

EFFET DES CONDITIONS ALIMENTAIRES DE DÉMARRAGE (0-5 JOURS) SUR L'ÉVALUATION D'UNE PHYTASE MICROBIENNE

Rousseau Xavière¹, Narcy Agnès², Ten Doeschate AHM Robert¹, Gomes Gilson¹

¹ AB VISTA, 3 Woodstock Court, Blenheim Road, Marlborough Business Park, SN8 4AN
MARLBOROUGH, Angleterre,

² INRA, Recherches Avicoles, F-37380 NOUZILLY, France
xaviere.rousseau@abvista.com

RÉSUMÉ

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet des conditions alimentaires de démarrage (CAD. 0 ou 5 jours sur un aliment optimal) sur la réponse au phosphore (P) et à la phytase de poulets de chair en termes de performances de croissance, minéralisation osseuse et digestibilité iléale. Un total de 144 poussins d'1 jour a été élevé en cages individuelles. Ils ont été répartis selon 12 traitements alimentaires respectant un dispositif factoriel avec 4 niveaux de P disponibles (0,45 ; 0,35 ; 0,25 et 0,15%) couplés à 2 conditions de démarrage (0 jour – CAD0 ou 5 jours soumis à l'aliment 0,45% de P disponible – CAD5). Deux niveaux de supplémentation en phytase (400 et 800 FTU Quantum® Blue /kg) ont été testés sur le régime le moins concentré en P (0,15%). Le ratio Ca:P disponible a été adapté (Calcium : 0,90, 0,80, 0,68, 0,57%). Les régimes étaient à base de maïs, blé et tourteau de soja, distribués *ad libitum* jusque 19 jours. Le gain de poids et l'ingéré ont été mesurés et l'indice de consommation calculé. À 19 jours, les tibias ont été excisés et le digesta de la partie distale de l'iléon prélevé. Le % cendres tibiales, le poids de cendre et la digestibilité iléale de P sont uniquement impactés par le niveau de P. La réponse au P est dépendante de la condition de démarrage (CAD*P, $p < 0,05$) pour le gain de poids, l'ingéré, l'IC et la résistance à la rupture entraînant, par conséquent, pour ces critères des valorisations de P attribuées à la phytase différentes. Pour ces critères, les animaux ayant reçu les traitements dès leur mise en place ont une réponse au P plus marquée entraînant une valorisation de la phytase moins importante que les animaux ayant reçu 5 jours d'aliment optimal (CAD5). Les équivalences P étaient de, respectivement pour 400 et 800 FTU/kg, 0,173 et 0,215% pour les CAD0 et 0,182 et 0,253% pour les CAD5. Pour conclure, une période de démarrage de 5 jours sur un régime optimal modifie la réponse de l'animal au P et augmente l'équivalence P de la phytase ainsi que l'amplitude de réponse entre les 2 doses.

ABSTRACT

Effect of the starting feed conditions (0 or 5 days) on microbial phytase evaluation

The objective of the study was to evaluate if the starting feed conditions (SFC - 0 or 5 days on an optimal diet) affects the phosphorus (P) and phytase response in broiler chickens in terms of growth performance, bone mineralisation and ileal digestibility. A total of 144 day old chicks were placed in individual cages. They were distributed in 12 treatments following a 2 * 6 factorial design, with 4 available P (0.45; 0.35; 0.25 et 0.15%) in corn/wheat soybean based diets and two phytase levels (400 and 800 FTU Quantum® Blue/kg) added to the lowest P diet (0.15%) were fed to birds either from day old (SFC0) or after five day on a 0.45% available P diet (SFC5). The ratio Ca:available P varied across available P levels with Calcium at 0.90, 0.80, 0.68, 0.57% respectively. Birds were fed *ad libitum* until 19 days of age. Body weight gain and feed intake were measured and feed conversion ration calculated. At 19 d, birds were euthanized and tibias were excised and digesta from the ileal distal part removed. Tibia ash %, tibia ash weight and ileal P digestibility were only affected by P level. Phosphorus response was dependant to the starting feed conditions (SFC*P, $p < 0.05$) for weight gain, feed intake, FCR and bone breaking strength dealing by consequence with different P phytase equivalencies. For those criteria, animals fed treatments from 0d had a more pronounced P response leading with a less important phytase valorisation than those fed with the optimal diet during the first 5 days (SFC5). The calculated P equivalencies were, respectively for 400 and 800 FTU/kg, 0.173 and 0.215% for the SFC0 and 0.182 and 0.253% for the SFC5. In conclusion, 5 days on an optimal feed modified the response to P and increased the P equivalency of the phytase and the differential between the 2 doses.

