en suivant deux hypothèses. La première est plutôt d'ordre sanitaire ; elle considère qu'une surcharge d'acide qui provoquerait la diminution du pH urinaire permettrait de réduire la pression bactérienne et infectieuse au niveau de la truie, avec un effet potentiellement favorable sur ses performances et celles de sa portée. Ainsi, des valeurs de pH inférieures à 5,5 peuvent être atteintes avec un BE inférieur à 25 mEq/kg (Cheng et al., 2015 ; Darriett et al., 2017). Parallèlement, il semblerait que la teneur en immunoglobuline G soit accrue dans le colostrum, ce qui est potentiellement intéressant pour améliorer l'immunité passive du porcelet (Cheng et al., 2015).

La seconde hypothèse de travail est plutôt d'ordre physiologique, s'inspirant des mécanismes impliqués dans la fièvre vitulaire chez la vache laitière (Apper-Brossard et al., 2009). En provoquant une surcharge d'acide, l'idée est de favoriser la teneur en calcium sous sa forme active (ionisée) dans le plasma, compte tenu de son implication dans les contractions utérines (Ayliffé et al., 1983). Cette hypothèse n'est cependant pas vérifiée chez la truie par Cheng et al. (2015) ni par Darriett et al. (2017) qui n'observent pas de changement de la teneur circulante en Ca après distribution pendant 10 à 14 jours d'aliments avec des BE, respectivement, de 300 à -100 mEq/kg et de 139 à

27 mEq/kg. Cela peut s'expliquer par l'activation des autres mécanismes de régulation de la calcémie, l'excrétion de Ca par les reins étant ainsi accrue avec un BE bas. Cela peut expliquer que Cheng et al. (2015, 0 vs. 100 à 350 mEq/kg) et Boudon et al. (2016, 50 vs. 250 mEq/kg) n'observent pas d'amélioration de la survie des porcelets, voire même un ralentissement de la mise bas avec le BE le plus bas étudié. Toutefois, il est possible que cette réponse dépende des interactions entre minéraux ou systèmes puisqu'avec des aliments plus riches en phosphore (8 vs. moins de 6 g P total/kg dans les études ci-dessus), DeRouchey et al. (2003) observent une meilleure survie des porcelets avec un bilan électrolytique nul à négatif (0 à -100 mEq/kg).

3.2. Pendant la lactation

Après la mise bas, l'utilisation d'un aliment avec un BE suffisamment bas pour acidifier les urines peut être intéressante quand le contexte sanitaire n'est pas bon. Cela permet de limiter la croissance bactérienne et est considéré comme un des éléments de lutte contre le syndrome de cystite-pyélonéphrite (Martineau et Morvan, 2010). Toutefois, cette stratégie doit être envisagée avec prudence car elle provoque une augmentation des fuites urinaires de minéraux et est susceptible d'altérer la matrice osseuse de la truie sur le long terme. Par ailleurs, un BE bas influence négativement l'ingestion d'aliment, ce qui aggrave le déficit nutritionnel de la truie pendant cette période. Rechercher un BE plus élevé semble donc pertinent pendant la lactation, d'autant plus qu'il semble favoriser la production de lait dans les études de Dove et Haydon (1994, 277 vs. 176 mEq/kg) et de Lizardo (2009, 280 vs. 200 mEq/kg).

4. LE BE CHEZ LE POULET DE CHAIR

4.1. Performances de croissance

D'après les données de la littérature sur le poulet de chair, le pH sanguin évolue globalement de façon quadratique avec le BE. Un maximum de réponse est obtenu entre 260 et 320 mEq/kg (Figure 2).

Les variations de l'équilibre acido-basique peuvent être accompagnées d'une perte d'appétit et d'une baisse consécutive des performances de croissance. D'après les travaux de Szabo et al. (2011), la valeur de BE permettant d'optimiser le gain de poids dépend de l'âge des poulets. Durant les deux premières semaines de vie des animaux, un BE variant entre -50 et 325 mEq/kg n'influence pas le gain de poids. Ce dernier est maximisé pour un BE de 175 mEq/kg à 21 jours d'âge et entre 175 et 325 mEq/kg à 28, 35 et 42 jours d'âge.

Chez des animaux en croissance (0-21 jours), Rondon et al. (2001) proposent un BE compris entre 246 et 315 mEq/kg pour optimiser le gain de poids, la

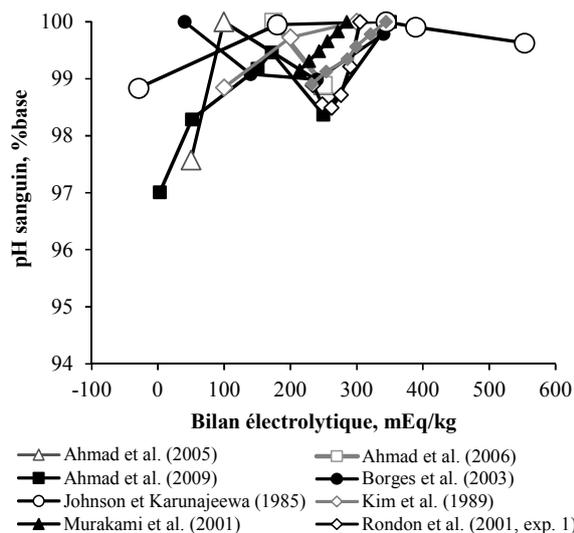


Figure 2. Evolution du pH sanguin en fonction du bilan électrolytique de l'aliment chez le poulet de chair (revue de la littérature).

consommation et l'IC. Une valeur de BE de 274 mEq/kg s'avère optimale dans les travaux de Koreleski et al. (2011). Les travaux de Ravindran et al. (2008) montrent un GMQ et un IC optimal entre 150 et 300 mEq/kg.

Pour des animaux plus âgés (> 21 jours), Borges et al. (2004) recommandent une valeur comprise entre 202 et 235 mEq/kg pour maximiser le gain de poids et l'IC et Murakami et al. (2000, 2001) des valeurs comprises entre 150 et 350 mEq/kg. Ces valeurs restent cohérentes avec celles obtenues par Johnson et Karunajeewa (1985 ; 180 et 300 mEq/kg).

Plutôt qu'une valeur fixe, c'est une plage de valeurs qui semble être pertinente au vue des résultats disponibles dans la littérature. En compilant ces données (Figure 3), une plage de BE entre 200 et 300 et entre 250 et 300 mEq/kg apparaît optimale, respectivement pour le GMQ et l'IC. Les effets négatifs d'un BE élevé sur les performances seraient en partie liés à une baisse de l'utilisation digestive de l'énergie et de la plupart des acides aminés (Ravindran et al., 2008). L'effet du BE sur la digestibilité des nutriments demande cependant à être vérifié.

4.2. Qualité de carcasse

D'après les travaux de Vieites et al. (2005), le rendement de carcasse dépendrait du BE avec un optimum aux alentours de 200 mEq/kg dans le cas d'un apport de protéines de 20% sur l'ensemble de la phase d'élevage. Selon Mushtaq et Pasha (2013), le pourcentage de gras abdominal pourrait également être réduit quand le BE augmente. Ces observations pourraient s'expliquer par des altérations du fonctionnement métabolique liées à un changement de conformation des protéines consécutif à la baisse du pH sanguin.

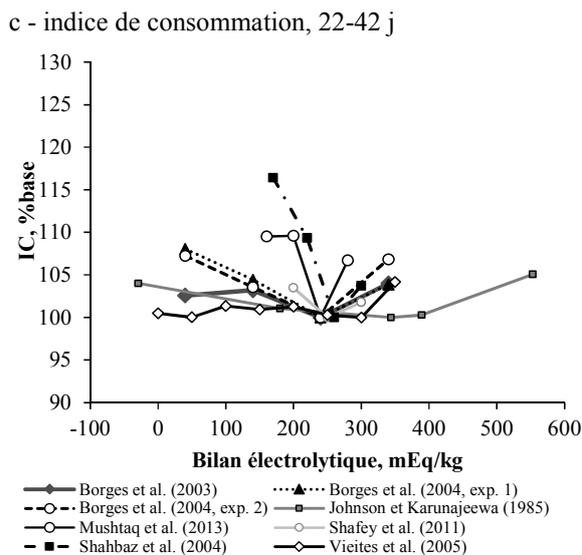
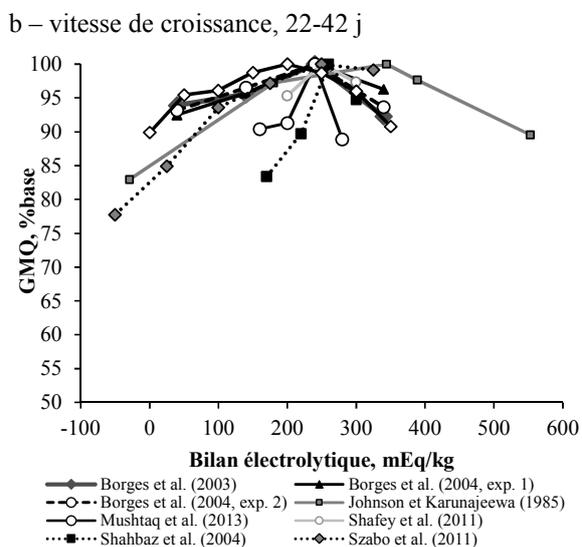
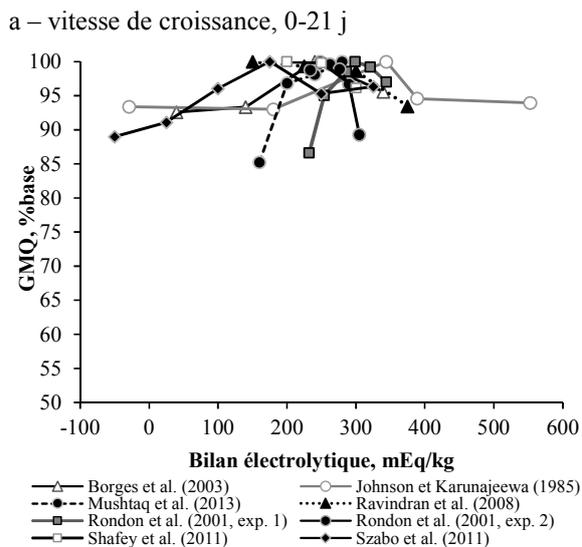


Figure 3. Evolution du gain moyen quotidien (GMQ) chez le poulet entre 0 et 21 (a) et 22 et 42 jours (b) d'âge et de l'indice de consommation (IC) (c) en fonction du bilan électrolytique de l'aliment (revue de la littérature).

4.3. Minéralisation osseuse

Le squelette représente un réservoir de substances alcalines mobilisables pour tamponner un excès d'acidité. Des niveaux élevés de Cl dans les aliments sont reconnus pour favoriser l'apparition de dyschondroplasie tibiale (Edwards, 1984). Dans les travaux de Murakami et al. (2003), une relation quadratique inverse entre le BE et des paramètres de dyschondroplasie tibiale a été mise en évidence. La zone hypertrophique et l'aire de l'épiphyse au niveau du cartilage tibial atteignent leur minimum pour un BE de 250 mEq/kg et augmentent, respectivement, de 9 à 50% et de 19 à 80% pour un BE de 200 et 320 mEq/kg sur la période de démarrage.

Pendant la phase de croissance, aucun effet notable du BE n'est rapporté. Szabo et al. (2011) ne montrent aucune modification significative de la teneur en cendres et macroéléments (Ca, P, Mg, Na et K) du fémur pour des valeurs de BE comprises entre -50 et 325 mEq/kg chez des poulets entre 1 et 42 jours d'âge. Ce résultat, ne confirme pas l'hypothèse de mobilisation osseuse induite par l'acidose. L'absorption du Ca alimentaire, à des niveaux relativement élevés dans cet essai, permettrait notamment de neutraliser la surcharge d'acide, éliminée ensuite au niveau rénal. La tendance actuelle à réduire la teneur en Ca des aliments pour optimiser l'utilisation digestive du phosphore pourrait donc être remise en perspective au regard du BE pour préserver l'intégrité du squelette.

4.4. Qualité de la litière

La consommation d'eau dépend directement de l'équilibre électrolytique du régime, qui affecte par conséquent l'humidité de la litière. Selon Borges et al. (2004), la consommation d'eau augmente linéairement avec le BE, soit +28% quand le BE augmente de 40 à 340 mEq/kg, ce qui conduit à une hausse de 18 points de l'humidité de la litière. De même, Rondon et al. (2001) observent une hausse de 40 à 56% de l'humidité de la litière pour un BE passant de 232 à 344 mEq/kg et Johnson et Karunajeewa (1985) une augmentation de 26 à 60% quand le BE passe de 180 à 553 mEq/kg. Sur une large gamme de BE (0 à 350 mEq/kg), Vieites et al. (2005) mettent en évidence que l'humidité de la litière répond de façon quadratique au BE avec un minimum atteint pour une valeur proche de 150 mEq/kg, valeur confirmée par la synthèse des données de la littérature (Figure 4).

5. LE BE CHEZ LA POULE PONDEUSE

5.1. Qualité de la coquille d'œuf

Le processus de calcification de la coquille d'œuf implique la sécrétion d'une grande quantité de Ca^{2+} et

d' HCO_3^- par la glande coquillière. Ce processus provoque le transfert de protons de la lumière de l'utérus dans la muqueuse et le sang. Cet afflux d'ions H^+ au niveau sanguin a pour effet d'abaisser le pH et de provoquer une acidose (Mongin et Lacassagne, 1966). Cette dernière est partiellement corrigée par des adaptations des activités respiratoires et rénales qui représentent un coût supplémentaire pour l'animal. Certaines voies métaboliques impliquées dans la calcification sont reconnues pour être sensibles au pH (ex : hydroxylation de la 25-OH-vitamine D_3 et interaction PTH/Ca). Aussi, le maintien d'un BE alimentaire adéquat est nécessaire pour compenser l'acidose.

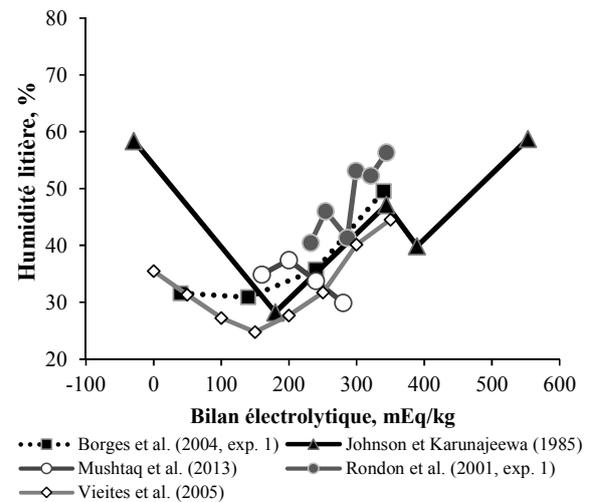


Figure 4. Evolution de l'humidité de la litière en fonction du bilan électrolytique de l'aliment chez le poulet de chair (revue de la littérature).

De nombreux travaux rapportent qu'un excès de Cl dans l'alimentation des poules pondeuses provoque une baisse du pH sanguin et dégrade la qualité de la coquille (Sauveur et Mongin, 1978 ; Austic, 1984 ; Junqueira et al., 1984 ; Chen et Balnave, 2001). Selon Yoselewitz et Balnave (1989), une baisse de l'activité de l'anhydrase carbonique au niveau de la glande coquillière expliquerait en partie cet effet négatif.

Une supplémentation en sels alcalinisants permet de compenser partiellement l'acidose métabolique et de maintenir la qualité de la coquille. Chez la poule en début de ponte (24 à 34 semaines d'âge), Nobakht et al. (2007) montrent qu'un BE de 360 mEq/kg atteint par une supplémentation en NaHCO_3 et KHCO_3 améliore l'épaisseur de la coquille et sa teneur en cendres comparativement à un BE de 240 mEq/kg. Chez la poule plus âgée (47-55 semaines d'âge), Gezen et al. (2005) préconisent un BE de 256 mEq/kg pour optimiser la solidité et l'épaisseur de la coquille (vs. 80 mEq/kg) et limiter la proportion d'œufs fêlés (vs. 80 et 330 mEq/kg).

L'allongement du cycle de production des poules pondeuses fait émerger de nouvelles problématiques. D'une part, la qualité de la coquille se dégrade avec

l'âge et le nombre d'œufs déclassés ou cassés augmente en fin de cycle de ponte, engendrant alors des pertes économiques. D'autre part, la fréquence des fractures tend à augmenter du fait d'une fragilisation du squelette posant la question du bien-être animal. L'os représente un réservoir de substances alcalines susceptibles d'être mobilisées en cas de déséquilibre acido-basique. Dans les travaux de Gezen et al. (2005), une détérioration de la teneur en cendres du tibia a été observée à la suite d'une baisse du BE de 256 à 170 mEq/kg. Dans ces conditions, la maîtrise du bilan électrolytique des aliments apparaît d'autant plus critique. Les adaptations physiologiques horaires de la poule en ponte nécessiteraient la mise en place de stratégies nutritionnelles de précision destinées notamment à contrebalancer la baisse de pH durant la période de calcification (10 à 24 h post-ovulation).

6. BE ET STRESS THERMIQUE

6.1. Chez la truie

La truie allaitante produit beaucoup de chaleur et est en situation de stress thermique permanent dès que la température ambiante dépasse 18-20°C, l'intensité de ce stress étant d'autant plus forte que la température augmente. Elle se répercute sur la prise alimentaire et la production de lait qui chutent de façon drastique au-dessus de 25°C (Quiniou et Noblet, 1999), contribuant ainsi à une moindre production de chaleur issue du métabolisme des nutriments.

La modification des caractéristiques nutritionnelles de l'aliment est l'une des solutions permettant d'atténuer les effets du chaud sur la truie allaitante, notamment *via* la diminution de la teneur en MAT (Renaudeau et al., 2001), ce qui conduit à un BE plus faible (voir chapitre 7). Or, l'équilibre acido-basique de la truie est déjà compromis par l'exposition au chaud, du fait de l'exportation importante de CO₂ par les voies respiratoires, suite à la mise en œuvre de la polypnée comme mécanisme de thermorégulation. Ainsi, en théorie, on peut concevoir que l'apport de HCO₃⁻ facilement disponible par la voie alimentaire soit d'autant plus important que l'aliment est formulé pour une basse MAT et qu'il est consommé au chaud.

Un essai conduit avec une baisse de la MAT (14,9 vs. 16,6%) et du BE associé (-51 mEq/kg seulement, 132 vs. 183 mEq/kg) n'a pas permis de démontrer un intérêt à corriger le BE dans ces conditions (Quiniou, 2004). Cela ne signifie pas pour autant que la truie ne soit pas exposée à un risque de déséquilibre acido-basique. En effet, le risque d'acidose métabolique provoqué par l'aliment à basse teneur en MAT peut se combiner avec le risque d'alcalose respiratoire induit par la polypnée et placer la truie en situation d'alcalose mixte.

6.2. En espèces avicoles

Face à un stress à la chaleur, des systèmes de compensation physiologiques sont mis en jeu chez les oiseaux, également mentionnés chez la truie : une baisse de consommation et une augmentation de la fréquence respiratoire. Cette dernière conduit à des pertes accrues de CO₂ à l'origine d'une alcalose respiratoire qui s'accompagne de modifications des niveaux plasmatiques en électrolytes. Une augmentation des pertes urinaires en électrolytes conduirait à une balance minérale négative pour Na⁺ et K⁺ (Belay et Teeter, 1993), suggérant des besoins supplémentaires en ces éléments.

Des baisses de performances de croissance chez le poulet de chair et une détérioration de la qualité de la coquille sont généralement observées au chaud.

Cependant, plusieurs études ont montré qu'une supplémentation en sels dans l'aliment ou dans l'eau de boisson permettait de contrecarrer les effets négatifs d'un stress lié au chaud (Borges et al., 2007). L'effet dépend du type de sels utilisés, notamment de la nature de l'anion accompagnant les cations (cf. chapitre 7). Une supplémentation en KCl à hauteur de 0,6% dans un régime de base (de 1 à 28 jours : BE de 186 mEq/kg ; de 29 à 42 jours : BE de 172 mEq/kg) améliore le gain de poids et l'efficacité alimentaire chez des poulets soumis à un stress à la chaleur (35 à 38°C ; Ahmad et al., 2008). Simultanément, une baisse significative du pH systémique est enregistrée (7,31 vs. 7,40). Notons qu'en parallèle la consommation d'eau augmente de près de 35% pénalisant la qualité de la litière.

Chez la poule pondeuse (32 à 42 semaines d'âge) soumise à des conditions d'ambiance tropicale, une supplémentation en NaHCO₃ (BE de 250 vs. 165 mEq/kg) dans un régime déconcentré en protéines permet de corriger les effets délétères de l'acidose métabolique induite par la ponte, avec une amélioration de la production d'œufs et de l'épaisseur de coquille (Ghasemi et al., 2014).

Chez la poule plus âgée (55 à 65 semaines d'âge) soumise à une gamme de BE de 0, 120, 240 ou 360 mEq/kg obtenue par incorporation de NaHCO₃ et KHCO₃, la densité et le poids de coquille sont améliorés pour un BE compris entre 240 et 360 mEq/kg (vs. 120 mEq/kg) et l'épaisseur de coquille pour un BE de 360 mEq/kg (vs. 0 mEq/kg) (Nobakht et al., 2006).

7. PRISE EN COMPTE DU BE EN FORMULATION

7.1. Caractéristiques des matières premières

Les sources de protéines telles que les tourteaux se caractérisent par une teneur élevée en K⁺ (Tableau 2). Or, leur taux d'incorporation diminue depuis une trentaine d'années et leur moindre utilisation conduit

donc à un BE plus faible. La baisse du BE est plus ou moins accentuée selon la forme de lysine de synthèse utilisée, l'apport sous forme de poudre étant associé à de l'acide chlorhydrique (HCl) contrairement à la forme liquide.

Tableau 2. Teneurs en électrolytes et bilan électrolytique (BE) de quelques matières premières dont des acides aminés industriels¹.

Matières premières	Na, g/kg	K, g/kg	Cl, g/kg	BE, mEq/kg
Blé	0,1	4,0	0,9	79
Maïs	0,04	3,2	0,5	68
Orge	0,1	4,8	1,1	98
Son de blé	0,1	12,3	0,9	295
Pois	0,1	9,8	0,8	229
Tourteau de soja 48	0,3	21,1	0,5	539
Tourteau de colza	0,4	12,3	0,7	313
Tourteau de tournesol	0,2	15,1	1,4	356
Graine de soja extrudée	0,8	18,5	0,4	500
Sel	393		606	0
Bicarbonate de sodium NaHCO ₃	270		40	10615
L-Lysine HCl (poudre)	3	0,2	192	-5331
L-Lysine liquide	0,3	0,8	0,5	19
L-Thréonine	0,5	0,5	2	-22
L-Tryptophane	2	2	2	82
L-Valine	0,1	2	0,5	41

¹Tables INRA-AFZ (2004) et Ajinomoto Eurolysine SAS (communication personnelle).

7.2. Nouvelles pratiques de formulation

Pour un même niveau d'apport en acides aminés essentiels, la diminution de la teneur en MAT touche principalement l'apport en acides aminés non essentiels. Or, ces derniers sont apportés surtout par les matières premières riches en protéines telles que les tourteaux ou sous forme d'acides aminés de synthèse. Au fil du temps, l'augmentation du nombre d'acides aminés industriels disponibles en formulation a permis d'aller plus loin dans la réduction de la teneur en MAT *via* une moindre utilisation des tourteaux. Les fluctuations du contexte de prix des matières premières y ont également contribué, la généralisation des formules à basse teneur en MAT ayant été impulsée fin 2007 par une envolée des cours du tourteau de soja (Note de Conjoncture IFIP). Enfin, la volonté affichée d'une plus grande autonomie protéique est également favorable à la moindre utilisation des ressources protéiques telles que celles issues du soja. Ainsi, l'incorporation de lysine, thréonine, méthionine, tryptophane et valine, plus rarement d'isoleucine, est désormais entrée dans les

habitudes de formulation. Des essais ont même été conduits qui démontrent la possibilité de s'affranchir partiellement ou totalement du tourteau de soja en période de finition chez le porc (Maupertuis et al., 2011; Quiniou et al., 2011) et chez le poulet de chair à croissance rapide (Méda et al., 2019), intermédiaire ou de type Label (Lessire et al., 2015 ; Méda et al., 2015).

7.3. Incorporation de sels dans la formule

Pour une même teneur en énergie (nette chez le porc, métabolisable chez la volaille) et en acides aminés essentiels de l'aliment, la baisse du taux d'incorporation du tourteau de soja permet d'abaisser la teneur en MAT mais le BE diminue parallèlement. L'ajout d'une contrainte de formulation pour un BE minimal restreint les possibilités de baisse de la MAT si la palette de matières premières n'est pas élargie pour permettre la stabilisation de ce critère, par exemple avec du bicarbonate de sodium (NaHCO₃).

Tableau 3. Contraintes minimales de formulation sur le bilan électrolytique (BE) et le taux de matières azotées totales (MAT) et caractéristiques des aliments pour porcs en croissance et finition selon l'utilisation ou non d'un correcteur d'acidité¹.

Stade	Croissance			Finition		
Contraintes minimales, /kg²						
BE, mEq	175	175	175	175	175	175
MAT, g	165	-	-	150	-	-
Incorporation de NaHCO₃	non	non	oui	non	non	oui
Incorporation, g/kg³						
T. soja 48	196	187	90	150	125	93
NaHCO ₃	-	-	5,1	-	-	4,4
Lysine HCl	1,8	2,1	4,8	2,4	3,2	3,8
Méthionine	0,1	0,2	0,8	0,2	0,3	0,4
Thréonine	0,3	0,4	1,6	0,5	0,9	1,2
Tryptophane	-	-	0,4	0,1	0,2	0,2
Résultats, /kg						
MAT, g	165	162	134	150	140	138
€/tonne ⁴	218	218	209	211	211	202

1. Bicarbonate de sodium dans l'exemple.

2. Les autres contraintes de formulation de l'aliment sont identiques (énergie nette, acides aminés essentiels, phosphore, calcium...).

3. Les autres matières premières (céréales, minéraux, complexe vitamines et oligo-éléments) ne sont pas présentées.

4. Contexte de prix des matières premières : juin 2018 (Note de conjoncture IFIP).

L'exemple illustré dans le Tableau 3 indique que la teneur en MAT diminue seulement de 3 g/kg dans l'aliment porc croissance et de 6 g/kg dans l'aliment

porc finition si la contrainte minimale de BE (175 mEq/kg) doit être respectée seulement avec les matières premières habituellement utilisées pour formuler. En revanche, quand le BE peut être ajusté par incorporation de NaHCO₃ alors la baisse de MAT peut être 3 à 4 fois plus importante (respectivement, 14 et 20 g/kg à ces deux stades).

Chez le poulet de chair, les performances obtenues pour un même BE dépendent du type de sels incorporés dans l'aliment. Ainsi chez le poulet de 42 jours, une supplémentation sous forme de sels de potassium (K₂CO₃ et K₂SO₄) pour un BE de 250 mEq/kg conduit à des performances de croissance inférieures à celles obtenues avec différents sels (NaHCO₃, Na₂CO₃, Na₂SO₄ et NH₄Cl) (Ahmad et al., 2005). Le KHCO₃ donne toutefois des réponses intermédiaires. Dans ce même essai, pour les sources de sodium, les meilleures performances sont enregistrées avec le bicarbonate comparé au carbonate ou au sulfate.

CONCLUSION

Le porc et les espèces avicoles sont exposés à un risque d'acidose métabolique, qu'intensifie aujourd'hui la formulation des aliments pour des teneurs abaissées

en protéines. Dans ce contexte, le BE doit être intégré dans les contraintes de formulation, en raison des conséquences qu'entraînent des aliments acidogènes sur les performances de croissance et de nombreux autres critères qui déterminent les résultats technico-économiques de l'élevage (santé, reproduction...). Notons que le niveau de chaque électrolyte doit parallèlement être maîtrisé pour répondre à leur besoin spécifique. Contrairement aux autres nutriments de la formule pour lesquels des plages de valeurs étroites sont utilisées en formulation, les recommandations de valeurs sont moins précises pour le BE. Celui-ci peut varier sur des plages relativement larges, mais qui dépendent néanmoins de l'espèce et du stade de production.

Les objectifs retenus pour le BE s'étendent pour la truie entre 220-320 mEq/kg pendant la gestation et entre 170 et 270 mEq/kg pendant la lactation, pour le porc entre 100 et 275 mEq/kg pendant le post-sevrage et entre 175 et 300 mEq/kg pendant l'engraissement, pour le poulet de chair entre 200 et 300 mEq/kg, et enfin pour la poule pondeuse entre 260 et 360 mEq/kg. Chez le poulet, bien que la plage de BE optimal soit identique entre les phases de croissance et de finition, l'amplitude de réponse en termes de GMQ est plus marquée chez les animaux plus âgés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ahmad T., Sarwar M., Nisa M.U., Haq A.U., Hasan Z.U., 2005. Anim. Feed Sci. Technol., 120, 277-298.
- Ahmad T., Mushtaq T., Mahr-Un-Nisa, Sarwar M., Hooge D.M., Mirza M.A., 2006. Br. Poult. Sci., 47(3), 249-256.
- Ahmad T., Khalid T., Mushtaq T., Mirza M.A., Nadeem A., Babar M.E., Ahmad G., 2008. Poult. Sci., 87, 1276-1280.
- Ahmad T., Mushtaq T., Khan M.A., Babar M.E., Yousaf M., Hasan Z.U., Kamran Z., 2009. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 93, 613-621.
- Ange K.D., Eisemann J.H., Argenzio R.A., Almond G.W., Blikslager A.T., 2000. J. Anim. Sci., 78, 2344-2352.
- Apper-Bossard E., Peyraud J.-L., Dourmad J.-Y., 2003. INRA Prod. Anim., 22 (2), 117-130.
- Austic R.E., 1984. Poult. Sci., 63, 1773-1777.
- Austic R.E., Boyd R.D., Klasing K.C., Riley W.W., 1983. J. Anim. Sci., 57(suppl. 1), 236.
- Ayliffe T.R., Noaked D.E., Silva J.R., 1983. Theriogenol., 21, 803-822.
- Belay T., Teeter R.G., 1993. Poult. Sci., 72, 116-124.
- Belloir P., Méda B., Lambert W., Corrent E., Juin H., Lessire M., Tesseraud S., 2017. Animal, 11(11), 1881-1889.
- Borges, S.A., Fischer da Silva A.V., Arika J., Hooge D.M., Cummings K.R., 2003. Poult. Sci., 82, 428-435.
- Borges S.A., Fischer da Silva A.V., Moura A.S.A.M.T., Maiorka A., Ostrensky A., 2004. Int. J. Poult. Sci., 3(10), 623-628.
- Borges S.A., Fischer Da Silva A.V., Maiorka A., 2007. World's Poult. Sci. J., 63, 73-81.
- Boudon A., Quesnel H., Dourmad J.-Y., Duhamel J., Quémeneur B., Planchenault D., Nancy A., 2016. Journées Rech. Porcine, 48, 115-120
- Bruggère H., 2009. Session AFTAA-AFZ, Équilibre électrolytique en alimentation animale, Paris, 01/10/2009.
- Chen J., Balnave D., 2001. Poultry Sci., 80, 91-94.
- Budde R.A., Crenshaw T.D., 2003. J. Anim. Sci., 81, 197-208.
- Cheng S.Y., Wang L., Chen X.L., Shi B.M., Shan A.S., 2015. Anim. Feed Sci. Tech., 200, 93-101.
- Cole J.T., Argenzio R.A., Eisemann J.H., 2004. J. anim. Sci., 82, 2757-2763.
- Darriet C., Axe D.E., Crenshaw T.D., 2017. J. Anim. Sci., 95, 212-225.
- Dersjant-Li Y., Verstegen M.W.A., Schulze H., Zandstra T., Boer H., Schrama J.W., Verreth J.A., 2001. J. Anim. Sci., 79, 1840-1848.

- DeRouchey J.M., Hancock J.D., Hines R.H., Cummings K.R., Lee D.J., Malonay C.A., Dean D.W., Park J.S., Cao H, 2003. *J. Anim. Sci.*, 81, 3067-3074.
- Dourmad J.-Y., Henry Y., Bourdon D., Quiniou N., Guillou D., 1993. Proc. 1st Intern. Conf. Nitrogen flow in pig production and environmental consequences, Ed. Verstegen W.A., den Hartog L.A., van Kempen G.J.M., Metz J.H.M., Pudoc, Wageningen, The Netherlands, 206-211.
- Dourmad J.-Y., Meschy F., 1998. Le bicarbonate de sodium en nutrition porcine. Conférence GTV, SPACE, Rennes.
- Dourmad J.-Y., Lebret B., 2000. *Journées Rech. Porcine*, 32, 163-168.
- Dove C.R., Haydon K.D., 1994. *J. Anim. Sci.*, 72, 1101-1106.
- Edwards H.M., 1984. *J. Nutr.*, 114, 1001-1013.
- Edwards L.N., Engle T.E., Paradis M.A., Correa J.A., Anderson D.B., 2010. *J. Anim. Sci.*, 88, 4068-4077.
- Ernst C.W., Rotschild M.F., Christian L.L., Ewan R.C., 1990. *J. Anim. Sci.*, 68, 2583-2590.
- Gezen S.S., Eren M., Deniz G., 2005. *Revue Méd.Vét.*, 156(10), 491-497.
- Ghasemi R., Torki M., Ghasemi H.A., 2014. *Trop. Anim. Health Prod.*, 46, 717-723.
- Golz D.I., Crenshaw T.D., 1990. *J. Anim. Sci.*, 68, 2736-3747.
- GTTT-IFIP, 2016. Porcs par les chiffres, Ed. IFIP, Paris, 44 pp.
- Haydon K.D., West J.W., 1990. *J. Anim. Sci.*, 68, 3687-3693.
- INRA-AFZ, 2004. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage : porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons (D. Sauvart, J.M. Pérez, G. Tran, edit.), INRA Editions, Versailles, 304 pp.
- Johnson R.J., Karunajeewa H., 1985. *J. Nutr.*, 115, 1680-1690.
- Jones A, Woodworth J.C., Dritz S.S., Tokack M.D., 2016. *Kansas Agric. Exp. Station Res. Rep.*, 2(8), 28, 11 pp.
- Junqueira O.M., Costa P.T., Miles R.D., Harms R.H., 1984. *Poult. Sci.*, 63, 123-130.
- Lessire, M., Méda, B., Dusart, L., Hallouis, J.-M., Bordeau, T., Souchet, C., Mercierand, F., Hatte, C., Bouvarel, I., Berri, C., 2015. *Journées Rech. Avic.-Palm. Foie Gras*, 11, 893-898.
- Lizardo R., 2009. Résultats d'essai en Espagne sur le BE en élevage porcin. Journée Technique Solvay, Rennes.
- Mack S., Bercovivi D., De Groote G., Leclercq B., Lippens M., Pack M., Schutte J.B., Van Cauwenberghe S. 1999. *Br. Poult. Sci.*, 40, 257-265.
- Martineau G.-P., Morvan H., 2010. *Maladies d'élevage des porcs*, 2ème édition. France Agricole, 601 pp.
- Maupertuis F., 2011. *Rapport, Chambre d'Agriculture des Pays de la Loire*, 4 pp.
- Méda B., Dusart L., Lessire M., Hallouis J.-M., Bordeau T., Souchet C., Mercierand F., Hatte C., Bouvarel I., Berri C., 2015. *Journées Rech. Avic.-Palm. Foie Gras*, 11, 1082-1087.
- Méda B., Tesseraud S., Lambert W., Tormo E., Juin H., Lessire M., 2019. *Journées Rech. Avic.-Palm. Foie Gras*, 13, sous presse.
- Mongin P., Lacassagne L., 1966. *Annl. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 6, 93-100.
- Mongin, P., 1981. *Proc. Nutr. Soc.*, 40, 285-294.
- Murakami A.E., Saleh E.A., Watkins S.E., Waldroup P.W., 2000. *J. Appl. Poultry Res.*, 9, 53-61.
- Murakami A.E., Oviedo-Rondon E.O., Martins E.N., Pereira M.S., Scapinello C., 2001. *Poult. Sci.*, 80, 289-294.
- Murakami A.E., Franco J.R.G., Martins E.N., Oviedo-Rondon E.O., Sakamoto M.I., Pereira M.S., 2003. *J. Appl. Poult. Res.*, 12, 207-216.
- Mushtaq M.M.H., Pasha T.N., 2013. *World's Poult. Sci. J.*, 69, 833-851.
- Mushtaq M.M.H., Pasha T.N., Akram M., Mushtaq T., Parvin R., Choi H.C., Hwangbo J., Kim J.H., 2013. *Asian Australas. J. Anim. Sci.*, 26(6), 845-855.
- Nobakht A., Shivazad M., Chamany M., Safameher A.R., 2006. *Int. J. Poult. Sci.*, 5(10), 955-958.
- Nobakht A., Shivazad M., Chamany M., Safameher A.R., 2007. *Pakistan J. Nutr.*, 6(6), 543-546.
- Patience J.F., Austic R.E., Boyd R.D., 1987. *J. Anim. Sci.*, 64, 457-466.
- Patience J.F., 1990. *J. Anim. Sci.*, 68, 398-408.
- Patience J.F., Chaplin R.K., 1997. *J. Anim. Sci.*, 75, 2445-2452.
- Quiniou N., Noblet J., 1999. *J. Anim. Sci.*, 77, 2124-2134.
- Quiniou N., 2004. *Journées Rech. Porcine*, 36, 235-242.
- Quiniou N., Primot Y., Peyronnet C., Quinsac A., 2011. *Journées Rech. Porcine*, 43, 135-136.
- Ravindran V., Cowieson A.J., Selle P.H., 2008. *Poult. Sci.*, 87, 677-688.
- Renaudeau D., Quiniou N., Noblet J., 2001. *J. Anim. Sci.*, 79, 1240-1249.
- Ritter M., Ellis M., 2007. Proc. Animal Care and Handling Conference, Overland Park, Kansas, USA.
- Rondon E.O., Murakami A.E., Furlan A.C., Moreira I., Macari M., 2001. *Poult. Sci.*, 80, 592-598.
- Sauveur B., Mongin P., 1978. *Br. Poult. Sci.*, 19, 475-485.
- Schafey T.M., Aljumaah R.S., Abdelhalim M.A.K., Mady M.M., Ghannam M.M., 2011. *J. Anim. Vet. Adv.*, 10(22), 2902-2908.
- Shahbaz T.H., Zafar Alam M., Nadeem A., Ashfaq M., 2004. *Pak.J. Life Sci.*, 2(1), 82-84.
- Squires E.J., Julian R.J., 2001. *Br. Poult. Sci.*, 42, 207-212.

- Szabo J., Vucskits A.V., Andrasofszky E., Berta E., Bersenyi A., Borzsonyi L., Palfi V., Hullar I., 2011. *Acta Vet. Hung.*, 59(3), 295-310.
- Utley R.D., Haydon K.D., West J.W., 1987. *J. Anim. Sci.*, 65(suppl. 1), 303.
- Vieites F.M., de Moraes G.H.K., Teixeira Albino L.F., Santiago Rostagno H., Atencio A., de Vargas junior J.G., 2005. *R. Bras.Zootec.*, 34(6), 1990-1999.
- Wideman, Jr. R.F., Hooge D.M., Cummings K.R., 2003. *Poult. Sci.*, 82, 560-570.
- Wondra K.J., Hancock J.D., Behnke K.C., Hines R.H., 1995. *J. Anim. Sci.*, 73, 414-420.
- Yoselewitz I., Balnave D., 1989. *Austr. J. Agr. Res.*, 40, 1111-1115.

SESSION NUTRITION

Communications orales

TOUTES LES FORMES DE METHIONINE L-, DL- OU OH-METHIONINE SONT EQUIVALENTES POUR LA CROISSANCE DU POULET DE CHAIR

Batonon-Alavo Dolores I., Jeremy Jachacz, Mercier Yves
ADISSEO France S.A.S., CERN, 6 Route noire, F-03600 Malicorne

dolores.batonon-alavo@adisseo.com

RÉSUMÉ

La méthionine est le premier acide aminé limitant chez la volaille et son utilisation en poulet de chair reste incontournable. La méthionine est également remarquable par la diversité de formes disponibles commercialement : L-Méthionine, DL-Méthionine et DL-Hydroxy-Méthionine. De ce fait, un débat de plusieurs décennies existe toujours sur la bio-efficacité des différentes formes. Ce nouveau travail vise à comparer 2 à 2 ou ensemble ces sources au travers de 3 études pour déterminer leur efficacité relative sur les performances de croissance de poulet Ross PM3 mâles entre 0 et 36 jours (Expériences 1 et 2) ou 0 et 42 jours (Expérience 3). Les données zootechniques obtenues ont été analysées par une ANCOVA à 2 facteurs principaux (Doses et Sources) permettant de montrer des améliorations significatives ($p < 0.05$) de la dose sans écart entre les sources ni d'interactions, dans les trois études. Les modèles exponentiels appliqués sur le gain de poids en fonction de l'ingéré en acides aminés soufrés indiquent que la DL-Méthionine est équivalente à 100% à la L-Méthionine entre 0 et 36 jours ; l'hydroxy-Méthionine est équivalente à 100% à la L-Méthionine entre 0 et 36 jours et les trois sources de Méthionine démontrent une efficacité de 100% quand comparées 2 à 2, entre 0 et 42 jours. L'originalité de cette analyse est basée sur un modèle prenant en compte la performance en fonction de l'ingéré réel en soufrés. Ceci montre que l'efficacité relative des trois sources commerciales de méthionine est identique.

ABSTRACT

All forms of methionine, L-, DL- or OH-Methionine are equivalent for broiler chicken growth

Methionine is the first limiting amino acid in poultry and must be used in broiler to ensure optimal performance. Methionine is available under different forms: DL-Methionine, L-Methionine and DL-Hydroxy-Methionine. For decades, there is debate regarding the efficacy of the different forms. This new work aims to compare these sources on a 2-by-2 basis or together in three trials and to determine their bio-efficacy. Ross PM3 broilers chickens were reared from 0 to 36 days (Trial 1 and 2) or from 0 to 42 days (Trial 3). Growth performance data were analyzed with an ANCOVA model with the dose and the source of methionine as main variables. Results showed a significant improvement of performance ($p < 0.05$) with the increasing dose of Met and no significant difference between sources of methionine. Exponential models were applied on the overall weight gain to determine the relative efficacy of Met sources. DL-Methionine was found to be 100% equivalent to L-Methionine from 0 to 36 days; hydroxy-Methionine was found to be 100% equivalent to L-Methionine from 0 to 36 days. The three sources demonstrated 100% relative efficacy when compared 2-by-2 from 0 to 42 days. The originality of this analysis was based on a model taking into account the performance according to the real sulfur amino acid intake. This shows that the relative efficacy of the three commercial sources of methionine is identical.

INTRODUCTION

La méthionine (Met) est le premier acide aminé limitant chez la volaille et son incorporation dans les aliments volaille est systématique. La Met est également le seul acide aminé obtenu par synthèse chimique sous forme d'un mélange chiral D et L alors que les autres acides aminés sont obtenus par fermentation car seules les formes L, dites naturelles, sont utilisables pour la synthèse protéique et la formation de liaison peptidique. L'autre exception est que la méthionine est le seul acide aminé proposé sous la forme DL-hydroxy-méthionine (OH-Met), qui est absorbée puis convertie en L-Met à 100%. Les essais réalisés avec les formes OH des autres acides aminés n'ont jamais pu démontrer une équivalence aux formes L natives (Baker, 1986). Depuis quelques années, la L-Met est disponible commercialement. Face à cette diversité de formes, différentes études tentent d'établir un classement et de donner la bio-efficacité relative de l'une par rapport à l'autre. Ces études reposent essentiellement sur des études de dose-réponse à partir d'un aliment basal déficient en acides aminés soufrés (AAS) et l'application d'un modèle exponentiel à plateaux communs comparant les paramètres de performance (gain de poids, indice de consommation, etc..) en fonction des doses ajoutées en Met sans tenir compte de l'ingéré et/ou des variations de composés actifs après analyse de l'aliment (Lemme et al. 2002, Sauer et al. 2008). Toutefois, d'autres approches (Agostini et al. 2016) proposant une efficacité de Met exprimée en gramme de Met additionnelle par gramme de gain de poids supplémentaire ou une modélisation exponentielle des gains par rapport à l'ingéré en AAS, semble indiquer que le modèle et/ou le mode d'expression, compte pour beaucoup dans le résultat final. Ainsi, ce travail propose de comparer l'efficacité relative des trois sources de Met, deux à deux ou ensemble au travers de trois études.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Schéma expérimentaux

Les trois essais ont été réalisés à la station expérimentale ADISSEO CERN selon les schémas expérimentaux résumés dans le tableau. Des poussins de souche Ross PM3 ont été utilisés. Les expériences 1 et 2 ont été réalisées sur 3 périodes avec 7 traitements (1 régime basal et trois doses de méthionine supplémentées sur une base iso-moléculaire avec de la L-Met ou de la DL-Met (Exp. 1) et de la L-Met ou de l'OH-Met (Exp. 2). Le troisième essai a été réalisé sur une durée de 42 jours répartie sur trois périodes avec 13 traitements (1 régime basal et 4 doses de Met ajoutée sur une base iso-moléculaire pour chacune des trois sources.) L'aliment utilisé dans les trois

expériences était un aliment à base maïs-soja formulé sur les recommandations d'Adisseo, 2013 (Exp. 1 & 2) ou d'Aviagen, 2014 (Exp. 3) pour les acides aminés à l'exception des AAS. Pour les trois expériences, la température a été modulée entre 32°C et 22°C depuis le début jusqu'à la fin de l'expérience (conditions standard d'élevage). L'humidité relative était de 55 % ± 15% durant toute la durée des essais. La durée d'éclairage a été de 23 h pendant les neuf premiers jours, de 20 h de 9 à 12 j et de 18 h jusqu'à la fin de l'expérience. Les mesures de performances zootechniques : poids vif, gain de poids, consommation ont été réalisées pour chacune des périodes permettant un calcul des indices de consommation et l'efficacité de Met selon la méthode proposée par Agostini et al. (2016).

1.2. Analyses statistiques

Le parquet était considéré comme unité expérimentale. Les données de performance zootechnique ont été analysées à l'aide du logiciel XLSTAT (version 2015.3.01.19199). Elles ont été analysées à l'aide d'un modèle ANCOVA avec la source et la dose de Met comme variables principales. Pour déterminer la bio-efficacité relative des sources de Met, des modèles exponentiels à plateaux séparés ont été appliqués aux gains de poids exprimés en fonction des valeurs ingérées en Met+Cys analysées. Ces modèles ont été appliqués en utilisant la fonction NLMIXED dans SAS v. 9.4. La bio-efficacité relative a été déterminée par le ratio des coefficients de courbure de chaque courbe exponentielle.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Pour chaque expérience, des différences significatives ont été observées entre le régime basal et tous les régimes supplémentés, pour la consommation d'aliment, le gain de poids et l'indice de consommation. La dose de Met n'a pas eu d'effet significatif sur la consommation alimentaire des régimes supplémentés. Le gain de poids corporel et l'indice de consommation ont été améliorés à mesure que le niveau de Met augmentait, conformément aux résultats de plusieurs auteurs (Agostini et al. 2016 ; Zhao et al., 2018). Le poids corporel, le gain de poids, l'indice de consommation et l'efficacité de la Met n'étaient pas significativement différents entre les sources quelle que soit la dose considérée. Aucune interaction n'a été observée entre la dose de Met et la source pour toutes les périodes et tous les paramètres. Ces résultats sont conformes à des données précédentes qui n'ont démontré aucune différence significative entre les sources de Met pour maintenir la performance de croissance (Dilger et Baker, 2007).

En outre, les modèles exponentiels appliqués aux gains de poids de ces trois expériences ont confirmé l'équivalence d'efficacité entre les sources de Met testées (Figure). L'efficacité de la DL-Met relative à la L-Met chez le poulet est de 99% avec un intervalle de confiance de [96% ; 103%] dans l'étude 1 et de 100% [92% ; 107%] dans l'étude 3; celle de l'OH-Met relative à la L-Met est de 100% avec un intervalle de confiance de [98% ; 103%] dans l'étude 2 et de 102% [92% ; 110%] dans l'étude 3. Au-delà du fait que ces résultats montrent une efficacité relative identique entre sources, ils mettent également l'accent sur la méthode d'analyse des résultats. D'autres auteurs ont mis en évidence des rapports d'efficacité relative différents entre sources en appliquant le même type de modèle exponentiel mais en utilisant les doses ajoutées plutôt que l'ingéré réel en Met ou en AAS (Lemme et al., 2002 ; Sauer et al., 2008). Pour autant, cette comparaison d'efficacité relative de sources d'acides aminés prenant en compte l'ingéré réel a déjà été publiée lors de la comparaison de sources de lysine (Lysine sulfate et Lysine HCl) par Smiricky-Tjardes et al. (2004) ou par Agostini et al. (2016) pour la comparaison entre DL-Met et OH-Met. La pertinence de cette approche est qu'elle permet une comparaison sur la base de l'actif ingéré réellement et de sa réponse biologique, la performance. A titre d'illustration sur les différents graphes de la figure, la réponse du gain de poids en fonction de l'ingéré AAS est représentée, prenant en compte les apports provenant à la fois des matières premières et des suppléments réalisés avec les différentes sources. Ainsi, les régimes témoins déficients, qui ne contiennent que les apports des matières premières, montrent une variation de gain de poids allant de 100 g à plus de 500 g respectivement sur l'étude 1 et 3. Dans les conditions de carence en AAS, les variations

d'ingéré, donc d'AAS entraînent des variations de gain qui sont indépendantes de la source considérée. Ces variations apparaissent également tout le long de la courbe pour les différentes doses expliquant ainsi une part importante des variations numériques de gain. Par comparaison avec l'étude de Lemme et al., (2002), l'ANCOVA montre l'absence de différences significatives aux différentes doses testées sur le gain de poids ou l'indice de consommation entre DL-Met et OH-Met. Pour autant, les modélisations appliquées en fonction des doses théoriques d'actifs entraînent des conclusions différentes. Par ailleurs, la modélisation du gain de poids en fonction de l'ingéré réel établit une représentation synthétique, assimilable à un indice de consommation en AAS, et permet d'établir une seule valeur d'équivalence. L'approche de modélisation sur la base des doses entraîne fréquemment des valeurs d'équivalence relative entre sources différentes selon le critère considéré comme le gain de poids ou l'indice de consommation (Lemme et al., 2002) qui restent difficiles à expliquer d'un point de vue biologique.

CONCLUSION

Ce travail présente les résultats de trois études comparant trois sources de Met chez le poulet de chair. Dans nos conditions expérimentales, l'apport de Met, quelle que soit la forme utilisée, permet d'augmenter les performances de croissance du poulet par rapport à un aliment déficient en AAS. Les résultats obtenus démontrent que toutes les sources de sont équivalentes à 100% chez le poulet de chair. Ce travail montre l'importance du modèle utilisé dans l'exploitation des résultats pour le calcul de l'équivalence des sources de méthionine.

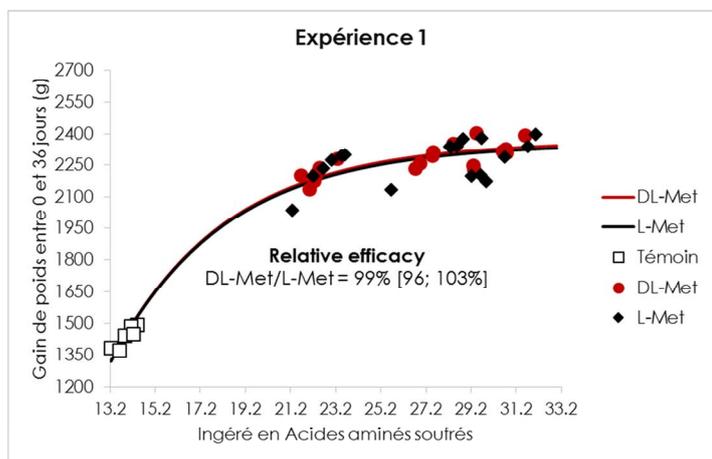
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adisseo, 2013. Adisseo Rhodimet Nutrition Guide © Version 2013.
 Agostini et al., 2016. *Poult. Sci.*, 95(3), 560-569.
 Aviagen, 2014. http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross-308-Broiler-Nutrition-Specs-2014r17-EN.pdf
 Baker, 1986. *Prog. Food Nutr. Sci.*, 10, 133-178.
 Dilger et Baker, 2007. *Poult. Sci.*, 86, 2367-2374.
 Zhao et al., 2018. *Poult. Sci.*, 97(9), 3166-3175.
 Smiricky-Tjardes et al. 2004. *Poult. Sci.* 82, 2610-2614
 Lemme et al. 2002. *Poult. Sci.* 81:838-845
 Sauer et al 2008. *Poult. Sci.* 87:2023-2031

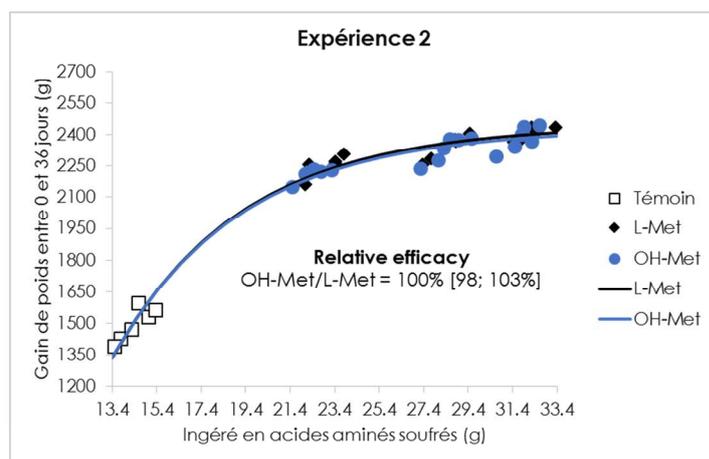
Tableau : Résumé des schémas expérimentaux pour les trois études comparant les sources de méthionine chez le poulet de chair.

Périodes d'élevage (jours)	Expériences 1 & 2		Expérience 3		
	Démarrage	0-10		0-14	
Croissance	11-24		15-28		
Finition	25-36		29-42		
dMet+Cys (%) dans l'aliment basal	Démarrage	0,66		0,63	
	Croissance	0,60		0,57	
	Finition	0,50		0,53	
Doses ajoutées en méthionine équivalent (%)	Démarrage	0,16/ 0,36/ 0,46		0,08/ 0,20/ 0,39/ 0,49	
	Croissance	0,15/ 0,33/ 0,42		0,07/ 0,17/ 0,35/ 0,44	
	Finition	0,07/ 0,22/ 0,29		0,09/ 0,14/ 0,32/ 0,40	
Nombre d'animaux (Ross PM3)		630		1365	
Nombre de traitements		7 de 6 répétitions chacun		13 de 7 répétitions chacun	

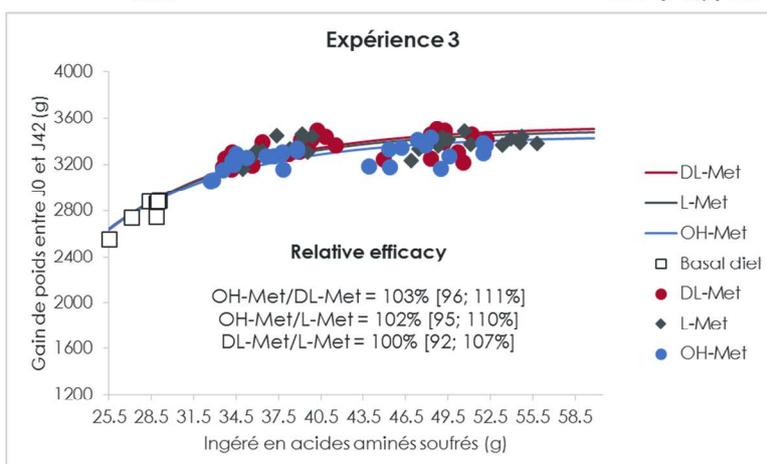
Figure. Efficacité relative des sources de méthionine déterminée par un modèle exponentiel appliqué aux données de croissance du poulet de chair (Expériences 1, 2 & 3)



$$GP = -11309 + 13663 * (1 - \exp(-0.1951 * AAS \text{ ingéré}_{L-Met})) + 13676 * (1 - \exp(-0.1942 * AAS \text{ ingéré}_{DL-Met}))$$



$$GP = -8205.7 + 10654 * (1 - \exp(-0.1686 * AAS \text{ ingéré}_{L-Met})) + 10637 * (1 - \exp(-0.1698 * AAS \text{ ingéré}_{OH-Met}))$$



$$GP = -9540 + 13038 * (1 - \exp(-0.1068 * AAS \text{ ingéré}_{L-Met})) + 13068 * (1 - \exp(-0.1052 * AAS \text{ ingéré}_{DL-Met})) + 12984 * (1 - \exp(-0.1090 * AAS \text{ ingéré}_{OH-Met}))$$

EVALUATION DU MODE D'ACTION ET DE L'EFFICACITE DE DIFFERENTS COMPOSANTS ALIMENTAIRES PAR SEQUENÇAGE A HAUT DEBIT DU TRANSCRIPTOME DE POULET

**Bertrand Grenier¹, Candida Vaz², Silvia Fibi-Smetana¹, Suzana Ilic¹, Vivek Tanavde²
and Gerd Schatzmayr¹**

¹*BIOMIN Research Center, BIOMIN Holding GmbH, Tulln, Austria*

²*Bioinformatics Institute, Agency for Science, Technology & Research (A*STAR), Singapore*

bertrand.grenier@biomin.net

RÉSUMÉ

Aujourd'hui, la tendance mondiale est à la réduction de l'usage des antibiotiques comme facteurs de croissance (AFC) en production animale. Il est donc important d'identifier des alternatives nutritionnelles efficaces, imitant le mode d'action des AFC afin de pouvoir les substituer. Des études récentes ont démontré que l'amélioration des performances des animaux nourris avec des AFC est notamment due à une inhibition des processus inflammatoires dans le tractus intestinal. La présente étude visait à étudier l'effet d'un AFC ou d'un phytogénique (additif alimentaire d'origine végétale) sur le transcriptome intestinal du poulet, en condition contrôle ou suite à l'induction d'une inflammation. Le transcriptome complet (soit ≈ 25000 gènes) a été étudié par RNA-Seq (séquençage d'ARN), et les données brutes traitées avec un pipeline bioinformatique adapté à la dernière version du génome du poulet (Galgal5). Dans une première expérience, nous avons pu confirmer que des poulets de chair nourris en continu pendant 35 jours avec un supplément en avilamycine (AFC) présentaient un profil transcriptomique différent de celui des animaux non supplémentés, en particulier avec un effet dans l'intestin sur des voies immunologiques spécifiques telles que les signalisations cellulaires IL-22 et STAT3. Une seconde expérience a montré un mode d'action en commun entre le phytogénique et l'avilamycine. Dans cette même expérience, un modèle mimant une infection par différentes espèces d'*Eimeria*, responsable de la coccidiose aviaire, a permis de montrer que le phytogénique avait réduit l'effet inflammatoire mesuré sur le transcriptome dans le caecum (retour à la normale de l'expression de 259 gènes sur les 548 gènes initialement affectés par le modèle).

ABSTRACT

High throughput sequencing of the chicken transcriptome for evaluating mode of action and efficacy of feed compounds

Now that the use of antibiotic growth promoters (AGPs) is discouraged in animal production, and worldwide, it is important to identify dietary compounds that are as effective as AGPs. Ideally, these alternatives should mimic the mode of action of AGPs. Recent studies have for instance demonstrated that the better performance of animals fed AGPs is also driven by reduction of the innate inflammatory response in the intestinal tract. The present study aimed at investigating the effect of an AGP or a phytogenic (feed additive of plant origin) on the intestinal transcriptome of broiler chickens, either in control conditions or following inflammation. The full transcriptome ($\approx 25,000$ genes) was covered with the RNA-Seq (RNA sequencing), and the raw data processed with our own bioinformatics pipeline and adapted to the latest version of the chicken genome (Galgal5). In a first experiment, we were able to confirm that broiler chickens fed continuously avilamycin (AGP) for 35 days had a very different transcriptomic profile from animals not supplemented, in particular with an effect in the intestine on specific immunological pathways such as IL-22 and STAT3 signalling. A second experiment with RNA-Seq in broiler chickens showed a common mode of action between the phytogenic and avilamycin. In the same experiment, a model mimicking infection by different species of *Eimeria*, responsible for avian coccidiosis, showed that the inflammation in the cecum of birds fed phytogenic was reduced (259 genes back to normal out of 548 genes seen initially affected in the challenged birds on basal feed).

INTRODUCTION

Il est bien connu que les conditions et performances en production animale se sont grandement améliorées grâce à l'administration des antibiotiques comme facteurs de croissance (AFC) dans l'alimentation animale. Malheureusement, l'émergence de bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques chez l'homme et les animaux a conduit plusieurs pays à interdire leur utilisation dans la production animale (depuis 2006 dans l'UE). En outre, pour les pays qui ne l'interdisent pas encore, l'utilisation des AFC pourrait diminuer en réponse à l'attente des consommateurs. Plusieurs grandes entreprises ont déjà rendu obligatoire le retrait des AFC de la production des poulets de chair. Les solutions proposées pour produire à grande échelle et sans antibiotiques portent sur les conditions d'élevage (densité, durée des vides sanitaires, gestion des reproducteurs, assainissement et nettoyage des œufs), la vaccination et/ou l'utilisation d'alternatives aux antibiotiques dans l'alimentation (par exemple, acides organiques, enzymes, probiotiques, phytogéniques, peptides antimicrobiens). Les solutions de remplacement des AFC pour animaux ont suscité beaucoup d'intérêt au cours des dernières années. Cependant, notre manque de connaissance des mécanismes d'action des AFC a entravé le développement d'alternatives efficaces.

Comme l'ont passé en revue Brown *et al.*, (2017), les données actuelles sur le mode d'action des AFC divergent en deux hypothèses principales : (i) centrée sur les bactéries ; et (ii) centrée sur l'hôte. La plupart des recherches ont été faites d'après l'hypothèse centrée sur les bactéries, montrant que les AFC éliminent ou inhibent directement la croissance des bactéries, ce qui mène à terme à des changements dans les communautés bactériennes. Ces changements dans le microbiome pourraient prévenir la colonisation par des pathogènes et/ou conduire à un système plus efficace favorisant l'hôte par rapport à son microbiote dans la compétition pour les nutriments (Dibner et Richards, 2005).

Cependant, étant donné l'extrême complexité des interactions entre les bactéries intestinales, le régime alimentaire et l'hôte, il est probable que les AFC fonctionnent également en affectant directement ou indirectement la physiologie intestinale de l'hôte. Les arguments en faveur d'un effet des AFC indépendant de leur effet antibactérien ont été présentés dans une revue par Niewold en 2007. En effet : (i) la quantité d'AFC utilisée pour stimuler la croissance des animaux est normalement inférieure à la concentration minimale requise pour inhiber les agents pathogènes entériques ; (ii) les AFC favorisent également la croissance malgré leurs effets variables sur le microbiote ; et (iii) les alternatives aux AFC, bien que connues pour affecter le microbiote, ont des effets moins répétables que ceux des AFC. Toutefois, il y a peu de recherches sur leurs effets physiologiques sur

l'organisme hôte. Afin d'apporter des données supplémentaires sur ce sujet, nous présentons ici deux études par RNA-Seq pour étudier l'effet des AFC sur le transcriptome de l'hôte, ainsi que pour évaluer l'efficacité d'alternatives aux AFC.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Expériences animales et échantillons

La première expérience était dédiée à l'étude d'un AFC, l'avilamycine chez les poulets de chair. Cette expérience était composée de deux groupes, i) le groupe avec l'aliment contrôle et ii) le groupe avec l'aliment supplémenté en avilamycine (10 g/tonne d'aliment; Elanco), avec 8 enclos par groupe et 15 oiseaux par enclos (120 oiseaux au total par groupe). Les poulets ont reçu les aliments expérimentaux pendant 35 jours et, à la fin de l'expérience, l'iléon (partie inférieure de l'intestin grêle) a été prélevé sur 16 oiseaux (2 oiseaux par enclos) par groupe, placé dans le RNAlater et conservé à -80 °C jusqu'aux analyses.

La deuxième expérience concernait l'effet d'un phytogénique (additif alimentaire consistant en un mélange d'huiles essentielles, d'extraits, d'herbes et d'épices encapsulés, caractérisé par l'huile d'origan, l'huile de menthe, l'extrait de raisin et la poudre de cannelle) sur les poulets de chair dans des conditions normales, ou soumis à une épreuve par un surdosage en vaccin anticoccidien (Grenier *et al.*, 2016). Cette expérience était composée de trois groupes : i) le groupe avec l'aliment contrôle, ii) le groupe avec l'aliment supplémenté en phytogénique (Digestaron® DC, 150 g/tonne d'aliment, BIOMIN Phytogenics, Allemagne), et iii) groupe coccidiostat (Maxiban® G160, 562 g/tonne d'aliment ; Elanco) avec de nouveau 8 enclos par groupe et 15 oiseaux par enclos (120 oiseaux par groupe au total). Les oiseaux ont reçu les régimes expérimentaux pendant 41 jours. Au 35e jour, un premier prélèvement a eu lieu avec prélèvement de l'iléon chez 8 oiseaux (1 oiseau par enclos) par groupe, placés dans le RNAlater et conservés à -80°C jusqu'aux analyses. Au 35e jour, la moitié des oiseaux ont également été éprouvés avec une surdose (25 fois la dose recommandée) de vaccin contre la coccidiose aviaire Paracox-5 (mélange de souches vivantes atténuées d'*Eimeria acervulina*, *E. maxima*, *E. mitis* et *E. tenella*) afin de provoquer une inflammation intestinale modérée. Six jours plus tard, au jour 41, le caecum des oiseaux non challengés et challengés a été collecté (1 oiseau par enclos), placé dans le RNAlater et conservé à -80°C jusqu'aux analyses.

1.2. RNA-Seq et analyses bioinformatiques

L'ARN a été extrait de l'iléon et du caecum des oiseaux dans les deux expériences avec le kit RNeasy

mini (Qiagen, Allemagne), et tous les ARNs étaient de très bonne qualité avec des valeurs RIN (RNA Integrity Number) > 9. Pour chacune des expériences, des échantillons d'ARN de 5 oiseaux par groupe (sauf expérience 2 pour l'iléon avec 4 oiseaux par groupe) ont été envoyés à une plateforme de séquençage (Agency for Science, Technology & Research, Singapore). Le kit TruSeq Stranded Total RNA Illumina incluant le Ribo-Zero Gold pour éliminer l'ARN ribosomique a été utilisé pour la préparation des bibliothèques de séquençage. Les bibliothèques créées ont été séquencées avec l'instrument Illumina HiSeq 4000. La couverture de séquençage (données PE, 28-50 Mio lectures, 150 bp) et le nombre de réplicats utilisés permettent d'avoir assez de puissance statistique pour détecter l'expression différentielle et plus de 95% des gènes annotés (Wang et al, 2011 ; Conesa et al, 2016).

Les données brutes du RNA-Seq ont été traitées par le biais de notre propre pipeline bioinformatique créée à partir d'un consensus de plusieurs outils informatiques (utilisation de Snakemake pour exécuter le workflow comprenant Trimmomatic – STAR aligner – HTseq count – DESeq2) et adaptée au génome du poulet (*Gallus gallus*-5.0). Les données en RNA-Seq étant non-normalement distribuées, le modèle linéaire généralisé (GLM) dans DESeq2 utilisant une distribution binomiale négative a été préférée à l'ANOVA (Huang et al., 2015; Lin et al., 2016). Un gène était différentiellement exprimé (DE) lorsque la p-value du test ajustée FDR est inférieure à 0,05. De plus, un filtre sur le fold change a été appliqué, et les gènes étaient considérés différentiels si leur fold change est >2 ou <-2. Enfin, les gènes DE ont été utilisés dans Reactome pour prédire les voies de signalisations cellulaires auxquelles ils appartiennent (utilisation du Gene Name ID pour les données saisies).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Comme attendu, dans la première expérience animale, les oiseaux nourris à l'avilamycine pendant 35 jours ont montré des performances significativement plus élevées que les oiseaux témoins (moyenne poids contrôle = 1781g ± 107 versus avilamycine = 1898g ± 61, t-test p=0,017). Le RNA-Seq et l'analyse statistique ont révélé que 167 gènes dans l'iléon étaient exprimés différemment entre les oiseaux nourris avec ou sans l'avilamycine, nombre d'entre eux étant associés aux réponses immunitaires inflammatoires et innées, telles que la signalisation IL-6, IL-10, IL-22, NF-κB et la production d'oxyde nitrique et d'oxygène réactif dans les macrophages. Pour la majorité d'entre eux, l'expression est réduite chez les oiseaux nourris à l'avilamycine. La diminution de l'IL-22 observée en RNA-Seq a également été confirmée lors de la validation par RT-qPCR chez les mêmes oiseaux (n=5), et sur un échantillon élargi (n=16) confirmant une diminution

des niveaux d'ARNm de l'IL-22 (réduits de 6,2 fois dans le groupe avilamycine comparé au groupe témoin). L'IL-22 a fait l'objet de nombreuses études depuis sa découverte en 2000 pour son rôle dans la prévention des lésions tissulaires et l'inhibition de l'inflammation (Parks et al., 2015).

Nos résultats fournissent des preuves supplémentaires sur les propriétés anti-inflammatoires des AFC, comme l'avait supposé Niewold en 2007, ce qui permettrait de consacrer plus de ressources aux processus anaboliques associés au développement musculaire (Costa et al., 2011). En raison des nombreux facteurs de l'hôte et du microbiote qui contrôlent l'environnement intestinal, la séparation des mécanismes d'action des AFC liées à l'hôte ou d'origine bactérienne est extrêmement difficile, d'où la nécessité pour les chercheurs d'examiner les effets des AFC d'une manière intégrée prenant en compte l'hôte et son microbiote (e.g. avec une approche métagénomique ou métatranscriptomique des microorganismes présents dans le microbiote intestinal).

Dans la seconde expérience animale, nous avons constaté que 73 gènes étaient exprimés différemment entre les oiseaux nourris avec l'aliment témoin et les oiseaux nourris avec le phytogénique de 1 à 35 jours. Parmi ceux-ci, 40% sont communs avec ceux mis en évidence dans la première expérience avec l'AFC dans le tissu intestinal. Bien que la nature et la composition du phytogénique et de l'avilamycine diffèrent grandement, un pool de gènes en commun pourrait partiellement expliquer certains effets bénéfiques connus chez l'animal.

Afin d'étudier plus en détail les propriétés anti-inflammatoires du phytogénique, nous avons induit une inflammation de l'intestin avec des lésions modérées dans le cæcum des oiseaux 6 jours après l'épreuve (score lésionnel 2/4). Les lésions étaient attribuées à *Eimeria tenella*, connu pour cibler spécifiquement le caecum. La fréquence et la sévérité des lésions étaient moins prononcées chez les oiseaux nourris avec le phytogénique que chez les oiseaux témoins (n=10; moyenne score lésionnel groupe témoin = 1,81 ± 0,87 versus phytogénique = 0,44 ± 0,53, t-test p<0.001). Comme prévu aucune lésion n'a été observée dans le groupe traité par le coccidiostat, considéré comme un témoin positif dans cette expérience.

L'inflammation induite par le surdosage vaccinal a modifié l'expression de 548 gènes dans le caecum des oiseaux challengés et nourris avec l'aliment témoin en comparaison des oiseaux non-challengés avec le même aliment témoin (Table 1 ; Figure 1). La plupart des gènes étaient surexprimés (357/548) suite à l'inflammation (jusqu'à 57 fois plus exprimé). De plus, l'outil de prédiction Reactome a révélé que plusieurs de ces gènes étaient liés à la signalisation des cytokines, en particulier de l'interféron (IFN). Ceci

est en accord avec la littérature montrant que l'IFN est un médiateur clé de la réponse immunitaire à la coccidiose chez la volaille.

En ce qui concerne l'effet du challenge chez les oiseaux nourris avec le phytogénique, il semble qu'ils étaient moins sujets à l'inflammation déclenchée par la coccidiose, avec un retour à la normale de l'expression de 259 gènes sur les 548 gènes initialement affectés chez les oiseaux témoins (Table 1). De plus, sur les gènes encore significativement affectés dans le groupe phytogénique (soit 289), l'effet était moins prononcé que dans le groupe challengé témoin (10 à 50% moins d'effet selon les gènes sur le fold change). Ces résultats ont été validés par RT-qPCR sur une sélection de 16 gènes.

Par contre, 99 % des gènes affectés par la coccidiose n'étaient plus affectés dans le groupe traité par le coccidiostat (Table 1), confirmant que ce produit a été capable de neutraliser et d'éradiquer les parasites

d'*Eimeria* avant qu'ils n'induisent des dommages tissulaires et une inflammation.

CONCLUSION

En conclusion, l'utilisation d'une approche par séquençage d'ARN (RNA-Seq) permet de fournir des informations essentielles sur le transcriptome de l'hôte en réponse à des constituants alimentaires tels que les AFC, et de formuler des hypothèses sur leur mode d'action. Ceci pourrait ouvrir la voie au développement d'alternatives aux AFC et à l'optimisation de l'alimentation animale. Dans cette optique, nous avons appliqué avec succès cette approche au phytogénique. Les résultats suggèrent un mode d'action similaire à celui des AFC, et confirment leurs propriétés anti-inflammatoires *in vivo* dans un modèle d'inflammation intestinale.

Table 1 – Résultat de l'analyse de l'expression des gènes dans le caecum à J41 en comparaison avec les poulets de chair non-challengés et nourris avec l'aliment témoin

Comparaison avec les Contrôles non-challengés	Contrôles challengés	Phytogénique challengés	Coccidiostat challengés
Nombre de gènes totaux différenciellement exprimés ¹	548	557	85
Gènes en commun avec les contrôles challengés	548	289	3

¹ Bioinformatique pipeline : STAR/HTSeq/DESeq2 ; critères considérant un gène différenciellement exprimé : p-value ajustée FDR < 0.05, fold-change <-2 ou >2

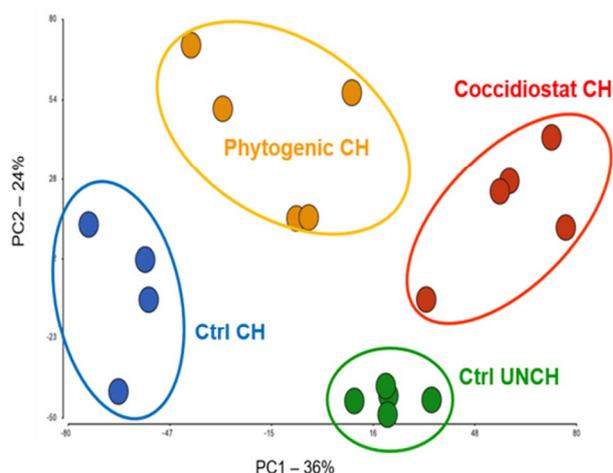


Figure 1 – Analyse en composantes principales (PCA)

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Brown, K., R. R. E. Uwiera, et al. (2017). "Antimicrobial growth promoter use in livestock: a requirement to understand their modes of action to develop effective alternatives." *International Journal of Antimicrobial Agents* 49(1): 12-24.
- Conesa, A., P. Madrigal, et al. (2016). "A survey of best practices for RNA-seq data analysis." *Genome Biology* 17(1): 13.
- Costa, E., R. R. E. Uwiera, et al. (2011). "Non-therapeutic administration of a model antimicrobial growth promoter modulates intestinal immune responses." *Gut Pathogens* 3: 14-14.
- Dibner, J. J. and J. D. Richards (2005). "Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action." *Poultry Science* 84(4): 634-643.
- Grenier, B., I. Dohnal, et al. (2016). "Susceptibility of Broiler Chickens to Coccidiosis When Fed Subclinical Doses of Deoxynivalenol and Fumonisin—Special Emphasis on the Immunological Response and the Mycotoxin Interaction." *Toxins* 8(8): 231
- Huang, H.-C., Y. Niu, et al. (2015). "Differential Expression Analysis for RNA-Seq: An Overview of Statistical Methods and Computational Software: Supplementary Issue: Sequencing Platform Modeling and Analysis." *Cancer Informatics* 14s1: CIN.S21631.
- Lin, Y., K. Golovnina, et al. (2016). "Comparison of normalization and differential expression analyses using RNA-Seq data from 726 individual *Drosophila melanogaster*." *BMC Genomics* 17: 28.
- Niewold, T. A. (2007). "The Nonantibiotic Anti-Inflammatory Effect of Antimicrobial Growth Promoters, the Real Mode of Action? A Hypothesis." *Poultry Science* 86(4): 605-609.
- Parks, O. B., D. A. Pociask, et al. (2015). "Interleukin-22 Signaling in the Regulation of Intestinal Health and Disease." *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 3: 85.
- Wang, Y., N. Ghaffari, et al. (2011). "Evaluation of the coverage and depth of transcriptome by RNA-Seq in chickens." *BMC Bioinformatics* 12(10): S5.
- Warren, W. C., L. W. Hillier, et al. (2017). "A New Chicken Genome Assembly Provides Insight into Avian Genome Structure." *G3: Genes|Genomes|Genetics* 7(1): 109-11

AMELIORATION DE LA TENEUR EN PROTEINES DES TOURTEAUX DE COLZA ET TOURNESOL PAR BLUTAGE

**Quinsac Alain¹, Dauguet Sylvie¹, Peyronnet Corinne², Krouti Mohammed³,
Gendron Audrey³, Carré Patrick⁴, Brionnet François⁵**

¹ TERRES INOVIA - 11 rue Monge - 33600 PESSAC

² TERRES UNIVIA - 11 rue de Monceau - 75008 PARIS

³ TERRES INOVIA - 270 avenue de la Pomme de pin - 45166 ARDON

⁴ OLEAD - 11 rue Monge - 33600 PESSAC

⁵ ENILIA ENSMIC - Avenue François Mitterrand - 17700 SURGERES

a.quinsac@terresinovia.fr

RÉSUMÉ

Les tourteaux de colza déshuilés classiques (36-38 % de protéines/matière sèche (MS)) et de tournesol décortiqués de type HiPro (38-39 % protéines/MS) sont des matières premières locales riches en protéines et en grande disponibilité. Cependant, ils renferment des quantités de fibres encore trop élevées pour être incorporés dans toutes les formules d'aliment pour volailles, et de ce fait, une concentration de leurs nutriments est souhaitable. Dans cet objectif, le blutage, technique utilisée couramment en meunerie, pour séparer les fractions riches en fibres ou en protéines, a été testé dans le cadre du projet *VOCALIM* sur des tourteaux de colza, de tournesol non décortiqués (pailleux) et décortiqués (HiPro). La caractérisation granulométrique sur un planschister à tiroirs a montré que, pour ces trois types de tourteaux, des fractions à teneurs en protéines différenciées selon la granulométrie étaient obtenues. Les teneurs en protéines les plus élevées ont été obtenues aux granulométries 150-200 µm pour le colza (45,1%MS) et pour le tournesol pailleux (44,9 % MS), et 100-150 µm pour le tournesol HiPro (48,1 % MS). Les teneurs les plus faibles sont atteintes aux granulométries 500-1000 µm pour le colza (33,8 % MS), > 1000 µm pour le tournesol pailleux (31,1 % MS) et 500-1000 µm pour le tournesol HiPro (29,8 % MS).

A partir de ces données, ont été définies les conditions d'un blutage binaire pour préparer des lots de teneurs en protéines voisines de 45%/MS. Le traitement de lots de 500 kg de tourteaux de colza, tournesol pailleux et HiPro sur un équipement pilote a permis de préparer des lots d'environ 50 kg de tourteau enrichis en protéines avec des teneurs respectives de 44,6 % MS, 44,9 % MS et 47,3 % MS. L'étude a montré qu'il est possible, par blutage, d'enrichir avec un rendement d'environ 10 %, des tourteaux de colza ou tournesol à un niveau proche de 45% MS pour être utilisable dans l'alimentation des volailles.

ABSTRACT

Improvement of the protein content of rapeseed and sunflower meals by sieving technology

Regular rapeseed de-oiled meal (36-38 % Protein/Dry Matter (DM)) and graded (HiPro) dehulled de-oiled sunflower meal (38-39 % Protein/DM) are locally produced, highly available and rich in protein raw materials. However, their fibre contents remain too high for incorporation into all poultry feeding and therefore, nutrients concentration remains desirable. In this aim, sieving classification, a technique commonly used in cereal milling, to separate fibre rich or protein rich fractions has been tested, with regular rapeseed and sunflower de-oiled meal, and HiPro dehulled sunflower meal in the framework of *VOCALIM* project. The particle size characterization on a planschister equipment showed that for these three types of meal, different protein contents according to the particle size were obtained. The highest protein contents were obtained for 150-200 µm particle sizes with rapeseed (45.1% DM), sunflower (44.9 % DM), and for 100-150 µm with HiPro sunflower (48.1 % DM). The lowest levels are reached for particle sizes at 500-1000 µm with rapeseed (33.8 % MS), above 1000 µm for non-dehulled sunflower (31.1 % DM) and at 500-1000 µm with HiPro sunflower (29,8 % DM).

From these data, conditions for a binary sieving separation was defined to prepare meal batches with protein content close to 45%/DM. Treatment of 500 kg batches of rapeseed and sunflower meal on pilot equipment allowed to prepare batches of approximately 50 kg of protein-enriched meal with respective contents of 44.6 % DM, 44.9 % MS and 47.3 % MS. The study has shown that it is possible, by sieving separation, to enrich with a yield of about 10 %, rapeseed or sunflower meal at a protein level close to 45 % DM to be used in poultry feeding.

INTRODUCTION

Les tourteaux de colza et de tournesol décortiqués sont des matières premières (MP) locales riches en protéines et en grande disponibilité, mais ils renferment des quantités de fibres encore trop élevées pour les faire entrer dans toutes les formules pour volailles. Le décortiquage des graines permet en général de réduire le contenu en fibres des tourteaux mais dans le cas du colza il a été abandonné en raison de pertes d'huile et dans le cas du tournesol, il est atteint ses limites (60% des coques retirées) en raison de difficultés de pressage et aussi de pertes d'huile.

Le blutage, technique éprouvée dans le domaine des céréales pour séparer les fractions fibreuses par tamisage peut constituer un procédé alternatif ou complémentaire au décortiquage, mais nécessitant d'être pratiqué sur des farines déshuilées, il devra intervenir dans le cas du tournesol et du colza à la fin du process classique de trituration.

L'objectif de cette étude était de caractériser les classes granulométriques de différents tourteaux (colza et tournesol) pour simuler et effectuer par la suite, un fractionnement binaire de ceux-ci par blutage pour obtenir des fractions enrichies en protéines (d'environ 5 points) en quantités suffisantes pour des essais nutritionnels sur volailles. Les essais ont été réalisés à partir des tourteaux disponibles les plus riches en protéines : tourteaux de tournesol décortiqué (HiPro) et de colza. Un essai a aussi été réalisé avec du tournesol non décortiqué (dit pailleux) pour évaluer l'intérêt du décortiquage avant déshuilage, combiné au blutage par rapport au blutage seul.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Nature et composition des tourteaux testés

Analyse granulométrique : Les tourteaux testés sont des tourteaux de tournesol et colza déshuilés (matière grasse résiduelle inférieure à 3 %) car une teneur élevée provoquerait le colmatage des tamis de maille assez fine utilisés pour le blutage. Les tourteaux de colza étaient non dépelliculés et provenaient de l'usine SAIPOL de Sète. Chez le colza, les pellicules représentent environ de 17 à 21 % de la masse des graines (Carré *et al*, 2015), et du fait du déshuilage, elles représentent environ 30 % de la masse des tourteaux. Les tourteaux de tournesol, utilisés pour les essais étaient sous deux formes : non décortiqués (ou pailleux, origine usine Cargill de St-Nazaire), et décortiqués type HiPro (origine usine Saipol de Bassens). Chez le tournesol non décortiqué, les coques représentent environ 25-30 % dans les graines et 45 % dans les tourteaux (Dauguet *et al*, 2015). Dans le tournesol décortiqué (HiPro), le taux de coques est réduit de plus de 60 %. La composition chimique des tourteaux utilisés pour l'analyse granulométrique était représentative de la production industrielle en 2015. Les teneurs en protéines

s'élevaient à 37,4 % de matière sèche (MS) pour le colza, 32,6 % MS pour le tournesol pailleux et 39,7 % MS pour le tournesol HiPro. La teneur en glucosinolates du tourteau de colza était de 10,0 $\mu\text{mol/g}$ MS. Les tourteaux étaient sous forme de poudre mais le tourteau de tournesol HiPro présentait quelques résidus du traitement de granulation, destiné à faciliter l'extraction au solvant pendant sa fabrication.

Blutage binaire : Le dispositif expérimental a été dimensionné pour produire des quantités de 30 à 50 kg de tourteau avec une teneur en protéines d'environ 45 % MS. Les quantités nécessaires (environ 500 kg pour chaque type de tourteau) ont été déterminées par la simulation du blutage binaire. Les teneurs en protéines s'élevaient à 37,6 % MS pour le colza, 32,7 % MS pour le tournesol pailleux et 37,3 % MS pour le tournesol HiPro. Pour ce dernier, la teneur en protéines était nettement inférieure à celle du lot testé pour l'analyse granulométrique (39,7 % MS) qui avait été prélevé spécialement en usine (Saipol, Bassens) avant l'étape finale de granulation.

1.2 Méthodes

Broyage : Les tourteaux de tournesol HiPro ont été broyés préalablement aux essais de granulométrie et de blutage binaire à l'aide d'un broyeur à couteaux avec grille de 5 mm pour défaire les granulés. Des essais avec une grille de 1 mm ont également été réalisés.

Analyse granulométrique : Les essais ont été réalisés en juillet 2016 au moulin de l'ENSMIC à Surgères (17). Ils ont été mis en œuvre à l'aide planschister à tiroirs muni de cinq tamis de maille 100, 150, 250, 500 et 1000 μm superposés séparant six fractions à partir d'environ 2 kg de tourteau.

Blutage binaire : L'équipement de taille pilote (ENSMIC) utilisé a permis de traiter les lots d'environ 500 kg de tourteau préalablement broyé. Il est équipé d'un seul tamis pour ne séparer que deux fractions. La maille du tamis est choisie en fonction de l'analyse granulométrique préalable.

Analyses chimiques : Les analyses de protéines par les méthodes de Dumas (ISO 16634-1), de Kjeldahl (NF ISO 5983-1) et les analyses de glucosinolates (ISO 10633-1) ont été réalisées au laboratoire de Terres Inovia à Ardon (45160).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1 Analyse granulométrique

Tourteau de colza : Le tamisage a séparé des fractions d'aspect visuel différent. On note un éclaircissement de la couleur lorsque l'on passe en dessous des granulométries 250 μm et 100 μm . La fraction > 1000 μm a une teneur en protéines voisine de l'échantillon global. La fraction 500 – 1000 μm a montré la teneur la plus faible (tableau 1). Les

fractions les plus riches en protéines (environ 45 % MS) étaient comprises entre 100 et 250 μm .

Tourteau de tournesol pailleux : Le tamisage a séparé des fractions d'aspect visuel moins différent que pour le colza. On note une couleur plus claire pour les fortes granulométries > 500 μm (tableau 2). La fraction > 1000 μm montre la teneur la plus faible, comme le laissent penser la présence de débris de coques et son aspect visuel plus clair. La fraction la plus riche est celle comprise entre 150 et 250 μm (44,9 % MS) et la teneur diminue peu dans les fractions de plus faible granulométrie.

Tourteau de tournesol décortiqué HiPro : L'essai montre que le broyage à 5 mm a permis de conserver de grosses particules. L'efficacité du fractionnement pour concentrer les protéines est bonne : on arrive en cumulant les fractions < 250 μm à des teneurs en protéines voisines de 47 %, soit 7 points de plus que le tourteau de départ, avec un rendement de plus de 40% (tableau 3). L'utilisation d'une grille de 1 mm diminue considérablement le débit du broyeur et n'apporte pas d'amélioration (résultats non présentés).

2.2 Simulation de blutage binaire

La simulation doit permettre de choisir le tamis pour séparer deux fractions dont l'une constituera les 50 kg de tourteau enrichi en protéines nécessaires aux essais nutritionnels, à partir de la quantité de tourteau disponible. La figure 1 indique quelle est la classe qui permet la meilleure concentration des protéines, mais il faut également considérer le rendement de l'opération pour récupérer une quantité suffisante. Le tableau 4 reporte les valeurs calculées à partir des quantités de protéines et de tourteaux présentes dans chaque fraction (tableaux 1 à 3) et cumulées. Par exemple, la ligne >250 cumule les quantités de protéines et tourteaux obtenue dans les fractions 250 à 500, 500 à 1000 et > 1000 μm . Le seuil de ségrégation le plus favorable au blutage binaire pour le tourteau de colza semble être 250 μm . La teneur en protéine est augmentée de 7 points (de 37,6 à 44,7 %) et le rendement est voisin de 13 %. L'autre fraction verra sa teneur en protéines baisser de 1 point (de 37,6 à 36,6%) et sera produite avec un rendement de 87%. Pour le tournesol pailleux, le seuil est à 500 μm et pour le tournesol HiPro, le seuil est moins élevé (250 μm).

2.3 Blutage binaire à l'échelle pilote

Le bilan massique du fractionnement (tableau 5) est conforme aux simulations pour le colza et le tournesol non décortiqué. Pour le tournesol décortiqué la fraction < 250 μm ne représente que 13,3 % alors qu'elle représentait 40,5% dans la simulation. La raison est sans doute la difficulté qui a été observée

pour broyer les 500 kg de tourteau granulé après désolvantation-toastage, avec un broyeur non adapté à cette quantité. Il y a de fortes probabilités que la granulométrie obtenue ait été différente de celle de l'essai sur 2 kg. Les teneurs en protéines des trois lots ont été augmentées jusqu'à environ 45% MS ou plus, ce qui était l'objectif visé. L'augmentation est de 7 points pour le tourteau de colza, de 12 points pour le tourteau de tournesol non décortiqué et de 8 points pour le tourteau de tournesol HiPro. Il faut noter la bonne performance du blutage sur le tourteau de tournesol non décortiqué.

La teneur en glucosinolates du tourteau de colza enrichi en protéines, est augmentée d'environ 20 %, conformément à la teneur plus élevée de ces composés dans les amandes, elles-mêmes plus riches en protéines (Carré *et al.* 2015).

CONCLUSION

L'analyse granulométrique des tourteaux de colza et tournesol montrent que les protéines ne sont pas uniformément réparties dans les particules qu'il est possible de discriminer selon leur taille. Le tamisage est réalisable facilement, sans colmatage des tamis, parce que ces tourteaux industriels sont, par nature, presque totalement déshuilés. Les tourteaux industriels de tournesol HiPro prélevés en usine (deuxième lot) étaient encore un peu agglomérés en raison de la granulation réalisée avant l'extraction par solvant pour faciliter la percolation, et de ce fait, un broyage a été nécessaire pour adapter le profil granulométrique à l'équipement utilisé pour le tamisage. Ce broyage préalable au tamisage s'est révélé être une opération critique qui devra être optimisée.

Les teneurs en protéines ont été augmentées de manière importante (de + 7 à + 12 points) sur les trois tourteaux testés et la teneur de 45% MS est atteinte.

La teneur en glucosinolates du tourteau de colza enrichie en protéines, est augmentée d'environ 20 %. En raison du rendement d'obtention de la fraction enrichie qui avoisine seulement 10 %, les fractions appauvries ont des teneurs en protéines assez voisines de celles des tourteaux de départ.

L'évaluation nutritionnelle des fractions enrichies en protéines sur des volailles est en cours pour mesurer l'impact de la concentration des nutriments (et aussi celle des glucosinolates pour le tourteau de colza). L'évaluation technico-économique reste à réaliser avec la prise en compte des prix d'intérêt des tourteaux enrichi et appauvri en protéines ainsi que des coûts de production. Par ailleurs, les paramètres de fractionnement considérés dans cette étude pourront être optimisées pour maximiser la valeur créée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Carré P., Citeau M. & Quinsac A. 2015. *Proceedings of the 14th International Rapeseed Congress*, Saskatoon.
Dauguet S., Fine F., Guillemain C., Carré P., Merrien A., Krouti M. & Champolivier L. 2015. *OCL*, 22(4) D402.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient la DGER pour le financement CasDar du Projet VOCALIM « Des systèmes de production de volaille multi performants valorisant des matières premières locales » qui a constitué le cadre de ces travaux.

Figure 1 : Facteurs de concentration (ratio des rendements en protéines et en tourteau) pour les trois tourteaux testés, en fonction de la granulométrie

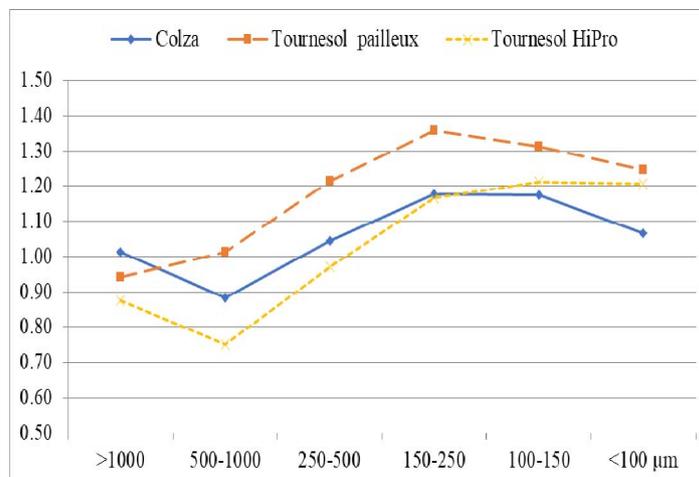


Tableau 1 : Bilan massique et en protéines de l'analyse granulométrique du tourteau de colza.
Teneur initiale du tourteau en protéine égale à 37,4 % MS.

Tourteau Colza (μm)	Masse tourteau (g MS)	Teneur protéines (% MS)	Masse protéine (g MS)	Rendement Protéines (1) (%)	Rendement Tourteau (2) (%)	Facteur de concentration (3)
> 1000	627,8	38,8	243,6	34,4	33,9	1,01
500 - 1000	571,6	33,8	193,4	27,3	30,9	0,88
250 - 500	412,8	40,0	165,1	23,3	22,3	1,04
150 - 250	164,7	45,1	74,2	10,5	8,9	1,18
100 - 150	58,4	45,0	26,3	3,7	3,2	1,18
< 100	15,3	40,8	6,2	0,9	0,8	1,07

(1) : Ratio de la masse de protéines de la fraction et de la somme des masses de protéines de l'ensemble des fractions ; (2) : Ratio de la masse de tourteau de la fraction et de la somme des masses de tourteau de l'ensemble des fractions ; (3) : Ration des rendements protéines et tourteau.

Tableau 2 : Bilan massique et en protéines de l'analyse granulométrique du tourteau de tournesol pailleux
Teneur initiale du tourteau en protéine égale à 32,6 % MS.

Tourteau Tournesol pailleux (μm)	Masse tourteau (g MS)	Teneur protéines (% MS)	Masse protéines (g MS)	Rendement Protéines (1) (%)	Rendement Tourteau (2) (%)	Facteur de concentration (3)
> 1000	1072	31,1	333,2	57,7	61,4	0,94
500 - 1000	448	33,5	149,9	26,0	25,6	1,01
250 - 500	135	40,1	54,2	9,4	7,7	1,21
150 - 250	47,7	44,9	21,4	3,7	2,7	1,36
100 - 150	26,3	43,4	11,4	2,0	1,5	1,31
< 100	17,8	41,2	7,3	1,3	1,0	1,25

(1), (2), (3) : voir tableau 1

Tableau 3 : Bilan massique et en protéines de l'analyse granulométrique du tourteau de tournesol HiPro (décortiqué) et broyé à 5 mm. Teneur initiale du tourteau en protéine égale à 39,7 % MS

Tourteau Tournesol HiPro 5 mm (µm)	Masse tourteau (g MS)	Teneur protéines (% MS)	Masse protéines (g MS)	Rendement Protéines (1) (%)	Rendement Tourteau (2) (%)	Facteur de concentration (3)
> 1000	142,5	34,7	49,5	7,7	8,8	0,87
500 - 1000	383,7	29,8	114,4	17,8	23,6	0,75
250 - 500	440,4	38,5	169,5	26,3	27,1	0,97
150 - 250	270,3	46,3	125,1	19,4	16,7	1,17
100 - 150	193,5	48,1	93,1	14,5	11,9	1,21
< 100	192,6	47,9	92,3	14,3	11,9	1,21

(1), (2), (3) : voir tableau 1

Tableau 4 : Simulation de la teneur en protéines et du bilan massique des deux fractions issues d'un blutage binaire des trois types de tourteaux à un niveau donné de granulométrie.