INTRODUCTION

Faire correspondre les besoins des animaux aux nutriments fournis par l'aliment tout en respectant les contraintes fixées relatives au bien être ou à l'environnement, et ce, à moindre coût est le but ultime de tous fabricants d'aliment. Ceci nécessite de bien connaître les besoins des animaux mais aussi la valeur nutritionnelle des matières premières et additifs incorporés dans l'aliment. Les phytases sont les enzymes les plus intéressantes en termes de coût de formulation pour les monogastriques via la réduction de phosphate inorganique mais leur valeur reste dépendante de leurs interactions possibles avec de nombreux facteurs. Une surestimation des valeurs matricielles minérales (Calcium, **Ca** et Phosphore, **P**) entraînera des pertes de performances et potentiellement des problèmes en termes de bien-être mais une sous-estimation signifiera une perte d'opportunité. Des précautions s'imposent donc quant aux valeurs nutritionnelles qu'on leur attribue. Ainsi les méthodes de détermination ou les références utilisées doivent faire l'objet d'une attention particulière afin de s'assurer que les valeurs implémentées en formulation soit correctes quelle que soit l'enzyme concernée. Par conséquent, les conditions d'essai pour tester les enzymes doivent être maîtrisées pour être à même de leur attribuer une valeur fiable et pertinente, de déterminer des différences entre produits ou encore entre différentes doses. Bedford et al., 2015 ont recensés les différents modèles d'évaluation ainsi que les principaux facteurs affectant la réponse des phytases. Parmi eux, des facteurs liés à l'aliment, à la méthode et la physiologie des animaux. Notre étude avait pour objectif de déterminer si la distribution entre 0 et 5 jours d'âge d'un aliment formulé pour répondre à l'ensemble des besoins de l'animal a un effet sur la réponse au P et par conséquent sur les valeurs en P disponible qu'on attribue à une phytase.

1. MATERIELS ET METHODES

Un total de 144 poussins (Cobb 500) de 1 j répartis en cages individuelles ont reçu soit un aliment optimal couvrant l'ensemble de leurs besoins nutritionnels (**D4**) pendant les 5 premiers jours puis les traitements expérimentaux ou les traitements expérimentaux dès le démarrage (**D1**, **D2**, **D3**, **D1+400**, **D1+800**) jusqu'à 19 jours.

Au total, 12 traitements expérimentaux (Tableau 1) ont été testés suivant un design factoriel de 6 traitements x 2 conditions de démarrage (0 jour-**CAD0** et 5 jours-**CAD5**). Parmi les 6 traitements, 4 correspondaient à des niveaux croissants de P et Ca (traitements D1 à D4; tableau 1) et les deux autres à l'aliment le moins concentré en P disponible (D1) supplémenté avec 400 et 800 FTU/kg d'une phytase

microbienne (D1+400 et D1+800; Quantum® Blue, AB Vista). Les niveaux de Ca ont été adaptés en suivant les recommandations du fournisseur c'est-à-dire pour chaque diminution de 0,10% de P disponible une diminution de 0,11% de Ca. Le régime alimentaire était à base de maïs, blé et tourteau de soja, distribués *ad libitum* sous forme de granulés. Les niveaux de P disponible et Ca ont été ajustés par l'incorporation de carbonate de Ca et/ou de phosphate mono-calcique. Du dioxyde de titane en qualité de marqueur indigestible a été ajouté aux aliments à hauteur de 0,3%.