En encadré les situations optimales combinant concentration et rendement pour chaque type de tourteau.

Tourteau	Colza		Tournesol pailleux		Tournesol HiPro	
Fractions (µm)	Teneur en Protéines (%MS)	Bilan massique (%)	Teneur en Protéines (%MS)	Bilan massique (%)	Teneur en Protéines (%MS)	Bilan massique (%)
>1000	38,8	33,9	31,1	61,4	34,7	8,8
<1000	38,0	66,1	36,2	38,6	40,1	91,2
>500	36,4	64,8	31,8	87,0	31,1	32,4
<500	41,7	35,2	41,6	13,0	43,8	67,6
>250	37,3	87,1	32,5	94,7	34,5	59,6
<250	44,8	12,9	43,8	5,3	47,3	40,4
>150	38,1	96,0	32,8	97,5	37,1	76,2
<150	44,1	4,0	42,5	2,5	48,0	23,8
>100	38,3	99,2	33,0	99,0	38,6	88,1
<100	40,8	0,8	41,2	1,0	47,9	11,9
Entier	37,4	100	32,4	100	39,7	100

Tableau 5 : Bilan massique du blutage binaire et composition chimique des deux fractions séparées pour des lots d'environ 500 kg de tourteaux de colza, tournesol pailleux et tournesol HiPro.

Tourteau	Colza		Tournesol pailleux		Tournesol HiPro	
Teneur en Protéines (%MS)	37,6		32,7		37,3	
Fraction	< 250 µm	> 250 µm	< 500 µm	> 500 µm	< 250 µm	> 250 µm
Masse (kg MB)	50	454	53,7	410	59,1	382,5
Humidité (%)	11,1	11,8	10,7	10,9	10,7	10,3
Masse (kg MS)	44,5	400,4	48,0	365,3	52,8	343,1
Glucosinolates (µmol/g MS)	11,6	9,6	-	-	-	-
Teneur en Protéines (% MS)	44,6	36,8	44,9	31,1	47,3	34,0
Masse Protéines (kg)	19,8	147,4	21,5	113,7	25,0	116,7
Rendement Protéines (%) (1)	11,9	88,1	15,9	84,1	17,6	82,4
Rendement Tourteau sec (%) (2)	10,0	90,0	11,6	88,4	13,3	86,7
Facteur Concentration (3)	1,19	0,98	1,37	0,95	1,32	0,95

(1), (2), (3) : voir tableau 1

COMPOSITION, VALEUR ENERGETIQUE ET DIGESTIBILITE DES FARINES D'INSECTES CHEZ LE POULET DE CHAIR

Lessire Michel¹, Jean Marc Hallouis¹, Rousseau Philippe², Sabourin David², Juin Hervé²

¹UMR BOA -INRA-Université de Tours - 37380 NOUZILLY,

²INRA EASM - 17700 SURGERES

michel.lessire@inra.fr

RESUME

Neuf farines d'insectes ont été analysées et leur digestibilité fécale (énergie, azote, acides aminés) a été mesurée sur des poulets âgés de trois semaines. Les teneurs (sur produit sec) en lipides varient de 10 à 28%, avec pour certaines farines un profil en acides gras très spécifique car présentant une concentration en acide laurique supérieure à 40% des acides gras totaux. Les teneurs en protéines varient de 60 à 76%, avec un profil en acides aminés assez similaire à celui du soja.

Les valeurs énergétiques AMEn varient dans de grandes proportions (3069-4877 Kcal/Kg MS) en fonction de la concentration en lipides. Les digestibilités fécales de l'N sont supérieures comprises entre 75 et 85% sauf pour une farine dont la valeur est très faible (60%). Il en est de même pour les acides aminés dont les digestibilités sont élevées mais variables, par exemple de 84 à 90% pour la lysine. L'échantillon présentant une faible digestibilité de l'N est également caractérisé par une très faible digestibilité des acides aminés (54% pour la lysine).

En conclusion, les farines d'insectes présentent un énorme potentiel pour se substituer au tourteau de soja importé. La variabilité de leur composition et de leur valeur nutritionnelle, liée sans doute à l'insecte d'origine, mais aussi aux procédés de préparation, devra être réduite pour une utilisation optimisée. Les interdictions administratives devront aussi être levées pour une utilisation en aviculture.

ABSTRACT

Composition, metabolisable energy and digestibility value of insect meals in poultry

Nine insect meals were analyzed and their fecal digestibility (energy, nitrogen, amino acids, fatty acids) was measured in three-week-old chickens. The lipid contents (on dry matter) varied from 10 to 28%, with for some meals a very specific fatty acid profile because having a concentration of lauric acid greater than 40% of the total fatty acids. Protein levels ranged from 60 to 76%, with an amino acid profile quite similar to that of soybean meal.

The energy values (AMEn) varied in large proportions (3069-4877Kcal / Kg MS) depending on the lipid concentration. The fecal digestibilities of N ranged from 75-85% except for a sample whose value was very low (60%). It was the same for amino acids whose digestibilities were high but variable, for example from 84 to 90% for lysine. The sample with low digestibility of N was also characterized by a very low digestibility of amino acids (for example 54% for lysine). In conclusion insect meals has great potential to substitute for imported soybean meal. The variability of their composition and nutritional value, probably related to the original insect, but mainly to the process, should be reduced for optimized use. Administrative bans will also have to be suppressed to allow use in poultry feeding.

INTRODUCTION

Les farines d'insectes sont considérées comme une alternative potentielle au tourteau de soja pour les animaux d'élevage, en particulier pour les volailles. Elles sont en effet riches en protéines et en acides aminés indispensables (Makkar et al., 2014). Souvent déshuilées, elles peuvent malgré tout présenter une forte teneur en lipides résiduels et donc être une source d'énergie métabolisable intéressante. Leur intérêt serait donc double : une forte concentration en protéines et acides aminés et une valeur énergétique élevée. Différentes études ont été réalisées pour estimer leur potentiel pour remplacer le tourteau de soja en Europe, et la farine de poisson ou les farines de viande dans les pays où ces matières premières sont autorisées (Makkar et al., 2014). Dans la plupart des cas, les performances zootechniques des poulets recevant les aliments renfermant des farines d'insectes sont similaires à celles des poulets recevant l'aliment témoin. Il faut cependant noter que les farines d'insectes utilisées provenaient plus d'animaux capturés (criquet, sauterelle, ...) que d'élevages contrôlés. Plus récemment, des études ont montré que l'incorporation de farine d'insecte (*Hermetia*) n'avait pas d'incidence négative sur la qualité sensorielle du filet de poulet (Altmann et al., 2018). Il en est de même lorsque de l'huile d'*Hermetia* remplace l'huile de soja. Mais il faut noter que cette huile augmente le ratio n-6/n-3 des tissus adipeux car elle renferme une quantité importante d'acide laurique (Schivone et al., 2018).

L'objectif de notre étude était de caractériser la valeur nutritionnelle de farines issues de différents insectes produits de façon industrielle. Ce travail s'inscrivait dans le cadre du programme ANR Desirable.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Farines d'insectes

Neuf farines ont été collectées : 4 *Ténébrio* (*Tenebrio molitor*), 3 *Hermetia* (*Hermetia illucens*), 1 grillon (*Acheta domesticus*), 1 buffalo ou petit ténébrio (*Alphitobius diaperinus*). Pour *Ténébrio* et *Hermetia*, il s'agit de batches et/ou de fournisseurs différents. Elles sont donc issues d'insectes autorisés par le règlement CE n° 1069/2009. Un seul lot a été produit de façon expérimentale, les autres farines sont des produits commerciaux. Les processus précis ne nous ont pas été fournis par les producteurs, mais il y a systématiquement des étapes de chauffage et de pression. L'extraction des lipides par un solvant n'est pas utilisée. Une standardisation des caractéristiques analytiques du produit commercial par mélange de plusieurs batches n'est sans doute pas non plus pratiquée. Toutes les farines ont été analysées pour leur teneur en eau, protéines, cendres, lipides et acides

aminés. Les teneurs en calcium, phosphore et acides gras ont été mesurées pour certaines d'entre elles.

1.2. Mesure de la digestibilité

La digestibilité fécale des farines a été mesurée sur des poulets âgés de 3 semaines placés en cages individuelles, avec collecte totale des excréta et alimentation *ad libitum* (Bourdillon et al., 1990). Pour cela, elles ont été incorporées à 25% dans un aliment de base composé de blé, maïs, tourteau et huile de soja et CMV et dont la digestibilité était mesurée en parallèle. Ces aliments étaient granulés. Chacun a été distribué à 10 poulets mâles Ross PM3. Les farines, les aliments et les fientes lyophilisées ont été analysés pour leurs teneurs en eau, énergie brute, azote, acides aminés, acide urique, lipides totaux et acides gras. Les digestibilités apparentes des acides aminés et des acides gras ont ensuite été calculées, de même que l'énergie métabolisable (AMEn). Les valeurs de chaque farine ont été obtenues par différence entre la valeur du régime de base et celle du régime expérimental renfermant 25% de farine.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La composition centésimale et la digestibilité des farines sont présentées au tableau 1. La valeur d'un tourteau de soja est donnée en référence (Tables INRA-AFZ, Sauvant et al., 2002). Tous les résultats sont exprimés sur produit sec. La teneur en protéines est élevée, supérieure au soja et varie de 59 à 71%. Elle est corrélée négativement à la teneur en lipides (-0.49) qui varie de 9 à 28%. Même si le nombre d'échantillons analysés issus du même type d'insecte est faible : 4 *Ténébrio* et 3 *Hermetia*, on constate que la variabilité de composition intra insecte est au moins aussi forte qu'inter insectes. Cette variabilité est donc plus à rapprocher du processus d'élaboration de la farine (extraction des lipides) que de la nature même de l'insecte d'origine. Mis à part l'échantillon (*Ténébrio* 1) obtenu expérimentalement et non représentatif, les teneurs en cendres sont homogènes et faibles. Le phosphore représente à peine 1% du produit sec. La valeur énergétique brute est en moyenne très élevée et elle est corrélée avec la teneur en lipides des produits ($r=0.83$). Le profil en acides aminés est relativement constant avec des concentrations en lysine et tryptophane plus faibles que dans les protéines de soja, alors que les concentrations en thréonine et méthionine sont similaires à celles du soja. Ces valeurs sont un peu inférieures à celles présentées par Makkar et al., (2014 pour *Hermetia* mais similaires à celles de *Ténébrio*). Les lipides d'*Hermetia* sont particulièrement riches en acide laurique (C12 :0) qui peut représenter plus de la moitié des acides gras totaux, au détriment des acides insaturés et polyinsaturés. Ce profil particulier, déjà mentionné par ailleurs (Cullere et al., 2018) a un impact fort sur

la composition des dépôts lipidiques de volailles qui sont enrichis en cet acide (Schiaivone et al., 2017).

Les valeurs énergétiques métabolisables des farines sont élevées et varient de 3069 à plus de 4800Kcal/kg MS. Elles dépendent largement de la teneur en lipides ($r=0.91$). Ainsi les deux farines les plus riches en lipides : 28,25 et 25,65% présentent des EMAN voisines de 4800Kcal/kg, celles renfermant environ 10% de lipides titrent de l'ordre de 3600-3700Kcal d'énergie métabolisable. Ces valeurs d'EMAN sont à mettre en relation avec les digestibilités élevées des différents acides gras, toutes proches voire supérieures à 90%, même si une légère différence en faveur des farines de Ténébrio semble apparaître. Une différence similaire a été observée antérieurement (De Marco et al., 2015). Une farine (Ténébrio 4) présente une valeur énergétique faible. Nous n'avons pas mesuré la digestibilité de ses acides gras constitutifs, ce qui aurait pu donner une explication. On remarque cependant que ses acides aminés sont peu digestibles (50%), contrairement aux autres farines. Cette farine aurait subi un traitement thermique drastique qui expliquerait ces faibles digestibilités ainsi qu'une proportion de lysine (4.54%) également faible par rapport aux autres produits (>5.2%). Des résultats similaires ont été observés sur différentes matières premières traitées thermiquement (Cozannet et al., 2011) dans lesquelles la teneur en lysine et la digestibilité sont faibles. Exception faite de cette farine, les digestibilités de l'N et des acides aminés sont élevées, et proches de celles du tourteau de soja. Des valeurs tout aussi élevées ont été rapportées dans la littérature pour une farine de larves de mouches (Hall et al, 2018), farine non testée dans notre étude. La digestibilité de la lysine varie de 84 à 90% et il n'y a pas de relation forte entre cette digestibilité et les analyses que nous avons réalisées. Pour ces farines, les méthodes d'extraction de l'huile ne semblent donc pas altérer la digestibilité de la fraction azotée. L'altération doit se produire à une autre étape du

procédé d'obtention, par exemple le chauffage pour la mise à mort ou le séchage.

CONCLUSION

En dehors de toute considération économique et administrative, les farines d'insectes présentent un intérêt évident pour l'alimentation des volailles. Elles sont riches en protéines, bien pourvues en acides aminés indispensables et leur valeur énergétique et leur digestibilité sont élevées. Elles sont assez similaires aux farines de viande utilisées avant leur interdiction, mise à part leur teneur en minéraux plus faible. Il conviendrait de rationaliser leur nomenclature, avec pourquoï pas des farines 60 grasses et 75 maigres, car il semblerait sur la base de notre étude que la nature de l'insecte d'origine ait moins d'incidence que le procédé d'élaboration, sauf le profil en acides gras.

En dehors des contraintes administratives qui interdisent encore leur utilisation chez les monogastriques, il faudra à terme pouvoir élever ces insectes sur une biomasse non valorisable par ailleurs (litières, déchets de cantines...), permettant ainsi de réduire l'empreinte environnementale de leur production et celle de nos élevages et surtout les rendre plus compétitives économiquement.

REMERCIEMENTS Les auteurs remercient l'ANR pour son soutien à la réalisation du programme DESIRABLE et tous les partenaires du programme, ainsi que les fournisseurs de farines d'insectes : Ynsect, Jimini's, Entomo farm, APPI. Un remerciement particulier est adressé à Ajinomoto-Eurolysine SAS pour l'analyse des acides aminés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bourdillon A., Carré B., Conan L., Francesch M., Fuentes M., Huyghebaert G., Janssen W.M.M.A., Leclercq B., Lessire M., McNab J., Rigoni M., Wiseman J., 1990. *Brit. Poul. Sci.*, (31), 567-576.
- Cozannet P., Primot Y., Gady C., Metayer J.P., Lessire M. Noblet J., 2011. *Brit. Poul. Sci.*, 52 (1), 72-81.
- Cullere M., Tasoniero G., Giaccone V., Acuti G., Marangon A., Zotte A.D., 2018. *Animal* 12 (3), 640-647.
- De Marco M., Martinez S., Hernandez F., Madrid J., Gai F., Rotolo L., Belforti M., Bergero D., Katz, H., Dabbou S., Kovitvadhi A., Zoccarato I., Gasco L., Schiaivone A., 2015. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 209, 211-218.
- Hall H.N., O'Neill H.V.M., Scholey D., Burton E., Dickinson M., Fitches E.C., 2018. *Poul. Sci.*, 97, 1290-1297.
- Makkar H. P.S., Tran G., Heuzé V., Ankers P., 2014. *Anim. Feed Sci. Tech.*, 197, 1-33.
- Sauvant, J.M.; Perez, J.M.; Tran, G. (Coord.), 2002. 37-42. Inra Editions, Paris (FRA).
- Schiaivone A., Cullere M., De Marco M., Meneguz M., Biasato I., Bergagna S., Dezzutto D., Gai F., Dabbou S., Gasco L., Dalle Zotte A., 2017. *Ital J. Anim. Sci.*, 16 (1), 93-100.

Tableau 1. Composition et digestibilité des farines d'insectes testées (par rapport au produit sec)

	TENEBRIO 1	TENEBRIO 2	TENEBRIO 3	TENEBRIO 4	HERMETIA 1	HERMETIA 2	HERMETIA 3	GRILLON	BUFFALO	T. SOJA
MAT %	59.32	61.48	56.33	70.88	75.77	68.16	61.60	70.95	64.32	53.9
Lipides %	9.01	16.49	28.25	10.04	9.88	11.13	13.68	16.96	25.65	1.71
Cendres %	19.07	5.09	4.52	4.79	3.64	5.20	5.36	7.47	5.04	7.19
E. Brute Kcal/Kg	4922	5874	6380	5671	5859	5614	5761	6021	6378	4703
P %	0.70	0.63	0.75	1.04	0.85	1.10	0.90	0.82	0.79	0.71
LYS*	5.75	5.38	5.36	4.54	5.32	5.21	5.71	5.33	6.11	6.1
THR*	3.64	3.53	3.71	3.63	3.92	3.68	3.72	3.40	3.75	3.9
MET*	1.67	1.51	1.30	1.08	1.31	1.17	1.62	1.50	1.34	1.4
MET+CYS*	2.43	2.33	2.21	1.75	2.27	2.04	2.45	2.27	2.25	2.9
TRP*	1.38	1.33	1.08	0.99	1.14	1.07	1.40	0.87	1.04	1.3
C12 :0**	0.5	1.2		1.09	47.2		63.37			
C14 :0**	3.9	3.8		4.12	8.6		10.55			
C16 :0**	19.4	20.4		19.06	13.6		10.05			
C18 :0**	4.9	4.3		3.46	2.2		1.02			
C18 :1**	47.9	45.7		30.17	9.6		5.15			
C18 :2**	20.6	21.7		34.47	14.8		3.41			
AMEn Kcal/Kg	3653	3956	4877	3069	3846	3630	3783	3790	4791	2650
DIG N %	85.5	81.8	78.6	60.5	80.8	75.3	75.2	70.4	79.9	
DIG LYS %	87.1	85.9	83.7	54.5	86.6	86.5	86.3	85.5	90.0	91
DIG THR %	88.8	85.1	81.2	55.8	86.5	81.8	84.2	76.6	87.3	89
DIG MET %	87.4	85.0	83.0	53.3	84.3	84.1	85.8	87.8	84.7	91
DIG AAS %	84.1	80.9	77.1	41.4	80.5	76.4	81.9	81.5	84.6	88
DIG TRP %	86.8	82.9	82.8	58.1	83.2	82.9	82.9	82.1	90.0	
DIG C12 :0 %	98.6	97.1			83.4					
DIG C14 :0 %	96.6	94.1			90.0					
DIG C16 :0 %	93.3	89.5			89.4					
DIG C18 :0 %	88.4	83.1			85.2					
DIG C18 :1 %	96.3	95.6			95.7					
DIG C18 :2 %	98.2	97.6			96.5					

*en % de la protéine, ** en % des acides gras totaux

SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Communications orales

DES GRAINES OLEO-PROTEAGINEUSES COMME ALTERNATIVE AU TOURTEAU DE SOJA DANS L'ALIMENTATION DES VOLAILLES

Mathieu Guillevic¹, Michel Lessire², Antoine Germain¹, Hervé Juin³, Guillaume
Chesneau¹

1 VALOREX, 35210 Combourtille, France

2 UMR BOA, INRA, 37380 Nouzilly, France

3 UE EASM, INRA, 17700 Surgères, France

m.guillevic@valorex.com

RÉSUMÉ

Les filières avicoles cherchent à s'affranchir de l'importation de tourteau de soja par l'usage de matières premières alternatives locales comme les graines de féverole. Celles-ci pourraient constituer une solution intéressante étant donné leur composition mais restent néanmoins pourvues de facteurs antinutritionnels. Des leviers aux niveaux végétal et technologique existent et, pourraient permettre d'optimiser la valorisation de ces graines. Pour cet objectif, nous avons déterminé la digestibilité d'un mélange constitué de féveroles (90%) sélectionnées et traitées spécifiquement sur un support soja ou lin (10%) pour ensuite en évaluer les impacts zootechniques, environnementaux et économiques dans les productions de poulets et de poules. Une meilleure digestibilité de l'EMAn (+21%, +18%) et de l'azote (+11%, +10%) chez le poulet et le coq, respectivement, par rapport à la féverole de référence ont été observées. Les performances des poulets (IC : 1,92 dans les deux lots) et des poules (poids œuf journalier : 62,0 vs. 61,0 g/j) sont identiques entre le lot expérimental et le lot témoin, respectivement. L'impact environnemental est favorable notamment sur le changement climatique (-41%, -30%), mais est défavorable sur l'occupation des terres (+13%, +8%). Enfin, l'impact économique est quant à lui négligeable puisqu'il représente un surcoût pour la consommation moyenne française de 1,05 €/hab/an pour la consommation d'œuf et une économie de 0,19 € pour celle de poulet. Il apparaît donc possible de limiter de manière durable l'apport de tourteau de soja par l'incorporation de féverole dans l'alimentation des volailles.

ABSTRACT

Pulses seeds as an alternative to soybean meal in poultry feeding

The poultry sectors seek to overcome the import of soybean meal by the use of local alternative raw materials such as faba bean seeds. It could be an interesting solution given its composition but still have antinutritional factors. vegetal and technological Levers, , can be activated in order to optimize their digestibility. For this purpose, we determined the digestibility of a blend of faba beans (90%) selected and specifically treated on soybean or flaxseed (10%) and then evaluated the zootechnical, environmental and economic impacts in chicken and layers production. The faba bean digestibility is increased on the EMAn (+21%, +18%) and the DUC of the nitrogen (+11%, +10%) in the chicken and the rooster, respectively, compared to the bean reference. The performances of the chickens (FCR 1.92 vs. 1.92) and the layers (daily egg weight: 62.0 vs. 61.0 g/d) are equals between the experimental and the control groups, respectively. The environmental impact is favorable in particular climate change (-41%, -30%), but is unfavorable on the land occupation (+ 13%, + 8%). Finally, the economic impact is negligible since it represents a overcost for the average French consumption of 1.05 € / consumers / year for egg consumption and a saving of 0.19 € for chicken. It therefore seems possible to limit soybean meal intake in a sustainable manner by incorporating faba beans into the poultry feed.

INTRODUCTION

Les filières avicoles cherchent à s'affranchir, pour répondre aux attentes sociétales, de l'importation de tourteau de soja par l'usage de matières premières alternatives locales. Les légumineuses à graines ou graines protéagineuses, telles que la féverole, pourraient constituer une source intéressante de par leur proportion en protéine et en amidon élevée ainsi que sa teneur importante en lysine. Cependant, ces graines sont aussi pourvues de facteurs antinutritionnels qui interfèrent avec l'absorption des nutriments et altèrent performances et santé des volailles. Des leviers peuvent être mobilisés afin d'augmenter la part de facteurs d'intérêts nutritionnels et de limiter, voire de réduire, la part des facteurs antinutritionnels. Parmi ceux-ci, certains comme les fibres et vicine/convicine peuvent être limités par la sélection des graines et d'autres comme les lectines et facteurs antitrypsiques peuvent être réduits, voire supprimés, par l'usage de technologies adaptées. À notre connaissance, peu de travaux ont étudié les effets de l'extrusion de la féverole sur la digestibilité des nutriments et les performances des volailles.

Ainsi, pour rendre cette démarche pérenne, il convient de répondre aux attentes tant des producteurs que des consommateurs. Dans cet objectif, nous avons d'abord déterminé la valorisation nutritionnelle d'un mélange de graines oléo-protéagineuses sélectionnées et traitées spécifiquement pour ensuite en évaluer les impacts zootechniques, environnementaux et économiques dans les aliments de poulets et de pondeuses. La matière première expérimentale testée, repose sur ce double savoir-faire : végétal et technologique.

1. MATERIELS ET METHODES

Le mélange de graines oléo-protéagineuses testé est composé de 90 % de féverole et d'un support de 10 % de graines oléagineuses : soja métropolitain pour le poulet et coq, lin pour la pondeuse. La graine de féverole a été sélectionnée pour être riche en protéines et pauvre en facteurs de moindre intérêt nutritionnel. Ce mélange de graines a subi un process spécifique (broyage, pré-conditionnement, maturation, cuisson-extrusion), afin d'optimiser sa valorisation par les volailles, par les outils industriels de VALOREX.

1.1. Essais de digestibilité *in-vivo* poulet et coq

Les essais de digestibilités sont menés sur poulets mâles en croissance (Ross PM3) et coqs adultes par substitution de l'aliment de base à hauteur de 30% par le mélange de graines oléo-protéagineux expérimental à tester.

Les valeurs de digestibilité des matières premières ont été calculées par différence à partir des résultats de la base et des aliments expérimentaux, en considérant l'additivité des constituants tel que décrit par Carré et

al. (2013). Les valeurs d'énergie métabolisable (EM) sont exprimées en EM apparente à bilan azoté nul (EMAn) et les valeurs de digestibilité en digestibilité apparente.

1.2. Essais de zootechnie poulet et pondeuse

Les essais performances sont menés sur des lots où les principales sources protéiques étaient du soja d'importation ou bien la matière première expérimentale. Ces mélanges sont incorporés de 15 à 20% chez le poulet et à 15% chez la pondeuse dans des rations iso-nutritionnelles en tenant compte des valeurs nutritionnelles déterminées dans les essais de digestibilité menés sur les poulets et les coqs (tableau 1).

Les poulets ont été nourris à volonté avec les mêmes régimes de démarrage (0-12 jours). Au 12ème jour, les animaux ont été répartis en 2 groupes (6 répétitions x 45 poulets) de poids homogènes. L'eau et les aliments granulés étaient distribués à volonté. À l'issue de la phase de croissance (J12-22) et de finition (J22-33) les animaux ont été abattus après avoir été pesés individuellement. Les poids vifs à J22 et J33 ont été mesurés ainsi que la consommation totale par parquet. L'indice de consommation, et le ratio eau/aliment par parquet ont également été calculés. La mortalité ainsi que la mesure de pododermatites selon la grille en 5 scores de Michel et al. (2012) ont été déterminés. Pour chaque traitement, 18 animaux (3 par parquet) ont été aléatoirement prélevés et abattus. Les carcasses ont été effilées puis stockées en chambre de ressuage une nuit à +2°C. Le lendemain, elles ont été pesées puis découpées afin de déterminer le rendement en filet (*Pectoralis major* et *minor*).

Les pondeuses Isa-Brown étaient répartis en 22 cages de 2 poules par traitement alimentaire. Les poules ont été mises en cage en semaine 19, reçu l'aliment expérimental en semaine 27 et le contrôle des pontes a été mené à partir de la semaine 30 et jusqu'à la semaine 42. Les paramètres mesurés étaient les performances de ponte (nombre et poids moyen des œufs, consommation d'aliment) et les paramètres de qualité (unités Haugh).

Les impacts environnementaux et économiques de la production d'œufs et de poulet ont été évalués à travers la part de l'alimentation. Celle-ci représente de 40 à 70% du coût de production des volailles. Le volet environnemental a été évalué grâce à la base de données ECOALIM (Wilfart et al., 2016) et le volet économique à travers la conjoncture des matières premières en 2017-18.

1.3 Analyses statistiques

Les données ont été analysées par ANOVA au seuil de significativité de 5% à l'aide du logiciel SAS (procédure GLM). Pour les performances de croissance, l'unité expérimentale était le parquet

(poulet) ou la cage (pondeuse), tandis que pour les critères de rendement et de qualité de la viande ou de l'œuf, l'unité expérimentale était l'animal.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Essais de digestibilité in-vivo

Par rapport aux valeurs de référence de graines de fèves conventionnelles et non spécifiquement traitées, telles qu'elles sont consultables sur les tables de composition Feed-Tables (INRA-CIRAD-AFZ, 2017), la fève utilisée a des valeurs de digestibilité supérieures. La valorisation de l'énergie, évaluée par l'EMAn, des fèves est augmentée significativement de 21 % pour le poulet et de 18 % pour le coq. Ainsi, le poulet et le coq valorisent la fève, respectivement, à hauteur de 3170 et de 3165 kcal/kg MS (Tableau 2).

Ces résultats sont en accord avec les quelques précédents travaux menés sur l'effet de l'extrusion sur la digestibilité des nutriments (El-Hady et al., 2003 ; Hejdysz et al., 2015). Cependant les effets restent dépendants tant de la qualité des graines sélectionnées (Nalle et al., 2011) que des procédés technologiques mis en place (Carbonaro et al., 2005).

2.2 Essais de zootechnie

Les essais zootechniques ont confirmé les résultats de digestibilité sur l'intérêt du traitement de la fève sur le poulet (tableau 3) et la pondeuse (tableau 4).

Les performances de croissance du poulet conduisent à un indice de consommation identique (J1-J33 : 1,456 vs. 1,444) ; des paramètres de santé ainsi qu'un rendement en viande statistiquement équivalents. Les performances de ponte (poids d'œuf journalier : 61,0g/j versus 62,0g/j) et l'indice de consommation (1,92 versus 1,92) des poules ne sont pas significativement modifiés. La qualité technologique des œufs est équivalente.

L'impact sur l'environnement de la production de poulet et d'œufs avec une alimentation à base de mélange expérimental de graines oléo-protéagineuses testée est positif sur le changement climatique (-41%, -30%), la consommation de phosphore (-36%, -24%),

l'acidification (-18%, -8%) et la consommation d'énergie fossile (-22%, -10%) ; neutre sur l'eutrophisation (-2%, -1%) et négatif sur l'occupation des sols (+13%, +8%), respectivement. Ces évolutions s'expliquent par l'usage de fèves métropolitaines économes en intrant mais aux rendements moindres que le soja d'importation.

Enfin, dans la conjoncture économique (2017) utilisée, le surcoût à la production peut être considéré comme négligeable et représente un coût de 1,05€/hab/an pour la consommation moyenne française d'œuf (222 œufs) et une économie de 0,19€/hab/an pour la consommation moyenne française (25 kg eq. carcasse) de poulet.

Ces résultats sont en accord avec les travaux de Diaz et al. (2006) dont les performances de croissance des poulets, avec l'incorporation de fève extrudée, étaient maintenues. Cependant, ces auteurs, contrairement à nos travaux, n'avaient pas reconsidéré la meilleure digestibilité des nutriments du fait du traitement technologique.

CONCLUSION

Il apparaît donc possible de limiter l'apport de tourteaux de soja d'importation dans l'alimentation des volailles par l'introduction d'une sélection de graines oléo-protéagineuses métropolitaines spécifiquement traitées. L'intérêt de cette alternative locale réside dans sa durabilité grâce à l'amélioration optimisée de la valeur nutritionnelle des graines, au maintien des performances zootechniques et à la réduction significative des impacts environnementaux pour un surcoût à la production négligeable.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée dans le cadre du programme de recherche PROLEVAL avec le soutien financier de la Banque Publique d'Investissement (BPI) au travers le programme d'investissements d'avenir "Projets de recherche et développement Structurants pour la Compétitivité (PSPC)".

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Carre B., Lessire M., et Juin H., 2013. Anim. (7), 1246-1258
 El-Hady E. A. A., Habiba R. A., 2003. LWT Food Sci. Technol. (36), 285-293
 Hejdysz M., Kaczmarek S. A. et Rutkowski A., 2016. Anim. Feed Sci. Technol. (212), 100-111
 INRA CIRAD AFZ, 2017
 Lessire M., McNab J., Rigoni M. et Wiseman J., 1990. Br. Poult. Sci., (31), 567-576
 Michel V., Prampart E., Mirabito L., Allain V., Arnould C., Huonnic D., Le Bouquin S., Albaric O., 2012. Br. Poult. Sci. (53), 275-281
 Nalle C. L., Ravindran G. et Ravindran V., 2011. Am. J. Anim. Vet. Sci. (6), 25-30
 Wilfart A., Espagnol S., Dauguet S., Tailleur A., Gac A. et Garcia-Launay F., 2016. PLoS ONE (11): e0167343.

Tableau 1. Composition (g/kg) et caractéristiques nutritionnelles des régimes expérimentaux.

Composition	Aliment poudeuse		Aliment poulet croissance		Aliment poulet finition	
	TEMOIN	ESSAI	TEMOIN	ESSAI	TEMOIN	ESSAI
Maïs	489	438	437	258	250	280
Blé	150	150	200	258	448	260
Tourteau de soja	199	109	306	50	251	
Tourteau de tournesol HP				123		169
Tourteau de colza				60		20
90% Féverole – 10% Lin		150				
90% Féverole – 10% Soja				150		200
Gluten de maïs	38	47		40		20
Huile de soja	21	3	20	24	24	23
Carbonate de calcium	76	76	5	5	6	5
Phosphate bicalcique	19	19	16	14	6	6
Bicarbonate de sodium			1.5	2.7	1.8	2.7
DL-Méthionine	0.7	1	2.6	1.9	2.1	1.8
L-Lysine-HCl	0.1		2.3	4.4	2.4	4
L-Tryptophane	0.1	0.3				
L-Thréonine			0.8	1	0.9	0.9
L-Valine			0.3	0.2	0.3	0.2
Anticoccidien			0.5	0.5	0.5	0.5
Autre (prémix, minéraux, ...)	7	7	8	8	8	8
Caractéristiques nutritionnelles						
Energie métabolisable (kcal/kg)	2800	2800	2950	2950	3000	3000
Protéines (g/kg)	170	170	205	212	191	196
LYS dig (g/kg)	6.9	6.9	11	11	10	10
MET+CYS dig (g/kg)	5.9	5.9	8.3	8.3	7.5	7.5
THR dig (g/kg)	5.5	5.5	7.4	7.4	6.7	6.7
TRP dig (g/kg)	1.7	1.7	2.2	1.9	2.1	1.8
Calcium (g/kg)	36	36	9	9	6.5	6.5
Phosphore disponible (g/kg)	3.8	3.8	4.5	4.5	3.2	3.2

Tableau 2. Digestibilité de l'énergie et de la protéine de graines oléo-protéagineuses par le poulet et le coq.

	Unités	Féverole table	Féverole essai
Digestibilité poulet			
EM A n	kcal/kg MS	2610	3170*
CUD N	%	70	77,5*
Digestibilité coq			
EM A n	kcal/kg MS	2680	3165*
CUD N	%	60	66,1*

* : valeurs moyennes significativement différentes au seuil de 5%

Tableau 3. Effet de l'introduction de graines oléo-protéagineuses dans la ration des poulets sur les performances techniques, économiques et environnementales

	Unités	TEMOIN	ESSAI	P-value
Performances de croissance J12-J33				
Poids	g	1 734	1 793	NS
Consommation d'aliments	g	2 130	2 205	NS
Indice de consommation		1.563	1.542	NS
Ratio Eau / Aliment		2	2.1	NS
Performances de santé				
Mortalité	%	5.9	6.7	NS
Pododermatites	note 0 à 5	0.15	0.10	NS
Rendements carcasse				
Filet	% poids vif	19.6	19.1	NS
Performances environnementales *				
Consommation de Phosphore	Kg P	11	7	-
Consommation d'énergie fossile	MJ	8708.8	6829.8	-
Changement climatique	Kg Co2 eq	1299	761.5	-
Acidification	mol H+ eq	16.4	13.5	-
Eutrophisation	Kg PO4---	5.8	5.7	-
Occupation des sols	m2	2000.5	2269.8	-
Coût alimentaire à la production				
Coût alimentaire	€ / hab / an	10.61 €	10.42 €	-

* Exprimé par tonne d'aliments poulet utilisées pour produire 1 t de poulets vifs

Tableau 4. Effet de l'introduction de graines oléo-protéagineuses dans la ration des poudeuses sur les performances techniques, économiques et environnementales

	Unités	TEMOIN	ESSAI	P-value
Performances zootechniques				
Indice de consommation		1.92	1.92	NS
Poids des œufs	g	61.9	62.8	NS
Masse exportée journalière	g / j	61	62	NS
Qualité des œufs				
Unité de Haugh		83.9	86.1	NS
Performances environnementales *				
Consommation de Phosphore	Kg P	0.077	0.066	-
Consommation d'énergie fossile	MJ	70.5	64.2	-
Changement climatique	Kg Co2 eq	9.6	7.9	-
Acidification	mol H+ eq	0.14	0.14	-
Eutrophisation	Kg PO4---	0.05	0.05	-
Occupation des sols	m2	15.1	19.1	-
Coût alimentaire à la production				
Coût alimentaire	€ / hab / an	7.26 €	8.31 €	-

* Exprimé par tonne d'aliments poudeuse utilisées pour produire la consommation moyenne d'œufs en France (222 œufs)

EFFET DE L'AGE A LA TRANSITION MIETTES – GRANULES ET DU DIAMETRE DU PREMIER GRANULE

**Bignon Laure¹, Chossat Ludovic¹, Picart Cécile², Margetyal Carole³, Launay Claire³,
Quentin Maxime¹**

¹INZO, 1 Rue de la Marébaudière, BP96669 Montgermont, 35766 SAINT-GREGOIRE,

²NEOVIA, Route de Talhouët, 56250 SAINT-NOLFF

³NEOVIA, Site de Chierry, Rue de l'Eglise, CS90019, 02402 CHATEAU-THIERRY

lbignon@inzo-net.com

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail était de mesurer les effets à court terme et à long terme de la transition entre un aliment présenté en miette vers un aliment présenté en granulé afin de l'optimiser. Un premier essai a été réalisé afin de comparer l'effet de l'âge de la transition d'une miette vers un granulé de diamètre 3,5 mm à 13, 20 et 30 jours (T13, T20 et T30). Pour ce faire, 2400 poulets Ross PM3 ont été répartis entre les trois âges de transition à raison de 8 répétitions par âge entre 0 et 35 jours d'âge. A court terme, le passage d'une miette vers un granulé dès J13 a freiné la consommation des animaux le premier jour suivant la transition. Quel que soit l'âge de la transition, le passage d'une miette vers un granulé a généré une plus grande variabilité de consommation. Toutefois, peu d'impacts de l'âge de la transition miette-granulé ont été observés sur les performances zootechniques. Dans un deuxième essai, l'effet de trois présentations de l'aliment croissance : miette (M), granulé 2,5mm (G2.5) ou granulé 3,5mm (G3.5) a été mesuré après une transition à J12. 4800 poulets Ross PM3 ont été répartis entre les trois présentations à raison de 16 répétitions par présentation entre 0 et 20 jours d'âge. A court terme, l'écart de consommation entre le jour de la transition et la veille n'a pas été significativement impacté par la présentation de l'aliment croissance du fait de la très grande variabilité de consommation observée (G2.5 : 1,9g ± 2,9 ; G3.5 : 11,9g ± 23,4 et M : 2,9g ± 2,4). La variabilité de consommation entre parquets a été plus importante pour G3.5 que ce soit à court terme ou sur l'ensemble de la période 12-20 jours. Sur cette période, la consommation était identique quelle que soit la présentation de l'aliment mais les animaux nourris avec G2.5 ont été significativement plus lourds que ceux nourris avec des miettes, le G3.5 a été intermédiaire (G2.5 : 856g ; G3.5 : 847g ; miettes : 843g). En conclusion, après une petite miette, un granulé de diamètre 2,5 mm et de longueur 3-4 mm a semblé adapté à une transition à 12 jours pour du poulet de souche Ross PM3.

ABSTRACT

Effect of age at change-over from crumble to pellet and of the diameter of the first pellet

The aim of this work was to measure short-term and long-term effects of the changeover between two feed forms: from crumble toward pellet, in order to optimize it. A first trial was carried out in order to compare three different ages of changeover from crumble to pellet of 3.5-mm diameter: 13, 20 and 30 days of age (T13, T20 and T30). 2400 Ross PM3 broilers, reared between 0 and 35 days of age, were divided into 3 groups differing by the age of changeover with 8 replicates by age. In the short term, the consumption of animals the first day after the change-over at 13 days from a crumble to a pellet has slowed down. Whatever the age, the change-over from a crumble to a pellet has generated the greatest variability of consumption. Few impacts of the age of the change-over from crumble to pellet have been observed on zootechnical performance. In a second trial, the effect of three grower feed forms: crumble (M), pellet of 2.5 mm diameter (G2.5) or pellet of 3.5 mm diameter (G3.5) was measured after a changeover at 12 days. 4800 Ross PM3 broilers, reared from 0 to 20 days, were distributed between the three feed forms with 16 replicates per feed form. In the short term, the consumption of animals the first day after the change-over at 12 days did not show a significant difference according to the feed form (G2.5 1.9 g ± 2.9, G3.5: 11.9 g ± 23.4 and M: 2.9 g ± 2.4). The variability of consumption was greater for G3.5. Over the period 12-20 days, the consumption was identical regardless of the feed form but the animals fed with G2.5 were significantly heavier than those fed with crumbles, the G3.5 was intermediate (G2.5: 856g; G3.5: 847g; crumbs: 843g). In conclusion, after a small crumble, a 2.5-mm diameter and 3-4 mm long pellet appeared to be suitable for a 12 days transition for Ross PM3 broiler chicken.

INTRODUCTION

En France, l'aliment représente 55% du coût de production (ITAVI, 2017) et s'avère donc être un levier majeur pour gagner en compétitivité. Au-delà de la composition nutritionnelle et du coût des matières premières, la présentation de l'aliment a un impact significatif sur la consommation et l'efficacité digestive des volailles (Abdollahi et al., 2013).

La plupart des essais historiques ont comparé les performances d'animaux nourris avec de l'aliment sous forme de farine vs des aliments granulés et ont montré l'intérêt de ces derniers pour augmenter l'ingestion et donc la croissance en minimisant les dépenses énergétiques (Abdollahi et al., 2013). L'étude des résultats zootechniques obtenus en alimentant des poulets avec des miettes ou avec des granulés est rarement effectuée. Les quelques travaux publiés montrent un léger avantage en faveur du granulé ou des résultats équivalents (Jahan et al., 2006; Cerrate et al., 2008). Il semble en tous les cas essentiel d'adapter la taille des particules à l'âge des volailles en lien avec la taille de leur bec et leurs préférences alimentaires (Portella et al., 1988). Par ailleurs, suite à une transition alimentaire, des refus de consommation peuvent être observés sur le terrain. Ces refus de consommation peuvent s'expliquer par des réactions à court-terme des animaux qui réagissent aux caractéristiques visuelles et tactiles de leur nouvel aliment comparativement à l'aliment précédent (Bouvalet et al., 2013).

Ainsi, l'objectif des essais présentés ci-dessous est, premièrement, de déterminer l'impact de l'âge de transition d'un aliment sous forme de miettes vers un aliment granulé sur le comportement alimentaire et les performances des poulets de chair et deuxièmement, d'optimiser la présentation du premier granulé.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

Lors d'un premier essai, réalisé au CIR de Languidic, 2400 poulets Ross PM3 (Aviagen, France) ont été répartis dans 24 parquets selon 3 traitements (soit 8 répétitions par traitement) se distinguant sur l'âge à la transition, à 13, 20 et 30 jours, d'une miette vers un granulé de diamètre 3,5 mm et de 10 mm de longueur (T13, T20 et T30). A chaque transition, les animaux qui conservaient un aliment sous forme de miettes se voyaient proposer des miettes plus grossières (réglage de l'émietteur : 0,5 mm pour les petites miettes et 3 à 3,4 mm pour les miettes grossières).

Dans un deuxième essai, 4800 poulets Ross PM3 (Aviagen, France) ont été répartis dans 48 parquets. Après un démarrage en miettes (issues de granulés de 3 mm de diamètre) de 0 à 12 jours, trois présentations de l'aliment croissance ont été comparées : miette de 3mm (M), granulé 2,5mm (G2.5) ou granulé 3,5mm

(G3.5) (soit 3 traitements et 16 répétitions). Les granulés faisaient 3 à 4 mm de longueur.

Dans les deux essais, les formules alimentaires étaient identiques pour une même phase du programme d'alimentation. Les animaux avaient accès à l'eau et à l'aliment *ad libitum*. Les aliments ont tous été formulés sur une base blé, maïs, soja. Dans les régimes démarrage et finition du premier essai et démarrage et croissance du second essai du tournesol était présent (<5%). Dans le second essai, 3,5% de tourteau de colza était incorporé dans l'aliment démarrage, 6% dans l'aliment croissance. D'une formule à l'autre, la variation d'incorporation des matières premières était inférieure à 5 points. Ce qui n'engendrait probablement pas de variations importantes de couleur ou de texture.

1.2. Contrôles et mesures

Les teneurs en humidité, protéines brutes, matière grasse et matières minérales des aliments ont été analysées au laboratoire pour valider la conformité avec les valeurs attendues (Laboratoire Upscience, France). La durabilité SABE des aliments granulés a également été mesurée. La dureté des granulés, mesurée avec un appareil Kahl, et le profil granulométrique des miettes n'ont été contrôlés que dans le deuxième essai.

Dans les 2 essais, les animaux et l'aliment consommé ont été pesés par parquet à chaque changement de phase alimentaire et à la fin de l'essai, soit à J13, J20, J30 et J35 pour l'essai 1 et à J12 et J20 pour l'essai 2. Pour étudier plus finement le comportement alimentaire des animaux au moment de la transition, les quantités d'aliments consommés la veille et le jour de la transition ont également été mesurées. Le gaspillage a été apprécié quotidiennement par parquet : pas de gaspillage – score 0 à beaucoup de gaspillage – score 3.

1.3. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel R (v3.5.1). Les données zootechniques (poids, croissance, consommation, indice de consommation), qui vérifiaient les conditions d'application du modèle, ont été soumises à une analyse de variance à un facteur selon un modèle linéaire avec le traitement en facteur fixe. En cas de différence significative, les traitements ont été comparés deux à deux par un test de comparaison des moyennes de Tukey au seuil de 5%. Les mortalités ainsi que la consommation sur la période 12-20 jours et les indices de consommation 12-20 et 0-20 jours du deuxième essai ont été traités avec un test non paramétrique de Kruskal Wallis.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Essai 1. Les aliments étaient conformes à l'attendu du point de vue de la composition chimique. La durabilité des granulés en croissance était de 85% et en finition et en retrait de 91%.

Réaction court-terme – Essai 1

Le passage d'une miette à un aliment sous forme de granulés de diamètre 3,5 mm dès J13 freine la consommation des animaux le premier jour suivant la transition comparativement aux régimes sous forme de miettes (tableau 1). Par ailleurs, c'est également le régime pour lequel on observe la plus grande variabilité sur cet écart de consommation. Lors des 2 autres transitions plus tardives, aucun effet du passage au granulé n'est constaté sur la consommation du premier jour. En revanche, le passage vers un aliment granulé semble générer une variabilité de consommation plus importante le premier jour.

Performances zootechniques – Essai 1

La présentation de l'aliment n'a pas eu d'effet sur sa consommation quelle que soit la période considérée. En revanche, les scores de gaspillage sont plus élevés lors du passage de la miette vers le granulé et tout au long de la période de consommation et la variabilité d'une case à l'autre est très importante (figure 1). Aucun impact de l'âge à la transition n'a été mis en évidence sur les performances globales (poids vifs et indices de consommation). En revanche, sur la période 13-20 jours, la transition miettes – granulés effectuée à 13 jours a eu un léger impact positif sur l'indice de consommation. Cet effet positif n'est pas reconduit sur les périodes suivantes (Tableau 2). Aucune différence de mortalité n'a été mise en évidence sur l'ensemble de la période de l'essai (T13 : 2,6% ± 1,8 ; T20 : 3,2% ± 0,5 et T30 : 2,1% ± 1,1 ; $p > 0,1$).

Le second essai nous a permis de tester l'impact du diamètre des granulés en croissance sur la qualité d'une transition miettes-granulés à 12 jours d'âge.

Essai 2. La composition chimique des aliments était conforme à l'attendu. Les profils granulométriques des miettes en démarrage et croissance étaient proches : plus de 60% des miettes supérieures à 2 mm, 26,5 et 29,4% supérieures à 1,25 mm et 11,6 et 8,2% de particules inférieures à 1,25 mm, respectivement pour l'aliment démarrage et l'aliment croissance. Les granulés de diamètre 2,5 mm étaient moins durs et plus durables que les granulés de diamètre 3,5 mm (dureté : 2,7 vs 3,6 kg/cm² et durabilité SABE : 89% vs 70%).

Réaction court-terme – Essai 2

L'analyse de l'écart de consommation entre le jour de la transition et la veille ne montre pas de différence significative selon la forme de l'aliment croissance du fait de la très grande variabilité observée (G2.5 : 1,9g ± 2,9 ; G3.5 : 11,9g ± 23,4 et M : 2,9g ± 2,4 ; $p > 0,1$). La variabilité de consommation entre parquets est plus importante pour le granulé de 3,5 mm de diamètre.

Performances zootechniques – Essai 2

La consommation d'aliment est identique selon la présentation de l'aliment et quelle que soit la période considérée. Toutefois, la variabilité de cette

consommation est plus importante avec le G3.5 qu'avec G2.5 ou M. Les scores de gaspillage (non présentés ici) sont également plus importants pour le traitement G3.5. Malgré cette consommation identique, les animaux du groupe G2.5 étaient plus lourds, avaient de meilleurs GMQ et IC sur la période 13-20 jours et sur la période globale que ceux du groupe M, les animaux du groupe G3.5 ayant des résultats intermédiaires (tableau 3). Aucune différence de mortalité n'a été mise en évidence sur l'ensemble de la période de l'essai (G2.5 : 2,2% ± 1,4 ; G3.5 : 2,4% ± 1,8 et M : 1,5% ± 0,9 ; $p > 0,1$).

Discussion

La vision des volailles est le premier sens impliqué dans la détection de l'aliment dans l'environnement et revêt une grande importance pour les oiseaux, le deuxième sens impliqué étant le toucher (Bouvarel et al., 2010). Le premier élément perçu par les poulets dans notre essai était la différence de taille des particules. Les différences éventuelles de teinte et de texture (non contrôlées ici) liées aux niveaux d'incorporation de tourteaux de tournesol ou de colza ont impacté de façon équivalente tous les aliments quelle que soit leur présentation. Ainsi, elles ne peuvent expliquer la différence d'ingestion entre une miette et un granulé croissance de même formule, ayant subi le même processus jusqu'à l'émiettement. A court terme, plus la différence de taille des particules est importante entre un aliment et le suivant et plus il y a de variabilité de consommation de l'aliment distribué dans les deux essais. Sur le terrain, avec un grand nombre de poulets, le phénomène de mimétisme amplifie la réaction de refus d'ingestion ou de gaspillage d'un nouvel aliment ce qui peut conduire à des baisses de performances. Le premier essai montre même une consommation moindre le jour suivant la transition d'une petite miette vers un granulé de 3,5 mm de diamètre et 10 mm de longueur. Le second essai met en évidence une variabilité importante de la consommation sur la période 13 à 20 jours pour les animaux consommant le granulé le plus gros. Au-delà de l'impact à court-terme, la consommation des aliments granulés semble plus variable que celle des miettes, en lien avec du gaspillage important qui n'est pas observé en miettes. A plus long terme, le premier essai ne nous permet pas de voir d'amélioration des performances zootechniques avec un aliment granulé conformément à ce qu'avait observé Jahan et al, (2006) qui ont constaté une amélioration des performances zootechniques des animaux nourris avec des aliments en miettes ou granulés plutôt qu'en farine mais aucune différence entre la miette et le granulé. La différence de performances observée entre les 2 diamètres des granulés dans notre deuxième essai pourrait être liée à une différence moindre entre les présentations des aliments démarrage et croissance pouvant favoriser la consommation du nouvel aliment et limiter le gaspillage. Elle peut aussi s'expliquer par une durabilité plus faible des granulés de 3,5mm par

rapport à ceux de 2,5mm de diamètre. Cette différence importante a pu augmenter la quantité de fines dans les assiettes, connues pour impacter négativement la consommation (Lanson et Smyth, 1955).

CONCLUSION

Une transition précoce entre un aliment miette et un aliment granulé peut être intéressante. Il faut toutefois veiller à limiter la différence de présentation entre ces deux phases. Une transition d'une petite miette (3,5

mm x 0,5 mm) vers un granulé de 3,5 mm et 10 mm de longueur a entraîné un gaspillage important tout au long de l'essai chez certains animaux. En revanche, il semble qu'un granulé de diamètre 2,5 mm et 3-4 mm de longueur soit adapté à une transition à 12 jours pour du poulet de souche Ross PM3. La qualité du granulé en termes de durabilité a également un impact sur les performances zootechniques obtenues. Cette conclusion doit être nuancée au regard de la souche utilisée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdollahi M.R., Ravindran V., Svihus B., 2013. Anim. Feed Sci. Technol., (179), 1-23.
- Bouvarel I., Laviron F., Lecuelle S., Chagneau A.-M., Rouchouse S., Lomenie N., Pons T., Hachemi R., Vincent N., Gerfault V., Gomez J.-M., Guillaumin J.-M., Mathiaud A., Panheleux M., Picart C., Richet M., Quentin M., Leterrier C., Lescoat P., 2013. In Dixièmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, La Rochelle, du 26 au 28 mars 2013, pp660-664.
- Bouvarel I., Tesseraud S., Leterrier C., 2010. Prod. Anim., (23), 391-404.
- Cerrate S., Wang Z., Coto C., Yan F., Waldroup P.W., 2008. Int. J. Poult. Sci., (7), 1138-1146.
- ITAVI, 2017.50 p.
- Jahan M.S., Asaduzzaman M., Sarkar A.K., 2006. Int. J. Poult. Sci., (5), 265-270.
- Lanson R.K., Smyth J.R., 1955. Poult. Sci., (34), 234-235.
- Portella F.J., Caston L.J., Leeson S., 1988. Can. J. Anim. Sci., (68), 923-930.

Tableau 1. Essai 1 – Analyse des écarts de consommation entre le jour de la transition et la veille (n=8)

	T13		T20		T30		P
	Moy	sem	Moy	sem	moy	Sem	
Ecart de consommation entre J13 et J12 (g)	12,4 B	2,0	17,4 A	1,1	17,2 A	1,1	0,04
Ecart de consommation entre J20 et J19 (g)	1,3	5,9	3,0	5,1	4,2	2,3	0,91
Ecart de consommation entre J30 et J29 (g)	16,5	8,4	1,5	6,1	2,5	6,1	0,26

A, B indiquent des différences significatives au seuil de 10%

Moy : moyenne ; sem : standard error of the mean ou écart-type

Tableau 2. Essai 1 – Performances zootechniques selon l'âge à la transition (T13, T20 et T30) (n=8)

	T13		T20		T30		P
	moy	sem	Moy	Sem	moy	sem	
PV0 (g)	43	0,1	43	0,1	43	0,1	0,87
PV13 (g)	408	4	415	5	419	3	0,14
PV20 (g)	827	17	822	15	821	10	0,43
PV30 (g)	1512	20	1550	23	1531	17	0,42
PV35 (g)	1890	21	1912	35	1918	17	0,4
GMQ 0-13 (g/j)	28,1	0,3	28,6	0,4	29,0	0,2	0,14
GMQ 13-20 (g/j)	59,8	2,3	58,2	1,5	57,3	1,2	0,33
GMQ 20-30 (g/j)	68,5	2,2	72,8	2,0	71,0	2,2	0,33
GMQ 30-35 (g/j)	75,6	2,1	72,4	3,3	77,3	2,4	0,78
GMQ 0-35 (g/j)	52,8	0,6	53,4	1,0	53,6	0,5	0,61
Conso 0-13 (g/j)	34,8	0,3	34,7	0,3	35,2	0,2	0,40
Conso 13-20 (g/j)	91,2	1,0	90,0	1,7	89,4	1,2	0,53
Conso 20-30 (g/j)	130,4	2,1	134,0	2,4	128,9	1,9	0,25
Conso 30-35 (g/j)	161,8	1,9	165,3	2,3	165,5	2,3	0,41
Conso 0-35 (g/j)	91,0	0,6	92,7	1,0	91,2	0,6	0,31
IC 0-13	1,240	0,011	1,215	0,007	1,215	0,006	0,07
IC 13-20	1,545 a	0,064	1,553 ab	0,018	1,560 b	0,012	0,03
IC 20-30	1,910	0,046	1,843	0,032	1,824	0,040	0,28
IC 30-35	2,149	0,048	2,327	0,138	2,150	0,046	0,33
IC 0-35	1,730	0,019	1,732	0,022	1,704	0,008	0,46

a, b, au sein d'une ligne indiquent des différences significatives au seuil de 5%

Moy : moyenne ; sem : standard error of the mean ou écart-type

PV : poids vif, Conso : consommation individuelle d'aliment; GMQ : gain moyen quotidien; IC : indice de consommation

Figure 1. Essai 1 – Sommes des scores de gaspillage quotidien **a)** en croissance, **b)** en finition, **c)** en retrait

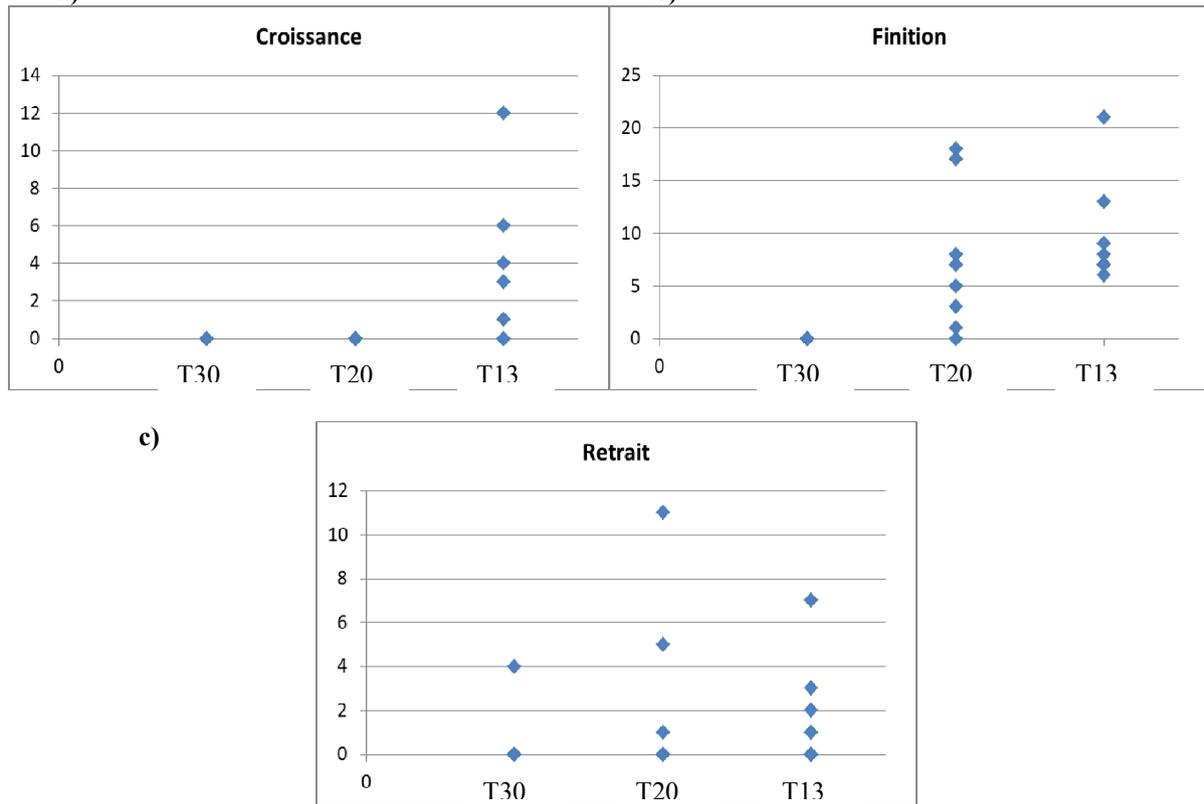


Tableau 3. Essai 2 – Résultats zootechniques sur la forme de l'aliment croissance (n=16)

	M		G2.5		G3.5		P
	moy	sem	Moy	sem	Moy	sem	
PV0 (g)	44,3	0,0	44,3	0,0	44,3	0,0	0,39
PV12 (g)	370	2	370	3	368	3	0,83
PV20 (g)	843 b	4	856 a	3	847 ab	4	0,04
GMQ 0-12 (g/j)	27,1	0,2	27,1	0,2	27	0,2	0,85
GMQ 12-20 (g/j)	59,2 b	0,4	60,8 a	0,2	59,9 ab	0,4	0,006
GMQ 0-20 (g/j)	39,9 b	0,2	40,6 a	0,1	40,2 ab	0,2	0,04
Conso 0-12 (g/j)	35,8	0,2	35,9	0,2	35,8	0,2	0,99
Conso 12-20 (g/j)	91,9	0,4	93,0	0,3	92,9	0,7	0,13
Conso 0-20 (g/j)	58,3	0,2	58,9	0,2	58,8	0,2	0,36
IC 0-12	1,31	0,01	1,31	0,01	1,32	0,01	0,95
IC 12-20	1,55 B	0,01	1,52 A	0,01	1,54 AB	0,02	0,06
IC 0-20	1,45 b	0,00	1,44 a	0,00	1,45 ab	0,00	0,04

a, b, au sein d'une ligne indiquent des différences significatives au seuil de 5%

A, B indiquent des différences significatives au seuil de 10%

Moy : moyenne ; sem : standard error of the mean ou écart-type

PV : poids vif, Conso : consommation individuelle d'aliment; GMQ : gain moyen quotidien; IC : indice de consommation

**UN COMPLEXE D'ACIDES AMINES DE ZINC AMELIORE LA
MORPHOLOGIE DES VILLOSITES INTESTINALES CHEZ LE POULET**
**De Grande Annatachja¹, Delezie Evelyne², Rapp Christof³, Van Immerseel Filip¹,
Leleu Saskia², Ducatelle Richard¹**

¹*Department of Pathology, Bacteriology and Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, 9820 MERELBEKE, Belgium*

²*ILVO (Flanders Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food), Scheldeweg 68, 9090 MELLE, Belgium*

³*Zinpro Corporation, Akkerdistel 2E, 5831 PJ BOXMEER, The Netherlands*

Annatachja.DeGrande@UGent.be

RÉSUMÉ

Le zinc joue un rôle essentiel dans des nombreux processus biologiques et agit principalement comme catalyseur d'enzymes et a des propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires. Le zinc influence la division cellulaire et peut jouer un rôle sur la morphologie intestinale. Les sources de zinc organiques sont considérées comme plus biodisponibles que les sources inorganiques, mais les mécanismes d'amélioration ne sont pas encore très clairs. L'objectif de cette étude est de comparer les effets d'un apport de zinc, sous forme organique ou minérale, sur la croissance, la morphologie intestinale et le statut oxydatif. Il comprend deux traitements : 60 ppm de zinc étaient apportées, soit sous forme de complexe d'acides aminés de zinc (ZnAA), soit sous forme de sulfate de zinc (ZnSO₄) avec 10 cases par traitement contenant chacune 34 poulets mâles (Ross[®] 308). L'aliment est à base de blé et de seigle et se caractérise par de forte teneur en polysaccharides non amyliques hydrosolubles (PNAh). Aucune enzyme PNA n'est incorporée dans l'aliment afin d'augmenter la viscosité intestinale pour induire un léger stress alimentaire chez les poulets. La morphologie intestinale est évaluée dans le duodénum en mesurant la longueur des villosités et la profondeur des cryptes sur des sections colorées à l'hématoxyline-éosine. Le degré d'inflammation intestinale et le statut oxydatif (l'activité de la glutathion peroxydase) sont également évalués. Les données sont analysées statistiquement à l'aide d'un test t pour échantillons indépendants. Le groupe recevant le ZnAA présente un indice de consommation meilleur au cours de la phase de démarrage (0-10j) par rapport aux poulets consommant le ZnSO₄ (J0-10 : 1,149 vs 1,172, P = 0,029). Une longueur de villosités supérieure est observée dans le groupe ZnAA (J10 : 1308 µm vs 1206 µm, P = 0,046 et J28 : 1667 µm vs 1489 µm, P = 0,012). Le traitement avec ZnAA entraîne une baisse de l'activité de la glutathion peroxydase plasmatique (0,60 vs. 0,72 µmol/min.ml, P = 0,021), mais aucune différence n'est détectée concernant l'inflammation intestinale. Ces résultats montrent un impact bénéfique de l'apport de zinc sous forme ZnAA sur la morphologie des villosités intestinales et un besoin moindre en enzyme antioxydant pour maintenir le statut oxydatif.

ABSTRACT

Zinc amino acid complex is improving intestinal morphology in broilers

As zinc plays an essential role in many biological processes and acts as an important catalytic component of proteins and has antioxidant and anti-inflammatory properties. As zinc has an effect on cellular proliferation it's possible that zinc affects intestinal morphology. Organic zinc sources are considered to be more bioavailable than inorganic zinc sources, but it's not clear how this impacts poultry health and performance. A trial was conducted to evaluate and compare the effect of complexed zinc or inorganic zinc source on performance, intestinal morphology and oxidative status. The trial consisted of two treatments: 60 ppm zinc were supplemented either as zinc amino acid complex (ZnAA) or as zinc sulphate (ZnSO₄) with 10 replicates (34 broilers per pen) per treatment. The diet was a wheat-rye based diet with a high level of non-starch polysaccharides without addition of NSP enzyme in order to create an intestinal challenge for the birds due to higher viscosity of the intestinal content. The intestinal health was evaluated by measuring the villus length and the crypt depth on haematoxylin-eosin stained sections. Moreover, the intestinal inflammation and the oxidative status were determined. The treatment group receiving the ZnAA had a significantly lower feed conversion ratio in the early phase compared to birds receiving ZnSO₄ (d0-10: 1.149 vs 1.172 kg/kg, P=0.029). A significantly higher villus length was observed for the ZnAA group at day 10 and at day 28. Treatment with ZnAA resulted in a lower plasma glutathione peroxidase activity (0.60 vs. 0.72 µmol/min.ml, P=0.021), but no difference for intestinal inflammation was found. These results show a beneficial impact on villus morphology and a lower need of antioxidant enzyme to maintain the oxidative status for treatment with ZnAA.

INTRODUCTION

Le zinc est un oligo-élément essentiel car il intervient dans la formation des plumes et des os, la réponse immunitaire et la synthèse de protéines et d'ADN chez les poulets de chair (Cao et al., 2002; Park et al., 2002). Afin de maintenir la santé intestinale et la productivité des poulets de chair dans un contexte de réduction de l'usage des antibiotiques dans l'alimentation, des recherches ont été menées sur un large éventail d'additifs, notamment le zinc, n'importe quelle forme (Ma et al., 2011, Shao et al. 2014). Ainsi Shao et al. (2014) indiquent que le zinc inorganique (zinc sulfate, 120 ppm) participe au maintien de la morphologie et la fonction gastro-intestinale. La supplémentation en zinc inorganique par-rapport à un groupe témoin non supplémenté montre l'augmentation de la longueur des villosités et un effet positif sur la fonction digestive et absorbative des cellules épithéliales. Il n'y a pas de données connues sur les muqueuses intestinales avec les complexes d'acides aminés de zinc. Les mécanismes par lesquels le zinc intervient sur cette fonction méritent d'être élucidés. Selon Oteiza et al. 2000 il semble important de fournir suffisamment de zinc rapidement disponible pour éviter une éventuelle subcarence. Les complexes d'acides aminés de zinc sont considérés comme plus disponibles, en raison de la présence de récepteurs d'acides aminés présents à la surface des entérocytes (Gao et al, 2014, Sauer et al., 2017). Dans ce contexte, cet essai est mené pour comparer l'effet d'un complexe d'acides aminés de zinc à du sulfate de zinc chez le poulet de chair.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et conditions d'élevage

680 poulets de chair mâles d'un jour (Ross® 308) sont divisés de façon aléatoire en 20 groupes (10 répétitions par traitement et 34 poulets de chair par case). Les animaux seront hébergés dans des enclos au sol solide recouvert de copeaux de bois de 2,2 m² au total, mais avec une surface disponible de 1,9 m² et une densité de 17,9 animaux / m². Jusqu'au jour 7, les animaux ont été soumis à un programme d'éclairage de 23 heures avec une heure d'obscurité. À partir du septième jour, les animaux ont été soumis à un programme d'éclairage de 18 heures à la lumière et de 6 heures d'obscurité.

Les températures ont été adaptées au poids des animaux (<0.5 kg, 32°C ; >1kg, 24°C, >1,5 kg, 21°C, >2kg, 18-20°C). Tous les poulets reçoivent une ration blé-seigle à fortes teneurs en PNah sans ajout d'enzyme PNah. Les aliments contiennent 60 ppm de zinc soit sous forme de ZnSO₄ soit sous forme de complexes d'acides aminés de zinc (ZnAA). Le programme d'alimentation est en trois phases. La formule alimentaire utilisée dans cet essai est considérée comme stressante pour le

tractus digestif (Teirlynck et al. 2009), à cause de la teneur élevée en protéines brutes et en polysaccharides non amylacés. Aucune enzyme PNA n'est incorporée dans l'aliment afin d'induire un léger stress alimentaire chez les poulets pour entraîner une forte viscosité intestinale.

1.2. Mesures zootechniques et prélèvement

Aux jours 10, 28 et 36, trois oiseaux par case sont euthanasiés par une surdose intraveineuse de phénobarbital de sodium (20%), suivie d'une exsanguination. Les échantillons de sang sont prélevés dans des tubes enduits d'héparine et conservés à -20°C après centrifugation. Des sections du duodénum sont fixées dans du formaldéhyde à 4%, car il est plus facile de mesurer les longueurs de villosités et la profondeur des cryptes dans le duodénum. Les oiseaux et les aliments sont pesés par enclos pour calculer l'indice de consommation alimentaire (IC), le gain de poids et la consommation alimentaire.

1.3. Analyse histologique

La longueur des villosités et la profondeur des cryptes sont évaluées à partir de lames colorées à l'hématoxyline-éosine de coupes duodénales de trois animaux par enclos (une lame par animal et 10 à 12 villosités mesurées par lame) et d'analyses effectuées à l'aide d'un microscope Leica DM LB2 Digital et du logiciel d'analyse d'image (LAS V4.1).

1.4. Analyse immunohistologique

La densité de cellules CD₃⁺ est déterminée au niveau de la muqueuse du duodénum et sert d'indicateur du statut inflammatoire au niveau intestinal. Pour la coloration par immunohistochimie des cellules CD₃⁺, les lames sont incubées avec un anticorps primaire contre CD₃ (Dako A0452) dilué à 1:100 dans un diluant d'anticorps Dako (S3022) et un polymère marqué HRP anti-lapin utilisé comme anticorps secondaire.

1.5. Analyse stress oxydatif

Le malondialdéhyde (MDA) et l'activité de la glutathion-péroxydase (GPX) sont mesurés dans le plasma pour évaluer le statut antioxydant comme décrit par Michiels et al. (2014). Le MDA est l'un des produits finaux de la réaction en chaîne de la peroxydation lipidique, provoquée par le stress oxydatif. La détermination de la MDA est utilisée pour évaluer la peroxydation lipidique causée par le stress oxydatif. La GPX est une enzyme spécifique

du système antioxydant de la cellule (Michiels et al. 2012).

1.6. Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont effectuées avec SPSS Statistiques (v.23) et la comparaison des données est effectuée avec un test t dans le cas d'échantillons indépendants. Les différences sont considérées comme statistiquement significatives lorsque $P \leq 0,05$ et considérées comme une tendance lorsque $0,05 < P \leq 0,10$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances zootechniques

Les performances moyennes des animaux de l'essai sont de très bons niveau par rapport à objectif de performance d'Aviagen (2014) malgré unaliment non favorable. L'IC est meilleur pendant la période de 0 - 10 jours et montre une tendance à être plus bas pendant la période de 0 - 28 jours chez les oiseaux nourris au régime ZnAA par rapport à ceux nourris au régime ZnSO₄ (tableau 1). Cela n'est pas rapporté dans les essais précédents (Liu et al., 2015, Star et al. 2015), mais différents suppléments de zinc ont été comparés à un groupe témoin non supplémenté et ne se sont pas comparé entretenus ?.

2.2. Morphologie intestinale et immunohistochimie

La supplémentation en ZnAA permet d'obtenir des villosités significativement plus longues dans les sections du duodénum, au jour 10 et au jour 28 (tableau 2). Une augmentation de la longueur des villosités est associée à une digestion et une absorption accrue des nutriments. Les cellules épithéliales migrant de la caryote des villosités à la

pointe des villosités le long de la surface des villosités. L'intégrité des villosités étant supérieure car plus longues et donc en meilleur état et peut résulter dans une expression plus élevée des enzymes de bordure en brosse et des systèmes de transport des nutriments (Awad et al., 2008). L'amélioration de la morphologie des villosités peut permettre d'expliquer l'amélioration de l'IC constatée précédemment lors de l'ajout de ZnAA (tableau 1). Cette forme d'apport de zinc peut induire une amélioration de la morphologie intestinale. L'immunohistochimie ne montre pas de différence significative de densité des cellules de CD3 selon le traitement alimentaire.

2.3 Le stress oxydatif

La supplémentation de ZnSO₄ ou ZnAA n'influence pas les niveaux de MDA dans le plasma. Par ailleurs, une supplémentation en ZnAA montre une activité plasmatique significativement plus faible pour la GPX (Tableau 3). Comme les niveaux dans la MDA ne sont pas significativement différents, le traitement par ZnAA permet un besoin moindre en enzymes antioxydants pour maintenir le même statut antioxydant.

CONCLUSION

La supplémentation en ZnAA dans les conditions d'un léger stress alimentaire entraîne une amélioration de la morphologie des villosités intestinales à la fin de la période de démarrage (jour 10) et à la fin de la période de croissance (jour 28) et du statut antioxydant chez les poulets de chair par rapport à la supplémentation en ZnSO₄. La supplémentation en complexe ZnAA améliore également l'IC des animaux dans la phase initiale (jour 0-10).

Tableau 1: Effet de la supplémentation en ZnSO₄ ou ZnAA sur les performances de croissance des oiseaux (n=10).

Période		PV (g)	GMQ (g/animal/j)	IA (g/j)	IC
0-10 jours	ZnSO ₄	284.7 ± 5.6	24.4 ± 0.5	28.6 ± 0.9	1.172 ± 0.018
	ZnAA	290.5 ± 5.8	25.0 ± 0.5	28.7 ± 0.9	1.149 ± 0.012
	P	0.063	0.061	0.860	0.029
<i>Objectif Aviagen</i>					0.995
10-28 jours	ZnSO ₄		71.5 ± 2.0	104.2 ± 3.2	1.456 ± 0.022
	ZnAA		72.6 ± 2.0	104.7 ± 2.8	1.441 ± 0.017
	P		0.283	0.720	0.167
28-36 jours	ZnSO ₄		106.4 ± 3.1	171.6 ± 3.9	1.613 ± 0.051
	ZnAA		107.4 ± 3.7	174.7 ± 3.9	1.627 ± 0.046
	P		0.487	0.170	0.405
0-28 jours	ZnSO ₄	1572 ± 38	54.7 ± 1.4	77.2 ± 2.2	1.411 ± 0.019
	ZnAA	1597 ± 40	55.6 ± 1.4	77.5 ± 2.0	1.394 ± 0.014
	P	0.207	0.207	0.733	0.073
<i>Objectif Aviagen</i>					1.405

0-36 jours	ZnSO ₄	2423 ± 43	67.3 ± 1.2	98.2 ± 2.4	1.459 ± 0.019
	ZnAA	2456 ± 46	68.2 ± 1.3	99.1 ± 2.1	1.453 ± 0.016
	P	0.188	0.187	0.405	0.375
<i>Objectif</i>					1.558
<i>Aviagen</i>					

Le poids vif (PV) a été déterminé à la fin de chaque période (j10, j28 et d36). Gain moyen quotidien (GMQ), l'ingéré alimentaire (IA) et l'indice de consommation (IC) ont été déterminés aux trois périodes et sont présentés en moyenne ± écart-type)

Tableau 2: Effet de la supplémentation en ZnSO₄ et en ZnAA sur la morphologie intestinale de la muqueuse du duodénum aux jours 10 et 28 (n=10).

	ZnSO ₄	ZnAA	P
Jour 10			
Longueur des villosités (LV) (µm)	1206 ± 221	1308 ± 155	0.046
Profondeur des cryptes, (PC) (µm)	314.5 ± 76.6	301.6 ± 62.1	0.494
Rapport (LV/PC)	3.99 ± 1.05	4.52 ± 1.04	0.049
CD ₃ ⁺ (%) ^c	7.68 ± 2.51	6.32 ± 1.61	0.172
Jour 28			
Longueur des villosités (LV), (µm)	1489 ± 230	1667 ± 262	0.012
Profondeur des cryptes, (µm)	313.6 ± 62.3	311.4 ± 63.2	0.896
Rapport (LV/PC)	5.06 ± 1.13	5.8 ± 1.47	0.046
CD ₃ ⁺ (%) ^c	12.29 ± 2.82	11.54 ± 1.70	0.480

La longueur des villosités (µm), la profondeur des cryptes (µm), le rapport longueur des villosités à la profondeur des cryptes et la densité des cellules de CD₃⁺ sont montrés ainsi que la moyenne ± écart type (n = 10)

Tableau 3: Effet de la supplémentation en ZnSO₄ ou ZnAA sur les paramètres de stress oxydatif dans le plasma à l'âge d'abattage (36^e jour) (n=10)

Paramètres	ZnSO ₄	ZnAA	Valeur P
Malondialdéhyde (nmol/ml)	48.9 ± 5.3	42.5 ± 6.3	0.902
Activité glutathion peroxydase (µmol/min.ml plasma)	0.72 ± 0.04	0.60 ± 0.15	0.021

Tableaux 4: composition des regimes

	Demarrage 0-10 jours	Croissance 10-28 jours	Finition 28-36 jours
<u>Aliments (%)</u>			
Blé	49.29	55.62	59.00
Seigle	5.00	5.00	5.00
Tourteau de soja (48)	29.37	23.16	20.11
Soja	7.50	7.50	7.50
Tourteau de colza	2.00	2.00	2.00
Graisse animale	2.50	2.60	2.70
Huile de soja	1.00	1.00	1.00
Vitamine + oligo-éléments (vitamix)	1.000	1.000	1.000
CaCO ₃	0.820	0.908	0.826
Di-Ca-phosphate	0.650	0.361	0.107
NaCl	0.264	0.226	0.268
Bicarbonate de Na	0.104	0.157	0.101
L-Lys-HCl	0.160	0.175	0.154
DL-Methonine	0.256	0.208	0.167
L-threonine	0.071	0.064	0.049
Phytase	0.020	0.020	0.020
<u>Valeur nutritive calculée</u>			
Proteines brutes (%)	23.00	21.00	20.00
Graisses brutes (%)	6.43	6.41	6.46
Polysaccharides non amylacés hydrosolubles (%)	15.37	15.00	14.83
Energie métabolisable (MJ/k)*	11.013	11.318	11.508
D-Lysine (%)	1.12	1.03	0.95
D-Methionine + Cysteine (%)	0.86	0.77	0.71
D-Threonine (%)	0.75	0.67	0.62
D-Valine (%)	0.89	0.81	0.76
Ca (%)	0.85	0.80	0.70
P disponible (%)	0.40	0.35	0.31
NaCl + KCl (mEq/k)	254	226	213
Acide linoléique (18:2) (%)	2.10	2.07	2.06

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aviagen (2014). Ross[®] 308: performance objectives.

Awad W., Ghareeb K., Böhm J., 2008. Int. J. Mol. Sci. **9** (11), 2205-2216.

Cao J., Henry P.R., Davis, S.R. Cousins R.J. Miles R.D. Litell R.C., Ammerman C.B., 2002. Anim. Feed. Sci. Technol. **101**, 161-170.

Gao S., Yin T., Xu B., Ma Y., Hu M., 2014. Life Scie. **109**, 50-56.

Ma W., Niu H., Feng J., Wang Y., Feng J., 2011. Bio. Trace Elem Res. **142**, 546-556.

- Michiels J., Tagliabue M.M., Akbarian A., Obyn A., De Smet S., 2014. *Avian Biol. Res.* **7** (2),74-82.
- Oteiza P.I., Clegg M.S., Zago M.P., Keen C.L., 2000. *Free Radic. Biol. Med.* **28**, 1091-1099.
- Park S.Y., Birkhold S.G., Kubena L.F., Nisbet D.J.,Ricke S.C., 2002. *Biol. Trace Elem Res.* **101**, 147-163.
- Shao Y., Zhao L., Yuan J., Yang Y., Guo Y., Zhang B., 2014. *Microbiol.* **52** (12), 1002-1011.
- Star L., van der Klis J.D., Rapp C., Ward T.L. (2012). *Poult Sci* **91** (3115-3120).
- Sauer, A. K., S. Pfaender, S. Hagemeyer, L. Tarana, A. K. Mattes, F. Briel, S. Kury, T. M. Boeckers, and A. M. Grabrucker. (2017). *Biometals* 30, 643-661.
- Swiatkiewicz S., Arczewska-Wlosek A., Jozefiak D. (2014). *Worlds Poult Sci J* **70**, (475-485).
- Teirlynck E., Bjerrum L., Eeckhaut V., Huygebaert G., Pasmans F., Haesebrouck F., Dewulf J., Ducatelle R., Van Immerseel F. (2009). *Br J Nutr.* 102 (10), 1453-1461.
- Väyrynen J.P., Tuomisto A., Klintrup K., Karttunen T.J., Mäkinen M.J., 2013. *Br J Cancer* **109**, 1839-1847.

IMPACT DES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DE L'OXYDE DE ZINC SUR LA BIODISPONIBILITE DU ZINC EN POULET DE CHAIR

Cardoso Denise^{1,2,3}, Roméo Agathe³, Durosoy Stéphane³, Meme Nathalie²,
Chevalier Yves¹, Narcy Agnès²

¹Université Lyon 1, LAGEP, CNRS UMR 507, 69622 VILLEURBANNE

²UMR BOA, INRA, Université de Tours, F-37380 NOUZILLY

³Animine – 335 chemin du Noyer – 74330 SILLINGY

dcardoso@animine.eu

RÉSUMÉ

La biodisponibilité d'un oligoélément peut être liée à sa solubilité *in vivo*, qui dépend elle-même des caractéristiques physico-chimiques du produit. Néanmoins, le lien exact entre ces caractéristiques, la solubilité et la biodisponibilité des minéraux n'est pas encore pleinement élucidé. L'objectif de l'étude était d'évaluer la biodisponibilité de plusieurs sources d'oxyde de zinc (ZnO), qui présentaient des propriétés physico-chimiques différentes. Environ 40 échantillons de ZnO ont été analysés pour connaître leurs caractéristiques physico-chimiques. Une analyse en composantes principales a été réalisée pour déterminer les critères les plus pertinents et diviser les échantillons en plusieurs groupes. Des échantillons représentatifs de chaque famille ont été choisis pour un essai *in vivo* sur poulets de chair. 117 animaux étaient nourris avec un aliment standard de 1 à 7 jours. Le 8^{ème} jour, les poulets étaient placés en cages individuelles et recevaient l'un des traitements expérimentaux : contrôle négatif (23 ppm de Zn natif sans Zn ajouté) ou un aliment complété à raison de 6 ou 12 ppm de ZnO ou de sulfate de zinc (ZnSO₄). Les animaux étaient abattus les jours 22 et 23. La concentration de Zn dans l'os était retenue comme critère de biodisponibilité. Les biodisponibilités des sources testées variaient de 56 à 152% comparées à la biodisponibilité de ZnSO₄. La taille des agrégats semblait expliquer la grande variabilité des valeurs obtenues pour la biodisponibilité du Zn en poulet de chair. En conclusion, les propriétés physico-chimiques des sources de ZnO peuvent expliquer en partie la variabilité observée pour la biodisponibilité. D'autres recherches sont en cours pour déterminer des critères plus précis visant à prédire la biodisponibilité des sources de ZnO.

ABSTRACT

Physicochemical properties of ZnO correlated to their bioavailability in broilers

The bioavailability of a trace mineral source is related to its *in vivo* solubility, which in turn is determined by its physicochemical properties. It is still not clear which characteristics are more relevant in affecting solubility and bioavailability of feed compounds. Zinc oxide (ZnO) is a common feed additive used to supplement zinc in the diet of monogastric animals. However, different sources have shown different responses on animal bioavailability. This study hypothesized that different sources of feed grade ZnO have various physicochemical features that lead to distinct bioavailability values. Over 40 samples of ZnO have been collected from the feed industry worldwide. Samples were analyzed for density, tapped density, particle size, shape, specific surface area and dissolution kinetics. A principal component analysis (PCA) was performed to define the most relevant physicochemical characteristics and categorize the samples into groups. Representative products from each family were selected for *in vivo* trial to measure the effect of their characteristics on the zinc bioavailability in broilers. 117 animals were fed a standard starter diet from day 1 after hatching up to day 7. At day 8, animals were allocated in individual cages and fed one of each treatment. Treatments consisted of a basal diet with 23ppm of Zinc and diets with supplement zinc oxide or sulfate at 6 or 12 ppm. Animals were slaughtered at day 22 and 23. Bone zinc was used to analyze zinc availability. The bioavailability of the different sources varied from 56 to 152% from zinc sulfate. Aggregate size seems to explain a large variability in the bioavailability of the different sources tested in broilers. In conclusion, physicochemical properties of Zn oxide can partly explain the variability observed in terms of Zn biological value. Further work is needed to define precisely the most accurate set of predictors of Zn bioavailability.

INTRODUCTION

Le zinc (Zn) est un oligo-élément essentiel supplémenté à un maximum de 120 mg/kg dans les aliments complets destinés au poulet de chair. Le sulfate de Zn ($ZnSO_4$) et l'oxyde de Zn (ZnO) sont deux sources de Zn communément utilisées dans l'alimentation des monogastriques, mais leurs valeurs de biodisponibilité sont très variables (Edwards & Baker, 1999 ; Narcy, 2015) et aucune corrélation n'a pu être établie entre leur solubilité *in vitro* et leur biodisponibilité *in vivo* (Anwar, 2016). Une caractérisation plus fine de ces sources est donc requise pour permettre de prédire plus précisément leur biodisponibilité.

Dans ce but, des échantillons de ZnO ont été collectés sur le marché international de l'alimentation animale et leurs caractéristiques physico-chimiques ont été mesurées ; plusieurs de ces échantillons ont ensuite été testés sur le poulet de chair. L'objectif de l'étude était d'établir un lien entre les caractéristiques physico-chimiques des sources de ZnO et leur biodisponibilité pour les volailles.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Mesure des caractéristiques physico-chimiques

Les critères retenus pour caractériser les produits sont la granulométrie, l'aire de la surface spécifique, la densité apparente, la densité après tassement.

La taille des particules (agrégats et agglomérats) est mesurée par granulométrie laser par voie humide, en utilisant un instrument Malvern Mastersizer 3000. La détermination de l'aire de la surface spécifique (ASS) des poudres sèches est basée sur l'adsorption de l'azote, avec un instrument Tristar 3000 Micrometrics BET.

La densité apparente correspond à la masse par unité de volume. La densité après tassement est mesurée en utilisant un Tapped Density Tester ; le nombre de tassements est fixé en suivant les recommandations de l'Organisation Internationale de la Standardisation (ISO) : 250 ± 15 chutes. Le ratio Hausner (ratio entre densité apparente et densité après tassement) est ensuite calculé.

La cinétique de dissolution est réalisée à l'aide d'une burette automatique (877 Titrino plus, Metrohm, Suisse) ; la dissolution du Zn est estimée en fonction de la quantité d'acide délivrée par la burette

1.2. Animaux et design expérimental

L'essai *in vivo* est réalisé sur 117 poussins mâles (Cobb) âgés d'un jour. Les animaux sont pesés, répartis dans des cases et nourris avec un aliment standard jusqu'au 7^e jour. Le 8^e jour, les poulets sont pesés à nouveau et répartis en cages individuelles à raison de 9 blocs. Ils reçoivent l'un des aliments expérimentaux pendant 14 ou 15 jours ; ces aliments

sont composés d'une base pauvre en zinc (23 ppm de Zn natif), supplémentée avec 6 ou 12 mg/kg de $ZnSO_4$ ou de ZnO (Tableau 1).

Tableau 1 : Aliments expérimentaux

Source de Zn supplémenté	Dose de Zn ajouté (mg/kg)	Zn analysé (mg/kg)
Aucune (base)	0	24,5
ZnSO ₄	6	28,4
	12	34,5
HZ (HiZox®)	6	28,9
	12	34,5
ZnO-1	6	29,7
	12	36,6
ZnO-2	6	29,3
	12	33,6
ZnO-3	6	29,3
	12	33,1
ZnO-4	6	28,5
	12	35,4

Les niveaux de supplémentation ont été choisis en-deçà des besoins des poulets de chair, pour évaluer plus finement la biodisponibilité des différentes sources testées.

1.3. Analyses sur l'os

A J22 et J23, en fin d'essai, tous les animaux ont été abattus (9 par traitement) et leur tibia droit a été prélevé. Une partie des échantillons est immédiatement stockée dans de l'azote liquide (-80°C) en attendant des analyses complémentaires. L'autre partie est pesée puis placée au four à 103°C pendant 12h pour la mesure de matière sèche, puis à 500°C pour 6h pour la détermination du contenu en cendres. La teneur en Zn est ensuite analysée par ICP-AOS.

1.4. Contenus intestinaux

Les contenus du proventricule-gésier et de l'intestin grêle ont été collectés. Les matières sèches des contenus digestifs ont été mesurées après 4h à 104°C avant d'être incinérés (550°C, 8h). Les cendres des contenus ont ensuite été solubilisées dans l'acide nitrique 16N et le peroxyde d'hydrogène 30% sur un bain à sec jusqu'à évaporation, et finalement diluées dans l'acide nitrique 0,4N. La teneur en Zn est finalement analysée par ICP optique.

1.5. Analyses statistiques

L'analyse en composantes principales (ACP) est utilisée pour déterminer les caractéristiques physico-chimiques liées à la cinétique de dissolution.

La concentration de Zn osseux est analysée par la procédure ANOVA du logiciel de traitement statistique R. Une régression linéaire est effectuée entre la concentration de Zn dans le tibia et la consommation de Zn des poulets (Littel, 1997). Les

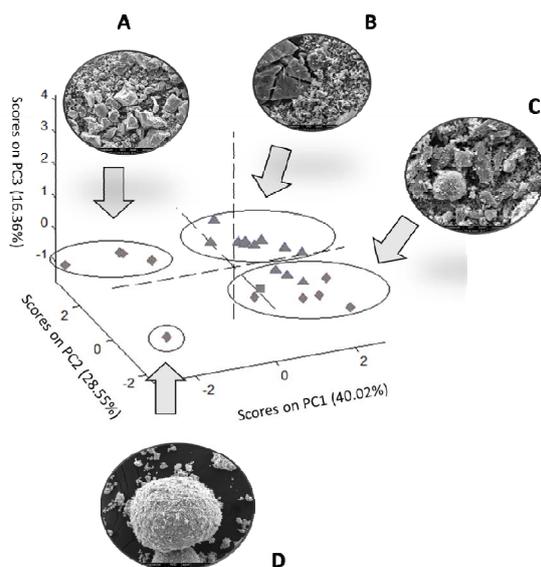
sources ont été discriminées à partir de l'estimation des intervalles de confiance.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Caractéristiques physico-chimiques

La caractérisation des échantillons de ZnO nous a permis de les répartir dans 4 groupes distincts (Figure 1).

Figure 1 : Division des échantillons en 4 groupes par ACP



Les familles A et B présentaient une grande amplitude pour la taille de leurs particules, alors que les familles C et D avaient une granulométrie plutôt homogène. Des agglomérats assez larges (100-300 μm) ont été observés dans le groupe D.

Les poudres comportent des particules primaires libres et des assemblages constituant des agglomérats et/ou des agrégats (Nichols et al., 2002). Les particules primaires peuvent correspondre à des cristaux simples ou à des cristaux composés de cristallites. Les agrégats et les agglomérats agissent comme des particules de grande taille avec une porosité interne (Borm et al., 2016). Les agrégats sont constitués de particules primaires liées solidement entre elles, en général au cours du processus de fabrication du proI amduit. Les agglomérats sont des assemblages plus lâches de particules primaires ou d'agrégats, qui peuvent être assez facilement brisés, contrairement aux agrégats (Balakrishnan et al., 2010 ; Borm et al., 2006 ; Nichols et al., 2002).

Le ZnO est majoritairement obtenu via trois procédés de fabrication. Les caractéristiques des ZnO produits par ces procédés peuvent être reliées aux 4 groupes de notre étude (Tableau 2).

Tableau 2 : Caractéristiques des sources de ZnO en fonction des procédés de fabrication

Méthode	Description de la méthode	Description du produit	Groupe
Directe	Oxydation du Zn métal	ASS entre 1 et 3 m^2/g	A
Indirecte	Réduction du minerai de Zn puis réoxydation	Particules primaires de 30 à 2000 nm, ASS de 3 à 12 m^2/g	B
Humide	Précipitation de l'oxyde d'une solution aqueuse suivie d'une calcination	Poreux, ASS très élevée	C, D

La cinétique de dissolution a montré une dissolution lente pour les échantillons du groupe A (moins de 50% du Zn dissolu après 60 minutes). Pour les groupes B et C, le même schéma de dissolution était observé, avec une dissolution complète en 20 minutes. Les échantillons du groupe D présentaient un comportement unique, avec une dissolution lente (50% de Zn dissolu après 30 minutes).

2.2. Essai *in vivo*

Des échantillons de chaque famille ont été retenus pour l'essai *in vivo* : ZnO-1 et ZnO-3 pour le groupe A, ZnO-4 pour le groupe B, ZnO-2 pour le groupe C et HZ pour le groupe D.

Les niveaux de Zn analysés dans les aliments correspondaient aux valeurs attendues. Aucune différence n'a été observée sur le poids vif. L'effet de la dose sur l'IC dépendait de la source.

Les valeurs de biodisponibilité calculées sont présentées dans le tableau 3, sachant que la biodisponibilité de ZnSO_4 était fixée à 100%. Les régressions linéaires entre le niveau de Zn dans l'os et la consommation de Zn présentaient des pentes différentes. Des différences significatives ont été observées pour la concentration de Zn dans l'os, dépendant de la source ($P < 0,05$) (Tableau 4).

Tableau 3 : Biodisponibilité relative de Zn en fonction de la source

Source	Biodisponibilité relative dans l'os (%)
ZnSO_4	100 ^{ab}
HZ	152 ^a
ZnO-1	124 ^{ab}
ZnO-2	126 ^{ab}
ZnO-3	56 ^b
ZnO-4	126 ^{ab}

Les valeurs obtenues variaient de 56 à 152%. Cette grande variabilité est en accord avec les résultats mesurés dans des études antérieures (Edwards & Baker, 1999 ; Narcy, 2015). Les résultats suggèrent que les caractéristiques physico-chimiques pourraient avoir un impact non négligeable sur la biodisponibilité des produits et, la cinétique de dissolution pourrait jouer un rôle sur la biodisponibilité.

Concernant la concentration en Zn dans le contenu du gésier et le contenu de l'intestin, aucune différence significative n'a été observée. La concentration de Zn dans l'iléum des oiseaux ayant consommé du ZnO-3 était la plus élevée : $0,189 \pm 0,027$ mg Zn/g contenu intestinal sec pour la dose la plus élevée, tandis que les autres sources se situaient entre $0,157 \pm 0,005$ mg/g et $0,164 \pm 0,008$ mg/g à même dose. Ce résultat est cohérent avec sa biodisponibilité très basse et la faible concentration de Zn dans l'os. L'étude *in vitro* avait déjà montré que cette source de ZnO est presque inerte ; elle pourrait passer dans le tractus gastro-intestinal sans être dissoute, et donc sans être absorbée par l'animal.

La corrélation entre la biodisponibilité mesurée dans l'os et les caractéristiques physico-chimiques a été calculée ; cette analyse suggère que la taille des agrégats et l'aire de la surface spécifique sont les critères les plus pertinents pour prédire la biodisponibilité des poudres de ZnO. Des études

complémentaires sont néanmoins nécessaires pour définir les critères les plus pertinents de prédiction de la biodisponibilité des sources.

CONCLUSION

La biodisponibilité des sources de ZnO varie avec leurs propriétés physico-chimiques. La cinétique de dissolution est influencée par ces propriétés *in vitro*. Il est notamment possible que les caractéristiques physico-chimiques puissent avoir un effet sur la vitesse de dissolution. Une corrélation entre les valeurs de biodisponibilité et les propriétés physico-chimiques a montré que 43% de la biodisponibilité pouvait être expliquée par la taille des agrégats, et 27% par l'aire de la surface spécifique des échantillons.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anwar, M., Ravindran, V., Morel, P., Ravindran, G., Cowieson, A., 2016. Br. Poult. Sci. 2016 57 (5), 707-713.
- Balakrishnan, A., Pizette, P., Martin, C. L., Joshi, S. V., Saha, B. P., 2010. Acta Mat., 58 (3), 802-812.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.actamat.2009.09.058>
- Borm, P., Klaessig, F. C., Landry, T. D., Moudgil, B., Pauluhn, J. r., Thomas, K., Trottier R., Wood, S., 2006. Toxicol. Sci., 90 (1), 23-32. doi:10.1093/toxsci/kfj084
- Edwards, H. M., Baker, D. H., 1999. J. Anim. Sci., 77 (10). doi:/1999.77102730x
- Littel, R.C., Henry, P.R., Lewis, A.J., Ammerman, C.B., 1997. J. Anim. Sci., 75, 2672-2683.
- Narcy, A., Roméo, A., Mème, N., Nys, Y., & Durosoy, S., 2015. 11e Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 25 et 26 mars 2015.
- Nichols, G., Byard, S., Bloxham, M. J., Botterill, J., Dawson, N. J., Dennis, A., Diart, V., North, NC., Sherwood, J. D., 2002. J. Pharm. Sci., 91 (10), 2103-2109. doi:10.1002/jps.10191

Tableau 4 : Performances de croissance et Zn osseux

Source	Dose	Poids J22/23 (g)		IC J8-J22/23		Zn osseux (mg/Kg MS)	
Basal	23,5	744	± 43,73	1,38	± 0,14	85,69	± 4,22
ZnSO ₄	28,4	765,78	± 51,82	1,36	± 0,07	100,38	± 4,81
	34,5	771	± 43,77	1,44	± 0,1	107,55	± 2,92
HZ	28,9	761,78	± 21,68	1,47	± 0,14	100,81	± 4,10
	34,5	816,11	± 24,91	1,32	± 0,07	120,68	± 3,40
ZnO-1	29,7	783,44	± 37,4	1,3	± 0,05	99,92	± 2,70
	36,6	800,33	± 17,72	1,49	± 0,07	113,83	± 3,05
ZnO-2	29,3	780,63	± 37,98	1,3	± 0,05	101,54	± 4,58
	33,6	840,11	± 24,14	1,28	± 0,07	115,95	± 4,05
ZnO-3	29,3	819	± 21,33	1,41	± 0,06	91,16	± 4,12
	33,1	821,11	± 17,94	1,19	± 0,07	99,94	± 5,77
ZnO-4	28,5	840,11	± 24,14	1,28	± 0,07	102,25	± 3,07
	35,4	806,33	± 30,79	1,37	± 0,06	116,66	± 3,28
	Source	NS		NS		< 0,001	
P-value	Dose	NS		< 0,01		< 0,001	
	Source*Dose	NS		< 0,01		NS	

EFFETS DU NIVEAU PROTEIQUE ET DES APPORTS EN VALINE ET ISOLEUCINE EN FIN DE PONTE

**Quentin Maxime¹, Guerini Celine¹, Jeay Lionel², Margetyal Carole², Michel Virginie²,
Launay Claire²**

¹INZO, 1 Rue de la Marébaudière, BP96669 Montgermont, 35766 SAINT-GREGOIRE,

²NEOVIA, Site de Chierry, Rue de l'Eglise, CS90019, 02402 CHATEAU-THIERRY

mquentin@inzo-net.com

RÉSUMÉ :

L'allongement de la durée de production des poules pondeuses implique une bonne persistance de ponte ainsi qu'une gestion optimale des calibres des œufs pour être rentable. L'adaptation des niveaux nutritionnels passe par la réduction des apports en protéine et en acides aminés essentiels. Avec la baisse du niveau protéique, les apports en valine et isoleucine digestible pourraient devenir limitants et les niveaux nécessitent d'être précisés. Dans cet essai, 1500 poules Lohmann Brown de 80 semaines d'âge ont été nourries pendant 10 semaines avec 4 aliments à basse teneur en protéine (BP :13,7%) et avec des concentrations combinées en isoleucine et/ou valine haute ou basse (Hi :0,52% ou Bi :0,45% en isoleucine et Hv :0,60% ou Bv :0,54% en valine). Les 4 aliments sont dénommés ainsi : BP-HvHi ; BP-HvBi ; BP-BvHi et BP-Bv-Bi. Enfin un aliment à teneur plus élevée en protéine (HP : 14,8%), isoleucine (Hi : 0,52%) et valine (Hv : 0,60%) digestible a été utilisé pour mesurer l'effet du niveau protéique sur les performances. Le taux ponte (TP), la masse d'œufs (MO) et l'indice de consommation (IC) sont significativement améliorés par l'aliment HP en comparaison de l'aliment BP (+1,6%, +1g/p/j et -3% respectivement) mais une augmentation de 4.2% du taux d'œufs sales a été mesurée. A basse teneur en protéine (aliments BP), la teneur élevée en isoleucine améliore significativement les PO (poids moyen des œufs), la MO et l'IC ce qui n'est pas le cas pour la valine. Une interaction significative entre les niveaux des deux acides aminés indique que leur optimisation est nécessaire à l'expression des meilleurs résultats. Si une teneur en isoleucine élevée assure les meilleures performances de ponte (0,52% pour un ingéré de 557mg/p/j), elle est potentialisée par une teneur en valine de 576 mg/p/jour (0,54% dans l'aliment). Le ratio isoleucine/valine optimal semble en accord avec les données de la littérature (Isoleucine/Valine =96% dans notre essai).

ABSTRACT

Effect of protein , isoleucine and valine levels of the feed at the end of the laying period

The lengthening of the laying hens production time require a good persistency of lay as well as a good management of egg weight. To achieve this goal a reduction of protein and essential amino acids intake is a useful tool but with a low protein levels in the feed, valine or isoleucine may become limiting and their respective level need further investigation. In this trial, 1500 Lohmann Brown of 80-week-old hens were fed during 10 weeks with 4 low-protein feeds (BP: 13,7%) with combined concentrations of isoleucine or valine (Hi: 0,52% or Bi: 0,45% isoleucine and Hv: 0,60% or Bv: 0,54% valine). The 4 feeds are referred: BP-HvHi; BP-HvBi; BP-BvHi and BP-Bv-Bi. Finally a feed with a higher protein (HP: 14,8%), isoleucine (Hi: 0,52%) and valine (Hv: 0,60%) digestible content was used to measure the effect of the protein level on performance. The egg-laying rate (TP), the egg mass (MO) and the feed conversion ratio (IC) are significantly improved by the HP feed in comparison with the BP feed (+ 1,6%, + 1g / p and -3% respectively) but a 4,2% increase in the rate of dirty eggs was measured. At low protein content (BP feeds), the high isoleucine content significantly improves egg weight (PO), MO and IC, which was not observed in the case of valine level. A significant interaction between the levels of the two amino acids implies that their optimization is necessary for the expression of the best results at BP level. If a high isoleucine content provides the best laying rate (0,52% in feed for an intake of 557 mg/l/day), it is potentiated by a valine content of 576 mg / l / day (0,54% in feed). The optimal isoleucine / valine ratio seems consistent with literature data (Isoleucine / Valine = 96% in our assay).

INTRODUCTION

L'allongement de la durée de production des poules pondeuses implique aussi bien une bonne persistance de ponte qu'une parfaite maîtrise des calibres. Le marché de l'œuf coquille privilégiant de plus en plus les calibres moyens, la maîtrise du poids d'œufs via l'adaptation des niveaux nutritionnels est rendu nécessaire. En milieu et fin de ponte, cette maîtrise passe par la réduction des apports en protéine et en acides aminés essentiels (Shim et al, 2013). Cette approche permet une bonne maîtrise des rejets azotés et s'inscrit également dans une démarche durable pour l'élevage des poules pondeuses.

Avec la baisse des niveaux protéiques, la thréonine puis les apports en valine et isoleucine digestibles pourraient devenir limitants (Azzam et al, 2015). Si la thréonine de synthèse est actuellement disponible pour assurer des apports efficaces, il n'en est pas de même pour la valine et l'isoleucine dans les aliments commerciaux. En outre, une grande variabilité de recommandations existe dans la littérature pour ces deux acides aminés.

L'objectif de cet essai était de préciser l'influence du niveau protéique et de la teneur en isoleucine et valine de l'aliment en toute fin de ponte. Entre 80 et 89 semaines d'âge, les effets de deux niveaux protéiques ont été testés ainsi que 4 combinaisons de teneurs en valine et isoleucine dans des conditions de basse teneur en protéine du régime. L'effet de ces aliments sur les performances de ponte et la qualité des œufs a été mesuré.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

L'essai s'est déroulé entre 80 et 89 semaines d'âge, et 1500 poules Lohmann Brown réparties dans 100 cages d'un bâtiment expérimental de NEOVIA (Montfaucon, France) ont reçu 5 aliments expérimentaux soit 20 répétitions par traitement. Les aliments sont iso-énergétiques (EM = 2660 kcal/kg) et de niveaux équivalents en lysine, méthionine, tryptophane, thréonine digestible. Ils ont été fabriqués à l'usine expérimentale d'EURONUTRITION (St Symphorien, France). Quatre des 5 aliments ont été formulés à basse teneur en protéines (BP : 13,7%) et avec des concentrations combinées en isoleucine et/ou valine digestible haute ou basse (Hi : 0,52% ou Bi : 0,45% en isoleucine et Hv : 0,60% ou Bv : 0,54% en valine). Les 4 aliments sont dénommés ainsi : BP-HvHi ; BP-HvBi ; BP-BvHi et BP-Bv-Bi. Enfin un aliment à teneur plus élevée en protéine (HP : 15,8%), isoleucine (Hi : 0,52%) et valine (Hv : 0,60%) digestible (HP-HvHi) a été formulé comme témoin positif (Tableau 1).

Une distribution manuelle d'aliment a été réalisée en deux repas quotidiens. Un quart de la ration est

distribuée à 8h puis le reste vers 15h après un vide de mangeoire. La température (22°C en consigne) et la ventilation ainsi que le programme lumineux (16 h de lumière/jour ; 15 lux) ont été contrôlés quotidiennement.

Les consommations d'aliments, le nombre d'œufs, le poids moyen des œufs et le taux d'œufs déclassés (cassés ou sales) a été relevé chaque semaine.

1.2. Analyse des aliments

Un échantillon de chacun des 5 aliments expérimentaux a été analysé au laboratoire Upscience (St Nolff, France). Leur teneur en protéine brute a été contrôlée (selon la méthode de Dumas) ainsi que le profil en acides aminés totaux.

1.3. Analyses statistiques

Afin de clarifier la présentation des effets des paramètres considérés (taux protéique, teneur en valine et en isoleucine), l'analyse des données a été effectuée en deux temps le premier a consisté à la comparaison des performances des niveaux protéiques haut et bas (traitements HP-HvHi et BP HvHi) par une ANOVA à un seul facteur. Les effets des teneurs en valine et isoleucine sur les données de consommation (CONSO), de poids d'œuf (PO), de taux de ponte (TP), de masse d'œuf (MO) et d'indice de consommation (IC) ont été analysés par une ANOVA à deux facteurs constitués des niveaux d'isoleucine (BP-Hi ou BP-Bi) et valine (BP-Hv ou BP-Bv) afin de pouvoir prendre en compte une potentielle interaction entre les deux acides aminés. La comparaison des moyennes a été réalisée à l'aide du test de Student, Newman et Keuls. Les critères de qualité des œufs (taux d'œufs sales ou cassés) ont subi une transformation Arcsinus racine-carrée avant l'ANOVA. Ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel Statview 5.0 (SAS Institute, USA).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Conformité des aliments

Les résultats analytiques ont été globalement conformes pour les niveaux d'acides aminés toutefois il est à noter qu'un écart de 1% de protéine a été retrouvé sur le traitement HP (15,8% de protéine analysé vs 14,8% en formule). En ce qui concerne les aliments BP, toutes les valeurs analysées sont légèrement supérieures à la théorie (+0,5%) mais un écart sensible entre la valeur analytique et la valeur théorique a été mesurée pour l'aliment BP-HvHi (+0,7%). Globalement, même si ces écarts semblent limités il conviendra d'en tenir compte dans l'analyse et interprétation des résultats (Tableau 1).

2.2. Effet du niveau protéique

Dans la littérature, les données concernant la réponse des poules pondeuses au niveau protéique entre 80 et 89 semaines de ponte sont limitées. Dans cet essai, un apport de 15,8% (HP) de protéine dans la ration a permis une amélioration significative de 0,6% du TP en comparaison d'un apport de 14,3% (BP) (Tableau 2). La MO a été augmentée de 1,1 g par poule et par jour alors que le PMO est resté équivalent entre les deux traitements. L'IC a été réduit de près de 3% pour les poules nourries avec l'aliment HP en comparaison des poules nourries avec l'aliment BP.

Un ingrédé protéique de 16,3 g/jour a été mesuré pour les poules BP alors que celui des poules HP a été de 17,3 g par jour. La préconisation sélectionneur de la souche Lohmann Brown Classic (LTZ Managment Guide) après 65 semaines est de 17 g par poule et par jour. Cette préconisation semble donc encore cohérente après 80 semaines d'âge puisque les performances ont été dégradées à un ingrédé protéique de 16,3g/j.

Concernant la qualité des œufs, une augmentation de 66% du taux d'œufs sales a été mesuré avec l'aliment HP en comparaison du BP (de 6,4% avec l'aliment BP à 10,6% avec l'aliment HP). Cette dernière observation vient contrebalancer l'intérêt technique d'un niveau protéique élevé entre 80 et 89 semaines d'âge. Cette observation a également été faite au pic de ponte. Une augmentation de 17% des œufs sales a été rapportée par Roffidal et al (2017) entre 26 et 26 semaines d'âge lorsque la teneur en protéine de l'aliment passe de 16,5 à 17,5%. Un niveau élevé en protéine pourrait être favorable à une dysbiose digestive causée par une sur-fermentation dans la partie distale du tractus digestif (Gilbert et al, 2018). Elle a pour conséquence une augmentation de la viscosité du contenu digestif à l'origine des œufs sales. Dans cet essai aucune dégradation significative de l'humidité des fientes n'a été observée pendant l'essai pourtant les poules ont été sensibles au niveau protéique de la ration.

2.3. Interactions entre les niveaux en isoleucine et valine

L'isoleucine et la valine font partis des acides aminés ramifiés, et leur structure commune implique un partage des systèmes cellulaires de transport et de dégradation (Huyghebaert et al, 1991). Des antagonismes entre ces trois acides aminés ont été mis en évidence chez le rat, le poulet de chair, la dinde et le porc mais ils pourraient également induire des modifications dans le transport d'acides aminés à longue chaîne comme le tryptophane, acide aminé essentiel précurseur de la sérotonine, neuromédiateur impliqué dans l'expression du comportement alimentaire et dans de nombreuses fonctions (Mullen et Martin, 1992).

Dans cet essai, le niveau de tryptophane est resté fixe mais des effets significatifs du niveau d'isoleucine ont

été mesurés sur le poids d'œufs, l'indice de consommation (Tableau 3). Avec un niveau élevé d'isoleucine, le poids d'œufs a été augmenté de 0,3 g et la masse d'œufs de près d'1,7g/poule/j pour un ingrédé de 557 vs 490 mg/poule/j d'isoleucine avec Hi et Bi respectivement. Les consommations étant équivalentes, l'IC a été amélioré de près de 0,1 point entre les deux niveaux d'isoleucine. Dans la littérature, Peganova et Eder (2002) indiquent, qu'entre 46 et 54 semaine d'âge une masse d'œufs optimale est obtenue à 0,4% d'isoleucine dans la ration, équivalent à un ingrédé de 431mg/poule/j. Selon Bregendahl et al (2008) les besoins en isoleucine pour une masse d'œufs optimale sont de 426mg/jour (entre 26 et 58 semaines d'âge) soit très proche des préconisations de Peganova et Eder (2002). Pourtant, pour ce même acide aminé, la recommandation de Lohmann est largement plus élevée avec 665 mg/p/j (Lemme, 2009). Les données de la littérature sont donc variables et très peu d'informations sont disponibles en toute fin de ponte, néanmoins dans cet essai, il est intéressant de constater qu'un ingrédé en isoleucine inférieur à 557mg/poule/j s'est traduit par une baisse de performance.

En ce qui concerne la valine, seul le poids d'œuf a été impacté significativement par un niveau élevé de valine. Une baisse de 0,3 g de poids d'œuf a été mesurée pour un ingrédé en valine de 626 mg/poule/jour en comparaison d'un ingrédé de 575 mg/poule/jour. Cette mesure est quelque peu surprenante car Bregendahl et al (2008) indique un besoin en valine pour une MO optimisée de 501 mg/p/j et Lemme (2009) préconise 731 mg/p/j. En outre Azzam et al (2015) n'ont pas relevé d'effet significatif d'un excès de valine sur les performances des poules pondeuses.

Dans cet essai, la MO n'a pas été impactée significativement par le niveau en valine ce qui semble indiquer que cet acide aminé n'est pas limitant. Pourtant une tendance à l'interaction est observée (P=0,07) et elle est significative pour le TP (Tableau 3). L'interaction se caractérise par une amélioration de près de 5% du TP du traitement BP-HiBv vs le traitement BP-BiBv (70,6% vs 67,2% respectivement) alors qu'aucune différence significative n'a été mesurée entre les traitements BP-HiHv et BP-BiHv dont les TP sont de niveau intermédiaire (69,3% et 68,3% respectivement). Cet écart de réponse pourrait indiquer l'importance d'un équilibre entre l'isoleucine et la valine pour une expression optimale de la ponte. Dans cet essai le ratio isoleucine/valine de 96% serait l'optimal. Ce ratio est proche de celui proposé par le NRC (1994) ou le CVB (1996) mais selon les auteurs il varie de 84 à 116% (Bregendahl et al, 2008). Il convient de rester prudent quant à l'interprétation de cette interaction car le traitement BP-HiHv correspond à celui dont la teneur en protéine brute était différente des trois autres (cf. analyse d'aliment) et il est envisageable

que le niveau en protéine plus élevé de ce traitement a pu modifier les teneurs en acides aminés non contrôlés dans cette étude et modifié la réponse des poules pondeuses.

La qualité de la coquille n'est pas impactée par les niveaux en isoleucine ou valine toutefois les teneurs élevées en ces deux acides aminés ont entraîné une réduction significative du taux d'œufs sales. Une baisse de 1,4% et 2% du taux d'œufs sales a été mesurée avec les niveaux hauts en isoleucine et valine respectivement. Cet effet est à notre connaissance peu rapporté dans la littérature mais la proportion d'œufs sales est rarement prise en compte. Ceci suggère que les niveaux élevés en valine et isoleucine auraient limité la dégradation de la qualité des fientes conduisant à une moindre contamination de la coquille durant la ponte.

CONCLUSION

Entre 80 et 89 semaines d'âge un taux protéique supérieur à 14,8% a permis une amélioration sensible des performances de ponte, de la masse d'œufs et de

l'IC mais une dégradation significative de la proportion d'œufs sales. A teneur basse en protéine, l'optimisation des teneurs en isoleucine et valine semble nécessaire à l'expression des meilleurs résultats. Si une teneur en isoleucine élevée (0,52% pour un ingéré de 557mg/p/j) assure les meilleures performances de ponte (TP), elle est potentialisée par une teneur en valine de 576 mg/p/jour (0,54% dans l'aliment). Le ratio isoleucine/leucine optimal semble en accord avec les données de la littérature (Isoleucine/Valine = 96% dans notre essai).

Pour préserver la qualité des œufs, contrôler le calibre et réduire l'impact environnemental de la production d'œufs, un taux protéique bas est intéressant mais il implique des niveaux et un équilibre en isoleucine et valine maîtrisés.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Arnaud COUSIN, et l'ensemble du personnel de la station expérimentale de Montfaucon qui a participé activement à ce travail.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Azzam M.M.M., Dong X.Y., Dai L., Zou X.T., 2015. *British Poultry Science*, (56), 72-78.
- Bregendahl K., Roberts S.A., Kerr B., Hoehlert D., 2008. *Poultry Science*, (87), 744-758.
- Gilbert M.S., Ijssennagger N., Kies A.K., Van Mil S.W.C., 2018. *American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology*, (315), 159-170.
- Huyghebaert G., De Groote G., Butler E.A., Morris T.R., 1991. *British Poultry Science*, (32), 471-481.
- Lohmann Brown Classic Management Guide: <https://www.lohmannfrance.com/nos-poules-pondeuses/pondeuse-lohmann-brown-classic/>
- Lemme, A., 2009. *Lohmann Information*, Vol. 44 (2), 21-32.
- Mullen B. J., Martin R. J., 1992. *American Journal of Physiology*, (263) 559.
- Peganova S., Eder K., 2002. *Poultry Science*, (81) 1714-1721.
- Roffidal L., Quentin M., Jeay L., Margetyal C., Guerini C., Laffitte E., Launay C., 2017. 12ème journées de la Recherche Avicole, 5 et 6 avril 2017, Tours, France.
- Shim M.Y., Song E., Billard L., Aggrey S.E., Pesti G.M., Sodsee P., 2013. *Poultry Science*, (92), 2687-2696.

Tableau 1 : Composition et caractéristiques nutritionnelles des aliments expérimentaux

Aliment		HP-HvHi	BP-BvBi	BP-HvHi	BP-HvBi	BP-BvHi
Blé	%	27	40	39,7	36,5	37,7
Maïs	%	38,1	29	29	32	31
Son de blé	%	4,1	2,7	3,4	2,8	2,8
Colza Huile	%	1	1	1	1	1
Tourteaux de Soja 48	%	10,8	1,4	1,5	1,6	1,5
Tourteaux de Colza	%	3,6	5	5	5	5
Tourteaux de Tournesol Hipro	%	4,1	9,6	9	9,8	9,7
Phosphate Monocalcique	%	0,94	0,88	0,87	0,89	0,89
Carbonate de Calcium semoulette	%	8,1	7,85	7,86	7,84	7,85
L-Lysine 78	%	1,16	0,31	0,31	0,3	0,31
DL-Méthionine	%	0,08	0,07	0,08	0,07	0,07
L-Thréonine	%	0,04	0,10	0,10	0,10	0,10
L-Tryptophane	%		0,02	0,02	0,02	0,02
Isoleucine	%			0,07		0,07
L-Valine	%			0,07	0,06	
COV	%	2	2	2	2	2
Caractéristiques Nutritionnelles						
Energie Volaille (EM)	Kcal/kg	2660	2660	2660	2660	2660
Protéine Brute Théorique		14,8	13,7	13,7	13,7	13,7
Protéine Brute Analysée	%	15,8	14,3	14,8	14,1	14,1
Lysine dig	%	0,63	0,63	0,63	0,63	0,63
Méthionine dig	%	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Mét+Cys dig	%	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
Thréonine dig	%	0,49	0,49	0,49	0,49	0,49
Tryptophane dig	%	0,15	0,15	0,15	0,15	0,15
Isoleucine dig	%	0,52	0,45	0,52	0,45	0,52
Valine dig	%	0,60	0,54	0,60	0,60	0,54

Tableau 2 : Effet du niveau protéique sur les performances de poules pondeuses entre 80 et 89 semaines d'âge

Niveau Protéique	Consommations		% Ponte	Poids Moyen des œufs (g)	Masse d'œuf produite (g/p/jour)	IC (g aliment /g d'œuf)	% œufs Cassés*	% Œufs Sales*
	Moyenne (g/p/jour)	Protéine Ingérée (g/p/j)						
HP-HiHv	109,3	17,3	71,1 ^a	65,4	46,5 ^a	2,379 ^b	2,7	10,6 ^a
BP-HiHv	109,8	16,3	69,5 ^b	65,4	45,4 ^b	2,448 ^a	2,4	6,4 ^b
ANOVA	NS	-	P<0,05	NS	P<0,05	P<0,05	NS	P,0,05

* les données ont été analysées par ANOVA après transformation Arcsin√ de la valeur mesurée
Les moyennes par colonnes ayant un exposant différent sont statistiquement différents au seuil de probabilité de P<0,05

Tableau 3 : Effet des niveaux de valine et d'isoleucine ingérés sur les performances de poules pondeuses entre 80 et 89 semaines nourries avec un régime à basse teneur en protéine

	Consommations			% Ponte	Poids Moyen des œufs (g)	Masse d'œuf produite (g/p/j)	IC (g aliment /g d'œuf)	% œufs Cassés*	% Œufs Sales*
	Moyenne (g/p/j)	Isoleucine (mg/p/j)	Valine (mg/p/j)						
Hi	110,1	557	601		65,5 ^a	45,8 ^a	2,436 ^b	2,43	7,2 ^b
Bi	110,3	490	599		65,2 ^b	44,1 ^b	2,537 ^a	2,34	8,6 ^a
Hv	109,9	523	626		65,2 ^b	44,8	2,484	2,44	6,9 ^b
Bv	110,6	525	575		65,5 ^a	45,1	2,488	2,33	8,9 ^a
HiHv		560	626	69,3 ^{ab}					
BiHv		484	627	68,3 ^{bc}					
HiBv		554	576	70,6 ^a					
BiBv		496	574	67,2 ^c					
ANOVA									
Effet Isoleucine	NS	-	-	P<0,01	P<0,01	P<0,01	P<0,01	NS	P<0,01
Effet Valine	P<0,01	-	-	NS	P<0,01	NS	NS	NS	P<0,01
Isoleucine x Valine	NS	-	-	P<0,01	NS	P=0,07	NS	NS	NS

* les données ont été analysées par ANOVA après transformation Arcsin√ de la valeur mesurée
Les moyennes par colonnes ayant un exposant différent sont statistiquement différents au seuil de probabilité de P<0,05

EFFET DU NIVEAU PROTEIQUE ET DE L'EQUILIBRE EN ACIDES AMINES SUR LE PICAGE DU CANARD DE BARBARIE

Bignon Laure¹, Chossat Ludovic¹, Margetyal Carole², Launay Claire², Quentin Maxime¹

¹INZO, 1 Rue de la Marébaudière, BP96669 Montgermont, 35766 SAINT-GREGOIRE,

²NEOVIA, Site de Chierry, Rue de l'Eglise, CS90019, 02402 CHATEAU-THIERRY

lchossat@inzo-net.com

RÉSUMÉ

L'objectif de cet essai était de mesurer l'impact des niveaux protéiques et/ou en acides aminés essentiels sur le comportement de picage des canards de Barbarie. Pour cela, 1440 animaux mâles de souche R 71 M ont été répartis selon quatre traitements (8 répétitions) : « Témoin », « Protéines + » enrichi en protéines par une augmentation du niveau de protéines en laissant suivre les niveaux d'acides aminés, « Méthionine + » enrichi en méthionine uniquement et un régime « AAE + » basé sur les niveaux nutritionnels du régime témoin mais en imposant les niveaux de lysine, méthionine, arginine, thréonine, tryptophane, valine et isoleucine du régime « Protéines + ». Le poids des animaux et la consommation d'aliment ont été mesurés à J0, J25, J49 et J68. Le nombre d'animaux piqués a été relevé quotidiennement. En croissance, le GMQ des animaux « AAE + » a été significativement supérieur à celui des animaux « Témoin » ou « Méthionine + » (98,7g/j vs. 91,8 et 92,8g/j ; $p < 0,01$). Le GMQ des « Protéines + », bien qu'élevé, n'était pas significativement différent de celui des « Méthionine + » (98,4g/j vs. 92,8g/j ; $p > 0,05$). Sur cette période, les indices de consommation des régimes « AAE+ » et « Protéines + » ont été significativement inférieurs à ceux des deux autres régimes (2,30 vs. 2,42 ; $p < 0,001$). En finition, le traitement « Témoin » a présenté le GMQ le plus élevé. Sur les performances globales, aucune différence significative n'a été mise en évidence. Sur le plan comportemental, le traitement « Témoin » présente significativement plus de picage que le traitement « AAE + » lui-même significativement supérieur au traitement « Protéines + » (respectivement : 32,5%, 26,1% et 7,2% ; $p < 0,001$). Le traitement « Méthionine + » (29,2% de picage) est intermédiaire entre le « Témoin » et « AAE+ ». Les mesures comportementales suggèrent que le comportement de picage n'est pas lié à une simple subcarence en méthionine ou en quelques acides aminés essentiels, d'autres acides aminés pourraient aider à contrôler le picage.

ABSTRACT

Effect of protein level and amino acid balance on feather pecking of Muscovy duck

The objective of this trial was to measure the impact of protein and/or essential amino acid levels on the feather pecking behaviour of Muscovy ducks. 1440 males of the strain R 71 M were divided into four treatments (8 replicates): "Control", "Protein +" enriched in protein by increasing the protein content while leaving amino acid levels, "Methionine +" enriched in methionine only and an "AAE +" diet based on nutritional levels of control diet but keeping the "Protein +" diet levels of lysine, methionine, arginine, threonine, tryptophan, valine and isoleucine. Animal weight and feed consumption were measured at D0, D25, D49 and D68. The number of animals pecked was recorded daily. During the grower phase, the ADG of "AAE +" animals was significantly higher than that of "Control" or "Methionine +" animals (98.7g/d vs 91.8 and 92.8g/d; $p < 0.01$). The ADG of "Protein +", although high, was not significantly different from that of "Methionine +" (98.4g/d vs 92.8g/d; $p > 0.05$). Over this period, the feed conversion ratio of the "AAE+" and "Protein +" diets were significantly lower than those of the other two diets (2.30 vs 2.42; $p < 0.001$). During the finisher phase, the "Control" treatment had the highest ADG. On the overall performance, no significant differences were found. Significantly more feather pecking was observed in the "Control" group compared to the "AAE +" group, and in "AAE +" group compared to the "Protein +" group (respectively: 32.5%, 26.1% and 7.2%; $p < 0.001$). The "Methionine +" treatment (29.2% of pecking) is intermediate between the "Control" and "AAE+". Behavioural measures suggest that feather pecking behaviour is not related to a simple sub-deficiency in methionine or some essential amino acids, others amino acids could help to control feather pecking.

INTRODUCTION

Le picage et le cannibalisme sont un problème majeur en élevage de volailles. En canard de Barbarie, les premiers signes de cannibalisme peuvent être observés dès 13 jours d'âge et semblent en lien avec l'apparition des premières plumes (Riber et Mench, 2008). Par ailleurs, de nombreux travaux se sont intéressés à l'étiologie du picage, essentiellement en poules pondeuses. L'hypothèse principale implique, dans les élevages modernes, un manque de possibilité satisfaisante de piquer le sol que ce soit dans un objectif d'exploration en lien avec le comportement alimentaire ou dans un objectif de réaliser des bains de poussière (Savory, 1995). En canards de Barbarie, peu de publications sont disponibles. Bien que certaines confortent ces hypothèses (Rodenburg et al., 2005), cela ne semble pas suffisant pour expliquer l'ampleur du problème. En effet, contrairement aux observations effectuées en poules pondeuses (Lambton et al., 2013), il a été démontré que fournir à des canards de Barbarie des éléments d'enrichissement du milieu leur permettant d'explorer davantage et de réaliser des toilettes plus satisfaisantes ne permet pas systématiquement de réduire les problèmes de picage (Riber et Mench, 2008). Le nombre de canards présents par mètre carré est un facteur de risques démontré, avec une densité optimale établie à 9 canards / m² (Baéza et al., 2003). D'autres articles explorent des pistes alimentaires pour réduire les problèmes de picage et de cannibalisme (Van Krimpen et al., 2005; Baéza et al., 2017). Les niveaux en protéines et en acides aminés essentiels, notamment les acides aminés soufrés méthionine et cystéine, sont un des leviers alimentaires mis en avant pour prévenir une mauvaise qualité d'emplacement qui semble être un facteur de risque pour le picage (Van Krimpen et al., 2005). Le levier du niveau protéique est d'ailleurs utilisé sur le terrain pour prévenir ou arrêter le picage. La lysine, l'arginine et d'autres acides aminés, comme le tryptophane, semblent également impliqués dans le contrôle du picage. L'objectif de cet essai était de mesurer l'impact de plusieurs approches nutritionnelles autour des niveaux protéiques et/ou en certains acides aminés essentiels sur le comportement de picage des canards de Barbarie.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental

1440 animaux mâles époinés au couvoir, de souche R 71 M, ont été réceptionnés au CRZA (Centre de Recherche en Zootechnie Appliquée, NEOVIA, France) et répartis selon quatre traitements en croissance et finition (8 répétitions) : « Témoin », « Protéines + » contenant 3 points de protéines supplémentaires, « Méthionine + » enrichi en

méthionine uniquement et un régime « AAE + » basé sur les niveaux de lysine, méthionine, arginine, thréonine, tryptophane, valine et isoleucine du régime « Protéines + » (Tableau 1). Le régime témoin présentait un niveau protéique plus bas que les régimes commerciaux pour permettre l'expression des problèmes de picage, observés sur le terrain, dans les conditions de la station expérimentale habituellement peu représentatives de ce type de problématique. Le démarrage était commun pour les traitements « Témoin », « Protéines + » et « AAE + ». Le traitement « Méthionine + » présentait un niveau plus élevé en méthionine dès le démarrage pour accompagner la mise en place des premières plumes. Les animaux ont été nourris *ad libitum* durant tout l'essai selon un programme alimentaire comportant trois phases : démarrage (0-25 jours ; miettes), croissance (25-49 jours ; granulés, 2,5 mm) et finition (49-68 jours ; granulés, 3,5 mm). L'aliment était distribué dans chaque parquet dans une mangeoire circulaire de 44 cm de diamètre, ce qui représentait 3 cm de mangeoire disponible par animal. Les animaux ont été soumis à 24 heures de lumière et un niveau d'éclairement de 60-80 lux pendant les 7 premiers jours puis une période d'obscurité a été mise en place d'une durée croissante du 8^e (1h) au 20^e jour (5h). La durée d'obscurité n'a volontairement pas excédé 5 heures et l'intensité de l'éclairement était élevée (20 lux à partir de 8 jours) afin de se mettre dans les conditions dans lesquelles le picage est le plus souvent observé sur le terrain (bâtiment clair en jours longs).

1.2. Contrôles et mesures

Les teneurs en humidité, protéines brutes, lysine totale et méthionine totale des aliments ont été analysées au laboratoire pour valider la conformité avec les valeurs attendues (Laboratoire Upscience, France). Le poids des animaux et les consommations d'aliment ont été mesurés pour chaque traitement à J0, J25, J49 et J68. Les occurrences de picage, le nombre d'animaux piqués quel que soit le nombre de fois où ils ont été piqués, présentant des zones déplumées et/ou du sang, ainsi que les morts ont été relevés quotidiennement.

1.3. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée avec le logiciel R (v3.1.2). Les données zootechniques (poids, croissance, consommation, indice de consommation) ont été soumises à une analyse de variance à un facteur selon un modèle linéaire. Le facteur fixe du modèle était le traitement. En cas de différence significative, les traitements ont été comparés deux à deux par un test de comparaison des moyennes de Tukey au seuil de 5%. Le pourcentage d'animaux piqués sur l'ensemble de l'essai (un animal piqué une fois ou plus comptait pour une occurrence) et la mortalité ont été traités avec un test du chi-2.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les teneurs des aliments en protéines, lysine et méthionine étaient conformes à l'attendu dans les différents régimes.

Globalement, les poids vifs (PV) et les gains moyens quotidiens (GMQ) sont supérieurs aux données de référence 2015 du sélectionneur quels que soient l'âge et le traitement considérés (données de référence PV J28 : 920 g, J49 : 2760 g et J68 : 4140 g ; GMQ 0-25 : 31,1 g/j, 25-49 : 87,6 g/j et 29-68 : 65,7 g/j).

Sur la période de démarrage (0-25 jours), les performances zootechniques étaient identiques. L'apport supplémentaire de méthionine n'a pas amélioré significativement le poids vif des animaux à 25 jours (Tableau 2).

En croissance (25-49 jours), le GMQ des animaux « AAE + » a été significativement supérieur à celui des animaux « Témoin » ou « Méthionine + ». Le GMQ des « Protéines + », bien que proche de celui des « AAE + », n'était pas significativement différent de celui des « Méthionine + ». Les indices de consommation des régimes « AAE + » et « Protéines + » ont été significativement inférieurs à ceux des deux autres régimes. Il semble que, sur cette période, le régime témoin soit limitant en protéines. Toutefois, pendant la phase de finition, le GMQ le plus élevé a été mesuré pour le traitement « Témoin » signe d'une compensation de croissance. Il est vrai que les recommandations en protéines brutes pour la croissance optimale du canard de barbarie sont de 16% selon Baéza et al., 2016. Dans nos conditions expérimentales, les performances des canards sont néanmoins très bonnes au niveau choisi pour le témoin. A 68 jours d'âge et sur l'ensemble de la période d'élevage, aucune différence significative n'a été mise en évidence sur les performances zootechniques des 4 régimes.

Sur le plan comportemental, le traitement « Témoin » présente significativement plus d'animaux piqués à la fin de l'essai que les traitements « Protéines + » ou « AAE + » (Tableau 3). Le pourcentage d'animaux piqués a été significativement plus faible pour « Protéines + » que pour les autres traitements et la distinction se fait une semaine après la distribution de l'aliment (Figure 1). « Méthionine + » n'est pas significativement différent du « Témoin ». Sur l'ensemble de l'essai, la mortalité des animaux nourris avec le régime « Protéines + » a été plus faible que celle des animaux « Témoin » et « Méthionine + » (1,1% vs. 5% et 6,7% ; $\chi^2_{n=8}$, $p < 0,05$). Dans ces 2 derniers régimes près de la moitié de la mortalité était liée au picage, soit 3% de mortalité dans chacun des régimes. Le régime « AAE+ » était intermédiaire (2,5%). Aucune mortalité par picage n'a été observée dans les régimes « Protéines + » et « AAE + » (Figure 2).

En poules pondeuses, l'effet de la protéine brute est essentiellement sensible quand on compare un régime très appauvri en protéines (<12% de protéines brutes) par rapport à un autre régime plus riche (Van Krimpen et al., 2005). Dans notre essai, le régime « Protéines + » a permis d'obtenir le plus faible niveau de picage. Le régime « AAE + », bien que limitant le picage par rapport aux régimes « Témoin » et « Méthionine + » n'a pas permis d'atteindre les mêmes résultats. La question est donc de savoir si le niveau plus important d'apport en protéines ou en un ou plusieurs acides aminés essentiels peut expliquer les effets favorables observés sur le picage.

L'apport de méthionine n'a pas été augmenté dans le régime « Protéines + ». L'apport de ce seul acide aminé en complément du régime témoin n'a pas permis d'abaisser le niveau de picage sous le niveau du témoin. Cela peut être lié au fait que notre régime témoin apportait déjà suffisamment de méthionine pour permettre la mise en place d'un emplumement optimal et que celui-ci n'est pas la cause unique de la déviance comportementale (Recommandation en méthionine totale à 0,36%, 0,33% et 0,30%, respectivement en démarrage, croissance et finition pour les mâles ; Baéza, 2016). En ce qui concerne, la valine et l'isoleucine les niveaux des régimes de base sont légèrement inférieurs aux recommandations (respectivement 0,64% et 0,53% vs. 0,70% et 0,56% ; Baéza, 2016). Ces acides aminés pourraient avoir un impact sur la qualité de l'emplumement et donc sur le comportement de picage (Leeson et Walsh, 2004).

Le niveau en arginine de notre régime témoin de 0,79% en croissance, est inférieur à la recommandation de 0,86% (Baéza, 2016), en lien direct avec la baisse de la teneur en protéines. Un apport supplémentaire en cet acide aminé, impliqué dans le phénomène de picage dans plusieurs espèces de volaille (Van Krimpen et al., 2005), pourrait expliquer un effet apaisant sur les animaux. En effet, une étude sur les mouettes montre que l'arginine-vasotocine influence le rythme cardiaque et a un pouvoir calmant des animaux (Nephew et al., 2005) qui pourrait potentiellement entraîner une baisse de picage. Concernant le tryptophane, une étude a montré, en comparant des white leghorn nourries de 34 jours à 50 jours avec un aliment contenant soit 0,14% de tryptophane, soit 2% de tryptophane, que le régime haut en tryptophane abaissait significativement le niveau de picage doux. En revanche, l'effet n'était pas significatif sur le picage sévère (van Hierden et al., 2004). Ici, la concentration en tryptophane passe de 0,16% à 0,20%, ce qui représente un écart beaucoup plus faible que ce que les auteurs ont testé. Il est donc peu vraisemblable de voir un effet massif, dans notre essai, de l'augmentation du tryptophane sur la diminution du picage.

Enfin, le niveau en thréonine de nos régimes (0,5%) est cohérent avec les besoins établis dans la littérature (0,55% en croissance et 0,52% en finition ; Baéza,

2016) et aucune source ne semble mentionner un impact direct de cet acide aminé sur le comportement de picage. D'autres acides aminés, non contrôlés ici, pourraient également avoir un rôle dans le développement du picage. D'autres études seraient nécessaires pour identifier si l'effet bénéfique de notre régime « Protéines + » est lié à l'apport complémentaire de protéines ou si un ou des acides aminés non essentiels pourraient permettre de limiter le phénomène du picage en élevage de canards de Barbarie.

CONCLUSION

Dans nos conditions expérimentales, à performances de croissance identiques entre nos quatre modalités, cette étude a montré qu'un régime se contentant d'augmenter les seuls acides aminés essentiels aux mêmes niveaux que ceux qu'ils atteignent dans un

régime riche en protéines ne suffit pas à atteindre les mêmes résultats sur la diminution du picage. Seule la mortalité a pu être réduite. De même, une augmentation de l'apport en méthionine seule ne permet pas de se différencier du témoin en termes de picage. Cette étude a par ailleurs confirmé l'intérêt d'utiliser un niveau protéique plus important dans les rations des canards de Barbarie en croissance et en finition en vue de limiter le picage. Des travaux sont donc nécessaires pour mieux comprendre le rôle de la protéine ou des différents acides aminés, notamment dits non essentiels, dans le développement du picage en canard de Barbarie.

REMERCIEMENTS

Merci à Cléo Omphalius et Arnaud Cousin ainsi qu'à toute l'équipe du CRZA pour la réalisation de cet essai.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Baéza E., 2016. *Worlds. Poult. Sci. J.*, (72), 5□19.
 Baéza E., Chartrin P., Arnould C., 2003. *Sci. Tech. Avic.*, 4□8.
 Baéza E., Chartrin P., Bordeau T., Lessire M., Thoby J.-M., Gigaud V., Blanchet M., Alinier A., Leterrier C., 2017. *Poult. Sci.*, (96), 3176□3187.
 van Hierden Y.M., Koolhaas J.M., Mechiel Korte S., 2004. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, (89), 71□84.
 Van Krimpen M.M., Kwakkel R.P., Reuvekamp B.F.J., Van Der Peet-Schwering C.M.C., Den Hartog L.A., Verstegen M.W.A., 2005. *Worlds. Poult. Sci. J.*, (61), 663□685.
 Lambton S.L., Nicol C.J., Friel M., Main D.C.J., McKinstry J.L., Sherwin C.M., Walton J., Weeks C.A., 2013. *Vet. Rec.*, (172), 423.
 Leeson S., Walsh T., 2004. *Worlds. Poult. Sci. J.*, (60), 52□63.
 Nephew B.C., Aaron R.S., Romero L.M., 2005. *Horm. Behav.*, (47), 280□289.
 Riber A.B., Mench J.A., 2008. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, (114), 429□440.
 Rodenburg T.B., Bracke M., Berk J., Cooper J., Faure J.-M., Guémené D., Guy G., Harlander A., Jones T., Knierim U., Kuhnt K., Pingel H., Reiter K., Servière J., Ruis M.A.W., 2005. *Worlds. Poult. Sci. J.*, (61), 633□646.
 Savory C.J., 1995. *Worlds. Poult. Sci. J.*, (51), 215□219.

Tableau 1. Teneurs en énergie, protéines et acides aminés essentiels total (AAE tot) des aliments expérimentaux (T : Témoin, Met + : Méthionine + ; Prot + : Protéines +)

	Démarrage 0-25j		Croissance 25-49j				Finition 49-68j			
	T/Prot+ /AAE+	Met+	T	Prot +	Met +	AAE +	T	Prot +	Met +	AAE +
Energie* (kcal/ kg)	2800	2800	2875	2875	2875	2875	2950	2950	2950	2950
Protéine Brute (%)	18	18	14	17	14	14	14	17	14	14
Lysine tot (%)	0,91	0,91	0,74	0,75	0,74	0,73	0,74	0,73	0,74	0,73
Méthionine + Cystine tot (%)	0,79	0,92	0,68	0,74	0,75	0,67	0,62	0,65	0,75	0,61
Méthionine tot (%)	0,47	0,59	0,40	0,41	0,47	0,41	0,34	0,35	0,47	0,35
Arginine tot (%)	1,10	1,09	0,79	0,98	0,79	0,96	0,79	1,00	0,78	0,98
Thréonine tot (%)	0,68	0,67	0,50	0,64	0,50	0,62	0,51	0,62	0,50	0,60
Tryptophane tot (%)	0,23	0,22	0,16	0,20	0,16	0,19	0,16	0,20	0,16	0,19
Valine tot (%)	0,84	0,84	0,64	0,81	0,64	0,79	0,64	0,79	0,64	0,78
Isoleucine tot (%)	0,73	0,72	0,53	0,69	0,53	0,68	0,53	0,69	0,53	0,67

*L'énergie est donnée en système énergétique INZO.

Tableau 2. Effet de la teneur en protéines, AAE ou méthionine des régimes sur les performances zootechniques des canards de Barbarie (n = 8)

	PV25j g	PV49j g	PV68j g	GMQ 25-49 g/j	GMQ 49-68 g/j	GMQ 0-68 g/j	Conso 25-49 g/j	Conso 49-68 g/j	Conso 0-68 g/j	IC 25-49	IC 49-68	IC 0-68
Témoin	1192	3394 b	4887	91,8 c	78,6 A	71,2	223	248	174	2,44 b	3,16	2,44
Protéines +	1192	3554 a	4909	98,4 ab	71,3 B	71,5	225	238	173	2,29 a	3,35	2,42
Met +	1206	3432 ab	4845	92,8 bc	74,4 AB	70,6	222	241	172	2,40 b	3,27	2,44
AAE +	1194	3562 a	4997	98,7 a	75,5 AB	72,8	228	242	174	2,31 a	3,21	2,40
SEM	9	39	43	1,5	1,7	0,7	3	3	2	0,02	0,06	0,02
Signification	NS	<0,01	NS	<0,01	0,07	NS	NS	NS	NS	<0,001	NS	NS

PV : poids vif ; GMQ : Gain Moyen Quotidien ; Conso : Consommation ; IC : Indice de consommation

Tableau 3. Effet de la teneur en protéines, AAE ou méthionine des régimes sur le pourcentage de canards de Barbarie piqués, au moins une fois, en fin d'essai (n = 360)

	Témoin	Protéines +	Méthionine +	AAE +	P
% d'animaux piqués	33,1 a	7,2 c	30,6 ab	25,8 b	<0,001

Figure 1. Effet de la teneur en protéines, AAE ou méthionine des régimes sur les occurrences cumulées de picage des canards de Barbarie au cours du temps

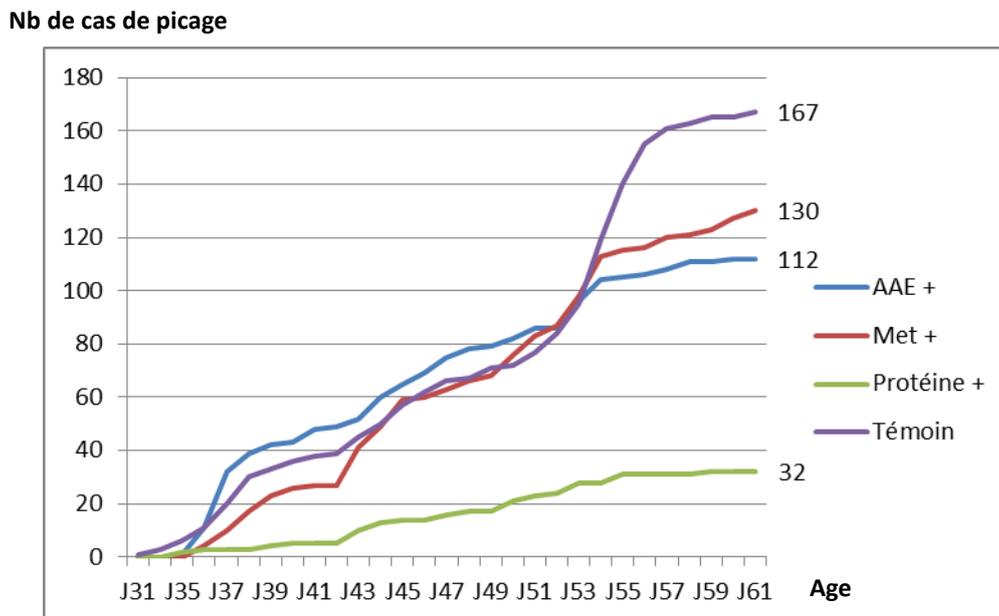
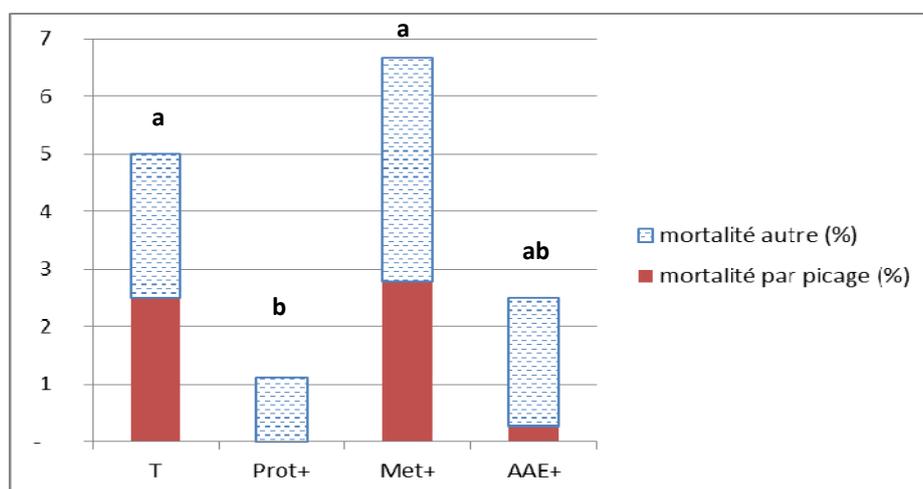


Figure 2. Effet de la teneur en protéines, AAE ou méthionine des régimes sur la mortalité des canards en fin d'essai (n = 360)



PREDICTION DE L'ENERGIE METABOLISABLE APPARENTE DES BLES CHEZ LE COQ ADULTE GRACE A LA SPECTROSCOPIE PROCHE INFRAROUGE

Doret-Aubertot Marion¹, Faivre Jean-François¹, Bernard Nolwenn¹, Juin Anne-Marie¹, Klein Stéphanie¹

¹MIXSCIENCE - 2/4 Avenue de Ker Lann, CS 17228– 35172 BRUZ

marion.doret-aubertot@mixscience.eu

RÉSUMÉ

Chaque année, le démarrage de la nouvelle récolte des céréales à paille au mois de juin fait l'objet d'une attention toute particulière, pour caractériser au mieux et rapidement les nouvelles valeurs nutritionnelles des blés. La qualité nutritionnelle de la récolte du blé pour les volailles s'évalue, entre autres, par la mesure et la prédiction de la valeur de l'énergie métabolisable apparente (EMA). Aujourd'hui cette valeur est généralement obtenue par la réalisation d'essais de digestibilité *in vivo* sur coqs et/ou par la mise à jour d'équations de prédiction appliquées sur les données analytiques de la matière première. L'utilisation de la spectrométrie dans le proche infrarouge (SPIR) se présente comme une alternative rapide et économique aux analyses chimiques ou aux mesures *in vivo*. L'objectif de cette étude est de développer une calibration SPIR prédisant l'EMA des blés chez le coq. Au total, 98 blés ont fait l'objet d'une mesure de digestibilité en station expérimentale selon le protocole de Bourdillon *et al.* (1990) sur une période de onze campagnes de 2006 à 2017. Les spectres SPIR de ces mêmes blés ont été réalisés à l'aide d'un appareil MPA (Bruker Optics SARL). Une calibration permettant de corréliser les données spectrales avec les valeurs d'EMA obtenues en essais *in vivo* a été établie. Cette calibration SPIR présente plusieurs avantages : une méthode économique, un gain de temps considérable et une amélioration de la précision d'environ 15% pour prédire l'énergie métabolisable apparente chez le coq par rapport à l'utilisation de l'équation basée sur les critères analytiques. Par ailleurs l'application de cette nouvelle calibration sur des blés réceptionnés en usines d'aliments, a démontré la variabilité inter-campagnes des blés (n=1002) mais aussi intra-campagne (n=580). En conclusion, le développement de cette calibration prouve l'importance d'une réévaluation continue des valeurs nutritionnelles du blé. Elle rend possible le suivi de l'EMA pour l'intégralité des blés passant au spectromètre proche infrarouge et l'observation rapide des nouvelles tendances lors de la nouvelle récolte. Elle ouvre la voie à une évaluation en temps réel de la qualité nutritionnelle des blés dans les usines d'aliments.

ABSTRACT

Application of near-infrared technology in order to predict wheat apparent metabolisable energy on adult cockerels.

Each year wheat harvest starts in June and special attention is given to characterize its nutritional values. Harvest quality for poultry is assessed by measuring and predicting metabolisable energy (ME). Today this value is obtained by performing *in vivo* digestibility trials on adult cockerels or/then by updating prediction equations, based on wheat analytical data. Using Near-infrared (NIR) analysis is a fast and cheap alternative to predict wheat ME on cockerels. Purpose of this study is to develop an ME NIR calibration for wheat on cockerels. A total of 98 wheats were studied through digestibility trials conducted from 2006 to 2017 according to the protocol of Bourdillon *and al.* (1990). NIR wheat spectra were made using an MPA (Bruker Optics SARL, Champs sur Marne, France). A calibration was developed to predict MEA from spectra. ME NIR calibration has several advantages: an economical method (no additional analytical cost), a considerable time saving and approximately a 15% accuracy improvement to predict ME on cockerels compares to the equation based on analytical data. In addition, application of this new calibration allows highlighting inter-harvests variability (n=1002) and intra-harvest variability (n=580). In conclusion, the development of this calibration proves importance given to a continuous reassessment of nutritional values of wheat and possibility to observe new trends during harvest very quickly. It opens prospects such as real-time wheat nutritional quality assessment in feed factories.

INTRODUCTION

Pour évaluer la qualité et la composition des blés lors de la nouvelle récolte, des analyses chimiques sont réalisées (humidité, taux de protéines, mycotoxines...). La caractérisation nutritionnelle de la nouvelle récolte de blé est un enjeu majeur pour la filière avicole et nécessite idéalement la mise en place d'essais *in vivo* dès la récolte des premiers blés afin d'en évaluer l'énergie métabolisable apparente (EMA). Cependant, ces essais *in vivo* sont chronophages, coûteux et complexes à mettre en œuvre. (Losada *et al.* 2009)

La spectroscopie proche infrarouge (SPIR), déjà largement utilisée pour l'analyse chimique des matières premières et produits finis en nutrition animale, représente une alternative intéressante (Pasha *et al.* 2006, Losada *et al.* 2009). Cette technique est basée sur la vibration des liaisons organiques dans le domaine du proche infrarouge. Le développement de calibrations consiste à construire des modèles chimiométriques mettant en relation les spectres et les mesures de référence associées, ici les données d'EMA obtenues grâce à des essais *in vivo*. L'utilisation d'un spectromètre proche infrarouge permet de traiter un grand nombre d'échantillons et d'en déterminer les principaux constituants analytiques de façon non destructive. Enfin la technologie SPIR représente une solution à explorer pour réduire le nombre d'essais *in vivo* et elle s'inscrit à ce titre dans la démarche des 3R en expérimentation animale : remplacer, réduire, raffiner. L'objectif de ce travail est de développer une calibration SPIR capable de déterminer l'EMA chez le coq adulte, en analysant directement la matière première et ainsi d'obtenir des résultats très rapidement.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Essais *in vivo*

Des mesures de digestibilité fécale apparente à bilan azoté nul de l'énergie ont été réalisées *in vivo* en station expérimentale (Euronutrition, Sarthe, France) sur des coqs adultes entiers de souche Isabrown, suivant la méthode de référence européenne décrite par Bourdillon *et al.* (1990).

Chaque essai est composé d'un groupe témoin de 10 coqs et de 4 groupes tests de 8 coqs chacun.

L'aliment du groupe témoin est composé à 97% de maïs et à 3 % d'un complément minéraux-vitamines (CMV), il permet de vérifier la bonne validité de l'essai. Les aliments des groupes tests sont composés du même CMV incorporé à 3% et du blé à tester incorporé à 97% en substitution du maïs.

La fabrication des aliments est réalisée à l'usine de la station expérimentale Euronutrition.

L'EMA des blés est calculée pour chaque coq et permet d'obtenir une valeur d'EMA moyenne par blé après retrait des éventuelles valeurs aberrantes.

Lors de cette étude, 98 blés tendres, issus de toutes les régions de France, et représentatifs des récoltes de 2006 à 2017, ont fait l'objet d'une mesure de digestibilité *in vivo* de l'énergie métabolisable apparente sur coqs adultes.

1.2. Acquisition des spectres SPIR et développement de calibration

Les spectres des 98 blés, passés en essai de digestibilité *in vivo*, ont été réalisés par absorbance dans les régions du proche et moyen infrarouge (3600-12500 cm^{-1}) sur un spectromètre MPA (Bruker Optics SARL, Champs sur Marne, France). Trois acquisitions pour chaque blé ont été réalisées sur la matière première non broyée ainsi que sur les blés broyés. Le broyage a été réalisé à l'aide d'une grille 1 mm sur un broyeur Cyclotec 1093 (FOSS France, Nanterre, France), afin d'étudier la corrélation aussi bien sous forme non broyée que broyée. Le traitement des spectres ainsi que le développement des équations ont été réalisés grâce au logiciel OPUS (version 7.8, Bruker Optics, Champs sur Marne, France).

Les équations de prédiction ont été obtenues en testant différents pré-traitements mathématiques comme par exemple : correction d'offset, soustraction d'une droite, normalisation vectorielle et correction multiplicative de diffusion. Ces tests ont été réalisés en observant les données spectrales sur la gamme de 4250 à 9400 cm^{-1} .

Les erreurs standards de calibration (RMSEE), de validation croisée (RMSECV) et les coefficients de corrélation r ont été déterminés. Les validations croisées, meilleur indicateur pour appréhender l'aptitude de la calibration à prédire la valeur d'une variable, selon Shenk *et al.* (1991) ont été réalisées en divisant aléatoirement la base de données en quatre sous-groupes. L'exercice de calibration étant alors réalisé quatre fois en utilisant tour à tour un des sous-groupes pour la validation de l'équation tandis que les trois autres servent à la calibrer. Le RMSECV est la synthèse de ces quatre étalonnages.

Une validation externe a été réalisée en utilisant seize échantillons aléatoirement sortis de la base de données avant d'effectuer la calibration. Cette étude a permis de comparer les différentes EMA obtenues, soit grâce à la SPIR, soit par expérimentation à la station (*in vivo*), soit par une équation de prédiction à partir des analyses chimiques des blés, ici nommée EQ telle que :

$$EQ = a*MS + b*PB + c*MG + d*MM + e*Amidon$$

1.3. Application aux échantillons prélevés en usine

La variabilité des blés inter-campagnes a été évaluée en appliquant la calibration EMA à 1002 échantillons de blés prélevés dans 35 usines différentes et spectrés entre 2016 et 2018.

Pour ces mêmes échantillons, une comparaison des prédictions de l'EMA par la SPIR et selon l'équation EQ a également été réalisée.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les 98 blés ayant servi à cette étude ont une énergie métabolisable apparente moyenne de 3098 kcal / kg de produit brut.

La calibration développée sur les blés non broyés à l'aide du logiciel OPUS est valable sur la gamme 2917 à 3264 kcal/kg de produit brut. Cette calibration utilise le pré-traitement mathématique par correction multiplicative de diffusion sur les gammes spectrales de 9403.8 à 6094.3 cm^{-1} et 4605.4 à 4242.9 cm^{-1} . Elle présente les performances de calibration : RMSEE de 39 kcal/kg sur brut et $r = 0,80$ et de validation interne : RMSECV de 50 kcal/kg sur brut et $r = 0.56$.

Le développement d'une calibration sur blé broyé a aussi été réalisé. Cette dernière est valable sur la gamme de 2925 à 3264 kcal/kg de produit brut et présente les performances de calibration : RMSEE de 49 kcal/kg sur brut et $r = 0,64$ et de validation interne : RMSECV de 52 kcal/kg brut et $r = 0.54$. Les statistiques descriptives des deux calibrations, en broyé et non broyé, sont résumées dans le tableau 1.

Les meilleures performances ont été observées sur la calibration développée en utilisant les spectres non broyés. Cette observation est en particulier vérifiée lors de l'étape de calibration. Malgré le fait qu'une calibration en broyé soit, en théorie, meilleure qu'en non broyé, ceci n'a pas été vérifié ici. L'utilisation du broyeur Cyclotec 1093 pourrait expliquer cette observation. En effet l'échauffement de l'échantillon lors de l'utilisation de ce broyeur pourrait être à l'origine d'une diminution de 3-5% de la teneur en humidité. Ceci expliquerait une modification du spectre et un impact sur les performances de la calibration. (Bakalli *et al.*, 2000).

Les calibrations sur blé non broyé et broyé présentent des incertitudes de 2,5 et 3,2% respectivement.

Les résultats de l'étude comparant les différentes prédictions possibles : expérimentation *in vivo*, évaluation à partir des analyses chimiques des blés (EQ) et prédictions obtenues par l'analyse SPIR sur la calibration broyée sont présentés dans le tableau 2 (n=16). Les écarts maximum et minimum observés entre ces deux prédictions et les mesures *in vivo* sont diminués de 25% à 50% avec la SPIR par rapport aux valeurs d'EMA prédites par EQ. La SPIR présente donc des écarts de prédictions moindres que les équations basées sur les analyses chimiques ce qui rejoint et valide les observations faites par Garnsworthy *et al.* (2000). Le biais moyen entre la référence (*in vivo*) et les deux types de prédictions reste quant à lui constant et faible, 12 kcal/kg de produit brut. L'erreur de prédiction obtenue avec la SPIR est de 54 kcal/kg contre 63 kcal/kg sur brut pour l'équation EQ. La SPIR permet donc une amélioration de 15% de la prédiction de l'EMA.

L'équation EQ déployée à grande échelle sur nos plans de contrôle nationaux (environ 750 échantillons de blés par an) a permis de mettre en place une carte de suivi de la calibration SPIR sur blé. Celle-ci met en

lumière les écarts pour chaque blé entre les deux prédictions : SPIR et EQ. Une observation macroscopique des données (n = 580) permet de visualiser les variations intra-campagne tout au long de l'année. L'analyse SPIR étant possible en 48 heures au laboratoire, cela permet la mise à jour de cette carte en temps réel tout au long de l'année.

De plus, le déploiement de cette calibration permet une réactivité accrue et ainsi de répondre à la demande de qualification rapide lors de la nouvelle récolte. La disponibilité des spectres de blé analysés durant les récoltes 2016, 2017 et 2018 a rendu l'analyse rétrospective des EMA SPIR possible. Les spectres de 1002 blés ont été étudiés sur ces trois dernières années et sont présentés dans la figure 1.

L'étude statistique des données SPIR, réalisée grâce au logiciel R, met en évidence une différence significative de la récolte 2016 par rapport aux récoltes 2017 et 2018. Cette observation à partir des spectres des blés coïncide avec la mauvaise qualité de récolte observée en 2016 suite aux conditions climatiques difficiles rencontrées et les bas poids spécifiques mesurés (Qualit@lim blé 2016, Arvalis). Un gain en EMA sur coq de 40 kcal/kg sur brut a été observé entre les récoltes de 2016 et celles des années 2017 et 2018, ce qui a été confirmé par les essais *in vivo* réalisés à la station expérimentale en 2016 et 2017. Cette étude, réalisée fin août 2018 sur des échantillons de blés de la nouvelle récolte, permet seulement un mois après le début de la récolte de conclure sur leur qualité correcte malgré des conditions climatiques particulièrement sèches ayant induit un teneur en humidité plus faible qu'à l'accoutumé (Qualit@lim blé 2018, Arvalis).

Jusqu'ici, le développement de calibrations capables de prédire l'EMA dans les aliments avait été étudiée dans le cadre d'aliments complets mélangeant de nombreuses matrices comme le maïs, le blé, les tourteaux de tournesol et les tourteaux de soja (Tyagi *et al.*, 2009, Valdes *et al.*, 1992a) ou encore en traitant les différentes matières premières dans une même calibration au détriment de sa spécificité comme l'ont fait Losada *et al.* (2009). Bien que cette calibration, présentait un coefficient de corrélation de 0.86, son erreur de prédiction s'élevait à 160 kcal/kg sur sec et n'était pas spécifique au blé car construite sur la base d'échantillons appartenant à douze matières premières différentes.

Le développement et l'application future de cette calibration spécifique à une matière première laisse présager une réactivité accrue sur la connaissance de la matière première directement utilisée et non plus sur l'aliment complet. Elle offre aussi la possibilité d'observer rapidement des tendances lors de la récolte du blé en complément du seul usage d'une équation construite à partir d'analyses chimiques réalisées en laboratoire.

CONCLUSION

Cette étude permet de valider la faisabilité et la pertinence de l'utilisation de la spectroscopie proche infra rouge pour la détermination de l'énergie métabolisable apparente chez le coq adulte appliquée au blé. Elle montre aussi que l'observation de l'EMA de chaque blé est peu pertinente, mais qu'une étude macroscopique des résultats peut apporter des réponses aux questions soulevées annuellement sur la caractérisation nutritionnelle de la nouvelle récolte. Cette approche permet de suivre les évolutions nutritionnelles des blés au cours d'une année et de les mettre en perspective des années précédentes. La prédiction des EMA par la SPIR a été développée sur des échantillons broyés et non broyés avec des performances satisfaisantes. Il conviendra de

continuer d'étoffer cette base de données dans les années à venir afin d'en améliorer la robustesse.

Ces premiers travaux ouvrent des perspectives intéressantes d'évaluation de la qualité nutritionnelle des matières premières réceptionnées en usine. Ils laissent entrevoir les avantages qui en découleraient, notamment le gain de réactivité lors du traitement des problématiques liées à l'optimisation des formules d'aliments.

REMERCIEMENT

Nous tenons à remercier l'ensemble des ingénieurs d'essais et le personnel de la station volaille d'Euronutrition, les personnels des laboratoires Airlis et Artemis, ainsi que l'équipe Datalab de MiXscience.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bakalli R. I., Pesti G. M., Etheridge R. D., 2000. J. Appl. Poultry Res. (9), 204-213
 Bourdillon A., Carre B., Conan L., Duperray J., Huyghebaert G., Leclercq L., Lessire M., McNab J., Wiseman J., 1990. Brit. Poult. Sci., (31), 557-565.
 Garnsworthy P. C., Wiseman J., Fegeros K., 2000. J. Agric. Sci.(135), 409-417
 Losada B., Garcia-Rebollar P., Cachaldora P., Alvarez C., Mendez J., De Blas J.C., 2009. Span J Agric Res 7(4), 813-823
 Owens B., Mccann M.E.E., Mccracken K.J., Park R.S., 2009. Br. Poult. Sci., (50), 103-122.
 Pasha I., Anjum F.M., Rashid S., 2006. Pak. J. Agri. Sci., (43), 3-4
 Shenk J. S., Westerhaus M. O., 1991. Crop Sci. (31), 469
 Tyagi K.T., Shrivastav A.K., Tyagi K.T., Mandaland A.B., Elangovan A.V., 2009. Indian. J. Poult. Sci, (44), 45-48.
 Valdes E. V., Leeson S., 1992. Poult. Sci. (71), 1559-1563
 Valdes E. V., Leeson S., 1992. Poult. Sci (71), 1179-1187
 Qualit@lim blé 2016, n°37, arvalis-infos.fr
 Qualit@lim blé 2018, n°45, arvalis-infos.fr
 12. Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à Foie Gras, Apr 2017, Tours, France. ITAVI - Institut Technique de l'Aviculture, 1124 p., 2017

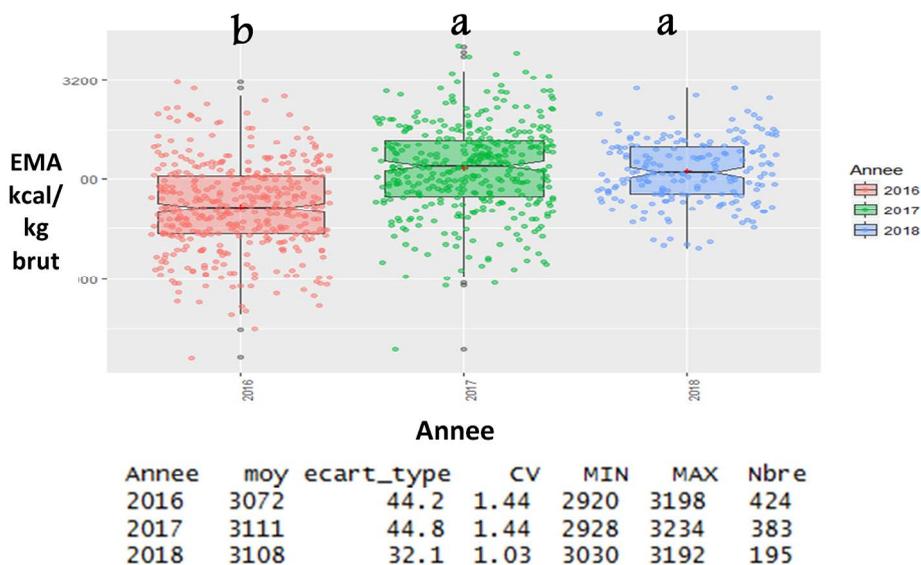
Tableau 1. Statistiques descriptives de deux calibrations SPIR développées afin de prédire l'énergie métabolisable apparente des blés chez le coq adulte

Critère	Caractéristiques de la population d'étalonnage						Calibration		Validation interne	
	N	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type	N exclus	RMSEE	r	RMSECV	r
EMA blé sur coq (kcal/kg brut) non broyé	63	2917	3264	3086	61	0	39	0.80	50	0.56
EMA blé sur coq (kcal/kg brut) broyé	82	2925	3264	3098	62	0	49	0.64	52	0.54

Tableau 2. Etude des différences de prédiction de l'énergie métabolisable apparente sur 16 échantillons indépendants broyés (*in vivo* comme référence, équation à partir des analyses chimiques – EQ et SPIR)

	<i>In vivo</i> - EQ	<i>In vivo</i> - SPIR	EQ - SPIR
Biais moyen de la prédiction (kcal/kg brut)	12	12	0
Minimum	-157	-82	-38
Maximum	126	94	75
Ecart de prédiction (kcal/kg brut)	63	54	38

Figure 1. Etude statistique inter-campagnes 2016-2017-2018 lors des nouvelles récoltes (données récoltées entre le 1^{er} aout et le 1^{er} novembre 2016 et 2017 et entre le 1^{er} aout et le 28 aout 2018)



Sur le graphique, pour chaque année, la moyenne des valeurs d'EMA (kcal/kg brut) est représentée par une croix rouge. La largeur des boxplots dépend du nombre de données disponibles. Les lettres (a / b) correspondent aux résultats d'un test statistique de Tuckey (p-value à 0.01) permettant de comparer deux à deux les moyennes d'EMA obtenues pour chaque année. Deux années avec deux lettres différentes présentent des valeurs d'EMA significativement différentes.

LES STRATEGIES DE DETOXIFICATION EN MYCOTOXINES DE L'ALIMENT

Laurain Julia, Rodriguez Maria Angeles, Gallissot Marie

OLMIX Group – ZA du Haut du Bois – 56580 BREHAN
animalcare.pm@olmix.com

RÉSUMÉ

La stratégie la plus commune pour réduire l'exposition des animaux aux mycotoxines consiste à réduire la biodisponibilité des mycotoxines grâce à l'incorporation d'agents détoxifiants dans l'aliment. Face à l'abondance d'agents détoxifiants disponibles sur le marché, des méthodes *in vitro* de sélection sont nécessaires afin d'évaluer leur efficacité. Cet article est une revue des différentes méthodes d'évaluation et des données d'efficacité des différents types d'agents détoxifiants existants. Les méthodes *in vitro* d'évaluation de l'efficacité des agents détoxifiants peuvent être statiques ou dynamiques, tout comme elles peuvent être basées sur différents milieux tampon et en conditions de pH variées qui influencent beaucoup les résultats. Les méthodes basées sur la simulation des conditions gastro-intestinales sont les plus représentatives de l'efficacité *in vivo* potentielle d'un agent détoxifiant. Les agents détoxifiants sont divisés en deux catégories de produits : les agents adsorbants et les agents biotransformants. Les agents adsorbants ont pour objectif de limiter l'absorption intestinale des mycotoxines, les agents les plus connus étant les argiles, modifiées ou non, les parois de levures et le charbon actif. Les agents biotransformants sont composés de micro-organismes ou d'enzymes qui ont pour objectif de transformer les mycotoxines en métabolites non toxiques. Cet article regroupe les données d'efficacité connues par type d'agent et en fonction des méthodes *in vitro* utilisées. On constate une grande variabilité des résultats en fonction des méthodes utilisées et des mycotoxines testées. A ce jour très peu d'agents ont pu démontrer un large spectre d'efficacité alors que les poly-contaminations en mycotoxines sont beaucoup plus fréquentes que les mono-contaminations dans l'aliment.

ABSTRACT

Mycotoxin detoxification strategies of feed, a review.

The most common strategy for reducing animal's exposure to mycotoxins is to decrease mycotoxin bioavailability by incorporating various mycotoxin-detoxifying agents in the feed. Facing the abundance of available detoxifying agent candidates, screening methods are needed to evaluate their efficacy and select appropriate materials. This article is a review of the different screening methods and efficacy data of various mycotoxin-detoxifying agents. The *in vitro* efficacy of mycotoxin-detoxifying agents can be tested either in static or dynamic conditions, with different types of buffer and under various pH conditions that greatly influence the results. Methods based on gastro-intestinal simulation are the most representative methods of the potential *in vivo* efficacy of mycotoxin-detoxifying agents. Mycotoxin-detoxifying agents can be divided into two categories: adsorbing agents and biotransforming agents. Adsorbing agents aim at reducing the bioavailability of the mycotoxins. The most common adsorbing agents are clays, modified or not, yeast cell walls and activated charcoal. Biotransforming agents are composed of microorganisms or enzymes that aim at degrading mycotoxins into non-toxic metabolites. This article reviews efficacy data by type of mycotoxin-detoxifying agent and by type of *in vitro* screening method used. A wide variability of results is observed, depending on the method and mycotoxin used. Today, very few detoxifying agents have demonstrated a wide spectrum of efficacy whereas poly-contamination are more frequent than single contamination of feed.

INTRODUCTION

La première approche pour contrôler les contaminations en mycotoxines dans l'aliment est la prévention de la formation de mycotoxines au champ (Lopez-Garcia et Park, 1998). Une fois l'aliment contaminé, l'élimination des mycotoxines est presque impossible, les procédés industriels classiques n'étant pas suffisants pour les éliminer (Bullerman et Bianchini, 2007). Le tri des grains moisis ou cassés et des poussières permet de réduire significativement le niveau de contamination, mais induit un taux important de grains rejetés. Ainsi, la stratégie la plus commune pour réduire l'exposition des animaux aux mycotoxines consiste à réduire leur biodisponibilité grâce à l'incorporation d'agents détoxifiants dans l'aliment. Ces agents agissent en réduisant soit la biodisponibilité des mycotoxines, c'est-à-dire en réduisant leur absorption intestinale (agents adsorbants) soit leur toxicité par biotransformation (agents biotransformants). Face à l'abondance d'agents détoxifiants proposés sur le marché, des méthodes d'évaluation de leur efficacité sont nécessaires afin de sélectionner les agents fiables. Les méthodes *in vivo* étant peu spécifiques, complexes et onéreuses, les méthodes *in vitro* sont privilégiées. Cet article est une revue des différentes méthodes d'évaluation *in vitro* et des données d'efficacité publiées des différents types d'agents détoxifiants existants.

1. LES DIFFERENTES METHODES D'EVALUATION *IN VITRO*

1.1. Les méthodes statiques à concentration unique ou variable (isothermes)

La méthode à concentration unique est la plus simple et la moins coûteuse à mettre en œuvre. Elle mesure la diminution de mycotoxines purifiées dans un milieu aqueux où une quantité de mycotoxine connue réagit avec une concentration en agent détoxifiant connue.

Le résultat est communément retranscrit en « % d'adsorption ». Cette méthode n'est pas standardisée, ainsi les résultats varient en fonction des conditions de test et ce modèle statique aboutit souvent à une surestimation de la capacité d'adsorption par rapport aux conditions dynamiques *in vivo* (Versantvoort *et al.*, 2005).

Les méthodes statiques à concentration variable, aussi appelées isothermes d'adsorption, sont utilisées pour évaluer le comportement des agents détoxifiants en fonction de la concentration en mycotoxines (Grant et Phillips, 1998 ; Ramos et Hernandez, 1996). La quantité de mycotoxine adsorbée par unité d'agent est tracée en fonction de la concentration en mycotoxines dans la solution.

1.2. Les méthodes dynamiques

Les méthodes dynamiques tel que le modèle TIM (TNO, Pays-Bas) utilisé par Avantaggiato *et al.*, (2003 ; 2004 et 2007) sont bien plus représentatives de la dynamique gastro-intestinale *in vivo* que les modèles statiques. Le système TIM est composé de quatre compartiments connectés à des valves péristaltiques, simulant la digestion dans l'estomac et l'intestin grêle. Des membranes semi-perméables sont connectées au jéjunum et à l'iléon pour une dialyse continue des éléments digérés. Les mycotoxines étant absorbées par diffusion passive, ce système est adapté à leur étude ainsi que celle des agents détoxifiants (Avantaggiato *et al.*, 2004). Les résultats d'absorption intestinale obtenus avec le TIM sont en accord avec les résultats *in vivo* sur l'absorption intestinale de déoxynivalénol (DON), zéaralénone (ZEA) et nivalénol (NIV) chez le porc (Olsen *et al.*, 1985 ; Prelusky *et al.*, 1988 ; Biehl *et al.*, 1993 ; Hedman *et al.*, 1997, Eriksen *et al.*, 2003).

2. EFFICACITE *IN VITRO* DES AGENTS ADSORBANTS

Les agents adsorbants sont des composés de poids moléculaire élevé, non digérés par l'animal. La liaison entre agents adsorbants et mycotoxines dépend des propriétés électrostatiques et hydrophobiques de l'agent adsorbant et des mycotoxines cibles mais aussi de leur géométrie (plane ou non-plane) (EFSA, 2009). Ainsi les agents adsorbants ont une efficacité différente en fonction des mycotoxines présentes.

2.1. Le charbon actif

Le charbon actif, est un matériau issu de la pyrolyse de coco ou de chêne. Il présente une grande surface spécifique (300 à 3500 m²/g) qui lui confère un fort pouvoir adsorbant. Les résultats d'adsorption obtenus via la méthode statique à concentration unique varient de 52 à 100% en fonction des conditions et des mycotoxines testées (Tableau 1). Dans le modèle dynamique TIM (Avantaggiato *et al.*, 2003 et 2004), 1% ou de 2% de charbon actif ont permis de réduire, respectivement, l'absorption intestinale de DON de 29 à 45%, de NIV de 23 à 41% et de ZEA de 45 à 84% (Tableau 1). Néanmoins, le charbon actif capte également les petites molécules comme les vitamines (Vekiru *et al.*, 2007), c'est pourquoi il n'est plus recommandé de compléter l'aliment avec du charbon actif.

2.2. Les argiles (aluminosilicates)

Les aluminosilicates sont notamment composées de smectites et zéolites. Les smectites sont des minéraux appartenant au sous-groupe des phyllosilicates (structure en feuillets), incluant les bentonites et montmorillonites. Les zéolites sont des minéraux appartenant au sous-groupe des tectosilicates (structure tubulaire), incluant la clinoptilolite. Les études bibliographiques réalisées montrent que toutes les argiles n'ont pas la même efficacité d'adsorption

en aflatoxines (Tableau 1). L'efficacité d'adsorption semble corrélée au pourcentage de fraction minérale et à l'espace interfoliaire de la smectite testée (De Mil *et al.*, 2015), qui limite leur spectre d'adsorption aux aflatoxines, de structure plane à la différence des autres mycotoxines, plus volumineuses.

2.3. Les argiles modifiées

Les stratégies permettant d'augmenter l'espace interfoliaire sont les seules à permettre une amélioration du spectre d'adsorption. L'utilisation de groupements alkyles pour augmenter l'espace interfoliaire est possible (Jaynes et Zartman, 2011), néanmoins leur utilisation est interdite en Europe. Une stratégie basée sur l'intégration d'extraits d'algues entre les feuillets de smectites permet d'augmenter l'espace interfoliaire de 1,25 à 4,88 nm. L'ajout de 0,1% de ce matériau argile-algue dans le modèle dynamique TIM a permis de réduire l'absorption intestinale de DON de 40% et de FB1 de 60% sans affecter la biodisponibilité des nutriments (Demais et Havenaar, 2006) alors qu'une smectite simple ne les adsorbe pas (Avantaggiato *et al.*, 2004).

2.4. Les parois de levures

Les parois de levure sont des agents adsorbants organiques issus de *Saccharomyces cerevisiae*, pouvant interagir avec les mycotoxines (Yiannikouris *et al.*, 2006). Les résultats obtenus avec les parois de levures sont très variables en fonction de leur origine et de leur composition. En 2012, Fruhauf *et al.* ont obtenus des résultats variant de 10 à 60% d'adsorption de ZEA, sans toutefois trouver de corrélation entre leur composition et leur efficacité d'adsorption. Par ailleurs, l'efficacité des parois de levure contre les aflatoxines est très controversée (Tableau 1), celle-ci semblant plus dépendante des minéraux ajoutés aux parois de levures qu'à ces dernières elles-mêmes (Baptista *et al.*, 2004 ; Fruhauf *et al.*, 2012). Enfin, l'efficacité des parois de levures contre le DON et les fumonisines (FUM) semble très limitée (Tableau 1).

3. EFFICACITE IN VITRO DES AGENTS BIOTRANSFORMANTS

Les agents biotransformants sont des enzymes ou des microorganismes d'origine bactérienne, fongique ou issus de levures capables de dégrader des mycotoxines en métabolites peu ou pas toxiques pour l'animal.

3.1. Bio transformation des aflatoxines

L'AFB1 fut la première mycotoxine pour laquelle un agent biotransformant a été identifié : *Flavobacterium aurantiacum* (Ciegler *et al.*, 1966). Depuis, de nombreux autres microorganismes ont été identifiés (Wu *et al.*, 2009), toutefois les agents adsorbants sont privilégiés car ils sont plus faciles d'utilisation et moins onéreux.

3.2. Biotransformation des trichothécènes

Eubacterium sp. (DSM 11798) est une bactérie Gram positive anaérobie produisant une enzyme capable de transformer les trichothécènes en métabolites non toxiques comme le DOM-1 par exemple (Binder *et al.*, 1997 et 1998 ; Fuchs *et al.*, 2002 ; Hahn *et al.*, 2015). Cette souche est aujourd'hui enregistrée comme additif en Union Européenne. Néanmoins, les résultats disponibles sont très variables du fait de l'importance des conditions anaérobies nécessaires, qui ne sont pas toujours respectées, surtout *in vivo* (Döll *et al.*, 2004 ; Avantaggiato *et al.*, 2004 ; Dänicke et Döll, 2010).

3.3. Biotransformation des zéaraléones et ochratoxines

Différents microorganismes ont été identifiés pour leur capacité à transformer l'ochratoxine A (OTA) et la ZEA. En 2003, Schatzmayr *et al.* ont identifié la souche *Trichosporon mycotoxinivorans* (MTV 115) comme la plus efficace *in vitro* et *in vivo* pour détoxifier l'OTA. La ZEA peut être métabolisée par voie fongique (Richardson *et al.*, 1985 ; Minervini *et al.*, 2005), bactérienne (Schatzmayr *et al.*, 2006 ; Vekiru *et al.*, 2010 ; El-Sharkawy et Abul-Hajj, 1988) ou enzymatique (Takahashi-Ando *et al.*, 2002) en différents métabolites non toxiques. Récemment, sur 4 produits biotransformants testés, seul un produit a efficacement biotransformé la ZEA en métabolite non toxique (ZOM-1), en conditions aérobies ou anaérobies (Hahn *et al.*, 2015). Ainsi, les études sur la biotransformation de la ZEA sont limitées et controversées à la différence des nombreuses études sur l'adsorption de la ZEA.

3.4. Biotransformation des fumonisines

Très peu d'études de biotransformation des FUM sont disponibles. En 2010, Heidl *et al.* ont proposé un schéma de dégradation de la FB1 en FB1 hydrolysée (HFB1) par la bactérie *Sphingopyxis sp.* (MTA 144), via l'action consécutive de deux enzymes. Néanmoins à ce jour la non toxicité de l'HFB1 est discutée et son absorption intestinale semble plus élevée que celle de la molécule mère, la FB1 (Cirlini *et al.*, 2014). Une souche d'estérase est aujourd'hui enregistrée comme additif en Union Européenne.

CONCLUSION

L'étude d'agents détoxifiants en mycotoxines nécessite de bien considérer les méthodes utilisées. A ce jour très peu d'agents ont pu démontrer un large spectre d'efficacité alors que les poly-contaminations en mycotoxines sont beaucoup plus fréquentes que les mono-contaminations dans l'aliment.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2003. *Food Chem. Toxicol.*, (41), 1283-1290.
- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2004. *Food Chem. Toxicol.*, (42), 817-824.
- Avantaggiato G., Havenaar R., Visconti A., 2007. *J. Agricult. Food Chem.*, (55), 4810-4819.
- Baptista A.S., Horii J., Calori-Domingues M.A., Micotti da Gloria E., Salgado J.M., Vizioli M.R., 2004. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, (20), 475-481.
- Biehl M., Prelusky D., Koritz G.D., Hartin K.E., Buck W.B., Trenholm H.L., 1993. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, (121), 152-159.
- Binder J., Horvath E.M., Schatzmayr G., Ellend N., Danner H., Krska R., Braun R., 1997. *Cereal Res. Commun.*, (25), 343-346.
- Binder E.M., Binder J., Ellend N., Schaffer E., Krska R., Braun R., 1998. In: M. Miraglia, H. P. van Egmond, C. Brera & J. Gilbert (edit.), *Alaken*, Fort Collins, pp279-285.
- Bullerman L., Bianchini A., 2007. *Int. J. Food Microbiol.*, (119), 140-6.
- Ciegler A., Lillehoj E.B., Peterson R.E., Hall H.H., 1966. *Appl. Microbiol.*, (14), 934-9.
- Cirlini M., Hahn I., Varga E., Dall'Asta M., Falavigna C., Calani L., Berthiller F., Del Rio D., Dall'Asta C., 2014. *Int. J. Food Sci. Nutr.*, (66), 98-103.
- Dänicke S., Döll S., 2010. *Food Chem. Toxicol.*, (48), 152-158.
- Diaz D.E., Hagler W.M., Hopkins B.A., Whitlow L.W., 2002. *Mycopathologia*, (156), 223-226.
- Demais H., Havenaar R., 2006. *The World Mycotoxin Forum*. Cincinnati, pp. 89.
- De Mil T., Devreese M., De Baere S., Van Ranst E., Eeckhout M., De Backer P., Croubels S., 2015. *Toxins*, (7), 21-33.
- Döll S., Dänicke S., Valenta H., Flachowsky G., 2004. *Arch. Anim. Nutr.*, (58), 311-324.
- EFSA. 2009. CFP/EFSA/FEEDAP/2009/01.
- El-Sharkawy S., Abul-Hajj Y.J., 1988. *Xenobiotica*, (18), 365-371.
- Eriksen G.S., Pettersson H., Lindberg J.E., 2003. *Arch. Anim. Nutr.*, (57), 335-345.
- Fuchs E., Binder E.M., Heidler D., Krska R., 2002. *Food Addit. Contam.*, (19), 379-386.
- Fruhauf S., Schwartz H., Ottner F., Krska R., Vekirua E., 2012. *Food Addit. Contam.*, (29), 217-231.
- Galvano, F., Pietri, A., Bertuzzi, T., Piva, A., Galvano, M., Chies, L., Galvano, M., 1998. *J. Food Protect.*, (61), 469-475.
- Grant P.G., Phillips T.D., 1998. *J. Agr. Food Chem.*, (46), 599-605.
- Hahn I., Kunz-Vekiru E., Twarużek M., Grajewski J, Krska R. and Berthiller F., 2015. *Food Additives and Contaminants: Part A*, (32), 922-933.
- Hedman R., Pettersson H., Lindberg J.E., 1997. *Arch. Anim. Nutr.*, (50), 13-24.
- Heinl S., Hartinger D., Thamhesl M., Vekiru E., Krska R., Schatzmayr G., Moll W.D., Grabherr R., 2010. *J. Biotechnol.*, (145), 120-9.
- Jaynes F., Zartman R.E., 2011. *Toxins*, (3), 551-565.
- Lemke S.L., Ottinger S.E., Mayura K., Ake C.L., Pimpukdee K., Wang N., Phillips T.D., 2001. *Anim. Feed Sci. Tech.*, (93), 17-29.
- Lopez-Garcia R., Park D.L., 1998. In: D. Bhatnagar and S. Sinha (edit.), Marcel Dekker, New York, pp407-433.
- Minervini F., Giannoccaro A., Cavallini A., Visconti A., 2005. *Toxicol. Lett.*, (159), 272-283.
- Olsen M., Malmlof H., Pettersson H., Sandholm K., Kiessling K.H., 1985. *Acta Pharmacol. Tox.*, (56), 239-243.
- Piotrowska M., Masek A., 2015. *Toxins*, (7), 1151-1162.
- Prelusky D.B., Hartin K.E., Trenholm H.L., Miller J.D., 1988. *Fund. Appl. Toxicol.*, (10), 276-286.
- Ramos A.J., Hernandez E., 1996. *Anim. Feed Sci. Tech.*, (62), 263-269.
- Richardson K.E., Hagler W.M., Mirocha C.J., 1985. *J. Agr. Food Chem.*, (33), 862-866.
- Rotter R.G., Frohlich A.A., Marquardt R.R., 1989. *Can. J. Anim. Sci.*, (53), 449-453.
- Sabater-Vilar M., Malekinejad H., Selman M.H.J., van der Doelen M.A.M., Fink-Gremmels J., 2007. *Mycopathologia*, (163), 81-90.
- Schatzmayr G., Heidler D., Fuchs E., Nitsch S., Mohnl M., Täubel M., Loibner A.P., Braun R., Binder E.M., 2003. *Mycotoxin Res.*, (19), 124-8.
- Schatzmayr G., Zehner F., Täubel M., Schatzmayr D., Klimitsch A., Loibner A.P., Binder E.M., 2006. *Mol. Nutr. Food Res.*, (50), 543 - 551.
- Takahashi-Ando N., Kimura M., Kakeya H., Osada H., Yamaguchi I., 2002. *Biochem. J.*, (365), 1-6.
- Tangni E.K., 2003. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain, Louvain, Belgique.
- Tomasevic-Canovic M., Dakovic, A., Rottinghaus G., Matijasevic S., Duricic M., 2002. *Micropor. Mesopor. Mat.*, (61), 173-180.
- Vekiru E., Fruhauf S., Sahin M., Ottner F., Schatzmayr G., Krska R., 2007. *Mycotoxin Res.*, (23), 27-33.

- Vekiru E., Hametner C., Mitterbauer R., Rechthaler J., Adam G., Schatzmayr G., Krska R., Schuhmacher R., 2010. *Appl. Environ. Microb.*, (76), 2353–2359.
- Vekiru E., Fruhauf S., Rodriguez I., Ottner F., Krska R., Schatzmayr G., Ledoux D.R., Rottinghaus G.R., Bermudez A.J., 2015. *World Mycotoxin J.*, (8), 477 – 488.
- Versantvoort C.H.M., Oomen A.G., Van de Kamp E., Rempelberg C.J.M., Sips A.J.A.M., 2005. *Food Chem. Toxicol.*, (43), 31-40.
- Wu Q., Jezkova A., Yuan Z., Pavlikova L., Dohnal V., Kuca K., 2009. *Drug Metab. Rev.*, (41), 1–7.
- Yiannikouris A., François J., Poughon L., Dussap C.G., Bertin G., Jeminet G., Jouany J.P., 2004. *J. Food Protect.*, (67), 1195–1200.
- Yiannikouris A., André G., Poughon L., François J., Dussap C.G., Jeminet G., Bertin G., Jouany J.P., 2006. *Biomacromolecules.*, (7), 1147-1155.

Tableau 1. Efficacité des agents adsorbants à fixer différentes mycotoxines (/ : absence de donnée). Références : A-Avantaggiato *et al.*, 2003 ; B-Avantaggiato *et al.*, 2004 ; C-Avantaggiato *et al.*, 2007 ; D-Demais et Havenaar, 2006 ; E-Diaz *et al.*, 2002 ; F-Döll *et al.*, 2004 ; G-Fruhauf *et al.*, 2012 ; H-Galvano *et al.*, 1998 ; I-Lemke *et al.*, 2001 ; J-Piotrowska et Masek, 2015 ; K-Rotter et Frohlich, 1989 ; L-Sabater-Vilar *et al.*, 2007 ; M-Tangni, 2003 ; N-Tomasevic-Canovic *et al.*, 2002 ; O-Vekiru *et al.*, 2007 ; P-Vekiru *et al.*, 2015.

Type d'agent adsorbant	Méthode de test/unité	Aflatoxines	Ochratoxines	Zéaralénone	Déoxynivalénol	Fumonisines
Charbon actif	Statique à concentration unique (% d'adsorption)	88 à 99,9% (Réf. E, I, O ²)	90 à 99% (Réf. C, H, K)	74,5 à 100% (Réf. A, F, G)	52 à 95% (Réf. B, F, H, M)	100% (Réf. B)
Charbon actif	Dynamique (TIM) (% d'absorption intestinale)	/	/	-45 à -84% (Réf. A)	-29 à -45% (Réf. B)	/
Smectites	Statique à concentration unique (% d'adsorption)	50 à 100% (Réf. C, E, O, P)	6 à 17% (Réf. C)	13 à 49% (Réf. A, F)	1 à 9% (Réf. B, F)	0 à 100% (Réf. B)
Smectite modifiée à base d'algue	Dynamique (TIM) (% d'absorption intestinale)	/	/	/	-7 à -40% (Réf. D)	-52 à -60% (Réf. D)
Zéolite	Statique à concentration unique (% d'adsorption)	8,3 à 99% (Réf. C, I, N, P)	20 à 59% (Réf. C, M, N)	17 à 54% (Réf. A)	1 à 3% (Réf. B, N)	6 à 59% (Réf. B)
Parois de levure	Statique à concentration unique (% d'adsorption)	29 à 96,6% (Réf. E)	7 à 62% (Réf. C, J)	0 à 88% (Réf. A, F, L)	0 à 24% (Réf. B, L)	2 à 50% (Réf. B)

BIOMARQUEURS D'UNE EXPOSITION AUX FUMONISINES ET A LA ZEARALENONE : CAS DU POULET ET LA DINDE DE CHAIR EXPOSES A DES ALIMENTS CONTAMINES A DES TENEURS INFERIEURES AUX MAXIMA RECOMMANDES

**Guerre Philippe¹, Metayer Jean Paul², Mika Amandine³, Cleva Didier⁴, Boissieu Cyril⁴,
Le Bourhis Céleste⁵, Tardieu Didier¹, Travel Angélique³**

¹*Université de Toulouse, INP, ENVT, UR Mycotoxicologie, F-31076 TOULOUSE, France;*

²*ARVALIS-Institut du Végétal, Station expérimentale, 91720 BOIGNEVILLE, France;*

³*ITAVI, Centre INRA Val de Loire, 37380 NOUZILLY, France;*

⁴*Chêne Vert Conseil, Z Bellevue II – 35220 CHATEAUBOURG, France;*

⁵*INRA, Unité 1295 PEAT Centre Recherche Val de Loire, 37380 NOUZILLY, France.*

p.guerre@envt.fr

RÉSUMÉ

L'objectif de l'étude est d'évaluer la sensibilité de biomarqueurs mesurés au niveau hépatique chez les volailles lors d'une exposition à des mycotoxines à des teneurs dans les aliments inférieures ou égales aux maxima recommandés en Europe. Dans un premier essai, des aliments « artificiellement » contaminés (20 mg FBs/kg et 0,5 mg ZEN/kg) ont été distribués à 14 poulets (J0 à J35) et à 14 dindes (J56 à J70). Dans un second essai, de l'aliment « naturellement » contaminé (7,5 mg FBs/kg et 0,6mg ZEN/kg) a été distribué à 15 poulets (J20 à J34) et à 15 dindes (J55 à J69). Pour chaque essai, de l'aliment indemne en mycotoxines a été distribué dans les mêmes conditions à des lots témoins. Le dosage de la sphinganine (Sa), sphingosine (So), Fumonisine B1 (FB1) et l'alpha-zéaralénol (α -ZEL) total a été réalisé dans le foie. La distribution de l'aliment contaminé à 20 mg FBs/kg a entraîné une élévation du rapport Sa/So hépatique par rapport aux animaux témoins, et ce dans les 2 espèces. Aucune différence entre groupes n'a en revanche été observée sur le rapport Sa/So avec l'aliment contenant 7,5 mg FBs/kg. Le dosage de la FB1 hépatique en UHPLC-MS/MS après purification sur colonne d'immuno-affinité a permis de révéler la présence de la toxine dans le foie de tous les animaux exposés, y compris ceux recevant l'aliment naturellement contaminé à 7,5 mg FBs/kg. Le dosage de l' α -ZEL total dans le foie a montré des teneurs supérieures à la LOQ (0.25 μ g α -ZEL /kg) chez les dindes et les poulets exposés, avec de fortes différences entre espèces. En conclusion, ces résultats montrent que les dosages hépatiques de l' α -ZEL total et de la FB1 peuvent être utilisés chez la volaille comme biomarqueurs respectifs d'exposition à la ZEN et aux FBs à des niveaux de contamination des aliments inférieurs aux maxima recommandés en Europe. Le dosage de la FB1 s'est par ailleurs révélé plus sensible que le rapport Sa/So, jusqu'à présent utilisé pour révéler l'exposition aux FBs.