Les poids et consommation individuels ont été relevés à 19 jours d'âge. Les tibias de 12 animaux par régime ont été prélevés à 19 jours pour évaluer la résistance à la rupture (**RR**; N), le poids des cendres tibiales (**PCT**, g) et le taux de cendres (**CT**, %). De plus des prélèvements de contenu digestif au niveau de la partie distale de l'iléon ont été réalisés pour déterminer la digestibilité iléale apparente de P (**DIA**, %). Une analyse de régression a été réalisée pour tester la réponse au P pour l'ensemble des critères. L'équivalence en termes de P disponible de 2 doses de phytase (400 et 800 FTU/kg) a ainsi pu être calculée via l'équation de régression. Une analyse de variance associée à un test de Student a été utilisée pour tester l'effet des conditions de démarrage (**CAD**), du niveau de P disponible et l'interaction entre niveau de P et conditions alimentaires de démarrage (**P*****CAD**). Les analyses statistiques ont été réalisées via le logiciel JMP Pro 13.0.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les analyses chimiques des concentrations en Ca, P et activité phytasique étaient en accord, voire supérieures aux valeurs attendues (Tableau 2).

2.1 Réponse au phosphore : effet de l'aliment distribué entre 0 et 5 jours sur les performances de croissance

La consommation et la croissance des animaux ayant reçu les traitements alimentaires dès J0 (**CAD0**) ont été freinées pour les niveaux les plus bas de P ($P < 0,05$; Tableau 3) comparativement aux animaux ayant reçu le régime D4 jusqu'à J5. En effet, l'ingéré et le GMQ des animaux ayant reçu le régime D1 dès J0 étaient réduits de 33% par rapport aux animaux ayant reçu le régime D4 entre J0 et J5 puis le régime D1. L'indice de consommation était également détérioré (1,38 vs 1,47). Ces observations rendent compte des effets bien connus de la déficience en P sur l'appétit et du besoin spécifique de P pour la croissance. L'apport de phytase permet de contrecarrer la déficience. A mesure que la teneur alimentaire de P augmente pour les régimes non supplémentés en phytase (c.-à-d. à l'approche du besoin), la réponse des animaux **CAD0** se rapproche

de celle des animaux CAD5. La pente de réponse au P est ainsi augmentée pour les CAD0. Le fait de nourrir les animaux avec le régime D4 pendant les 5 premiers jours a donc eu pour effet de « lisser » la réponse des animaux en termes de performance de croissance (Figure 1) affectant de ce fait les équivalences de la phytase.

2.2 Réponse au phosphore : effet de l'aliment distribué entre 0 et 5 sur l'utilisation digestive et métabolique

Les critères de minéralisation osseuse tels que la résistance à la rupture (RR), le poids de cendres tibiales (PCT) et le % de cendres tibiales (CT) répondaient différemment par rapport aux performances de croissance. En effet, si la réponse au P du critère RR semble avoir été affectée par les conditions de démarrage (CAD*P, $p=0,039$), les critères de PCT, CT et de digestibilité iléale du P (DIA P) étaient seulement impactés par la teneur en P disponible. En effet, les animaux ayant reçu l'aliment le plus carencé en P (D1) dès la mise en place ont montré des os moins résistants que ceux ayant reçus le régime D1 après 5 jours ($-22N$, $P < 0,05$). La carence en P (0,15% de P disponible) était telle que les animaux n'ont pas été en mesure de compenser malgré l'amélioration de l'efficacité digestive ce qui s'est traduit par une minéralisation osseuse et des performances de croissance dégradées.

Les critères de PCT et CT n'ont été impactés que par les niveaux de P disponible avec une amélioration de ces deux critères jusqu'à 0,35 % de P disponible. En effet, cet essai n'a pas montré de différence significative entre les régimes D3 et D4.

La digestibilité iléale de P (DIA P) n'a été affectée que par les niveaux de P. Ce critère étant mesuré à un temps donné, il est possible que l'effet des conditions de démarrage ait été de court terme ou que les animaux avaient atteint le maximum de leur capacité d'absorption. D'après nos résultats, seul l'aliment le plus carencé en P a amélioré le coefficient de digestibilité par rapport à D3 et D4 alors que pour les aliments contenant de 0,25% à 0,45% de P disponible ce coefficient était similaire. Ces résultats corroborent ceux déjà observés (Yan et al., 2005 ; Huber et al., 2015 ; Rousseau et al., 2016) sur la capacité des animaux à mettre en œuvre des mécanismes d'adaptation au niveau digestif afin d'assurer une meilleure absorption de P et ainsi satisfaire partiellement ou totalement leurs besoins pour la croissance musculaire et osseuse.