ABSTRACT

Biomarkers in order to detecting fumonisins and zearalenone exposure: case of chicken and turkey exposed to contaminated feeds at levels below the maximum recommended levels

The objective of this study is to evaluate the liver biomarkers sensitivity in poultry when exposed to mycotoxins at feed levels less than or equal to the maximum recommended in Europe. In a first trial, "artificial" contaminated feed (20 mg FBs/kg and 0.5 mg ZON/kg) was distributed to 14 chickens (D0 to D35) and 14 turkeys (D56 to D70). In a second trial, "natural" contaminated feed (7.5 mg FBs/kg and 0.6mg ZEN/kg) was distributed to 15 chickens (D20 to D34) and 15 turkeys (D55 to D69). For each trial, mycotoxin-free feed was distributed under the same conditions to control groups. The determination of sphinganine (Sa), sphingosine (So), Fumonisin B1 (FB1) and total alpha-zearalenol (AZON) was performed in the liver. The distribution of contaminated feed at 20 mg FBs/kg resulted in an increased Sa/So liver ratio compared to control animals, in both species. However, no differences between groups were observed on the Sa/So liver ratio with the feed containing 7.5 mg FBs/kg. FB1 hepatic determination by UHPLC-MS/MS after purification with immuno-affinity column revealed the toxin presence in the liver of all exposed animals, including those receiving the naturally contaminated feed (7.5 mg FBs/kg). The total AZON determination in the liver showed levels above the quantification limit (0.25 μ g AZON/kg) in exposed turkeys and chickens, with significant species differences. In conclusion, total AZON and FB1 hepatic determinations can be used in poultry as respective biomarkers of exposure to ZON and FBs at feed contamination levels below the maximum recommended in Europe. The FB1 assay was also more sensitive than Sa/So ratio, which has so far been used to reveal exposure to FBs.

INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des composés toxiques produits par divers types de moisissures après contamination de cultures alimentaires, principalement des céréales.

La présence de mycotoxines dans les aliments pour animaux peut avoir des répercussions sur la santé animale. Les effets potentiels indésirables sur la santé des animaux, sont nombreux tels que des effets reprotoxiques, hépatotoxiques, néphrotoxiques, dermatotoxiques, immunomodulateurs, toxicité digestive et altération des performances (AFSSA, 2009). Ces effets dépendent du niveau d'exposition (dose, durée) mais surtout de la mycotoxine en cause, de ses métabolites et de leurs taux de transfert. Les volailles sont particulièrement exposées aux mycotoxines du fait de la part importante des céréales dans leur alimentation.

Compte tenu des propriétés des fusariotoxines, des altérations des capacités hépatiques de détoxications et des altérations du fonctionnement du système immunitaire susceptibles d'augmenter le risque d'infections secondaires et/ou de réduire l'efficacité vaccinale peuvent être envisagées. Ainsi, une augmentation de la pression sanitaire et un recours accru à l'usage d'anti-infectieux peut être redouté.

La faible spécificité des signes cliniques observés dans ces conditions rend difficile le diagnostic de mycotoxicose par les vétérinaires, et limite la mise en place d'actions correctives. La détection précoce et spécifique de cette exposition, via l'identification de biomarqueur, est un outil essentiel de diagnostic. En ce qui concerne les fusariotoxines, seuls des biomarqueurs spécifiques d'exposition aux fumonisines, à travers la détermination du rapport sphinganine/sphingosine, sont aujourd'hui disponibles (Tran et al., 2006b ; Tardieu et al., 2008b). Pour la zéaralénone (ZEN), un biomarqueur d'exposition spécifique pourrait être l'alpha-zéaralénol (α -ZEN), métabolite réduit de la zéaralénone doté de propriétés xéno-oestrogéniques très supérieures à la molécule mère (EFSA, 2017). Ce composé a été identifié dans toutes les espèces aviaires où il a été recherché lors d'études *in vitro* (Kolf-Clauw et al., 2008). Des études préliminaires réalisées chez la dinde exposée à 0,5 mg de zéaralénone/kg d'aliment confirment sa présence.

L'objectif de cette étude est d'évaluer la sensibilité de ces biomarqueurs mesurés dans le foie chez le poulet de chair et la dinde en réponse à une ingestion d'aliments contaminés « artificiellement » ou « naturellement » par des fumonisines et de la zéaralénone.

1. MATERIELS ET METHODES

Pour chaque essai, les performances zootechniques ont été enregistrées à chaque transition alimentaire et calculées pour l'ensemble de la période d'élevage.

1.1. Essai avec des aliments artificiellement contaminés en mycotoxines

1.1.1. Les aliments

Les mycotoxines nécessaires à l'expérimentation ont été obtenues par culture de souches fongiques toxigènes tel que présenté dans l'article de Travel et al. (2017). Trois aliments expérimentaux (base maïs – soja) ont été constitués pour obtenir un lot témoin (sans ajout de mycotoxines de synthèse), un lot FBs (20 mg /kg du total FB1+FB2), un lot ZEN (0,5 mg/kg).

1.1.2. Les animaux

Quarante-deux poulets de chair (Ross PM3 mâles) ont été élevés en cages individuelles de 0 à 35 jours d'âge. Puis, chacun des 2 aliments expérimentaux contenant les mycotoxines (lot FBs et ZEN) et l'aliment témoin (T) a été distribué individuellement à 14 poulets de chair 0 à 35 jours d'âge. Les caractéristiques nutritionnelles étaient les suivantes : protéines = 22 % et EM = 2880 kcal/kg de 0 à 10 jours, puis protéines = 19,5 % et EM = 3050 kcal/kg de 11 à 35 jours. A J35, 14 poulets par lot ont été sacrifiés.

En parallèle, 42 dindes de chair (Grade Maker mâles) ont été élevées en cages individuelles de 0 à 55 jours d'âge avec un aliment démarrage (J0-J27) puis un aliment croissance 1 (J28-J55) suivant les recommandations habituelles et indemnes de mycotoxines (< 80 μ g de DON, < 20 μ g de FBs, < 50 μ g de ZEN /kg). Puis, chacun des 2 aliments expérimentaux contenant les mycotoxines (lot FBs et ZEN) et l'aliment témoin (protéines = 21 % et EM = 3125 kcal/kg) a été distribué individuellement à 14 dindes de 56 à 70 jours d'âge. A J70, 14 dindes par lot ont été sacrifiées.

1.2. Essai avec des aliments naturellement contaminés en mycotoxines

1.2.1. Les aliments

Des matières premières naturellement contaminées par des mycotoxines (blé et maïs – cf Travel et al., 2019) ont permis de formuler des aliments pour volailles représentatifs de la situation « la plus critique », susceptible d'être rencontrée sur le terrain sur la période 2012-2014 et qui répondent aux recommandations de l'UE. Les analyses (LC-MS/MS) ont confirmé les profils suivants pour l'aliment poulet : 7,3 mg FBs/kg (6,0 FB1 et 1,3 FB2) et 0,6 mg ZEN/kg et pour l'aliment dinde : 7,9 mg FBs/kg (6,5 FB1 et 1,4 FB2) et 0,6 mg ZEN/kg.

1.2.2. Les animaux

Trente poulets de chair (Cobb 500 mâles) ont été élevés au sol, en 2 groupes de 15 animaux. De 0 à 34 jours d'âge, les poulets ont tous reçu 2 phases alimentaires classiques (démarrage et croissance). Jusqu'à J20, les 2 groupes ont reçu un aliment sans mycotoxines, puis pendant 14j (J20-J34), le groupe M a reçu l'aliment « naturellement » contaminé en mycotoxines alors que le groupe T continuait à

recevoir un aliment indemne de mycotoxines. A J34, 10 poulets des lots T et M ont été sacrifiés.

Trente dindes de chair (Grade Maker mâles) ont été élevées au sol, en 2 groupes de 15 animaux. De 0 à 69 jours d'âge, les dindes ont toutes reçu 3 phases alimentaires classiques (démarrage, croissance 1, croissance 2). Jusqu'à J55, les 2 groupes ont reçu un aliment sans mycotoxines, puis pendant 14j (J55-J69), le groupe M a reçu l'aliment « naturellement » contaminé en mycotoxines alors que le groupe T continuait à recevoir un aliment indemne de mycotoxines. A J69, 10 dindes des lots T et M ont été sacrifiées.

1.3. Prélèvements, recherche des biomarqueurs

A la fin de l'exposition, après 8h de jeûne, les animaux ont été mis à mort par élongation des cervicales puis exsanguination. Sur chaque animal, le foie a été prélevé et conservé à -20°C pour dosage des concentrations en sphingolipides et mycotoxines.

1.3.1. Sphingolipides

Cinq cent milligrammes de foie sont broyés au potter dans du tampon phosphate (0,1 M, pH 7.2). Un volume fixe de C20 Sphinganine équivalent à 0,2 nmol est ajouté aux échantillons. Les lipides sont extraits par du chloroforme alcalin et une hydrolyse alcaline est réalisée comme précédemment décrit (Tran et al., 2006a). Les extraits chloroformiques sont séchés et repris dans 20µl de méthanol et positionnés dans un préparateur d'échantillon. Une dérivation à l'aide d'OPA est réalisée 10 minutes avant injection dans le système HPLC.

La séparation et le dosage des sphingolipides est réalisée sur colonne C18 Radial-Pak (Waters associated, Inc., Milford, MA), comme précédemment décrit (Tran et al., 2003). Les teneurs tissulaires en Sa et So sont exprimées après correction du rendement de la méthode d'analyse mesuré pour chaque échantillon à l'aide de la C20 Sa.

1.3.2. Fumonisine B1

Un gramme d'homogénat est broyé au potter dans du tampon NaCl. Un volume fixe de U-[13C34]-FB1 (Romer, 3131 Getzersdorf, Austria) est ajouté aux échantillons (12,5µl d'une solution à 1µg/ml dans l'acétonitrile/eau, v/v). Les FBs sont extraites par un mélange acétonitrile/eau puis purifiées sur colonnes FUMONIPREP (Romer, 3131 Getzersdorf, Austria) selon les recommandations du fabricant et comme précédemment décrit (Tardieu et al., 2008a). L'éluat de filtration est séché et repris dans 200µl de méthanol/eau, 10µl sont injectés dans le système HPLC.

La séparation de la FB1 est réalisée sur colonne C18 Poroshell 120 (Agilent) à l'aide d'un gradient méthanol/eau contenant 0,1% d'acide formique. Le dosage est réalisé en ESI (Agilent G6410B), avec deux ions qualifiants pour chaque toxine.

Les teneurs tissulaires en FB1 sont exprimées après correction du rendement de la méthode d'analyse mesuré pour chaque échantillon à l'aide de 13CFB1.

1.3.3. Alpha-zéaralénol

Cinq grammes d'homogénats sont broyés au potter dans du tampon acétate (0,2M, pH7,2). Un volume fixe de U-[13C18]-ZEN (Romer, 3131 Getzersdorf, Austria) est ajouté (12,5µl d'une solution à 1µg/ml dans l'acétonitrile/eau, v/v). L'homogénat est extrait en présence d'acétonitrile (1V/4V), évaporé à sec, et repris dans du tampon acétate (0,2M, pH5). L'extrait est incubé une nuit à 37°C en présence de bêta-glucuronidase (Helix pomatia SIGMA, >1700 U/g) comme précédemment décrit (Kolf-Clauw et al., 2007). L'incubat est extrait en présence d'acétonitrile (1V/4V) et évaporé à sec. L'extrait sec est repris dans du tampon acétate (0,2M, pH7,2) et purifié sur colonne Easi-extract zearalenone (RBiopharm, Darmstadt, Allemagne) selon les recommandations du fabricant. L'éluat de filtration est séché et repris dans 200µl de méthanol/eau, 10µl sont injectés dans le système HPLC.

La séparation de l'α-ZEL est réalisée sur colonne C18 Poroshell 120 (Agilent) à l'aide d'un gradient méthanol/eau contenant 0,1% d'acide formique. Le dosage est réalisé en ESI (Agilent G6410B). Les teneurs tissulaires sont exprimées après correction des rendements de la méthode d'analyse mesurés à l'aide de ¹³C ZEN.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Aucune mortalité, aucune perte de performance, ni aucun signe lésionnel n'ont été observés dans ces essais. Pour chaque essai, les analyses de mycotoxines ont été effectuées sur 6 animaux par lot pris au hasard, soit 24 échantillons au total.

2.1. Sphingolipides

Les concentrations en Sa et So mesurées dans les foies des dindes et poulets au cours de ces deux essais ont permis la détermination du rapport Sa/So (Figure 1). Une différence significative entre animaux témoins et animaux exposés est observée chez la dinde et le poulet recevant un aliment contaminé à hauteur de 20 mg FB1+FB2/kg (Figure 1A). L'effet est plus marqué chez la dinde (multiplication du rapport Sa/So par un facteur 2,6) que chez le poulet (multiplication par un facteur 1,5). En revanche, aucune différence significative entre groupes n'est observée lorsque l'aliment contaminé contenait 7.5 mg FB1+FB2/kg (Figure 1B). Ces résultats sont en accord avec la plupart des données de la littérature qui indiquent qu'un effet des fumonisines sur le rapport Sa/So est observé pour des doses de 5 à 20 mg FB1+FB2/kg d'aliment, selon l'espèce et la durée d'exposition (Tran et al., 2016a et b, Magnin et al., 2017).

2.2. Fumonisine B1

Les concentrations hépatiques en FB1 mesurées chez les dindes et poulets en fin d'étude après un jeûne de 8h sont présentées dans la figure 2. Dans les deux essais les teneurs en FB1 étaient supérieures à la LOQ chez les animaux exposés. Cinq échantillons sur 24

étaient compris entre 0,5 et 1 µg FB1/kg chez les animaux (1 poulet et 4 dindes) non exposés. La fréquence de leur répartition entre animaux et essais (aliments artificiellement ou naturellement contaminé) était aléatoire. La présence de FB1 dans le foie d'animaux exposés à des teneurs de 20 mg FB1+FB2/kg est en accord avec les données précédemment publiées chez la volaille (Tardieu et al., 2008b et 2009). Aucune différence entre dindes et poulets n'est observée dans cette étude, et ce malgré la différence de durée d'exposition à la dose de 20 mg FB1+FB2/kg. Ce dernier résultat suggère que la FB1 ne s'accumule pas dans le foie des animaux. Il est en accord avec les données de toxicocinétique plasmatique qui révèlent un temps de demi-vie plasmatique court, variant de 20 à 106 min chez la dinde et le poulet (Tardieu et al., 2008b ; Antonissen et al., 2015). La comparaison des niveaux de FB1 hépatique entre les deux études suggère par ailleurs que le taux de transfert/persistance hépatique de la FB1 n'est pas linéaire.

La mise en évidence de FB1 dans les foies d'animaux exposés à un aliment contenant 7,5 mg FB1+FB2/kg montre que ce dosage peut être utilisé comme biomarqueur d'exposition chez la volaille et à des niveaux de contamination des aliments très inférieures aux maxima recommandés dans l'UE pour ces espèces. Il est par ailleurs important de noter que cette exposition peut être révélée en l'absence d'effet sur le rapport Sa/So (Figure 1), biomarqueur alors considéré comme le plus sensible lors d'exposition aux FBs dans la totalité des espèces animales où il a été recherché et chez l'homme (Shephard et al., 2007).

2.3. Alpha-zéaralénol

La figure 3 présente les concentrations hépatiques en α -ZEL total mesurées chez les dindes et poulets en fin d'étude, après 8h de jeûne. Les teneurs en α -ZEL étaient supérieures à la LOQ chez tous animaux exposés. Neuf échantillons sur 24 étaient compris entre 0,25 et 1 µg α -ZEL/kg chez les animaux non exposés. Sept étaient chez la dinde, deux chez le

poulet. Les teneurs en α -ZEL hépatique chez la dinde semblent proportionnelles au niveau d'exposition alimentaire. En revanche, chez le poulet, les teneurs les plus élevées sont observées pour les animaux qui ont été exposés le plus longtemps. Peu de données existent quant à l'élimination tissulaire de l' α -ZEL. Des études de toxicocinétique plasmatique réalisées à de forts niveaux d'exposition (1,2 mg ZEN/kg de poids corporel) suggèrent un temps de demi-vie plasmatique de 1,36h chez le poulet et une élimination tissulaire rapide (Buranatragool et al., 2015). D'autres travaux chez le porc suggèrent en revanche une persistance et une accumulation tissulaire de ces toxines (Sambuu et al., 2011).

La présence d' α -ZEL total dans les foies de volailles exposées à un aliment contenant 0,5/0,6 mg ZEN/kg confirme que le dosage de l' α -ZEL total peut être utilisé chez la dinde et le poulet comme biomarqueur d'exposition à de faibles niveaux de contamination des aliments. Ce résultat est en accord avec de nombreux travaux réalisés dans différentes espèces animales et chez l'homme (Solfrizzo et al., 2011).

CONCLUSION

En conclusion, ces études montrent que le dosage de l'alpha-zéaralénol hépatique total peut être utilisé comme biomarqueur d'exposition à la zéaralénone chez la dinde et le poulet. De même, le dosage de la FB1 hépatique, peut être utilisé comme biomarqueur d'exposition aux FBs, y compris lors d'exposition à de faibles doses, inférieures aux maxima recommandés en Europe. Ce dosage permet de révéler une exposition à des doses de FBs dans l'aliment sans effet sur le rapport Sa/So, considéré jusqu'à présent comme le biomarqueur le plus sensible.

Cette étude a été financée par le CAS DAR (projet 2012-2015 MYCOVOL) et a été réalisée dans le cadre de l'UMT Biologie Intégrative Recherche et Développement (BIRD).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Afssa, 2009. Eval des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires. pp308
- Antonissen G. et al., 2015. *Toxins*, (7), 560-71.
- Buranatragool K. et al., 2015. *Toxicol Rep.* (2), 351-356.
- Efsa, 2017. doi: 10.2903/j.efsa.2017.4851
- Kolf-Clauw M. et al., 2007. *Revue Méd. Vét.*, (158), 504-508.
- Kolf-Clauw M et al., 2008. *Food Chem. Toxicol.*, 46(5),1467-1473.
- Magnin, M. et al., 2016, *INRA Productions Animales*, (29), 217-232.
- Sambuu R. et al., 2011, *J Reprod Dev.* (2), 303-306.
- Shephard GS. et al., 2007. *Food Addit Contam.* (10), 1196-1201.
- Solfrizzo M. et al., 2011, *Anal Bioanal Chem* (401), 2831-2841.
- Tardieu D. et al., 2008a. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* (870), 140-144.
- Tardieu D. et al., 2008b. *Food Chem Toxicol.*, (46), 3213-3218
- Tardieu D. et al., 2009. *Chem-Biol. Interac.*, (182), 239-244.
- Tran S.T. et al., 2003, *Chem. Biol. Interact.*, (146), 61-72.
- Tran S.T. et al., 2006a, *Chem. Biol. Interact.*, (160), 51-60
- Tran S.T. et al., 2006b, *Chem. Biol. Interact.*, (160), 41-50
- Travel A. et al., 2017. 12e JRA- JRFG, 5-6/04/2017, p1110-1114.
- Travel A. et al., 2019. 13e JRA- JRFG, 20-21/03/2019, in press.

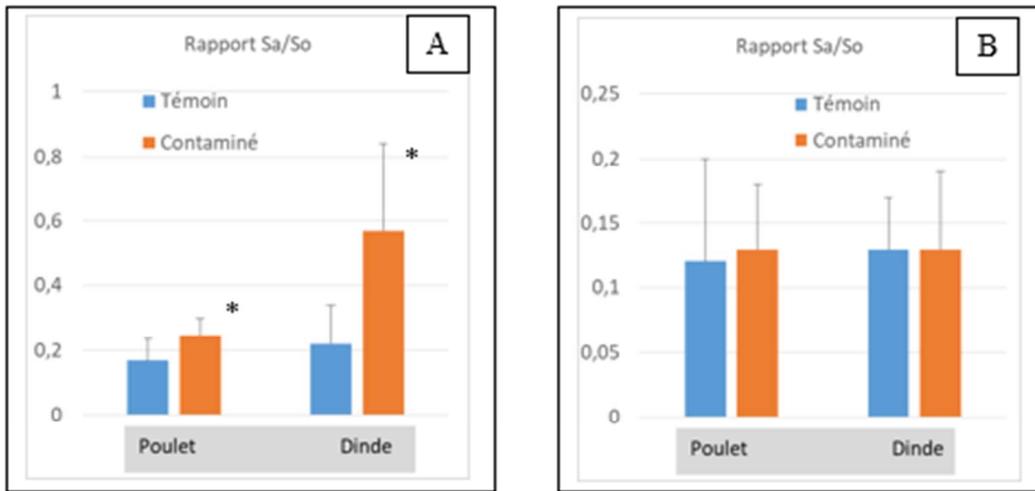


Figure 1. Rapport sphinganine/sphingosine (Sa/So) hépatique chez le poulet et la dinde après distribution d'un aliment contenant 20 (A) et 7,5 (B) mg FB1+FB2/kg. * Différence significative (ANOVA, P<0,05).

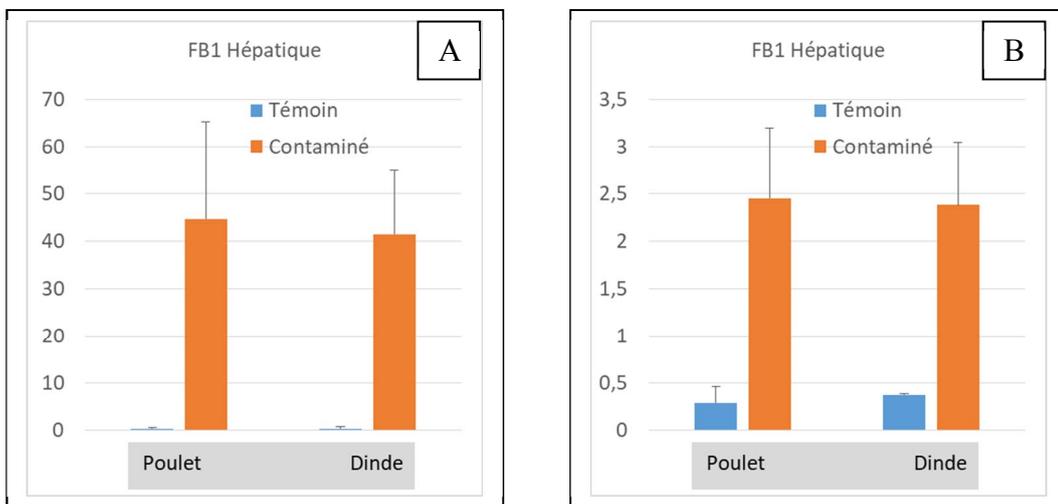


Figure 2. Concentrations hépatiques en FB1 ($\mu\text{g}/\text{kg}$) chez le poulet et la dinde après distribution d'un aliment contaminé contenant 20 mg FB1+FB2/kg (A) et 7,5 mg FB1+FB2/kg (B).

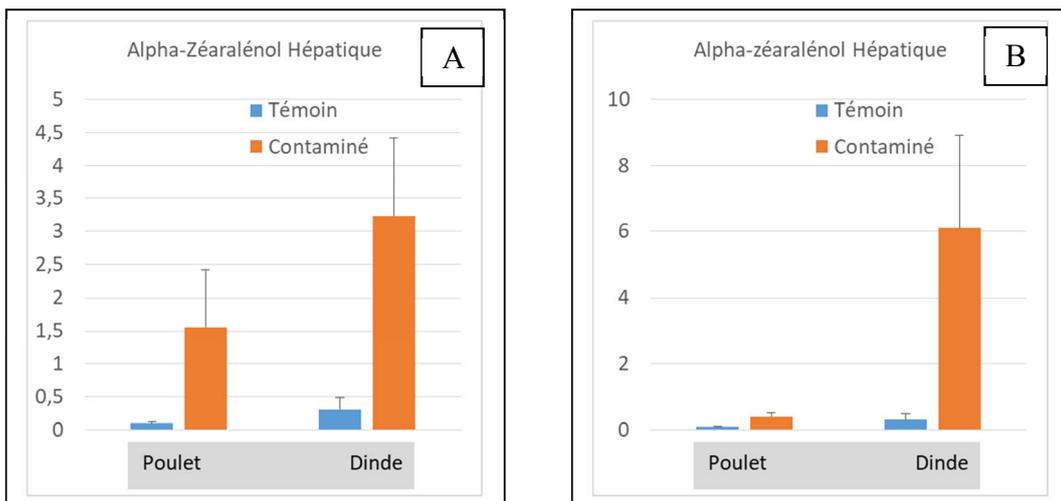


Figure 3. Concentrations hépatiques en alpha-zéaralénol ($\mu\text{g}/\text{kg}$) chez le poulet et la dinde après distribution d'un aliment contaminé par la zéaralénone à 0,5 mg/kg (A) et 0,6 mg/kg (B).

SESSION NUTRITION

SESSION NUTRITION

Posters

EFFET DE *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* CECT 5940 SUR LES PERFORMANCES ET LE MICROBIOTE DU POULET DE CHAIR.

A. Ortiz Garcia¹, A.C. Ion², A. Barna³, S. Lavinia⁴ et M. Lepoudere⁵

¹EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Via Augusta 59, 08006 Barcelone, Espagne

²EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Str. Mătăsari nr.55, 021426 Bucarest, Roumanie

³EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Városligeti fasor 44, 1068 Budapest, Hongrie

⁴UNIVERSITE DES SC. AGRICOLES, Calea Aradului nr.119, 300645 Timisoara, Roumanie

⁵EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, 2 rue au Duc, 35000 Rennes, France

mathieu.lepoudere@evonik.com

RÉSUMÉ

Tout au long de leur cycle de production, les animaux sont régulièrement confrontés à des situations de stress : environnement, alimentation, agents pathogènes, etc., responsables de troubles digestifs et aboutissant à la baisse des performances et à des pertes économiques pour l'éleveur. Des solutions préventives autres que les antibiotiques sont aujourd'hui disponibles, telles que l'utilisation de probiotiques. L'objectif de cette étude était de mesurer l'effet de *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 sur les performances et le microbiote intestinal chez le poulet de chair challengé via l'aliment. 300 poulets mâles Ross 308 ont été répartis en 2 traitements de 25 répétitions chacun, soit 6 animaux/répétition. Les animaux ont reçu des régimes à base de blé (25% dès le démarrage, puis 30% à partir de 11 j), formulés sans ajout d'enzymes et présentés sous forme de farine. Les aliments des lots essais ont été supplémentés avec 0.05% du probiotique Ecobiol® (*B. amyloliquefaciens* CECT 5940) à 1.0×10^6 UFC/g d'aliment. A 35 jours, les poids des animaux des lots essais étaient légèrement plus élevés (+1.3%) que ceux des lots témoins mais sans différences significatives. Le probiotique a cependant permis d'améliorer les indices de consommation de manière significative à 20 (2%) et 35 jours (1.6%). Les dénombrements de groupes bactériens réalisés à 35 jours sur l'iléon n'ont pas montré de différences sur la taille des populations de lactobacillus entre les deux traitements. En revanche les lots avec probiotique présentaient des populations de coliformes et d'*E. coli* dans le caeca, inférieures à celles des lots témoins. En conclusion de cette étude, *B. amyloliquefaciens* CECT 5940 a permis d'améliorer l'efficacité alimentaire à 20 et 35 jours des poulets soumis à un challenge nutritionnel. Il a également contribué au rétablissement d'un microbiote plus favorable à l'animal en réduisant la taille des populations des bactéries potentiellement pathogènes.

ABSTRACT

Effect of *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 on performances and microbiota in broiler.

Throughout their production cycle, animals are regularly exposed to stressful conditions: environment, feed quality, pathogens, etc., responsible for digestive disorders and resulting in reduced performances and economic losses for the farmer. Preventive solutions other than antibiotics are now possible, such as the use of probiotics. Therefore, the objective of this study was to measure the effect of *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 on zootechnical performances and microbiota in challenged broilers. 300 males Ross 308 were allocated in two groups with 25 replicates each and 6 animals/replicate. Animals were fed with a wheat-based diets (25% in the starter and 30% from day 11), formulated without the addition of enzymes and presented as a mash feed. Feeds from the test group were supplemented with 0.05% of the probiotic Ecobiol® (*B. amyloliquefaciens* CECT 5940) at 1.0×10^6 UFC/g of feed. At 35 days, body weight was slightly higher (+1.3%) for the probiotic group but with no significant difference. However probiotics have significantly improved feed efficiency at 20 (2%) and 35 days (1.6%). Enumerations of bacterial groups carried out in the ileum at 35 days showed no differences between the two groups regarding the size of lactobacillus population. By contrast, population of coliforms and *E. coli* were lower in the caeca for birds fed with probiotic. As a conclusion, *B. amyloliquefaciens* CECT 5940 improved feed efficiency of birds submitted to a nutritional challenge at 20 and 35 days. Moreover it contributed to a better balanced microbiota by reducing the size of potentially pathogenic bacteria.

INTRODUCTION

Au cours de leurs différents stades de production, les animaux sont régulièrement confrontés à des situations de stress susceptibles d'entraîner une hétérogénéité entre les lots produits, une baisse des performances zootechniques, voire de la mortalité. Les facteurs responsables de ce stress sont multiples : qualité de l'alimentation, phases de transition alimentaire, conditions d'élevage, apparition d'agents pathogènes, etc., et sont la plupart du temps à l'origine d'un déséquilibre du microbiote, ou dysbiose, qui se traduit par l'apparition de désordres intestinaux.

A titre d'exemple, une trop forte variabilité de la qualité des matières premières peut entraîner une augmentation de la quantité de nutriments non digérés dans la lumière intestinale, favorisant ainsi la prolifération de *Clostridium perfringens*. L'augmentation de cette population entraîne une réaction inflammatoire ainsi qu'un stress oxydatif, et contribue à la colonisation de l'intestin par d'autres bactéries opportunistes telle qu'*Escherichia coli*. Ce déséquilibre du microbiote vient in fine perturber l'intégrité de la barrière intestinale et entraîne des diarrhées. En conséquence les taux de croissance des animaux diminuent et les coûts de médication augmentent, tous deux synonymes de pertes économiques pour l'éleveur. L'utilisation d'antibiotiques à titre préventif s'avère dans ce cas une solution efficace. Cependant les autorités appellent à un usage prudent et raisonné de ces produits en raison du phénomène d'antibiorésistance et de la menace qu'il représente pour la santé publique. Le développement et l'utilisation de solutions alternatives sont donc aujourd'hui devenus nécessaires.

La gamme des remplaçants potentiels est très large et les probiotiques constituent l'un des groupes les plus prometteurs. De nombreuses études, réalisées chez l'Homme mais aussi chez les animaux d'élevage dont les volailles, et en particulier chez le poulet de chair, ont ainsi pu montrer le rôle bénéfique des probiotiques dans le maintien d'une microflore digestive équilibrée. Cependant le lien entre le microbiote et l'état de santé de l'animal ne s'arrête pas au niveau intestinal. Les travaux de Corthesy et al., 2007, ont notamment permis de mettre en évidence la capacité des probiotiques à interagir avec le système immunitaire de l'hôte. Au cours des recherches, les probiotiques ont pu montrer leurs effets positifs sur l'efficacité alimentaire, le taux de mortalité, la modulation de la réponse immunitaire et la protection contre les bactéries pathogènes (Siragusa et al., 2012). Leur action sur le développement des populations microbiennes permet ainsi de réduire l'apparition des maladies entériques et d'améliorer les performances de croissance (Ducatelle et al., 2015).

Sur la base de ces connaissances, l'essai qui suit avait pour objectif de déterminer l'intérêt du probiotique *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 dans l'alimentation des poulets de chair en Europe.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et alimentation

Cette étude a été réalisée en coopération avec l'Université des Sciences Agricoles et de Médecine Vétérinaire du Banat (Timișoara, Roumanie).

300 poulets mâles Ross 308 de 1 jour et d'un poids vif moyen de 42g (+/- 3g) ont été répartis de façon aléatoire en deux groupes de 25 répétitions chacun soit 6 animaux par répétition. Les deux groupes ont été élevés dans un même bâtiment, équipé de 50 parquets de 0.8 m² et avec une litière à base de paille.

Les animaux ont reçu un programme alimentaire en 3 phases : démarrage (0-10 jours), croissance (11-20 jours) et finition (21-35 jours). Un aliment témoin base blé/maïs/soja a été formulé pour chaque phase selon les recommandations nutritionnelles AMINOChick 2012 d'Evonik (voir Tableau 1). Les aliments se caractérisaient par une incorporation de 25% de blé en démarrage et de 30% en croissance et finition, et par l'absence totale d'enzymes : xylanase, protéase et phytase. L'objectif était d'apporter une ration riche en polysaccharides non amylacés (PNA) mal tolérés par les volailles et de favoriser ainsi un déséquilibre du microbiote et une moindre absorption des nutriments. De plus les aliments ont été distribués sous la forme farine avec un accès ad libitum. Même si cette présentation peut conduire à d'excellents résultats, la forme farine a été préférée à la miette ou au pellet afin de pénaliser la croissance et l'indice de consommation via une ingestion potentiellement plus difficile et une séparation des ingrédients (hétérogénéité) plus importante.

Concernant la prophylaxie, aucun coccidiostatique n'a été ajouté et aucune vaccination n'a été réalisée lors de cet essai.

1.2. Traitements et mesures

Les animaux du traitement témoin ont reçu l'aliment témoin seul. Les animaux des lots essais ont reçu l'aliment témoin supplémenté avec le probiotique Ecobiol® *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 à 0.05% soit 1.0x10⁶ UFC/g d'aliment.

A la fin de chaque phase les animaux ont été pesés individuellement et les consommations ont été enregistrées par parquet. Les mortalités ont été relevées quotidiennement. De plus, 25 poulets de chaque traitement ont été abattus à 35 jours, soit un animal/répétition/traitement. Les caeca (1 seul par animal) ont été recueillis, congelés à -20°C et envoyés dans un laboratoire de microbiologie pour

un dénombrement des populations bactériennes : *E. coli* et coliformes. De la même façon les contenus iléaux totaux de 15 poulets par traitement ont été prélevés pour un dénombrement des lactobacilles. Ces groupes bactériens ont été choisis comme marqueurs car généralement considérés comme représentants des bactéries bénéfiques ou pathogènes de l'appareil digestif.

Pour le traitement statistique, toutes les données ont fait l'objet d'un test paramétrique de comparaison de moyennes de Student à l'aide du logiciel Package R.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Au terme de l'essai aucune mortalité n'a été relevée. Les résultats sur les performances zootechniques présentés dans le Tableau 2 indiquent que les poids vifs à la fin de chaque phase étaient similaires entre les deux traitements. A 35 jours, les poulets des lots essais présentaient cependant des poids légèrement plus élevés que ceux des lots témoins (+1.3%). De plus, ces poids étaient inférieurs à la valeur recommandée par Aviagen (Objectifs de performance Ross 2014). Les consommations d'aliments étaient également similaires entre les deux traitements, et elles aussi inférieures aux valeurs Ross. Les résultats obtenus sur les poids et les consommations pourraient en partie s'expliquer par l'absence d'enzymes dans les formulations et par la présentation de l'aliment sous la forme farine, ces deux paramètres pouvant affecter l'ingéré et la valorisation des nutriments.

Concernant les indices de consommation (IC), aucune différence significative n'a pu être observée entre les deux traitements de 0 à 10 jours d'âge. Les lots essais présentaient cependant un IC numériquement inférieur aux lots témoins (-1%). Sur les périodes 0-20 et 0-35 jours, les IC étaient significativement différents entre les deux lots, avec des améliorations respectives de 2% et 1.6%. De plus, contrairement aux valeurs obtenues sur les poids vifs et les consommations, les IC 0-35 jours des deux traitements étaient proches des objectifs d'Aviagen et l'IC pour les lots essais présentait une amélioration de 0.03 g/g par rapport à la valeur de référence. Selon Otutumi et al., 2012, si tous les

besoins en nutriments sont couverts et que les animaux ne sont pas exposés à des pathogènes ou à un stress physiologique suite à une gestion sous-optimale de leurs conditions d'élevage, l'influence favorable des probiotiques peut ne pas être statistiquement significative. Ceci permettrait d'expliquer que seules des différences numériques sur les poids vifs aient pu être observées. Cependant, malgré ces « bonnes » conditions d'élevage, l'apport d'Ecobiol® a eu un effet significatif sur l'efficacité alimentaire.

Lors du dénombrement bactérien aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les deux traitements (Voir tableau 3). Les coliformes et *E. coli* présentaient cependant des populations moins importantes dans le caeca chez les lots avec *B. amyloliquefaciens*, avec 68% de moins de coliformes et 78% de moins d'*E. coli*. Les tailles des populations de lactobacilles dans l'iléon entre les lots témoins et les lots essais étaient similaires. Ces résultats ont permis de démontrer la capacité de *B. amyloliquefaciens* à agir sur l'écosystème microbien digestif de l'animal et à améliorer l'efficacité alimentaire. Pour une transposition de ces résultats sur le terrain dans des conditions « normales » d'élevage, un troisième lot d'animaux avec un aliment conventionnel avec enzymes, serait nécessaire. Des études plus précises du microbiome dans les différents segments digestifs permettraient également d'approfondir les premières observations faites sur le dénombrement microbien. De la même façon, un comptage des populations à 10 et 20 jours apporterait plus d'informations sur l'effet du probiotique tout au long de la croissance de l'animal.

CONCLUSION

La supplémentation avec *Bacillus amyloliquefaciens* CECT 5940 chez des poulets soumis à un challenge nutritionnel, a permis d'améliorer de manière significative les indices de consommation à 20 et à 35 jours d'âge. Le probiotique a également contribué à rétablir l'équilibre du microbiote en réduisant la taille des populations de bactéries potentiellement pathogènes, *E. coli* et coliformes, dans le caeca.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aviagen, Ross 308 broilers: Performances objectives, 2014
 Corthesy B., H. R. Gaskins, A. Mercenier, 2007. Cross-talk between probiotic bacteria and the host immune system. *Journal of Nutrition*. 137: 781S-790S
 Ducatelle, R. et al. 2015. A review on prebiotics and probiotics for the control of dysbiosis: present status and future perspectives. *Animal: an international journal of animal bioscience* 9: 43-48
 Otutumi, L.K. et al. 2012. Variations on the Efficacy of Probiotics in Poultry. In E. C. Rigobelo (Ed.), *Probiotic in Animals*. (pp. 203-230). Publisher: InTech.
 Siragusa G. R. 2012. Modern probiology – Direct fed microbials and the avian gut microbia. *Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium*. 23 120:133

Tableau 1. Compositions et profils analytiques des aliments du groupe témoin : Démarrage, Croissance, Finition

Phases	Démarrage 0-10	Croissance 11-20	Finition 21-35
Ingrédients			
Blé 11.57%, %	25.00	30.00	30.00
Maïs 6.71%, %	21.10	26.60	31.00
Tourteaux de soja 46%, %	43.74	33.96	29.62
Huile de tournesol, %	5.99	5.72	5.83
Carbonate de calcium, %	1.48	1.25	1.21
Phosphate monocalcique, %	1.52	1.31	1.19
Sel, %	0.26	0.24	0.24
Bicarbonate de sodium, %	0.01	0.04	0.04
DL-Méthionine	0.24	0.19	0.17
L-Lysine HCl, %	0.12	0.15	0.15
L-Thréonine, %	0.04	0.04	0.05
Premix ¹ , %	0.50	0.50	0.50
Total. %	100	100	100
Valeurs nutritionnelles			
Matière sèche, %	88.1	87.8	87.8
EMAn volaille, kcal/kg	3025	3100	3150
Protéine brute, %	24.7	21.2	19.4
Cellulose brute, %	3.50	3.11	2.94
Matières grasses, %	7.99	7.81	7.99
Lysine DIS ² , %	1.29	1.10	1.00
Méthionine DIS, %	0.61	0.52	0.49
Méthionine+Cystine DIS, %	0.93	0.81	0.76
Thréonine DIS, %	0.82	0.70	0.65
Valine DIS, %	1.02	0.87	0.80
Isoleucine DIS, %	0.94	0.79	0.72
Arginine DIS, %	1.55	1.28	1.16

¹ : Mélange de vitamines et minéraux / ² : Digestibilité Iléale Standardisée

Tableau 2. Résultats des performances zootechniques à 10, 20 et 35 jours - (P<0.05)

Traitements	Poids vifs (g)			Consommations (g)			Indices de consommation (g/g)		
	10 jours	20 jours	35 jours	0-10 jours	0-20 jours	0-35 jours	0-10 jours	0-20 jours	0-35 jours
Témoin	238	820	2086	216	1051	3134	1.094	1.344 ^b	1.533 ^b
Essai	239	831	2114	215	1043	3120	1.082	1.316 ^a	1.508 ^a
<i>Aviagen (2014)</i>	296	882	2283	294	1103	3510	0.995	1.250	1.537
SEM	1.803	7.036	18.910	1.682	6.061	23.56	0.011	0.007	0.008
Valeur P	0.628	0.303	0.312	0.622	0.340	0.672	0.425	0.0030	0.037

Tableau 3. Dénombrement des populations bactériennes dans l'iléon et le caeca à 35 jours (log₁₀ UFC/g)

Traitements	Iléon Lactobacilles	Caeca Coliformes	Caeca Escherichia. coli
Témoin	5.5x10 ⁸	4.3x10 ⁸	3.6x10 ⁸
Essai	5.9x10 ⁸	1.4x10 ⁸	0.8x10 ⁸

EFFET D'UN COMPLEXE ALGUES-ARGILE SUR LES PERFORMANCES DE POULETS DE CHAIR NOURRIS AVEC UN REGIME MAIS-SOJA

Gallissot Marie.¹, Jacob Rodrigo.², Albino Luiz Fernando Teixeira.², Rostagno Horacio.², Pereira Raquel.¹, Tavares Mariel Neves.¹, Laurain Julia.¹, Rodriguez Maria Angeles.¹

¹*OLMIX – ZA du Haut du Bois – 56580 BREHAN,*

²*UNIVERSITY OF VIÇOSA, Agricultural Science Center, Avenida Peter Henry Rolfs, s/n -
Campus Universitario, 36570-900 VICOSA, Brésil*
animalcare.pm@olmix.com

RÉSUMÉ

Améliorer la digestibilité de l'aliment permet de contribuer à une meilleure durabilité de l'élevage, par une optimisation des ressources disponibles et une réduction des rejets environnementaux, tout en augmentant la rentabilité de l'élevage. La présente étude visait à évaluer l'effet de l'utilisation d'un complexe algues-argile (CAA) dans un aliment maïs-soja sur les performances de poulets de chair. L'étude a été réalisée dans la ferme expérimentale du département de Zootechnie de l'Université fédérale de Viçosa (Brésil). Six-cent soixante poulets mâles de 1 jour (Cobb 500) ont été aléatoirement répartis en 3 groupes de 10 réplifications chacun, avec 22 poulets par réplification. Chaque groupe recevait un régime différent : régime contrôle (C) à base de maïs et tourteau de soja, régime test 1 (T1), correspondant au régime contrôle supplémenté avec 0,1% de CAA et régime test 2 (T2), correspondant au régime contrôle supplémenté avec 0,2% de CAA. Les parquets étaient pesés à 0, 21 et 35 jours et l'ingéré était mesuré quotidiennement. Les résultats ont montré une tendance à augmenter le gain de poids pour les poulets des groupes T1 et T2 par rapport au contrôle, de façon non significative. Une baisse significative de l'indice de consommation a été observée dans les groupes T1 et T2 par rapport au contrôle pendant la période de croissance (-4% et -5% respectivement, $P=0,043$) et la période totale (-3%, $P=0,038$). Aucun effet dose du complexe n'a été observé. Ainsi, cette étude montre un effet positif du complexe algues-argile sur l'efficacité alimentaire de poulets de chair nourris avec un régime maïs-soja. Son utilisation à 0,1% de l'aliment semble être la plus intéressante d'un point de vue technico-économique.

ABSTRACT

Effect of an algae-clay complex on the performance of broiler chickens fed a corn-soy based diet

Improving feed digestibility is a multi-faceted issue in animal nutrition. It contributes to improve livestock farming sustainability, by optimizing the use of available resources and by reducing environmental emissions, while increasing farming profitability. This study was set up to evaluate the effect of supplementing an algae-clay complex (ACC) on growth performance of broiler chickens fed with a corn-soy diet. The experiment was conducted at the Federal University of Viçosa (Brazil). Six hundred and sixty 1-day-old Cobb 500 male chicks were randomly distributed to 3 treatments with 10 replicates per treatment and 22 chicks per experimental unit, allocated to 1 of 3 groups receiving different diets: the standard diet (C) based on corn and soybean meal, the test diet 1 (T1), being the standard diet supplemented with 0.1% of ACC, and the test diet 2 (T2), being the standard diet supplemented with 0.2% of ACC. Results showed a tendency to increase weight gain for groups T1 and T2 compared to control, though it was not statistically significant. Feed conversion ratio was decreased in both test groups compared to control during the grower period (-4% and -5% respectively, $P=0.043$) and the whole period (-3%, $P=0.038$). No dose effect of the ACC product was observed. In the end, this study shows a positive effect of the algae-clay complex on feed efficiency of broiler chickens fed a corn-soy based diet. Its use at 0.1% of the feed seems the most interesting to improve performance and profitability.

INTRODUCTION

Améliorer la digestibilité de l'aliment est un enjeu à plusieurs niveaux en nutrition animale. L'aliment représente le principal poste de dépense en volaille, ainsi une amélioration de la digestion permet de réduire le coût de production et contribue à une meilleure rentabilité des élevages. L'alimentation des monogastriques représente également 55 à 75% de l'impact environnemental de l'élevage (Prudêncio da Silva *et al.*, 2014 ; Wilfart *et al.*, 2017). Ainsi une amélioration de la digestibilité de l'aliment permet de contribuer à une meilleure durabilité de l'élevage, par une réduction de l'utilisation des ressources disponibles et une réduction des rejets environnementaux. De nombreux efforts sont faits par les acteurs de la nutrition animale pour réduire les impacts environnementaux de l'aliment. Les différentes stratégies comprennent une amélioration de l'efficacité alimentaire des animaux ou encore le développement de nouvelles techniques d'alimentation, avec pour objectif commun de réduire le niveau d'aliment non digéré par les animaux, et donc les rejets environnementaux. Le recours à des additifs spécifiques permettant d'améliorer la digestibilité de la ration fait partie des stratégies étudiées. Une technologie brevetée associant une argile (montmorillonite) et des extraits de macroalgues (*Ulva sp* et *Solieria chordalis*) a ainsi permis d'améliorer la digestibilité iléale de l'énergie et d'acides aminés essentiels (lysine, thréonine) chez le porc en croissance (Garcia Suarez et Gallissot, 2016) et représente une solution potentielle d'amélioration de la digestibilité chez le poulet de chair. La présente étude visait à évaluer l'effet de ce complexe algues-argile (CAA) chez le poulet de chair nourri avec un régime maïs-soja.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Schéma expérimental

L'étude a été réalisée dans la ferme expérimentale du département de Zootechnie de l'Université fédérale de Viçosa (Minas Gerais, Brésil). Six-cent soixante poussins mâles de 1 jour (Cobb 500) ont été répartis aléatoirement en 3 groupes de 10 réplifications chacun, avec 22 poulets par réplification (parquet de 1,5 m²). Chaque groupe recevait le même régime de base (Tableau 1), différant par le niveau de complexe algues-argile (MFeed+) supplémenté tout au long de la période d'essai : Contrôle (C), sans supplémentation, Test 1 (T1), supplémenté avec 0,1% de CAA et Test 2 (T2), supplémenté avec 0,2% de CAA. Deux aliments différents ont été distribués : un aliment démarrage de 0 à 21 jours et un aliment croissance de 22 à 35 jours, suivant les tables de nutrition pour volaille et porc brésiliennes (Rostagno *et al.*, 2017).

1.2. Paramètres mesurés

Les animaux ont été pesés à 0, 21 et 35 jours et l'ingéré mesuré quotidiennement, afin d'évaluer les performances zootechniques des poulets (gain de poids, indice de consommation). La mortalité a été relevée quotidiennement. Par ailleurs, des segments de duodénum ont été prélevés sur 3 poulets par réplification (30 poulets par groupe) à 35 jours, 2 heures après le dernier repas, afin de mesurer l'activité de la chymotrypsine et de l'amylase. Après homogénéisation (dans 9 volumes de solution tris-HCl à 0,1M ; pH = 7,8) et centrifugation (à 13 000 g pendant 30 min à 4°C) des échantillons, le surnageant a été utilisé pour mesurer la quantité de protéine présente (méthode de Bradford *et al.*, 1976) d'une part, et pour réaliser les tests enzymatiques d'autre part, par lecture de l'absorbance toutes les 10 secondes pendant 30 minutes, en présence de substrat BTEE (N-benzoyl-L-tyrosine éthyl ester) pour la chymotrypsine et d'amidon pour l'amylase. L'activité enzymatique spécifique est ainsi exprimée en unité (U ou mU) par mg de protéine duodénale. Les résultats (individuels ou par parquet) ont été soumis à une analyse de variance (ANOVA) et les moyennes à un test de Tukey avec un risque $\alpha = 0,05$ à l'aide du logiciel SAS (2009).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances zootechniques

Les résultats ont montré une tendance à augmenter le gain de poids pour les poulets des groupes T1 et T2 par rapport au contrôle (+4% et +5% respectivement), de façon non significative ($P=0,065$). Aucune différence significative n'a été observée sur la période totale (0-35 jours). Une baisse significative de l'indice de consommation a été observée dans les groupes T1 et T2 par rapport au contrôle pendant la période de croissance (-4% et -5% respectivement, $P=0,043$) et la période totale (-3%, $P=0,038$), sans qu'aucun effet dose n'ait été observé. Cette amélioration de l'indice de consommation peut probablement être expliquée par une meilleure digestion de l'aliment supplémenté en CAA, comme observé par Garcia Suarez et Gallissot (2016) sur le porc en croissance. En effet, la capacité de certaines argiles, notamment montmorillonite, à améliorer la digestibilité de l'aliment a déjà été décrite dans la littérature. Les mécanismes d'action mis en avant font part d'une capacité de l'argile à ralentir le transit, laissant plus de temps pour la digestion (Tauquir et Nawaz, 2001 ; Reichardt, 2008), mais également à favoriser le contact entre enzymes et nutriments par chemo-attraction sur leur surface externe (Cabezas *et al.*, 1991 ; Reichardt, 2008 ; Haldob *et al.*, 2009) et enfin à stimuler l'activité des enzymes en étant source d'ions métalliques agissant comme cofacteurs des enzymes (Williams, 1960 ; Niederhoffer, 2000 ; Jondreville *et al.*, 2002 ; Reichardt, 2008).

2.2. Activité enzymatique

L'activité de la chymotrypsine dans le duodénum à 35 jours était plus élevée dans les groupes supplémentés en CAA que dans le groupe contrôle (respectivement +13 et +20% dans les groupes T1 et T2 par rapport au contrôle, $P < 0,001$; Figure 1). De plus, l'activité de l'amylase était plus élevée dans le groupe T2 que dans les groupes contrôle et T1 ($P < 0,01$; Figure 2). Ces résultats indiquent une meilleure capacité de digestion des protéines (à 0,1 et 0,2% de CAA) et de l'amidon (à 0,2% de CAA) en présence du complexe algues-argile, ce qui concorde avec les performances zootechniques observées et avec les résultats obtenus précédemment par Xia *et al.* (2004) en poulet de chair avec de la montmorillonite et de la montmorillonite enrichie en cuivre. La technologie du complexe algues-argile permettant d'augmenter la surface d'argile accessible, et l'utilisation d'extraits d'algues *Ulva sp* et *Solieria chordalis* représentant une source naturelle d'ions métalliques variés (Kim, 2012).

L'hypothèse d'une capacité du complexe algues-argile à augmenter l'activité des enzymes dans l'intestin par la stabilisation des complexes enzyme-substrat et l'apport de cofacteurs sous la forme d'ions métalliques est privilégiée.

CONCLUSION

Cette étude montre un effet positif d'un complexe algues-argile sur l'efficacité alimentaire de poulets de chair nourris avec un régime maïs-soja, particulièrement en phase de croissance (22 à 35 jours). Les périodes de croissance et finition peuvent être les plus importantes en termes d'impacts économique et environnementaux, une amélioration de la digestion de l'aliment sur cette période est particulièrement intéressante. L'utilisation du complexe algues-argile à 0,1% de l'aliment semble être la plus intéressante d'un point de vue technico-économique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Belloir P., Méda B., Lambert W., Corrent E., Juin H., Lessire M., Tesseraud S., 2017. *Animal*, (11), 1881-1889.
- Bradford M. 1976. *Anal. Biochem.* 72, 248 - 256
- Cabezas M.J., Salvador D., Sinisterra J.V., 1991. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, (52), 265-274.
- García-Suarez M., Gallissot M., 2016. *BOKU-Symposium Tierernährung*, (15), 65-69.
- Habold C., Reichardt F., Le Maho Y., Angel F., Liewig N., Lignot J.H., Oudar H., 2009. *Brit. J. Nutr.*, (102), 249-257.
- Jondreville C., Revy P.S., Jaffrezic A., Dourmad J.Y., 2002. *INRA Prod. Anim.*, 15 (4), 247-265.
- Kim S.K., 2012. In : *Handbook of marine macroalgae*. (Wiley-Blackwell) John Wiley and Sons.
- Niederhoffer E.C., 2000. Southern Illinois Univ.
- Prudêncio da Silva V.P., van der Werf H.M.G., Soares S.R., Corson M.S., 2014. *J. Environ. Manage.*, (133), 222-231.
- Reichardt F., 2008. In : thesis (Université Louis Pasteur Strasbourg).
- Rostagno H.S., Albino L.F.T., Hannas M.I., Donzele J.L., Sakomura N.K., Perazzo F.G., Saraiva A., de Abreu M.L.T., Rodrigues P.B., de Oliveira R.F., de Toledo Barreto S.L., Brito C.O., 2017. In : *Brazilian Tables for Poultry and Swine* (H.S. Rostagno) Federal University of Viçosa-Department of Animal Science, Viçosa, pp 265-291.
- Tauquir N.A., Nawaz H., 2001. *Int. J. Agri. Biol.*, (3), 149-150.
- Wilfart A., Dauguet S., Tailleur A., Willmann S., Laustriat M., Magnin M., Garcia-Launay F., Gac A., Dusart L., Esagnol S. Ecoalim : une base de données des impacts environnementaux des matières premières utilisées en France pour l'alimentation animale. *JRA*. 2017.
- Williams R.J.P., 1960. *Nature*, (188), 322.
- Xia M.S., Hu C.H., Xu Z.R., 2004. *Poultry Sci.*, (83), 1868-1875.

Tableau 1. Composition des régimes expérimentaux (%)

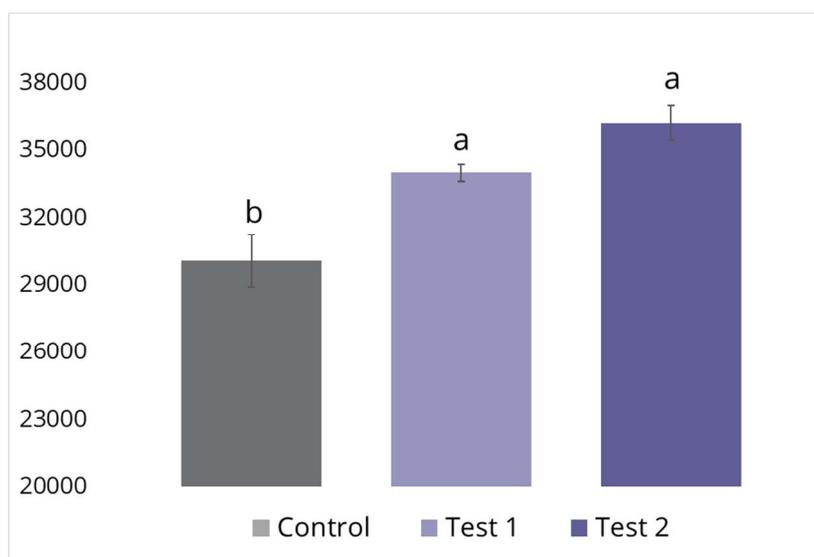
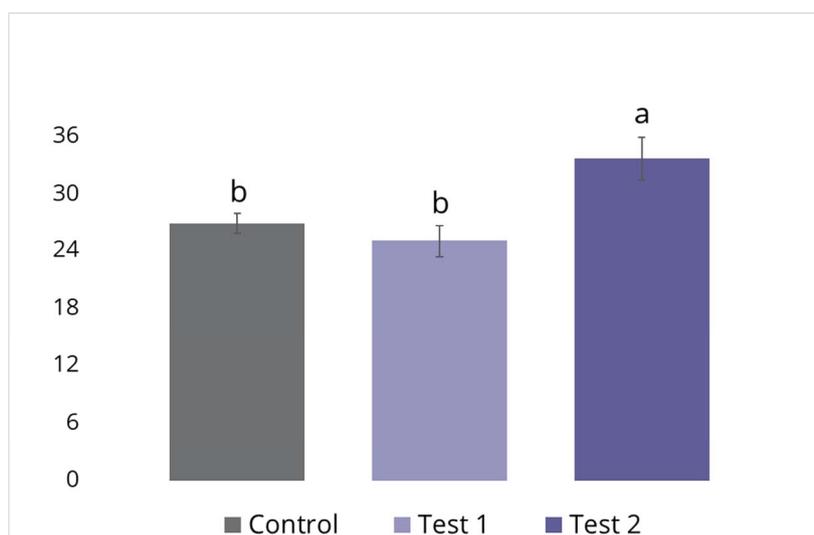
Ingrédients	Démarrage 0-21 jours	Croissance 22-35 jours
Maïs	50,31	58,05
Tourteau de soja	38,11	31,21
Huile de soja	4,277	4,325
Farines animales (43% PB)	4,000	4,000
Phosphate bicalcique (Ca 24,5%; P disp. 18,5%)	0,741	0,306
Carbonate de calcium (Ca 37,7%)	0,524	0,300
Sel	0,476	0,435
DL-Méthionine, 99%	0,374	0,293
L-Lysine HCl, 79%	0,223	0,195
L-Thréonine, 98%	0,095	0,057
L-Valine, 99%	0,055	0,024
Prémix vitaminique	0,150	0,150
Prémix minéral	0,150	0,150
Anticoccidien (salinomycine 12% - 66 ppm)	0,055	0,055
Chlorure de choline, 60%	0,100	0,100
BHT	0,010	0,010
Charge inerte (sable lavé) ¹	0,400	0,400
Total	100	100
Caractéristiques nutritionnelles théoriques (%)		
Protéines brutes	23,50	20,84
Energie métabolisable, kcal/kg	3050,00	3150,00
Calcium	0,97	0,76
Phosphore disponible	0,46	0,37
Sodium	0,23	0,21
Lysine tot.	1,44	1,24
Lysine dig.	1,31	1,12
Méthionine tot.	0,71	0,60
Méthionine dig.	0,67	0,57
Méthionine + cystéine tot.	1,05	0,91
Méthionine + cystéine dig.	0,97	0,83
Thréonine dig.	0,86	0,74
Tryptophane dig.	0,25	0,22
Arginine dig.	1,47	1,28
Valine dig.	1,01	0,87
Glycine + Sérine dig.	2,42	1,82

¹Le complexe algues-argile remplace une quantité équivalente de charge inerte dans les régimes T1 et T2.

Tableau 2. Performances zootechniques en fonction du régime expérimental distribué

Paramètres	Contrôle	Test 1	Test 2	SEM	p-value
Poids initial (g/poulet)	44	44	44	0,000	/
Poids final (kg/poulet)	2,436	2,492	2,490	0,012	0,127
Consommation d'aliment (kg/poulet) :					
- Démarrage (0-21 jours)	1,35	1,33	1,32	0,006	0,222
- Croissance (22-35 jours)	2,21	2,21	2,22	0,009	0,916
- Total (0-35 jours)	3,56	3,54	3,54	0,011	0,796
Gain de poids moyen (kg/poulet) :					
- Démarrage (0-21 jours)	1,08	1,09	1,08	0,005	0,595
- Croissance (22-35 jours)	1,31	1,36	1,37	0,011	0,065
- Total (0-35 jours)	2,39	2,45	2,45	0,012	0,127
Indice de consommation :					
- Démarrage (0-21 jours)	1,244	1,225	1,232	0,005	0,337
- Croissance (22-35 jours)	1,696b	1,623a	1,620a	0,012	0,043
- Total (0-35 jours)	1,490b	1,446a	1,449a	0,007	0,038

^{a,b} Les moyennes ayant des lettres différentes sur une même ligne sont significativement différentes.

Figure 1. Activité de la chymotrypsine dans le duodénum à 35 jours (mU/mg de protéine)**Figure 2.** Activité de l'amylase dans le duodénum à 35 jours (mU/mg de protéine)

UN ALIMENT CONTENANT UNE SOUCHE PROBIOTIQUE AMELIORE LES PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES ET RENFORCE LES FONCTIONS DE BARRIERE PHYSIQUE ET IMMUNITAIRE DE L'INTESTIN CHEZ LE POULET

Pauline BELLOIR¹, Fanny PLACIDE², Valérie TONDEREAU^{1,2}, Gervais WALLOIS¹, Audrey
SACY³, Florence BARBE³, Hélène EUTAMÈNE^{1,2}

¹*EI.Purpan-75 voie du TOEC, 31076 Toulouse,*

² *UMR 1131 TOXALIM INRA, 180 Chemin de Tournefeuille, 31300 Toulouse*

³ *Lallemand SAS 19 Rue des Briquetiers, 31702 Blagnac*

pauline.belloir@purpan.fr

RÉSUMÉ

Pour réduire l'usage d'antibiothérapie en élevage, l'aviculture se doit de trouver des alternatives durables pour optimiser la croissance de l'animal, accroître la santé digestive et la mise en place du système immunitaire. L'utilisation de probiotiques est actuellement présentée comme solution alternative pour atteindre ces objectifs. L'intestin constitue une barrière anatomique et immunologique dynamique qui permet d'assurer une bonne communication entre le compartiment luminal et systémique. L'impact d'un aliment pour poulet contenant ou non une souche probiotique i.e. *Bacillus pumilus* (Bp) a été testé sur des paramètres de performance zootechniques. La barrière physique et immunitaire de l'intestin ont été évaluées respectivement via une estimation de la présence de cellules à mucus et la présence d'un peptide antimicrobien i.e le lysozyme. L'évolution du poids des organes lymphoïdes de l'animal a été apprécié par la pesée des organes lymphoïdes (rate et bourse de Fabricius). L'essai a été mené en cage expérimentale 384 poulets mâles et femelles ROSS PM3 de 1 jour ont reçu pendant 35 jours soit l'aliment contrôle soit l'aliment Bp et ont été répartis selon le dispositif expérimental suivant : 24 cages/lot, 8 animaux/cage. Les performances de croissance ont été relevées à j0, j10, j25 et j35. A j35, la rate et la bourse de Fabricius ont été prélevés puis pesés. Des segments intestinaux ont été collectés pour évaluer le nombre de cellules à mucus au niveau des villosités et la présence du lysozyme. Une amélioration significative de l'IC a été observée au cours de la période j0-j10 après consommation de l'aliment Bp. A j35, une diminution significative du rapport du poids de la rate/poids de la bourse de Fabricius a été mesurée chez les animaux ayant consommé l'aliment Bp. Une augmentation significative d'une part du nombre des cellules à mucus au niveau des villosités ont également été observés chez les animaux Bp. En conclusion, l'utilisation d'un aliment enrichi en *Bacillus pumilus* chez le poussin permet l'amélioration des performances de croissance chez le poulet pendant la phase de démarrage. Cet effet est associé au niveau du tube digestif par un renforcement de la barrière physique et un effet sur le développement des organes lymphoïdes.

ABSTRACT

To reduce the use of antibiotics, we need to find sustainable solutions to optimise growth of poultry, improve their health and their immune statue. For now, the use of probiotics is one of the solution to reach these goals. Intestine is an anatomical and a dynamic immunological barrier that assure a good balance between luminal compartment and the systemic one. In this trial, the impact of a feed enriched or not in probiotic based on bacillus has been tested on zootechnical performance and evaluation of goblets cells presence in villi of the intestinal tract and the presence of lysozyme. 384 one day old chickens ROSS PM3 were reared during 35days in experimental cages (24 cages per treatment, 8 chickens per cages) and received control or the probiotics *Bacillus pumilus* feed respectively. Zootechnical performances were measured at day 10, 25 and 35. At day 35 lymphoid organs and intestinal segments have been removed. Mucus cells number were histologically measured into the villi and determined by immunohistochemistry. FCR was improved at d10 and d35 for the probiotic treatment with a higher weight of lymphoid organs ratio. At the intestine level, the number of goblets cells as well as the lysozyme presence were significantly increased in B1 chickens in comparison with control.

In conclusion, the use of probiotics i.e *Bacillus pumilus* leads to improve growth zootechnical performances of chickens during the starter phase. This effect is associated by an enhancement of the physical and chemical (innate immune system) and by a development of the lymphoid tissue.

INTRODUCTION

Dans une stratégie de réduction de l'usage d'antibiotiques en élevage, l'aviculture se doit de trouver des alternatives durables pour optimiser la croissance du jeune poussin tout en préservant sa santé digestive en termes de maintien d'une communication équilibrée entre le microbiote et l'hôte qui se traduit par un appareil digestif fonctionnel (digestion) et une bonne mise en place de son système immunitaire. Parmi les différentes stratégies pouvant être mises en place, l'incorporation dans les rations alimentaires de souches probiotiques est aujourd'hui présentée comme une des solutions alternatives.

L'épithélium intestinal constitue une barrière anatomique et immunologique dynamique qui permet d'assurer une bonne communication bidirectionnelle entre le compartiment luminal et systémique. Dans les conditions physiologiques, ceci est en partie assurée par la production et la libération de mucus *via* les cellules à mucus et la libération d'une protéine antimicrobienne comme le lysozyme. Cette protéine, constituant majeur de l'immunité innée, est présente chez de nombreuses espèces animales comme dans les cellules de Paneth au fond des cryptes de l'épithélium intestinal (Wang et al., 2011). Bien qu'actuellement la présence des cellules de Paneth chez le poulet reste controversée, la présence de lysozyme au niveau de la muqueuse digestive des volailles est largement décrite (Bar Shira et Friedman, 2018). Le lysozyme possède une activité bactéricide vis-à-vis des bactéries Gram-positif grâce à sa fonction enzymatique qui coupe la liaison glycosidique $\beta(1-4)$ entre les molécules de N-acetyl glucosamine et N-acetyl muramic acid du peptidoglycane (Chipman and Sharon, 1969). De plus, le lysozyme possède également grâce à un deuxième mécanisme d'action non lytique des propriétés antibactériennes à la fois sur les bactéries Gram-positifs et Gram-négatifs (Nile et al., 2004).

Comme le Thymus, la bourse de Fabricius est un organe lymphoïde primaire qui joue un rôle majeur dans l'immunité des oiseaux (Toivanen, 1987). Chez le poussin, le développement pondéral par l'apport d'une alimentation précoce non interrompue induit une augmentation du poids de la bourse de Fabricius et une prolifération plus intense des lymphocytes.

Des perturbations environnementales comme une mauvaise hygiène, un stress, des troubles de la santé impactent fortement sur le développement physiologique et anatomique de la bourse de Fabricius (Siegvel, 1990) affectant la croissance ultérieure des poussins en réduisant leur capacité de défense immunologique (Bigot et al., 2001). La rate, organe lymphoïde secondaire présente un rôle prédominant dans le développement de l'immunité adaptative.

Il existe un lien fort entre les produits de dégradation de l'aliment et son action sur la barrière intestinale, notamment du fait de son contact direct. Dès lors, l'utilisation d'un aliment enrichi en probiotique peut s'avérer stratégique pour améliorer l'intégrité de la barrière physique et immunitaire de la muqueuse digestive.

Dans ce cadre, l'impact d'un aliment pour poulet de chair contenant ou non un probiotique *Bacillus pumilus* a été testé à la fois sur 1) les performances zootechniques, 2) l'intégrité de la barrière physique et immunitaire de l'intestin à travers une quantification du nombre des cellules à mucus et des niveaux de lysozyme au niveau de l'épithélium intestinal et 3) les organes lymphoïdes reflétant l'état de développement de l'immunité systémique (rate et bourse de Fabricius).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Protocole expérimental

L'essai s'est déroulé sur le domaine expérimental de Lamothe, Seysses (31600). Un effectif de 384 poussins mâles et femelles de souche ROSS PM3 a été utilisé sur une période allant de 0 à 35 jours suivant la conduite d'élevage indiquée par Aviagen et élevés dans un dispositif de type cage (48 cages de 3m², sur grillage isolant les animaux de leur excréta). Dans chaque case sont placés 8 poussins à j0, et ce, jusqu'à la fin de la période expérimentale (j35). Du stade poussin au stade poulet, les animaux ont reçu sur une période d'élevage de 35 jours soit l'aliment contrôle soit l'aliment Traitement Bp (taux d'inclusion à 10⁹ ufc/kg d'aliment). Les animaux ont été répartis selon le dispositif expérimental suivant : 24 cages/lot, 8 animaux/cage, soit 192 animaux par traitement. Concernant l'aliment, il couvre les besoins des animaux sans carence ni excès. Seule la présence du probiotique Bp dans l'aliment diffère entre les deux

aliments. A j0, j10, j25 et j35 l'ensemble des animaux ont été pesés et les paramètres suivants ont été évalués en tenant compte ou non de la mortalité : Gain Moyen Quotidien (GMQ), GMQ Vivants (GMQ V), Consommation (Conso) et Conso V, indice de consommation (IC) et IC V. L'IC économique (IC E) a été ensuite calculé grâce au rapport Conso/GMQ V. A j35, après la pesée et de façon aléatoire, 10 animaux par traitement ont été abattus par électroanesthésie puis saignés par exsanguination. Les organes lymphoïdes ont été pesés sur l'ensemble des animaux. Puis des segments de jéjunum et d'iléon ont été prélevés pour les analyses visant l'évaluation de l'état de la barrière intestinale physique et immunitaire des animaux.

1.2. Etat de développement du statut immunitaire

A j35, deux organes lymphoïdes (rate, bourse de Fabricius) ont été prélevés afin d'évaluer l'influence du probiotique par rapport à l'aliment contrôle sur leur développement. Après prélèvement, les organes ont été pesés et le ratio du poids de rate sur le poids de la bourse de Fabricius a été calculé.

1.3 Analyses immunohistochimiques et histologiques

A j35, le tractus digestif des animaux a été retiré : au niveau du jéjunum et de l'iléon dans la première portion de leur partie distale un segment d'un centimètre a été prélevé et fixé dans une solution de formaldéhyde à 4% ou dans une solution de Carnoy pendant 24h. Les tissus ont été déshydratés puis inclus en paraffine. Des coupes de 3 µm d'épaisseur ont été réalisées à l'aide d'un microtome (Microm, France) (2 lames par animaux). Pour le marquage du lysozyme, les coupes ont été hydratées et plongées dans un bain de tampon citrate 10mM, pH 6 à 95°C, pour régénérer les antigènes. Après saturation des sites de liaison non spécifiques avec du PBS-Tween-BSA, les coupes ont été exposées successivement avec des anticorps polyclonaux de lapin anti-lysozyme (1/100, Abcam, Paris, France) une nuit à +4°C, puis avec des anticorps d'âne anti-lapin IgG alexa 488 (1/2000, Jackson, Suffolk, UK) et avec le WGA alexa 594 (1/4000, Invitrogen, Life Technology, Cergy Pontoise, France). Les lames ont été rincées avec du PBS puis recouvertes avec un milieu de montage contenant du DAPI (P36931, Invitrogen). Sur les coupes d'iléon, les mucines neutres ont été mises en évidence grâce à une

coloration à l'acide périodique et réactif de Schiff tandis que pour les mucines acides, une coloration au bleu d'Alcian a été effectuée (Kamphuis et al., 2017).

Suite à ces colorations, les lames ont été analysées à l'aide d'un microscope optique (Nikon Eclipse 90i) et d'un logiciel d'image (Image J). Le dénombrement des cellules a été exprimé en nombre de cellules par villosité.

1.4. Analyses statistiques

Compte tenu du dispositif expérimental décrit ci-dessus, les résultats ont été analysés en utilisant un test de comparaison 2 à 2 i.e test de Student. Pour les critères de zootechnie, le poids à j0 a été utilisé comme covariable afin de s'affranchir d'un biais lié au poids de départ des animaux. De la même façon les données d'histologie ont été analysées sur chaque segment (test de Student). L'ensemble des analyses ont été réalisés à l'aide du logiciel R et jugé significatif pour une valeur de $p < 0.05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Sur toute la période expérimentale (j0 à j35), aucune différence significative sur GMQ ou la Conso (Vivants ou Totale) n'a pu être mise en évidence (y compris en prenant en compte un effet salle et le poids à J0 en covariable d'analyse statistiques). Aucune différence significative entre les traitements de l'IC V et de l'IC E n'a pu être mise en évidence sur la période totale d'élevage, seule une tendance ($p = 0.08$ et $p = 0.07$ respectivement) a été observée. En revanche, pour l'IC total (IC), on observe une différence significative entre les traitements ($p = 0.04$) (Tab. 1). L'ensemble des résultats obtenus à j35 résultent des performances observées chez le poussin (j0-j10) par une diminution significative de l'IC des animaux consommant l'aliment Bp ($p = 0.04$). En effet, les résultats obtenus sur les périodes j10-j25 et j25-j35 ne présentent aucune différence significative (résultats non présentés ici). L'aliment Bp présente donc un réel intérêt sur la phase de démarrage du jeune animal.

De nombreuses études ont montré que la phase de démarrage est une phase critique dans la mise en place du système immunitaire chez le poulet. (Kaspers et al., 2017 ; Shira et Friedman 2018).

La consommation de l'aliment Bp induit une diminution du rapport poids de rate/poids de bourse de Fabricius. Elle résulte essentiellement d'une

diminution du poids de la rate (Tab 2), organe lymphoïde secondaire, montrant une possible adaptation et la mise en place d'une réponse immunitaire de l'animal.

En parallèle, l'analyse immunohistochimique montre une augmentation significative du nombre de cellules à mucines neutres et acides sur l'iléon prélevé chez les animaux ayant reçu le traitement Bp. Ces cellules ont un fort pouvoir sécrétoire de mucines, glycoprotéines qui forment une barrière de mucus tridimensionnelle jouant un rôle protecteur de l'épithélium intestinal contre différents agents potentiellement pathogènes ou toxiques contenus dans la lumière intestinale. Par ailleurs le mucus joue un rôle lubrifiant qui facilite le passage du bol alimentaire et des matières fécales tout au long du tube digestif diminuant le risque abrasif des fientes (Florey, 1955).

L'ensemble de ces résultats montre une modulation du développement du système immunitaire chez les animaux consommant le probiotique Bp et d'autre part un renforcement de la barrière physique de mucus visant à protéger la muqueuse intestinale face à de multiples agents agresseurs.

L'analyse des coupes immunohistochimiques a également permis de mettre en évidence et confirmer la présence de lysozyme au niveau de l'épithélium intestinal du poulet. Cette présence, n'est pas localisée dans les cellules de Paneth comme chez les mammifères, mais tout le long de la villosité (Fig. 1). Ces résultats viennent confirmer ceux de Wang et al., 2016 : la présence du lysozyme n'est pas uniquement réduite au niveau des cryptes mais est également localisée tout au long des villosités. En revanche, une approche semi-quantitative de type Western Blot permettrait de quantifier d'éventuelles différences entre traitements quant à la présence du lysozyme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Nile CJ, Townes CL, Michailidis G, Hirst BH, Hall J., 2004, Cell Mol Life Sci., Nov;61(21)
- Bar Shira E, Friedman A., 2018, PLoS ONE 13(7)
- Bigot K, Tesseraud S, Taouis M, Picard M., 2001, INRA Prod. Anim., 14 (4), 219-230
- Chipman, D.M. and Sharon, N., 1969, Mechanism of Lysozyme Action. Science, 165, 454-465
- Florey, H., Biological Sciences., 1955, 147-158.
- Kaspers B, Lettmann S, Röhl S, Schouler C, Velge E, 2017, JRA-JRFG 12ème Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à foie gras, Tours, 35-52.
- Kamphuis J. B. J., Mercier-Bonin M, Eutamène H, Theodorou V., 2017, Scientific Reports, 7 (8527)
- Siegvel B.P., 1990. Poultry Digest., Vol., 4: 38-42
- A. Toivanen., 1987, Avian Immunology: Basis and Practice, Vol. 1, CRC Press, Inc, Boca Raton, FL, p. 236.
- Wang DH, Peregrina K, Dhima E, Lin EY, Mariadason JM, Augenlicht LH., 2011, P Natl Acad Sci USA., 108(25):10272-7
- Wang L, Li J, Li J Jr., Li RX, Lv CF, Li S., 2016, Poult Sci; 95(7):1631-5

Ces observations peuvent être en lien avec la vitesse très rapide du renouvellement cellulaire de l'épithélium intestinal du poulet en lien avec le transit du bol alimentaire chez le poulet d'environ 3/4h. Une présence sur l'ensemble de la villosité permettrait de répondre de manière plus effective aux agressions exogènes et endogènes. L'ensemble des observations histologiques et immunohistochimiques ont été réalisés à J35. Aussi, il serait intéressant, pour une meilleure compréhension des propriétés immunomodulatrices et de renforcement de la barrière digestive du Bp de mener ce même type d'étude à un âge précoce du poussin (J10). Cette étude permettrait d'illustrer la fenêtre critique d'intervention optimale dans l'apport stratégique d'un aliment contenant la souche Bp pendant toute la période d'élevage.

CONCLUSION

L'utilisation du probiotique de type *Bacillus pumilis* permet l'amélioration des performances de croissance chez le poulet de chair pendant la phase de démarrage. Cet effet associé à un renforcement de la barrière physique et immunitaire du tube digestif notamment par l'augmentation du nombre de cellules à mucus au niveau des villosités intestinales et un effet sur les organes lymphoïdes. Ces résultats originaux permettent de proposer cet aliment enrichi en souche probiotique Bp comme une alternative durable à l'antibiothérapie en élevage.

Tableau 1. Performances zootechniques des animaux

Période d'élevage de 0 à 10 jours				
	Contrôle	Traitement Bp	SEM	p-Value t.test ¹
GMQ Vivants (V)	42,1	42,3	0,16	0,37
GMQ	26,1	26,6	0,24	0,54
Conso V	26,1	26,5	0,25	0,03
Conso	40,2	38,4	0,45	0,10
IC V	1.550	1.441	0,022	0,01
IC	1.559	1.472	0,021	0,04
Période d'élevage de 0 à 35 jours				
	Contrôle	Traitement Bp	SEM	p-Value t.test ¹
GMQ V	53,2	53,2	0,62	0,63
GMQ	50,8	51,3	0,54	0,40
Conso V	64,9	62,5	1,02	0,16
Conso	67,5	65,7	0,82	0,21
IC V	1,233	1,177	0,024	0,08
IC	1,332	1,280	0,011	0,04
IC Economique	1,278	1,235	0,017	0,07

¹ : t.test avec le poids vif à j0 en covariance

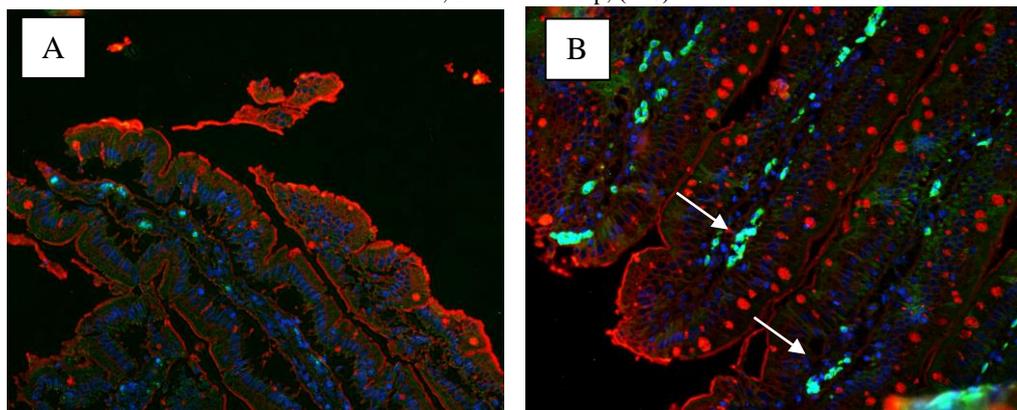
Tableau 2. Résultats des analyses des organes lymphoïdes et immunohistochimiques du tube digestif

<i>Poids des organes lymphoïdes (g)¹</i>				
	Contrôle	Traitement Bp	SEM	p-Value
rate	2,35	2,10	0,11	0,20
bourse de fabricius	3,04	3,01	0,14	0,65
<i>Poids Rate/Poids de bourse de F.</i>	0,85	0,70	0,03	0,04
<i>Histologie (nb cellules/villosité)</i>				
cellules à mucines neutres ²	16,9	34,1	2,0	<0,001
cellules à mucines acides ³	15,5	28,4	1,8	<0,001

¹n=10 par traitement, ²n=10 par traitement, segments prélevés: jéjunum, iléon, ³n=10, segment prélevé: iléon

Figure 1 Lysozyme marqué par immunofluorescence (flèches) sur coupe de jéjunum.

A : animaux contrôle, B : animaux Bp, (x20)



EFFET DE L'INCLUSION DE *BACILLUS SUBTILIS* (DSM5750) ET *BACILLUS LICHENIFORMIS* (DSM5749) DANS DES ALIMENTS DINDES FEMELLES SUR LES PERFORMANCES DE CROISSANCE

Bostvironnois Christophe¹, Rouault Mickael¹, Hanuszewska Maria², Kozlowski Krzysztof², Aoun Claude³

¹Chr. Hansen A/S, Boege Allé 10-12-2970 Hoersholm-Danmark

² Department of Poultry Science, University of Warnia and Mazury in Olsztyn - Poland

³ Biochem, Gmbh, 8 rue Jean Rouxel, 44700 ORVAULT - France
aoun@biochem.net

RESUME

Peu d'études existent sur l'effet d'une supplémentation de probiotiques dans l'aliment selon le sexe des dindes et en particulier les femelles. L'effet de la supplémentation de *Bacillus subtilis* (DSM 5750) et de *Bacillus licheniformis* (DSM 5749) dans des aliments dindes sur les performances de croissance a donc été testé dans cette étude. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'influence d'une préparation probiotique contenant des spores de *Bacillus subtilis* (DSM 5750) et de *Bacillus licheniformis* (DSM 5749), ajoutée à l'aliment sur les croissances des dindes femelles élevées jusqu'à l'âge de 84 jours. Un total de 300 dindonneaux de 1 jour Hybrid Converter femelles furent aléatoirement répartis dans 20 cases sur sol. Les cases furent aléatoirement divisées en deux groupes de traitement : T1 recevant l'aliment classique non-supplémenté et T2 recevant la même formulation que le groupe T1 mais supplémenté avec les probiotiques à la dose de $1.28 \cdot 10^6$ CFU/g aliment. L'ajout du probiotique a conduit à une amélioration significative du poids vif final (+4.02%, 7.659 vs. 7.363 kg, P=0,019), du gain moyen quotidien des dindes femelles (87 g vs. 90,5 g, P = 0,019) ainsi que de l'Index de Performance Européen (+6.1%, 481 vs. 453, P = 0.028). L'Indice de Consommation fut numériquement amélioré de plus de 0.03 points. Il peut être conclu de cette étude que l'additif alimentaire à base de probiotique a un effet bénéfique sur les performances de croissances.

ABSTRACT EFFECT OF *BACILLUS SUBTILIS* (DSM5750) AND *BACILLUS LICHENIFORMIS* (DSM5749) INCLUSION IN FEMALE TURKEY DIETS ON GROWTH PERFORMANCE

Few studies exist on the influence of a probiotic combination in turkeys depending on their sex and more specifically in female turkeys. Effect of *Bacillus subtilis* (DSM 5750) and *Bacillus licheniformis* (DSM 5749) inclusion in turkey diets on growth performance was evaluated in this study. The aim of this study was to evaluate the influence of a probiotic preparation containing spores of *Bacillus subtilis* (DSM 5750) and *Bacillus licheniformis* (DSM 5749), added to feed, on growth performance of female turkeys reared until 84th day of age. A total of 300-day-old Hybrid Converter female turkeys were randomly assigned to 20 pens. The pens were randomly divided into two treatment groups: T1 received basal diets, and T2 received the same diets as group T1 supplemented with the probiotic ($1.28 \cdot 10^6$ CFU/g feed). The supplementation of the probiotic leads to significantly increase of the final body weights (+4.02%, 7.659 vs. 7.363 kg, P=0,019), the average daily gains of female turkeys (87g vs 90,5 g, P=0,019) as well as the European Poultry Efficiency Factor (+6.1%,481 vs. 453, P = 0.028). FCR was numerically improved of about 0.03 points. It can be concluded that the probiotic feed additive had a beneficial influence on growth performance.

INTRODUCTION

La production de volailles a augmenté considérablement sur les dernières années grâce à leurs gains de croissance rapides et une période d'engraissement courte des oiseaux. La production demande des recherches pour de nouvelles solutions en nutrition de volailles pour améliorer la productivité tout en maintenant les critères gustatifs de la viande dans des conditions de santé et de bien-être adéquates. Les additifs alimentaires, probiotiques inclus, sont utilisés de plus en plus en nutrition des volailles grâce à leur effet positif sur le microbiome intestinal (Fallah et al. 2013). Certains auteurs trouvent qu'une amélioration de l'environnement intestinal peut contribuer à une amélioration de l'utilisation des nutriments et à leur absorption (Pelicano et al 2004). Les souches de probiotiques produisent des bactériocines aux propriétés bactériostatiques (Oelschlaeger 2010). Une supplémentation avec des probiotiques a démontré un effet positif sur l'immunité locale et humorale en volailles (Alloui et al. 2013). Les bactéries probiotiques produisent leurs propres enzymes et activent la production d'enzymes de l'hôte. Cela explique une partie du mode d'action et l'amélioration du taux de croissance des oiseaux et de l'indice de consommation (Yirga 2015). *Bacillus subtilis* et *Bacillus licheniformis* sont des souches largement utilisées en combinaison (Hong et al. 2005). L'objectif de cette étude est d'évaluer l'influence d'une préparation de probiotiques contenant des spores de *B. subtilis* et de *B. licheniformis* dans l'aliment sur les performances de croissances de dindes femelles jusqu'à l'âge de 84 jours.

MATERIELS & METHODES

L'expérimentation a été conduite dans l'élevage expérimental du département de sciences avicoles de l'Université de Warnia et Mazury à Olsztyn (Pologne). Il y a eu deux traitements alimentaires : T1 - traitement contrôle sans supplémentation alimentaire, et traitement T2 - traitement expérimental avec une supplémentation probiotique. Le matériel testé (BioPlus 2B, Chr Hansen A/S, Danemark) contient des souches de *B. subtilis* et de *B. licheniformis* dans un ratio de 1 :1 ($1.6 \cdot 10^9$ de spores de *B. subtilis* $1.6 \cdot 10^9$ de spores de *B. licheniformis* par gramme de la préparation). *Bacillus subtilis* et *B. licheniformis* furent ajoutés à l'aliment T2 à la dose de $1.28 \cdot 10^6$ CFU/g d'aliment (400 g/tonne) pendant 84 jours. Les compositions des aliments et les caractéristiques nutritionnelles sont résumées dans le tableau 1. Un total de 300 dindonneaux femelles de 1 jour (Hybrid Converter) furent fournies par un couvoir commercial. Les dindonneaux ont été répartis au hasard entre les deux traitements. Chaque

traitement comprenant 10 cases (répétitions) de 15 oiseaux chacune. La surface des cases était de 4 m² (densité de 3.75 oiseaux/m²). Des copeaux de bois furent utilisés comme litière et furent renouvelés si nécessaires. Une lumière artificielle programmée avec ventilation forcée et chauffage par un système au gaz équipe le bâtiment. Les conditions environnementales suivirent les préconisations de la souche Hybrid. L'essai fut conduit pendant 84 jours et a consisté en 3 périodes d'alimentation : 1-28 jours ; 29-56 jours ; 57-84 jours. Les aliments furent formulés en suivant les recommandations de Smulikowska et Rutkowski (2005). Chaque case était équipée de nourrisseur et l'aliment était ad libitum. Les nourrisseurs ont été renouvelés avec une pesée des aliments rajoutés. Tous les aliments furent sous formes de miette ou granulés (Tableau 1). L'eau était à volonté avec des abreuvoirs de type cloche. Toutes les procédures expérimentales furent approuvées par le comité d'éthique d'expérimentation animale de l'Université de Warnia et Mazury de Olsztyn.

Les oiseaux furent pesés à l'arrivée puis leurs poids fut enregistré par case à 28 jours, 56 jours et 84 jours d'âge. L'ingéré alimentaire fut calculé par la différence entre l'aliment distribué et celui refusé. Les résultats furent utilisés pour déterminer l'indice de consommation de la période expérimentale et l'index de performance européen – IPE (%viabilité x poids final (g) x 100) / (durée de l'étude (jours) x IC) pour toute l'expérimentation. Tous les aliments furent analysés pour leur contenu de nutriments bruts par la méthode VDLUFA (Naumann et Bassler 2004 dans les référence) et pour le recouvrement des spores de bacillus.

Les résultats furent analysés par analyse de variance (ANOVA) et la différence statistique entre traitement fut déterminée par un test multiple de Duncan. Le logiciel Statistica 10.0 fut utilisé. Des différences de $p < 0.05$ furent considérée comme significatives. L'unité expérimentale a été la case pour toutes les variables mesurées.

RESULTATS ET DISCUSSION

L'analyse des aliments a montré que la concentration réelle en nutriments était en conformité avec les valeurs calculées. La concentration moyenne en bacillus dans le groupe traitement était conforme et les spores de bacillus ne furent pas retrouvées dans l'aliment contrôle. La viabilité des animaux fut très bonne à 100%. Pendant l'expérimentation 22 oiseaux (6,67% et 8% dans T1 et T2 respectivement) furent euthanasiés. La principale raison en fut le syndrome du « gros jabot ». Le poids des animaux euthanasiés n'a pas été pris en compte dans les résultats finaux. Il n'y a pas eu d'association avec l'utilisation du probiotique et les poids des animaux euthanasiés étaient similaires dans les deux groupes.

Pendant la première phase de 1 à 28 jours, le probiotique testé n'eut pas d'effet sur l'ingéré

alimentaire des dindes femelles (Tableau 2). Des différences d'ingéré furent notées sur la phase 1-56 jours quand le groupe traité a ingéré plus d'aliment que le groupe contrôle ($p=0,048$). Sur l'ensemble de la période de 84 jours, les femelles du groupe témoin ont consommé 2.7% de plus que le groupe contrôle. La différence sur la période 1-84 jours ne fut pas significative ($p=0.23$), mais pourrait suggérer que les bactéries probiotiques pourraient exercer un effet stimulant sur l'ingéré alimentaire (Blanch, 2016). Le poids moyen et le gain de poids des dindes sont présentés dans le tableau 2. Aucune différence significative en gain de poids vif ne fut trouvée entre les deux traitements dans la première phase d'élevage (1-28 jours). Pendant la seconde phase (jours 29 à 56), les dindes nourries avec l'aliment supplémenté (T2) furent significativement plus lourdes et eurent un gain meilleur que l'aliment contrôle (+4.9%, $p=0.003$). De 56 jours jusqu'à 84 jours, les dindes nourries avec le probiotique furent caractérisées par un poids vif significativement supérieurs (+3.5%, $p=0.019$). Cela peut être aussi la conséquence d'un poids supérieur à 56 jours sur la phase alimentaire précédente. A 84 jours, pendant la période complète, les dindes nourries avec le probiotique furent caractérisées par un poids significativement supérieur en comparaison avec le groupe contrôle (+4.02%) qui s'explique par un ingéré alimentaire numériquement supérieur (+3%). Dans la présente étude, les aliments contenant le probiotique n'eurent pas d'impact sur l'IC sur aucune des phases d'engraissement de l'expérimentation excepté numériquement (Tableau 2). Les femelles du groupe T2, nourries avec l'aliment supplémenté atteignirent un index de performance à la fin de l'expérimentation supérieur et furent caractérisées par un significatif et supérieur IPE (+6.1%, $p=0.028$).

Des études précédentes ont montré l'efficacité de *B. licheniformis* et de *B. subtilis* sur la production de dindes. Fallah et al (2013) a démontré qu'une préparation probiotique contenant ces deux souches avait un effet positif sur le poids. Dans une étude de Blair et al. 2004, le poids vif de dindes de 18 semaines nourries avec un aliment contenant *B. subtilis* fut supérieur au groupe contrôle de même que Shivaramaiah et al (2011).

Mildilli et al (2008) notèrent un effet positif d'une diète contenant des probiotiques et des prébiotiques sur l'ingéré alimentaire. Dans une expérimentation sur des poulets de chair, Jayaraman et al (2013) démontrèrent que *B. subtilis* produisait des bénéfices santé et abaissait l'Indice de Consommation.

Loeffler (2014) a noté qu'il y avait des évidences pour supporter que les suppléments de plusieurs souches de probiotiques est plus efficace qu'une souche seule en nutrition de la dinde. Blanch et Rouault (2016) conclurent récemment que la haute efficacité du produit testé dans cette étude pouvait être expliquée par la complémentarité entre les deux

souches contenues dans le produit commercial. L'une ayant un mode d'action inhibiteur sur la croissance des pathogènes et l'autre sur la production d'enzymes digestives.

CONCLUSION

Le résultat de cette étude indique qu'une préparation à base de probiotique *B. subtilis* et *B. licheniformis* affecte positivement certains résultats techniques de production des dindes femelles. Les oiseaux nourris avec un aliment supplémenté en probiotiques eurent un poids significativement supérieur et un gain moyen supérieur, ainsi qu'un Index de Performance significativement augmenté.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BLAIR E.C., ALLEN H.M., BROOKS S.E., FIRMAN J.D., ROBBINS D.H., NISHIMURA K., ISHIMARU H. 2004: Effects of Calsporin on turkey performance, carcass yield and nitrogen reduction. *Int. J. Poult. Sci.* 3 (1):75–79.
- BLANCH A., ROUAULT M. 2016: Use of probiotics in turkey nutrition. In: Proceedings of the 10th Turkey Science and Production Conference, Chester (United Kingdom), March 10–11, 2016: 73–78.
- FALLAH R., SAGHAFI M., REZAEI H., PARVAR R. 2013: Effect of Bioplus 2B® and protoxin probiotics supplementation on growth performance, small intestinal morphology and carcass characteristics of broiler chickens. *Brit. Poult. Sci.* 2: 11–15.
- HONG H.A., DUC L.H., CUTTING S.M. 2005: The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* 29: 813–835.
- JAYARAMAN S., THANGAVEL G., KURIAN H., MANI R., MUKKALIL R., CHIRAKKAL H. 2013: *Bacillus subtilis* PB6 improves intestinal health of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*-induced necrotic enteritis. *Poult. Sci.* 92: 370–374.
- LOEFFLER S. 2014: Effects of Probiotic and Prebiotic Supplementation in Turkey Poults on Intestinal Morphology and MUC2 Gene Expression. Master thesis. Graduate School of The Ohio State University (USA).
- MIDILLI M., ALP M., KOCABAĞLI N., MUĞLALI Ö.H., TURAN N., YILMAZ H., ÇAKIR S. 2008: Effects of dietary probiotic and prebiotic supplementation on growth performance and serum IgG concentration of broilers. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 38: 21–27.
- NAUMANN K., BASSLER R. 2004: Methodenbuch Band III: Die chemische Untersuchung von Futtermitteln. Neumann-Neudamm, Melsungen, Germany.
- OELSCHLAEGER T.A. 2010: Mechanisms of probiotic actions – A review. *Int. J. Med. Microbiol.* 300: 57–62.
- PELICANO E.R.L., De SOUZA P.A., De SOUZA H.B.A., LEONEL F.R., ZEOLA N.M.B.L., BOIAGO M.M. 2004: Productive traits of broiler chickens fed diets containing different growth promoters. *Braz. J. Poult. Sci.* 6: 177–182.
- SHIVARAMAIAH S., PUMFORD N.R., MORGAN M.J., WOLFENDEN R.E., WOLFENDEN A.D., TORRES-RODRÍGUEZ A., HARGIS B.M., TÉLLEZ G. 2011: Evaluation of *Bacillus* species as potential candidates for direct-fed microbial in commercial poultry. *Poult. Sci.* 90: 1574–1580.
- SMULIKOWSKA S., RUTKOWSKI A. (Eds.) 2005: Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowapasz – normy żywienia drobiu [Feeding recommendations and nutritional value of feed. Nutrient requirements of poultry]. 4th edn. Wydawnictwo Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt, Jabłonna [in Polish].
- YIRGA H. 2015: The use of probiotics in animal nutrition. *J. Prob. Health.* 3 (2): 132–142.

TABLEAU 1. Composition et densité nutritionnelle des différents aliments

Composition %	Phases alimentaires		
	Démarrage (1-28 jours)	Croissance (29-56 jours)	Finition (57-84 jours)
Blé	42.711	46.417	53.805
Tourteau de Tournesol	3	4	5
Tourteau de Soya	40.172	37.411	27.804
Colza	3	4	5
Protéine de pomme de terre	3	-	-
Huile de Soya	2.928	2.760	2.477
Graisse animale	-	1	2
Bicarbonate de Na	0.1	0.1	0.1
Sel	0.229	0.207	0.214
Carbonate de calcium	1.824	1.518	1.524
MCP	1.898	1.419	0.978
Choline	0.07	0.07	0.07
DL Methionine	0.313	0.303	0.268
L-Lysine	0.372	0.438	0.384
L-Thréonine	0.134	0.107	0.126
Vitamines et minéraux (Prémix)	0.25	0.25	0.25
Densité Nutritionnelle			
EM (kCal/kg)	2800	2880	3000
Protéine Brute (g/kg)	280	255	225
Méthionine (g/kg)	7.2	6.7	6
Méthionine +Cystéine (g/kg)	11.8	11	10
Lysine (g/kg)	17.5	16	13.5
Thréonine (g/kg)	11.6	10	9
Arginine (g/kg)	17.7	16.3	14.2
Calcium (g/kg)	12	10	9
Phosphore (g/kg)	6	5	4

TABLEAU 2. Résultats des ingérés alimentaires, gain de poids, Indice de Consommation des dindes femelles (g/jour/dinde)

Résultats des ingérés alimentaires des dindes femelles (g/jour/dinde)				
Période (Jours)	T1	T2	SEM	P
1-28	43.8	43.7	0.344	0.894
29-56	171.9	176.9	1.598	0.124
1-56	109.7b	113.8a	1.046	0.048
57-84	288.8	300.8	4.821	0.223
1-84	172.6	177.3	1.894	0.230
Résultats des poids vifs des dindes femelles (kg)				
Age des oiseaux	T1	T2	SEM	P
1	0.057	0.057	0.000	0.280
28	1.043	1.044	0.008	0.966
56	3.831b	3.970a	0.029	0.012
84	7.363b	7.659a	0.065	0.019
Résultats de Gain de Poids des dindes femelles (g/jour)				
Période (jours)	T1	T2	SEM	P
1-28	35.2	35.2	0.268	0.981
29-56	99.6b	104.5 a	0.892	0.003
1-56	67.4b	69.9a	0.516	0.012
57-84	126.1	131.8	1.711	0.102
1-84	87.0b	90.5a	0.776	0.019
Résultats des Indices de Consommation des dindes femelles et de l'Index de Performance (IPE)				
Période (Jours)	T1	T2	SEM	P
1-28	1.244	1.241	0.008	0.848
29-56	1.712	1.694	0.009	0.369
1-56	1.590	1.579	0.006	0.429
56-84	2.329	2.261	0.028	0.229
1-84	1.936	1.900	0.012	0.147
IPE				
1-84	453a	481b	6.451	0.028

Des valeurs d'une même ligne avec des lettres différentes sont significativement différentes ($p < 0.05$)

**ETUDE DE LA BIOEFFICACITE DE L'HYDROXY ANALOGUE LIQUIDE DE LA
METHIONINE MHA-FA EN COMPARAISON AVEC LA DL-METHIONINE ET
VALIDATION DU MODELE DE TYPE DOSE-REPONSE SIMULTANEE.**

Naranjo Victor¹, Lemme Andreas¹, Lepoudere Mathieu²

¹ *EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, Rodenbacher Chaussee 4, 64357 HANAU*

² *EVONIK NUTRITION & CARE GmbH, 2 Rue au Duc, 35000 RENNES*

mathieu.lepoudere@evonik.com

RÉSUMÉ

Premier acide aminé limitant dans la nutrition des volailles, la méthionine est communément supplémentée sous la forme de DL-méthionine poudre (DLM) ou de MHA-FA, produit analogue liquide. De nombreuses sources scientifiques ont démontré une efficacité biologique relative moyenne, ou bioefficacité, de 65% sur base produit pour le MHA-FA en comparaison avec la DLM (100%). Plus récemment, l'Autorité de Sécurité Alimentaire Européenne (EFSA) a publié un avis scientifique sur le MHA-FA et son sel de calcium, confirmant une bioefficacité d'environ 75% sur base équimolaire, soit 66% sur base produit. L'étude qui suit avait pour objectif de valider les valeurs de bioefficacité ainsi que la pertinence du modèle de type dose-réponse simultanée utilisé pour leur détermination. 1920 poulets mâles Ross 308 ont été répartis en 16 traitements de 6 répétitions chacun. Le lot témoin, traitement 1, a reçu un régime non supplémenté en méthionine et déficient en Met+Cys. Les lots essais ont reçu des doses croissantes de méthionine, de 0.40 à 3g/kg, sous la forme de DLM (traitements 2 à 6), de MHA-FA (traitements 7 à 11) et de DLM diluée à hauteur de 65%, DLM65, (traitements 12 à 16). Au terme de l'essai, les résultats ont montré des efficacités biologiques du MHA-FA et de la DLM65 inférieures à celle de la DLM pure avec des valeurs moyennes respectives de 65 et 61%. Cette étude a permis de confirmer la valeur de bioefficacité moyenne de 65% pour le MHA-FA en comparaison avec la DLM. De plus, le résultat obtenu pour la DLM65 était proche de la valeur attendue et relative à la concentration du produit (61% pour 65%). Ce résultat confirme que le modèle de type dose-réponse simultanée est une approche appropriée pour déterminer les efficacités biologiques des différentes sources de méthionine disponibles sur le marché.

ABSTRACT

Bioavailability study of methionine hydroxy-analogue MHA-FA relative to DL-methionine and validation of the simultaneous dose-response model.

As the first limiting amino acid in broiler nutrition, methionine is usually supplemented whether on a powder form with DL-methionine (DLM) or on a liquid form via the hydroxy-analogue of methionine MHA-FA. Various literature reviews have reported a relative bioefficacy value of about 65% for liquid MHA-FA compared to DLM (100%) on product-to-product basis. More recently, the European Food Safety Authority (EFSA) released a scientific opinion on liquid MHA-FA and its calcium salt, confirming a bioefficacy of 75% on equimolar basis which is equivalent to 66% on a product-to-product basis. The aim of the current study was to provide further evidence of bioefficacy values and to validate the suitability of the simultaneous dose-response model to determine bioefficacy. A total of 1920 broiler male Ross 308 were allocated in 16 treatments of 6 replicates each. Birds from the control treatment were fed with a Met+Cys deficient diet and without any methionine supplementation. Diets used to test the response to the Met sources were supplemented with increasing doses of methionine, from 0.40 to 3g/kg. Sources of methionine were DLM for treatments 2 to 6, MHA-FA for treatments 7 to 11 and diluted DLM with 65% methionine content, DLM65, for treatments 12 to 16. Results showed bioefficacy of MHA-FA and DLM65 lower than pure DLM with mean values of 65 and 61% respectively. This study confirmed a relative bioefficacy mean value of 65% for MHA-FA compared to DLM. Moreover the average bioefficacy of 61% for DLM65 was close to the expected value of 65% and relative to the dilution level. This result confirms that the simultaneous dose-response model is an appropriate approach for determining the biological efficiencies of the different methionine sources available on the market.

INTRODUCTION

La méthionine est un acide- α -aminé soufré essentiel. Premier acide aminé limitant dans la nutrition des volailles, son rôle est primordial dans la synthèse protéique et la croissance musculaire, dans les réactions de méthylation et dans la synthèse de cystéine via la voie métabolique de trans-sulfuration. Différentes sources d'origine synthétique sont disponibles sur le marché, le produit de référence étant la DL-méthionine poudre (DLM), pure à 99% et qui représente environ 2/3 du marché mondial. Le dernier tiers est occupé par l'hydroxy analogue de la méthionine, principalement incorporé sous sa forme liquide, MHA-FA.

S'il est admis que la DLM présente une efficacité nutritionnelle, ou bioefficacité, de 100%, la valeur attribuée au MHA-FA est régulièrement sujette à débat. Une connaissance précise de cette valeur est cependant nécessaire, car elle définit non seulement le taux de supplémentation du produit dans les formules mais également son niveau de prix par rapport aux sources concurrentes. Plusieurs publications ont ainsi démontré une bioefficacité relative moyenne chez le poulet de chair d'environ 65% sur base produit pour le MHA-FA en comparaison avec la DLM (Jansman et al., 2003 ; Sauer et al., 2008). Plus récemment l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA, 2018) a publié un avis scientifique sur la bioefficacité du MHA-FA et de son sel de calcium, confirmant une valeur relative moyenne de 75% sur base équimolaire soit 66% sur base produit.

Bien que la valeur de 65% de bioefficacité pour le MHA par rapport à la DLM ait été confirmée dans de nombreux essais (Lemme et al., 2012 ; Sangali et al. 2014), le dispositif expérimental pour sa détermination a fait l'objet de récentes discussions (Vazquez-Anon et al, 2006 ; Agostini et al., 2016).

Afin de fournir des preuves supplémentaires que la méthodologie d'un essai de type dose-réponse simultanée est une approche valide pouvant être considérée comme une méthodologie de référence, une source de méthionine avec une valeur de bioefficacité connue a priori peut être incluse au protocole. Par exemple, une DLM diluée à 65% (65% de DLM et 35% d'amidon) afficherait une bioefficacité proche de 65% en raison de son niveau de dilution. Bien que plusieurs expériences avec cette approche aient déjà été publiées (Lemme et al., 2002 ; Hoehler et al., 2005, Elwert et al., 2008), des données plus récentes et prenant en compte les génétiques modernes sont nécessaires.

L'étude qui suit avait donc pour objectif d'évaluer l'efficacité biologique du MHA-FA en comparaison avec la DLM et de valider dans le même temps la

pertinence du modèle de type dose-réponse simultanée. Cet essai incluait de la DLM diluée à 65% (DLM65) comme standard interne.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et alimentation

L'étude a été réalisée au centre de recherche de Schothorst situé aux Pays-Bas.

1920 poulets mâles Ross 308 d'un poids vif moyen initial de 39g (+/-0.23g) ont été répartis en 16 traitements de 6 répétitions chacun et 20 animaux/répétition. Ces animaux ont reçu un programme alimentaire en 3 phases : démarrage (0-10 jours), croissance (11-28 jours) et finition (29-35 jours). Un aliment témoin pour chaque période, déficient en méthionine+cystine et non supplémenté en méthionine, a été fabriqué pour les 16 traitements (voir Tableau 1).

1.2. Traitements et mesures

Les animaux du traitement 1 ont reçu l'aliment témoin seul. Les aliments des traitements 2 à 6 ont été supplémentés avec 0.04, 0.08, 0.12, 0.21 et 0.30% de DLM (MetAMINO®). Les mêmes niveaux de supplémentation ont été appliqués dans les traitements 7 à 11 et 12 à 16 avec de la méthionine apportée sous la forme MHA-FA, et DLM65, DLM pure diluée à hauteur de 65% avec de l'amidon. La teneur en équivalent méthionine a été recalculée pour chaque traitement (Voir Tableau 2). Les aliments ont été distribués sous la forme miette en démarrage et pellet de 3.0 mm en croissance et finition. Les animaux disposaient d'aliment et d'eau ad libitum.

Les paramètres de croissance, poids vifs (PV), consommations et indices de consommation (IC) ont été calculés pour chaque phase. A 35 jours, 2 animaux par répétition avec un poids vif proche du poids moyen du lot, ont été prélevés et leurs carcasses ont été réfrigérées pendant 4 heures avant découpe. Ces carcasses ont ensuite servi au calcul des rendements de carcasse (RC) exprimés en pourcentage du poids vif et aux rendements de filet, exprimés en pourcentage du poids vif à 35 jours (RF-PV) et en pourcentage du rendement de carcasse (RF-RC). Les indices de performances (EPEF) ont également été calculés à 35 jours pour les trois traitements.

L'ensemble de ces paramètres ont été traités par ANOVA avec un seuil de signification de 0,05. Ces données ont ensuite fait l'objet d'un traitement statistique par régression multi-exponentielle selon la procédure de régression non-linéaire décrite par Littell et al. (1997).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les résultats de l'analyse de variance présentés dans le Tableau 2, indiquent que les animaux ont répondu de manière significative au premier niveau de supplémentation en méthionine par rapport au régime témoin, indépendamment de la source choisie. De plus, les résultats montrent une amélioration des performances de croissance et des rendements de carcasse avec l'augmentation des doses de méthionine. En comparaison avec le régime témoin, la supplémentation en méthionine à la dose maximale de 3g/kg a permis d'améliorer les PV de 70, 67 et 70%, et de réduire les IC de 22, 22 et 23% pour les traitements avec DLM, MHA-FA et DLM65. Les rendements de carcasse et de filet, RC, RF-PV et RF-RC, ont quant à eux augmenté de 13, 11 et 13%, de 62, 60 et 63% et de 43, 43 et 45% par rapport au témoin.

Pour l'ensemble de ces paramètres, les différences observées n'étaient pas significatives entre les traitements. En d'autres termes, toute dose additionnelle de méthionine, quelle que soit son origine, n'avait plus qu'un effet marginal sur la croissance des animaux. Les résultats obtenus lors de cette première approche nous amèneraient donc à conclure que les trois sources de méthionine testées avaient des bioefficacités identiques. L'efficacité biologique de la DLM65 serait ainsi équivalente à celle de sa forme pure (DLM). Pour surmonter cette équivoque et déterminer les bioefficacités respectives de la DLM, du MHA-FA et de la DLM65, nous avons décidé d'utiliser le modèle de type dose-réponse simultanée avec une analyse des données par régression multi-exponentielle. Les courbes de dose-réponse sont

présentées Figure 1. Les résultats indiquent une efficacité biologique du MHA-FA de 58, 66, 62, 63, 73 et 65% en comparaison avec la DLM sur les paramètres PV, IC, EPEF, RC, RF-RC et RF-PV. Toutes les valeurs étaient significativement inférieures à 88% ($P < 0,05$) et donc inférieures à la teneur en substance active du MHA-FA. De plus, les bioefficacités globales moyennes pour le MHA-FA et la DLM65 étaient respectivement de 65 et 61%. Ces résultats sont en cohérence avec les valeurs attendues. La valeur de 61% pour la DLM65 est en effet proche du niveau de dilution du produit (65%). Il en est de même avec la valeur de 65% pour le MHA-FA qui vient confirmer les résultats déjà obtenus dans les études de Lemme et al. (2002), Hoehler et al. (2005) et Elwert et al. (2008).

CONCLUSION

Cette étude a permis de valider la valeur de bioefficacité moyenne de 65% sur base produit pour le MHA-FA, valeur significativement inférieure à la concentration en substance active du produit. Cette valeur est de plus cohérente avec l'avis scientifique de l'EFSA de 2018 qui spécifie une bioefficacité de 75% sur base équimolaire, soit 66 % sur base produit, pour le MHA-FA et son sel de calcium. L'utilisation d'une méthionine poudre diluée DLM65 a permis quant à elle de confirmer l'intérêt et la pertinence du modèle de type dose-réponse simultanée pour déterminer les efficacités biologiques des différentes sources de méthionine proposées sur le marché.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Agostini, P. S., P. Dalibard, Y Mercier, P. Van der Aar, and J. D. Van der Klis, 2016: Comparison of methionine sources around requirement levels using a methionine efficacy method in 0 to 28 day old broilers, *Poultry Science* 95:560-569.
- Elwert, C.; Fernandes, E. A. and Lemme, A. 2008. Biological effectiveness of methionine hydroxy-analogue calcium salt in relation to DL-methionine in broiler chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 21:1506-1515.
- European Food Safety Authority (EFSA), 2018: Safety and efficacy of hydroxy analogue of methionine and its calcium salt (ADRY+®) for all animal species, *EFSA Journal* 16(3): 5198.
- Hoehler, D., A. Lemme, S.K. Jensen, and S.L. Vieira, 2005b: Relative effectiveness of methionine sources in diets for broiler chickens, *Journal of Applied Poultry Research* 14: 679-693.
- Jansman, A.J.M., C.A. Kan, and J. Wiegenga, 2003: Comparison of the biological efficacy of DL-methionine and hydroxy-4-methylthiobutanoic acid (HMB) in pigs and poultry, CVB documentation report nr. 29.
- Lemme, A., D. Hoehler, J.J. Brennan, and P.F. Mannion, 2002: Relative effectiveness of methionine hydroxy analog compared to DL-methionine in broiler chickens, *Poultry Science* 81: 838-845.
- Littell, R.C., P.R. Henry, A.J. Lewis and C.B. Ammermann, 1997: Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures, *Journal of Animal Science* 75: 2672-2683.
- Sangali, C.P., Giusti Bruno L.D., Vianna Nunes, R., Oliveira Neto, A.R., Pozza, P.C., Oliveira, T.M., Frank, R. and Schone, R.A., 2014. Bioavailability of different methionine sources for growing broilers. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43: 140-145.
- Sauer, N., K. Emrich, H.-P. Piepho, A. Lemme, M.S. Redshaw, and R. Mosenthin, 2008: Meta-analysis of the relative efficiency of methionine-hydroxy-analogue-free-acid compared with DL-methionine in broilers using nonlinear mixed models, *Poultry Science* 87: 2023-2031.
- Vazquez-Anon, M., D. Kratzer, R. Gonzalez-Esquerro, I.G. Yi, and C.D. Knight, 2006: A multiple regression model approach to contrast the performance of 2-hydroxy-4-methylthio butanoic acid and DL-methionine supplementation tested in broiler experiments and reported in the literature, *Poultry Science* 85: 693-705.

Tableau 1. Compositions et profils nutritionnels des aliments témoins : Démarrage, Croissance et Finition

Composition	Démarrage (0-10)	Croissance (11-28)	Finition (29-35)
Blé, %	28.61	36.46	36.60
Maïs, %	25.00	20.88	20.00
Tourteaux de soja, %	32.37	25.58	21.86
Pois, %	5.00	10.00	13.94
Gluten de maïs, %	18.20	--	--
Huile de soja, %	1.44	1.13	1.73
Graisse de porc, %	1.94	2.86	3.41
Carbonate de calcium, %	1.45	1.16	0.90
Phosphate monocalcique, %	0.76	0.43	0.13
Sel, %	0.33	0.25	0.26
Bicarbonate de sodium, %	--	0.10	0.10
L-Lysine HCl (78%), %	0.27	0.18	0.14
L-Thréonine (98.5%), %	0.11	0.09	0.07
L-Valine (96.5%), %	0.07	0.05	0.03
Phytase, %	0.33	0.33	0.33
Premix ¹ , %	0.50	0.50	0.50
Profil nutritionnel²			
EMAn, kcal/kg	2900	2975	3075
Protéine brute, %	23.35 (23.73) ³	20.52 (21.07)	19.42 (19.87)
Lys Totale	1.41 (1.46)	1.20 (1.24)	1.12 (1.19)
Lys DIS ⁴ , %	1.27	1.09	1.00
Lysine dig ⁵ , %	1.26	1.07	0.99
Méthionine dig, %	0.30	0.26	0.24
Méthionine+Cystine Totale, %	0.71 (0.72)	0.62 (0.62)	0.58 (0.63)
Méthionine+Cystine dig, %	0.62	0.54	0.51
Thréonine dig, %	0.82	0.70	0.64
Valine dig, %	1.00	0.86	0.79

¹ : vitamines, minéraux, enzyme NSP et coccidiostatique (Salinomycine), ² : valeurs calculées sur la base des recommandations AMINOChick[®] d'Evonik de 2012, ³ : valeurs analysées, ⁴ : digestibilité iléale standardisée, ⁵ : formulation en digestibilité fécale apparente selon le centre de recherche de Schothorst

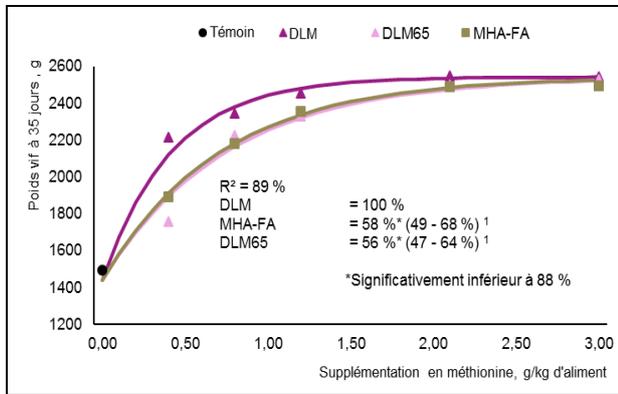
Tableau 2. Paramètres zootechniques à 35 jours d'âge pour les différents traitements – ANOVA (p< 0.05)

Traitements	Méthionine Supplémentée (g/kg)	Equivalent méthionine (g/kg)	PV (g)	IC (g/g)	RC (% PV)	RF-PV (%)	RF-RC (%)	
1	Témoin	0	0	1492 ^a	1.885 ^h	58.1 ^a	12.3 ^a	21.2 ^a
2	DLM	0.40	0.40	2212 ^d	1.605 ^e	62.1 ^c	15.4 ^{cd}	24.9 ^{cd}
3	DLM	0.80	0.80	2347 ^e	1.555 ^{cd}	63.8 ^{def}	17.4 ^{efg}	27.1 ^{ef}
4	DLM	1.20	1.20	2455 ^f	1.528 ^{bc}	66.1 ⁱ	18.5 ^{hi}	27.9 ^{fg}
5	DLM	2.10	2.10	2551 ^f	1.457 ^a	65.4 ^{ghi}	20.4 ^k	30.5 ⁱ
6	DLM	3.00	3.00	2542 ^f	1.467 ^a	65.8 ^{hi}	20.0 ^k	30.4 ⁱ
7	MHA-FA	0.40	0.35 [*]	1896 ^c	1.750 ^f	61.6 ^c	14.7 ^{bc}	23.8 ^{bc}
8	MHA-FA	0.80	0.70 [*]	2179 ^d	1.578 ^{de}	62.9 ^{cde}	16.4 ^{de}	26.0 ^{de}
9	MHA-FA	1.20	1.06 [*]	2354 ^c	1.554 ^{cd}	64.2 ^{efgh}	17.3 ^{ef}	26.9 ^{ef}
10	MHA-FA	2.10	1.85 [*]	2489 ^f	1.490 ^{ab}	64.1 ^{efg}	18.4 ^{ghi}	28.7 ^g
11	MHA-FA	3.00	2.64 [*]	2496 ^f	1.472 ^a	65.0 ^{fghi}	19.7 ^{jk}	30.2 ^{hi}
12	DLM65	0.40	0.26	1756 ^b	1.813 ^g	60.0 ^b	14.0 ^b	23.4 ^b
13	DLM65	0.80	0.52	2226 ^d	1.614 ^e	62.4 ^{cd}	15.7 ^{cd}	24.9 ^{cd}
14	DLM65	1.20	0.78	2328 ^e	1.593 ^{de}	64.7 ^{fghi}	17.6 ^{fgh}	27.1 ^{ef}
15	DLM65	2.10	1.37	2501 ^f	1.491 ^{ab}	65.4 ^{fghi}	18.9 ^{ij}	28.9 ^{gh}
16	DLM65	3.00	1.95	2529 ^f	1.459 ^a	65.5 ^{ghi}	20.0 ^k	30.6 ⁱ
LSD				100.4	0.042	1.65	1.04	1.39
P-value				<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

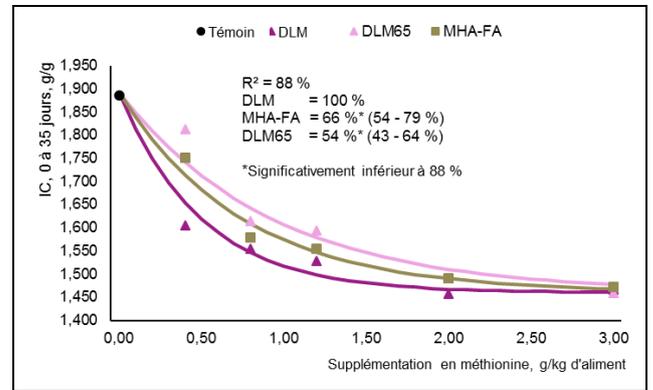
^{*} : valeur calculée sur la base de la composition du produit MHA-FA, soit 88% de substance active et 12% d'eau.

Figure 1. Valeurs nutritionnelles relatives moyennes, ou bioefficacités, calculées à 35 jours d'âge

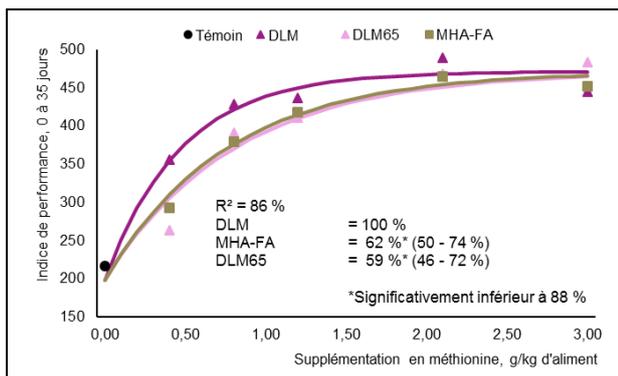
a) Régression exponentielle pour le poids vif - PV :
 $y = 1440 + 1103 * (1 - e^{-(2.41*DLM + 1.40*MHA-FA + 1.34*DLM65)})$



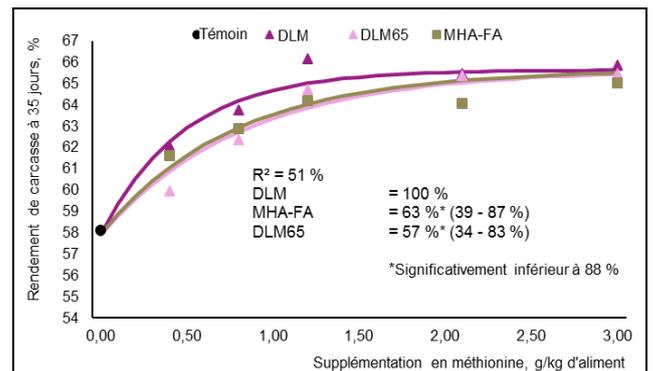
b) Régression exponentielle pour l'indice de consommation - IC :
 $y = 1.892 - 0.432 * (1 - e^{-(2.00*DLM + 1.33*MHA-FA + 1.07*DLM65)})$



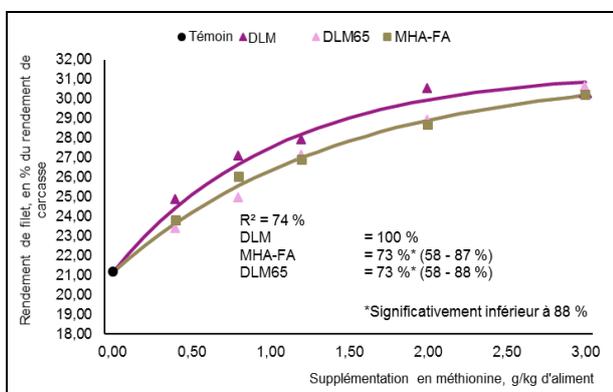
c) Régression exponentielle pour l'indice de performance - EPEF² :
 $y = 198 + 273 * (1 - e^{-(2.12*DLM + 1.32*MHA-FA + 1.25*DLM65)})$



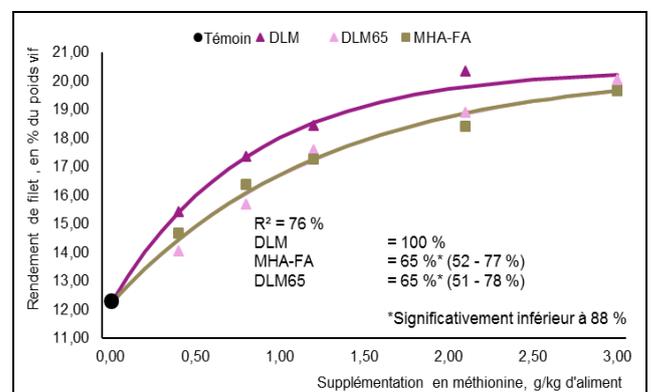
d) Régression exponentielle pour le rendement de carcasse - RC :
 $y = 57.9 + 7.7 * (1 - e^{-(2.09*DLM + 1.31*MHA-FA + 1.22*DLM65)})$



e) Régression exponentielle pour le rendement de filet en pourcentage du rendement de carcasse - RF-RC :
 $y = 21.2 + 10.3 * (1 - e^{-(0.96*DLM + 0.70*MHA-FA + 0.70*DLM65)})$



f) Régression exponentielle pour le rendement de filet en pourcentage du poids vif - RF-PV :
 $y = 12.23 + 8.2 * (1 - e^{-(1.22*DLM + 0.79*MHA-FA + 0.79*DLM65)})$



* : significativement différent de 88% à P<0.05

¹ : 95% d'intervalle de confiance

² : Indice Européen de Performances ou EPEF « European Production Efficiency Factor »

= (Gain de poids moyen (g/j) x Nombre d'animaux vivants (%)) / Indice de consommation (g/g) x 10

**VALEUR ENERGETIQUE ET DIGESTIBILITE ILEALE DES PROTEINES ET
ACIDES AMINES DE QUATORZE MATIERES PREMIERES RICHES EN
PROTEINES CHEZ LE POULET DE CHAIR**

**Danel Justine^a, Dusart Léonie^b, Recoules Emilie^c, Quinsac Alain^d, Tormo Elodie^e,
Vilariño Maria^a**

^a ARVALIS - Institut du végétal, Pouline, 41100 Villerable, France

^b Institut Technique de l'Aviculture, Centre INRA Val-de-Loire, 37380 Nouzilly, France

^c UMR BOA, INRA, Université de Tours, Centre INRA Val de Loire, 37380 Nouzilly, France

^d Terres Inovia, 11 rue Monge, Parc industriel, 33600 Pessac, France

^e Terres Univia, 11 rue de Monceau, 75008 Paris, France

j.danel@arvalis.fr

RÉSUMÉ

L'amélioration de l'indépendance protéique et des seuils d'incorporation des matières premières nationales dans les aliments volailles pourrait passer par l'utilisation de Matières Premières Riches en Protéines (MPRP) adaptées (origine, variété, process). Dans le cadre du projet CASDAR VOCALIM : « Des systèmes de production de volailles multiperformants valorisant des matières premières locales », une étude a été menée afin de mesurer la valeur nutritionnelle chez le poulet de « nouvelles » MPRP ciblées. La valeur énergétique, inconnue pour certaines, ainsi que la digestibilité iléale des protéines et des acides aminés ont été mesurées pour avoir des valeurs de référence à intégrer dans les matrices de formulation. Les MPRP testées ont soit subi des procédés technologiques permettant une concentration en protéines, ou sont des MPRP peu ou pas connues : tourteau de tournesol (TT) Hipro, TT Hipro bluté (usine pilote ou industriel), TT pailleux bluté, TT stéarique, tourteau de colza (TC), TC bluté (usine pilote ou industriel), TC dépelliculé, TC expeller, tourteau de canola, tourteau de soja expeller, concentré protéique de pomme de terre, lupin décortiqué. Les MPRP ont été incorporées à des taux allant de 15 à 30 % dans un aliment dit complémentaire, également évalué seul, permettant le calcul par différence de la valeur nutritionnelle des différentes MPRP. Tous les aliments ont été bien consommés, et il ne semble pas y avoir eu d'impact négatif sur les performances des poulets. Les valeurs énergétiques mesurées vont de 1479 à 3910 kcal/kg MS. Les valeurs de digestibilité iléale de la protéine, de la somme des acides aminés et de la lysine varient quant à elles de 66,4 à 88,3 %, de 69,3 à 89,3 % et de 70,7 à 90,9 %, respectivement. Les tourteaux ayant subi des procédés technologiques sont mieux valorisés par les animaux que les tourteaux classiques, aussi bien du point de vue de l'énergie que des protéines. Certaines MPRP pourraient également être intéressantes à condition qu'elles soient plus disponibles.

ABSTRACT

Energetic value and ileal digestibility of proteins and amino acids for fourteen protein-rich raw materials in chickens.

Improving protein independence and incorporation rate for raw materials in poultry diets could be done through the use of protein-rich raw material (MPRP), which would be well-adapted concerning origin, variety or process. In the CASDAR VOCALIM project: "System of multi-efficient poultry production to promote local raw materials", a study was designed to measure the nutritional value of "new" raw materials in chickens. Hence, the energetic value, unknown for some, and the ileal digestibility of proteins and amino acids were measured in order to get reference values to include in matrix formulation. The tested MPRP were either submitted to technological process to concentrate protein, or were (not) well-known: HiPro sunflower meal (TT), sieved HiPro TT (pilot plant or industrial), non-dehulled TT, stearic TT, rapeseed meal (TC), sieved TC (pilot plant or industrial), dehulled TC, expeller TC, canola meal, expeller soybean meal, concentrated potatoe proteins, dehulled lupin. The MPRP were incorporated from 15 to 30% into the complementary diet, tested independently, which made it possible to use a calculation method by difference to define the MPRP nutritional value. All the diets were well eaten by chickens and the MPRP did not seem to have a negative impact on chickens' performances. The measured energetic values ranged from 1479 to 3910 kcal/kg DM. The ileal digestibility values of proteins, sum of amino acids and lysine varied from 66.4 to 88.3%, 69.3 to 89.3% and 70.7 to 90.9%, respectively. The meals which had been processed were better valued than the original ones, both in terms of energy and protein. Some of those MPRP could be interesting if were more available.

INTRODUCTION

Le projet CASDAR VOCALIM : « Des systèmes de production de volailles multiperformants valorisant des matières premières locales » a pour ambition de promouvoir des systèmes d'élevage avicoles durables, autonomes en Matières Premières Riches en Protéines (MPRP). L'augmentation des seuils d'incorporation des matières premières nationales pourrait notamment passer par l'utilisation de MPRP adaptées, mais aussi par des critères de formulation permettant une utilisation judicieuse d'associations de matières premières, avec une bonne valorisation des nutriments.

Différentes mesures ont été faites afin d'apporter de nouvelles informations sur des MPRP, soit mal connues, soit issues de procédés technologiques ayant pour but d'augmenter la teneur en protéines et d'optimiser l'utilisation des nutriments par l'animal.

Le protocole utilisé pour les essais poulets a été évalué favorablement par le Comité d'Ethique n°19 et autorisé par le MESR conformément à la Directive 2010/63/UE relative à l'utilisation d'animaux à des fins scientifiques.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Matières premières et Aliments

Les Quatorze MPRP qui ont été évaluées en deux essais sont listées ci-après, pour les tourteaux de tournesol (TT) : TT Hipro (TTHP), TTHP bluté en unité pilote (TTHPbp) ou industriel (TTHPbi), TT pailleux bluté en unité pilote (TTb) et TTHP stéarique (TTHPs) ; pour les tourteaux de colza (TC) : TC bluté unité pilote (TCbp) ou industriel (TCbi), TC dépelliculé (TCdp), TC expeller (TCe) et tourteau de canola (TCa) ; pour les autre MPRP : tourteau de soja expeller (TSe), lupin décortiqué (LUPd), concentré protéique de pomme de terre (CPPT).

Les tourteaux qui ont été blutés dans l'unité pilote de l'ENSMIC (en partenariat avec Terres Inovia) proviennent des lots TTHP et TC, également testés (Quinsac *et al.*, 2019).

Les aliments expérimentaux étaient constitués du complémentaire (61,44 % maïs, 19,62 % tourteau de soja, 10 % blé et 3,87 % d'huile de soja), de la MPRP à tester incorporée à un taux de 25 ou 30 % (sauf le CPPT, à 15 %) et de l'aliment minéral et vitaminé. Du dioxyde de titane (TiO₂) a été introduit au taux de 0,50 % dans les aliments en tant que marqueur indigestible. Les aliments étaient présentés en granulés et ne contenaient pas d'additif anticoccidien et d'enzymes.

1.2. Mesures sur animaux et analyses

Les poulets mâles de souche ROSS PM3 ont reçu jusqu'à J14 un aliment démarrage (protéines =

22,0 %, énergie métabolisable apparente à bilan azoté nul : EMAn = 2850 kcal/kg) avant qu'une mise en lots en fonction du poids corporel n'ait été effectuée.

Les performances de croissance des poulets (consommation, gain de poids et indice de consommation) ont été suivies de J14 à J25, afin de s'assurer que les MPRP n'avaient pas d'effet négatif sur l'ingestion et la croissance.

Les bilans digestifs sur les poulets ont été effectués de J22 à J24, les collectes de contenus iléaux ont été réalisées à J25. La méthode de bilan digestif utilisée est celle avec marqueur (8 à 9 répétitions d'un animal par traitement), sans mise à jeun et avec collecte partielle des excréta (Métayer *et al.*, 2013).

Pour chaque aliment, et par calcul pour chaque MPRP, ont été mesurés les coefficients d'utilisation digestive (CUD) apparent au niveau fécal (CUDa.f) de l'énergie et de la protéine en individuel, ainsi que les CUD apparents au niveau iléal (CUDa.i) de la protéine en individuel et des acides aminés sur des pools (de 2 à 4 poulets). Ainsi, les valeurs d'EMAn ainsi que celles des différents nutriments digestibles ont été calculées pour chaque MPRP.

1.3. Méthodes d'analyses

Les analyses sur les matières premières ont été réalisées selon les méthodes suivantes : matières minérales (MM : Norme NF V18-101), cellulose brute (CB : Norme NF EN ISO 6865), fibres Van Soest (Méthode Van Soest, Norme NF V18-122), matières grasse avec hydrolyse (MGH : méthode Randall, Norme NF EN ISO 11085), parois végétales insolubles dans l'eau (Norme NF V18-111), sucres (Méthode Luff-Schoorl, règlement CEE 152/2009 modifié par 691/2013), énergie brute (calorimétrie (mode dynamique 25 °C), NF EN ISO 9831), matières azotées totales (MAT : N*6,25 - méthode Dumas, NF EN ISO 16634-1), acides aminés (NF EN ISO 13903). La composition des excréta (azote, azote protéique et EB) a été obtenue à l'aide d'équations de prédiction dans le proche infrarouge (SPIR) et après validation par les méthodes de référence ci-dessus. La méthode de Terpstra et Hart (1974) a été utilisée pour mesurer l'azote protéique des excréta. Les teneurs en TiO₂ ont été mesurées sur les aliments et les excréta selon la méthode décrite par Short *et al.* (1996).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les consommations des aliments contenant les différentes MPRP testées ont été correctes et les gains de poids au cours de l'essai satisfaisants. Ces observations confirment que les aliments contenant ces MPRP ont été bien acceptés par les animaux.

Les caractéristiques chimiques des MPRP testées dans cet essai figurent dans le tableau 1. Dans le tableau 2, sont présentés les coefficients de

digestibilité et les teneurs en composants digestibles, de l'énergie et de la protéine (au niveau fécal) et de la protéine et des principaux acides aminés (au niveau iléal), mesurés chez le poulet.

2.1. Composition des MPRP

Les MPRP testées ont des profils très différents. Elles ont été regroupées par espèce végétale : TT, TC ou autres. Leur teneur en MAT varie de 31,2 à 85,0 % MS, leur teneur en parois de 2,0 à 43,9 % MS alors que leur teneur en MGH de 1,9 à 15,7 % MS (tableau 1).

2.2. Valorisation des tourteaux de tournesol

Trois des cinq TT testés ont une valeur d'EMAN supérieure à 1820 kcal/kg MS. Le TT le mieux valorisé sur le plan énergétique est le TTHPbi, c'est celui avec la teneur en MAT la plus élevée et en parois la plus faible. Les TTHPbp et TTHPs ont des valeurs d'EMAN intermédiaires, cependant supérieures d'environ 350 kcal/kg MS en moyenne aux TTHP et TTb.

Le blutage du lot de TTHP dans l'unité pilote a permis d'augmenter sa valeur énergétique de 425 kcal/kg MS. Bien que les lots n'aient pas la même origine, il semblerait que le blutage (unité pilote) d'un TTb (non décortiqué) permette d'atteindre la même valeur énergétique que le décortiquage « poussé » des TTHP (1514 vs. 1479 kcal/kg MS respectivement), avec de plus une teneur en MAT plus élevée (+ 6 points). Il faut tout de même noter que le rendement entre la quantité de TT bluté (pilote) et la fraction d'intérêt enrichie en protéines était faible, pour la teneur en protéines obtenue. De plus, le point de vue économique n'a pas été étudié.

Le blutage des TTHP permet non seulement d'augmenter encore la teneur en protéines mais également d'abaisser celle des fibres. En étudiant les corrélations entre les différentes variables pour l'ensemble des TT évalués, des relations négatives fortes et significatives sont mises en évidence entre la teneur en fibres (CB ou parois) et l'EMAN. La teneur en parois semble un bon prédicteur avec un coefficient de corrélation de -0,9 ($P < 0,05$).

Les différences entre valeurs de CUDa N au niveau iléal et fécal ne sont pas équivalentes selon les TT. Les TTHPbi et TTHPs sont similaires au niveau fécal (- 0,9 point) alors que le N du TTHPs semble mieux valorisé au niveau iléal (+ 4,3 points). Le TTHPs est surtout remarquable quant à ses coefficients de digestibilité des AA, ce qui permet d'être comparable au TTHPbi quant aux teneurs en AA digestibles, malgré une différence de 5,2 points de MAT. Ainsi, du point de vue des teneurs en principaux AA digestibles, les deux TTHP blutés et le TTHPs sont équivalents.

Une corrélation négative et significative est mise en évidence entre le CUDa.i N et l'EB ainsi que le NDF ($R = 0,9$; $P < 0,05$).

2.3. Valorisation des tourteaux de colza et canola

Trois des six TC testés ont une EMAN supérieure à 2000 kcal/kg MS. Le TCe est le mieux valorisé, à +240 kcal/kg MS que le TCdp et +350 kcal/kg MS que le TCbp. Le TCbi est intermédiaire (- 170 kcal/kg MS que TCbp) mais tout de même supérieur de 370 kcal/kg MS au TC. La valeur du TCa est similaire à celle TC.

Dans le cas du TC, les effets des différents procédés sont proches de ceux observés pour le TT, tout du moins sur l'abaissement des teneurs en fibres et l'amélioration de la valeur énergétique, même si l'augmentation de la MAT est moins importante. Le dépelliculage et le blutage industriel augmentent l'EMAN de 725 et 372 kcal/kg MS, respectivement par rapport au TC. Il faut néanmoins noter que la valeur du TC est plus faible que celle des références (FeedTables, 2017 : 1610 kcal/kg MS).

Pour les TC, il existe une relation forte et négative entre l'EMAN et les différents critères de fibres (NDF et parois notamment ; ($R = -0,9$; $P < 0,05$)).

De plus, la MAT du TCdp est mieux valorisée que les autres, d'autant plus au niveau iléal (CUDa.i entre + 10 et + 16 points). Ainsi, les teneurs en acides aminés digestibles sont plus élevées pour le TCdp (pour la lysine : 2,5 % MS, soit + 0,8 point en moyenne). Le TCe est intermédiaire quant à la valorisation des protéines, et de par sa composition, a des teneurs en AA digestibles plus faibles. Par contre, les valeurs de CUDa N du TCa sont bien inférieures au niveau fécal comme iléal se rapprochant du TC. Le blutage (pilote ou industriel) a permis d'améliorer aussi bien la valorisation de l'énergie et des protéines du TC en diminuant la teneur en fibres.

En mettant de côté le TCe, une relation forte et positive est mise en évidence entre le CUDa.i N et l'EMAN ($R = 0,9$; $P < 0,05$). Ainsi les TC les mieux valorisés sur le plan de l'énergie le sont aussi sur celui de la MAT.

2.4. Valorisation des autres MPRP

Concernant les autres MPRP testées, l'EMAN du TSe est supérieure de + 400 kcal/kg MS par rapport au TS classique (Feedtables, 2017). Le décortiquage du lupin semble également permettre une augmentation de la valeur énergétique (+ 400 kcal/kg MS par rapport à la valeur de référence, FeedTables, 2017). Par contre, le CPPT a une valeur très élevée, supérieure au TSe (+ 500 kcal/kg MS).

Au niveau fécal, le LUPd a une valeur de CUDa.f N de 94 %, soit +7 points par rapport au TSe et au CPPT. Cet écart est réduit à +1 et +5 points au niveau iléal.

Pour la digestibilité de la lysine par exemple, seuls le LUPd et le CPPT ont une valeur supérieure à 90 %. Sur la teneur en lysine digestible, le CPPT se démarque toujours, avec une valeur de 5,8 % MS.

Le TSe a une valeur légèrement sous la référence TS (à noter la différence entre digestibilité apparente ici et standardisée dans les Tables).

CONCLUSION

Les MPRP testées se démarquent, aussi bien par des valeurs d'utilisation digestive améliorée par rapport aux MP d'origine que par des valeurs se rapprochant de la référence tourteau de soja. Il apparaît que les traitements technologiques supplémentaires appliquées aux tourteaux de tournesol et de colza ont été bénéfiques et permettent de mieux valoriser l'énergie tout comme la protéine et les acides aminés de ces matières premières. D'autres MPRP semblent intéressantes, même si les freins à leur utilisation doivent être étudiés (disponibilité, prix, priorisation des filières,...).

Dans l'objectif de mettre en évidence des MPRP pouvant remplacer le TS, source de protéines privilégiée dans l'alimentation des volailles, au moins en partie, afin de répondre notamment à des

cahiers des charges (MP locales, non OGM,...), il semble que des candidats intéressants aient été identifiés. Il pourrait être judicieux également de combiner certaines MPRP afin d'associer leur caractère complémentaire, notamment quant aux teneurs en acides aminés digestibles.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Compte d'Affectation Spécial « Développement Agricole et Rural » du Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation, de la Pêche, de la Ruralité et de l'Aménagement du Territoire ainsi que le CIPC pour leur participation financière au projet VOCALIM. Les auteurs remercient également les participants au comité de pilotage et les fournisseurs de matières premières (ENILIA-ENSMIC, Terres Inovia, OLEAD, SAIPOL, CCPA, AXEREAL, Néovia, CCPA, ROQUETTE, Valorex) ainsi que AJINOMOTO Eurolysine S.A.S. pour la réalisation des analyses d'acides aminés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- INRA CIRAD AFZ © 2017. Tables INRA-CIRAD-AFZ d'alimentation des animaux. <https://feedtables.com>.
 Métayer J.P., Lescoat P., Bastianelli D., Bouvarel I., Fournis Y., Vilariño M., 2013. 10èmes Journ. Rech. Avicoles et Palmipèdes à Foie Gras, La Rochelle, 26-28 mars, 767-771.
 Quinsac A., Dauguet S., Peyronnet C., Krouti M., Gendron A., Carré P., Brionnet F., 2019. 13èmes Journ. Rech. Avicoles et Palmipèdes à Foie Gras, Tours, 20-21 mars.
 Short F.J., Gorton P., Wiseman J., Boorman K.N., 1996. Anim. Feed Sci. Tech., 59, 215-221.

Tableau 1 : Composition chimique mesurée des matières premières testées (% MS ou kcal/kg MS)

Composition, % MS ou kcal/kg MS	Tourteaux de tournesol					Tourteaux de colza						TSe	LUPd	CPPT
	TTHP	TTHP bp	TTHP bi	TTb	TTHPs	TC	TCbp	TCbi	TCdp	TCe	TCa			
MS, %	89,2	89,4	91,5	89,3	90,8	88,3	88,9	88,7	93,8	91,5	87,8	96,6	89,8	92,7
MM	7,3	8,6	8,5	8,0	9,1	7,2	7,2	8,1	7,6	6,5	7,6	6,3	4,0	2,6
CB	21,0	10,5	10,2	14,2	11,7	14,7	7,9	10,9	8,8	12,9	13,7	4,3	3,5	0,0
NDF	32,2	19,2	21,4	26,0	18,9	32,1	17,9	25,5	18,4	26,5	28,8	12,3	8,2	1,5
ADF	22,9	12,4	12,2	16,3	11,6	20,0	10,4	15,0	11,1	19,6	19,3	5,3	3,9	0,4
ADL	6,2	2,8	6,3	4,4	2,3	8,4	2,9	6,8	3,6	10,0	9,6	0,4	0,4	0,3
Parois	43,9	30,6	25,5	31,7	26,6	39,5	25,8	29,8	28,5	33,7	36,4	15,2	29,0	2,0
Sucres	5,9	7,0	7,2	5,4	9,3	8,9	10,5	10,5	13,4	9,5	7,7	15,5	10,1	0,3
MGh	1,9	2,2	2,2	3,6	3,0	4,1	5,2	2,9	4,0	15,7	2,8	13,0	13,0	4,2
EB	4623	4603	4669	4712	4583	4774	4788	4700	4717	5302	4698	5249	5240	5754
MAT	38,3	47,3	49,6	44,3	44,4	37,4	44,7	43,2	43,6	31,2	42,3	48,4	44,3	85,0
Σ AA*	34,6	43,6	45,2	40,5	40,5	33,4	40,6	39,1	40,5	28,9	38,0	46,6	41,1	87,5
Lys tot	1,50	1,90	1,86	1,60	1,90	2,10	2,40	2,45	2,80	2,01	2,36	2,78	2,09	6,45
Met + Cys tot	1,40	1,80	1,92	1,70	1,70	1,60	1,90	1,88	2,10	1,38	1,78	1,30	0,93	3,15
Thr tot	1,40	1,80	1,83	1,60	1,70	1,70	1,90	1,87	1,90	1,41	1,81	1,88	1,60	4,83
Trp tot	0,50	0,60	0,65	0,60	0,60	0,50	0,60	0,56	0,60	0,40	0,56	0,63	0,33	1,23

TT : Tourteaux de Tournesol ; TTHP : TT Hipro ; TTHPbp : TTHP bluté en unité pilote TTHPbi : TTHP bluté industriel, TTb : TT pailleux bluté en unité pilote et TTHPs : TTHP stéarique ; TC : Tourteaux de Colza ; TCbp : TC bluté unité pilote ; TCbi : TC bluté industriel ; TCdp : TC dépelliculé, TCe : TC expeller ; TCa : Tourteau de Canola ; TSe : tourteau de soja expeller ; LUPd : lupin décortiqué, CPPT : concentré protéique de pomme de terre.

MS : Matière Sèche ; MM : Matière Minérale ; CB : Cellulose Brute ; NDF : Fibres solubles dans le détergent neutre ; ADF : Fibres solubles dans le détergent acide ; ADL : Lignine ; MGh : Matière Grasse (analyse avec hydrolyse) ; Parois : Parois végétales insolubles dans l'eau ; EB : Energie Brute ; MAT : Matières Azotées Totales ; Σ AA : somme des acides aminés ; Lys tot : Lysine totale ; Met+Cys tot : Méthionine + Cystéine totale ; Thr tot : Thréonine totale ; Trp tot : Tryptophane total.

Les origines des MPRP :

Pour les tourteaux de tournesol : ils proviennent de graines françaises et transformées en France, excepté le TTHP bluté de façon industrielle, originaire d'Europe de l'Est.

Pour les tourteaux de colza : les graines sont d'origine France et les décorticages ou blutages ont été faits en France. Le tourteau de canola vient du Canada.

Le concentré protéique de pomme de terre, le lupin décortiqué et le tourteau de soja expeller proviennent de matières premières françaises transformées en France.

Tableau 2 : Valeurs de digestibilité et teneurs en composants digestibles au niveau fécal et iléal des différentes MP testées - moyenne et *écart-type*

Digestibilité et teneur en composants digestibles		Tourteaux de tournesol					Tourteaux de colza						TSe LUPd CPPT		
		TTHP	TTHP bp	TTHP bi	TTb	TTHPs	TC	TCbp	TCbi	TCdp	TCE	TCa			
Digestibilité fécale	EMAn/EB	32,0	41,4	43,0	32,1	39,8	31,2	43,7	39,6	47,0	46,3	33,3	57,2	52,8	61,5
	%	3,9	2,8	6,8	3,6	2,2	5,1	4,0	5,8	4,3	4,8	5,6	5,4	3,5	6,3
	CUDa N	83,3	84,2	85,9	81,6	85,0	71,6	82,6	78,7	85,4	74,1	75,7	87,0	94,0	87,1
	%	4,4	2,0	4,3	2,0	1,4	2,7	2,9	3,0	2,4	3,7	2,4	2,3	1,2	2,4
	EMA	1784	2301	2362	1868	2173	1779	2481	2154	2606	2712	1859	3353	3076	4068
	kcal/kg MS	200	136	344	177	119	260	209	302	217	278	278	311	196	405
	EMAn	1479	1904	2007	1514	1824	1490	2092	1862	2215	2457	1565	3001	2767	3538
kcal/kg MS	179	129	316	171	102	244	192	270	203	255	262	281	182	365	
Digestibilité iléale	CUDa N	82,5	83,7	83,1	79,2	87,4	67,4	70,6	73,7	83,9	73,6	69,6	83,3	88,3	87,3
	% - individuel	4,9	4,9	5,8	4,7	4,4	5,4	7,3	6,0	2,4	7,2	1,1	3,7	4,2	3,6
	CUDa ΣAA	82,1	82,7	84,0	80,8	86,6	69,9	69,3	75,6	85,2	82,3	75,6	83,8	89,3	88,1
	% - pool	6,7	5,9	5,9	4,1	4,9	5,8	7,7	7,4	2,6	0,7	0,7	3,0	5,8	1,1
	CUDa Lys	83,8	86,0	83,8	79,4	90,3	70,7	72,7	76,2	88,9	83,1	73,4	83,0	90,9	90,2
	% - pool	7,7	7,1	7,4	6,0	6,9	6,0	4,9	5,4	2,1	1,7	1,7	2,4	4,8	0,8
	CUDa Thr	75,8	78,4	77,3	74,7	82,6	62,6	65,3	67,9	80,0	71,3	66,1	78,5	84,1	84,8
	% - pool	8,9	5,7	7,2	5,4	4,9	7,0	7,1	8,4	2,6	1,5	1,5	3,4	8,8	1,3
	CUDa Met+Cys	80,3	83,6	76,3	81,0	87,4	73,3	73,3	78,1	88,1	83,0	76,2	76,3	79,9	82,6
	% - pool	7,2	6,1	8,5	3,9	4,3	5,5	7,4	5,6	1,9	0,2	0,2	5,0	13,4	2,6
	CUDa Trp	78,7	80,1	76,7	74,7	82,4	60,9	65,7	70,7	81,0	76,7	72,0	79,7	76,2	78,5
	% - pool	7,7	9,1	6,6	6,3	6,9	8,6	8,3	9,4	2,4	1,4	1,4	4,0	12,3	1,8
	MAD	31,6	39,6	41,2	35,1	38,8	25,2	31,6	31,8	36,6	23,0	29,4	40,3	39,1	74,2
	somme AA dig *	28,4	36,0	38,0	32,7	35,1	23,4	28,1	29,6	34,5	23,7	28,7	39,0	36,7	77,1
	Lys dig	1,26	1,61	1,56	1,29	1,69	1,46	1,75	1,87	2,48	1,67	1,73	2,30	1,90	5,82
Met+Cys dig	1,15	1,51	1,46	1,34	1,45	1,16	1,41	1,47	1,84	1,14	1,36	0,99	0,74	2,61	
Thr dig	1,08	1,39	1,41	1,21	1,38	1,04	1,27	1,27	1,48	1,01	1,20	1,47	1,34	4,10	
Trp dig	0,40	0,50	0,50	0,45	0,53	0,31	0,41	0,39	0,49	0,31	0,40	0,50	0,25	0,96	

TT : Tourteaux de Tournesol ; TTHP : TT Hipro ; TTHPbp : TTHP bluté en unité pilote TTHPbi : TTHP bluté industriel, TTb : TT pailleux bluté en unité pilote et TTHPs : TTHP stéarique ; TC : Tourteaux de Colza ; TCbp : TC bluté unité pilote ; TCbi : TC bluté industriel ; TCdp : TC dépelliculé, TCE : TC expeller ; TCa : Tourteau de Canola ; TSe : tourteau de soja expeller ; LUPd : lupin décortiqué, CPPT : concentré protéique de pomme de terre.

MS : Matière Sèche ; EMAn : Energie Métabolisable à bilan azoté nul ; EB : Energie Brute ; CUDa : Coefficient d'Utilisation Digestive apparent ; N : azote ; ΣAA : somme des acides aminés ; Lys : Lysine ; Met+Cys : Méthionine + Cystéine ; Thr : Thréonine ; Trp : Tryptophane ; MAD : Matières Azotées Digestibles ; dig : digestible

MÉTA-ANALYSE DE LA DIGESTIBILITÉ ILÉALE DU PHOSPHORE CHEZ LE POULET DE CHAIR : EFFET DU PHOSPHORE ALIMENTAIRE, DU CALCIUM ET DE LA PHYTASE

Couture Catherine¹, Narcy Agnès², Chiasson Rachel¹, Létourneau-Montminy Marie-
Pierre¹

¹UNIVERSITÉ LAVAL - Département des sciences animales - 2425 rue de l'Agriculture - GIV
0A6, QUÉBEC (Canada)

²UMR BOA - INRA - Université de Tours - UR83 Recherches Avicoles - 37380 NOUZILLY
(France)

marie-pierre.letourneau@fsaa.ulaval.ca

RÉSUMÉ

Un des éléments clé d'une production avicole durable est une utilisation optimale du phosphore (P) alimentaire compte tenu de ses enjeux environnementaux. L'optimisation de l'utilisation de P nécessite d'améliorer d'une part la prédiction de la quantité de P absorbée et retenue en tenant compte des principaux facteurs de modulation et d'autre part la connaissance des besoins. Une méta-analyse a été réalisée afin de quantifier l'impact des formes alimentaires de P (P non-phytique (PNP) et P phytique (PP)), de l'apport de calcium (Ca) et de phytase microbienne (PhytM) sur la digestibilité iléale apparente de P chez le poulet de chair. Une base de données comportant 480 traitements provenant de 95 expériences dans 59 articles publiés a été utilisée et une sous-base sans phytase a aussi été créée à partir de cette dernière. Un modèle de régression linéaire multiple du P digestible (P total x Coefficient de digestibilité iléale apparente (DIA), g/kg) avec l'expérience en effet aléatoire ($R^2 = 0,94$) a montré qu'en l'absence de phytase, les DIA de P sont de 70% pour le phosphate monocalcique, 69% pour le P d'origine animale, 66% pour le PNP végétal et 55% pour le phosphate bicalcique. Lorsque PNP est exprimé comme la somme des sources végétale, minérale et animale, un effet linéaire est observé sur P digestible ($P < 0,001$). La DIA de PP dépend du niveau de Ca (Ca x PP, $P < 0,001$); montrant une DIA de 23% pour 10 g Ca/kg et 45% pour 6 g Ca/kg. Le Ca alimentaire réduit la DIA de PNP et de PP (Ca x PNP et Ca x PP, $P < 0,001$). La réponse en termes de P digestible à l'ajout de PhytM est quadratique et dépend de la quantité de substrat (PP x PhytM, $P = 0,002$) et aussi de l'apport de Ca (Ca x PP x PhytM, $P < 0,001$) avec une réponse en termes de P digestible à la PhytM plus importante dans le cas d'aliments riches en PP et en Ca. Cette méta-analyse permet de mieux comprendre et quantifier l'utilisation digestive de P alimentaire. Les informations générées seront utiles pour le développement d'un modèle permettant la formulation d'aliments prenant en compte les multiples interactions entre P, Ca et PhytM pour le poulet de chair.

ABSTRACT

Meta-analysis of phosphorus ileal digestibility in growing broilers: effect of dietary phosphorus, calcium and phytase supply

One of the key elements to achieve sustainable poultry production is an optimal utilisation of dietary phosphorus (P) given its environmental challenges. Optimizing the use of P requires, on the one hand, improving the prediction of the amount of absorbed and retained P taking into account the main modulation factors and, on the other hand, the knowledge of P requirements. A meta-analysis was performed to quantify the impact of dietary P (Non-phytic P (PNP) and Phytic P (PP)), calcium (Ca) and microbial phytase (PhytM) on apparent ileal digestibility of P in broilers. A database of 480 treatments from 95 experiments in 59 published articles was used. A linear multiple regression model of digestible P (total P x apparent ileal digestibility coefficient (DIA), g / kg) with the experiment as random effect ($R^2 = 0.94$) showed that in the absence of phytase DIA are 70% for PNP from monocalcium phosphate, 69% for animal PNP, 66% for plant PNP, and 55% for PNP from dicalcium phosphate. The DIA of PP depends on the level of Ca (Ca x PP, $P < 0.001$); showing an DIA of 23% for 10 g Ca / kg and 45% for 6 g Ca / kg. In the global database with phytase, when PNP is expressed as the sum of plant, mineral and animal sources, a linear effect is observed on digestible P ($P < 0.001$). Dietary Ca reduces the DIA of PNP and PP (Ca x PNP and Ca x PP, $P < 0.001$). The response in terms of digestible P with the addition of PhytM is quadratic and depends on the amount of substrate (PP x PhytM, $P = 0.002$). This effect is influenced by the intake of Ca (Ca x PP x PhytM, $P < 0.001$) and shows that the response in terms of P digestible to PhytM increases with high PP and Ca diet. This meta-analysis gives a better understanding and quantifying of the utilisation of dietary P. The information generated will be useful for the development of a model helping with feed formulation for broilers in P, Ca and PhytM.

INTRODUCTION

Compte tenu de l'impact négatif que peut avoir le phosphore (P) sur l'environnement et du prix des phosphates qui demeure élevé et le fait que cette ressource soit non-renouvelable (Cordell et al., 2009), l'optimisation de son utilisation par les poulets est essentielle dans un contexte d'amélioration de la durabilité de cette production. Afin d'optimiser l'utilisation de P par les poulets, il est d'une part, important d'améliorer notre capacité à prédire les quantités absorbées et retenues en considérant les principaux facteurs influents, notamment les formes alimentaires de P, les niveaux d'apports de P et de calcium (Ca) et le potentiel génétique de minéralisation osseuse. Le présent travail a pour objectif d'affiner la prédiction de l'absorption de P en prenant en compte les facteurs de modulation les plus importants. Le nombre élevé de données publiées de digestibilité iléale depuis la standardisation de leur mesure au niveau international (Rodehutsord, 2013) favorise l'utilisation de la méta-analyse pour résumer et quantifier les connaissances acquises précédemment (Sauvant et al., 2008).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Collecte de données et codage

Des articles présentant des résultats de digestibilité iléale de P chez le poulet de chair entre 2000 et 2017 ont été utilisés. La base de données inclut des informations générales (ex. : noms des auteurs, année de publication, journal scientifique) et des données qualitatives (ex. : génétique, sexe, type d'aliment) et quantitatives (ex. : composition de l'aliment, digestibilité de P, performances de croissance) sur ces publications. Elle comporte 480 traitements provenant de 95 expériences issues de 59 articles publiés. Une sous-base sans phytase a été créée pour estimer la digestibilité des différentes formes de P et comportait 323 traitements et 80 expériences issues de 48 articles publiés. Chaque publication dans la base de données possède un code unique. En présence de plus d'une expérience dans une même publication, un code spécifique était assigné à chaque expérience. Une observation représente la moyenne du groupe par traitement.

1.2. Calculs et détermination des variables dépendantes et indépendantes

Pour chaque aliment expérimental, le Ca total alimentaire, le Ca végétal (Cav), minéral (Camin) et animal (Caanim), le P total alimentaire, le P phytique (PP), le P non-phytique (PNP) ainsi que le PNP végétal (PNPv), minéral (PNPmin) et animal

(PNPanim) ont été recalculés (Sauvant et al., 2004). Lorsqu'un ingrédient utilisé dans un aliment expérimental était analysé, cette valeur était préférentiellement considérée. Pour les ingrédients absents, les données des bases Feedipedia et Feedbase étaient utilisées. Un peu plus de la moitié (56%) des traitements expérimentaux étaient supplémentés en phosphate (59% sous la forme de phosphate bicalcique et 41% sous la forme de phosphate monocalcique) et 8% contenaient du P animal sous forme de farine de viande et d'os. Sur les 480 traitements, 116 étaient supplémentés en phytase microbienne (PhytM).

Les variables indépendantes suivantes ont été utilisées : Ca total alimentaire (g/kg d'aliment), formes d'apports de P et PhytM (FTU/kg d'aliment). La variable à prédire était le P digestible (g/kg).

1.3. Analyses statistiques et du méta-dispositif

Les statistiques descriptives des différentes variables du modèle sont présentées dans le Tableau 1. Une analyse du méta-dispositif a été faite en étudiant graphiquement les variables indépendantes deux à deux. Celle-ci a permis de vérifier l'étendue des données, de déceler les valeurs aberrantes et de vérifier s'il y avait des colinéarités entre les différentes variables indépendantes. Une analyse graphique de l'effet intra- et inter-expérience du P digestible en fonction de la variable indépendante la plus influente (PNPtot) a ensuite été réalisée. Les données ont été analysées au moyen de la procédure mixed de Minitab (2018). L'expérience a été introduite dans le modèle comme un effet aléatoire. Basé sur un examen graphique de la réponse intra-expérience un modèle quadratique a été ajusté comme suit:

$$Y_{ij} = \alpha + \alpha_i + b_1 X_{ij} + b_2 X_{ij}^2 + e_{ij}$$

où Y_{ij} est la valeur de la variable dépendante Y dans l'expérience i avec le traitement j de P alimentaire; α est l'ordonnée à l'origine globale; α_i est l'effet de l'expérience i sur l'ordonnée à l'origine α avec la condition que la somme de chaque α_i soit égale à 0; b_1 et b_2 sont les coefficients linéaires et quadratiques de la relation, respectivement; et e_{ij} est l'erreur résiduelle. Le modèle quadratique a également été ajusté aux données en incluant le produit croisé de chaque variable dépendante. Toutes les variables jugées significatives ou en tendance ($P < 0,10$) ont été conservées et les interactions entre ces variables ont été testées.

La normalité des résidus a été vérifiée à l'aide du test de Shapiro-Wilk. Les valeurs aberrantes ont été identifiées d'abord sur la base des résidus, puis de la distance de Cook et de la méthode DFITS.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Effets des niveaux de phosphore phytique et non-phytique et du calcium sur le phosphore digestible

L'augmentation de l'apport de PP augmente le P digestible de façon linéaire ($P < 0,001$; Tableau 2), effet qui dépend du niveau de Ca (PP x Ca, $P < 0,001$) conformément à de précédents travaux (Tamim et al., 2004 ; McCuaig et al., 1972) dans lesquels on observait une formation de complexes Ca-PP et une diminution de l'activité de la phosphatase alcaline intestinale et de l'activité de la phytase intestinale résultant en une réduction de l'hydrolyse de PP à haut niveau de Ca. Le PP est partiellement digestible pour le poulet, et ce, d'autant plus que l'apport de Ca est faible ; pour un apport de 2,3 g/kg de PP la digestibilité de PP sera de 45% avec 6 g Ca/kg de Ca et de 23% avec 10 g Ca/kg. Ce résultat illustre la baisse de disponibilité de PP du fait de sa propension à former des complexes Ca-phytate non hydrolysables (Selle et al., 2009a). De plus, des niveaux élevés de Ca diminuent l'activité de la phytase endogène de la muqueuse intestinale des poulets de chair (Applegate et al., 2003).

La relation entre le P digestible et le PNP est linéaire ($P < 0,001$; Tableau 2). Cette relation linéaire montre que l'absorption intestinale de P provenant de PNP n'est pas limitée dans les plages de la base de données, possiblement car près de la moitié des traitements ne contenaient pas de phosphates. L'augmentation de l'apport de Ca diminue la digestibilité de PNP, et ce, d'autant plus que PNP est élevé (Ca, Ca x Ca, Ca x PNP, $P < 0,001$; Figure 1). Le Ca peut se lier aux molécules de P (Heaney et Nordin, 2002; Selle et al., 2009a) et l'insolubiliser limitant ainsi son absorption. Cependant, l'effet du Ca sur le P digestible est plus marqué à haut niveau de PNP alimentaire (Figure 1). Ce résultat s'expliquerait par le fait qu'une carence en P provoquerait des régulations qui se traduiraient par une capacité d'absorption de P accrue et donc une moindre susceptibilité à la formation de complexes phosphocalciques (Rousseau et al., 2016).

2.2. Effet de la phytase microbienne et de ses interactions sur le phosphore digestible

L'augmentation de l'apport de phytase augmente la digestibilité de P de façon linéaire et quadratique ($P < 0,001$). L'effet de la phytase ne dépend pas de la teneur en PNP confirmant que l'absorption n'est pas saturée. L'effet de la phytase dépend de la quantité de PP, son substrat (PP x Phyt, $P < 0,001$) ; plus il y a

de substrat plus la phytase apporte de P digestible. Cette relation est cependant dépendante de l'apport de Ca (Ca x PP x PhytM, $P < 0,001$), montrant que plus il y a du Ca et du PP dans l'aliment, plus l'effet de la phytase est élevé en raison d'une quantité plus élevée de substrat (PP soluble) pouvant être hydrolysé par l'enzyme. Dans des aliments riches en Ca et PP, la phytase apporte davantage de P digestible. Par exemple, l'ajout de 500 FTU/kg de phytase dans un aliment apportant 2,5 g PP et 10 g Ca/kg apportera 11% plus de P digestible comparativement à un aliment contenant 6 g Ca/kg. Dans des aliments sans phytase microbienne, le Ca réduirait le P digestible apporté par PP en raison d'une moindre efficacité de la phytase endogène. Le fait que l'effet soit inversé pour la phytase microbienne pourrait provenir d'une moindre production de phytase par la muqueuse proximale de l'intestin lorsque le Ca est élevé (Applegate et al., 2003) laissant ainsi davantage de substrat à hydrolyser pour la phytase microbienne.

2.3. Digestibilité iléale des différentes formes de P

L'objectif de ce travail était également d'estimer la digestibilité iléale des formes d'apports de P. Les résultats montrent une digestibilité élevée de toutes les formes de PNP avec le phosphate monocalcique et les farines de viande qui présentent les digestibilités les plus élevées (70 et 69% respectivement ; Tableau 3) suivis du PNP d'origine végétale (66%) et du phosphate bicalcique (55%). Cette hiérarchie est cohérente avec les valeurs biologiques relatives publiées pour les phosphates (Sauvant et al., 2004), mais il n'existe pas de données publiées pour celle du PNP végétal. Une approche similaire chez le porc montre également une digestibilité élevée de PNP végétal (Létourneau-Montminy et al., 2012).

CONCLUSION

Le présent travail permet d'estimer le P digestible chez le poulet de chair en prenant en considération différents facteurs de modulation tel que les différentes formes de P, le Ca total et la présence de phytase microbienne. Cette équation sera incluse dans un modèle mécaniste (Couture et al., 2019) du devenir de P alimentaire chez les poulets de chair permettant ainsi de prendre en compte les interactions digestives du Ca et du P, entre autres en formulation d'aliment sur le terrain.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdollahi M.R., Ravindran V., Svihus B., 2013. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (186), 193–203.
- Adedokun S.A., Sands J.S., Adeola O., 2004. *Can. J. Anim. Sci.*, (84), 437–444.
- Adeola O., Walk C.L., 2013. *Poult. Sci.*, (92), 2109–2117.
- AFZ, CEREOPA. 2013. Feedbase -Economic and technical feed data. www.feedbase.com
- Amerah, A.M., 2014. *Poult. Sci.*, (93), 906–915.
- Amerah A. M., Ravindran V., 2009. *Anim. Prod. Sci.* (49), 704–710.
- Applegate T. J., Angel R., Classen H.L., 2003. *Poult. Sci.*, (82), 1140–1148.
- Bahadoran R., Gheisari A., Toghyani M., 2011. *African J. Biotechnol.*, (10), 6655–6662.
- Bikker P., Spek J.W., Van Emous R.A., Van Krimpen M.M., 2016. *Br. Poult. Sci.*, (57), 810–817.
- Cordell D., Drangert J.O., White S., 2009. *Glob. Environ. Chang.*, (19), 292–305.
- Couture C., Méda B., Narcy A., Létourneau-Montminy M.-P., 2019. *Journées de la Recherche avicole et Palmipèdes à foie gras*, (13), sous presse.
- Cowieson A. J., Adeola O., 2005. *Poult. Sci.*, (84), 1860–1867.
- Dilger R. N., Adeola O., 2006. *Poult. Sci.*, (85), 661–668.
- Dilger R. N., Onyango E. M., Sands J. S., Adeola O., 2004. *Poult. Sci.*, (83), 962–970.
- Heaney R.P., Nordin B.E.C., 2002. *J. Am. Coll. Nutr.*, (21), 239–244.
- Igbasan F. A., Simon O., Miksch G., Manner K., 2001. *Arch. für Tierernaehrung*, (54), 117–126.
- INRA CIRAD AFZ, FAO. 2017. Feedipedia - Animal Feed Resources Information System. www.feedipedia.org
- Iyayi E. A., Fru-Nji F., Adeola O., 2013. *Poult. Sci.*, (92), 1595–1603.
- Khodambashi Emami N., Zafari Naeinib S., Ruiz-Feria C.A., 2013. *Livest. Sci.*, (157), 506–513.
- Kiarie E., Woyengo T., Nyachoti C.M., 2015. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.*, (28), 1479–1487.
- Létourneau-Montminy M.P., Jondreville C., Sauvant D., Narcy A., 2012. *Animal*, (6), 1590-1600.
- Leytem A. B., Widyaratne G.P., Thacker P.A., 2008. *Poult. Sci.*, (87), 2466–2476.
- Liu J. B., Chen D.W., Adeola O., 2013. *Poult. Sci.*, (92), 1572–1578.
- Liu N., Ru Y., Wang J., Xu T., 2010. *Br. J. Nutr.*, (103), 862–868.
- Lu H., Adedokun S.A., Preynat A., Legrand-Defretin V., Geraert P.A., Adeola O., Ajuwon K.M., 2013. *Can. J. Anim. Sci.*, (93), 243–249.
- Manobhavan M., Elangovan A.V., Sridhar M., Shet D., Ajith S., Pal D.T., Gowda N.K., 2016. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, (100), 93–100.
- Mccormick K., Walk C.L., Wyatt C.L., Adeola O., 2017. *Anim. Nutr.*, (3), 77–84.
- McCuaig L. W., Motzok I., 1972. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, (50), 1152-1156.
- Mutucumarana R. K., Ravindran V., Ravindran G., Cowieson A.J., 2014a. *J. Anim. Sci.*, (92), 5520–5529.
- Mutucumarana, R. K., 2014b. *Poult. Sci.*, (93), 412–419.
- Mutucumarana R. K., Ravindran V., Ravindran G., Cowieson A.J., 2014c. *J. Poult. Sci.*, (51), 392–401.
- Mutucumarana R. K., Ravindran V., Ravindran G., Cowieson A.J., 2015a. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (206), 76–86.
- Mutucumarana R. K., Ravindran V., Ravindran G., Cowieson A.J., 2015b. *Poult. Sci.*, (94), 1611–1618.
- Mutucumarana R. K., Ravindran V., 2016. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (219), 249–256.
- Naderinejad S., Zaefarian F., Abdollahi M.R., Hassanabadi A., Kermanshahi H., Ravindran V., 2016. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (215), 92–104
- Olukosi O. A., Cowieson A.J., Adeola O., 2007. *Poult. Sci.*, (86), 77–86.
- Olukosi O. A., Combémoré C., Kightley S., Wiseman J., Houdijka J.G.M., 2015. *Livest. Sci.*, (182), 8–10.
- Onyango E. M., Bedford M.R., Adeola O., 2005. *Poult. Sci.* (84), 248–255.
- Pereira L. F. P., Adeola O., 2016. *Poult. Sci.* (95), 2081–2089.
- Perryman K. R., Massey O'Neill H.V., Bedford M.R., Dozier III W.A., 2016. *Poult. Sci.* (95), 1077–1087.
- Perryman, K. R., Massey O'Neill H.V., Bedford M.R., Dozier III W.A., 2017. *Poult. Sci.* (96), 611–621.
- Powell S., Bidner T.D., Southern L.L., 2011. *Poult. Sci.*, (90), 604–608.
- Ravindran V., Cabahug S., Ravindran G., Selle P.H., Bryden W.L., 2000. *Br. Poult. Sci.*, (41), 193–200.
- Ravindran V., Morel P.C., Partridge G.G., Hruby M., Sands J.S., 2006. *Poult. Sci.*, (85), 82–89.
- Ravindran V., Wu Y.B., Hendriks W.H., 2004. *Arch. Anim. Nutr.* (58), 405–411.
- Rodehutsord M., 2013. *World's Poult. Sci. J.*, (69), 687–698.
- Rodehutsord M., Adeola O., Angel R., Bikker P., Delezie E., Dozier III W.A., Umar Faruk M., Francesch M., Kwakernaak C., Narcy A., Nyachoti C.M., Olukosi O.A., Preynat A., Renouf B., Saiz del Barrio A., Schedle K., Siegert W., Steinfeldt S., van Krimpen M.M., Waititu S.M., Witzig M., 2017. *Poult. Sci.* (96), 1679–1687.
- Rousseau X., Valable A.-S., Létourneau-Montminy M.-P., Mème N., Godet E., Magnin M., Nys Y., Duclos M.J., Narcy A., 2016. *Poult. Sci.*, (95), 2849–2860.
- Rutherford S. M., Chung T.K., Moughan P.J., 2002. *Br. Poult. Sci.*, (44), 598–606.
- Santos F. R., Hruby M., Pierson E.E.M., Remus J.C., Sakomura N.K., 2008. *J. Appl. Poult. Res.*, (17), 191–201.
- Sauvant D., Peres J.-M., Tran G., 2004. INRA, Association Française de Zootechnie, Paris, France, pp304.
- Sauvant D., Schmidely P., Daudin J.J., St-Pierre N.R., 2008. *Animal*, (2), 1203–1214.
- Schmeisser J., Séon A., Aureli R., Friedel A., Guggenbuhl P., Duval S., Cowieson A.J., Fru-Nji F., 2017. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.)*, (101), 563–575.

- Selle P.H., Cowieson A.J., Ravindran V., 2009a. *Livest. Sci.*, (124), 126–141.
- Selle P. H., Ravindran V., Partridge G.G., 2009b. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (153), 303–313.
- Shastak Y., Witzig M., Hartung K., Rodehutsord M., 2012. *Poult. Sci.*, (91), 2201–2209.
- Shastak Y., Zeller E., Witzig M., Schollenberger M., Rodehutsord M., 2014. *Poult. Sci.*, (93), 2548–2559.
- Tamim N.M., Angel R., Christman M., 2004. *Poult. Sci.*, (83), 1358–1367.
- Tancharoenrat, P., Ravindran V., 2014. *Poult. Sci.* (93), 1453–1462.
- Valaja J., Perttilä S., Partanen K., 2001. *Agric. Food Sci. Finl.*, (10), 19–26.
- Van Harn J, Spek J.W., van Vuure C.A., van Krimpen M.M., 2017. *Poult. Sci.*, (96), 1334–1340.
- Walk C. L., Addo-Chidie E.K., Bedford M.R., Adeola O., 2012a. *Poult. Sci.*, (91), 2255–2263.
- Walk C. L., Bedford M.R., McElroy A.P., 2012b. *Poult. Sci.*, (91), 1371–1378.
- Wilkinson S. J., Bradbury E.J., Thomson P.C., Bedford M.R., Cowieson A.J., 2014. *Animal*, (8), 1080–1088.
- Witzig M., Ingelmann C.J., Möhring J., Rodehutsord M., 2018. *Poult. Sci.*, (97), 910–919.
- Woyengo T. A., Emiola, A., Owusu-Asiedu A., Guenter W., Simmins P.H., Nyachoti C.M., 2010a. *Can. J. Anim. Sci.*, (90), 529–536.
- Woyengo T. A., Slominski B.A., Jones R.O., 2010b. *Poult. Sci.*, (89), 2221–2229.
- Woyengo T. A., Emiola, A., Owusu-Asiedu A., Guenter W., Simmins P.H., Nyachoti C.M., 2010c. *J. Poult. Sci.*, (47), 310–315.
- Wu Y. B., Ravindran V., Hendriks W.H., 2004. *J. Sci. Food Agric.*, (84), 1817–1822.
- Wu Y. B., Ravindran V., Hendriks W.H., 2003. *Br. Poult. Sci.*, (44), 710–718.
- Xue P. C., Ajuwon K.M., Adeola O., 2016. *Poult. Sci.*, (95), 2615–2623.
- Zaefarian F., Romero L.F., Ravindran V., 2013. *Br. Poult. Sci.*, (54), 653–660.

Tableau 1. Statistiques descriptives de la base de données^a

	<i>n</i>	Moyenne	Écart-type	Minimum	Maximum
Variable dépendante					
P digestible (g/kg)	480	2,49	0,99	0,12	5,37
Variables indépendantes					
Ca (g/kg)	480	6,77	3,23	0,30	14,90
P total (g/kg)	480	4,51	1,78	0,52	9,30
P phytique (g/kg)	480	1,96	0,80	0,00	3,72
P Non-Phytique (g/kg)	480	2,54	1,37	0,13	8,12
P Non-Phytique végétal (g/kg)	480	1,09	0,42	0,01	2,62
P Non-Phytique minéral (g/kg)	480	1,15	1,27	0,00	7,57
P Non-Phytique monocalcique (g/kg)	480	0,42	0,96	0,00	7,57
P Non-Phytique bicalcique (g/kg)	480	0,71	1,15	0,00	4,48
P Non-Phytique animal (g/kg)	480	0,30	0,87	0,00	5,15
Phytase Microbienne (FTU/kg)	116	731	268	213	1352

^a Les publications utilisées sont dans la liste de références

Tableau 2. Prédiction du P digestible en fonction de PNP (g/kg), PP (g/kg), PhytM (FTU/kg) et Ca (g/kg)

Paramètres du modèle	P digestible (g/kg)		
	Coefficient	Erreur type	P-value
Ordonnée à l'origine	-0,091	0,114	NS
Ca	-0,108	0,032	0,001
PP	0,783	0,069	< 0,001
PNP	0,928	0,066	< 0,001
PhytM ^a	1,732	0,388	< 0,001
Ca ²	0,013	0,003	< 0,001
PhytM ²	-0,638	0,158	< 0,001
Ca x PP	-0,056	0,010	< 0,001
Ca x PNP	-0,032	0,007	< 0,001
Ca x PhytM	-0,166	0,058	0,005
PP x PhytM	-0,364	0,161	0,02
Ca x PP x PhytM	0,088	0,024	< 0,001
R ²		0,94	
RMSE		0,260	

P = phosphore ; PNP = P non-phytique ; PP = P phytique ; PhytM = phytase microbienne ; Ca = calcium ; R² = coefficient de détermination ; RMSE = Root mean square error.

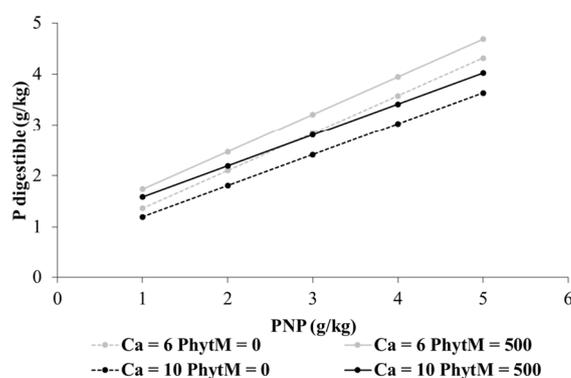
^a PhytM est exprimé en 1000 FTU/kg d'aliment ; FTU, unité phytasique

Tableau 3. Prédiction du P digestible en fonction des formes d'apports de phosphore

Paramètres du modèle	P digestible (g/kg)		
	Coefficient	Erreur type	P-value
Ordonnée à l'origine	0,157	0,114	NS
Ca	-0,0765	0,0114	<0,001
PP	0,534	0,0681	<0,001
P Non-Phytique végétal	0,655	0,128	<0,001
P Non-Phytique monocalcique (g/kg)	0,696	0,0288	<0,001
P Non-Phytique bicalcique (g/kg)	0,555	0,0282	<0,001
P Non-Phytique animal (g/kg)	0,694	0,0433	<0,001
R ²		0,94	
RMSE		0,271	

R² = coefficient de détermination ; RMSE = Root mean square error.

Figure 1. Phosphore digestible (g/kg) en fonction du P non-phytique (PNP, g/kg), de la phytase microbienne (PhytM, FTU/kg) et du calcium pour un apport de P phytique de 2 g/kg.



EFFET DE LA SUBSTITUTION TOTALE DU SOJA DANS UN ALIMENT A BAS TAUX PROTEIQUE CHEZ LE POULET DE CHAIR EN FINITION

Méda Bertrand¹, Tesseraud Sophie¹, Lambert William²,
Tormo Elodie³, Juin Hervé⁴, Lessire Michel¹

¹BOA, INRA, Université de Tours, 37380 NOUZILLY, France

²Ajinomoto Animal Nutrition Europe, 32 rue Guersant, 75017, PARIS, France

³Terres Univia, 11 rue de Monceau, 75008 PARIS, France

⁴EASM, INRA, 17700 SAINT-PIERRE D'AMILLY, France

bertrand.meda@inra.fr

RÉSUMÉ

Afin de contribuer à l'amélioration de l'autonomie protéique, l'effet d'une substitution totale du tourteau de soja dans un régime à bas niveau protéique a été étudié. 1104 poulets Ross PM3 mâles âgés de 21j ont été répartis dans 24 parquets de 3 m² et nourris jusqu'à 35j d'âge avec l'un des 3 aliments expérimentaux (8 parquets/régime). Les aliments, contenant 3150 kcal/kg et 10g/kg de lysine digestible, ont été formulés avec le même profil de protéine idéale. Ils différaient par le niveau protéique (R1 : 18,8% vs. R2-R3 : 16,5%) et l'incorporation ou non de tourteau de soja R1-R2 vs. R3). Dans le régime R3, le tourteau de soja a été remplacé par de la féverole dépelliculée et des tourteaux de colza et tournesol HiPro français. A 35j, aucune différence significative de poids vif n'a été observée mais un indice de consommation significativement supérieur a été observé pour les régimes R2 et R3. Aucune différence significative de rendement en filet n'a été observée entre les régimes R1 et R2 alors que ce rendement était significativement inférieur dans le régime R3. La réduction du taux protéique (R2, R3) s'est également accompagnée d'une augmentation significative de l'engraissement de la carcasse. Le pH ultime du filet dans les régimes R2 et R3 était identique mais significativement plus faible que dans le régime R1 ce qui a induit des pertes en eau lors du ressuyage plus élevées dans ces deux régimes. Il est donc possible de remplacer totalement le tourteau de soja importé dans des aliments à bas taux protéique chez le poulet de chair en finition sans effet négatif sur la croissance, malgré un effet sur la consommation.

ABSTRACT

Effect of total substitution of soybean meal in a low-protein diet fed to finishing broilers

In order to further improve protein self-sufficiency of broiler supply chains, the effect of a total substitution of soybean meal in a low-protein diet has been studied. 1104 Ross PM3 male chickens were distributed in 24 pens of 3 m² and fed with one of the 3 experimental diets (8 pens/diet) between 21 and 35d of age. Metabolizable energy and digestible lysine levels in the diets were 3150 kcal/kg and 10g/kg respectively. Diets were formulated with the same ideal protein profile. They differed by the protein level (D1: 18.8% vs. D2-D3: 16.5%) and the incorporation soybean meal (D1-D2) or not (D3). In the D3 diet, soybean meal was replaced by dehulled beans, French sunflower (HiPro) and rapeseed meals. At 35d, no significant difference in body weight was observed but a significantly higher feed conversion ratio was observed for the D2 and D3 diets. No significant difference in breast meat yield was observed between the D1 and D2 diets while it was significantly lower in the D3 diet. The reduction in dietary protein (D2, D3) significantly increased in carcass fattening. Regarding the quality of the meat, the ultimate pH of breast meat in the D2 and D3 diets was the same but significantly lower than in the D1 diet, which led to higher water losses storage and cooking. It is therefore possible to fully replace imported soybean meal in low-protein in diets fed to finishing broilers with no negative effect on growth performance, despite a significant increase in feed intake.

INTRODUCTION

La réduction de la teneur en matières azotées totales (MAT) des aliments pour poulet de chair est un enjeu majeur pour la durabilité de la filière avicole tant aux niveaux économiques, environnementaux que sociaux (Recoules *et al.*, 2016). Alors que de nombreux travaux depuis les années 1990 montraient que la baisse de la teneur en MAT s'accompagne généralement d'une dégradation des performances de croissance (Pesti, 2009), les travaux récents de Belloir *et al.* (2018) ont montré que l'utilisation d'un profil adéquat en acides aminés digestibles (exprimés en % de la lysine digestible) lors de la formulation des aliments, permettait de réduire la teneur en MAT chez le poulet de chair en finition de 2 à 3 points sans effet négatif sur les performances de croissance ou sur différents paramètres de qualité de la viande du filet.

Sur le plan environnemental, ces travaux et ceux de Cirot *et al.* (2018) ont confirmé l'intérêt d'une baisse de la teneur en MAT à l'échelle du bâtiment d'élevage, avec une excrétion azotée réduite et des litières plus sèches et moins riches en azote, conduisant à une réduction de la volatilisation d'ammoniac. Par ailleurs, les résultats d'analyses du cycle de vie (ACV) réalisés par Méda *et al.* (2017) sur la base des résultats de Belloir *et al.* (2018), ont montré que la réduction de la teneur en MAT permettait également de réduire de façon substantielle les impacts ACV Changement climatique, Eutrophisation et Acidification (exprimés par kg de poulet vif en sortie de ferme).

Toutefois, dans ces travaux, le tourteau de soja était encore utilisé dans les aliments à basse teneur en MAT. L'objectif de cette étude était donc d'évaluer l'effet d'une substitution totale du tourteau de soja dans un aliment finition à teneur réduite en MAT sur i) les performances zootechniques et ii) la qualité des carcasses et de la viande.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et design expérimental

2155 poussins mâles Ross PM3 ont été élevés au sol en groupe de 0 à 21 j d'âge. Tous les poulets ont été nourris *ad libitum* avec les mêmes aliments Démarrage (0-8 j) et Croissance (8-21 j). A 21 j, les animaux ont été pesés individuellement puis 1104 d'entre eux (46 animaux/parquet) ont été sélectionnés pour avoir des lots de poulets de poids homogène (poids moyen : 1039 g). Ils ont ensuite été répartis dans 24 parquets de 3 m² (8 parquets de 38 animaux /parquet) et élevés sur copeaux (10 kg/parquet) jusqu'à 35 j d'âge.

1.2. Aliments expérimentaux

Entre 21 et 35 j d'âge, les animaux ont reçu l'un des trois régimes expérimentaux (granulés) dont les compositions en matières premières et les caractéristiques nutritionnelles sont respectivement

données dans les Tableaux 1 et 2. Ces aliments ont été formulés par programmation linéaire pour être iso-énergie (3150 kcal/kg) et contenir 10 g/kg de lysine digestible (Tableau 2). Pour ces trois régimes, un profil en acides aminés (protéine idéale) avec des ratios minimum d'acides aminés digestibles (en % de la lysine digestible) devant être respectés lors de la formulation. Ce profil est décrit dans le Tableau 2. Pour les matières azotées totales (MAT), deux niveaux de MAT ont été testés (R1 : 18,8% vs. R2 et R3 : 16,5% ; Tableau 2) avec incorporation (R1 et R2) ou non (R3) de tourteau de soja (Tableau 1). Entre les régimes R1 et R2, la quantité de tourteau de soja a été réduite de 41% environ, avec une augmentation de 23% de l'incorporation de maïs. Dans le régime R3, le tourteau de soja restant a été remplacé par de la féverole dépelliculée, et des tourteaux de tournesol HiPro et de colza. Ce remplacement s'est accompagné d'une réduction de l'incorporation de maïs. Enfin, pour satisfaire les contraintes du profil en acides aminés, les quantités d'acides aminés libres incorporées dans les régimes R2 et R3 ont été multipliées par 4 par rapport au régime « témoin » R1 (Tableau 1).

1.3. Performances et critères de qualité de la viande

Pour chaque parquet, le poids vif moyen à 35 j a été mesuré ainsi que la consommation totale et le gain de poids total sur la période expérimentale. L'indice de consommation de la période expérimentale (J21-J35) par parquet ainsi qu'un indice de consommation global J0-J35 considérant la consommation moyenne sur la phase J0-J21 (1177 g/animal) ont également été calculés. Pour chaque régime, 32 animaux (4 par parquet) ont été prélevés et abattus. Les carcasses ont été effilées puis stockées en chambre de ressuage une nuit à +2°C. Le lendemain, elles ont été pesées puis découpées afin de déterminer le rendement en filets ((*Pectoralis major* + *minor*) x 2, en %) et l'engraissement de la carcasse (% de gras abdominal).

Sur le muscle *Pectoralis major* droit, le pH ultime (pHu) de la viande ainsi que sa luminance (L*) ont été mesurés selon la procédure décrite par Berri *et al.* (2007). Les muscles ont ensuite été placés dans des sacs plastiques zippés puis mis à ressuyer à +2°C pendant 4 jours. Les pertes par exsudation ont été déterminées par différence entre le poids avant et après ressuyage et exprimées en % du poids initial. Les filets ont ensuite été parés à un poids d'environ 200 g, emballés sous vide dans un sac plastique, congelés (stockage à -20°C) puis cuits au bain-marie à 80°C pendant 15 min. Les pertes après cuisson ont ensuite été calculées par différence entre le poids avant et après décongélation-cuisson (et exprimées en % du poids avant décongélation-cuisson). Enfin, la valeur moyenne de la résistance à la force de compression-cisailles de Warner-Bratzler a été déterminée à partir de 3 échantillons (1 x 1 x 3 cm) prélevés sur chaque muscle cuit (Honikel, 1998).

1.4. Analyses statistiques

Les données de performances, de rendements et de qualité de viande ont été analysées par ANOVA au seuil de significativité de 5% à l'aide du logiciel R. Pour les performances de croissance, de consommation et d'indice de consommation, l'unité expérimentale était le parquet (n=8 parquet/régime), tandis que pour les rendements et les critères de qualité de la viande, l'unité expérimentale était l'animal (n=32 animaux/régime).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances zootechniques

A 35 j, aucune différence significative de poids vif ou de gain de poids n'a été observée entre les régimes (Tableau 3). Ces résultats confirment les résultats de Belloir *et al.* (2018) qui avaient déjà montré qu'un maintien des performances de croissance était possible avec un aliment à bas taux protéique, en ajustant le profil en acides aminés digestibles de la ration. L'utilisation de ce même ratio a par ailleurs permis ici de substituer totalement le tourteau de soja par d'autres matières premières riches en protéines (Tableau 1), en conservant le même gain de poids. Toutefois, il est important de rappeler que certains des acides aminés libres utilisés ici ne sont pas encore autorisés en alimentation animale, et que cette stratégie nutritionnelle n'est pas, pour le moment, applicable sur le terrain.

Par ailleurs, des différences de consommation d'aliment ont été observées ($P < 0,05$). Ainsi, la consommation moyenne par animal du régime R2 était supérieure à celle du régime R1 (+95 g) mais aucune différence entre les régimes R1 vs. R3 et R2 vs. R3 n'a été observée (Tableau 3). Il est cependant difficile de proposer une hypothèse pour expliquer ces résultats. L'indice de consommation était également significativement plus élevé ($P < 0,01$) dans les régimes à bas taux protéique R2 et R3 par rapport au régime « témoin » R1 sur la période J21-J35 et au global sur la période J0-J35 (+4 et +2% respectivement ; Tableau 3).

2.2. Qualité de la carcasse et de la viande

La suppression du tourteau de soja dans le régime R3 a conduit à une réduction significative du rendement filet ($P < 0,01$; Tableau 3) comparativement aux régimes R1 et R2, tandis qu'un engraissement significativement supérieur dans les régimes à bas niveau de MAT (R2 et R3) a été observé, en accord avec la littérature (Belloir *et al.*, 2018). Concernant le pH ultime de la viande, il était significativement inférieur dans les régimes à bas niveau de MAT ($P < 0,001$; Tableau 3). Ce résultat va à l'inverse de ceux obtenus par Belloir *et al.* (2018) sans que nous ne puissions l'expliquer. Toutefois, il est important de noter que les pH ultimes observés dans cette étude sont dans une plage (5,7 – 6,1) acceptable et adaptée à

la conservation et à la transformation de la viande de filet (Tesseraud *et al.*, 2014).

La baisse du pH ultime de la viande de filet dans les régimes R2 et R3 s'est accompagnée d'une augmentation de différents critères de qualité de la viande tels que la luminance (L^*) et les pertes en eau (Tableau 3). Ces variations sont logiques étant données que ces paramètres sont fortement corrélés négativement au pH ultime (Berri *et al.*, 2008).

CONCLUSIONS

L'objectif de cet essai était de démontrer l'intérêt d'une substitution totale du tourteau de soja dans l'aliment finition à bas taux protéique chez le poulet de chair à croissance rapide. Cette substitution à bas taux protéique par des matières premières métropolitaines a permis de maintenir la croissance des animaux et une bonne qualité de viande de filet. Il a toutefois été observé une augmentation de la consommation ainsi qu'une diminution du rendement filet suite à la substitution totale du tourteau de soja. Cette étude confirme donc la faisabilité technique d'une alimentation sans soja en poulet de chair à croissance rapide, en s'appuyant sur une baisse de protéines. Une telle stratégie représente une alternative supplémentaire pour les filières désirant répondre aux attentes des consommateurs en quête de produits animaux nourris sans OGM et/ou avec des matières premières locales. En effet, il semble par exemple exister un réel consentement à payer pour des produits alimentaires non OGM (Carlsson *et al.*, 2004). Toutefois, le remplacement du tourteau de soja importé pose la question de la disponibilité en volumes des matières premières métropolitaines. Enfin, cette étude devra être complétée par une évaluation économique (coût d'aliment et coût de production du filet) et environnementale (quantité et qualité de la litière, Analyse du Cycle de Vie à l'échelle du système) pour réellement rendre compte de son potentiel dans un contexte d'amélioration de la durabilité des systèmes d'élevage avicole.

REMERCIEMENTS

Cette étude a été réalisée avec le soutien financier d'Ajinomoto Animal Nutrition Europe et de Terres Univia, l'interprofession des huiles et protéines végétales. Les auteurs remercient également les personnels du laboratoire d'analyses d'Ajinomoto Animal Nutrition Europe, de l'Unité Expérimentale EASM et de l'UMR BOA.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Belloir P., Méda B., Lessire M., Juin H., Corrent E., Lambert W., Tesseraud S., 2018. *Animal*, (11), 1881-1889.
- Berri C., Besnard J., Relandeau C., 2008. *Poult. Sci*, (87), 480-484.
- Carlsson F., Frykblom P., Lagerkvist C-J., 2004. *Working Papers in Economics*, (129), 16 p.
- Cirot O., Lambert W., Létourneau-Montminy M.P., 2018. *Proc. of the 15th Europ. Poult. Conf.*, pp. 45.
- Francesch M., Brufau J. 2004. *World Poultry Sci. J.*, (60), 64-75.
- Honickel K.O., 1998. *Meat Sci.*, (49), 447-457.
- Méda B., Belloir P., Lessire M., Juin H., Corrent E., Lambert W., Tesseraud S., 2017. 12^{èmes} JRA-PFG, 356-360.
- Pesti G.M., 2009. *J. Appl. Poult. Res.*, (18), 477-486.
- Recoules E., Brévault N., Le Cadre P., Peyronnet C., Bouvarel I., Lessire M., 2016. *INRA Prod. Anim.*, (29), 129-140.
- Sauvant D., Perez J.M., Tran G., 2004. *Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. 2^{nde} édition*, INRA ed., Paris, 301 p.
- Tesseraud S., Bouvarel I., Fraysse P., Métayer-Coustard S., Collin A., Lessire M., Berri C., 2014. *INRA Prod. Anim.*, (27), 337-346.

Tableau 1. Composition en matières premières (g/kg) des trois régimes expérimentaux.

	R1	R2	R3
Maïs	501.5	615.1	480.3
Blé	150.0	150.0	150.0
Huile colza	44.4	26.1	46.0
Tourteau de soja	269.7	157.3	
Féverole dépelliculée			150.0
Tourteau de tournesol HiPro			73.1
Tourteau de colza			50.0
Minéraux	22.6	23.7	22.7
Premix+enzymes	6.0	6.0	6.0
Anticoccidien	0.5	0.5	0.5
Total Acides aminés libres dont	5.3	21.3	21.4
DL-Méthionine	2.3	3.2	3.3
L-Lysine-HCL	2.2	5.6	6.1
L-Thréonine	0.7	2.2	2.3
L-Valine	0.2	2.0	2.1
L-Tryptophane		0.3	0.5
L-Arginine		3.8	2.4
Glycine		2.8	3.0
L-Isoleucine		1.4	1.8

Tableau 2. Profil de la protéine idéale utilisé (exprimé en % de la lysine digestible) lors de la formulation et caractéristiques nutritionnelles (g/kg) des régimes expérimentaux (valeurs calculées).

	Profil protéine idéale	R1	R2	R3
Energie métabolisable (kcal/kg)		3150	3150	3150
Matières azotées totales		188	165	165
Calcium total		8,5	8,5	8,5
Phosphore disponible		3,5	3,5	3,5
Acides aminés digestibles ^{1,2}				
Lysine	100	10,0	10,0	10,0
Méthionine		4,8	5,2	5,3
Méthionine+Cystéine	75	7,5	7,5	7,5
Thréonine	67	6,7	6,7	6,7
Tryptophane	17	2,0 (20)	1,7	1,7
Leucine	105	14,0 (140)	11,5 (115)	10,6 (106)
Isoleucine	67	7,1 (71)	6,7	6,7
Valine	80	8,0	8,0	8,0
Arginine	105	10,5	10,5	10,5
Glycine+Sérine	140	14,7 (147)	14,0	14,0

¹ Les teneurs en acides aminés (AA) digestibles ont été calculées à partir des teneurs totales en AA dans les matières premières (analyses chimiques) multipliées les coefficients de digestibilité proposées par Sauvante *et al.* (2004).

² Les valeurs entre parenthèses correspondent aux ratios AA digestibles:Lys digestible qui diffèrent du profil de protéine idéale utilisée lors de la formulation.

Tableau 3. Performances zootechniques, qualité de la carcasse et de la viande du filet des animaux des animaux ayant reçu l'un des trois régimes expérimentaux entre 21 et 35 jours d'âge.

	R1	R2	R3	SEM	P-value
Performances ¹					
Poids vif à 35 j (g)	2413	2430	2383	9,2	0,09
Gain de poids 21-35 j (g)	1372	1390	1346	9,0	0,12
Consommation (g)	2114b	2209a	2158ab	14,5	*
Indice de consommation 21-35 j	1,541b	1,600a	1,602a	0,009	**
Indice de consommation 0-35 j	1,391b	1,420a	1,425a	0,005	**
Rendements					
Filet (% du poids vif)	22,3a	22,8a	21,6b	0,150	**
Gras abdominal (% du poids vif)	1,69b	1,98a	1,91a	0,038	**
Qualité de la viande ²					
pH ultime	5,87a	5,80b	5,78b	0,010	***
Luminance (L*)	50,5b	52,8a	52,7a	0,240	***
Exsudat (% du poids de filet)	3,7b	4,8a	4,3ab	0,175	*
Pertes à la décongélation/ cuisson (% du poids de filet ressuyé)	13,0b	14,7a	13,1b	0,209	**
Pertes totales (% du poids de filet) ²	16,8b	19,5a	17,4b	0,340	**
Force de cisaillement (N/cm ²)	14,2b	17,1a	15,0b	0,351	**

SEM = standard error of the mean. * P<0,05 ; ** P<0,01 ; *** P<0,001

¹ Un parquet a été retiré de l'analyse statistique en raison de performances anormalement faibles après un problème au niveau des abreuvoirs.

² Pertes au stockage (exsudat) et à la décongélation/cuisson.

**EFFET D'UN ALIMENT COMMERCIAL SUR LES PARAMETRES SANGUINS ET
LA QUALITE NUTRITIONNELLE DES CUISSES DES POULETS DE CHAIR
(GALLUS GALLUS - COBBS 500)**

**Kouakou N'Goran David Vincent¹, Angbo-Kouakou Cho Euphrasie Monique¹, Koné
Gningnini Alain¹, Fossou Assamala Françoise² et Amoikon Kouakou Ernest²**

¹*Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny, B.P 1093 Yamoussoukro, Côte
d'Ivoire,*

²*Université Félix Houphouët-Boigny, B.P 582 Abidjan 22, Côte d'Ivoire,*

david.kouakou@inphb.ci

RÉSUMÉ

Produit de luxe en Côte d'Ivoire, le poulet de chair y est nourri selon un modèle basé essentiellement sur l'association du maïs produit localement et des concentrés protéiques importés. Dans le but d'étudier l'impact de cet aliment sur les paramètres biochimiques du sang, sur la teneur en cholestérol et le profil en acides gras des cuisses, 60 poulets de chair de la souche Cobb 500, âgés de 15 jours, ont été répartis en six lots. Ils ont reçu durant 15 jours d'adaptation, un régime contrôle (RC) constitué à 100% d'un aliment commercial de poulet de chair. Puis, durant 15 jours supplémentaires, ils ont reçu RC, ou un régime constitué de 96% de RC, 1% de son de blé et 3% de graines brutes de *Euphorbia heterophylla* (RE3), ou un régime constitué de 96% de RC et de 4% du complément alimentaire commercial extrudé « Tradi-Méga » à base de graines de lin (*Linum usitatissimum*) et de son de blé (RL4). La comparaison des moyennes a été effectuée grâce au test de Student-Newman-Keuls au seuil de signification de 5%. La teneur en cholestérol total des cuisses des poulets nourris avec RC était de 137 mg/100 g. Les teneurs du cholestérol total et du cholestérol LDL plasmatiques étaient significativement supérieures de 15% et 28% chez les volailles soumis à RC (P<0,05). L'ingestion des régimes supplémentés en acides gras polyinsaturés (AGPI) oméga 3 (RE3 et RL4) ont induit une baisse significative de 30% du cholestérol total des hauts de cuisses (P<0,05) et un enrichissement significatif de l'ensemble des AGPI oméga 3 respectivement de 22% et de 78% par rapport au régime RC (P<0,05). L'alimentation des poulets de chair dans les fermes ivoiriennes devrait être plus équilibrée en AGPI oméga 3 afin que cette importante source de protéine animale ne constitue pas un facteur de risque supplémentaire de maladies cardiovasculaires.

ABSTRACT

Effects of feed on blood parameters and nutritional thighs quality of broilers (*Gallus gallus* - Cobbs 500)

Luxury product in Côte d'Ivoire, the chicken is fed on a model based mainly on the combination of local corn and imported protein concentrates. In order to study the impact of this diet on the biochemical parameters of the blood and the cholesterol content of the thighs, 60 chickens Cobb 500 at 15 days of age, are divided into six batches. They received for 15 days of adaptation, a control diet (RC) made of 100% of a broiler commercial. Then, for an additional 15 days, they received RC, or a diet consisting of 96% RC, 1% wheat bran and 3% *Euphorbia heterophylla* seeds (RE) or a diet consisting of 96% RC and 4% of feed supplement extruded « Tradi-Méga » based on linseed (*Linum usitatissimum*) and wheat bran (RL4). The comparison of averages was performed using the Student-Newman-Keuls test at the 5% significance level. The cholesterol content of the thighs from RC group was 137 mg/100 g. Total blood cholesterol and LDL cholesterol content were increased of 15% and 28% in chickens receiving RC (P<0.05). Ingestion of feed enriched with polyunsaturated fatty acid (PUFA) omega 3 (RL4 and RE3) induced significant reduction of 30% in cholesterol content of the thighs (P<0.05) and significant enrichment of total PUFA omega 3 respectively of 22% and 78% compared to RC diet (P<0.05). Feeding broilers on Ivorian farms should be more balanced in PUFA omega 3 so that this important source of animal protein should not be an additional risk factor for cardiovascular disease.

INTRODUCTION

En Côte d'Ivoire, la consommation moyenne annuelle de volaille est d'environ de 3,3 kg, quand un Français en mange 28 kg et que la moyenne mondiale est de 14 kg. Produit de luxe en Côte d'Ivoire, le poulet de chair y est fortement consommé les week-ends, durant les repas professionnels, les cérémonies communautaires et religieuses, et surtout durant les fêtes de fin d'année (Noël et nouvel an). Leurs prix varient en fonction de la période de l'année, de la région de production et du prix de l'aliment qui représente environ 70% des coûts de production. Aujourd'hui, ces volailles sont nourries selon un modèle basé essentiellement sur la combinaison de 60 à 65 % du maïs produit localement et des concentrés/complémentaires protéiques (30 à 35%) importés. S'il est vrai que l'utilisation de ces nouveaux aliments contribue significativement au développement de la filière avicole ivoirienne, il importe d'étudier l'impact de la qualité de ces aliments sur les paramètres biochimiques sanguins et la qualité nutritionnelle des cuisses de poulets de chair (Cobb 500), partie noble dans le pays. A cet effet, un aliment commercial a été suppléché ou non par des graines brutes d'euphorbe (*Euphorbia heterophylla*) ou par un complément alimentaire commercial « Tradi-Méga » à base de graines de lin (*Linum usitatissimum*) et de son de blé, le tout extrudé, puis distribués aux poulets de chair durant la phase de finition au laboratoire de Zootechnie de l'Institut National Polytechnique Félix Houphouët-Boigny (INP-HB) de Yamoussoukro. L'euphorbe est un adventice herbacé des régions tropicales quand le lin est une plante herbacée cultivée des régions tempérées, toutes des sources naturelles d'enrichissement en acide α -linoléique (ALA, C18:3 n-3).

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositif expérimental et conduite de l'essai

Au total, 60 poulets de chair de souche (Cobb 500), de 15 jours d'âge ayant un poids vif moyen de 450 ± 63 g, ont été répartis en trois groupes de 20 animaux et élevés conformément aux normes de bonnes pratiques en expérimentation animale. Le premier groupe a reçu l'aliment commercial de poulets de chair en croissance (100%, régime contrôle (RC)). Le deuxième groupe a reçu un régime constitué de 96% du régime contrôle (RC), de 3% de graines brutes d'euphorbe et de 1% de son de blé (RE3). Quant au troisième groupe, il a reçu un régime composé de 96% du régime contrôle (RC) et de 4% du complément alimentaire commercial « Tradi-Méga » (RL4) (tableau 1). L'essai a duré 30 jours répartis en deux phases. La première phase dite d'adaptation des animaux aux conditions d'élevage a duré 15 jours. Au cours de cette phase, toutes les

volailles ont été soumises à l'aliment commercial (RC). La seconde phase dite expérimentale a duré 15 jours et a débuté par le réajustement pondéral des différents lots avant l'attribution aléatoire des trois régimes aux cages. Durant l'essai, l'eau a été servie à volonté, les aliments ingérés ont été quantifiés et les mesures de prophylaxie sanitaire ont été respectées. A 45 jours d'âge, après une mise à jeun d'environ 10 h, les cinq plus lourds poulets de chaque cage et par régime ont été étourdis avant d'être saignés à la carotide.

Après coagulation et centrifugation, le sérum frais obtenu a été utilisé pour le dosage du cholestérol total, cholestérol-HDL triglycérides à l'aide d'un spectrophotomètre UV total (Friedwald et al., 1972). Après la pesée des découpes des poulets de chair, les teneurs en lipides et en cholestérol des muscles des hauts des cuisses ont été déterminées par régime alimentaire selon respectivement la méthode de Folch *et al.* (1957) et à l'aide d'un kit enzymatique de cholestérol (CYPRESS DIAGNOSTICS Code HB006 Cholestérol Test enzymatique-colorimétrique, CHOD-POD). Les profils en acides gras (AG) des échantillons musculaires ont été déterminés selon la technique de Morrison et Smith (1964) par chromatographie en phase gazeuse au Laboratoire de Biochimie-Nutrition Humaine de Agrocampus Ouest à Rennes, France.

1.2. Analyses statistiques

Les valeurs moyennes des paramètres étudiés ont été soumises à une analyse de variance à un facteur (ANOVA) au seuil de signification de 5% à l'aide du logiciel R 3.3.3. L'effet fixe était le régime.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Au cours de l'essai, les animaux n'ont présenté aucun trouble de santé et aucun cas de mortalité n'a été enregistré.

2.1. Paramètres d'ingestion, de croissance et d'indice de consommation

Durant l'essai, aucun effet significatif des régimes n'a été observée sur les valeurs moyennes d'ingestion, les paramètres de croissance, l'indice de consommation et sur la teneur en lipides brutes des muscles du haut des cuisses ($P > 0,05$) (tableau 2). L'absence d'effet notable sur ces paramètres, s'expliquerait par le fait que la nature des lipides ingérés n'avait pas ou très peu d'effet sur les performances de croissance (Bouvarel et al. 2003).

2.2. Teneur en cholestérol du sang et du muscle des hauts de cuisses

Après 15 jours de distribution des régimes enrichis en AGPI oméga 3, des réductions significatives de 15%, 28% et de 30% des teneurs du cholestérol total du sang, du cholestérol LDL plasmatiques et du

cholestérol total des hauts de cuisses des volailles respectivement, ont été enregistrées par rapport aux poulets soumis au régime RC ($P < 0,05$) (Tableau 2). En effet, les régimes riches en AGPI oméga 3 répriment la transcription des gènes lipogéniques en supprimant la transcription du gène *Sterol Response Element Binding Proteins* (SREBP-1) ou en réduisant la maturation de la protéine SREBP-1 (Xu et al., 1999). Cette suppression de l'expression du SREBP-1 conduit d'une part, à une diminution de la lipogenèse et de la sécrétion des VLDL qui sont les principaux transporteurs du cholestérol sanguin, et d'autre part, à une réduction des triglycérides et des esters de cholestérol dans le plasma, le foie et le muscle (Xu et al., 1999). Par ailleurs, les AGPI oméga-3 permettent une augmentation du transport inverse du cholestérol vers le foie qui sera converti en acides biliaires (Fernandez et West, 2005) et une réduction de l'activité de la 3-hydroxy-3-méthylglutaryl CoA réductase, enzyme limitante de la synthèse du cholestérol (Choi et al., 1989 ; Field et al., 1987) réduisant ainsi la synthèse du cholestérol. En effet, An & Kang (1999) ont aussi réussi à réduire le taux de cholestérol du sérum des poules pondeuses alimentées avec des régimes supplémentés avec des AGPI (Crespo & Esteve-Garcia, 2003 ; Scheideler & Froning, 1996).

2.3. Profils en acides gras des muscles des hauts de cuisses

L'apport des graines d'euphorbe n'a pas modifié les teneurs des AG saturés et des AG monoinsaturés ($P > 0,05$) des échantillons de muscles des hauts des cuisses (Tableau 2). A contrario, ces derniers ont connu un enrichissement significatif de l'ensemble des AG polyinsaturés (AGPI) n-3 de 22% et de 78% suite à l'ingestion RE3 et de RL4 respectivement par rapport au régime RC et une baisse des AGPI n-6 quelle que soit la source d'enrichissement utilisée ($P < 0,05$). Le ratio n-3/n-6 des échantillons était meilleur avec l'incorporation des sources d'enrichissement notamment « Tradi-Méga » qui a induit de meilleurs résultats ($P < 0,05$). Les teneurs en ALA ont augmenté de 35% et de 100% par l'apport respectif des graines d'euphorbe et du « Tradi-Méga » en comparaison au régime RC. Les AG EPA et DHA n'ont pas été impactés par les différentes sources d'enrichissement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- An B. K., Kang C.W., 1999. Korean J. Anim. Sci., (41), 293-310.
 Benatmane F., Kouba M., Youyou A., Mourot J., 2011. Animal, (5), 1993-2000.
 Bouvarel I., Juin H., Lessire M., Judde A., Evrard J., Corniaux A., Brevault N., 2003. 5e Journées de la Recherche Avicole, Tours, 26 et 27 mars 2003.
 Choi Y. S., Goto S., Ikeda I., Sugano M., 1989. Lipids, (24), 45-50.
 Crespo N., Esteve-Garcia E., 2003. Poult. Sci., (82), 1134-1139.
 Fernandez M L, West K L, 2005. J. Nutr., (135), 2075-2078.
 Field F. J., Albright E. J., Mathur S. N., 1987. J. Lipid Res., (28), 50-58.
 Folch J., Lees M. & Sloane-Stanley G.H. (1957). J. Biol. Chem., (226), 497-509.
 Friedewald W T, Levy R I, Fredrickson D S., 1972. Clin. Chem., (18), 499-502.

Nos résultats sont conformes à ceux de plusieurs auteurs qui ont mis en évidence la corrélation positive entre la nature des AG alimentaires notamment pour les AGPI et celles des AG déposés dans les tissus adipeux et musculaires des poulets (Bouvarel et al., 2003). Nos résultats confirment les résultats de Benatmane (2012) qui a enregistré une multiplication de 2,6 de la teneur en ALA de la cuisse des poulets de chair ayant reçu des graines de lin extrudées par rapport au régime témoin. Les résultats plus faibles du régime RE3 pourraient s'expliquer, d'une part, par la moindre teneur en ALA et d'autre part en raison d'une biodisponibilité réduite de cet AG du fait de la présence de certains facteurs antinutritionnels présents dans les graines brutes.

Nos résultats confirment l'intérêt nutritionnel de la supplémentation en graines d'euphorbe dans les régimes des poulets de chair dans le but d'améliorer la qualité nutritionnelle de leurs muscles à l'instar du complément alimentaire commercial « Tradi-Méga ».

CONCLUSION

Cette étude montre que l'incorporation des graines d'euphorbe ou du complément alimentaire commercial « Tradi-Méga » dans l'alimentation des poulets de chair, serait un moyen simple d'améliorer la qualité nutritionnelle des hauts des cuisses de poulet de chair suite à la réduction de la teneur en cholestérol total et à l'enrichissement en AGPI n-3. Aussi, l'alimentation des poulets de chair dans les fermes ivoiriennes devrait être plus équilibrée afin que cette source de protéine animale tant prisée par les populations ivoiriennes ne constitue pas un facteur de risque supplémentaire de maladies cardiovasculaires.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient les Professeurs Maryline Kouba, Philippe Legrand et Pierre Weill, les Docteurs Mathieu Guillevic, Daniel Catheline pour leurs contributions scientifiques, techniques et financières et les Directions Générales de l'INP-HB et de Agrocampus Ouest pour leurs contributions institutionnelles.

Morrison W.R., Smith L.M., 1964. Lipid Res., 5 (4), 600-608.
 Scheideler S. E., Froning G.W., 1996. Poult. Sci., (75), 1221-1226.
 Xu J., Nakamura M. T., Cho H. P., Clark S. D., 1999. J. Biol. Chem., (274), 23577-23583.

Tableau 1. Formules alimentaires et composition chimique des aliments utilisés au cours de l'essai

Ingrédients (%)	Régimes alimentaires		
	RC	RL4	RE3
Aliment commercial	100 %	96 %	96 %
<i>Euphorbia heterophylla</i> (graine brute)	-	-	3 %
Tradi-Méga (Complément alimentaire à base de graines de lin et de son de blé extrudée)	-	4%	-
Son de blé		-	1%
Composition chimique (% MS)			
Matière minérale	5,3±0,5	5,7±0,1	5,5±0,2
Matière cellulosique brute	4,2±1,6	5,6±0,6	5,8±2,0
Matière azotée totale	3,1±0,0	3,16±0,1	3,1±0,1
Matière grasse	7,75±0,3	8±0,3	8,5±0,7
Énergies métabolisables (Mj.kg ⁻¹ MS)	3,8±0,1	3,7±0,1	3,7±0,1
Matière protéique brute	19,4±0,2	19,8±0,3	19,6±0,3
Matière organique	94,7±0,5	94,3±0,1	94,8±0,2
Acides gras (mg/g de régimes)	31,51	36,04	38,68
Profil en acides gras (% des acides gras totaux)			
C10:0	0,15	0,07	0,18
C12:0	2,86	1,73	3,08
C14:0	2,09	1,52	2,12
C15:0	0,00	0,06	0,00
C16:0	18,95	16,72	16,95
C16:1 n-9	0,00	0,07	0,06
C16:1 n-7	0,34	0,31	0,28
C18:0	4,00	4,37	4,28
C18:1 trans	0,09	0,09	0,09
C18:1 n-9	28,13	26,47	24,89
C18:1 n-7	1,23	1,19	1,14
C18:2 n-6	37,66	32,84	35,19
C18:3 n-3	3,27	13,29	10,52
C20:0	0,35	0,40	0,39
C20:1 n-9	0,24	0,26	0,25
C22:0	0,13	0,15	0,13
C20:5 n-3	0,15	0,16	0,12
C24:0	0,11	0,11	0,12
C22:6 n-3	0,25	0,21	0,19
Σ AGS	28,64	25,11	27,25
Σ AGMI	29,78	28,12	26,47
Σ AGPI	41,33	46,5	46,02
Σ n-6	37,66	32,84	35,19
Σ n-3	3,67	13,66	10,83
n-6/n-3	10,26	2,40	3,25

Σ AGS: somme des acides gras saturés (C10:0+C12:0+C14:0+C16:0+C18:0+C20:0+ C24:0) ; Σ AGMI: somme des acides gras mono-insaturés (C16:1+C18:1+C20:1) ; Σ AGPI n-3: somme des acides gras polyinsaturés n-3 (C18:3+C20:5+C22:6) ; Σ AGPI n-6: somme des acides gras polyinsaturés n-6 (C18:2) ; Σ AGPI: somme des acides gras polyinsaturés (Σ AGPI n-3 + Σ AGPI n-6)

Tableau 2. Effet d'un enrichissement en AG n-3 des régimes sur les performances zootechniques, des paramètres sériques et la qualité nutritionnelle des hauts de cuisse de poulet de chair

Paramètres	Régimes alimentaires		
	RC [20]	RL4 [20]	RE3 [20]
Poids vif initial (g)	993,7±120,16a	992,1±120,58a	989,25±108,94a
Poids vif final (g)	1408,3±177,1a	1429,3±201,1a	1421,8±197,1a
Gain moyen quotidien (g.j ⁻¹)	27,64±1,65a	29,14±2,38a	28,83±1,40a
Indice de consommation	3,55±0,21a	3,37±0,27a	3,40±0,16a
	RC [10]	RL4 [10]	RE3 [10]
Poids vif avant abattage (g)	1530,1±153,36 a	1594,5±108,49a	1595±94,6a
Poids après plumaison (g)	1260±120a	1320±90a	1310±80a
Poids de cuisse (pilon+haut) droites (g)	161,35±21,05a	169,57±11,46a	165±11,63a
Cholestérol total sanguin (mmol/l)	111,7±8,3a	95,4±11,9b	92,3±14,2b
Cholestérol HDL sanguin (mmol/l)	61,3±5,3a	58,9±7,7a	55,6±0,1a
Triglycérides sanguin (mmol/l)	25,9±6,8a	21,4±2,2a	22,3±6,9a
Cholestérol LDL sanguin (mmol/l)	45,2±4,7a	32,3±0,9b	32,2±0,7b
Matière grasse du haut des cuisses (%)	9,1±1,3a	9,6±0,6a	9,8±0,8a
Cholestérol total du haut des cuisses (mg/100 g)	137,3±27,6a	90,4±12,1b	84,9±17,3b
Acides gras, % des AG totaux			
C10:0	0,07±0,01 a	0,06±0,00 a	0,06±0,03 a
C12:0	1,81±0,20 a	1,69±0,12 a	1,55±0,25 a
C14:0	2,02±0,13 a	2,02±0,04 a	1,96±0,08 a
C14:1 n-5	0,25±0,02 a	0,27±0,04 a	0,26±0,05 a
C16:0	24,84±0,36 a	23,91±0,27 b	24,94±0,54 a
C16:1 n-9	0,38±0,02 a	0,35±0,03 a	0,38±0,05 a
C16:1 n-7	5,76±0,20 a	5,86±0,55 a	5,93±0,81 a
C18:0	7,08±0,15 a	6,91±0,53 a	7,10±0,25 a
C18:1 trans	0,19±0,01 a	0,18±0,01 a	0,20±0,02 a
C18:1 n-9	34,86±1,07 ab	33,93±0,28 b	35,91±1,53 a
C18:1 n-7	2,04±0,05 b	2,03±0,03 b	2,10±0,03 a
C18:2 n-6	17,73±0,36 ab	18,36±0,18 a	17,15±0,97 a
C18:3 n-6	0,14±0,01 a	0,14±0,01 a	0,14±0,00 a
C18:3 n-3	1,31±0,11 b	2,67±0,12 c	1,70±0,15 a
C20:0	0,07±0,01 a	0,08±0,01 b	0,07±0,00 ab
C18:4 n-3	0,04±0,00 b	0,06±0,00 c	0,05±0,00 a
C20:1 n-9	0,27±0,01 a	0,28±0,01 a	0,27±0,02 a
C20:2 n-6	0,10±0,01 a	0,12±0,01 b	0,09±0,01 a
C20:3 n-6	0,11±0,02 a	0,12±0,01 a	0,10±0,01 a
C20:4 n-6	0,47±0,14 a	0,45±0,06 a	0,47±0,13 a
C20:5 n-3	0,06±0,02 a	0,10±0,01 b	0,06±0,00 a
C22:4 n-6	0,07±0,02 a	0,06±0,01 a	0,05±0,03 a
C22:5 n-3	0,13±0,04 a	0,18±0,02 a	0,17±0,09 a
C22:6 n-3	0,18±0,05 b	0,20±0,03 c	0,19±0,07 a
ΣAGS	35,89±0,60 a	34,65±0,45 b	35,69±0,77 a
ΣAGMI	43,77±0,82 a	42,90±0,62 b	44,32±0,89 a
ΣAGPI n-6	18,62±0,49 a	19,26±0,25 b	17,85±0,98 a
ΣAGPI n-3	1,72±0,16 b	3,19±0,09 c	2,14±0,09 a
ΣAGPI n-6/ΣAGPI n-3	10,86±0,77 b	6,04±0,24 c	8,35±0,59 a

Moyennes ± écart-type ; a, b, c Les moyennes de la même ligne suivies de la même lettre ne sont pas significativement différents, **ΣAGS**: somme des acides gras saturés (C10:0+C12:0+C14:0+C16:0+C18:0+C20:0) ; **ΣAGMI**: somme des acides gras mono-insaturés (C14:1+C16:1+C18:1+C20:1) ; **ΣAGPI n-3**: somme des acides gras polyinsaturés n-3 (C18:3+C18:4+C20:5+C22:5+C22:6) ; **ΣAGPI n-6**: somme des acides gras polyinsaturés n-6 (C18:2+C18:3+C20:2+C20:3+ C20:4+C22:4) ; **ΣAGPI**: somme des acides gras polyinsaturés (Σ AGPI n-3 + Σ AGPI n-6)

EFFET BENEFIQUE DU PIDOLATE DE CALCIUM SUR LA QUALITE D'ŒUF DE POULES PONDEUSES PLEIN AIR A PARTIR DE 50 SEMAINES D'AGE

Bain Maureen¹, Pollet Benjamin²

¹*IBACM - University of Glasgow - UK*

²*DIETAXION - 283 Rue Ampère, ZAC Noë Bachelon – 44 430 LE LOROUX BOTTEREAU,
France*

b.pollet@dietaxion.com

RÉSUMÉ

A partir de l'âge de 50 semaines, les poules pondeuses présentent un début d'ostéoporose et de dégradation de la qualité de coquille : impliquant une perte d'œufs collectés et une augmentation du taux d'œufs déclassés. Plusieurs études sur le pidolate de calcium en pondeuses ont démontré un impact positif sur la persistance de production en fin de ponte. Peu de données indépendantes sont néanmoins disponibles en mode de production plein air.

Ce travail, mené par l'université de Glasgow, au sein de Lakes Free range Company (UK) vise donc à comparer 4 lots commerciaux contrôles de pondeuses plein air de 50 semaines d'âge à 4 lots commerciaux ayant reçu du Pidolate de calcium (incorporé à 300 ppm) et élevés en même temps que les contrôles. La qualité des œufs (% œufs de qualité classés Large « L » et % d'œufs déclassés) et la qualité de coquille (résistance à la rupture, poids, couleur) sont étudiées sur 20 semaines de production (50 à 70 semaines d'âge). Des mesures ont également été effectuées sur l'os mais n'ont révélées aucune différence significative entre les traitements.

Le lot Pidolate de calcium produit 2,3% d'œufs « L » en plus (+1,4 points) sur la période de traitement ($p < 0.001$) et le nombre d'œufs déclassés est réduit de 19% ($p < 0.001$). Une amélioration faible mais néanmoins significative de la résistance à la rupture de la coquille ($p < 0,05$), du poids de la coquille ($p = 0,38$) et de la couleur de la coquille ($p < 0,001$) a également été observée. Nous concluons que le fait de supplémenter le régime alimentaire des pondeuses plein air avec du pidolate de calcium à 300 ppm à partir de l'âge de 50 semaines pourrait être un moyen rentable de maintenir le niveau de production et la qualité des œufs lors de cycles de ponte plus longs.

ABSTRACT

Beneficial effect of calcium pidolate use in feed on egg quality of free range layers from 50 weeks of age

From 50 weeks old, laying hens show a start of osteoporosis and a decrease of egg quality: generating a loss of collected eggs and an increase of downgraded eggs. Several studies on calcium pidolate show a positive impact on the laying cycle. But supporting data is quite limited in free range production.

This work, led by the University of Glasgow, at Lakes Free range Company (UK) aims to compare 4 control flocks with a basal diet and 4 treated flocks from 50 weeks of age with 300 ppm of calcium pidolate. Quality of eggs (egg grading %L and % downgraded eggs) and shells quality (breaking strength, weight, color) have been measured during 20 weeks of production (from 50 to 70 weeks old). Measures on bones have been done but its didn't revealed any significant differences between treatments.

Treatment group produces 2.3% more of "L" eggs during the treatment period ($p < 0,001$) and the number of downgraded eggs has been reduced of 19% ($p < 0,001$). A low increase but still significant of the breaking strength ($p < 0,05$), shell weight ($p = 0,38$) and of the shell color ($p < 0,001$) have been noticed. We conclude that supplementing the layer diet with 300 ppm calcium pidolate from 50 weeks of age could be a cost efficient way of maintaining egg production and quality in longer laying cycles.

INTRODUCTION

La poule pondeuse qui sera capable de produire 500 œufs pendant un cycle de ponte de 100 semaines est le nouvel objectif de la filière (cumulant une moindre utilisation de ressources et une réduction des déchets) (Bain et al., 2016). Prolonger la ponte est bien actuellement un défi majeur d'éco-performance (économique, zootechnique, écologique): cela implique de maintenir la qualité de l'œuf et le bien-être de la poule pondeuse. Le Pidolate de calcium (sel hautement soluble et bio-disponible) est présent dans la filière de la poule pondeuse depuis plus d'une quinzaine d'années. Des travaux déjà publiés démontrent que cet ingrédient a un effet bénéfique sur la qualité de l'œuf.

Agblo et Duclos (2011) ont démontré que l'incorporation du Pidolate de calcium dans la ration à partir de 62 semaines d'âge permet d'augmenter de 2% le taux de ponte et de diminuer de 27% le nombre d'œufs déclassés de pondeuses cage. Par la suite, Valderrama et Roulleau (2013) ont prouvé que l'incorporation de Pidolate de calcium, entre 56 et 63 semaines d'âge, est plus efficace que l'incorporation de coquilles d'huitres (+5% d'œufs collectés et - 25% d'œufs déclassés) sur poules pondeuses cage.

L'université de Glasgow réalisé une étude sur des lots commerciaux de pondeuses plein air nourries avec cet ingrédient pour aider les éleveurs dans leur choix d'utiliser ou non le Pidolate de calcium compte tenu de son retour sur investissement.

Le but de cette étude est d'apporter des données fiables pour appuyer l'hypothèse que l'ajout de pidolate de calcium à hauteur de 300 ppm à partir de 50 semaines d'âge dans les rations des poules pondeuses plein air permet d'améliorer la qualité de l'œuf et donc le niveau de production. L'impact de la distribution de Pidolate de calcium sur la qualité de l'os a également été évalué.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude a été menée sur 8 lots répartis sur 4 sites de productions différents. Sur chaque site, il y a un lot contrôle et un lot testé, élevés dans les mêmes conditions de densité (>12000 pondeuses/bâtiment), de génotype et d'âge. Les 4 sites servent de répétitions dans le modèle statistique.

Des données de production et de qualité des œufs et de qualité des os ont été récoltées avant le début de l'expérimentation sur les 8 lots entre 45 et 50 semaines d'âge. Ces données sont appelées « données avant traitement ». Entre 50 et 70 semaines d'âge, un lot par site est nourri avec du Pidolate de calcium dans sa ration (300ppm), l'autre reçoit une ration standard de poule pondeuse (contrôle). Les données récoltées sur cette période sont les « données pendant traitement ».

Toutes les semaines, les données sur le classement des œufs (%ClassA, % Déclassés et poids moyen des œufs) ont été mesurées sur chaque lot avant et pendant le suivi (de 45 à 70 semaines).

Pour les paramètres liés à la qualité de l'œuf et des os, des simulations ont été réalisées pour définir une taille optimale d'échantillon à prélever dans chaque lot. 120 œufs par lot ont ainsi été prélevés, au hasard, toutes les 5 semaines de 45 semaines à 70 semaines d'âge pour mesurer la qualité de l'œuf. Ce paramètre est décrit à travers les poids de la coquille (g), la force de fracture de la coquille (N) et sa coloration (% réflexion @ 640nm).

31 poules pondeuses ont été abattues à 45 semaines et à 70 semaines d'âge pour déterminer leur qualité d'os. L'aile et la patte droites (avec les muscles attachés dessus) ont été prélevées, mises en sachet, étiquetées et congelées avant d'être analysées. La force de fracture des os (tibia et humérus) a été mesurée avec des essais mécaniques destructifs en 3 points.

Des modèles de régressions linéaires à multiples variables ont été construits pour chaque variable de chaque paramètre (qualité de l'œuf, production d'œufs et qualité des os). L'âge a été pris en compte dans tous les modèles car l'existence d'un lien entre l'âge et plusieurs des variables choisies est reconnu. Le nombre de site a été pris en compte comme un effet aléatoire sur tous les modèles.

Le premier modèle s'intéresse à la comparaison avant et après traitement, séparément pour chaque groupe (contrôle ou testé). Le deuxième modèle ne s'intéresse qu'aux données pendant traitement en comparant le groupe de traitement (Pidolate de calcium) en utilisant le groupe de contrôle comme référence pour chacune des mesures de résultats.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

1.1. Premier modèle : comparaison des résultats avant traitement (S45-50) et pendant traitement (S50-70)

Le premier modèle compare les deux groupes (testé et contrôle) sur les données récoltées avant le début du traitement (semaine 45 à 50).

Concernant le **classement des œufs produits**, la seule différence significative a été observée sur le poids moyen de l'œuf (-0.8g ; P=0.025) dans le groupe contrôle.

Concernant la **qualité de l'œuf**, une différence significative après 50 semaines a été notée sur la force de fracture de la coquille et la couleur dans les deux groupes. La force de fracture diminue de -5.5N (P<0,01) sur le groupe testé et -6.2 N (P<0,01) sur le groupe contrôle. La valeur couleur de la coquille

diminue quant à elle respectivement de 10.73% ($P < 0,001$) et de 11.48% ($P < 0,001$).

L'apparition de différences entre les résultats avant et pendant traitement suggère qu'il peut exister des erreurs liées à l'utilisation de l'effet « âge lors de l'échantillonnage » comme variable dans le modèle mesurant la qualité de l'œuf.

Aucun effet lié à l'expérimentation n'a été mis en évidence sur les données qualité de l'os.

1.2. Second modèle : comparaison des résultats pendant traitement (S50-70)

Le second modèle compare les groupes contrôle et testé à partir de 50 semaines d'âge, pendant la distribution de Pidolate de calcium.

1.2.1. Production d'œufs et classement

Ce modèle révèle une augmentation significative (+2.3%) dans le pourcentage d'œufs « ClassA » et une réduction significative (-19%) dans le pourcentage d'œufs déclassés (Figure 1). Le poids moyen de l'œuf ne change pas de manière significative (Tableau 1).

1.2.2. Qualité des œufs

Les trois critères choisis pour déterminer la qualité de l'œuf montrent que l'utilisation du Pidolate de calcium a généré des améliorations significatives (Tableau 2). La force de fracture de l'œuf augmente de +0.7N ($P = 0.004$), le poids de la coquille augmente de +0.48g ($P = 0.014$) et la couleur de la coquille diminue de -0.75 Δ ref ($P = 0.000$).

Une expérimentation plus longue aurait peut-être montré des résultats encore plus marqués entre les lots contrôle et les lots testés.

1.2.3. Qualité des os

Aucune différence significative n'a été observée sur les critères de qualité de l'humérus et du tibia entre les lots testé ou contrôle.

DISCUSSION

Les résultats obtenus correspondent aux attentes et sont conformes à ce qui a déjà pu être observé dans des expérimentations précédentes. L'incorporation de Pidolate de Calcium dans la ration permet un apport plus important de calcium absorbable grâce à différents mécanismes métaboliques qu'il stimule (création de transporteurs de calcium et calcium ionisé) jouant un rôle clé sur le dépôt de calcite de la coquille.

Le Pidolate de Calcium est aussi décrit dans la synthèse collagénique. Une action sur la membrane

interne de l'œuf participerait à comprendre les améliorations de qualité de l'œuf observées.

Cette étude confirme aussi les expériences précédentes du fournisseur ainsi que ses recommandations techniques : une distribution de Pidolate en fin de ponte ne génère pas d'effet significatif sur la qualité osseuse. Cela semble attribuable au fait que les poules pondeuses étaient déjà trop âgées pour qu'une amélioration significative n'ait lieu. Pour améliorer le dépôt osseux (collagène+calcium), une distribution de Pidolate de calcium aux poulettes serait suggérée ; c'est-à-dire quand le squelette se construit et que les réserves de l'os médullaire commencent à se former.

CONCLUSION

Cette étude, réalisée sur des lots commerciaux de poules pondeuses en plein air, a permis de prouver qu'un apport de Pidolate de calcium (300g/T d'aliment) dans la ration à partir de l'âge de 50 semaines améliore la production et la qualité des œufs.

La production d'œufs augmente avec l'utilisation de l'ingrédient (>2% d'œufs collectés en plus). Le pourcentage d'œufs déclassés diminue (-19%). Sur le plan qualitatif, la force de fracture et la couleur des coquilles sont améliorées.

Le Pidolate confirme donc ici les résultats précédemment obtenus en pondeuses logées en cages. Le Pidolate permet aussi en système plein air un retour positif sur investissement via un gain de production et de qualité d'œufs.

Pour les éleveurs, ces résultats représentent plus d'œufs commercialisables en fin de cycle de ponte et la possibilité d'augmenter la longévité du lot, ce qui justifie le coût supérieur de la ration lié à l'incorporation du supplément.

Compte tenu du mode d'action, une utilisation plus précoce (stade poulette) du Pidolate de calcium pourrait par ailleurs constituer un outil de prévention de l'apparition d'ostéoporose chez les poules pondeuses en fin de ponte et d'amélioration du bien-être animal, propice à la mise en place d'une stratégie d'extension des durées de ponte

REMERCIEMENTS

Cet essai a été mené indépendamment par l’université de Glasgow et commissionnée par Lakes Free Range Company (Royaume-Uni). Les deux organismes remercient Dietaxion pour avoir fourni le Pidolate de calcium et plus particulièrement Benjamin Pollet pour sa contribution dans l’écriture de cet article. Merci également au professeur Tim Parkins pour ses conseils en analyse statistique et à toute l’équipe du Lake Free Range Company pour leur aide lors de la récolte d’échantillons. Cette étude a été financée par Sainsbury’s « Big Data » Agriculture Research et Development Grant (2014-2015).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agblo P. et Duclos J., 2011. JRA
 Bain M.M., Nys Y. et Dunn I.C., 2016. Br.Poult.Sci., (57), 330-338.
 Flemming R.H., McCormack H.A., McTeir L. et Whitehead C.C., 2004. Br.Poult.Sci, (45), 320-330
 Valderrama M. et Roulleau X., 2013. JRA

Figure 1. Comparaison du nombre d’œufs classés « L » ou déclassés dans les lots « contrôle » et « testé » au cours du traitement. La combinaison des données hebdomadaires sont représentées sous forme de box-plot avec la médiane, le 1^{er} et le 3^{ème} quartile (**P<0,001).

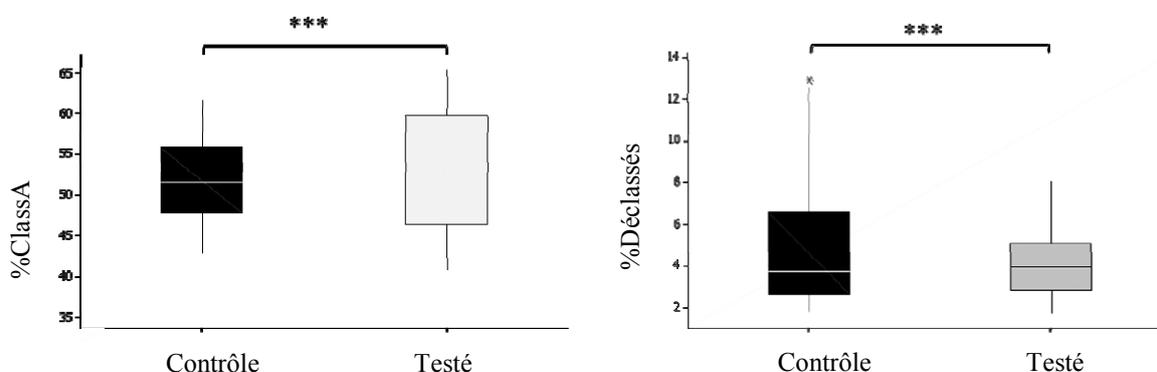


Tableau 1. Classification des œufs des groupes « Contrôle » et « Testé » : moyenne et écart-type pour toutes les données collectées sur les 4 bandes testées et les 4 bandes contrôles.

	Contrôle (n=4)	Testés (n=4)	P-value	Coefficient de variation
ClassA (%)	52+/-5.1	53.2+/-7.2	0.000	(1.4)
Déclassé (%)	4.8 +/- 2.9	3.9 +/- 1.4	0.000	(-0.9)
Poids moyen de l’œuf (g)	64.3 +/- 1	64.4 +/- 1.4	ns	

Tableau 2. Qualité des œufs des groupes « Contrôle » et « Testé » : moyenne et écart-type pour toutes les données collectées sur les 4 bandes testées et les 4 bandes contrôles.

	Contrôle (n=4)	Testés (n=4)	P-value	Coefficient de variation
Force de fracture de la coquille (N)	41.3 +/- 7.6	42.0 +/- 7.7	0.004	(0.7)
Poids de la coquille (g)	6.395 +/- 0.619	6.443 +/- 0.597	0.014	(0.05)
Couleur de la coquille (delta%ref)	69.1 +/- 6.4	68.4 +/- 6.5	0.000	(-0.75)

Tableau 3. Qualité des os des groupes « Contrôle » et « Testé » : moyenne et écart-type pour toutes les données collectées sur les 4 bandes testées et les 4 bandes contrôles.

	Contrôle (n=4)	Testés (n=4)	P-value	Coefficient de variation
Force de fracture de l’humérus (N)	225.76 +/- 50.12	224.62 +/- 50.96	ns	
Force de fracture du tibia (N)	280.75 +/- 78.18	278.21 +/- 59.90	ns	

EFFETS DES OLIGO-ELEMENTS COMPLEXES SUR LES PERFORMANCES ET LES MESURES OSSEUSES DE DINDONS AGES DE 0 A 7 SEMAINES

**Colwayne Morris¹, Leonardo Linares², Jeffre Firman¹, Marco Rebollo², Christof Raff²,
Cibele Torres².**

¹UNIVERSITY OF MISSOURI, Columbia, MO, USA,

²ZINPRO CORPORATION, 10400 Viking Drive, Suite 240 Eden Prairie, MN, USA

ctorres@zinpro.com

RÉSUMÉ

Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer les effets d'une supplémentation en Availa[®]Zn, Availa[®]Z/M et Availa[®]ZMC (Zinpro Corporation) sur la performance et les mesures osseuses de dindons, de l'éclosion à leur 7^e semaine. Ce sont au total 1 200 dindonneaux mâles Hybrid Converter d'un jour qui ont été assignés au hasard à l'un des 4 traitements alimentaires, avec 12 répétitions et 25 oiseaux par case. Les traitements incluaient : 1) Sulfates ; 2) Zn-CAA ; 3) Zn/Mn-CAA ; 4) Zn/Mn/Cu-CAA et étaient formulés de manière à obtenir des concentrations alimentaires finales de 125 mg/kg de Zn, 125 mg/kg de Mn et 7 mg/kg de Cu. Dans les deux phases, aucun effet n'a été observé pour les paramètres de performance ($P > 0,05$), à l'exception de l'indice de consommation ($P = 0,05$) des jours 19 à 50, où les oiseaux consommant Zn/Mn-CAA et Zn/Mn/Cu-CAA affichaient une efficacité supérieure de 7 et 9 points, respectivement, que les oiseaux supplémentés en sulfates. L'indice de consommation, de 0 à 50 jours, était inférieur ($P = 0,06$) chez les oiseaux consommant Zn/Mn-CAA et Zn/Mn/Cu-CAA par rapport aux sulfates, de 6 et 8 points, respectivement. Aucune différence ($P > 0,05$) n'a été observée sur le poids du tibia (% PC). Le pourcentage de cendres du tibia des oiseaux ayant consommé des sulfates et Zn/Mn-CAA était supérieur ($P = 0,04$) à ceux ayant consommé Zn/Mn/Cu-CAA, tandis que les cendres du tibia en pourcentage du poids corporel n'était pas différente. En conclusion, il a été observé que les oiseaux consommant des oligo-éléments complexés avec des acides aminés affichaient une amélioration de l'indice de consommation, à la fois statistiquement pendant la phase de croissance et numériquement pendant toute la période expérimentale, par rapport aux oiseaux supplémentés seulement en sulfate.

ABSTRACT

Effects of Amino Acid Complexed Trace Minerals on Performance and Bone Measurements of Male Turkeys from 0 to 7 Weeks of Age.

The objectives of this study were to evaluate the effects of supplemental Availa[®]Zn, Availa[®]Z/M, and Availa[®]ZMC (Zinpro Corporation) on performance and bone measurements of male turkeys from hatch to 7 weeks. A total of 1,200-day-old Hybrid Converter male poults were randomly assigned to 1 of 4 dietary treatments, with 12 replicate pens and 25 birds/replicate. Treatments included: 1) Sulfates; 2) Zn-AAC; 3) Zn/Mn-AAC; 4) Zn/Mn/Cu-AAC and were formulated to obtain final dietary concentrations of 125 mg/kg Zn, 125 mg/kg Mn, and 7 mg/kg Cu. No treatment effect was observed for performance parameters in either phase ($P > 0.05$), except for feed conversion ($P = 0.05$) during days 19 to 50, where birds fed Zn/Mn-AAC and Zn/Mn/Cu-AAC were 7 and 9 points more efficient, respectively, than those fed Sulfates. Feed conversion, from d 0 to 50, was lower ($P = 0.06$) for birds fed Zn/Mn-AAC and Zn/Mn/Cu-AAC versus Sulfates, at 6 and 8 points, respectively. No difference ($P > 0.05$) was observed for tibia weight (% BW). Tibia mid-section measurements were not different among treatments. Percent tibia ash of birds fed Sulfates and Zn/Mn-AAC was greater ($P = 0.04$) than those consuming Zn/Mn/Cu-AAC, whereas tibia ash as a percent of BW was not different. In conclusion, birds consuming supplemental amino acid complexed trace minerals were observed to have improved feed conversion, both statistically in the Grower phase, and numerically throughout the total experimental period, compared to birds consuming only sulfate minerals.

INTRODUCTION

Les oligo-éléments (OE), zinc (Zn), manganèse (Mn) et cuivre (Cu) sont des nutriments importants pour les animaux d'élevage étant donné qu'ils sont des cofacteurs essentiels d'enzymes nécessaires à plusieurs processus biochimiques, dont le métabolisme osseux (Underwood et Suttle, 1999). Les céréales ne fournissent pas les quantités d'OE disponibles suffisantes pour les besoins des animaux. Les aliments conventionnels des volailles sont généralement supplémentés avec des sources inorganiques de ces nutriments, telles que les chlorures, sulfates, carbonates et oxydes. Les oligo-éléments inorganiques (OEI) sont confrontés, dans la lumière intestinale, à des antagonistes alimentaires qui réduisent leur biodisponibilité et compromettent donc l'ensemble du métabolisme. L'utilisation de sources d'oligo-éléments davantage biodisponibles seules ou en combinaison avec des OEI ont montré d'importants avantages biologiques chez les poulets de chair, notamment une amélioration de la fonction immunitaire (Dibner, 2005); une baisse du stress oxydatif et une hausse de la performance (Ferket et Qureshi, 1992; Davis et al., 2003); une réduction de l'incidence des troubles squelettiques tels que la dyschondroplasie du tibia (DT) (Dibner et al., 2007), les lésions du coussinet plantaire, les déformations varus-valgus et les tremblements des pattes (Ferket et Qureshi, 1992; Ferket et al., 2009) et une meilleure résistance à la rupture des os (Ferket et al., 2009). Alors que l'intérêt des formes plus disponibles d'oligo-éléments a été bien rapportée chez les poulets de chair dans certains aspects de la qualité de l'os, il existe moins d'information disponible sur leurs effets sur les dindes. Des bénéfices similaires pour la performance et la santé osseuse peuvent être attendus lorsque les aliments des dindes sont supplémentés en Cu, Zn et Mn complexés avec des acides aminés (CAA). Cela représente une opportunité majeure pour le secteur de la production de dindes puisqu'une amélioration de l'état général de santé dans les 7 premières semaines de vie peut entraîner une diminution des problèmes squelettiques, souvent responsables de taux de mortalité pouvant dépasser 1% par semaine. Les objectifs de cette étude étaient d'évaluer les effets d'une supplémentation en Zn, Cu et Mn complexés avec des acides aminés sur les performances et la qualité des os de dindes, de l'éclosion à leur 7e semaine d'âge.

1. MATERIELS ET METHODES

Un total de 1200 dindonneaux mâles Hybrid Converter d'un jour ont été répartis au hasard dans l'un des 4 traitements alimentaires, avec 12 répétitions et 25 oiseaux par case. Les aliments à base de maïs et de tourteau de soja ont été formulés de manière à être

identiques sur le plan nutritionnel. Les oiseaux bénéficiaient d'un accès ad libitum à l'alimentation en deux phases : démarrage (jour 1 à 19; miettes) et croissance (jours 19 à 50; granulés). Les aliments comprenaient de la phytase et de la xylanase (Rovabio Max AP à 0,01% d'inclusion) et un coccidiostatique (monensin sodium) pendant toute l'étude. Tous les aliments étaient formulés avec une iso-supplémentation de 125 – 125 – 7 mg/kg de Zn, Mn et Cu, respectivement. Les analyses des teneurs totales de chaque OE, incluant celles du régime alimentaire de base en plus de la supplémentation en sulfates et complexes métal-acide aminé (CAA) de Cu, Zn et Mn (Zinpro Corporation) sont indiquées dans le tableau 1.

Le poids vif (PV), l'ingéré alimentaire (IA), l'indice de consommation (IC) moyens par case ont été mesurés à 7, 19 et 50 jours. L'IC corrigé à la mortalité et à un PV similaire (ICcor) a également été calculé en s'appuyant sur des données de performance globales. Les tibias des dindes de 50 jours ont été échantillonnés et ont fait l'objet d'une analyse plus approfondie, pour déterminer leur teneur en cendres et en OE. Des mesures de la couche de l'anneau de croissance du tibia proximal et une histologie ont également été mises en œuvre.

Les données ont été analysées par une ANOVA one-way utilisant le Minitab Statistics Program (Version 1.5.0). Quand le modèle était significatif avec des différences $P \leq 0,05$, les moyennes étaient analysées par test LSD.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Dans l'ensemble, la mortalité était faible (6% en moyenne dans tous les groupes) et n'était pas significativement influencée par le régime alimentaire. Les paramètres de croissance et d'ingestion alimentaire pendant la phase de démarrage n'ont pas été influencés par le type d'OE ajouté à la ration (tableau 2). Des études précédentes montrent que le zinc issu de sources non inorganiques était plus disponible et favorisait une meilleure ingestion alimentaire (Ferket et Qureshi, 1992; Davis et al., 2003; Ferket et al., 2009); toutefois cette étude n'a pas produit de résultats similaires. En fait, les dindes consommant Zn/Mn-CAA (T3) et Zn/Mn/Cu-CAA (T4) pendant la phase de croissance pesaient respectivement 88 (+3,3%) et 105 (+4,0%) grammes ($P=0,20$) de plus et consommaient environ 1,7 et 2,0% d'aliment en moins ($P=0,67$, données non présentées) par rapport aux dindes ayant consommé des OE sulfates (T1). Ces augmentations numériques de la croissance (GPV Gain de Poids Vif) ont entraîné des améliorations significatives de 7 et 9 points de l'ICcor19-50j ($P=0,05$). L'ICcor0-50j a été aussi réduit de 6 et 8 points respectivement ($P=0,06$) pour les oiseaux T3 et T4 par rapport aux animaux témoins. Les oiseaux consommant Zn-CAA (T2) se situaient dans la moyenne et ne présentaient pas de différences

significatives par rapport aux autres traitements pendant la phase de croissance et l'intégralité de la période.

Aucune différence n'a été observée concernant le poids du tibia (% PV) et les mesures du centre du tibia (tableau 3). Les oiseaux du groupe Zn/Mn/Cu-CAA (T4) présentaient en moyenne un pourcentage de cendres de tibia inférieur à ceux du groupe (T1) et du groupe Zn/Mn-CAA (T3) ($P = 0,04$). Les dindes ont été choisies au hasard pour les mesures osseuses et les oiseaux du groupe T4 affichaient près de 193 grammes de moins que les oiseaux du groupe T1. Ainsi, les résultats des cendres du tibia mentionnés ci-dessus pourraient être liés à ceux du PV des oiseaux étant donné qu'il existe une corrélation positive entre le PV et la teneur en cendres du tibia (Applegate et Lilburn, 2002). Quand la teneur en cendres du tibia était exprimée en pourcentage du PV, cette différence de pourcentage des cendres du tibia n'était plus significative. L'absence d'effet des CAA sur la minéralisation osseuse contredit les découvertes antérieures selon lesquelles un supplément de Zn et de Mn-CAA améliorait la teneur en cendres des dindes à un âge similaire (Davis et al., 2003).

La teneur en zinc du tibia (ppm/kg PV) était supérieure dans les groupes T2 et T3 par rapport à T1 (64,4 et 63,9 vs $54,3 \pm 3,45$, respectivement, $P=0,003$) ; les oiseaux du groupe T4 se situant au milieu et ne présentant aucune différence significative par rapport aux autres traitements. D'un autre côté, la teneur en cuivre du tibia (ppm/kg PV) était supérieure chez le groupe T1 et inférieure chez les oiseaux T4 qui présentaient la teneur Cu la plus faible (0,63 vs $0,33 \pm 0,119$, $P=0,003$), les groupes T2 et T3 se

situant dans la moyenne et ne présentant aucune différence significative par rapport aux deux autres traitements. La teneur en manganèse du tibia était supérieure chez les oiseaux du groupe T2 par rapport au groupe témoin et au groupe T4 ($1,80$ vs $1,27$ et $1,22 \pm 0,287$ ppm/kg PV, $P= 0,06$).

Les évaluations histomorphométriques du tibia (zone de prolifération, largeur épiphysaire partielle, largeur moyenne de la zone de prolifération, zone de maturation maximale, rapport zone d'hypertrophie - zone de prolifération) n'étaient pas significativement influencées par la source d'OE ajoutés (données non présentées).

CONCLUSION

En conclusion, malgré une augmentation de la teneur en Zn et Mn du tibia par ajout d'OE-CAA, la taille et la minéralisation globales des os n'ont pas été notablement influencées par la source d'OE. Toutefois, la performance a été améliorée par l'ajout d'OE-CAA notamment quand les oiseaux consommaient des aliments supplémentés en Zn/Mn-CAA et Zn/Mn/Cu-CAA. Ces oiseaux présentaient une amélioration significative de l'IC de 7 et 9 points pendant la phase de croissance, respectivement, par rapport aux oiseaux ne consommant que des sulfates. De même, l'indice de consommation sur toute la période était inférieur chez les oiseaux consommant Zn/Mn-CAA et Zn/Mn/Cu-CAA par rapport aux sulfates, de 6 et 8 points, respectivement.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Applegate, T.J., M.S. Lilburn. 2002. Poul. Sci. 81:1289–1294
- Davis, S.W., B.A. George, C.L., Quarles, T.L, Ward, C.J., Rapp, and T.M., Fakler. 2003. Poult. Sci. 82 (Suppl. 1):114 (Abstr.)
- Dibner, J.J. 2005. Mid-Atlantic Nutrition Conference. University of Maryland, College Park.
- Dibner, J.J., J.D. Richards, M.L. Kitchell, and M.A. Quiroz. 2007. J. Appl. Poult. Res. 16:126-137.
- Ferket, P.R., and Qureshi, M.A. 1992. Poult. Sci. 71 (Suppl. 1):60 (Abstr.)
- Ferket, P.R., E.O. Oviedo-Rondon, P.L. Mente, D.V. Bohorquez, A.A. Santos Jr., J.L. Grimes, J.D. Richards, J.J. Dibner, and V. Felts. 2009. Poult. Sci. 88:118-131.
- Underwood, E.J., and N.F. Suttle. 1999. The mineral nutrition of livestock, 3rd ed. CABI Publishing, New York.

Tableau 1. Description des régimes sur les suppléments en OE et les analyses totales (teneurs basales + suppléments) des aliments démarrage et croissance, en mg/kg aliment complet

Régime ¹	Sulfates			Complexes			Valeurs d'analyses des aliments démarrage (D) et croissance (C)					
	Zn	Mn	Cu	Zn	Mn	Cu	Zn		Mn		Cu	
							D	C	D	C	D	C
T1 : Témoin-sulfates ²	125	125	7	-	-	-	164	156	107	128	18.0	25.9
T2 : Zn-CAA ³	65	125	7	60	-	-	162	155	114	109	17.6	14.4
T3 : Zn/Mn-CAA ⁴	85	85	7	40	40	-	160	149	113	116	13.9	15.0
T4 : Zn/Mn/Cu-CAA ⁵	85	85	-	40	40	7	165	160	109	117	20.0	25.8

¹Les aliments étaient formulés de manière à apporter une supplémentation de 125 – 125 – 7 mg/kg de Zn, Mn et Cu, respectivement.

²T1 (témoin) : Cu, Zn et Mn tous sous forme de sulfates ; ³T2 (Zn-CAA) : Zn issu de 60 mg/kg de Zn-CAA (Availa®Zn) et 65 mg/kg de ZnSO₄ ; ⁴T3 (Zn/Mn-CAA) : Zn et Mn à 40 – 40 mg/kg issus de Zn/Mn CAA (Availa®Z/M) + 85 – 85 mg/kg issu de ZnSO₄, MnSO₄ et CuSO₄ ; ⁵T4 (Zn/Mn/Cu-CAA) : 40 – 40 – 7 mg/kg Cu, Zn et Mn issus de CAA (Availa®ZMC) + 85-85-0 mg/kg ZnSO₄, MnSO₄, ZnSO₄ et CuSO₄.

Tableau 2. Paramètres de performances - Gain de Poids Vif (GPV), Ingéré Alimentaire (IA) et Indice de Consommation corrigé (IC_{cor}) sur les différentes périodes

Régime	Démarrage _{0-19j}			Croissance _{19-50j}			Ensemble de la période _{0-50j}		
	GPV kg	IA kg	IC _{cor} g/g	GPV kg	IA kg	IC _{cor} g/g	GPV kg	IA kg	IC _{cor} g/g
T1 : Témoin - sulfates ¹	0,486	0,690	1,403	2,723	4,823	1,798 ^a	3,15	5,51	1,74
T2 : Zn-CAA ²	0,481	0,666	1,372	2,758	4,749	1,756 ^{ab}	3,18	5,41	1,70
T3 : Zn/Mn-CAA ³	0,480	0,673	1,395	2,811	4,740	1,724 ^b	3,23	5,39	1,68
T4 : Zn/Mn/Cu-CAA ⁴	0,486	0,683	1,389	2,828	4,726	1,707 ^b	3,25	5,40	1,66
SEM _{n=12}	0,002	0,004	0,006	0,19	0,03	0,013	0,02	0,03	0,01
Valeur P	0,75	0,16	0,27	0,20	0,67	0,05	0,25	0,60	0,06

¹T1 (témoin) : Cu, Zn et Mn tous sous forme de sulfates ; ²T2 (Zn-CAA) : Zn issu de 60 mg/kg de Zn-CAA (Availa®Zn) et 65 mg/kg de ZnSO₄ ; ³T3 (Zn/Mn-CAA) : Zn et Mn à 40 – 40 mg/kg issus de Zn/Mn CAA (Availa®Z/M) + 85 – 85 mg/kg issu de ZnSO₄, MnSO₄ et CuSO₄ ; ⁴T4 (Zn/Mn/Cu-CAA) : 40 – 40 – 7 mg/kg Cu, Zn et Mn issus de CAA (Availa®ZMC) + 85-85-0 mg/kg ZnSO₄, MnSO₄, ZnSO₄ et CuSO₄.

Les valeurs avec un exposant différent présentent une différence significative de $P < 0,05$.

Tableau 3. Qualité des tibias de dindes de 50 jours

Régime	Poids Vif (PV) moyen des oiseaux échantillonnés	Tibia ⁵				
		Cendres %	Cendres %/ kg PV	Cendres Zn %/ kg PV	Cendres Cu %/ kg PV	Cendres Mn %/ kg PV
T1 : Témoin - sulfates ¹	3,592	55,5 ^a	0,16	54,3 ^b	0,63 ^a	1,27
T2 : Zn-CAA ²	3,454	54,1 ^{ab}	0,15	64,4 ^a	0,48 ^{ab}	1,80
T3 : Zn/Mn-CAA ³	3,452	54,8 ^a	0,15	63,9 ^a	0,38 ^{ab}	1,37
T4 : Zn/Mn/Cu-CAA ⁴	3,399	52,3 ^b	0,20	61,2 ^{ab}	0,33 ^b	1,22
SEM _{n=12}	0,213	2,81	0,011	3,45	0,119	0,287
Valeur P	0,18	0,04	0,2	0,003	0,003	0,06

¹T1 (témoin) : Cu, Zn et Mn tous sous forme de sulfates ; ²T2 (Zn-CAA) : Zn issu de 60 mg/kg de Zn-CAA (Availa®Zn) et 65 mg/kg de ZnSO₄ ; ³T3 (Zn/Mn-CAA) : Zn et Mn à 40 – 40 mg/kg issus de Zn/Mn CAA (Availa®Z/M) + 85 – 85 mg/kg issu de ZnSO₄, MnSO₄ et CuSO₄ ; ⁴T4 (Zn/Mn/Cu-CAA) : 40 – 40 – 7 mg/kg Cu, Zn et Mn issus de CAA (Availa®ZMC) + 85-85-0 mg/kg ZnSO₄, MnSO₄, ZnSO₄ et CuSO₄. ⁵Mesures des cendres du tibia d'oiseaux choisis au hasard : cendres du tibia (%), cendres du tibia par rapport au poids vif, (% PV); teneur en Zn, Cu et Mn des cendres par rapport au PV (ppm/kg PV).

Les valeurs avec un exposant différent présentent une différence significative de $P < 0,05$.

EFFETS D'UN MÉLANGE DE PLANTES COMME SUBSTITUT DE LA CHOLINE SYNTHÉTIQUE SUR LES PERFORMANCES DE POULETS DE CHAIR

A. Atkinson^a, J.F. Le Roux^b, S. Olivera^b, H. Borin^b, C. Alleno^c et M.-C. Musy^c

^a*Nuproxa Switzerland Ltd., 3 RUE JEAN ROSTAND, 22440 Ploufragan, France*

^b*Nuproxa Switzerland Ltd., La Romanèche, 131163 Etoy, Suisse*

^c*ZOOTEESTS, 5 rue Gabriel Calloet Kerbrat, 22440 Ploufragan, France*

angela.atkinson@nuproxa.ch

RÉSUMÉ

Les besoins en choline (Vitamine B4) des animaux sont satisfaits par l'utilisation de chlorure de choline, molécule de synthèse dont l'utilisation peut s'avérer délicate dans les aliments et surtout les premix en particulier en raison de son hygroscopicité et réactivité. L'utilisation de mélanges de plantes comme substitut du chlorure de choline est courante en Amérique Latine et dans certaines régions d'Asie. L'objectif de l'essai est de valider cette substitution dans des conditions d'élevage en France par la mesure des performances de poulets de chair jusqu'à 35 jours. A cet effet, 820 poulets mâles Ross 308 (10 répétitions, 410 animaux par traitement) ont été répartis en un lot témoin (T1) avec chlorure de choline et un lot expérimental (T2) supplémenté avec le mélange végétal à raison de 1/5 de la dose du chlorure de choline. Des mesures de performances zootechniques et des mesures sur les foies des animaux ont été réalisées. Un traitement statistique par analyses de variance et test du Khi2 à l'aide du logiciel SAS a été appliqué. Les résultats ont montré des poids moyens à 35 jours similaires entre les deux groupes, 2 355g vs 2 344g respectivement pour T1 et T2. La consommation quotidienne moyenne d'aliments sur la période 0-35 jours n'a pas été significativement différente entre les deux traitements, 102,7 g/j/animal pour T1 vs 102 g/j/animal pour T2. Des indices de consommations moyens semblables de 1,54 ont été observés pour les deux traitements. Concernant les mesures hépatiques, un poids moyen de foie significativement inférieur a été observé pour le groupe T2 (51,3 g) par rapport au groupe T1 (55,4 g). Les performances de poulets supplémentés ont été similaires à celles du groupe témoin avec un avantage supérieur pour le mélange de plantes sur le fonctionnement hépatique. Ceci pouvant s'expliquer par la présence de phosphatidylcholine et surtout par l'activation de récepteurs, les PPAR α , impliqués dans de nombreux métabolismes. Des essais en nutriginomique ont récemment été réalisés et semblent confirmer ce mode d'action.

ABSTRACT

Effects of a polyherbal mixture as a substitute to synthetic choline on the performance of broilers.

The animals' needs in choline (Vitamin B4) are satisfied using choline chloride, synthetic molecule which can be hard to handle in feeds and in premixes due to its hygroscopicity and reactivity. The use of polyherbal mixtures as choline chloride substitute is common in Latin America and in certain regions of Asia. The objective of this trial is to test this substitution in farm conditions in France with the measurement of zootechnical performances of broilers until 35 days of age. Thus, 820 male broilers Ross 308 (10 repetitions, 410 animals per treatment) have been divided into a control group (T1) with choline chloride and an experimental group (T2) supplemented with the polyherbal mixture at the dosage of 1/5 of the level of chlorine chloride. Measures of zootechnical performances and measures on the liver of the animals have been realized. Statistical analysis by analysis of variance and Chi-Square tests using SAS software was applied. Results have shown similar average live weight at 35 days between the two groups, 2 355g vs 2 344g respectively. Average daily feed intakes on the period 0-35 days were not significantly different between the two groups, 102,7 g/day/animal for T1 vs 102 g/day/animal for T2. Similar feed conversion ratios of 1,54 have been observed between both treatments T1 and T2. Regarding hepatic measures, a significant lower liver weight was determined for the group T2 (51,3 g) in comparison with group T1 (55,4 g). The zootechnical performance of the supplemented broilers was similar to those of the control group with an additional benefit for the polyherbal mixture on the liver. This can be explained by the content of phosphatidylcholine and especially by the activation of receptors, the PPAR α , involved in diverse metabolisms. Some nutrigenomic trials have been recently conducted and seems to confirm this mode of action

INTRODUCTION

La choline est essentielle en nutrition animale pour son rôle dans le métabolisme lipidique et donc sur le fonctionnement hépatique (Saeed et al., 2017) mais aussi pour ses fonctions de donneur de méthyl (Zeisel, 2017). Même si les matières premières contiennent déjà un certain niveau de choline, une supplémentation est nécessaire chez les animaux d'élevage. Les besoins du poulet de chair Ross 308, selon Aviagen, sont de 1 700 mg/kg d'aliment de 0 à 10 jours, puis de 1 600 mg/kg d'aliment de 11 à 24 jours et enfin de 1 500 mg/kg d'aliment de 25 jours à l'abattage. Le chlorure de choline est la source la plus utilisée.

Cependant, le chlorure de choline est une molécule de synthèse dont l'utilisation peut s'avérer délicate. Son hygroscopicité et corrosivité compliquent sa manipulation. Son incorporation dans les premix affecte leur stabilité.

Des alternatives naturelles existent et sont utilisées sur d'autres continents. Leur utilisation en Europe fait l'objet de plus de réticence, les nutritionnistes ayant encore tendance à favoriser les solutions d'origine synthétiques. Parmi celles-ci, un mélange de plantes telles que *Azadirachta indica*, *Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Andrographis paniculata* s'avère être une solution intéressante prouvée par son efficacité démontrée dans de nombreux essais et par son utilisation à large échelle sur le terrain. Les aspects analytiques avec l'identification de molécules pouvant expliquer le mode d'action permet aussi de répondre à la demande des utilisateurs. Ces plantes contiennent de la choline sous sa forme naturelle estérifiée, la phosphatidylcholine et des composants (flavonoïdes, terpènes), également connus pour activer des

récepteurs situés sur diverses cellules de l'organisme, les PPAR α . Les PPAR α sont impliqués dans la régulation de l'expression de gènes codant pour les métabolismes énergétiques et lipidiques (Blanquart et al., 2004).

Cette étude a pour objectif de tester l'utilisation de ce mélange de plantes comme substitut du chlorure de choline en analysant l'effet sur les performances zootechniques de poulets de chair.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux

L'expérimentation a été conduite dans un élevage de poulets de chair des Côtes d'Armor en conditions commerciales. Les poussins mâles Ross 308 d'un jour (n = 820), issus du même lot de reproducteurs, ont été répartis de façon aléatoire au début de l'expérience en deux lots de 410 animaux. Chaque lot a été divisé en 10 répétitions homogènes de 41 mâles. Les poussins sont pesés à J0 et des analyses statistiques sont conduites pour garantir l'homogénéité entre les lots. Les animaux ont ensuite reçu deux programmes alimentaires spécifiques, T1 et T2.

1.2. Aliments

Les poulets ont suivi un programme alimentaire avec un aliment démarrage de 1 à 12 jours, puis un aliment croissance de 12 à 21 jours, un aliment finition 1 de 21 à 28 jours puis un aliment finition 2 de 28 jours à l'abattage soit 35 jours (Tableau 1).

Tableau 1. Composition et valeurs nutritionnelles des aliments suivant les phases d'élevage (en % de la formule)

	Démarrage (J1-J12)		Croissance (J12-J21)		Finition 1 (J21-J28)		Finition 2 (J28-J35)	
	T1	T2	T1	T2	T1	T2	T1	T2
Maïs	31,86	31,93	33,11	33,15	35,01	35,06	34,94	34,98
Blé	24,00	24,00	25,20	25,20	26,20	26,20	27,50	27,50
Huile de soja	3,60	3,60	3,60	3,60	3,70	3,70	4,10	4,10
DDGS de maïs			3,00	3,00	4,00	4,00	4,00	3,00
Soja	35,97	35,97	31,00	31,00	27,10	27,10	25,80	25,80
Lysine HCl	0,30	0,30	0,29	0,29	0,26	0,26	0,23	0,23
DL-Méthionine	0,36	0,36	0,30	0,30	0,25	0,25	0,22	0,22
L-Thréonine	0,12	0,12	0,09	0,09	0,07	0,07	0,06	0,06
Carbonate de Ca	1,10	1,10	0,90	0,90	1,00	1,00	0,9	0,9
Phosphate mono.	1,30	1,30	1,20	1,20	1,10	1,10	1,00	1,00
Premix	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25	1,25
Chlorure de choline 60% Natu B4®	0,100	0,020	0,075	0,015	0,075	0,015	0,050	0,010
Protéine brute (%)	21.8		20.4		19.0		18.5	
Matières grasses (%)	5.8		6.2		6.4		6.8	
E.M (kcal/kg)	2 993		3 046		3 085		3 130	
Méthionine Digestible (%)	0.64		0.57		0.51		0.47	
Lysine Digestible (%)	1.28		1.16		1.05		0.99	

L'aliment était présenté sous forme de granulés de 2,5 mm et était fabriqué par INRA (Pôle expérimental Avicole de Tours, 37380 Nouzilly). L'eau était distribuée à volonté.

Cette solution naturelle avait substitué totalement le chlorure de choline avec un taux d'inclusion correspondant à 1/5 de la dose de chlorure de choline soit entre 100 et 200 g/T d'aliment. Ce ratio entre le mélange de plantes et le chlorure de choline est le fruit d'une étude de bioéquivalence réalisée par Farina et al., 2017.

1.3. Mesures et analyses statistiques

Pour comparer les deux traitements, différents types de mesures et calculs ont été réalisés.

La mortalité a été enregistrée quotidiennement sur toute la période d'essai. Les animaux morts ont été pesés.

Les poids vifs moyens et les consommations d'aliments ont été mesurés globalement par parquet aux jours 0, 12, 24 et 28. A 35 jours, une mesure de poids a été réalisée individuellement sur les 820 animaux. Des autopsies ont été également réalisées au jour 35 sur 4 poulets par parquet. Les poids des foies ont été déterminés. L'indice de consommation a été calculé par parquet en tenant compte de la mortalité.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel SAS (v7.1, Inst. Inc. Cary, NC ; procédure GLM). Pour les poids vifs, les gains des poids et les indices de consommation, l'analyse de variance des données collectives (individu statistique étant le parquet de 41 animaux) avec effet fixe du traitement a été réalisée. La mortalité, donnée qualitative, ont été analysées par le test du Khi deux. Un risque de 5% a été choisi pour l'étude statistique.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Aucune différence significative n'a été observée pour la mortalité entre les deux groupes, elle était de 2,4 % et 2,7 % respectivement pour les groupes T1 et T2.

Comme le montre le tableau 2, il n'y a pas de différence significative entre les poids des poulets à 35 jours entre les deux groupes T1 et T2. Il en est de même pour le gain de poids moyen sur la période 0-35 jours qui est semblable entre les deux groupes.

L'indice de consommation, calculé par parquet (Tableau 2), est similaire entre les deux groupes T1 et T2.

Les performances zootechniques sont similaires entre les deux traitements T1 et T2. La substitution du chlorure de choline par le mélange de plantes testé dans nos conditions permet d'obtenir les mêmes niveaux de production.

Tableau 2. Performances¹ selon le lot

	Lot			P-value Lot	
	T1	T2	ETR ²		
Nb de parquets	10	10			
PV, kg	35 j	2,35	2,34	0,18	0,92
GMQ, g/j	0-35 j	66,30	65,90	0,24	0,98
IC	0-35 j	1,54	1,54	0,58	0,48

¹ Abréviations : PV, poids vif ; GMQ, gain de poids quotidien ; IC, Indice de Consommation

² Ecart-type résiduel de l'analyse de variance avec le lot en effet fixe

Concernant les paramètres hépatiques, le poids du foie des animaux supplémentés avec le mélange de plantes est significativement plus faible que ceux du traitement avec chlorure de choline (55,4 g vs 51,3 g, $P = 0,042$).

Le foie est un organe très important pour l'organisme, il est le centre de nombreuses activités digestives, métaboliques ou encore d'excrétions, toutes liées à la santé et productivité des animaux (Nie, 2015). L'observation de poids du foie inférieur pour le groupe T2 peut s'expliquer par la capacité des plantes à stimuler les récepteurs PPAR α (Rigano, 2017), récepteurs impliqués notamment dans le contrôle de gènes liés au métabolisme lipidique (Goto, 2010). Ainsi, le fonctionnement hépatique est amélioré et les graisses sont plus facilement transportées et non stockées dans le foie qui est donc plus léger. De plus, les graisses exportées depuis le foie sont utilisées comme source d'énergie par les autres organes. Une amélioration du transport des lipides au niveau hépatique signifie donc une meilleure valorisation des nutriments et par conséquent des performances zootechniques supérieures.

Le mélange de plantes testé dans nos conditions permet le remplacement total du chlorure de choline en apportant des bénéfices additionnels notamment sur le métabolisme hépatique. Cette solution se compose des plantes entières sans extraction, ainsi la totalité des actifs de chaque ingrédient est préservée. Or il a été souvent démontré qu'un extrait qui ne comporte qu'une partie des actifs présents dans une plante peut avoir des effets différents de celui de la plante entière (Ruhlen et al., 2008), et qu'un mélange de plantes peut aussi avoir des effets différents de celui de la plante entière.

CONCLUSION

Cette étude a donc mis en évidence la possibilité de remplacer totalement le chlorure de choline dans l'aliment par une association de différentes plantes que sont : *Azadirachta indica*, *Trachyspermum ammi*, *Achyranthes aspera*, *Andrographis paniculata*, incorporées dans les conditions de l'essai. Cette substitution n'impacte pas les performances de production des poulets de chair et semblent être bénéfique pour le fonctionnement hépatique.

Cette solution présente de nombreux avantages que ce soit en termes de bénéfices sur les performances zootechniques, en termes de facilité d'utilisation en usine et en formulation des aliments mais aussi d'un point de vue économique. Un retour sur investissement positif est donc attendu pour les fabricants d'aliments. le mode d'action de ce produit naturel. Il semble que l'action sur les PPAR α soit une piste à explorer plus en détails.

De plus, à l'heure où le consommateur est de plus en plus soucieux du bien-être des animaux et de la qualité de son alimentation, l'utilisation de substances chimiques est controversée. Même si le chlorure de choline n'est pas une des substances les plus décriées, sa synthèse n'est pas sans risques comme le montre par exemple une importante explosion ayant eu lieu en Chine en 2013. Ainsi l'utilisation substituts naturels diminuerait les risques liés à la synthèse chimique. De plus, le fait d'utiliser des produits basés sur les plantes, peut aussi être mis en avant auprès du consommateur notamment pour les aliments biologiques.

Ainsi, une solution naturelle peut être une alternative très intéressante à l'utilisation des molécules de synthèse. Des essais en nutriginomique ont été réalisés récemment pour en apprendre davantage sur

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Blanquart C, Fruchart J.-C., Staels B., Glineur C., 2004. Med Sci., 19-31.
 Farina G., Kessier A. et al., 2017. Cienc. Anim. Bras., Goiânia, (18), 1-14.
 Goto T., Takahashi N., Hirai S., Kawada T., 2010. Acta Pharmaceutica Sinica B, (4), 427-438.
 Nie C., Zhang W., Wang Y., 2015. J Zhejiang Univ Sci B. (6), 447-455.
 Ruhlen R., Sauter E., 2008. In: Botanical Medicine in Clinical Practice. Ronald. R. Watson, pp 402.
 Saeed M., Alagawany M., Asif Arain M., 2017. Journal of Experimental Biol. and Agri. Sci. (5), 589-598.
 Zeisel S., 2017. Nutrients, (9), 445-455.

PERFORMANCES DE POULETS DE CHAIR SUPPLEMENTÉS AVEC UNE XYLANASE SEULE OU EN COMBINAISON AVEC DES XYLO-OLIGOSACCHARIDES

González-Ortiz Gemma¹, Rousseau Xavière¹, Garcia Marta², Sanchez Jaime², Bedford Michael R.¹

¹AB Vista, 3 Woodstock Court SN8 4AN – Marlborough, Angleterre, ²Imasde Agroalimentaria, Pozuelo de Alarcon 28224 – Madrid, Espagne

gemma.gonzalez@abvista.com

RÉSUMÉ

L'objectif de cet essai était de déterminer l'influence de l'addition d'une xylanase (Econase XT, AB Vista) ou d'une combinaison xylanase + XOS (Signis, AB Vista) sur les performances de poulets de chair nourris avec un régime à base de blé. Six cents poussins mâles Ross 308 ont reçu un des 3 traitements : contrôle (CTR), CTR + 16000 BXU/kg de xylanase (XYL) et CTR + 16000 BXU/kg + XOS (SIG), élevés sur une litière sale et sans anticoccidien dans l'aliment. Chaque traitement a donc 8 répétitions de 25 animaux. Les aliments démarrage (0-14 j), croissance (15-28 j) et finition (29-42 j) étaient à base de blé et tourteau de soja avec un accès *ad libitum* à l'eau et l'aliment. Les performances telles que gain de poids et consommation ont été relevés pour chacune des périodes et l'indice corrigé par la mortalité (IC) calculé. Le facteur d'efficacité de production européen (EPEF) a été calculé pour l'ensemble de la période d'élevage. La xylanase et la combinaison xylanase + XOS ont amélioré le GMQ et l'IC à 14 jours relativement au CTR ($P < 0,005$). Bien que la xylanase a amélioré numériquement l'IC (1,805 vs 1,774) comparé au CTR, la combinaison xylanase + XOS a amélioré le GMQ de 119 g/animal ($P = 0,010$) et réduit l'IC de 12 points ($P = 0,002$) comparé au CTR. La combinaison xylanase + XOS (SIG) conduit à un meilleur EPEF (301) que celui du CTR (269), celui du régime xylanase (275) étant intermédiaire ($P = 0,014$). La supplémentation en xylanase associée au xylo-oligosaccharides a amélioré les performances plus que la xylanase seule. Ces résultats suggèrent que la combinaison xylanase +XOS agit en synergie en réduisant la viscosité, en améliorant l'absorption des nutriments et en stimulant la communauté bactérienne de l'intestin pour une production plus efficace d'acides gras volatiles.

ABSTRACT

Effects of xylanase alone or in combination with xylo-oligosaccharides on broiler chicken's performance

This trial was designed to determine the influence of adding xylanase (Econase XT, AB Vista) or a combination of xylanase and xylo-oligosaccharides (XOS) (Signis, AB Vista) on performance of broilers fed wheat based diets. Six hundred Ross 308 male broiler chicks were allocated to three experimental treatments: control diet (CTR), CTR with 16,000 BXU/kg of xylanase (XYL) and the CTR plus xylanase and XOS (SIG). The broilers were housed on reused litter and fed coccidiostat-free diets. Each treatment had eight replicates of 25 animals. Starter (0-14 d), grower (15-28 d) and finisher (29-42 d) diets, and water were available *ad libitum*. Performance was determined based on body weight gain (BWG), feed intake, feed conversion ratio corrected for mortality (FCR) and the European Production Efficiency Factor (EPEF). Although XYL numerically improved 42-d FCR (1.774 vs. 1.805 g/feed/g gain) compared to the CTR, SIG significantly improved FCR by 12 points ($P = 0.002$) and increased BWG by 119 g/bird ($P = 0.010$) compared with the CTR diet. SIG gave a better EPEF (301) than the CTR (269), with the XYL diet (275) being intermediate ($P = 0.014$). SIG thus improved broiler performance more than XYL alone did. These results suggest that the dual combination of xylanase and XOS may act synergistically to improve performance beyond that possible with a carbohydrase alone. This is probably achieved by reducing viscosity, improving nutrient absorption and stimulating the microbial communities in the gut to more efficiently produce volatile fatty acids.

INTRODUCTION

La supplémentation des aliments volailles en xylanase est devenue indispensable pour optimiser l'utilisation des nutriments (Aftab and Bedford, 2018). L'hydrolyse des arabinoxylanes solubles pour réduire la viscosité des digesta (Choct et al., 2004), couplée à l'abrasion des parois cellulaires des aliments (Bedford, 2018) et par conséquent la libération des nutriments encapsulés (Bedford, 2002), sont les mécanismes principaux de l'action des enzymes dégradant les polysaccharides non amylacés (enzymes PNA). La libération de xylo-oligosaccharides (XOS) suite à la dégradation des xylanes dans la partie distale du tractus gastro-intestinal (TGI) pourrait jouer un rôle prépondérant surtout pour les aliments non visqueux. Les effets bénéfiques des XOS sur les performances des poulets de chair peuvent être expliqués par la stimulation directe des bactéries produisant du lactate et du butyrate, avec une alimentation croisée entre ces bactéries : les premières alimentant les secondes (De Maesschalck et al., 2015). L'hypothèse repose sur la capacité des XOS à agir directement comme un prébiotique ou comme une molécule signal pour les bactéries dégradant la fibre. Il n'a pas encore été démontré que les XOS agissent directement comme un prébiotique ou qu'effectivement ils agissent comme une molécule signal pour le microbiote du TGI. Cependant, la quantité de XOS générés par les xylanases exogènes pourrait être suffisante pour participer à l'augmentation des concentrations en butyrate et autres acides gras à chaînes courtes (AGCC). Il est donc suggéré que les XOS produits par les xylanases agissent plus probablement comme des activateurs de bactéries spécifiques dans le TGI, plutôt que directement de façon quantitative comme un prébiotique. Quand d'autres types d'oligosaccharides fonctionnels sont supplémentés, la dose généralement recommandée excède les 1-2kg/tonne pour atteindre des bénéfices alors que les XOS sont bioactifs avec quelques grammes par tonne (Vázquez et al., 2000). L'hypothèse de cette étude est que la combinaison d'une xylanase et de XOS augmenterait les concentrations en XOS dans l'intestin pour un niveau de signal plus fonctionnel couplé à l'effet viscosité et abrasion des parois cellulaires de l'enzyme résulterait en des résultats améliorés comparés à un régime supplémenté uniquement en xylanase.

MATERIEL ET METHODES

Toutes les procédures expérimentales ont été réalisées dans le respect de la réglementation concernant les procédures expérimentales dictées par l'Union Européenne pour le traitement et l'utilisation des animaux pour la recherche (European Parliament, 2010). Six cents poussins mâles Ross 308 (poids moyen = 43.2g ±0.062) ont été alloués à un des 3 traitements expérimentaux : aliment contrôle (CTR), CTR avec 16 000BXU/kg de xylanase (XYL) (Econase XT, AB Vista) et le CTR + xylanase + XOS (SIG) (Signis, AB Vista). Les animaux ont été mis en place sur une litière réutilisée à 40% et nourris avec des aliments sans anticoccidien, antibiotique et sans aucun autre promoteur de croissance. Chaque traitement avait 8 répétitions de 25 animaux. Les aliments ont été formulés à base de blé, tourteau de soja et seigle pour couvrir ou excéder les besoins nutritionnels des poulets de chair pour les 3 phases de croissance (Tableau 1) : démarrage de 0 à 14 jours ; croissance de 15 à 18 jours et finition de 29 à 42 jours (FEDNA, 2008). Les aliments et l'eau de boisson ont été distribués *ad libitum*. Les aliments étaient sous forme de farine contenant 500 FTU/kg de phytase (Quantum Blue, AB Vista). Tous les aliments ont été analysés pour leurs activités xylanasiq ue et phytasiq ue par méthode ELISA (Enzyme Services & Consultancy, Innovation & Technology Centre, Ystrad Mynach, UK). Deux jours avant la mise en place, la cellule a été préchauffée à 34°C et maintenue à 32°C pour les 2 premiers jours. Puis, la température a été graduellement réduite de 3°C chaque semaine et maintenue à 22°C de 28 jours à la fin de l'essai. Les heures de jour ont été augmentées de façon journalière de 1h jusqu'à atteindre un cycle de 18h de jour et 6h de nuit.

Les animaux ont été pesés par parquet à 0,14,28 et 42 jours pour mesurer le poids moyen (PM) et calculer le gain de poids moyen cumulé (GM). La consommation a été déterminée par parquet et la mortalité vérifiée 2 fois par jour. Les poids des animaux morts ont été relevés pour ajuster l'indice de consommation (IC). De plus, le facteur d'efficacité de production européen (EPEF) a été calculé pour la totalité de la période expérimentale. A 14, 28 et 42 jours, la présence de sang dans les excréta a été visuellement enregistrée. Les données de performances des animaux ont été soumises à

une analyse de variance à 1 facteur avec le logiciel JMP 14 Pro (SAS). Le test non paramétrique de Wilcoxon a été utilisé pour la comparaison des taux de mortalité et la fréquence de sang dans les excréta entre les différents traitements. Les moyennes ont été séparées seulement quand la probabilité était significative puis en utilisant un test de plus petites différences significatives (LSD). La significativité est basée sur une valeur de P égal ou inférieur à 0.05.

RESULTATS ET DISCUSSION

Les valeurs analysées d'activité xylanase et phytasique dans les aliments étaient proches de celles attendues (données non montrées). La moyenne de mortalité était de $3.83 \pm 0.82\%$ et aucune différence n'a été observée entre les traitements expérimentaux par phase de croissance ou pour la totalité de l'essai (Tableau 2). Les PM à 14, 28 et 42 jours étaient de 377g, 1042g et 2197g respectivement, approximativement 31%, 34% et 27% en dessous des objectifs génétiques. Quelques facteurs prévisibles ont influencé la croissance dans cette étude. En effet, 40% de la litière était de la litière réutilisée d'un lot précédent qui était contaminé avec *Clostridium perfringens* et coccidie. Il est important de considérer que cet essai a été conduit en Septembre-Octobre 2017 dans le sud de l'Espagne où l'été est normalement très chaud et humide. Effectivement, durant cet essai les températures ont dépassé les 40°C. Le stockage de la litière en cette période de l'année peut favoriser la prolifération de pathogènes entériques soumettant les animaux à une épreuve pathologique. La fréquence des excréta contenant du sang augmentait avec l'âge, cependant aucune différence n'a été observée entre les traitements (données non montrées).

Les effets des traitements expérimentaux sur les performances de 0-14j, 0-28j et 0-42j sont présentés dans le tableau 2. La xylanase et la combinaison xylanase avec XOS (SIG) ont amélioré le gain de poids (32g/oiseau et 31g/oiseau, respectivement) et l'IC (14 et 15 points respectivement) comparés à l'aliment contrôle ($P < 0.05$) sur la période 0-14 jours. Aucune différence n'a été observée pour les premiers 14j concernant la consommation de l'aliment. Les traitements n'ont pas eu d'effets cumulatifs pour les phases de démarrage et croissance ($P > 0.05$), cependant il y a une augmentation numérique du gain de poids avec la combinaison xylanase avec XOS de 51g/oiseau

comparé au traitement contrôle. Si on considère l'entière période d'essai, bien que la xylanase améliore numériquement l'IC (1.805 vs. 1.774) comparé à l'aliment contrôle ($P = 0.355$), la combinaison xylanase et XOS améliore l'IC de 12 points ($P = 0.002$) et augmente le gain de poids de 119 g/oiseau ($P = 0.010$) comparé à l'aliment contrôle. La combinaison xylanase et XOS permet ainsi un meilleur EPEF (301 ± 6) que l'aliment contrôle (269 ± 5), l'aliment supplémenté en xylanase (275 ± 9) étant intermédiaire (Figure 1).

Dans cette étude, l'effet sur les performances de croissance de la xylanase seule ou en combinaison avec XOS a été étudié. Les animaux supplémentés avec la combinaison xylanase et XOS ont surpassé les performances des animaux supplémentés uniquement en xylanase. Un des mécanismes par lequel la xylanase améliore les performances est la réduction de la viscosité du digesta qui par conséquent résulte en une amélioration de l'utilisation de l'énergie (Choct et al., 2004). Dans notre étude, la viscosité des digesta n'a pas été mesurée mais il semble raisonnable d'assumer que cette dernière n'était pas faible et que la xylanase a pu réduire la viscosité via l'hydrolyse des arabinoxylanes solubles provenant du blé et du seigle. L'addition de la xylanase seule a dû augmenter la quantité de AGCC au niveau des caeca ainsi que la présence d'acide butyrique, suggérant qu'il y a aussi eu une génération *in situ* de XOS dans le TGI (Masey-O'Neill et al., 2014). La production de XOS par la xylanase dans l'intestin grêle et les caeca signale des groupes spécifiques de bactéries dégradant la fibre dans les caeca pour fermenter les fibres de façon plus agressive (Bedford, 2018; Bedford and Apajalahti, 2018), cependant cette capacité de fermentation peut prendre du temps pour se développer (Lee et al., 2017). La capacité limitée de fermentation dans la partie distale de l'intestin chez les jeunes animaux qui restreint leur capacité à dégrader la fibre a été récemment démontré (Bautil et al., 2018). Quand l'animal grandit, il développe un microbiote mature capable de produire des enzymes endogènes nécessaires à la dégradation de la fibre. Les effets bénéfiques de XOS sur les performances de croissance pourraient s'expliquer par une stimulation directe des bactéries produisant du butyrate et du lactate. Le lactate est fermenté en butyrate dans les caeca résultant en une amélioration des fonctions gastrointestinales et par conséquent de meilleures performances (De

Maesschalck et al., 2015). Toute augmentation de la concentration en butyrate a un intérêt puisqu'il représente la source d'énergie pour les cellules du colon et a une influence importante sur l'intégrité des cellules épithéliales (Lopetuso et al., 2013). Les animaux de cette étude ont été exposés à une épreuve pathologique, pour laquelle la combinaison xylanase et XOS a montré des bénéfices en termes de performance au-delà de l'utilisation de la xylanase seule. Ceux-ci pourraient être dus à des changements du profil de microbiote, entraînant une augmentation de la production d'acide butyrique et une amélioration dès le plus jeune âge de l'intégrité des cellules épithéliales des animaux. Par conséquent, la combinaison xylanase et XOS apparaît être une stratégie intéressante pour accélérer l'établissement d'un microbiote

spécifique pour améliorer la digestion de la fraction fibreuse.

CONCLUSION

La supplémentation en xylanase couplée à un xylo-oligosaccharide a amélioré les performances des poulets de cette étude plus que l'utilisation de la xylanase seule. Ces résultats suggèrent que l'association d'une xylanase et XOS conduit à des effets synergiques réduisant la viscosité, améliorant l'absorption des nutriments et stimulant les communautés microbiennes dans l'intestin. Celles-ci pourraient assurer une dégradation plus efficace de la fibre et produire des acides gras à chaînes courtes, améliorant les performances de façon plus marquée que l'utilisation d'une xylanase seule.

REFERENCES

- Aftab, U. and Bedford, M.R., 2018. The use of NSP enzymes in poultry nutrition : myths and realities. WPSJ, Volume 74, Issue 2, pp. 277-286.
- Bautil, A., J. Verspreet, J. Buyse, M. R. Bedford, and C. M. Courtin. 2018. Dietary arabinoxylan-oligosaccharides (AXOS) kick start arabinoxylan degradation in the ageing broiler. Proc. The XVth European Poultry Conference, Dubrovnik, Croatia, p. 37.
- Bedford, M. R. 2002. The role of carbohydrases in feedstuff digestion. Pages 319-336 in Poultry feedstuffs: supply, composition and nutritive value. . J. M. McNab, and K. N. Boorman eds.
- Bedford, M. R. 2018. The evolution and application of enzymes in the animal feed industry: the role of data interpretation. Brit. Poultry Sci.:1-8.
- Bedford, M. R., and J. Apajalahti. 2018. Exposure of a broiler to a xylanase for 35d increases the capacity of cecal microbiome to ferment soluble xylan. Proc. Poultry Science Association 107th Annual Meeting, San Antonio, Texas, US. E-Supplement 1. 98-99.
- Choct, M., A. Kocher, D. L. Waters, D. Pettersson, and G. Ross. 2004. A comparison of three xylanases on the nutritive value of two wheats for broiler chickens. Br. J. Nutr. 92:53-61.
- De Maesschalck, C., V. Eeckhaut, L. Maertens, L. De Lange, L. Marchal, C. Nezer, S. De Baere, S. Croubels, G. Daube, J. Dewulf, F. Haesebrouck, R. Ducatelle, B. Taminau, and F. Van Immerseel. 2015. Effects of xylo-oligosaccharides on broiler chicken performance and microbiota. Appl. Environ. Microb. 81:5880-5888.
- European Parliament. 2010. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 of September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. .
- FEDNA. 2008. Necesidades nutricionales para avicultura: pollos de carne y aves de puesta. Necesidades nutricionales para avicultura: pollos de carne y aves de puesta, Madrid, España.
- Lee, S. A., J. Apajalahti, K. Vienola, G. González-Ortiz, C. M. G. A. Fontes, and M. R. Bedford. 2017. Age and dietary xylanase supplementation affects ileal sugar residues and short chain fatty acid concentration in the ileum and caecum of broiler chickens. Anim. Feed Sci. Tech. 234:29-42.
- Lopetuso, L. R., F. Scalfaferrri, V. Petito, and A. Gasbarrini. 2013. Commensal Clostridia: leading players in the maintenance of gut homeostasis. Gut Pathog. 5:23.
- Masey-O'Neill, H. V., M. Singh, and A. J. Cowieson. 2014. Effects of exogenous xylanase on performance, nutrient digestibility, volatile fatty acid production and digestive tract thermal profiles of broilers fed on wheat- or maize-based diet. Brit. Poultry Sci. 55:351-359.
- Vázquez, M. J., J. L. Alonso, H. Domínguez, and J. C. Parajó. 2000. Xylo-oligosaccharides: manufacture and applications. Trends in Food Science & Technology 11:387-393

Tableau 1. Ingrédients et composition des traitements expérimentaux

	Démarrage (0-14j)	Croissance (15-28j)	Finition (29-42j)
Ingredient (%)			
Blé	59,80	65,73	66,87
Tourteau de Soja	29,98	21,64	17,86
Seigle	5,00	7,50	10,00
Huile	2,10	2,04	2,50
Sel	0,37	0,38	0,38
Limestone	1,29	1,12	0,90
Monocal Phos,	0,29	0,21	0,15
L-Tryptophan	0,01	0,00	0,00
Lysine HCl	0,25	0,39	0,38
DL-Methionine	0,28	0,29	0,26
Threonine	0,12	0,19	0,18
Vitamine & Premix Mineral *	0,50	0,50	0,50
Quantum Blue 5G	0,01	0,01	0,01
Composition calculée			
EM, kcal/kg	2950,00	3000,00	3050,00
Protéine brute, %	22,00	19,00	17,50
Calcium, %	0,90	0,80	0,70
Phos, %	0,60	0,54	0,51
P disponible, %	0,36	0,34	0,32
Matière grasse, %	3,61	3,55	4,00
Fibre brute, %	2,22	2,15	2,12
D Met+Cys, %	0,89	0,83	0,76
D Lys, %	1,20	1,10	1,00
D Tryp, %	0,25	0,20	0,18
D Thr, %	0,78	0,73	0,67
D Val, %	0,85	0,71	0,65
Na, %	0,16	0,16	0,16
Cl, %	0,34	0,37	0,38
K, %	0,88	0,75	0,69
Acid Linoléique, %	1,55	1,59	1,80

*Apporté par kg d'aliment: Vitamin A (E 672): 10000 IU; Vitamin D3 (E 671): 2000 IU; Vitamin E (a-tocopherol): 30.0 mg; Vitamin K3: 2.0 mg; Vitamin B1: 1.0 mg; Vitamin B2: 5.0 mg; Vitamin B6: 3.0 mg; Vitamin B12: 12.0 µg; Nicotinic acid: 40.0 mg; Calcium pantothenate: 10.0 mg; Folic acid: 1.0 mg; Biotin: 0.1 mg; Choline chloride: 400 mg; Cu (CuSO4·5H2O): 8.0 mg; Fe (FeCO3): 60.0 mg; I (IK): 2.0 mg; Mn (MnO): 70.0 mg; Se (Na2SeO3): 0.15 mg; Zn (ZnO): 80.0 mg.

Tableau 2. Performances des animaux

	CTR*	XYL*	SIG*	SEM	P-Value
0-14j					
Gain de poids, g/animal	313 ^b	345 ^a	344 ^a	5	0,002
Consommation, g/animal	469	470	463	6	0,898
IC, g/g	1,501 ^a	1,365 ^b	1,350 ^b	0,023	0,007
Mortalité, %	2,5	3,0	2,5	0,749	0,402
0-28j					
Gain de poids, g/animal	976	992	1027	12	0,180
Consommation, g/animal	1581	1630	1613	18	0,535
IC, g/g	1,623	1,648	1,573	0,019	0,303
Mortalité, %	2,5	3,0	3,5	0,843	0,628
0-42j					
Gain de poids, g/animal	2113 ^b	2117 ^b	2232 ^a	20	0,014
Consommation, g/animal	3812	3752	3762	30	0,711
IC, g/g	1,805 ^a	1,774 ^a	1,689 ^b	0,016	0,006
Mortalité, %	3,5	3,5	4,5	0,816	0,923

* CTR: aliment contrôle (CTR), XYL = CTR + 16 000BXU/kg de xylanase (Econase XT, AB Vista), SIG = CTR + xylanase + XOS (Signis, AB Vista).

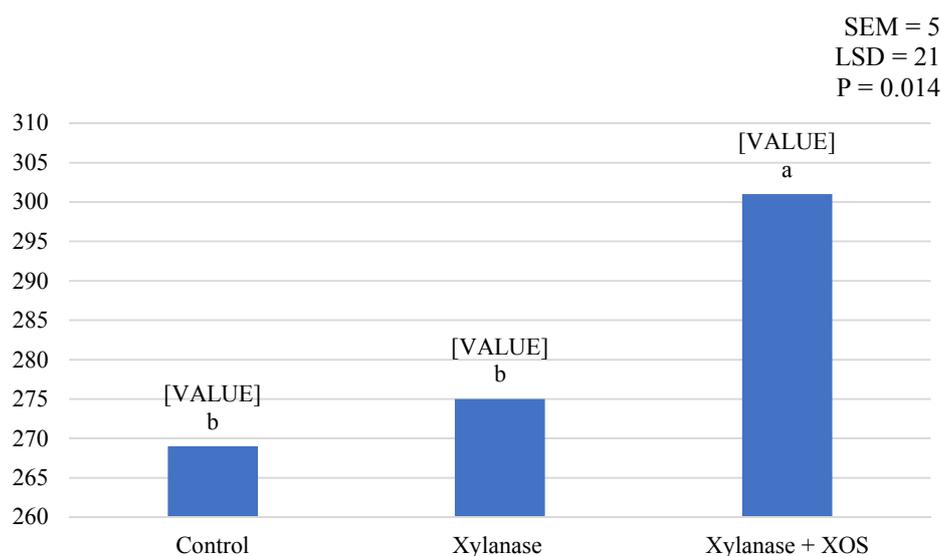


Figure 1. EPEF (European Production Efficiency Factor) (0-42j)

**UNE NOUVELLE SOURCE DE CAROTENOÏDES JAUNES NATURELS
ALTERNATIVE A L'ESTER ETHYLIQUE DE L'ACIDE APO-CAROTEINOÏQUE
(APO-ESTER) POUR LA PIGMENTATION DE LA PEAU DES POULETS DE CHAIR**

Castillo, Marisol¹, Cousin, Celine¹, Peris, Silvia¹ and Alleno, Christophe²

¹*Novus Europe S.A./N.V.- Edifici CEPID, Avda. Cambra del Comerç, 42,43204, Reus, ESPAÑA,* ²*Zootests, Parc technologique du zoopôle, 5 Rue Gabriel, Calloet Kerbrat, 22440 Ploufragan, FRANCE*

Marisol.Castillo@novusint.com

RÉSUMÉ

Des travaux précédents ont démontré que Colortek[®] Yellow, un pigment contenant 10% de caroténoïdes jaunes naturels, permet d'obtenir une coloration régulière et uniforme des jaunes d'oeuf, équivalente à celle obtenue avec le produit synthétique apo-ester, à une dose 1,25 fois celle de l'apo-ester. Ce nouvel essai a été réalisé pour étudier l'efficacité colorante de ce pigment jaune naturel à 10% sur la peau des poulets versus l'apo-ester. Un total de 1120 poussins mâles d'un jour a été réparti entre 8 traitements (140 oiseaux/traitement). Tous les oiseaux ont été nourris ad libitum avec un aliment de composition identique, sauf en ce qui concerne la source et la dose des caroténoïdes ajoutés, apo-ester à 12 et 25 ppm en démarrage et croissance, respectivement, ou un pigment jaune naturel dans un rapport de 1:1, 1:1,25 et 1:1,5 versus l'apo-ester pour les 2 périodes d'élevage. La canthaxanthine a été utilisée comme source de pigment rouge, à 2 et 5 ppm ; 8 traitements au total. La pigmentation des jarrets a été mesurée à J21 et J35 (nuancier de couleurs pour jaune d'œuf) et la couleur de la peau des filets a été évaluée à J35, sur 15 oiseaux par traitement (nuancier de couleurs pour poulet et colorimètre Minolta). Aucune différence statistique n'a été trouvée pour la consommation alimentaire et le gain de poids. Les oiseaux supplémentés avec le pigment jaune naturel à 10% à la dose de 1,5 fois celle de l'apo-ester ont montré une coloration significativement plus élevée des jarrets et de la peau des filets à J35 (6,29 et 102,2, respectivement ; P<0,001) que les autres groupes recevant la même source de caroténoïdes à plus faibles doses, et équivalente à la coloration du groupe apo-ester, en utilisant la canthaxanthine à 2 ppm (5,89 et 102,1, respectivement). Les résultats obtenus avec la canthaxanthine à 5 ppm ont été identiques pour tous les groupes. Ces résultats démontrent que le pigment jaune naturel à 10% à une concentration 1,5 fois celle de l'apo-ester permet de colorer les jarrets et la peau des filets du poulet de chair aussi bien que l'apo-ester, en combinaison avec la canthaxanthine, que ce soit à 2 ou 5 ppm.

ABSTRACT

A new source of natural yellow carotenoids alternative to apo-ester for broiler skin pigmentation

Previous studies demonstrated that the use of a Colortek[®] Yellow, a 10% natural yellow pigment, delivers a consistent and uniform coloration of egg yolks, equivalent to synthetic apo-ester, at a dose ratio of 1.25 versus this synthetic pigment. This new trial was designed to study the efficacy of this natural yellow pigment for broiler skin coloration versus apo-ester. A total of 1120 1-d-old male broiler chickens were divided into 8 treatments (140 animals/treatment). All the animals were fed ad libitum a diet with identical composition except source and level of supplemented carotenoids – apo-ester at 12 and 25 ppm for grower and finisher, respectively, or natural pigment at a ratio of 1:1, 1.25:1 and 1.5:1 versus apo-ester in both phases; canthaxanthin was used as a source of red pigment, at 2 or 5 ppm ; 8 treatments in total. Shanks pigmentation was measured at d21 and d35 (Egg Yolk Color Fan) and breast skin color at d35, on 15 animals/treatment (Broiler Color Fan and Minolta colorimeter). There were no statistical differences on growth and feed intake. Animals supplemented with 10% natural pigment at a ratio of 1.5 versus apo-ester showed a significantly higher coloration in shanks and breast skin at day 35 (6.29 and 102.2, respectively; P<0.001) than the other groups receiving the same carotenoids source at lower doses, and equivalent to the apo-ester group, when using canthaxanthin at 2 ppm (5.89 and 102.1, respectively). The results obtained for all the groups were similar when using canthaxanthin at 5 ppm. Results demonstrate that 10% natural pigment at 1.5 dose ratio versus apo-ester concentration equals the coloration of shanks and breast skin in broiler chickens versus apo-ester when combined with canthaxanthin, either at 2 or at 5 ppm.

INTRODUCTION

L'aspect visuel, en particulier la couleur, est la caractéristique la plus importante des aliments et joue un rôle majeur dans l'acceptation des consommateurs qui associent souvent la couleur des aliments avec le régime alimentaire, l'âge, l'état de santé des animaux et en conséquence la qualité des aliments.

Pour obtenir des volailles ou des œufs de la couleur désirée par les consommateurs, des caroténoïdes, en particulier, les xanthophylles (oxycaroténoïdes) sont couramment ajoutés dans l'alimentation des volailles.

Il existe plusieurs sources naturelles et synthétiques de pigments. Parmi les produits naturels, le souci (*Tagetes erecta L.*) et le paprika (*Capsicum annuum L.*) fournissent des sources riches en esters de lutéine et capsanthine, respectivement. Ainsi, la couleur de la peau des poulets de chair est obtenue par l'ajout aux régimes alimentaires de pigments caroténoïdes qui se déposent dans la peau et la graisse (Perez-Vendrell et al., 2001). L'efficacité en volaille d'une source de pigment naturel dépend de la quantité et disponibilité et nature chimique des xanthophylles présentes dans cette source. (DelgadoVargas, 1997).

Parmi les pigments synthétiques, la canthaxanthine, l'apo-ester et autres ont été développés et utilisés dans l'alimentation animale. La déposition des caroténoïdes en volaille est influencée par plusieurs facteurs : génétique, état de santé, mode d'élevage et nutrition (Surai et al., 2001), et la source et la dose des caroténoïdes dans l'aliment vont influencer la couleur finale du jaune d'œuf, des jarrets et peau du poulet.

À cet égard, COLORTEK® Yellow est une nouvelle source de caroténoïdes jaunes naturels qui a démontré apporter une pigmentation uniforme des œufs à une dose de 1,25 fois celle de l'apo-ester (Recherche interne Novus). Récemment, pour répondre aux tendances du marché recherchant de nouvelles alternatives aux pigments synthétiques, un essai visant à étudier l'efficacité de cette alternative naturelle pour la coloration des jarrets et de la peau des poulets de chair a été effectué en comparaison avec l'apo-ester.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1 Animaux et régimes alimentaires

Un total de 1120 poussins mâles d'un jour ont été répartis entre 8 traitements (140 oiseaux par traitement et 7 répétitions de 20 oiseaux pour chaque traitement). Dès le premier jour, tous les oiseaux ont été nourris ad libitum avec un aliment à base de blé et soja (sans caroténoïdes) démarrage (J0-J21) et croissance (J22-J35). La composition des aliments était identique à l'exception de la source et de la dose en caroténoïdes (8 traitements: D1 à D8, voir tableau 1). Le produit testé est une source naturelle de caroténoïdes issus d'une technologie de saponification

optimisée qui permet d'améliorer la bio-efficacité et la stabilité des caroténoïdes naturels, avec la lutéine et la zéaxanthine en tant que principes actifs (quantité minimale de xanthophylles totales de 100 g/kg).

L'essai a duré 35 jours et les oiseaux ont été abattus dans un abattoir commercial à un poids corporel moyen de 2,1 kg.

1.2. Contrôles

Au cours de l'expérimentation, les mesures suivantes ont été effectuées: mortalité (enregistrée quotidiennement); poids corporel et consommation alimentaire (moyenne par enclos) mesurés à J 0, 14, 21, 28 et 35; indice de conversion alimentaire (ICA) évalué à J 14, 21, 28 et 35; uniformité de chaque groupe expérimental évaluée à J35 par poids individuel; notation visuelle de la couleur des jarrets aux jours 21 et 35 sur des oiseaux vivants (15 oiseaux par groupe, au même endroit sur les deux mesures en utilisant un nuancier de couleur pour jaune d'œuf); la couleur de la peau des filets (après abattage et refroidissement) a été évaluée à 35 jours: 15 oiseaux / groupe en évaluant les carcasses à l'aide d'un nuancier de couleurs pour poulet (DSM ref: 51776) et d'un colorimètre Minolta ($L^*a^*b^*$), (la couleur des 2 filets (gauche + droite) a été évaluée); et l'indice européen de production (EPI) des 8 traitements a été calculé et comparé à 4 âges différents (J 14, 21, 28 et 35). EPI a été calculé comme suit: (gain de poids quotidien + viabilité) / 10 * ICA.

1.3. Lieu, installation et gestion des animaux

L'essai a été mené en collaboration avec Zootests (Ploufragan, France), dans une ferme expérimentale. Le bâtiment faisait 100 m², chaque enclos comportait un abreuvoir à tétine, et une mangeoire suspendus. La densité des oiseaux était de 16 poussins d'un jour/m². La litière était en copeaux de bois et le programme d'éclairage était le suivant: J0 à J7: 23 heures d'éclairage par jour avec une intensité lumineuse de 100%; J8 à J35: 20 heures d'éclairage par jour avec 30 à 40% d'intensité lumineuse. Tous les oiseaux ont été vaccinés contre la Bronchite Infectieuse: souche H120 (pulvérisation en aérosol) à J12 et J17 avec Gallivac IB88 (souche CR88121; pulvérisation en aérosol). Le même jour, les oiseaux ont été vaccinés contre la bursite infectieuse: Gallivac IBD

1.4. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SAS 9.4. Les paramètres quantitatifs (poids corporel, croissance journalière, consommation journalière, indice de conversion alimentaire, couleur des jarrets et de la peau) ont été analysés selon le modèle décrit: $X_{ijkl} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \delta_{ij} + E_{ijkl}$ avec X_{ijkl} comme trait mesuré, μ =moyenne, α_i =effet fixe de la

canthaxanthine, β_j =effet fixe du produit testé, γ_k =effet fixe du bloc, δ_{ij} =interaction canthaxanthine*produit testé et E_{ijkl} = résiduel. Les taux de mortalité et de réforme ont été analysés par test Khi^2 et régression logistique.

RESULTATS ET DISCUSSION

Aucune différence statistique n'a été trouvée pour la mortalité, le taux de réforme, le poids corporel (PC), la consommation alimentaire et le gain moyen quotidien (GMQ) ($p > 0,10$). Il a déjà été rapporté que la supplémentation en caroténoïdes n'affectait ni la consommation alimentaire ni le poids corporel (Fletcher et al., 1986; Pérez-Vendrell et al., 2001). La figure 1 montre le PC et le GMQ à l'âge de 35 jours en fonction de la source et du niveau de caroténoïde jaune. Cependant, il y avait un effet significatif du produit testé sur l'indice de conversion alimentaire cumulatif de 0 à 28 jours, avec une meilleure efficacité alimentaire pour la source naturelle testée à une dose 1,5 fois celle de l'apo-ester (18 ppm) (1,40 contre 1,43 respectivement, $p = 0,046$. Voir figure 2). Des études antérieures ont démontré que, bien que les caroténoïdes soient utilisés dans les aliments pour volaille à des fins de pigmentation, ils sont également impliqués dans d'autres processus tels que la croissance, le métabolisme et la fertilité (Schiedt, 1998). Shanmugasundaram et Selvaraj (2011) ont également signalé que la supplémentation en lutéine augmentait la production de dinde en diminuant les paramètres inflammatoires et en améliorant le statut oxydatif.

En ce qui concerne la pigmentation des jarrets, il y avait une amélioration significative de la coloration (plus d'orange) pour le produit testé à un ratio de 1,5 (18 ppm) par rapport à l'apo-ester (12 ppm) au 21^{ème} jour et égal à l'apo-ester au 35^{ème} jour (37,5 ppm pour le produit testé et 25 ppm pour l'apo-ester) (3,64 vs 3,43 au jour 21 respectivement et 6,48 vs 6,43 au jour 35 pour le produit testé et pour l'apo-ester, respectivement; figure 3; $p < 0,05$).

Dans notre étude, il y avait également un effet significatif sur la couleur de la peau des filets avec moins de rouge (a^*) et plus de jaune (b^*) pour la source naturelle testée à un ratio de 1,5, reflétée par un score du nuancier de couleur pour poulet de chair pour le produit testé (18 et 37,5 ppm en démarrage et croissance) et l'apo-ester (12 et 25 ppm en démarrage et croissance) (102,2 pour les deux groupes, voir la figure 3).

Bien que Blanch (1999) rapportait un ratio d'efficacité de pigmentation entre les xanthophylls naturels de tagetes et l'apo-ester de 3 :1, nous avons observé dans notre étude un ratio inférieur de 1,5 par rapport à l'apo-ester.

En ce qui concerne l'Indice de production Européen calculé au 35^{ème} jour, les meilleurs résultats ont été obtenus pour le produit testé à un ratio de 1,5 et l'apo-ester (18/37,5 ppm, 12/25 ppm en démarrage/croissance respectivement pour les 2 produits) (326 et 323 respectivement; $p=0,078$). La lutéine et la zéaxanthine, substances actives de la source naturelle testée, sont connues pour être stockées dans différents organes de l'organisme, tels que les organes et les cellules immunitaires, favorisant ainsi la santé des poulets de chair par leurs propriétés antioxydantes (Koutsos, 2002; Bédécarrats et Leeson, 2002). 2006; Selvaraj et al, 2006; et Meriwether et al, 2010).

Enfin, en ce qui concerne le niveau de caroténoïde rouge utilisé, 2 ou 5 ppm de canthaxanthine, les différents niveaux n'ont pas affecté les paramètres zootechniques. Cependant, il y avait un effet significatif de la canthaxanthine sur la coloration des jarrets (plus de couleur orange) chez les oiseaux recevant 5 ppm de canthaxanthine par rapport à ceux recevant 2 ppm aux 21^{ème} et 35^{ème} jour (3,92 contre 2,92 au jour 21, $p < 0,001$; 6,35 contre 5,69 au jour 35, $p < 0,001$). En outre, il existait une différence significative en ce qui concerne la luminosité et la rougeur de la peau des filets en fonction des niveaux de canthaxanthine dans le régime au jour 35 (L^* : 61,6 vs 62,1, $p=0,005$; et a^* : 1,3 vs 1,0, $p=0,007$; oiseaux recevant 5 vs 2 ppm de canthaxanthine respectivement). Il a été décrit que la canthaxanthine peut augmenter de manière significative le degré de pigmentation chez les poulets de chair lorsqu'elle est utilisée dans des régimes contenant des caroténoïdes jaunes (Marusich et Bauernfeind, 1981) et, de la même manière, Hinton et al. (1973) ont rapporté que la canthaxanthine utilisée en association avec des sources naturelles de pigments jaunes (farine de gluten de maïs, maïs jaune ou luzerne) entraînait une augmentation significative de l'intensité des pigments. Les oiseaux nourris avec 5 ppm de canthaxanthine ont présenté un indice de production européen plus élevé aux jours 21 et 35 par rapport à ceux nourris avec 2 ppm (324 contre 309; $p=0,029$).

CONCLUSION

Ces résultats démontrent que le pigment jaune naturel à 10% à une concentration 1,5 fois celle de l'apo-ester permet de colorer les jarrets et la peau des filets du poulet de chair aussi bien que l'apo-ester, en combinaison avec la canthaxanthine, que ce soit à 2 ou 5 ppm.

Ce rapport était plus élevé que celui démontré avec le même produit pour la coloration du jaune d'oeuf. Le métabolisme lent chez les poulets de chair pendant la période de forte croissance et le fait que les pigments se déposent dans des tissus non spécifiques (peau, jarret, etc.) peuvent expliquer ces résultats.

Table 1. Source et taux d'inclusion des caroténoïdes en ppm dans les aliments démarrage et croissance.

GROUPE	Aliment démarrage			Aliment croissance		
	Apo-ester	Produit testé	Canthaxanthine	Apo-ester	Produit testé	Canthaxanthine
D1	12		2	25		2
D2		12	2		25	2
D3		15	2		31,25	2
D4		18	2		37,5	2
D5	12		5	25		5
D6		12	5		25	5
D7		15	5		31,25	5
D8		18	5		37,5	5

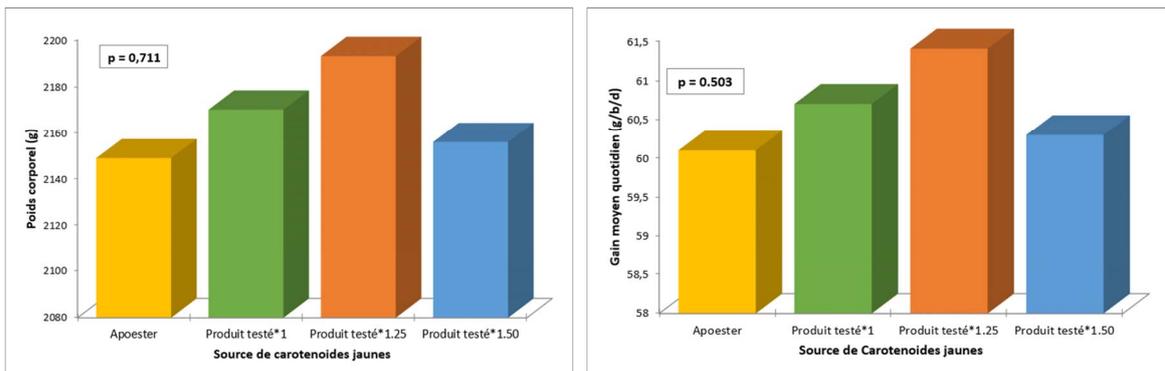


Figure 1. Poids corporel et gain moyen quotidien au jour 35 de la période d'expérimentation pour les différentes doses de caroténoïdes jaunes

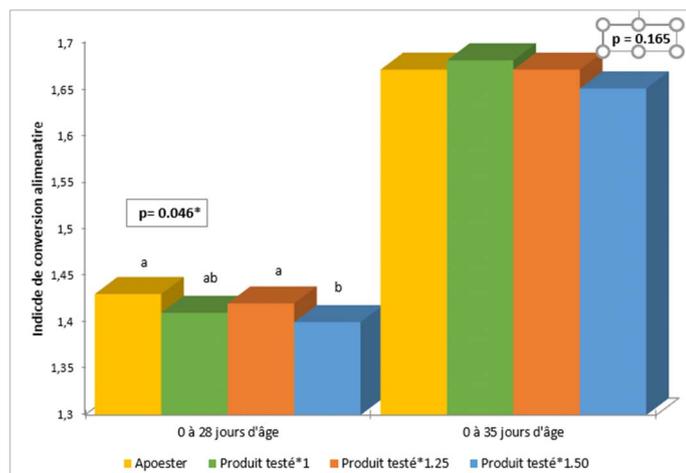


Figure 2. Indice de conversion alimentaire cumulatif de 0 à 28 jours et 0 à 35 jours pour les différentes dose de caroténoïdes jaunes

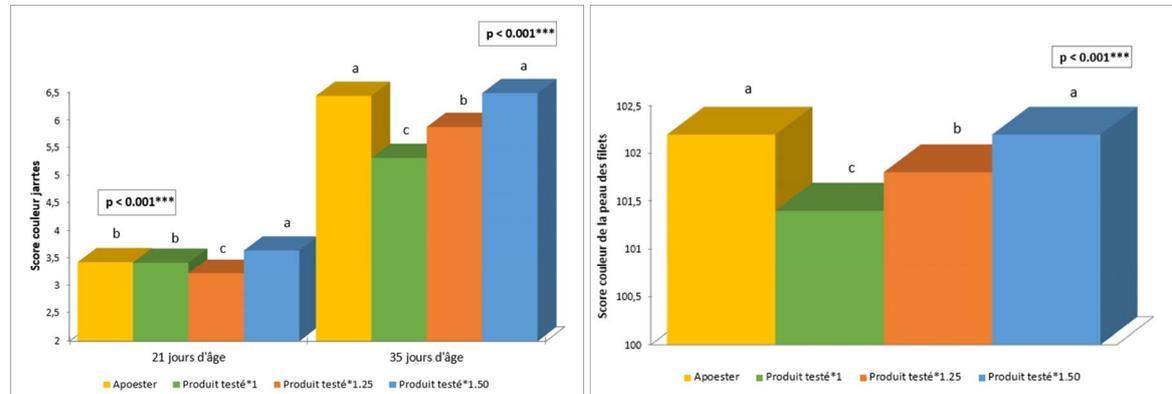


Figure 3. Notation visuelle au jour 21 et 35 de la couleur des jarrets et au jour 35 de la peau des filets pour les différentes dose de caroténoïdes jaunes.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bédécarrats G.Y., and Leeson S. 2006. Dietary Lutein Influences Immune Response in Laying Hens. *J. Appl. Poult. Res.* 15:183–189.
- Blanch, A. 1999. Getting the color of yolk and skin right. *World Poult.* 15:32–33
- Delgado Vargas, F. 1997. Pigments of the flower cempxuchitl (*Tagetes erecta*). Physiochemical characterization, processing, and pigmentation efficiency. Ph. D. Dissertation. National Polytechnic Institute, Mexico City, Mexico.
- Fletcher, D. L., Papa, C. M., Tirado, F. X. 1986. The effect of saponification on the broiler coloring capability of marigold extracts. *Poult. Sci.* 65 : 1708-1714.
- Hinton C. F., L. Jack, R. H. Harms. 1973. Subjective and colorimetric evaluation of the santhophylls utilization of natural and synthetic pigments in broilers diets. *Poult. Sci.* 52 : 2169-2180.
- Koutsos E. 2002. Carotenoids in avian immune systems. Dissertation, University of California, Davis (Original from Cornell University), 388 pages.
- Marusich W. L., Bauerfeind, J. C. 1981. Oxycarotenoids in poultry feeds. Pages 320-441 in *Carotenoids as colorants and vitamin A precursors*. J. C. Bauerfeind, ed. Academic Press, New York.
- Meriwether L.S., Humphrey B.D., Peterson D.G., Klasing K.C., and Koutsos E.A. 2010. Lutein exposure, in ovo or in the diet, reduces parameters of inflammation in the liver and spleen laying-type chicks (*Gallus gallus domesticus*). *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 94(5): e115-e122.
- Pérez-Vendrell A. M., Hernández, J. M., Llauradó, L., Schierle, J., Brufau, J. 2001. Influence of source and ration of xanthophyll pigments on broilers chicken pigmentation and performance. *Poultry Sci.*, 80 :320-326.
- Schiedt, K. 1998. Absorption and metabolism of carotenoids in birds, fish and crustaceans. Pages 285-358 in *Biosynthesis and metabolism. Carotenoids*. Vol 3. G. Britton, S. Liaaen-Jensen and H. Pfander, ed. Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland.
- Selvaraj R.K., Koutsos E.A., Calvert C.C., and Klasing K.C. 2006. Dietary lutein and fat interact to modify macrophage properties in chicks hatched from carotenoid deplete or replete eggs. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 90(1-2): 70-80.
- Shanmugasundaram R., and Selvaraj R. K., 2011. Lutein supplementation alters inflammatory cytokine production and antioxidant status in F-line turkeys. *Poult. Sci.*, 90 : 971-976.
- Surai P.F., Speake B.K., and Sparks N.H.C. 2001. Carotenoids in Avian Nutrition and Embryonic Development. 1. Absorption, Availability and Levels in Plasma and Egg Yolk. *J. Poult. Sci.*, 38:1-27.

EFFETS D'EXTRAITS DE PEPINS DE RAISINS SUR LES PARAMETRES METABOLIQUES CHEZ LES POULES REPRODUCTRICES

**Barbe Alix¹, Mellouk Namya¹, Ramé Christelle¹, Grandhayé Jérémy¹, Venturi Eric²,
Ciroto Marine², Staub Christophe², Petit Angélique¹, Anger Karine³, Chahnamian
Marine³, Ganier Patrice³, Callut Olivier³, Cailleau-Audouin Estelle⁴, Metayer-Coustard
Sonia⁴, Mairel François⁵, Riva Antonella⁵, Froment Pascal¹, Dupont Joëlle¹**

¹INRA, UMR085 Physiologie de la Reproduction et des Comportements PRC - 37380
NOUZILLY,

²INRA, Unité Expérimentale de Physiologie Animale de l'Orfrasière UEPAO - 37380
NOUZILLY

³INRA, Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours UEPEAT – 37380
NOUZILLY

⁴INRA, UMR Biologie des Oiseaux et Aviculture – 37380 NOUZILLY

⁵INDENA – 37095 TOURS

joelle.dupont@inra.fr

RÉSUMÉ

Les poules reproductrices de type chair, alimentées à volonté et sélectionnées pour une croissance rapide présentent un engraissement excessif entraînant des troubles musculaires et cardiaques. Afin de réduire cet engraissement, une restriction alimentaire est pratiquée en élevage. Cependant, cette pratique alimentaire est source de stress et génère de l'agressivité. Les Extraits de Pépins de Raisins (EPR), riches en polyphénols, ont été envisagés comme complément alimentaire pour réduire l'engraissement. Ainsi, 4 groupes ont été constitués : témoin (A), supplémenté avec 0,5% (B) ou 1% (C) d'EPR dès 4 semaines et supplémenté avec 1% dès la naissance (D). L'ingéré (mesure des refus) et le poids corporel ont été évalués ainsi que l'engraissement par échographie, de 4 à 40 semaines. Enfin le poids des descendants a été déterminé à l'éclosion et à 10 jours d'âge. Seul le groupe D présente une diminution significative du poids corporel sans variation de l'ingéré alimentaire. Dans ce dernier groupe, l'engraissement est diminué pendant la croissance et la pré-ponte. Par dosage plasmatique, nous observons aussi une diminution de la concentration en triglycérides. Les concentrations plasmatiques de cholestérol, de calcium et le niveau de stress oxydatif varient entre les groupes. Notamment, le stress oxydatif est significativement diminué dans le plasma des trois groupes supplémentés en EPR. En conclusion, une supplémentation de 1% d'EPR dès la naissance réduit la croissance et le stress oxydatif sans modifier l'ingéré. Enfin, la supplémentation en EPR augmente significativement le poids des descendants à l'éclosion (groupes B et D) et à 10 jours d'âge (groupes B, C et D) par rapport au groupe témoin (groupe A).

ABSTRACT

Effects of Grape Seed Extract on metabolic parameters in broilers breeder hens

Overfed hens selected for their rapid growth and fed with an *ad libitum* diet show an excessive fattening level and cardiac and muscular disorders. In order to reduce the fattening level, a restricted diet is used in breeding. However, this restricted diet induces stress and aggressive behaviour. Grape Seed Extract (GSE), rich in phenolic compounds, could be used as a supplementation to decrease the fattening level. Hens were divided in 4 groups: control (A), supplemented from the growth period with 0.5% (B) and 1% (C) of GSE and supplemented with 1% since the birth (D). The food intake, the body weight and the fattening level (by ultrasonographic examinations) were assessed from 4 to 40 weeks. Finally, the body weight of the offspring was determined for each group at the hatching and 10 days after. Only in D group, we observed a reduction in the body weight without alteration of food intake. The fattening level decreased during the growing period and before laying. We showed a decrease in the plasma triglyceride concentration. Moreover, the concentrations of plasma cholesterol, calcium and the oxidative stress level were variable according to the groups. Particularly, the oxidative stress level was reduced for all GSE supplemented groups. To conclude, a supplementation with 1% of GSE from the birth reduced the growth and the oxidative stress level without alteration of food intake. Finally, the GSE supplementation significantly increased the body weight of the offsprings at hatching (B and D groups) and 10 days after (B, C and D groups) as compared to the control group (A group).

INTRODUCTION

L'élevage des poules reproductrices de type chair est issu d'une sélection de la descendance tournée vers la recherche d'une croissance de plus en plus rapide. Cette sélection a engendré des répercussions sur les mères qui ont des niveaux de consommation ad libitum très importants engendrant un poids vif élevé, des difficultés à se déplacer, à se reproduire et souffrent de défaillances cardiaques ou respiratoires. Afin de résoudre ces différents problèmes, une restriction alimentaire est instaurée permettant de contrôler la quantité d'aliment ingéré. Cette pratique a provoqué l'apparition de comportement agressif et une augmentation du stress. Le stress engendre des problèmes de bien-être comme l'augmentation du piquage due au stress (Bowling et al., 2018) mais aussi des modifications de l'indice de consommation ainsi que des problèmes de développement des embryons, dépendant de l'alimentation maternelle. En effet, l'alimentation maternelle fournit des antioxydants naturels comme la vitamine E, des caroténoïdes et des minéraux qui sont transférés de la nourriture vers le jaune d'œuf et les tissus embryonnaires (Surai P et al., 2012). Les polyphénols sont connus pour leurs propriétés anti-oxydantes mais aussi pour leur capacité à réduire la prise alimentaire et l'engraissement (Pons et al., 2016). Ainsi, le pépin de raisin, riche en composés phénoliques et notamment en proanthocyanidines a été envisagé comme supplémentation afin de réduire, entre autre, l'engraissement des poules reproductrices. Les effets des EPR (Extraits de Pépins de Raisins) ont déjà été étudiés sur le syndrome métabolique chez différentes espèces. Ainsi, il a déjà été démontré que l'administration d'EPR chez le rat augmente l'absorption du glucose et diminue la concentration d'insuline (Akaberi et al., 2016). De plus, sur le tissu adipeux, les EPR stimulent la lipolyse et inhibent la lipogenèse. Enfin, chez différents modèles animaux, l'administration d'EPR diminue la concentration plasmatique des triglycérides et de cholestérol (Adisakwattana et al., 2010 ; Yamakoshi et al., 1999 ; Emiliano et al., 2011). Les EPR diminuent le stress oxydatif induit par un pontage coronarien, Plus précisément, nous nous sommes intéressés aux hormones sécrétées par le tissu adipeux, appelées adipocytokines. Ces hormones sont impliquées dans de nombreuses fonctions notamment le métabolisme énergétique. Des études précédemment réalisées dans notre laboratoire ont permis d'établir une corrélation entre une adipocytokine en particulier, la chémérine, avec le niveau d'engraissement (Mellouk et al., 2018). Nous émettons l'hypothèse qu'une supplémentation en EPR riche en polyphénols permettrait de diminuer l'engraissement des mères sans affecter leur croissance mais également celle de leurs descendants. De ce fait, nous avons établi un protocole *in vivo*, consistant à évaluer les effets de différentes concentrations de pépins de raisins, appliquées à 2 stades de croissance, sur l'ingéré, le poids et

l'engraissement mais aussi sur les concentrations plasmatiques de marqueurs métaboliques et des adipocytokines.

1. MATERIELS ET METHODES

Le protocole mis en place a reçu un avis favorable par le comité d'éthique (CEEA VdL, n°019) sous le numéro APAFIS#102376201706151202940 v3.

1.1. Les animaux

Trois cent vingt-quatre poussins femelles de type chair (Cobb500) ont été répartis, au sol, en groupe homogène d'environ 12 dans 27 parquets de 3m² et élevés au sein de l'Unité Expérimentale du Pôle d'Expérimentation Avicole de Tours (UEPEAT) selon les conditions classiques d'élevage.

1.2. Les régimes alimentaires

Du 1^{er} jour à la 4^{ème} semaine (période Démarrage), tous les animaux sont alimentés à volonté avec 2 régimes différents : témoin et EPR 1% du poids de l'aliment. A partir de la 4^{ème} semaine (période de Croissance), tous les animaux sont restreints selon la courbe de sélectionneur et les animaux du lot témoin sont séparés de nouveau en 3 lots : témoin (A, 8 parquets, n=92), supplémentés en EPR 0,5% (B, 7 parquets, n=80) ou 1% (C, 7 parquets, n=80) du poids de l'aliment depuis la croissance et supplémenté en EPR 1% depuis la naissance (D, 5 parquets, n= 72). La phase de distribution de l'aliment 'croissance' s'achève à la 18^{ème} semaine, de l'aliment 'pré-ponte' s'étend de 18 à 21 semaines et de l'aliment 'ponte', de 21 à 40 semaines. La quantité d'aliment donnée a été ajustée toutes les semaines par rapport à la croissance des animaux de 3 parquets de référence. Si présent, les refus d'aliment ont été pesés. Les EPR utilisés ont été fournis par la société Indena et sont conditionnés sous forme de poudre, mélangés ensuite à l'aliment habituel, selon les concentrations décrites précédemment. La composition des EPR a été évaluée par HPLC (High Performance Liquid Chromatography) et spectrophotométrie UV-visible. Il en ressort une teneur à plus de 90% en proanthocyanidines.

1.3. Mesures du poids et de l'engraissement

De la 3^{ème} à la 40^{ème} semaine, les poules ont été pesées à jeun toutes les 3 semaines et le niveau d'engraissement sous-cutané a été mesuré par échographie dorsale (MyLab 30 Gold Vet, Hospimed France, Saint-Crépin-Ibouwillers) au niveau du synsacrum (Mellouk et al., 2018).

1.4. Dosages plasmatiques

Les échantillons sanguins (n=324) ont été collectés au niveau du sinus occipital dans des tubes héparinés, toutes les 3 semaines. Le plasma a été récupéré, centrifugé (2500g pendant 10 minutes à 4°C) puis conservés à -20°C jusqu'à son utilisation. Les concentrations plasmatiques de cholestérol et de calcium ont été obtenues par dosage enzymatique et

colorimétrique respectivement à l'aide des kits CHOD-PAP (BIOLABO). Les concentrations de glucose, triglycérides et acide urique ont été obtenues à l'aide d'un automate ARENA 20XT (kit Glucose GOD-POD ThermoScientific, imprécision inférieure à 5% du CV total), kit Uric Acid AOX ThermoScientific, imprécision inférieure à 4% d CV total). Le stress oxydatif a également été déterminé à l'aide du kit Total Antioxydant Status de chez Randox (NX 2332, sensibilité 1,3 mmol/L).

1.5. Mesure des concentrations plasmatiques des adipocytokines

Les concentrations plasmatiques des adipocytokines ont été obtenues à l'aide des kits spécifiques poulet de chez My BioSource (#MBS738819 et #MBS016609 respectivement pour la chémérine et l'adiponectine). La sensibilité du test intra-lot est de 4,2 à 5,6% tandis que la sensibilité inter-lot est de 6,5 à 8,1% pour la chémérine (0,1 ng/ml). Pour l'adiponectine, la sensibilité du test intra- et inter-lot est inférieure à 10% (0,1 µg/ml).

1.6. Histologie du tissu adipeux

A l'âge de 20 semaines, le tissu adipeux abdominal a été collecté sur 8 animaux de chaque lot et fixé dans du paraformaldéhyde 4%. Après déshydratation et inclusion en paraffine, des coupes de 7 µm ont été obtenues puis les noyaux des adipocytes ont été marqués au DAPI puis comptés.

1.7. Mesure de l'expression des gènes de la lipogenèse dans le tissu adipeux

L'ARN total du tissu adipeux de 8 animaux âgés de 20 semaines de chaque lot a été extrait par homogénéisation dans le réactif TRIzol®. L'ADNc a été obtenu par transcription inverse comme décrit par Mellouk et al.(2018). L'expression de 4 gènes majeurs a été étudiée. PPAR γ (Peroxisome Proliferator-activated Receptor gamma) est un facteur de transcription de la famille des récepteurs nucléaires. Les ligands endogènes sont les acides gras et leurs dérivés. PPAR γ est aussi impliqué dans l'adipogenèse (Gervois et al., 2003). La protéine FAS (Fatty Acid Synthase) est constituée de plusieurs sous-unités catalytiques et est impliquée dans la synthèse des acides gras (Chirala et al., 2004). ACC (Acétyl-CoA Carboxylase) intervient dans la première étape de synthèse des acides gras en catalysant la carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA (Salati et al., 1996). La protéine SCD (Stéaroyl-Co1 désaturase) permet la synthèse *de novo* d'acides gras monoinsaturés à partir de d'acides gras saturés (Flowers et al., 2008). Les niveaux d'expression d'ARN messenger ont été normalisés à trois gènes de référence. Pour chaque gène, l'abondance relative de transcription a été déterminée par le calcul de e^{-Ct} , puis l'expression relative du gène d'intérêt est rapportée à l'expression relative du gène de référence.

1.8. Etude du poids corporel des descendants

La semence de 48 coqs (Cobb500) a été collectée et regroupée pour former un unique pool. Les poules ont été inséminées avec 200 millions de spermatozoïdes, à la 28^{ème} et la 33^{ème} semaine. Après chaque IA, les œufs ont été collectés tous les jours pendant 3 semaines et mis en incubation tous les 7 jours. Les descendants issus des 6 mises en incubation (MEI) ont été pesés à l'éclosion (J0) et au 10^{ème} jour (J10).

1.9. Analyses statistiques

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm SEM avec un niveau de significativité inférieur à 0,05. Le traitement des données statistiques a été réalisé à l'aide des logiciels SAS et StatView (version 4.5). Le logiciel SAS a été utilisé pour les tests ANOVA en données répétées pour comparer les moyennes de poids corporel et d'engraissement. Le logiciel StatView a été utilisé pour les tests ANOVA pour les analyses d'expression et le test de Student a été utilisé pour comparer les groupes.

2. RESULTATS

2.1. Effet de la supplémentation sur l'ingéré, le poids et l'engraissement de 4 à 40 semaines

Durant toute la période de 4 à 40 semaines, nous n'avons observé aucun effet significatif de la supplémentation sur la mortalité des animaux. En revanche, nous observons un effet significatif de la supplémentation sur le poids corporel (figure 1). Plus précisément le lot D a un poids corporel significativement diminué par rapport au lot A ($p < 0,0001$). Nous constatons une diminution de 6%. Pendant toute cette période, la pesée des refus indique que la consommation alimentaire entre les lots est identique. Pendant les phases de croissance et de pré-ponte, une réduction de 9% et de 7%, respectivement, ($p < 0,01$) a été observée pour ce même lot. En phase de ponte, le poids des poules est proportionnel à la dose et à la durée de distribution des EPR (-1% pour le lot B, -3% pour le lot C et - 4% pour le lot D).

Pour l'engraissement, il n'y a pas de différence significative au cours de la période de démarrage. Au cours de la croissance, il n'y a pas de différence avec le groupe témoin, cependant nous avons observé une diminution significative entre les lots C et D ($p < 0,0001$, réduction de 7% pour le lot D) et de la pré-ponte ($p < 0,05$, réduction de 7% pour le lot D). Cette diminution s'atténue durant la ponte. Par conséquent, les EPR ont un effet sur le poids corporel dès la phase de démarrage et jusqu'à la ponte. De plus, la supplémentation a un effet significatif sur l'engraissement pendant deux périodes importantes, la croissance et la pré-ponte (figure 1).

2.2. Effet de la supplémentation sur les concentrations plasmatiques de facteurs métaboliques et évaluation du stress oxydatif

Le statut antioxydant total a été mesuré. Lorsque l'on observe la période globale 4 à 40 semaines, tous les lots supplémentés présentent une diminution significative du stress oxydatif comparé au lot témoin (-7% pour le lot B, -8% pour le lot C et -13% pour le lot D). Pendant la croissance, le stress oxydatif est diminué pour les lots C et D (-20% pour le lot C et -25% pour le lot D). Pendant la ponte, le stress oxydatif est réduit dans les 3 lots supplémentés (-10% pour les lots B et C, -16% pour le lot D).

Pour la concentration en triglycérides, seul le lot D présente une diminution significative sur la période globale (-23%). Pendant la période de croissance et de pré-ponte, nous observons une réduction du niveau d'engraissement pour le lot D (fig 1), qui est cohérente avec la diminution significative de la concentration en triglycérides (-20% pendant la croissance et -32% pendant la pré-ponte). Au moment de la ponte (21-40 semaines), la concentration en triglycéride augmente drastiquement pour tous les groupes. La ponte est la période qui met en jeu une importante production d'acides gras qui permettront la formation de triglycérides et de phospholipides. Ces derniers constitueront le jaune de l'œuf et donc les réserves nutritives nécessaires au développement de l'embryon. Pour une même concentration, nous démontrons une influence de la durée de la supplémentation. En effet, bien que le groupe témoin soit intermédiaire, le niveau de triglycérides est significativement diminué pour le lot D comparé au lot C (-20%).

Pendant la période de 4 à 40 semaines, la concentration en cholestérol varie en fonction de la concentration. Une supplémentation de 0,5% d'EPR (lot B) induit une augmentation du cholestérol (+18%) tandis qu'une concentration de 1% d'EPR depuis la croissance (lot C) induit une diminution du cholestérol (-20%). Observation non retrouvée chez les animaux du lot D, qui ont reçu la même dose mais depuis la phase de démarrage. Un profil similaire est retrouvé pendant la croissance et la ponte (tableau 1). La concentration en calcium est augmentée pour le lot D comparée aux autres groupes, en phases de démarrage (+13%), croissance (+14%) et pré-ponte (+16%). Il n'y a pas d'effet de la supplémentation sur la glycémie.

2.3. Effet de la supplémentation sur les concentrations plasmatiques de 2 adipocytokines

La chémérine et l'adiponectine plasmatiques sont connues pour être corrélées avec le poids corporel chez les mammifères (Niklowitz et al., 2018 ; Cruz-Mejias et al., 2018). De 6 à 30 semaines, les animaux du lot D présentant une réduction du poids corporel, montrent une augmentation de la concentration en adiponectine, comparé au lot C. En revanche, la supplémentation n'a pas d'effet sur la concentration de la chémérine. Cependant, les facteurs de corrélation entre ces paramètres n'ont pas encore été réalisés.

2.4. Effet de la supplémentation sur la morphologie du tissu adipeux et l'expression des enzymes de la lipogenèse

Après marquage au DAPI des coupes de tissus adipeux issus de chacun des lots, nous observons un effet de la supplémentation sur le nombre de noyaux d'adipocytes ($p < 0,0001$). Plus particulièrement, le nombre d'adipocyte est diminué pour les 3 groupes supplémentés ($p < 0,0001$). De plus, à l'âge de 20 semaines (période Pré-ponte), nous observons un effet négatif de la supplémentation sur l'expression des enzymes de la lipogenèse telles que FAS ($p = 0,0001$), ACC ($p = 0,0019$) et SCD ($p = 0,0418$). L'expression de ACC diminue aussi pour les 2 lots supplémentés avec 1% d'EPR (A/C, $p = 0,0025$, A/D, $p = 0,0006$). L'expression de FAS diminue pour les lots supplémentés depuis la croissance comparée au témoin et diminue également entre les lots C et D supplémentés avec la même concentration. Enfin, l'expression de SCD varie selon le niveau de la supplémentation et diminue entre les lots B et C. L'expression de PPAR γ ne varie pas.

2.5. Effet de la supplémentation sur le poids des descendants

Les poussins issus de six mises en incubation ont été pesés. Les effectifs sont de 1153 poussins pour le groupe A, 1159 poussins pour le groupe B, 1114 poussins pour le groupe C et 804 poussins pour le groupe D. Un effet significatif a été observé pour les deux stades J0 et J10. A l'éclosion, le poids des poussins issus des poules des lots B (42,9 g) et D (42,6 g) est significativement supérieur aux poussins issus du lot témoin (lot A, 42,1 g). Le poids des poussins du lot C (42,4 g) n'est pas significativement différent de celui des poussins du lot A. A J10, le poids des poussins issus des mères supplémentées (lot B, C et D lot B : 201,3 g, lot C : 199,7 g, et lot D 204,8 g) est significativement plus élevé que celui des poussins issus des mères du lot témoin A (195,8 g). La supplémentation n'a pas d'effet sur le sexe ratio. Ces résultats sont observés en absence d'effet de la supplémentation en EPR sur le poids des œufs (*cf article JRA 2019 sur les effets d'extraits de pépins de raisins sur les paramètres reproductifs chez les poules reproductrices de souche chair*).

DISCUSSION-CONCLUSION

Notre hypothèse était que les EPR pourrait réduire l'engraissement des animaux. Nous avons démontré que les EPR influencent le poids corporel des poules reproductrices à chacune des étapes de démarrage, croissance, pré-ponte et ponte. Nous avons mis en évidence une inhibition de la prise de poids avec une supplémentation de 1% en EPR depuis la naissance. Cette diminution du poids corporel est associée à une limitation de l'engraissement bien que non significative à tous les stades, mais aussi à une diminution de la concentration en triglycéride

plasmatique pour ce même lot. L'analyse de l'expression d'enzymes spécifiques a permis de confirmer une inhibition du mécanisme de lipogenèse chez les individus supplémentés depuis la naissance avec une concentration d'EPR élevée (1%). De plus, nous avons observé une diminution du niveau d'engraissement pendant les 2 périodes importantes induisant des modifications du métabolisme énergétique, la croissance et la pré-poncte. La croissance met en jeu une production d'énergie nécessaire au développement de l'individu et la pré-poncte permet la mise en place des facteurs indispensables à la production des œufs (calcium, phosphore).

De plus, la supplémentation modifie les concentrations des facteurs métaboliques comme l'adiponectine, les triglycérides, les phospholipides, le cholestérol et le calcium. Ce dernier notamment est augmenté dans le lot D pendant le démarrage, la croissance et la pré-poncte. Pendant les 2 premières périodes, le calcium est utilisé pour la formation du squelette. Une analyse par scanner du volume osseux

est en cours. La concentration en calcium étant plus élevée dans le lot D, nous pouvons supposer une modification de la qualité de la coquille des œufs de ce lot.

En conclusion, une supplémentation en EPR permet de diminuer le stress oxydatif au niveau plasmatique. Une supplémentation de 1% d'EPR appliquée dès la naissance réduit la lipogenèse se traduisant par une diminution de la synthèse de triglycérides et une réduction du poids corporel. Cette supplémentation permet également une augmentation de la production de calcium. De façon très intéressante, nous avons montré qu'une supplémentation en EPR dans l'alimentation maternelle était capable d'augmenter le poids des descendants jusqu'à 10 jours d'âge, alors que cette même supplémentation induisait un ralentissement de la croissance des parents.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé à l'aide du financement PREVADI financé par la Région Centre Val de Loire (convention 2016-00108493).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adisakwattana S., 2010. J Med Plant Res., 4, 2113-2120.
- Akaberi M., 2016. Phytother Res., 30 (4), 540-56.
- Bowling M., 2018. Translational Anim Sci., 2 (3), 263-271.
- Chirala SS., 2004. Lipids., 39 (11), 1045-1053.
- Cruz-Mejja S., 2018. Nutr Hosp., 35 (4), 841-846.
- Emiliano AF., 2011. J Cardiovasc Pharmacol., 58: 319-328.
- Flowers MT., 2008. Curr Opin Lipidol., 19 (3), 248-256.
- Gervois P., 2003. Med Sci., 19(1), 20-22.
- Mellouk N., 2018. PLoS One., 13 (1) e0191121.
- Niklowitz P., 2018. Int J Obes., 42 (10), 1743-1752.
- Pons Z., 2016. Br J Nutr., 117, 200-208.
- Salati LM., 1996. New Comprehensive Biochemistry., Vol 31., 101-127.
- Surai P., 2016. Anim Nutr., 2 (1), 1-11.
- Yamakoshi J., 2002. Food Chem Toxicol., 40, 599-607.

Figure 1. Effet de la supplémentation en EPR sur le poids

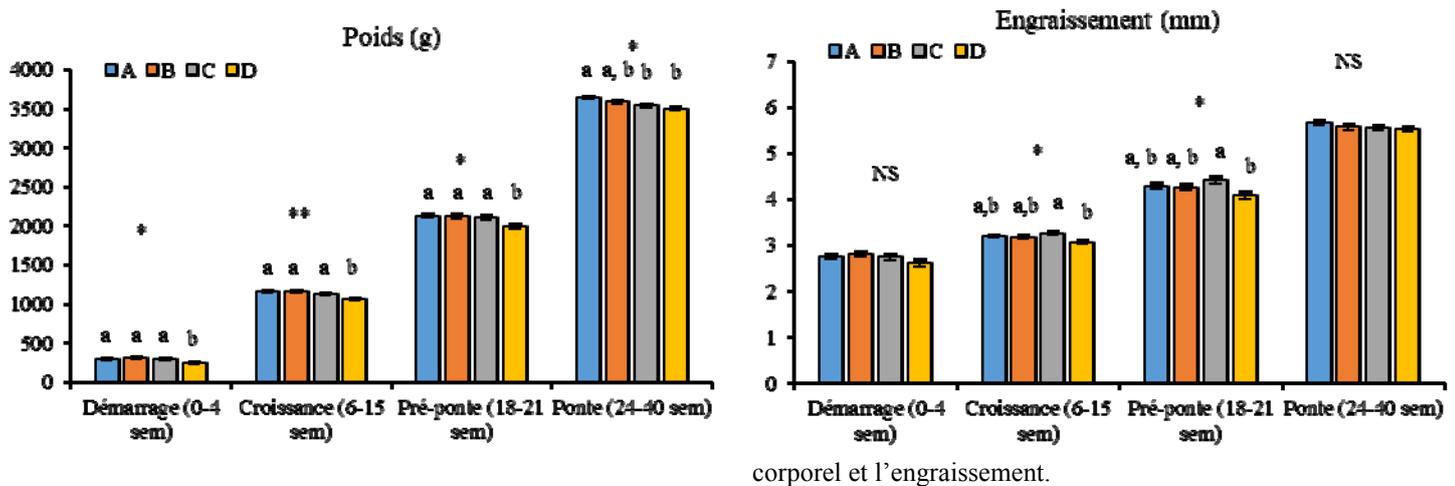


Tableau 1. Effet de la supplémentation en EPR sur le stress oxydatif et les facteurs métaboliques au niveau plasmatique. Les valeurs sont représentées selon des moyennes \pm SEM.

Périodes (semaines)	Lot	Stress oxydatif (mmol/L)	Triglycéride (g/L)	Cholestérol (g/L)	Calcium (mg/L)
0 à 40	A	0,847 \pm 0,02 ^a	8,67 \pm 0,98 ^a	2,01 \pm 0,03 ^a	123,85 \pm 6,74
	B	0,791 \pm 0,02 ^b	9,31 \pm 1,14 ^a	2,39 \pm 0,08 ^b	119,74 \pm 4,55
	C	0,779 \pm 0,02 ^{b,c}	9,62 \pm 1,12 ^a	1,61 \pm 0,05 ^c	127,26 \pm 7,38
	D	0,733 \pm 0,02 ^c	6,7 \pm 0,86 ^b	2,07 \pm 0,04 ^a	118,75 \pm 3,33
<i>P-value</i>	Régime	0,003	0,004	<0,0001	0,05
0 à 4 Démarrage	A	0,692 \pm 0,06	0,95 \pm 0,05	2,1 \pm 0,1 ^{a,b}	88,87 \pm 1,52 ^a
	B	0,821 \pm 0,07	0,84 \pm 0,03	2,51 \pm 0,26 ^b	91,82 \pm 2,18 ^a
	C	0,949 \pm 0,08	0,94 \pm 0,06	1,32 \pm 0,03 ^c	87,91 \pm 2,84 ^a
	D	0,824 \pm 0,07	0,83 \pm 0,03	1,98 \pm 0,12 ^a	100,77 \pm 4,03 ^b
<i>P-value</i>	Régime	0,14	0,13	<0,0001	0,009
6 à 18 Croissance	A	0,83 \pm 0,06 ^a	1,09 \pm 0,04 ^a	1,97 \pm 0,04 ^a	88,53 \pm 1,83 ^a
	B	0,86 \pm 0,06 ^a	0,89 \pm 0,02 ^b	2,65 \pm 0,21 ^b	93,59 \pm 2,26 ^a
	C	0,66 \pm 0,05 ^b	1,03 \pm 0,04 ^a	1,30 \pm 0,02 ^c	88,54 \pm 2,1 ^a
	D	0,62 \pm 0,04 ^b	0,88 \pm 0,02 ^b	2,18 \pm 0,1 ^a	100,85 \pm 1,67 ^b
<i>P-value</i>	Régime	0,002	<0,0001	<0,0001	<0,0001
18 à 21 Pré-ponte	A	0,9 \pm 0,09	1,22 \pm 0,05 ^a	1,78 \pm 0,05 ^{a,c}	86,47 \pm 3,16 ^a
	B	0,77 \pm 0,06	0,89 \pm 0,02 ^b	2,48 \pm 0,27 ^b	96,63 \pm 3,21 ^{b,c}
	C	0,84 \pm 0,08	1,04 \pm 0,03 ^c	1,40 \pm 0,07 ^c	89,33 \pm 3,12 ^{a,b}
	D	0,88 \pm 0,05	0,83 \pm 0,03 ^b	1,9 \pm 0,13 ^a	100,7 \pm 2,5 ^c
<i>P-value</i>	Régime	0,61	<0,0001	0,0002	0,007
21 à 40 Ponte	A	0,87 \pm 0,03 ^a	14,99 \pm 1,17 ^{a,b}	2,08 \pm 0,03 ^a	161,49 \pm 10,85
	B	0,77 \pm 0,02 ^b	16,62 \pm 1,39 ^a	2,22 \pm 0,06 ^b	148,45 \pm 6,79
	C	0,78 \pm 0,03 ^b	16,79 \pm 1,36 ^a	1,87 \pm 0,07 ^c	170,23 \pm 11,97
	D	0,73 \pm 0,03 ^b	11,73 \pm 1,13 ^b	2,08 \pm 0,03 ^a	138,69 \pm 5,12
<i>P-value</i>	Régime	0,001	0,02	<0,0001	0,08

EFFICACITE ALIMENTAIRE DES POULES PONDEUSES DANS UN ELEVAGE INDUSTRIEL DE PRODUCTION DES ŒUFS DE CONSOMMATION EN ALGERIE

Belaid-Gater Nadia., Kadi Si Ammar, Mouhous Azeddine, Tahir Lynda, Hamadache Malika.

*Faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques. Département des sciences agronomiques,
Université M. MAMMERIUN1501, Tizi-Ouzou. Algérie
kadisiammar@yahoo.fr*

RÉSUMÉ

En Algérie, la production des œufs de consommation couvre largement les besoins de la population (6,6 milliards d'unités produites en 2017 soit un ratio de plus de 156 œufs/habitant/an). Les charges alimentaires représentent plus de 60% du prix de revient dans les ateliers de production des œufs de consommation. De ce fait, le volet alimentation influence directement et la rentabilité de l'élevage et le prix de l'œuf sur le marché. C'est dans cette optique que nous nous proposons d'évaluer le niveau de maîtrise de ce volet par l'évaluation de l'efficacité alimentaire enregistrée sur une période de 15 années au niveau d'un centre d'élevage industriel spécialisé dans la région de Bouira en Algérie. La qualité des bâtiments, la mécanisation des opérations, l'importance des effectifs ainsi que la tenue à jour des enregistrements sont les critères qui ont motivés le choix de ce centre. Ce dernier est constitué de quatre bâtiments d'élevage ponte de type obscur contenant chacun cinq batteries à trois étages superposées. Les bilans de fin de bande (12 bandes : 8 de souche Tétra-SL, 3 souche ISA Brown et une de souche Hy-Line), les fiches hebdomadaires et les registres d'élevage ont été utilisés pour constituer la base de données contenant les performances d'un total de plus de 1,4 millions de poules (plus de 119 000 poules/bande). Un seul aliment est offert dès l'entrée en production sans passer par un aliment de transition souvent recommandé entre 18 et 22 semaines. Cet aliment est constitué à près de deux tiers par du Maïs complété par du Son de blé et du Tourteau de soja. La production/poule a été de $271,23 \pm 19,82$ œufs. La consommation moyenne d'aliment par sujet a été de $112,70 \pm 1,61$ g/poule/jour, la consommation moyenne d'aliment par cycle de $42,03 \pm 5,77$ Kg/poule et l'indice de consommation de $2,61 \pm 0,07$. Cet indice est largement supérieur à celui préconisé (2,15) dans le guide d'élevage des trois souches, ce qui influence négativement et la rentabilité du centre d'élevage et le prix de vente sur le marché locale.

ABSTRACT

Feed efficiency of laying hens in an industrial egg production farm in Algeria

In Algeria, the production of eggs for consumption covers largely the needs of the population. (6.6 billion units produced in 2017, a ratio of more than 156 eggs per capita per year) Feed costs represent more than 60% of the cost price in the egg production farms. As a result, the feed component directly influences the profitability of the farm and the price of the egg on the market. It is with this in mind that we propose to evaluate the level of control of this component by evaluating the feed efficiency recorded over a period of 15 years at a specialized industrial breeding center in the region of Bouira in Algeria. The quality of the buildings, the mechanization of operations, the size of the staff and the up-to-date records are the criteria that motivated the choice of this center. The latter consists of four dark-type breeding buildings, each containing five superimposed three-storey batteries. End-of-band (12 flocks: 8 Tetra-SL strain, 3 ISA Brown strain and one Hy-Line strain), weekly records and breeding records were used to form the database containing the performance of a total of more than 1.4 million hens (more than 119 000 hens / band). A single feed is offered from the start of production without going through a transition feed often recommended between 18 and 22 weeks. This feed is made up of nearly two-thirds of corn supplemented with wheat bran and soybean meal. Production/hen was 271.23 ± 19.82 eggs. The average feed consumption per subject was 112.70 ± 1.61 g / hen / day, the average feed consumption per cycle was 42.03 ± 5.77 kg / hen and the feed consumption index was 2.61 ± 0.07 . This feed conversion ratio is much higher than that recommended (2.15) in the breeding guide for the three strains, which negatively influences the profitability of the breeding center and the selling price on the local market.

INTRODUCTION

En Algérie, la production des œufs de consommation couvre largement les besoins de la population (6,6 milliards d'unités produites en 2017 soit un ratio de plus de 156 œufs/habitant/an). Cependant, cette filière se caractérise par une importante fluctuation des quantités produites dans le temps et dans l'espace mais surtout par une importante instabilité des prix sur le marché de cette denrée très demandée (Kaci et Cheriet, 2013). Les charges alimentaires représentent plus de 60% du prix de revient dans les ateliers de production des œufs de consommation (Larbier et Leclercq, 1992). De ce fait, l'alimentation influence directement et la rentabilité de l'élevage et le prix de l'œuf sur le marché.

C'est dans cette optique que nous nous proposons d'évaluer le niveau de maîtrise de ce volet par l'évaluation de l'efficacité alimentaire enregistrée, sur une période de 15 années, au niveau d'un centre d'élevage industriel spécialisé dans la région de Bouira en Algérie.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Bâtiment et conduite d'élevage

La qualité des bâtiments, la mécanisation des opérations, l'importance des effectifs ainsi que la tenue à jour des enregistrements sont les critères qui ont motivé le choix de ce centre. Il est doté de quatre bâtiments en préfabriqué de type obscur orientés vers le nord, d'une surface de 1296m² (12mx108m) chacun avec une hauteur de 2,8m. Chaque bâtiment est constitué d'un atelier de l'élevage et d'un sas sanitaire séparés avec un mur en tôle galvanisée. L'espace qui sépare les bâtiments est de 20m. Chaque bâtiment est doté de cinq batteries d'une largeur de 142m et l'espace entre batteries est de 85cm. Chaque batterie est conçue en trois étages superposés et équipée d'un dispositif automatique assurant l'alimentation, l'abreuvement et l'évacuation des fientes. La température est fixée à 21°C avec des limites de 18°C et 24°C où l'alarme est activée. La ventilation est dynamique de type unilatéral. Chaque bâtiment dispose de 140 ouvertures de secours en cas de canicule ou de défaillance du système de ventilation. Le système de refroidissement de l'air est de type pad cooling. L'éclairage est assuré avec des lampes de 40w, à raison de 150 par bâtiment (6 rangées de 25 lampes). Elles sont fixées à 2m du sol. L'espace entre les lampes est de 4m en longueur et de 1m en largeur. L'intensité lumineuse appliqué est de 20lux tout au long de la durée de production et contrôlée par un variateur situé au niveau du sas sanitaire. Tous les facteurs d'ambiance peuvent être maîtrisés à l'aide de l'armoire de commande placée au niveau du sas sanitaire. Les souches exploitées sont la Tétra-SL, la ISA Brown et la Hy-line. La poulette a pour origine cinq centres de production de poulettes démarrées.

Un seul aliment est distribué pendant toute la période de production. Il est à base de maïs, de tourteaux de soja, d'issues de meunerie et complété par du calcaire, du phosphate bi-calcique et du CMV. Chaque batterie dispose d'un chariot automatique relié au silo de stockage (d'une capacité de 20 tonnes) par un système de canalisation. La distribution se fait à raison de trois fois /j : à 8h, à 10h et à 14h. L'enregistrement de la consommation se fait à l'aide de balances reliées à l'armoire de commande. Le ramassage des œufs était automatique, il est devenu manuel durant les deux dernières années.

1.2. Recueil des données et paramètres étudiées

Le matériel de travail est constitué des bilans de fin de bande, des fiches hebdomadaires et des registres d'élevage archivées durant 15 années consécutives (1997 à 2012). Les données collectées sont saisies et organisées dans un tableur sur *Microsoft Office Excel*® 2013.

Les paramètres étudiés sont :

- effectifs mis en place.
- consommation par cycle de production
- consommation par poule/jour
- production d'œufs/poule présente
- indice de consommation

Le poids moyen de l'œuf utilisé dans les calculs est celui rapporté dans le standard des souches soit 62,5 g pour la Hy-Line, 59,25 g pour ISA BROWN et 63,3 g pour TETRA-SL

Les données des différentes bandes ont été regroupées pour avoir une vision globale des performances. Ensuite, elles ont été réparties en deux phases (8 premières années vs 7 dernières) dans le but d'étudier l'évolution des performances dans le temps. Le test ANOVA a été appliqué à l'aide du logiciel XLSTAT 2014.5.03.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

2.1. Performances globales

Les performances globales enregistrées durant les 15 années sont présentées dans le tableau 1.

2.2. Effectifs mis en place

Le nombre total de poules pondeuses mises en place durant les 15 années a été de 1,42 millions à raison d'une moyenne 122231,25± 7156,27 poules (Tableau 1). Il est à remarquer l'importante variabilité des effectifs qui s'explique surtout par une importante mortalité des poules pendant leur transport des centres de production des poulettes démarrées vers le centre de production des œufs de consommation. L'évolution des effectifs mis en place a été stable ($p=0,5410$; Tableau 2).

2.2. Consommation par poule par jour

Les quantités d'aliment consommées par poule par jour ont été en moyenne de 112,70 ± 1,61 g (Tableau 1). Ces consommations sont dans les normes de 100 à

120g/poule/jour préconisées par Van et al. (2006) et variant selon la souche, la qualité de l'aliment ainsi que la température environnante. Aussi, ces quantités n'ont pas variées significatives entre la première et la deuxième moitié de la période d'étude ($p=0,4759$; Tableau 2).

2.3. Consommation par cycle de production

La consommation moyenne globale par cycle a été de $42,03 \pm 5,77$ kg (Tableau 1). Elle a été quasiment stable et n'a pas évolué significativement ($p=0,6478$; Tableau 2).

Elle a été en moyenne de $43,67 \pm 6,84$ kg/poule dans la souche Tétr-SL, de $39,8 \pm 1,70$ dans la souche ISA Brown et de $42,7$ dans la souche Hy-Line.

On a noté une consommation importante pour les bandes 1, 2 et 10 ($54,5$; $48,8$ et $42,7$ Kg/poule respectivement) du faite de la durée de production plus longue, respectivement de 58, 64 et 62 semaines. Globalement, la différence du niveau de consommation observée d'une bande à une autre s'explique par la durée d'exploitation des poules en phase de production qui varie d'une année à une autre, par des problèmes pathologiques ainsi que les pannes de la chaîne d'alimentation. En effet, nous avons noté à travers l'étude des fiches techniques, l'irrégularité de l'approvisionnement en aliment mais aussi sa mauvaise présentation. Il est à noter que la durée de la phase de production préconisée par les guides d'élevages est de 63 à 72 semaines. D'après Pinceau et Morinière (2010), la moyenne consommée par une poule sur son année de ponte ne devrait pas dépasser 44 kg d'aliment.

2. 4. Production d'œufs par poule présente

Globalement, la production moyenne d'œufs par poule présente a été de $271,23 \pm 19,82$ (Tableau 1) pour une durée de production moyenne de 54 ± 6 semaines. Cette quantité d'œufs a été similaire et n'a pas évolué de la première à la deuxième moitié de la période d'étude ($p=0,4759$; Tableau 2).

Par souche, la production a été respectivement de 277 ± 38 , 285 ± 20 et 284 œufs/poule respectivement pour les souches Tétr-SL, ISA Brown et Hy-Line. Ces résultats restent inférieurs par rapport aux moyennes enregistrées sur les mêmes souches par Magdelaine et Conter (2006) en France (294 œufs/poule), en République Tchèque (310 œufs/poule) et en Pologne (315 œufs/poule) ainsi qu'à la moyenne rapportée par Jacquet (2010) pour la Wallonie en Belgique (323 œufs/poule). Il à noter la performance réalisée par la deuxième bande (Tétr-

SL) et dans laquelle la quantité moyenne d'œufs pondus/poule a été de 343 soit une production supérieure à celle préconisée par le guide d'élevage de la souche et qui est de 330 œufs/poule.

2. 5. Indice de consommation

L'indice de consommation correspond à la quantité d'aliment fourni à une pondeuse et nécessaire pour obtenir une quantité donnée d'œufs (Magdelaine et Conter, 2006). C'est le rapport qui permet d'évaluer l'efficacité alimentaire. Il correspond à la quantité d'aliment mis à la disposition de l'animal sur la quantité de produit obtenue. L'indice de consommation moyen calculé a été de $2,61 \pm 0,07$ (Tableau 1) et n'a pas évolué significativement dans le temps ($p=0,4388$; Tableau 2). Par souche, il a été de $2,59 \pm 0,1$, $2,57 \pm 0,1$ et $2,93$ respectivement pour Tétr-SL, ISA Brown et Hy-Line. Ces indices sont relativement supérieurs à celui (2,15) préconisé dans les guides d'élevages des souches utilisées et aux résultats rapportés par Magdelaine et Conter (2006) pour la France (2,11), l'Ile de Réunion (2,2) et le Maroc (2,44). Ils sont, par contre, meilleurs que ceux rapportés par les mêmes auteurs pour la Côte d'Ivoire (3,27) et le Sénégal (3,11). La variation des indices de consommation durant les quinze années est étroitement liée à la différence de production d'œufs par poule et la quantité d'aliment consommée. Cette dernière est plus élevée pour la production d'un œuf dans les conditions locales, ce qui affecte la rentabilité économique, sachant que l'aliment à lui seul constitue 70% du coup de production (Drogoul *et al.*, 2004).

CONCLUSION

L'efficacité alimentaire enregistrée dans ce centre industriel de production d'œufs de consommation sur une période de quinze années et un effectif global de 1,42 millions de poules est largement supérieur aux normes préconisées dans les guides d'élevage des souches utilisées. En ce sens, dans les conditions de production locales, la quantité d'aliment nécessaire pour la production d'un œuf de consommation étant trop élevée, la rentabilité de ce type de centre et par conséquent le prix de vente des œufs sur le marché local se trouvent affectés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Kaci A., Cheriet F., 2013. *New Medit*, 12:2, 11-21
 Larbier M., Leclercq B., 1992. INRA éditions, 368p.
 Drogoul C., Gadoud R., Joseph M., Jausseau R., Lisberny M., Mangeol B., Montmeas L., Tarrit A., 2004. Educagri Editions.312p.
 Jacquet M., 2010. Gembloux, Belgique : Filière Avicole et Cunicole Wallonne asbl.
 Magdelaine P., Conter A. 2006. *Science et Technique Avicoles*. N°56. 16-25.

Tableau 1. Performances globales enregistrées durant 15 années

Paramètres	Moyenne	Ecart Type
Effectif mis en place (poules)	122231,25	7156,27
Age d'entrée des poules en ponte (semaines)	21,49	0,99
Age des poules à la réforme (semaines)	76,60	3,73
Durée de ponte (semaines)	55,11	4,30
Taux de ponte moyen (%)	72,67	1,98
Consommation/poule/jour (g)	112,70	1,61
Consommation/poule/cycle (Kg)	42,03	5,77
Indice de consommation	2,61	0,07
Production/poule présente (œuf/poule)	271,23	19,82

Tableau 2. Evolution des performances des principaux paramètres liés à l'efficacité alimentaires

Paramètres	Partie 1 (8 premières années)	Partie 2 (7 dernières années)	<i>p</i>
Effectif mis en place (poules)	117843,83	120955,80	0,5410
Consommation/poule/jour (g)	112,30	115,81	0,4759
Consommation/poule/cycle (Kg)	40,06	40,00	0,6478
Production/poule présente (œuf/poule)	275	273	0,4759
Indice de consommation	2,59	2,60	0,4388

EFFET DE L'INCORPORATION DE DIFFERENTES SOURCES DE FIBRE SUR LES PERFORMANCES DE PONTE DES POULES PONDEUSES

L. Jeay¹, C. Margetyal¹, C. Launay¹, D. Coulmier²

¹NEOVIA - site de Chierry, rue de l'église - CS90019, 02402 CHATEAU-THIERRY

²DESIALIS - complexe agricole Mont Bernard, route de Suippes - 51007 CHALONS EN
CHAMPAGNE

ljeay@neovia-group.com

RÉSUMÉ

L'incorporation de coproduits riches en fibres répond aux attentes sociales (utilisation de matières premières locales, bien-être animal) mais elle reste encore atypique en poule pondeuse. L'objectif de cet essai a été d'étudier l'effet de l'incorporation de pulpes de raisin et de betterave à différents teneurs sur les performances de ponte de poules pondeuses de 41 à 47 semaines d'âge. Au total, 2160 poules pondeuses Lohmann Brown ont été réparties dans 6 traitements, chacun constitué de 18 répétitions contenant chacune 20 poules en cages aménagées. Les 6 traitements, iso énergétique et iso acides aminés, ont varié sur leur taux de fibre total (de 14,3% à 17,7%) et sur la nature des coproduits : absence de coproduits (augmentation de la fibre via les tourteaux), pulpe de raisin (de 5% à 10%) et pulpe de betterave (de 4% à 8%). La consommation d'aliment, le taux de ponte, le calibre, la masse d'œuf et l'indice de consommation ont été enregistrés hebdomadairement. L'analyse statistique utilisée est une analyse de la variance en mesures répétées, complétée par un test de Tukey au seuil de 5% via le logiciel R. L'incorporation de pulpe de raisin a entraîné une hausse de la consommation (1,9g/j ; NS) qui s'est traduite par une amélioration de tous les paramètres, quel que soit le niveau en fibre : +0,6 point de taux de ponte (NS), +0,7g de calibre (P<0,001), +0,9 point de masse d'œuf (NS) et -0,01 point d'indice de consommation (NS). L'incorporation de pulpe de betterave a entraîné une hausse de la consommation (2,2g/j ; P<0,041) qui se traduit par une dégradation de l'indice de consommation (+0,02 point ; P<0,005) et ce malgré une amélioration du calibre (+0,6g ; P<0,001) et de la masse d'œuf (+0,4 point ; NS). L'augmentation du taux de fibre de 3,4 points a entraîné une hausse de la consommation (taux de matière grasse plus important), une baisse de la masse d'œuf (1 point ; P<0,049) et une dégradation de l'indice de consommation (0,06 point ; P<0,001) mais a permis d'améliorer le taux d'œufs sales (-0,48 point ; P<0,041). Ainsi, moyennant un descriptif de formulation précis, il est possible d'envisager l'incorporation de pulpes de raisin et de betterave dans des régimes bas en fibre (14,3%).

ABSTRACT

Effect of fibers sources on laying hens performances

The incorporation of rich fiber co-products answers to social expectations (use of local raw materials, animal welfare) but is still atypical in laying hens. The objective of this trial was to study the effect of incorporation of grape and beet pulps at different contents on the laying performance of laying hens from 41 to 47 weeks of age. Globally, 2 160 Lohmann Brown laying hens were divided into 6 treatments, each containing 18 replicates, each containing 20 hens in a cage. The 6 treatments, iso energy and iso amino acids, varied on their total fiber ratio (from 14.3% to 17.7%) and on the nature of the co-products: absence of co-products (increase of fiber by cake), grape pulp (from 5% to 10%) and beet pulp (from 4% to 8%). Feed intake, laying rate, egg weight, egg mass produced feed conversion ratio were recorded weekly. The statistical analysis used is an analysis of the variance in repeated measures, completed by a Tukey test at the 5% threshold by R software. The incorporation of grape pulp led to an increase in feed intake (1.9g / d, NS), which resulted in an improvement of all the parameters, whatever the level of fiber: +0.6 point of laying rate (NS), + 0.7g of egg weight (P <0.001), +0.9g of egg mass produced (NS) and -0.01 point of feed conversion ratio (NS). The incorporation of beet pulp led to an increase in feed intake (2.2g / d, P <0.041), which resulted in a deterioration of the feed conversion ratio (+0.02 point, P <0.005), despite an improvement of egg weight (+ 0.6g, P <0.001) and egg mass produced (+0.4 point, NS). The increase in the fiber rate by 3.4 points led to an increase in feed intake (higher fat content), a drop in the egg mass produced (1 point, P <0.049) and a deterioration in the feed conversion ratio (0.06 point, P <0.001) but improved the rate of dirty eggs (-0.48 points, P <0.041). Thus, by means of a precise formulation description, it is possible to incorporate grape and beet pulps in low fiber diets (14.3%).

INTRODUCTION

Malgré l'apparition de nouveaux modes de consommation, l'augmentation continue de la population mondiale entraîne une augmentation croissante de la demande en produits d'origines animales et surtout en produits issus de la volaille. Cette hausse de la demande s'accompagne d'une hausse des besoins en matières premières d'origines végétales et d'une nécessité de maîtriser les coûts des formules alimentaires.

Pour certaines matières premières comme le maïs, source d'énergie couramment utilisée en volaille, cette hausse des besoins entraîne des situations de concurrence et de compétition avec notamment la consommation humaine et la production des biocarburants. L'ajustement des formules actuelles et la découverte de substituts aux matières premières traditionnelles sont donc nécessaires au vu de l'évolution du marché.

Les épluchures de racines et de tubercules (manioc, igname, patate douce, pulpe de betterave, pulpe de raisin) et de fruits (citron, banane, papaye) sont autant de nouvelles pistes pour l'alimentation des animaux.

L'incorporation de coproduits riche en fibres répond aux attentes sociales (utilisation de matières premières locales, recherche du bien-être animal) mais elle reste encore atypique en poule pondeuse. En effet, la pulpe de betterave n'est pas une matière première couramment utilisée en poule pondeuse en raison d'un apport en énergie métabolisable apparente faible (2665 kcal/kg ; Margetyal et al, 2017) et d'une consommation en eau excessive, qui peut conduire à l'humidification des litières. En poule pondeuse, aucune référence en pulpe de raisin n'est disponible. Quelques articles existent sur le raisin en lui-même et sur le marc de raisin.

L'objectif de cette étude a été d'étudier l'effet de l'incorporation de pulpes de raisin et de betterave à différentes teneurs sur les performances de ponte de poules pondeuses de 41 à 47 semaines d'âge.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Animaux et alimentation

Afin d'étudier l'effet de l'incorporation de pulpes de raisin et de betterave à différentes teneurs sur les performances de ponte, 2160 poules pondeuses Lohmann Brown Classic ont été réparties dans 2 batteries de 3 étages, suivies en station expérimentale. Au total, les 2160 poules pondeuses ont été réparties dans 108 cages aménagées, contenant chacune 20 poules. Chacun des 6 aliments testés a été distribué à 18 cages.

Les 6 aliments testés ont été différents par leur taux de fibre total (TDF) : 14,3 % pour les aliments bas en fibres (BF) et 17,7 % pour les aliments hauts en fibres (HF). Les fibres de l'aliment témoin HF ont été apportées par du tourteau de colza et du tourteau de tournesol. Pour les aliments pulpes, le niveau de pulpe de raisin (PR) a été envisagé à 5% et 10% et celui de la pulpe de betterave (PB) à 4% et 8%. Les aliments ont été iso énergétiques (2500 kcal/kg) et iso acides aminés (Tableau 2). Les aliments HF ont donc été également plus riches en matière grasse que les aliments BF. Les animaux ont reçu les aliments ad libitum, 2 fois par jour.

1.2 Contrôles et mesures

Les conditions d'ambiance ont permis d'assurer une température constante de 21,5°C tout au long de l'essai et une durée de jour de 16h (15 lux).

Les aliments ont été contrôlés sur la granulométrie de la farine grossière, le taux d'humidité, le taux de protéines, le niveau de calcium, celui de la matière grasse, les valeurs en fibres totales (TDF), insoluble (IDF) et soluble (SDF). Un profil Van Soest a été également réalisé afin de déterminer les niveaux de neutral detergent fiber (NDF), d'acid detergent fiber (ADF) et d'acid detergent lignin (ADL).

Le nombre d'œufs pondus, le poids moyen des œufs et le nombre d'œufs sales, cassés et anormaux ont été relevés pour chaque cage une fois par semaine, ainsi que la consommation d'aliment. Au total 20 poules par aliment testé ont été pesées individuellement en début et fin de l'étude. Une étude du poids des différents compartiments de l'œuf a été faite sur une trentaine d'œufs par aliment testé (pesée de l'œuf complet, du vitellus, de l'albumen, de la coquille) en semaine d'âge 47.

1.3. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée via le logiciel R (v 3.1.2). Tous les critères (consommation, taux de ponte, poids d'œuf, masse d'œuf produite et indice de consommation) ont été soumis à une analyse de la variance en mesures répétées (procédure lme de R). Une différence significative est obtenue pour une valeur de $P \leq 0,05$; une tendance pour $P \leq 0,15$ et un résultat non significatif pour $P > 0,15$. Pour les facteurs significatifs, les aliments testés ont été comparés deux à deux par un test de comparaison des moyennes de Tukey sur les moyennes ajustées des aliments testés.

Pour les critères poids vifs et composition des œufs, une analyse de la variance a été réalisée à l'aide d'une procédure GLM (logiciel SAS), complétée par un test de Tukey. Le seuil de significativité a été fixé à $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La conformité des aliments a été validée (Tableaux 1 et 2).

L'ajout de PB s'est accompagné d'une hausse de la consommation d'aliment de 2,2g/j ($P<0,041$), quel que soit le niveau d'incorporation de PB étudié (de 4% à 8%). Ceci n'est pas en accord avec les résultats de Azizi et Moradi (2017), qui ont montré en poule pondeuse que l'incorporation jusque 5% de PB n'impacte pas la consommation d'aliment. En caille ponte (*coturnix japonica*), Alagawany et Attia (2015) ont fait la même observation avec l'incorporation de PB jusque 4%.

Dans cette étude, l'ajout de PR (de 5% à 10%) a conduit à une consommation intermédiaire aux aliments sans coproduit ajouté (Témoin) et aux aliments contenant PB. L'augmentation du niveau de fibre total (de 14,3% à 17,7%) a eu un effet sur la consommation d'aliment (+1,5 points ; $P<0,001$) et cette différence a été moindre en valeur lorsque la fibre a été apportée par PR (pas d'interaction entre les facteurs : Tableau 3).

Les hypothèses suivantes ont été avancées pour expliquer ces résultats : surestimation de l'énergie des aliments contenant de la pulpe de betterave et impact positif de la matière grasse sur la consommation des poules pondeuses, les aliments hauts en fibres étant eux aussi plus riches en matière grasse.

L'ajout de PR a permis d'améliorer les taux de ponte de 0,9 point ($P<0,016$), comparés aux taux de ponte des aliments contenant PB. En revanche, les taux de ponte n'ont pas été améliorés par l'ajout de PB, comparés aux taux de ponte Témoin (différence non significative). D'après Alagawany et Attia (2015), l'incorporation de PB jusque 4% n'impacte pas le taux de ponte en caille ponte (*coturnix japonica*) tout comme Azizi et Moradi (2017) l'ont observé en poule pondeuse (incorporation de PB de 2,5% à 5%). En revanche, l'ajout de PB (de 2% à 4%) pendant la période d'élevage a un effet significativement négatif sur le taux de ponte (Guzman et al, 2016) ainsi que pour Almirall et al (1997) lorsque PB est incorporée à hauteur de 7% et 15%.

Dans cette étude, les aliments Témoin ont conduit à un taux de ponte intermédiaire aux aliments contenant des pulpes PR et PB. Un effet négatif du niveau de fibres sur le taux de ponte a été observé en tendance ($P<0,12$) : baisse de 1 point du taux de ponte pour une augmentation de 3,5 points du niveau de TDF. Ce résultat confirme les travaux de Dagher (1975) qui a démontré une diminution significative du taux de ponte à partir de 10% d'incorporation de PB.

Les poids des œufs ont été significativement supérieurs pour les aliments contenant des pulpes PB et PR, comparés aux aliments Témoin (+0,6 point et

+0,7 point respectivement ; $P<0,001$). En tendance, un léger effet négatif du niveau HF sur le poids des œufs a été observé (-0,3g ; $P<0,108$).

Ces résultats vont dans le sens des résultats publiés par Dagher en 1975 où l'incorporation de PB jusqu'à 20% n'a pas influencé le calibre des œufs (effet négatif à partir de 30% d'incorporation). Il en est de même pour Almirall et al (1997) lorsque PB est incorporée à hauteur de 7% et 15%. Enfin et plus récemment en poule pondeuse, Azizi et Moradi (2017) ont démontré que l'incorporation jusque 5% de PB n'impacte pas le calibre des œufs, résultat cohérent avec celui obtenu au cours de cette étude (4% de PB). En caille ponte (*coturnix japonica*), Alagawany et Attia (2015) ont fait le même constat avec l'incorporation de PB jusque 4%.

Les masses d'œuf produites ont été significativement supérieures pour les aliments contenant PR comparées aux aliments contenant PB (+0,7 point ; $P<0,005$). Cette moindre masse d'œuf produite avec l'incorporation de PB a été observé essentiellement au cours des 3 dernières semaines de l'étude, et ceci a été plus marqué avec le taux de PB élevé (8%).

Les aliments BF ont eu des masses d'œuf produites significativement supérieures aux aliments HF (+1 point ; $P<0,049$).

En poule pondeuse, l'incorporation jusque 5% de PB n'impacte pas la masse d'œuf produite (Azizi et Moradi, 2017), ce qu'observent également Alagawany et Attia (2015) en caille ponte (*coturnix japonica*) jusque 4% de PB.

Les indices de consommation ont été significativement meilleurs pour les aliments contenant PR et les aliments Témoin, comparés aux aliments contenant PB (-0,03 et -0,02 point respectivement ; $P<0,005$). Ces résultats sont dus aux 3 dernières semaines de l'étude. On peut noter que cette dégradation d'indice avec PB été plus marquée avec l'aliment riche en fibre (incorporation à 8%). Ces résultats confirment les travaux de Dagher (1975) qui a démontré une dégradation significative de l'indice de consommation à partir de 10% d'incorporation de PB. On peut avancer l'hypothèse que le taux de fibres solubles plus élevé ait modifié : 1. la viscosité du contenu digestif et son accessibilité par les enzymes digestives, réduisant l'efficacité alimentaire, 2. la vitesse de transit et 3. la flore intestinale. En poule pondeuse, l'incorporation jusque 5% de PB n'impacte pas l'indice de consommation (Azizi et Moradi, 2017), ce qu'observent également Alagawany et Attia (2015) en caille ponte (*coturnix japonica*) jusque 4% de PB.

Dans cette étude, les aliments BF ont eu des indices de consommation significativement meilleurs comparés aux aliments HF (-0,06 point ; $P<0,001$).

Quel que soit le critère de déclassement des œufs (cassés, sales, anormaux), la forme d'apport de pulpe n'a pas eu d'effet identifiable sur la qualité de l'œuf.

En revanche, la quantité de fibre présente dans l'aliment a eu un impact sur la qualité de la ponte. Les aliments BF ont eu un taux d'œufs cassés significativement inférieur aux aliments HF (-0,52 point ; $P < 0,032$). Une tendance a également été observable sur le taux d'œufs anormaux (p-value de 0,12). En revanche, les aliments BF ont eu un taux d'œufs sales significativement supérieur aux aliments HF (+0,48 point ; $P < 0,041$).

L'utilisation des moyennes ajustées n'a pas permis d'observer de différences significatives de poids vif entre les différents produits et les différentes teneurs au cours de cette étude. Ce résultat est confirmé par les travaux d'Azizi et Moradi (2017) en poule pondeuse (incorporation PB de 2,5% à 5%) où aucun effet négatif de l'incorporation de PB n'est observé sur le poids vif. Les résultats sont contradictoires avec ceux relevés en caille ponte (*coturnix japonica*). D'après Alagawany et Attia (2015), l'incorporation de PB à 4% impacte négativement le poids vif ($P < 0,001$). De même, d'après Dagher (1975), l'incorporation de PB à partir de 10% affecte de façon significative le poids vif des poules pondeuses.

Les gains de poids ont été significativement supérieurs pour les aliments Témoin et ceux contenant PR comparés aux aliments contenant PB.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alagawany, M., & Attia, A., 2015. Avian Biology Research, 8(2), 79-88.
 Almirall, M., Cos, R., Esteve-Garcia, E., & Brufau, J., 1997. British poultry science, 38(5), 530-536.
 Azizi, P., & Moradi, S., 2017. Animal Production Research, 6(4).
 Dagher, N. J., 1975. Poultry Science, 54(6), 2127-2130.
 Guzmán, P., Saldaña, B., Bouali, O., Cámara, L., & Mateos, G. G., 2016. Poultry science, 95(8), 1836-1847.
 Margetyal, C., Omphalius, C., Launay, C., & Coulmier, D., 2017. 12èmes J.Rech. Avic., Tours.
 Nobakht, A., & Hamed Oghulbeyk, A. A., 2014. Animal Sciences Journal.

Concernant la composition des œufs, aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les différentes pulpes et les différentes teneurs que ce soit sur la proportion de jaune, de blanc et de coquille de l'œuf. Une tendance a été observée sur la proportion de coquille (BF>HF ; p-value de 0,12).

Nobakht et al. (2014) ont observé l'intérêt de l'incorporation de 4% de PB sur la coloration du vitellus, l'épaisseur de la coquille (réduction de la fragilité de la coquille), l'albumen, le vitellus et la fraîcheur de l'œuf (unité Haugh). Cet effet sur la coloration du vitellus est confirmé par Azizi et Moradi (2017) avec une amélioration de cette coloration lorsque 5% de PB sont incorporés à un aliment standard ($P < 0,001$).

CONCLUSION

Moyennant un descriptif de formulation précis et en fonction des effets recherchés, il est possible d'envisager l'incorporation de pulpes de raisin et de betterave dans des régimes bas en fibre (14.3% TDF).

REMERCIEMENTS

Nous remercions Estelle Picard, assistante R&D et Richard Louis, technicien, au Centre de Recherche en Zootechnie Appliquée (CRZA) ainsi que le reste de l'équipe pour leur concours.

Tableau 1. Valeurs nutritionnelles des pulpes de raisin et de betterave

Valeurs analysées		
	PR	PB
Matière sèche (% brut)	89.6	88.0
Protéine (% sec, Dumas)	12.9	8.0
Matière grasse (% sec, hydrolyse)	3.7	0.8
Cellulose (% sec, Weende)	16.9	18.8
NDF (% sec, Van Soest)	50.1	44.6
ADF (% sec, Van Soest)	41.0	21.1
ADL (% sec, Van Soest)	28.4	2.2
TDF (% sec)	56.2	69.5
SDF (% sec)	6.2	14.1
IDF (% sec)	47.9	51.9

PR : pulpe de raisin, PB : pulpe de betterave

Tableau 2. Composition (%) des aliments et principales caractéristiques nutritionnelles

Valeurs analysées						
	BF	PR/BF	PB/BF	HF	PR/HF	PB/HF
Maïs	50.40	49.67	50.66	29.62	30.37	40.52
Blé	7.93	8	7.5	20	19	10
Blé son	3	-	-	5	-	-
T. Soja 48	19.5	22	22.5	12	16	18
T. Tournesol 28	7	2.8	3	12.3	2.9	3
T. Colza	-	-	-	7	7	7
Huile de colza	0.75	1.2	0.5	2.9	3.8	1.8
Pulpe de betterave	-	-	4	-	-	8
Pulpe de raisin	-	5	-	-	10	-
Premix, minéraux et acides aminés	11.42	11.33	11.84	11.18	10.93	11.68
Energie métabolisable (kcal/kg)*	2506	2497	2526	2492	2498	2527
Protéine (%)	16.3	17.2	16.8	17.4	17	16.8
TDF (%)	12.5	15.3	15.8	19.3	19.2	18.4
Fibres insolubles (%)	12.4	14.0	14.3	16.0	16.4	17.6
Fibres solubles (%)	1.6	1.6	1.6	2.0	2.1	2.3

PR : pulpe de raisin, PB : pulpe de betterave, BF : bas en fibre, HF : haut en fibre

* Valeurs théoriques

Tableau 3. Performances de ponte de l'essai mené sur poule pondeuse

Pour une ligne donnée, les moyennes non suivies des mêmes lettres sont significativement différentes.
Les résultats sont les moyennes des différents traitements plus ou moins l'écart type.

	Absence coproduit (Témoïn)	Pulpe de raisin	Pulpe de betterave	Bas en fibre	Haut en fibre	Nature de la fibre	Teneur en fibre	Interaction
							p-value	
Consommation (g/j/poule)	124.3±4.9 b	126.2±4.7 ab	126.5± 5.3 a	124.9±4.8 y	126.4±5.1 x	0.041	<0.001	-
Taux de ponte (%)	92.1±4.4 ab	92.7±3.2 a	91.8± 3.4 b	92.8±3.8	91.7±3.7	0.016	0.119	-
Poids moyen des œufs (g)	63.0±0.9 b	63.7±1.3 a	63.6± 1.2 a	63.6±1.2	63.3±1.1	<0.001	0.108	-
Masse d'œuf produite (g d'œuf/j/poule)	58.0±3.1 ab	59.1±2.2 a	58.4± 2.7 b	59.0±2.7 x	58.0±2.7 y	0.005	0.049	-
Indice de consommation (g d'aliment / g d'œuf)	2.15±0.10 a	2.14±0.09 a	2.17±0.12 b	2.12±0.10 x	2.18±0.10 y	0.005	<0.001	-
Taux d'œufs cassés (%)	2.51±2.00	2.38±1.53	2.61±1.83	2.24±1.52 x	2.76±2.01 y	-	0.032	-
Taux d'œufs sales (%)	2.44±2.04	2.08±1.70	2.45±2.65	2.56±2.39 y	2.08±1.89 x	-	0.041	-
Taux d'œufs anormaux (%)	5.93±3.58	4.80±3.22	6.02±3.73	5.33±3.42	5.83±3.68	-	0.115	-

EFFETS DU CHANGEMENT D'HEURE D'ALIMENTATION ET DE L'AJOUT D'ENZYMES A L'ALIMENT DES POULES PONDEUSES EN CLIMAT CHAUD

De Basilio, Vasco¹, Rivero, Ana¹, Farfán Charly¹, Chacón, Tonny², Rossini, Mario².

¹Facultad de Agronomía, ²Facultad de Cs. Veterinarias, Campus Maracay, Edo. Aragua.
Universidad Central De Venezuela.

vascodebasilio@gmail.com

RÉSUMÉ

Cette étude vise à évaluer 1) les effets du changement d'horaire d'alimentation du matin pour l'après-midi afin de réduire le stress occasionné par la métabolisation de l'aliment à midi et 2) sur la base d'un temps d'ingestion diurne de l'aliment réduit (16:00 h à 19:00 h = 3h), l'apport d'enzymes exogènes qui générerait une meilleure métabolisation de l'aliment. 96 poudeuses Isa Brown ont été élevées entre les semaines 22 et 34 d'âge sous lumière naturelle et climat chaud (Venezuela). Deux moments d'alimentation (8:00 h et 16:00 h) avec ajout ou non d'un mélange d'enzymes (CE) (α -amylase, β -glucanase, cellulase, pectinase, phytase, protéase et xylanase), ont été testés selon un plan factoriel 2x2 avec 12 répétitions de 2 poules par lots (T1= alimentation à 8:00 h, T2= T1 + CE, T3= alimentation à 16:00 h et T4= T3 + CE). Pendant trois phases de quatre semaines chacune, le poids vif (PV), la consommation d'aliment (Cons), la production d'œufs (PO), le poids d'œufs (POO), l'indice de consommation (CA), la température corporelle (TC), la fréquence et dépense cardiaque (FC et GC), la concentration sanguine en calcium (à la fin de l'expérience) et quelques paramètres de qualité des œufs ont été mesurés. La température ambiante et l'humidité relative moyennes étaient de $25 \pm 4^\circ\text{C}$ et $86 \pm 14\%$, respectivement, à l'intérieur du bâtiment lors de l'essai. Aucune différence significative entre lots n'est observée concernant PO, Cons, CA, FC ou GC. Les traitements T3 et T4 présentent des PV plus élevés (+105 g) et une moindre TC ($-0,5^\circ\text{C}$ en moyenne) en comparaison avec les lots T1 et T2. T3 et T4 présentent un poids d'œuf supérieur en phases 2 et 3 (+ 3,3 g), T4 a permis d'obtenir des coquilles plus lourdes (+0,40 g) et T3 et T4 plus épaisses (+ 0,02 mm). Pour les autres variables de qualité d'œuf, il n'y a pas eu de différences significatives entre lots. La concentration sanguine en calcium dans le lot T4 est supérieure à celle des autres lots. En conclusion, l'alimentation l'après-midi améliore les performances (poids des poules et des œufs et épaisseur de coquille de l'œuf), et l'usage d'enzymes exogènes augmente le poids de coquille de l'œuf et la concentration sanguine en calcium pour les poules alimentées à 16h (T4).

ABSTRACT

Effects of changing the timing of feed supply and addition of enzymes to the feed in laying hens under hot climatic conditions

This study evaluated the effects of changing the traditional schedule of food distribution from the morning to the afternoon to reduce the stress caused by the metabolization of the food at noon. Furthermore on the basis of a reduced diurnal access to the feed (4 pm to 7 pm = 3 hours), it estimates the effects of exogenous enzyme complex (including α -amylase, β -glucanase, cellulase, pectinase, phytase, protease and xylanase; CE) on laying performances. 96 Isa Brown laying hens were raised without artificial illumination under a hot climate (Venezuela) and their performance followed between weeks 22 and 34 of life. Four treatments with 12 repetitions (2 hens/ repetition) in a random factorial design combining two times of food supply (8:00 am and 4:00 pm) and addition or not of CE in the feed (T1=food supply 8:00 am, T2 = T1+CE, T3 = food supply at 4:00 pm and T4=T3+CE). During three phases of four weeks, live weight (PV), feed consumption (Cons), egg production (PO), feed conversion ratio (CA), body temperature (TC), cardiac frequency and Cardiac expense (FC and GC), blood calcium concentration at the end of the experiment, and several egg quality parameters were measured. Averages of environmental temperatures of $25 \pm 4^\circ\text{C}$ and of relative humidity of $86 \pm 14\%$ were recorded inside the building. Significant differences ($p < 0,05$) between treatments did not occur for the PO, CA, Cons, FC and GC. Treatments T3 and T4 presented greater PV (+ 105g) and lower TC (by $0,5^\circ\text{C}$) than T1 and T2. T3 and T4 showed greater egg weight in phase 2 and 3 (+3,3 g). T4 obtained the greatest eggshell weight (+0,50 g) and T3 and T4 the greatest eggshell thickness (+0,02 mm). Other egg quality parameters were not statistically different between groups. Blood calcium concentration was higher in T4 than in all other groups. In conclusion, changing feeding time slightly improved hen body condition, egg weight and shell thickness. The addition of exogenous enzymes in the feed improved eggshell weight and blood calcium when hens were fed at 4 pm (T4).

INTRODUCTION

La production avicole est la principale filière d'apport de protéines aux Vénézuéliens, avec 61% des protéines d'origine animale consommées (Avisa, 2012). Par ailleurs, dans des pays tropicaux et subtropicaux, le stress thermique est l'un des facteurs principaux diminuant la productivité dans les systèmes de production avicoles (Donkoh, 1989). La chaleur influe sur le comportement productif et reproductif des poules pondeuses, en diminuant la consommation d'aliments, la production et la qualité de l'œuf (Elliot, 2010), en altérant la sécrétion des hormones responsables de l'ovulation et en réduisant la capacité de réponse des cellules de la granulosa à l'hormone lutéinisante (Corona, 2013). Une augmentation de la température ambiante de 30 à 38°C diminue la qualité de la coquille de l'œuf en augmentant le pourcentage d'œufs brisés. Aux alentours de 38°C, les oiseaux peuvent seulement perdre leur chaleur corporelle par un halètement sévère qui produit une alcalose respiratoire (Holik, 2009). Chez le poulet en croissance, restreindre la période d'alimentation à l'après-midi (à partir de 16:00 h plutôt que 9:00 h), réduit significativement la température corporelle de 0,3 à 0,4 °C, entre 35 et 42 jours de vie, et cette méthode est utilisée pour diminuer les effets négatifs du stress thermique (De Basilio, et al. 2010). Dans la production de poules pondeuses, la distribution d'aliment a lieu ordinairement le matin, résultant en l'augmentation de la chaleur corporelle liée à la digestion et au métabolisme à midi, aux heures les plus chaudes de la journée. On peut éviter la thermogénèse alimentaire aux heures les plus chaudes en changeant le moment d'alimentation pour l'après-midi.

Cependant, cette stratégie pourrait compromettre la formation de l'œuf, qui est pondue en général le matin. Additionner des enzymes à l'aliment pourrait diminuer le temps de digestion et permettre la disponibilité des nutriments plus rapidement pour la formation de l'œuf, et éviter que ce changement d'heure n'affecte le temps de formation et la production d'œufs, tout en améliorant la résistance de l'oiseau à la chaleur. L'usage d'enzymes digestives exogènes dans la ration se justifie quand la capacité de digestion de l'animal est limitée, comme c'est le cas des jeunes animaux malades ou sous stress (Gálik et Horniaková, 2010).

Dans cette étude, nous avons donc testé les effets du changement d'heure d'alimentation, avec ou sans ajout d'un complexe enzymatique à l'aliment, sur la production d'œufs et leur qualité ainsi que sur certains paramètres physiologiques de la poule.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

L'expérience a été réalisée dans les installations du Laboratoire d'Oiseaux de la Faculté d'Agronomie de l'Université Centrale de la Venezuela, à Maracay, État Aragua, à 10°17'5"N et 64°13'28" Ou, 480 m.s.n.m, à une température moyenne de 25 °C et une humidité relative de 75 % (INIA, 2010). Le schéma expérimental aléatoire selon un plan factoriel 2×2 a été mis en place, avec deux types d'alimentation (une alimentation traditionnelle le matin à 8:00 h et une alimentation l'après-midi à 16:00 h) et avec ou sans ajout à la ration 150 g/tonne d'aliment d'un complexe enzymatique (CE) commercial appelé SSF) contenant [(α-amylase (min 30 FAU/g), β-glucanase (min 200 BGU/g), cellulase (min 40 CMCU/g), pectinase (min 4000 AJDU/g), phytase (min 300 PU/g), protéase (Min 700 HUT/g) et xylanase (min 100XU/g)] :

T1 : Témoin (aliment distribué à 8:00 h le matin).

T2 : T1 + CE

T3 : Restreint (aliment distribué à 16:00).

T4 : T3 + CE

Douze unités expérimentales de deux poules de souche Isa Brown ont été utilisées dans chacun des 4 groupes expérimentaux. Elles ont été élevées dans un bâtiment de type californien de 100 m², (4 m de largeur × 25 de longueur), en cages individuelles (45 cm × 30 cm × 40 cm). **Les variables environnementales** (Température, hygrométrie) ont été relevées toutes les 15 minutes. Les poules ont été élevées sous lumière naturelle (12N:12J). Les 96 poules ont été suivies pendant trois phases de 28 jours à partir de 22 semaines d'âge. On a défini la **Période fraîche** de 16:00 h à 10:00 h, et la **Période chaude** de 10:00 h à 16:00 h. Une quantité d'aliment de 105 g/jour/poule a été fournie pour la phase d'expérimentation (manuel Isa Brown, 2010). Les mesures réalisées ont été le **Poids vif (PV)**, au commencement et en fin de chaque période. La **consommation d'aliment (Cons)** a été mesurée par la différence entre l'aliment offert et les refus retirés à 19:00 h pour T3 et T4 et 8:00 h pour T1 et T2 chaque jour. La **production d'œufs (PO)** a été relevée chaque jour. L'**indice de consommation d'aliment (CA)** a été calculé par phase, en prenant en compte l'aliment consommé et le nombre d'œufs obtenus dans chaque phase expérimentale. La **Qualité d'œuf** a été évaluée en collectant les œufs les trois derniers jours de chaque phase d'étude. Au total, 144 œufs ont été analysés pour chaque phase d'expérimentation. La procédure décrite par Coult et Wilson, (1990) a été utilisée pour évaluer cette qualité, en mesurant le **Poids de l'œuf (POO)**, la **Hauteur de jaune d'œuf (AY)**, micromètre de Vernier, la **hauteur de blanc de l'œuf dense (ACD)**, la **Couleur du vitellus (CY)**, colorimètre de Roche, les **unités Haugh (UH)** ;

Mehner, 1969), le **Poids de la coquille (PC)**, l'**Épaisseur de coquille (GC)**. La **Température corporelle (TC)** a été mesurée entre 11:00 et 12:00, tous les 15 jours sur 12 poules par traitement par placement du thermomètre sur la peau au-dessous de l'aile droite. La **Fréquence cardiaque (FC)** a été mesurée tous les 15 jours, en utilisant un échocardiographe Logic Book XP GE avec transducteur micro - convexe de 4 à 10 MHz. La **Dépense cardiaque (GC)** est calculée à partir de la fréquence cardiaque et des volumes systoliques et diastoliques. La concentration en **calcium plasmatique (NCP)** a été mesurée après prise de sang veineux à la fin de l'expérience sur 5 poules par traitement mises à jeun pendant deux heures par la méthode CPC Complexométrique (Fernandez et al, 2002).

Analyse statistique : Les données ont été analysées par ANOVA en mesures répétées (Statview), suivie d'un test de Fisher.

RÉSULTATS

Des conditions climatiques de type tropical ont été mesurées durant l'expérimentation, caractérisées par des températures environnementales au-delà de 25 °C et une humidité relative élevée. Cependant, les animaux n'ont pas présenté de symptômes marqués de stress thermique (hyperventilation respiratoire limitée). Pour les quatre traitements (T1, T2, T3, T4), les consommations moyennes d'aliment (respectivement, 99,8, 100,5, 100,2, 98,7 g/poule/j) et les pourcentages de ponte moyens PO (respectivement, 81,3, 88,0, 86,2, 83,9 %) n'ont pas été significativement affectés par l'heure d'alimentation et l'ajout du CE. De même, les indices de consommation moyens CA (respectivement, 123, 112, 115, 118 g d'aliment / œuf) ne différaient pas significativement et ont été meilleurs que les indices de consommations précédemment rapportés au Venezuela par Acosta et al. (2002), proches de 220 g/œuf.

Les traitements restreints (T3 et T4) ont favorisé significativement ($p < 0,05$) la croissance pondérale des poules avec des poids vifs de 105 g supérieurs à ceux des poules sans restriction (T1 et T2). Ceci résulte sans doute d'une meilleure disponibilité des nutriments pour la métabolisation quand l'aliment, consommé en même quantité, est ingéré pendant des périodes plus fraîches. Les oiseaux ont réussi à consommer pour couvrir leurs besoins pour l'entretien et pour la production d'œufs, malgré la réduction du temps disponible pour consommer, de 3 heures pour T3 et T4 et de 24 h pour T1 et T2. Ceci s'est accompagné d'une moindre température

corporelle TC (de 0,5°C) pour les groupes restreints en temps comparativement à la distribution d'aliment le matin. Cette différence correspond au fait que les poules nourries le soir sont à jeun le lendemain à midi alors que les poules nourries à 8:00h métabolisent toujours leur aliment. Dans des conditions climatiques plus contraignantes que dans cette expérience, une telle différence de TC pourrait avoir des conséquences zootechniques majeures.

T3 et T4 ont présenté un poids d'œuf POO supérieur en phase 2 et 3 (+ 3,3 g) à ceux des groupes en alimentation habituelle (T1 et T2 ; Figure 1), suggérant des avantages à alimenter les poules seulement à partir de la fin d'après-midi. Pour d'autres variables de qualité d'œuf **AY**, **ACD**, **CY** et **UH**, il n'y a pas eu de différences significatives entre lots.

La concentration sanguine de calcium dans le lot T4 est supérieure à celle des autres groupes (+12 mg/dl, Figure 2), suggérant que l'alimentation l'après-midi avec des enzymes pourrait limiter les impacts négatifs de la chaleur sur les flux de calcium. Cependant, aucun effet sur la physiologie cardiaque n'a été relevé. Il existe peut-être une meilleure disponibilité des nutriments quand l'oiseau doit manger son aliment pendant des périodes plus fraîches et cela correspond également sans doute aux périodes d'appétit calcique spécifique correspondant au dépôt de coquille. Quatre-vingt pour cent de la ponte est recueillie le matin ce qui veut dire qu'une grande partie de la formation de la coquille a lieu pendant la nuit. Le poids de coquille (PC) s'est accru de 0,50 g pour le traitement restreint avec enzymes (T4) par rapport aux traitements T1, T2 et T3 (Tableau 1). L'effet significatif des deux facteurs sur le poids des coquilles doit être interprété en tenant compte du poids des œufs qui est supérieur pour T3 et T4 (Figure 1). Par contre, l'effet significatif des enzymes semble spécifiquement lié au dépôt de coquille. Toutefois, la mesure de l'épaisseur de la coquille suggère que l'heure vespérale d'alimentation n'a pas seulement amélioré le poids des œufs mais également la formation des coquilles confirmant sans doute une meilleure utilisation du calcium consommé la nuit. Cet effet semble renforcé par l'addition d'enzymes au régime.

CONCLUSIONS

Les conditions environnementales n'ont pas occasionné de stress thermique majeur. La distribution d'aliment l'après-midi a présenté des bénéfices en ce qui concerne le poids vif des poules, la concentration sanguine en calcium et le poids et l'épaisseur de la coquille d'œuf. Le complexe

enzymatique a amélioré le poids de la coquille ainsi que la concentration sanguine en calcium, surtout quand il est utilisé en cas d'alimentation à partir de 16:00 l'après-midi. Il est maintenant nécessaire de

répéter l'expérience pendant un cycle complet de production des poules, et en conditions environnementales plus drastiques représentatives des périodes les plus chaudes au Venezuela.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acosta I., Márquez A., Angulo I. 2002. [hMAp://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2010-1/100101.pdf](http://www.alpa.org.ve/PDF/Arch%2010-1/100101.pdf)
- AVISA (Asociación Venezolana de la Industria de Salud Animal).2012. Disponible en: <http://avisa.org.ve/2013/02/aumento-21-la-produccion-de-pollo-en-2012/>.
- Corona J. 2013. Revista electrónica de Veterinaria - ISSN 1695-7504. Disponible en línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070713/071308.pdf>
- Coults, J., Wilson G. 1990. Manual práctico del huevo. Editorial Roche vitaminas, SA. pp 2-4
- De Basilio V., Lovera M., Tepper E., Becerra A., Bastianelli D., Rojas J., 2010. Revista Científica, FCV-LUZ / vol. xx, n° 1, 42 - 52, 2010.
- Elliot M.2010. Dekalb Poultry Research Illinois. Disponible en: http://www.produccion.com.ar/96mar_11.html
- Fernandez, M., Díaz, R., Cordero, S. 2002. Validación del método de cuantificación de calcio en tabletas de carbonato de calcio 500 mg. optimización y validación. SINTEFARMA 8(2):julio-diciembre. http://bvs.sld.cu/revistas/sint/vol8_2_02/sint4202.htm.
- Gálik B., Horniaková E. 2010. Slovak Republic. Journal Central European of Agriculture. Volume 11:381-386
- INIA. 2010. Unidad Agroclimatológica. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Reporte de estación climatológica. Maracay-Venezuela.
- ISA BROWN. 2010. GUIA ISSA, <http://www.isapoultry.com/eses/products/isa/isabrown/~media/Files/ISA/Different%20languages/Spanish/Products/CS/ISA/Guia%20de%20Manejo%20General%20de%20ponedoras%20comerciales%20ISA%20Brown.a shx>
- Mehner A. 1969. La gallina. Editorial Acribia. España. Pp 227
- Quintero A. 1995. Revista científica LUZ- FCV. 5: 125-129.

Tableau 1. Moyenne et erreur standard des poids de coquille (PC) en g et épaisseurs de coquille (GC) en mm, pour toute la phase expérimentale (2-84 jours expérimentaux)

Traitements	Poids de coquilles (PC) (g)	Épaisseur de coquilles (GC) (mm)
T1 (alimentation à 8:00 h)	6,844 ± 0,11	0,410 ± 0,005
T2 (T1 + des enzymes)	7,077 ± 0,14	0,403 ± 0,004
T3 (alimentation à 16:00 h)	7,053 ± 0,11	0,427 ± 0,004
T4 (T3 + des enzymes)	7,495 ± 0,18	0,426 ± 0,005
Anova		
Effet : heure d'alimentation	P= 0,026	P= 0,008
Effet : Enzymes	P= 0,016	P= 0,0594
Interaction heure d'alimentation × Enzymes	P= 0,457	P= 0,0693

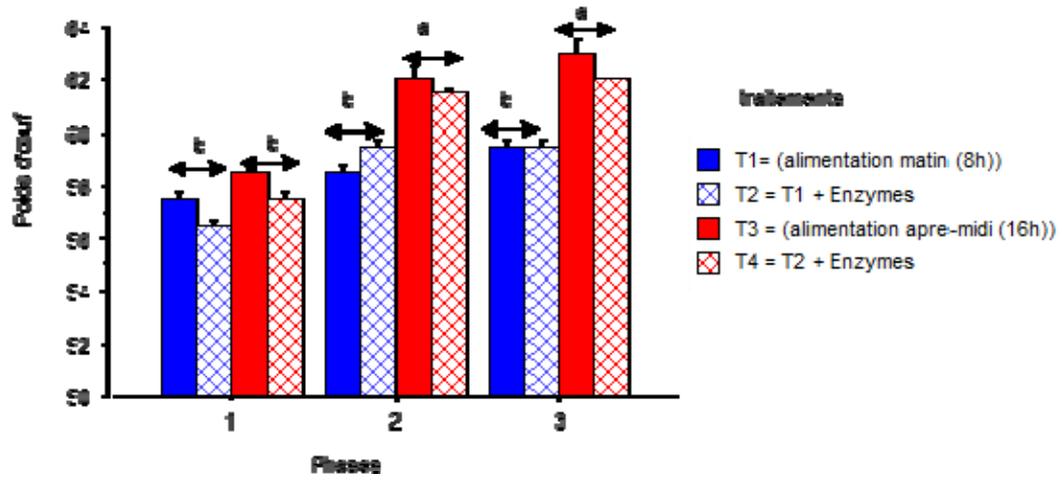


Figure 1. Poids des œufs par phase expérimentale pour chaque traitement. a, b : les lettres différentes sont associées à des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

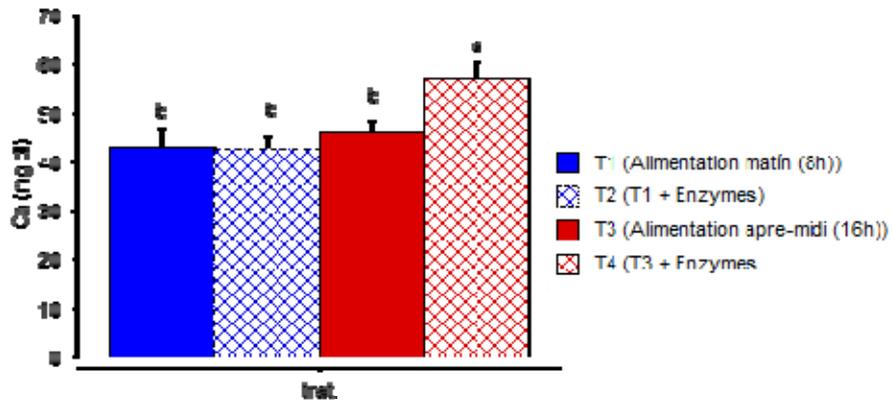


Figure 2. Concentration en Calcium sanguin moyen de tous les échantillons durant l'expérimentation. a, b : les lettres différentes sont associées à des valeurs significativement différentes ($p < 0,05$).

EFFETS D'UNE SUPPLEMENTATION EN CHOLINE SUR LES PERFORMANCES DES OIES PENDANT LES PHASES D'ELEVAGE ET DE GAVAGE

**Denis Bruno¹, Arroyo Julien², Bonnefont Cécile¹, Manse Hélène¹, Bannelier Carole¹,
Lavigne Franck², Bijja Mohamed², Fortun-Lamothe Laurence^{1*}**

¹GENPHYSE, INRA, Université de Toulouse, INP-ENSAT, INP-ENVT - 31326
CASTANET-TOLOSAN,

²ASSELDOR - La Tour de Glane - 24420 COULAURES.

laurence.lamothe@inra.fr

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était d'analyser les effets d'une supplémentation en choline de l'aliment au cours des phases de finition (F, 56 à 91 J d'âge) et de gavage (G, 92 à 106 J) des oies. Des oies mâles (n = 240) et femelles (n = 240) âgées d'un jour ont été divisées en 2 groupes : Témoin (TF, 1,53 g/kg) ou supplémenté en choline (CF, 20,70 g/kg) en période F. A 92 J, chaque groupe F a été divisé en 2 groupes de 132 oiseaux : Témoin (TG, 4,12 g/kg) ou supplémenté en choline (CG, 19,00 g/kg) en période G. La consommation d'aliment au cours de la période F n'a pas été influencée par le niveau de choline (229 g/j ; NS). Le poids des animaux était similaire au début (4 837 g) et à la fin (5 402 g) de la période F (NS). A la fin de la période F, le poids du foie est 8,3% plus lourd chez les animaux ayant reçu l'aliment CF au lieu de TF (123 vs 114 g ; P < 0,05). L'ingestion pendant la période G (12 068 g) et le poids des animaux à 107 J (7 954 g) n'ont pas été influencés par l'aliment reçu au cours des périodes F et G (NS). A 107 J, le poids de foie est 7% plus faible (908 vs 975 g ; P < 0,001) et leur teneur en matière sèche tendait à être plus faible (64,3 vs 65,3 %, P = 0,07) chez les animaux ayant reçu l'aliment supplémenté en choline au cours de la période G. L'aliment distribué au cours de la période F n'a eu aucune influence sur les performances au cours et à la fin de la période G. Ces résultats montrent le rôle de la choline dans le métabolisme hépatique chez l'oie qui participe à l'exportation des lipides, mais suggèrent qu'une supplémentation en choline au cours de la période de finition n'a pas d'effet sur la stéatose hépatique au cours du gavage.

ABSTRACT

Effects of choline supplementation on goose performance during rearing and overfeeding periods

The objective of this study was to analyze the effects of dietary supplementation of choline during the finishing period (F, 56 to 91 J of age) and force-feeding (G, 92 to 106 J). Male (n = 240) and female (n = 240) geese were divided into 2 groups: Control (TF, 1.53 g choline/kg) or supplemented with choline (CF, 20.70 g choline/kg) in period F. At 92 days, each group were divided into 2 groups of 132 birds: control (TG, 4.12 g/kg) or supplemented with choline (CG, 19.00 g/kg) in period G. The feed intake during the period F was not influenced by the choline level (229 g/d, NS). The weight of the animals was similar at the beginning (4,837 g) and at the end (5,402 g) of the F period (NS). At the end of the period F, the weight of the liver was 8.3% heavier in the animals fed the CF feed instead of TF (123 vs 114 g, P < 0.05). Ingestion during period G (12,068 g) and weight of animals at 107 J (7,954 g) were not influenced by the diet received during periods F and G (NS). At 107 J, the liver weight was 7% lower (908 vs 975 g, P < 0.001) and their dry matter content tended to be lower (64.3 vs 65.3%, P = 0.07) in animals that received the choline-supplemented feed in period G. The diet distributed during period F had no influence on performance during and at the end of the period G. These results show the role of choline in hepatic metabolism in goose that enhance lipid exportation, but suggest that choline supplementation during the finishing period has no effect on hepatic steatosis during force-feeding.

INTRODUCTION

Chez les oiseaux, dont les palmipèdes, le foie constitue un organe de synthèse et de stockage lipidique transitoire, utilisé en phase pré-migratoire notamment (Odum, 1960 ; Pond, 1978). Cette aptitude est exploitée pour produire du foie gras par gavage.

Ainsi, la suralimentation des animaux avec du maïs induit une stéatose hépatique d'origine nutritionnelle. Celle-ci résulte de différents mécanismes : forte activité lipogénique et faible exportation des lipides hépatiques néo-synthétisés combinées à une faible capacité de stockage des lipides circulants par les tissus périphériques, favorisant leur retour vers le foie (Baéza et al., 2013b).

La choline est impliquée dans le métabolisme lipidique en tant que précurseur des lipoprotéines VLDL qui permettent l'exportation des triglycérides du foie vers les tissus périphériques. La choline est largement présente dans l'alimentation (jusqu'à 7 g/kg ; Sauvante et al., 2004), bien que quelques matières premières, tel que le maïs utilisé pour le gavage des palmipèdes (0,4 à 0,6 g/kg), en contiennent peu. Cette particularité du maïs explique son utilisation pour la production de foie gras : sa faible teneur en choline limite l'exportation des triglycérides du foie vers les tissus périphériques et favorise l'engraissement du foie. La choline peut aussi être synthétisée de façon endogène en faible quantité par les hépatocytes et/ou le microbiote. Ainsi, chez l'homme, certains taxons bactériens, associés à la stéatose, ont été identifiés en lien avec des déficiences en choline alimentaire (Spencer et al., 2011). Enfin, de la choline de synthèse est également disponible comme additif en alimentation animale.

L'objectif de cette étude était d'analyser les effets d'une supplémentation en choline de synthèse dans l'aliment au cours des phases de finition (F) et de gavage (G) des oies. Nous formulons l'hypothèse qu'un apport élevé de choline alimentaire pendant la phase de finition pourrait réduire fortement, par rétrocontrôle négatif, la synthèse endogène de choline et favoriser le déclenchement de la stéatose hépatique au début du gavage sous le double effet de niveaux de choline endogène et alimentaire faibles.

1. MATERIELS ET METHODES

L'étude a été réalisée en accord avec les lois françaises relatives à la santé humaine et à l'utilisation d'animaux pour des travaux de recherche. Les animaux ont été élevés à la Ferme Expérimentale de l'Oie et du Canard (Coulaires, Dordogne ; autorisation pour l'expérimentation A24-137-1). Les oies ont été abattues avec respect de la directive européenne 1009/2009/EC (2009).

1.1. Animaux, schéma expérimental et mesures

Un total de 480 oies, mâles (n = 240) et femelles (n = 240), grises des Landes (*Anser anser*) de la lignée commerciale Maxipalm[®] a été utilisé. Durant toute la période d'élevage (1 à 91 J d'âge), les oies ont été élevées dans 12 parquets de 19 m², contenant 20 mâles et 20 femelles. Les parquets étaient équipés d'un abreuvoir, de 3 mangeoires et d'un accès extérieur (91,5 m²/parquet). Le programme nutritionnel a été établi dans le but de préparer les oiseaux au gavage (Guéméné et Guy, 2004). Pour cela, les oiseaux ont été nourris *ad libitum* de 1 à 55 J. Ils ont ensuite eu un accès restreint à l'aliment de 56 à 91 J selon un programme de rationnement horaire, autorisant l'accès à la mangeoire pendant 1 h/J de 56 à 64 J et 30 min/J de 65 à 91 J. Les oies ont eu accès à l'extérieur entre 07 :00 et 18 :00 de 25 à 90 J. De 56 à 90 J, l'accès extérieur était bloqué durant les heures d'accès aux aliments expérimentaux.

Les oies ont été divisées en 2 groupes différant par le niveau de choline dans l'aliment pendant la période F (56 à 91 J) : Témoin (TF, teneur totale en choline : 1,53 g/kg) ou supplémenté en choline (CF, teneur totale en choline : 20,70 g/kg). Les aliments TF et CF ont été fabriqués par Sanders Périgord (Boulazac, Dordogne, France) pour être isoénergétiques (EMAn : 11.5 MJ/kg) et isoproétiqes (PB : 16.1 g/kg). Leur composition est rapportée dans le Tableau 1.

A 92 J, 66 oiseaux de chaque groupe et de chaque sexe (n = 264 au total) ont été divisés en 2 groupes différant par le niveau de choline dans l'aliment distribué au cours de la période de gavage (période G de 92 à 106 J) : Témoin (TG, 4,12 g/kg) ou supplémenté en choline (CG, 19,00 g/kg). Pendant la période G, les 264 oies (33 animaux x 4 lots TT-TC-CT-CC x 2 sexes = 264) ont été réparties dans 24 parquets (3 × 1 m² pour 11 oies). Les oies ont été gavées avec un mélange de 340 g de farine de maïs, 240 g de maïs grain, 400 g d'eau ainsi que 20 g d'un complexe de vitamines (E: 32,00 UI/kg; B1: 4,00 mg/kg; K3: 2,86 mg/kg) et minéraux (FeSO₄: 55,40 mg; CuSO₄: 15,00 mg; ZnSO₄: 40,00 mg; MnSO₄: 74,00 mg; Ca: 2,13 g; Na: 1,44 g; P: 0,23 g/kg) par kg de pâtée. Pendant cette période G, la pâtée a été distribuée à l'aide d'une gavageuse automatique (Gavageuse Mg 300, Dussau, Distribution Sas, Pecorade, Landes, France) et selon la courbe de gavage décrite par Arroyo et al. (2012).

La consommation d'aliment a été mesurée hebdomadairement et par parquet pendant la période F, quotidiennement et individuellement pendant la période G. Le poids vif (PV) a été mesuré à 56, 70 et 90 J après un jeûne de 18h et à 107 J après un jeûne de 10h. Des oies ont été sacrifiées à 90 J (n = 48) et 107 J (n = 264) afin d'étudier leur composition corporelle (poids de foie et de magret). La couleur des foies a été mesurée à l'aide du système de coordonnées trichromatiques CIE Lab (L *, a *, b *), à l'aide d'un chromamètre CR 300 Minolta (Minolta, Osaka, Japon). La teneur en lipides dans le foie a été évaluée en utilisant une extraction froide au

chloroforme / méthanol (Folch et al., 1957) sur un sous-ensemble de 24 et 48 échantillons représentatifs à 90 J et 107 J. Pour les échantillons restants, les teneurs en lipides ont été déterminées par prédiction à partir de spectres proches infra rouge (SPIR) sur la base des analyses chimiques précédentes. Les données spectrales ont été collectées en réflectance de 350 à 2500 nm (pas de 1 nm) avec un spectromètre portable LabSpec® 5000 (ASD Inc., Boulder (CO), USA) équipé d'un module de contact. Le traitement des données spectrales et l'étalonnage ont été réalisés à l'aide de WinISI (Infrasoft Int., Port Matilda, PA, USA) entre 650 et 2350 nm. Les équations d'étalonnage ont été obtenues à l'aide de la méthode de régression PLS (Partial Least Square).

1.2. Analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide de la version 3.3.3 du logiciel R. Le parquet a été utilisé comme unité statistique pour la consommation d'aliment au cours de la période F. Les données individuelles ont été considérées comme unité statistique pour l'étude du PV, du gain moyen quotidien et des caractéristiques physiologiques pendant la période F ainsi que pour les performances au cours du gavage. Les données ont été soumises à une analyse de variance (procédure ANOVA du package car) afin de déterminer, suivant les phases, les effets du sexe et de l'aliment distribué (et leurs interactions éventuelles). Lorsque cela était significatif, les moyennes ont été comparées en utilisant un test de Tukey. Les différences ont été traitées comme significative pour $P < 0,05$. La mortalité au cours des périodes F et G a été analysée en utilisant un test de χ^2 .

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La consommation d'aliment au cours de la période F n'a pas été influencée par le niveau de choline alimentaire (229 g/j/oie ; NS ; Tableau 2). Le poids des animaux était similaire au début (4 837 g) et à la fin (5 402 g) de la période F (NS) mais les mâles étaient 12% plus lourds que les femelles ($P < 0,001$). A la fin de la période F, le poids du foie était 8,3% plus lourd chez les animaux ayant reçu l'aliment CF au lieu de TF (124 vs 114 g ; $P < 0,05$).

L'ingestion au cours de la période G (12 068 g), le poids des animaux à 107 J (7 954 g) ou la mortalité entre 90 et 106 J (5,7%) n'ont pas été influencés par l'aliment reçu au cours des périodes F et G (NS ; Tableau 3). Le gain de poids et le taux de conversion alimentaire ont eu tendance à être plus faibles chez les oies ayant reçu l'aliment non supplémenté en choline au cours de la période F ($P < 0,10$), tandis que l'aliment distribué pendant la période G a eu un effet inverse ($P < 0,05$). A 107 J, le poids de foie était 7% plus faible (908 vs 975 g ; $P < 0,05$) et leur teneur en matière sèche tendait à être plus faible (64,3 vs 65,3 %, $P = 0,07$) chez les animaux ayant reçu l'aliment supplémenté en choline au cours de la période G. Le

foie de ces animaux était plus sombre (-1,1 point sur l'axe L* ; $P < 0,05$) et tendait à être plus rouge (+ 0,35 sur l'axe a* ; $P < 0,1$). A l'opposé, une supplémentation en choline pendant la phase F n'a pas eu d'effet sur le poids de foie au cours de la période de gavage (NS). Ce résultat est à l'opposé de ceux obtenus précédemment (Blum et Leclerc, 1970 ; Hejja-Vetesi, 1975 ; Camiruaga et Lecaros, 1989). Mais dans ces essais antérieurs, les performances des animaux étaient plus faibles (poids de foie d'environ 700g). Contrairement à notre hypothèse initiale, la supplémentation en choline de l'aliment n'a peut-être pas entraîné de réduction suffisante de la production endogène de choline par les animaux, même si un effet a été observé sur le poids du foie à l'issue de la période F (voir ci-dessus). Puisque la consommation de maïs, le poids vif des animaux et le poids du muscle pectoral n'ont pas été affectés par la supplémentation en choline, nous formulons l'hypothèse que les lipides synthétisés dans le foie au cours du gavage ont été exportés vers les tissus périphériques (cuisses, gras abdominal). Malheureusement, nous n'avons pas réalisé les mesures permettant de confirmer cette hypothèse. Nous pouvons seulement constater que le poids de peau et de gras sous cutané du magret, qui sont des indicateurs indirects de l'état d'engraissement global de l'animal, n'ont pas été affectés par le régime alimentaire.

Le sexe des animaux a eu un effet significatif sur quasiment tous les paramètres mesurés au cours ou à la fin de la période G (Tableau 3). Ainsi, les mâles étaient 9% plus lourds que les femelles ($P < 0,001$) à 107 J. Le dimorphisme sexuel des oies a été déjà décrit précédemment (Dubois et al., 1993 ; Leprettre et al., 2000). Le foie et le magret étaient plus lourds chez les mâles que chez les femelles (+8% et +5,5%, respectivement ; $P < 0,01$) et les oies mâles ont eu un foie plus sombre que les femelles (-2 points sur l'axe L* ; $P < 0,001$) mais aussi plus rouge (+1 point sur l'axe a* ; $P < 0,001$). Toutefois, la mortalité au cours du gavage a été similaire entre les deux sexes (6,2 vs 4,5 % ; NS).

CONCLUSION

Nous avons pu mettre en évidence un fort effet dépressif de l'utilisation d'une supplémentation en choline dans la pâtée de gavage sur l'intensité de la stéatose hépatique. Ceci confirme l'implication de cette molécule dans l'exportation des lipides du foie chez les oies. Ce résultat est nouveau et intéressant d'un point de vue cognitif mais ne présente aucune application en filière de production. A l'opposé, notre hypothèse initiale d'une augmentation de la stéatose hépatique au cours du gavage par une supplémentation en choline pendant la phase de finition n'a pu être démontrée.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arroyo J., Fortun-Lamothe L., Dubois J.P., Lavigne F., Auvergne A. 2012. INRA Prod. Anim., 25, 5, 419-430.
- Baéza E., Marie-Etancelin C., Davail S., Diot C. 2013. In : Palmipèdes à foie gras. Fortun-Lamothe L. (Ed). Dossier, INRA Prod. Anim., 26, 403-414.
- Blum J.C., Leclercq B. 1970. Ann. Zootech. 19, 347-351.
- Camiruaga L.M., Lecaros J. 1989. Ciencia e Investigacion Agraria, 16, 187-192.
- Dubois J.P., Auvergne A., Babilé R., Verdier M., Lavigne F., 1993. 1ères Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, Bordeaux, France, 35-48.
- Folch, J., M. Lees, and G.H. Sloane Stanley, 1957. J. Biol. Chem. 226:497-509.
- Guemene D. and Guy G., 2004. World's Poultry Science Journal 60, 210-222.
- Hejja-Vetesi M. 1975. Baromfiipar, 22, 28-30.
- Leprette S., Dubois J.P., Lavigne F., Babilé R., 2000. 4èmes Journ. Rech. Palmipèdes à Foie Gras, Arcachon, France, 109-112.
- Odum E.P., 1960. American J. Clinical Nutr., 8, 621-629.
- Pond C.M., 1978. Annu. Rev. Ecol. Syst., 9, 519-570.
- Spencer M.D., Hamp T.J., Reid R.W., Fischer L.M., Zeisel S.H., Fodor A.A., 2011. Gastroenterology, 140, 976-986.

Tableau 1. Composition des aliments TF et CF distribués aux oies entre 56 et 91J.

Ingrédients (g/100g)	Aliments TF et CF ¹
Blé	38,01
Maïs	20,00
Orge	10,00
Tourteaux d'oléo protéagineux (colza, tournesol et soja)	18,60
Drèches de blé et de maïs	6,00
Son de blé	2,80
Vitamines, minéraux	4,08
L-Lysine	0,33
DL-Hydroxy-Méthionine	0,19
Composition nutritionnelle	
EMAn MJ/kg	11,5
Protéines brutes g/kg	161
Amidon g/kg	337

¹Les aliments TF et CF contiennent les mêmes ingrédients à l'exception de la choline.

Tableau 2: Effets du sexe et d'une supplémentation en choline dans l'aliment de finition sur le poids vif (PV), l'ingestion, le gain moyen quotidien (GMQ) et l'indice de consommation (IC) au cours de la période F ainsi que sur le poids de foie à 90 J.

Item	Groupes ¹		Sexe		ESM	P-value		
	T	C	M	F		Sexe	Régime	Sexe* Régime
PV (g)								
56 J	4 811	4 861	5 142	4 532	50	<0,001	NA	NA
70 J	5 041	5 010	5 325	4 734	54	<0,001	0,424	0,030
90 J	5 437	5 361	5 710	5 096	62	<0,001	0,089	0,126
GMQ (g/oie/J)								
56-69 J	14,0	9,6	11,1	12,6	1,4	0,129	<0,001	0,164
70-90 J	20,8	18,5	20,3	19,0	1,5	0,225	0,037	0,506
56-90 J	18,2	14,8	16,5	16,5	1,1	0,958	<0,001	0,808
Ingestion 56-90 J (g/oie)	8 278	8 188	-	-	73	NA	0,246	NA
IC 56-90 J (g/g)	13,2	15,9	-	-	0,7	NA	0,0047	NA
Poids de foie à 90J	114	124	123	114	7	0,058	0,038	0,337

¹T : animaux témoins recevant l'aliment témoin, C : animaux recevant l'aliment CF supplémenté en choline.

²IC : indice de consommation par oie déterminé à partir du PV mesuré individuellement et la consommation individuelle estimée à partir de la consommation par parquet sans distinction du sexe. ND: donnée non disponible.

Tableau 3: Effets du sexe et du niveau de choline des régimes reçus en période F et G sur les performances des oies avant (90 J), pendant (92-106J) et à la fin (107 J) du gavage

	Groupe ¹				Sexe		ESM	P-value ²					
	TT	TC	CT	CC	M	F		Sexe	Régime F	Régime G	Sexe * F	Sexe * G	F*G
PV à 90 J (g)	5468	5449	5344	5360	5716	5091	121	<0,001	0,087	0,946	0,283	0,685	0,740
Mortalité de 92 à 106 J	3/66	4/66	4/66	4/66	9/132	6/132		0,59	1	1	0,43	0,72	0,98
Consommation de 92 à 106 J (g)	12 175	12 102	11 982	12 021	12 385	11 752	387	0,001	0,486	0,920	0,557	0,607	0,763
Gain de poids de 92 à 106 J (g)	2 554 ^{ab}	2 446 ^b	2 611 ^a	2 543 ^{ab}	2 568	2 510	61	0,046	0,010	0,004	0,671	0,264	0,476
TCA ³ de 92 à 106 J	4,90 ^{ab}	5,08 ^a	4,78 ^b	4,94 ^{ab}	5,045	4,81	0,14	<0,001	0,061	0,015	0,417	0,317	0,910
Performances à la fin de la période G													
PV à 106 J (g)	8 025	7 920	7 950	7 913	8 311	7 601	126	<0,001	0,707	0,182	0,276	0,510	0,449
Poids du foie (g)	963 ^{ab}	912 ^{ab}	986 ^a	903 ^b	980	903	40	<0,001	0,624	<0,001	0,224	0,445	0,477
Couleur du foie													
L* ²⁴	63,5	62,2	63,2	63,0	62,0	64,0	1,3	<0,001	0,978	0,024	0,064	0,650	0,232
a* ⁴	13,7	14,5	14,2	14,1	14,6	13,6	0,8	<0,001	0,400	0,055	<0,001	0,838	0,140
b* ⁴	31,0	30,2	29,9	30,4	30,5	30,3	1,7	0,982	0,418	0,807	0,237	0,680	0,120
MS (% de poids de foie)	65,1	64,5	65,5	64,1	65,0	64,6	2,6	0,101	0,464	0,082	0,239	0,818	0,771
Lipides (% poids de foie)	53,5	53,1	54,3	52,5	53,8	52,9	3,5	0,065	0,601	0,180	0,200	0,894	0,914
Poids du magret (g)	475	465	471	469	483	457	17	0,002	0,916	0,501	0,577	0,507	0,624
peau et gras sous-cutané (g)	219	209	210	210	218	205	9	0,004	0,433	0,295	0,184	0,982	0,214
<i>Pectoralis major</i> (g)	256	256	261	259	264	251	11	0,014	0,142	0,876	0,796	0,300	0,773

¹TT, TC, CT, CC : la 1^{ère} lettre correspond au régime reçu par les animaux au cours de la période F (T ou C), la deuxième au régime reçu au cours de la période G (T ou C).

²L'interaction S*F*G étaient significatives pour les variables L* et a* de la couleur du foie (P = 0,031 et 0,038, respectivement) et non significatives pour les autres variables (P > 0,05)

³IC Indice de consommation par oie déterminé à partir du PV mesuré individuellement et la consommation individuelle effectivement mesurée.

⁴L*a*b*: Les trois coordonnées du CIELAB représente la luminance (L* = 0 pour noir et L* = 100 pour un blanc diffus), la position entre le rouge/magenta et le vert (a*<0 vert et a*>0 magenta) et la position entre le jaune et le bleu (b*<0 bleu et b*>0 jaune) de la couleur des foies.

^{a,b} : Sur une même ligne, les moyennes avec aucun exposant identique différent à P < 0,05.

**INFLUENCE D'UNE SUPPLEMENTATION ALIMENTAIRE EN CHOLINE
PENDANT LES PHASES DE FINITION ET DE GAVAGE SUR LES
PERFORMANCES DES CANARDS.**

M. Bijja^a, F. Lavigne^a, J. Arroyo^a, L. Fortun-Lamothe^b et C. Bonnefont^b

^aASSELDOR, La Tour de Glane, 24420 Coulaures, France

^bGenPhySE, INRA, Université de Toulouse, INP-ENSAT, 26 Chemin de Borde Rouge,
31326 Castanet Tolosan, France

m.bijja@gmail.com

RÉSUMÉ

La choline est impliquée dans le métabolisme des lipides chez les palmipèdes en tant que donneur de méthyle. L'objectif de cet essai est d'étudier les effets d'une supplémentation alimentaire en choline pendant les phases de finition et de gavage sur les performances des canards. L'essai a porté sur 600 canetons mulards, répartis en 12 parcs de 50 animaux. Les animaux ont été répartis en 4 lots qui diffèrent par l'ajout ou non (C ou T) de choline dans l'aliment pendant les phases de finition (F) et de gavage (G) selon un schéma factoriel 2 x 2 : lots FCGC, FTGC, FCGC, FTGT. Entre 57 et 80 j d'âge les canards ont reçu un aliment finition (EMAn : 2699 MJ/kg ; PB : 16 g/kg) supplémenté en choline (FC : finition choline ; 20 g de choline/kg d'aliment ; n=300 canards) ou non (FT : finition témoin ; 0,174 mg de choline/kg d'aliment ; n=300 canards). A 80 j d'âge, 288 canards (n=144 provenant de chacun des lots FC et FT) ont été placés en salle de gavage. La moitié des animaux a reçu une pâtée de gavage contenant un additif de gavage sans choline (Lots FTGT et FCGT ; n=72 animaux chacun) et l'autre moitié a reçu une pâtée de gavage avec supplémentation en choline (20g de choline /kg ; Lots FTGC et FCGC ; n=72 animaux chacun). 12 animaux par lot ont été abattus à 56 et 77 j d'âge afin de mesurer la composition corporelle. Les résultats montrent qu'une supplémentation alimentaire en choline pendant la phase de finition des canards n'a pas d'effet sur leurs performances zootechniques ni leur composition corporelle. Nos résultats montrent que le gain de poids des animaux a été plus faible (-9%) et l'indice de consommation des canards plus élevé (+10%) lorsqu'ils ont reçu une pâtée de gavage supplémentée en choline (P<0,001). Ils montrent également qu'une supplémentation alimentaire en choline pendant la phase de gavage réduit de 21% le poids de foie à la fin de la phase de gavage (575 vs 731 g dans les lots FTGT+FCGT vs FCGC+FTGC ; P<0,001). En conclusion, cet essai a mis en évidence un effet dépressif d'une supplémentation en choline dans la pâtée de gavage sur l'intensité de la stéatose hépatique.

ABSTRACT

Influence of a choline food supplementation during the finishing and force-feeding phases on duck performances

Choline is involved in lipid metabolism in palmipeds as a methyl donor. The objective of this trial is to study the effects of dietary supplementation with choline during the finishing and force-feeding phases on the performance of ducks. The trial involved 600 mullet ducklings, divided into 12 pens of 50 animals. The animals were divided into 4 batches, which differed by the addition or non-addition (C or T) of choline in the feed during the finishing (F) and feeding (G) phases according to a 2 x 2 factorial pattern: lots FCGC, FTGC, FCGC, FTGT. Between 57 and 80 days of age the ducks received a finishing feed (EMAn: 2699 MJ / kg; PB: 16 g / kg) supplemented (FC: choline finish; 20 g choline / kg feed, n = 300 ducks) or not (FT: control finish, 0.174 mg choline / kg feed, n = 300 ducks) with choline. At 80 days of age, 288 ducks (n = 144 from each of the FC and FT batches) were placed in a force-feeding room. Half of the animals received a mash containing a choline-free feed additive (Lots FTGT and FCGT, n = 72 animals each) and the other half received a booster pack with supplemental choline (20g choline / kg Lots FCTG and FCGC, n = 72 animals each). 12 animals per batch were slaughtered at 56 and 77 days of age to measure body composition. The results show that dietary supplementation with choline during the finishing phase of ducks has no effect on zootechnical performances or body composition. Our results show that animals' weight gain was lower (-9%) and the duck consumption index higher (+ 10%) when they received a choline-supplemented feed (P <0.001). They also show that dietary supplementation with choline during the gavage phase reduces liver weight by 21% at the end of the gavage phase (575 vs 731 g in FTGT + FCGT vs FCGC + FTGC, P <0.001). In conclusion, this trial revealed a depressive effect of choline supplementation in the booster pound on the intensity of fatty liver.

INTRODUCTION

Chez les palmipèdes, le foie est le principal site de synthèse des lipides. Le développement de la stéatose hépatique est favorisé par différents mécanismes. Il faut d'une part que la capacité d'exportation des lipides hépatiques néo-synthétisés soit insuffisante au regard de la capacité de synthèse. Il faut d'autre part que la capacité de stockage des lipides circulants par les tissus périphériques soit elle aussi insuffisante, ce qui favorise un retour au foie d'une partie de ces lipides (Baéza et al., 2013). Il a été montré qu'un apport insuffisant en donneurs de méthyle favorise la lipogénèse et la stéatose hépatique (Roblin et al., 2007). La choline, l'acide folique et la méthionine sont les principaux donneurs de méthyle dans les réactions métaboliques cellulaires. Des études ont montré que des rats soumis à des régimes carencés en l'un ou plusieurs de ces composés présentaient des stéatoses hépatiques (Mc Neil et al., 2008 et 2009; Kumar et al., 2013) et qu'une supplémentation en choline chez l'oie lors de la phase d'élevage favorisait le développement de la stéatose hépatique lors du gavage (Hejja-Vetesi, 1975).

Les matières premières utilisées dans l'alimentation des volailles contiennent des teneurs très variables en choline : 350 à 6500 mg/kg (Sauvant et al., 2004). Les protéagineux (1000 à 6500 mg/kg) sont plus riches en choline que les céréales (500 à 1000 g/kg). Le maïs, matière première composant la quasi-totalité de l'aliment utilisé pendant le gavage, présente de faibles teneurs en choline, en acide folique et en méthionine (Sauvant et al., 2004). Son utilisation est donc très appropriée pour favoriser la stéatose hépatique chez les palmipèdes.

La choline est d'origine alimentaire ou endogène et les apports alimentaires influencent la synthèse endogène. Par conséquent, la composition de l'aliment utilisé la phase de finition (généralement entre 50 et 80 j d'âge environ) pourrait influencer la synthèse endogène de choline et en conséquence l'aptitude à la stéatose hépatique pendant la phase de gavage.

Afin d'affiner les recommandations alimentaires pour les animaux en phase de finition et pendant le gavage, il semble intéressant d'étudier les effets de la teneur en donneurs de méthyle sur les performances zootechniques des palmipèdes à foie gras. Dans ce contexte, l'objectif de cet essai était d'étudier les effets d'une supplémentation alimentaire en choline pendant les phases de finition et de gavage sur les performances des canards.

1. MATERIELS ET METHODES

L'essai s'est déroulée à la Ferme Expérimentale de l'Oie et du Canard (Coulaures, Dordogne ; autorisation pour l'expérimentation A24-137-1).

1.1 Animaux et dispositif expérimental

L'essai a été réalisé sur 600 canetons mulards (souche PKL x MMG), répartis en 12 parcs de 50 animaux. Les animaux ont été répartis en 4 lots qui diffèrent par l'ajout ou non (C ou T) de choline dans l'aliment pendant les phases de finition (F) et de gavage (G) selon un schéma factoriel 2 x 2 : lots FCGC, FTGC, FCGC, FTGT. Les interactions seront indiquées dans les tableaux de résultats uniquement si elles sont significatives. Les animaux ont été alimentés avec aliment « pré-starter » distribué à volonté entre 1 et 10 jours d'âge, un aliment « démarrage » distribué à volonté entre 11 j et 35 j d'âge, un aliment « croissance » distribué à volonté de 36 à 56 jours d'âge. Lors de la phase expérimentale les animaux ont reçu un aliment finition (EMAN : 2699 MJ/kg ; PB : 16 g/kg) supplémenté en choline (FC : finition choline ; 20 g de choline/kg d'aliment ; n=300 canards) ou non (FT : finition témoin ; 0,174 mg de choline/kg d'aliment ; n=300 canards) de 57 à 80 j d'âge) selon un rationnement horaire (1heure/jour ; 25 jours). Les animaux ont été élevés dans des parcs de 11 m². La température était maintenue à 28°C la première semaine après l'éclosion, elle a été progressivement réduite à 20 °C jusqu'à 28 jours d'âge après quoi elle n'a plus été régulée. Les animaux ont eu accès à l'extérieur entre 07h00 and 18h00 sauf lorsque les aliments expérimentaux étaient distribués (entre 57 et 80 j d'âge) où l'accès était plus réduit (09h00 to 18h00).

A 80 j d'âge, 288 canards (n=144 provenant de chacun des lots FC et FT) ont placé en salle de gavage. La moitié des animaux a reçu une pâtée de gavage contenant un additif de gavage sans choline (lots FTGT et FCGT ; n=72 animaux chacun) et l'autre moitié a reçu une pâtée de gavage contenant le même additif de gavage que précédemment et une supplémentation en choline (20g de choline /kg ; lots FTGC et FCGC ; n=72 animaux chacun). Les animaux ont été gavés 2 fois par jour pendant 10 jours suivant la courbe de gavage décrite dans Arroyo *et al.* (2016). Pendant le gavage, la salle a été maintenue à une température <20°C et une humidité relative <90%.

1.2. Mesures

Les animaux ont été pesés individuellement à 1j, 14j, 28j, 42j, 56j, 70j et 80j d'âge. La consommation d'aliment a été mesurée de façon hebdomadaire par parc pendant la phase d'élevage puis de manière individuelle pendant la phase de gavage. 12 animaux par lot ont été abattus à 56 et 77 j d'âge (avant et à la fin de la phase de finition) et disséqués selon la méthode de Ricard et Rouvier (1967) afin d'évaluer la composition corporelle (foie, *Pectoralis major*, gras abdominal). Les animaux ont été abattus à la fin de la période de gavage à 90 jours d'âge après 10 h de jeûne afin de mesurer le poids de foie (n=72 par lots),

de poids du muscle et de la peau du magret (n=12 par lots).

1.3. Analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide de la version 22 du logiciel SPSS Statistics IBM®. Le parquet a été utilisé comme unité statistique pour la consommation d'aliment au cours de la période d'élevage. Les données individuelles ont été considérées comme unité statistique pour l'étude du poids vif, du gain moyen quotidien et de la composition corporelle pendant la phase d'élevage ainsi que pour les performances au cours du gavage. Les données ont été traitées par une analyse de variance ANOVA. Lorsque cela était significatif, les moyennes ont été comparées en utilisant un test de Bonferroni. Les différences ont été traitées comme significative pour $P < 0,05$. La mortalité a été analysée en utilisant un test de χ^2 .

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Sur la période précédant la phase expérimentale (entre 2 semaines à 6 semaines d'âge ; Tableau 1) la croissance et le GMQ des canards sont similaires entre les lots. Les résultats montrent que l'ajout de choline dans l'alimentation des canards durant les 4 semaines d'élevage précédant le gavage n'améliore pas les performances zootechniques pendant la phase d'élevage. Durant la phase expérimentale, de 8 semaines à 11 semaines d'âge, le poids vif (4 483 g vs 4 473 g dans les lots FT et FC ; NS) et l'indice de consommation (29 vs 26 dans les lots FT et FC ; NS) des animaux ont été identiques entre les deux

modalités testées. La composition corporelle des animaux à 11 semaines d'âge est similaire entre les lots FT et FC. Ainsi, les poids de foie, de graisse abdominale et du *Pectoralis major* ne présentent pas de différences significatives (Tableau 2). Ces premiers éléments montrent qu'une supplémentation alimentaire en choline pendant la phase de finition des canards n'a pas d'incidence avérée sur leur composition corporelle. Nos résultats montrent que le gain de poids des animaux a été plus faible (-9%) et l'indice de consommation des canards plus élevé (+10%) lorsqu'ils ont reçu une pâtée de gavage supplémentée en choline ($P < 0,001$). Ils montrent également qu'une supplémentation alimentaire en choline pendant la phase de gavage réduit de 21% le poids de foie à la fin de la phase de gavage (575 vs 731 g dans les lots FTGT+FCGT vs FCGC+FTGC ; $P < 0,001$; Tableau 3). Le poids du muscle du magret n'a pas été influencé par la supplémentation en choline. En revanche, le poids de la peau du magret est plus faible de 7% chez les animaux ayant reçu une pâtée supplémentée en choline pendant la phase de gavage (181 vs 195 g dans les lots FTGT+FCGT vs FCGC+FTGC ; $P < 0,01$). Ces résultats sont à l'opposé de ceux obtenus précédemment (Hejja-Vetesi, 1975). Ces observations vont dans le sens de ce qui a été observé en médecine humaine, à savoir qu'une déficience en choline dans l'organisme favoriserait la stéatose hépatique (EFSA, 2016).

CONCLUSION

Cet essai a mis en évidence un effet dépressif d'une supplémentation en choline dans la pâtée de gavage sur l'intensité de la stéatose hépatique tandis qu'une supplémentation en phase de finition n'a pas apporté de bénéfice sur les performances des animaux.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arroyo J., Dubois J.P., Lavigne F., Brachet M., Fortun-Lamothe L. 2016. Effects of replacing corn by sorghum on the performance of overfed mule ducks. *Poultry Sci.* 95 (6): 1304-1311
- Baéza, E., Marie-Etancelin, C., Davail, S., Diot, C. 2013. Hepatic steatosis in waterfowl. *Inra Productions Animales* 26: 403-414.
- European Food Safety Authority 2016. Dietary Reference Values for choline, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Commission resquetor, question number EFSA-Q-2011-01208. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2016.4484>
- Hejja-Vetesi, M. 1975. Effect of choline as a feed additive on the liver weight of geese. *Baromfiipar* 22: 28-30.
- Kumar K.A., Lalitha A., Pavithra D., Padmavathi I.J.N., Ganeshan M., Rao K.R., Venu L., Balakrishna N., Shanker N.H., Reddy S.U., Chandak G.R., Sengupta S., Raghunath M., 2013. Maternal dietary folate and/or vitamin B12 restrictions alter body composition (adiposity) and lipid metabolism in Wistar rat offspring. *J. Nutrition. Biochem.*, 24, 25-31.

Mc Neil C.J., Hay S.M., Rucklidge G.J., Reid M.D., Duncan G.J., Malonye C.A., Rees W.D., 2008. Disruption of lipid metabolism in the liver of the pregnant rat fed folate deficient and methyl donor-deficient diets. *Brit. J. Nutr.*, 99, 262-271.

Mc Neil C.J., Hay S.M., Rucklidge G.J., Reid M.D., Duncan G.J., Rees W.D., 2009. Maternal diets deficient in folic acid and related methyl donors modify mechanisms associated with lipid metabolism in the fetal liver of the rat. *Brit. J. Nutr.*, 102, 1445-1452.

Roblin X., Pofelski J., Zarski J.P. 2007. Rôle de l'homocystéine au cours de la stéatose hépatique et de l'hépatite chronique C. *Gastroenterol. Clin. Biol.*, 31, 415-420.

Ricard F.H., Rouvier R. 1967. Etude de la composition anatomique du poulet, *Annales Zootechniques*, 1966,15 (2), 197-209. Station expérimentale d'Aviculture du Magneraud, Centre national de Recherches zootechniques, 78 - Jouy-en-Josas.

Sauvant D., Perez J. M., Tran G., 2004. Tables of composition and nutritive value of feed materials: Pigs, poultry, cattle, sheep, goats, rabbits, horses, fish. INRA Editions, ed. Wageningen Academic Publishers, the Netherlands.

Tableau 1. Effets de la supplémentation en choline sur les performances zootechniques des animaux pendant la phase d'élevage (1 à 80 j d'âge)
(Moyenne \pm SEM)

Modalités	FT	FC	P-value
Poids vif (g)			
14 j	521 \pm 55	531 \pm 42	NS
28 j	1583 \pm 93	1564 \pm 111	NS
56 j	3836 \pm 214	3814 \pm 247	NS
70 j	4280 \pm 264	4285 \pm 294	NS
80 j	4483 \pm 294	4473 \pm 311	NS
GMQ (g/j)			
1 et 14 j	33 \pm 4	34 \pm 3	NS
15 et 28 j	76 \pm 5	74 \pm 6	NS
43 et 56 j	74 \pm 8	73 \pm 10	NS
57 et 70 j	30 \pm 8	31 \pm 8	NS
71 et 77 j	29 \pm 10	26 \pm 11	NS
IC entre 0 et 70 j	3,03 \pm 0,20	3,06 \pm 0,21	NS
IC entre 0 et 77 j	3,24 \pm 0,25	3,26 \pm 0,26	NS

Niveau de signification : NS, $p > 0,05$

Tableau 2. Effets de la supplémentation en choline sur la composition corporelle des animaux avant et à la fin de la phase de finition (56 et 80 j d'âge)
(Moyenne \pm SEM)

Modalités	FT	FC	P-value
A 56 j d'âge			
Poids vif (g)	3836 \pm 214	3814 \pm 247	NS
Foie/Poids vif (%)	1,81 \pm 0,17	1,96 \pm 0,19	NS
Gras abdominal/Poids vif (%)	1,33 \pm 0,28	1,33 \pm 0,11	NS
Muscle magret/ Poids vif (%)	5,67 \pm 0,33	5,3 \pm 0,40	NS
Peau magret/ Poids vif (%)	40,1 \pm 8,47	41,4 \pm 4,23	NS
A 80 j d'âge			
Poids vif (g)	4483 \pm 294	4473 \pm 311	NS
Foie/Poids vif (%)	1,17 \pm 0,34	1,08 \pm 0,13	NS

Gras abdominal/Poids vif (%)	1,62 ± 0,41	1,36 ± 0,46	NS
Muscle <i>Pectoralis major</i> / Poids vif (%)	7,19 ± 0,45	7,21 ± 0,35	NS
Peau <i>Pectoralis major</i> / Poids vif (%)	30,6 ± 6,46	27,1 ± 5,65	NS

Niveau de signification : NS, p>0,05

**Tab
leau
3.
Effe
ts
de**

la supplémentation en choline sur les performances des animaux pendant la phase de gavage
(Moyenne ± SEM)

Modalités	FTGC	FTGT	FCGC	FCGT	P-value
Mortalité entre 80 et 90 j d'âge	2/72	2/72	3/72	3/72	NS
Poids vif à 80 j d'âge (g)	4518 ± 298	4519 ± 297	4545 ± 296	4552 ± 302	NS
Poids vif à 90 j d'âge (g)	6347 ± 355 b	6505 ± 383 a	6353 ± 405 b	6579 ± 368 a	***
Poids de foie à 90 j d'âge (g)	581 ± 79 b	741 ± 86 a	568 ± 99 b	721 ± 100 a	***
Magret poids muscle à 90 j d'âge (g)	331 ± 23	329 ± 30	325 ± 28	326 ± 29	NS
Magret poids peau à 90 j d'âge (g)	182 ± 21 b	195 ± 22	179 ± 22 b	194 ± 19 a	**
Consommation entre 80 et 90 j d'âge (g)	7773 ± 489	7774 ± 798	7687 ± 897	7726 ± 781	NS
Gain de poids entre 80 et 90 j d'âge (g)	1820 ± 189 b	1980 ± 198 a	1804 ± 256 b	2018 ± 225 a	***
IC entre 80 et 90 j d'âge	4,36 ± 0,47 b	4,02 ± 0,48 a	4,44 ± 0,66 b	3,95 ± 0,50 a	***

Niveau de signification : ***, P<0,001 ; **, P<0,01 ; *, P< 0,05 ; NS, p>0,05. Sur une même ligne les moyennes affectées du même indice ne diffèrent pas entre elles.

EFFET DE L'ALIMENTATION DES CANETONS EN PHASE DE DEMARRAGE POUR UNE HOMOGENEISATION DES LOTS DE CANARDS PRETS-A-GAVER

M. Bijja^a, F. Lavigne^a, J. Arroyo^a, L. Fortun-Lamothe^b et C. Bonnefont^b

^aASSELDOR, La Tour de Glane, 24420 Coulaures, France

^bGenPhySE, INRA, Université de Toulouse, INP-ENSAT, 26 Chemin de Borde Rouge, 31326 Castanet Tolosan, France

m.bijja@gmail.com

RÉSUMÉ

La croissance musculaire des oiseaux est initialisée pendant la période fœtale et se poursuit après éclosion. Cette phase caractérisée par la prolifération et la nucléarisation des fibres musculaires, favorisée par l'alimentation précoce et sa présentation. Les délais de livraison, l'intervalle éclosion-arrivée en élevage entraîne un jeûne prolongé. En production de foie gras, les canards sont rationnés à 8 semaines d'âge pour préparer la mise en gavage. La dispersion des poids observée à 8 semaines d'âge reste variable jusqu'à la mise en gavage et rend difficile la conduite des animaux. L'objectif de l'essai était d'étudier l'effet "délai-arrivée" des animaux sur l'élevage et l'accès à l'alimentation et sa présentation (miette vs vermicelle) sur les performances zootechniques. 600 canards, ont été élevés en 12 parcs de 50 animaux. Quatre modalités de 3 lots de 50 canards ont été testées pendant la phase de démarrage (0-11 jours d'âge), pour étudier l'influence de la présentation et de l'accès à l'aliment après éclosion (précoce=14h ou tardif=36 h). Du 11^{ème} jour à la mise en gavage, les animaux ont eu la même conduite alimentaire. A 70j et 84j, 280 canards (70 canards/modalité) ont été mis en gavage avec objectif de 550 g de foie. Les résultats ont montré que la modalité "vermicelle" dès 14h avait une consommation supérieure aux autres modalités. Du 11^{ème} jour à la mise en gavage, la consommation des 4 modalités était similaire, le vermicelle favorisant significativement la prise alimentaire uniquement les 11 premiers jours d'âge, avec un effet jusqu'à 28 jours d'âge. Le vermicelle en alimentation précoce, se démarquaient de 28 à 52 jours d'âge sur les poids. De la préparation au gavage à 84 jours d'âge, aucune différence ne subsistait. L'ensemble des paramètres mesurés sur les animaux mis en gavage à 10 semaines d'âges étaient similaires. Cependant chez les animaux mis en gavage à 12 semaines, l'ensemble des paramètres mesurés était similaires (350 g muscle pectoral) excepté le poids de foie du lot "vermicelle" qui était 4% plus lourds que ce du lot "miette" (728g vs 702g ; P<0,05). Aucun paramètre du schéma expérimental n'explique cet écart. Il en résulte que la présentation et le délai d'accès à l'aliment ne semblent pas avoir d'effet significatif sur le poids et l'homogénéité des canards prêts-à-gaver à 84 jours ni sur leur performances de gavage.

ABSTRACT

Effect of the feeding of the ducklings at the start for a homogenization of the duck lots ready to feed

Muscle growth of the birds is initiated during the fetal period and continues after hatching. This phase characterized by the proliferation and nucleation of muscle fibers, favored by early feeding and presentation. Delivery times, the hatching interval-arrival in breeding leads to prolonged fasting. In foie gras production, ducks are rationed at 8 weeks of age to prepare for force-feeding. The dispersion of the weights observed at 8 weeks of age remains variable until the feeding into gavage and makes difficult the driving of the animals. The aim of the trial was to study the "delay-arrival" effect of animals on livestock production and access to food and its presentation (crumb vs. vermicelli) on zootechnical performance. 600 ducks were raised in 12 parks of 50 animals. Four modalities of 3 batches of 50 ducks were tested during the start-up phase (0-11 days of age), to study the influence of presentation and access to the food after hatching (early = 14h or late = 36 h). From the 11th day to the feeding, the animals had the same food behavior. At 70d and 84d, 280 ducks (70 ducks / modality) were put into gavage with objective of 550 g of liver. The results showed that the modality "vermicelli" from 14h had a higher consumption than the other modalities. From the 11th day to force-feeding, the consumption of the 4 modalities was similar, vermicelli significantly favoring food intake only during the first 11 days of age, with an effect up to 28 days of age. The vermicelli in early feeding stood out from 28 to 52 days of age on the weights. From priming to 84 days of age, no difference remained. The set of parameters measured on the animals put into gavage at 10 weeks of age were similar. However, in animals fed at 12 weeks, all parameters measured were similar (350 g pectoralis muscle) except the liver weight of the lot "vermicelli" which was 4% heavier than that of the batch "crumb" (728g vs 702g, P <0.05). No parameter of the experimental scheme explains this difference. As a result, the presentation and the time of access to the food do not seem to have a significant effect on the weight and homogeneity of the ready-to-feed ducks at 84 days nor on their feeding performance.

INTRODUCTION

Chez les oiseaux comme chez les mammifères, la croissance musculaire est initialisée pendant la période fœtale et se poursuit après la naissance. Cette phase est caractérisée par la prolifération et la migration de cellules « satellites » qui vont nucléariser les fibres musculaires (Mozdziak *et al.*, 1997). Par la suite la croissance musculaire est surtout le résultat d'une hypertrophie. Chez le poulet, la densité de noyaux dans les fibres musculaires à la fin de la première semaine de vie est corrélée avec le poids du filet à 35 jours et 42 jours d'âge (Uni et Ferket, 2004). Cette prolifération précoce peut être augmentée par des conditions environnementales comme la lumière (spectres bleu et vert plutôt que blanc) ou la température (+2°C pendant 6h). Elle est aussi favorisée par une alimentation précoce, i.e. dès le premier jour de vie. Sachant qu'un accès précoce à l'aliment augmente aussi le développement des réservoirs digestifs (Bigot *et al.*, 2003, Uni et Ferket, 2004, ou Moore *et al.*, 2005). De plus, nous savons que la forme de présentation des aliments de démarrage (miette vs. vermicelle) influence l'ingestion dans les premiers jours de vie (Cerrate *et al.*, 2008). Etant donné l'étalement des délais de livraison, cet intervalle éclosion-arrivée sur l'élevage entraîne un jeûne prolongé des canetons. Or, dans le système de production de foie gras, les canards sont rationnés à partir de l'âge de 8 semaines, afin de préparer à la mise en gavage (préparation du jabot). En conséquence, la dispersion des poids observée à 8 semaines d'âge, reste stable voire s'accroît jusqu'à la mise en gavage, car une restriction alimentaire limite fortement les possibilités de croissance compensatrice. L'existence d'une hétérogénéité du poids des animaux au début de la phase de gavage rend plus difficile la conduite des animaux et entraîne un risque de limitation de l'expression du potentiel des animaux les plus matures et/ou dépasser les capacités des animaux les moins matures. Pour augmenter l'homogénéité des animaux à la mise en gavage il convient donc d'essayer de réduire la dispersion des poids à l'âge de 8 semaines, et pour cela optimiser les conditions de démarrage. L'objectif de cet essai est d'étudier l'impact du délai entre l'arrivée des animaux à l'élevage et le moment d'accès à l'alimentation sur les performances des canards, ainsi que l'impact de la forme de présentation de l'aliment. Les données ont été analysées au moyen de la procédure GLM du logiciel d'analyse statistiques " PASW Statistics 18.0". La comparaison des différences de l'ensemble des valeurs est réalisée grâce au test de Duncan. La comparaison des variables discrètes est réalisée grâce au test du Khi deux. Les moyennes sont considérées comme statistiquement non significatives si $P > 0,05$.

1. MATERIELS ET METHODES

L'essai s'est déroulée à ASSELDOR la Ferme Expérimentale de l'Oie et du Canard (Coulaures, Dordogne ; autorisation pour l'expérimentation A24-137-1). Pour cela 600 canards, ont été élevés en 12 parcs de 50 animaux, et ont été élevés de façon standard avec de l'aliment du commerce comme décrit par Arroyo et al. (2014).

- Dispositif expérimental

Quatre modalités ont été testées pendant la phase de démarrage (0-11 jours d'âge), pour étudier l'influence de la forme de présentation de l'aliment (miette ou vermicelle) et du moment de l'accès à l'aliment après la naissance (précoce = 14h ou tardif = 36 h après éclosion) selon un schéma factoriel 2 x 2. Les aliments étaient d'origine commerciale et ne différaient que par la forme de présentation (Vermicelle ou de Miette) :

- Modalité 1 (3 lots de 50 canards) : aliment sous forme de vermicelle, accès précoce : V14h
- Modalité 2 (3 lots de 50 canards) : aliment sous forme vermicelle, accès tardif : V36h
- Modalité 3 (3 lots de 50 canards) : aliment sous forme de miette, accès précoce : M14h
- Modalité 4 (3 lots de 50 canards) : aliment sous forme de miette, accès tardif : M36h

Du 11^{ème} jour à la mise en gavage, tous les animaux ont eu la même conduite alimentaire. Puis à 70 j et ensuite à 84 j, 280 canards (70 canards représentatif de la variabilité /modalité) ont été mis en gavage en suivant une courbe standard avec un objectif de poids de foie de 550 g.

- Mesures

- Elevage

- Pesée individuelle à 1j, 11 j, 28j, 42j, 56j, 70j et 84j
- Consommation d'aliment : quotidienne les 10 premiers jours puis hebdomadaire par parc
- Dissection anatomique complète de 12 canards/modalités à 10j, à 56 j et à chaque mise en gavage (70 et 80 j)

- Gavage et abattage

- Poids vif mise en gavage et abattage
- Consommations individuelles (repas non distribués)
- Performances en foie (poids)
- Poids de magret (peau et muscle séparé)

2. RESULTATS ET DISCUSSION

On observe que dès le début de l'essai (Figure 1), les animaux ayant reçu du vermicelle dès 14h après éclosion, avaient une consommation alimentaire plus importante que les trois autres modalités. Cette observation montre que la mise à disposition de l'aliment le plus tôt possible après l'éclosion est tout de suite exploitée par les canetons. Cette pratique montre bien que faire jeuner les canetons avec l'idée que la résorption du vitellus comme cela se fait en poulet (Careghi *et al.*, 2005), diffère la prise d'aliment. Puis dès le 11^{ème} jour, jusqu'à l'âge de mise en gavage, la consommation quotidienne des 4 modalités étaient similaires (Tableau 1). Concernant la forme de présentation de l'aliment, la forme vermicelle semble favoriser très significativement la prise alimentaire pendant les 11 premiers jours d'âge puis n'était plus significatif tandis que l'effet délai perdurait jusqu'à l'âge de 28 jours (Tableau 2). La forme de l'aliment vermicelle, combinée à l'alimentation précoce, se démarquait significativement au niveau du poids des canards de 28 à 52 jours d'âge. La différence était encore faiblement significative à 70 jours, puis il n'y avait plus de différence significative à la fin de la préparation au gavage des animaux à 84 jours d'âge (Tableau 3). L'ensemble des paramètres mesurés à 11, 52, 74 et 84 jours, étaient similaires (Tableau 4). L'ensemble des paramètres mesurés sur les animaux

mis en gavage à 10 semaines d'âges étaient similaires : 8kg de maïs, 629 g de foie, 324g de muscle pectoral et 183 g de peau + gras sous-cutané (Tableau 5). Cependant chez les animaux mis en gavage à 12 semaines, l'ensemble des paramètres mesurés était similaires : 8,4kg de maïs, 350 g muscle pectoral, 198 g de peau + gras sous-cutané ; excepté le poids de foie du lot « vermicelle » qui était 4% plus lourds que ce du lot « miette » (728 g vs. 702 g ; $P < 0,05$, Tableau 5). Cette différence observée reste à approfondir dans la mesure où aucun paramètre du schéma expérimental ne semble expliquer cet écart.

CONCLUSION

Dans ce travail, le but était d'étudier i) l'impact du délai entre l'arrivée des animaux à l'élevage et le moment d'accès à l'alimentation sur les performances des canards : accès à l'aliment dès l'arrivée dans l'élevage (accès précoce – 14h après l'éclosion) ou délai de 36h entre l'arrivée à l'élevage et l'accès à l'aliment (accès tardif) et ii) la forme présentation des aliments (miette vs vermicelle). Il en résulte que même si la forme vermicelle améliore la prise alimentaire en démarrage, la présentation des aliments ainsi que le délai d'accès à la mangeoire ne semblent pas avoir d'effet significatif sur le poids et l'homogénéité des canards prêts-à-gaver à 84 jours ni sur leur performances durant le gavage.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arroyo J., Fortun-Lamothe L., Dubois J.P., Lavigne F., Bijja M., Molette C. (2014) The influence of choice feeding and cereal type (corn or triticale) during the finishing period on performance of mule ducks. *Poultry Science*, 93 (9): 2220-2226.
- Bigot, K., Mignon-Grasteau, S., Picard, M., Tesseraud, S. (2003). Effects of delayed feed intake on body, intestine, and muscle development in neonate broilers. *Poultry science*, 82(5), 781-788.
- Careghi et al, 2005, *Poult.Sci.*, 84, 1314-1320 Halevy et al, 2006, *World Poult. Sci.J.*, 62,485-497
- Cerrate, S., Wang, Z., Coto, C., Yan, F., Waldroup, P. W. (2008). Effect of pellet diameter in broiler prestarter diets on subsequent performance. *International Journal of Poultry Science*, 7(12), 1138-1146.
- Moore, D. T., Ferket, P. R., Mozdziak, P. E. (2005). Early post-hatch fasting induces satellite cell self-renewal. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 142(3), 331-339.
- Mozdziak, P. E., Schultz, E., Cassens, R. G. (1997). Myonuclear accretion is a major determinant of avian skeletal muscle growth. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 272(2), C565-C571.
- Uni, Z., Ferket, R. P. (2004). Methods for early nutrition and their potential. *World's Poultry Science Journal*, 60(01), 101-111.

Tableau 1. Consommation individuelle (g/j) de 11 à 84 jours

	Groupes				ESM	Significativité		
	M14h	M36h	V14h	V36h		P	D	P*D
Consommation quotidienne 11_12 j	18,40	17,61	18,82	18,14	0,5	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 13_21 j	145,08	140,20	154,92	143,04	2,7	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 22_28 j	182,98	179,88	187,18	177,16	1,8	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 29_35 j	295,14	293,79	317,50	296,19	5,5	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 36_42 j	238,17	244,48	244,19	241,42	1,9	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 43_49 j	345,73	356,75	352,13	348,04	4,0	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 50_55 j	209,62	213,99	215,67	220,88	1,8	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 56_63 j	272,73	271,65	270,05	260,23	2,2	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 64_70 j	318,00	315,15	318,76	309,28	3,1	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 71_77 j	263,15	273,95	262,08	256,23	4,2	ns	ns	ns
Consommation quotidienne 78_84 j	287,02	330,02	318,69	339,36	10,0	ns	ns	ns

M14h : lot ayant reçu des miettes 14h après l'éclosion ; M36h : lot ayant reçu des miettes 36h après l'éclosion, V14h : lot ayant reçu des vermicelles 14h après l'éclosion ; V36h : lot ayant reçu des vermicelles 36h après l'éclosion. ESM : Erreur-standard à la moyenne ; P : effet de la présentation des aliments (vermicelle ou miette) ; D : effet du délai entre l'éclosion et l'accès à la mangeoire ; P*D : interaction des 2 effets. Ns : $p > 0,05$; * : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$; *** : $p < 0,001$. Sur une même ligne, les moyennes affectées du même indice ne sont pas différentes entre elles au seuil $p=0,05$

Tableau 2 : Consommation cumulée (g)

	Groupes				ESM	P-value		
	M14h	M36h	V14h	V36h		P	D	P*D
Consommation cumulée jusqu'à 1 j	8	0	10	0	1	0,045	<0,001	0,045
Consommation cumulée jusqu'à 2 j	18	8	23	10	2	0,001	<0,001	0,196
Consommation cumulée jusqu'à 3 j	29	19	37	23	2	0,003	<0,001	0,179
Consommation cumulée jusqu'à 4 j	42	34	54	39	3	0,006	0,001	0,195
Consommation cumulée jusqu'à 5 j	60	51	77	57	3	0,008	0,002	0,140
Consommation cumulée jusqu'à 6 j	86	76	108	83	4	0,006	0,002	0,095
Consommation cumulée jusqu'à 7 j	114	103	143	112	5	0,011	0,008	0,129
Consommation cumulée jusqu'à 8 j	158	148	197	158	7	0,024	0,024	0,147
Consommation cumulée jusqu'à 9 j	208	194	255	205	8	0,029	0,019	0,142
Consommation cumulée jusqu'à 10 j	285	265	331	276	9	0,025	0,007	0,135
Consommation cumulée jusqu'à 11 j	285	265	331	276	9	0,025	0,007	0,135
Consommation cumulée jusqu'à 12 j	303	282	349	294	9	0,032	0,009	0,163
Consommation cumulée jusqu'à 21 j	1609	1544	1744	1581	31	0,127	0,055	0,364
Consommation cumulée jusqu'à 28 j	2890	2803	3054	2821	41	0,213	0,045	0,311
Consommation cumulée jusqu'à 35 j	4956	4860	5276	4895	76	0,223	0,114	0,319
Consommation cumulée jusqu'à 42 j	6623	6571	6986	6585	85	0,265	0,187	0,299
Consommation cumulée jusqu'à 49 j	9043	9068	9451	9021	100	0,388	0,336	0,283
Consommation cumulée jusqu'à 55 j	10301	10352	10745	10346	99	0,294	0,399	0,282
Consommation cumulée jusqu'à 63 j	12483	12525	12905	12428	108	0,475	0,346	0,265
Consommation cumulée jusqu'à 70 j	14709	14731	15136	14593	112	0,525	0,267	0,230
Consommation cumulée jusqu'à 77 j	16551	16649	16971	16387	128	0,768	0,375	0,223
Consommation cumulée jusqu'à 84 j	18560	18959	19202	18762	176	0,571	0,959	0,297

M14h : lot ayant reçu des miettes 14h après l'éclosion ; M36h : lot ayant reçu des miettes 36h après l'éclosion, V14h : lot ayant reçu des vermicelles 14h après l'éclosion ; V36h : lot ayant reçu des vermicelles 36h après l'éclosion. ESM : Erreur-standard à la moyenne ; P : effet de la présentation des aliments (vermicelle ou miette) ; D : effet du délai entre l'éclosion et l'accès à la mangeoire ; P*D : interaction des 2 effets. Sur une même ligne, les moyennes affectées du même indice ne sont pas différentes entre elles au seuil $p=0,05$

Tableau 3 : Croissance des animaux

	Groupes				ESM	P-value		
	M14h	M36h	V14h	V36h		P	D	P*D
Poids, g								
1 jour	50 (CV : 9%) 251 ^c	49 (CV : 9%) 234 ^d	49 (CV : 9%) 296 ^a	50 (CV : 9%) 269 ^b	0,2	0,206	0,781	0,800
11 jours	1510 ^b (CV : 19%)	1538 ^b (CV : 16%)	1575 ^a (CV : 19%)	1525 ^b (CV : 16%)	2,1	< 0,001	< 0,001	0,207
28 jours	2800 ^b (CV : 11%)	2819 ^b (CV : 10%)	2921 ^a (CV : 10%)	2825 ^b (CV : 9%)	6,3	0,037	0,383	0,002
42 jours	3690 ^b (CV : 8%)	3740 ^b (CV : 8%)	3824 ^a (CV : 8%)	3745 ^b (CV : 8%)	9,7	0,001	0,044	0,003
52 jours	4318 ^b (CV : 8%)	4365 ^{ab} (CV : 7%)	4442 ^a (CV : 7%)	4333 ^b (CV : 7%)	11,8	0,003	0,543	0,006
70 jours	4836 (CV : 7%)	4922 (CV : 8%)	4909 (CV : 8%)	4798 (CV : 8%)	15,3	0,131	0,305	0,011
84 jours	4836 (CV : 8%)	4922 (CV : 8%)	4909 (CV : 9%)	4798 (CV : 9%)	25,0	0,619	0,806	0,051

M14h : lot ayant reçu des miettes 14h après l'éclosion ; M36h : lot ayant reçu des miettes 36h après l'éclosion, V14h : lot ayant reçu des vermicelles 14h après l'éclosion ; V36h : lot ayant reçu des vermicelles 36h après l'éclosion. CV : Coefficient de variation ; ESM : Erreur-standard à la moyenne ; P : effet de la présentation des aliments (vermicelle ou miette) ; D : effet du délai entre l'éclosion et l'accès à la mangeoire ; P*D : interaction des 2 effets. Sur une même ligne, les moyennes affectées du même indice ne sont pas différentes entre elles au seuil p=0,05

Tableau 4 : Dissection anatomique des canards

	Groupes				ESM	P-value		
	M14h	M36h	V14h	V36h		P	D	P*D
A 11 jours								
Poids vif, g	253	232	286	262	12,4	0,008	0,058	0,867
Intestin (% du poids vif)	9,1	8,9	8,2	8,6	0,34	0,077	0,815	0,381
<i>Pectoralis major</i> (% du poids vif)	0,6	0,6	0,5	0,5	0,04	0,093	0,894	0,822
<i>Pectoralis minor</i> (% du poids vif)	0,6	0,6	0,5	0,5	0,04	0,093	0,894	0,822
<i>Cuisse sans peau</i> (% du poids vif)	8,4	8,3	8,9	8,5	0,14	0,021	0,088	0,350
A 52 jours								
Poids vif, g	3712	3759	3821	3740	62,2	0,480	0,783	0,314
Intestin (% du poids vif)	4,3	4,1	4,2	4,3	0,11	0,743	0,852	0,097
<i>Pectoralis major</i> (% du poids vif)	5,1	5,2	5,3	5,2	0,11	0,385	0,988	0,299
<i>Pectoralis minor</i> (% du poids vif)	5,1	5,2	5,3	5,2	0,11	0,385	0,988	0,299
<i>Cuisse sans peau</i> (% du poids vif)	9,0	8,9	8,9	9,0	0,10	0,914	0,670	0,303
A 74 jours								
Poids vif, g	4393	4491	4553	4359	84,2	0,870	0,571	0,089
Intestin (% du poids vif)	4,1	4,1	4,2	3,9	0,10	0,771	0,042	0,137
<i>Pectoralis major</i> (% du poids vif)	7,2	7,2	7,0	7,2	0,11	0,416	0,568	0,339
<i>Pectoralis minor</i> (% du poids vif)	7,2	7,2	7,0	7,2	0,11	0,416	0,568	0,339
<i>Cuisse sans peau</i> (% du poids vif)	7,7	7,8	7,7	7,8	0,09	0,523	0,409	0,895
A 88 jours								
Poids vif, g	4569	4705	4658	4596	117,5	0,934	0,760	0,419
Intestin (% du poids vif)	3,5	3,7	3,7	3,3	0,11	0,360	0,167	0,005
<i>Pectoralis major</i> (% du poids vif)	7,7	7,7	7,6	7,8	0,10	0,655	0,524	0,436
<i>Pectoralis minor</i> (% du poids vif)	7,7	7,7	7,6	7,8	0,10	0,655	0,524	0,436
<i>Cuisse sans peau</i> (% du poids vif)	7,9	8,0	7,8	7,8	0,10	0,332	0,771	0,448

M14h : lot ayant reçu des miettes 14h après l'éclosion ; M36h : lot ayant reçu des miettes 36h après l'éclosion, V14h : lot ayant reçu des vermicelles 14h après l'éclosion ; V36h : lot ayant reçu des vermicelles 36h après l'éclosion. CV : Coefficient de variation ; ESM : Erreur-standard à la moyenne ; P : effet de la présentation des aliments (vermicelle ou miette) ; D : effet du délai entre l'éclosion et l'accès à la mangeoire ; P*D : interaction des 2 effets. Sur une même ligne, les moyennes affectées du même indice ne sont pas différentes entre elles au seuil p=0,05

Tableau 5 : Performance pendant le gavage

	Groupes				ESM	P-value		
	M14h	M36h	V14h	V36h		P	D	P*D
A 10 semaines								
Poids vif à 70 jours, g	4314	4339	4449	4328	24	0,195	0,311	0,133
Consommation total maïs, g	8002	8002	7985	8002	4	0,325	0,325	0,325
Poids vif à l'abattage, g	6164	6171	6237	6175	24	0,434	0,574	0,463
Gain de Poids, g	1850	1832	1787	1846	15	0,424	0,486	0,234
IC	4,36	4,40	4,51	4,41	0,04	0,260	0,634	0,343
ITM	12,62	13,10	12,93	13,30	0,16	0,407	0,183	0,868
Poids de foie, g	646	626	627	617	7	0,310	0,309	0,762
Poids de muscle pectoral, g	325	324	326	323	2	0,981	0,604	0,825
Poids peau de pectoral, g	186	185	181	181	2	0,212	0,872	0,907
A 12 semaines								
Poids vif à 84 jours, g	4872	4944	4903	4800	26	0,406	0,783	0,089
Consommation total maïs, g	8397	8427	8408	8427	6	0,334	0,334	0,334
Poids vif à l'abattage, g	6593	6735	6722	6679	27	0,473	0,583	0,092
Gain de Poids, g	1720	1791	1819	1878	18	0,015	0,193	0,978
IC	4,95	4,79	4,70	4,56	0,05	0,011	0,176	0,952
ITM	12,38	11,95	11,84	11,58	0,11	0,018	0,231	0,775
Poids de foie, g	688	716	721	735	6	0,040	0,208	0,760
Poids de muscle pectoral, g	349	354	348	348	2	0,488	0,563	0,643
Poids peau du pectoral, g	190	199	204	198	2	0,083	0,805	0,059

ITM : indice de transformation du maïs en foie gras ; IC : indice de consommation ; ESM : Erreur-standard à la moyenne ; M14h : lot ayant reçu des miettes 14h après l'éclosion ; M36h : lot ayant reçu des miettes 36h après l'éclosion, V14h : lot ayant reçu des vermicelles 14h après l'éclosion ; V36h : lot ayant reçu des vermicelles 36h après l'éclosion. CV : Coefficient de variation ; ESM : Erreur-standard à la moyenne ; P : effet de la présentation des aliments (vermicelle ou miette) ; D : effet du délai entre l'éclosion et l'accès à la mangeoire ; P*D : interaction des 2 effets. Sur une même ligne, les moyennes affectées du même indice ne sont pas différentes entre elles au seuil $p=0,05$