2.3 Equivalence phytase : effet de l'aliment distribué entre 0 et 5 jours

L'analyse par régression a permis de déterminer à partir des résultats de gain de poids, une équivalence de 0,169% et 0,211% (pour 400 et 800 FTU/kg, respectivement) pour les CAD0 et 0,163% et 0,250%

(pour 400 et 800 FTU/kg, respectivement) pour les CAD5 soit 0,042 et 0,087 points de différence entre les 2 doses. Les conditions de démarrage, influençant le profil de réponse au P, ont entraîné une différence entre les 2 niveaux de phytase plus importante que pour les animaux ayant reçu les aliments dès leur mise en place. La valorisation de la phytase à partir des données d'ingestion était plus faible pour la dose de 400 FTU/kg chez les poulets ayant reçu le régime D4 les 5 premiers jours (0,166% vs 0,194%) et plus élevée pour la dose de 800 FTU/kg (0,313% vs 0,234%). L'amplitude de différence, pour ce critère, entre les 2 niveaux de phytase (400 et 800 FTU/kg) était par conséquent plus importante pour les CAD5 que pour les CAD0 (+0,147 vs +0,040). Contrairement aux critères de performances de croissance, les critères de minéralisation tels que le PCT et le CT n'ont pas été impacté par les conditions de démarrage mais uniquement par le niveau de P disponible des aliments.

Notons que la digestibilité iléale de P était significativement augmentée en présence de phytase: 67% en moyenne pour D1+400 et D1+800 contre 53% en moyenne pour D2, D3 et D4). Cette amélioration de l'absorption en parallèle d'une meilleure disponibilité du P a permis aux animaux d'atteindre des performances de croissance et une qualité de minéralisation équivalentes à celles observées chez les animaux ayant reçu les régimes les plus concentrés en P et Ca. Au-delà de l'effet propre de la phytase, il est probable que l'apport de Ca réduit dans ces régimes ait également favorisé la digestibilité de P. D'autre part, il est probable que le contenu en P de la litière ait été significativement réduit pour ces régimes.

A partir des critères de gain de poids, ingéré, RR et de PCT une moyenne de valorisation pour les deux doses de phytase et les 2 conditions de démarrage a pu être calculée (Tableau 4).

Tableau 4. Moyenne d'équivalence P pour 400 et 800 FTU/kg de phytase*

Traitement	Equivalence P disponible, %
PA0 – 400 FTU/kg	0,173
PA0 – 800 FTU /kg	0,215
Différence	0,042
PA5 – 400 FTU/kg	0,182
PA5 – 800 FTU/kg	0,253
Différence	0,071

* il est à noter que les différences de valorisation viennent des critères de performances et non des critères de minéralisation osseuse qui n'ont pas été influencés par les conditions de démarrage

Les conditions de démarrage semblent donc influencer la valeur d'équivalence attribuée à une phytase. La distribution d'un régime optimal aux poussins les 5 premiers jours entraîne une surestimation de l'équivalence comparée à un dispositif où les aliments sont distribués dès la mise

en place. Dans notre essai, le démarrage sur régime optimal surestime la valeur en P disponible de +5,2% et +18% pour 400 et 800 FTU/kg, respectivement. Cette surestimation peut avoir des conséquences sur les performances de croissance, la qualité de minéralisation des animaux et donc entraîner des pertes économiques non négligeables. Outre la surestimation ou sous-estimation de la valeur attribuée à la phytase, les différences entre doses se trouvent aussi modifiées. En effet, l'écart entre les doses de 400 et 800 FTU/kg est de 0,042 points quand les animaux ont reçus les aliments dès leur mise en place alors qu'il est de 0,072 points pour les animaux démarrés avec un aliment optimal. L'ensemble de ces résultats montrent l'importance du dispositif expérimental pour l'évaluation d'une phytase.

CONCLUSION

Le P est un élément essentiel qui représente un coût non négligeable dans l'aliment et qui suscite de nombreuses questions en termes de durabilité de nos filières de production. Les phytases de nouvelle génération représentent un outil pour répondre à ces

préoccupations d'ordre économique et environnemental. Cependant, il est clair que nous ne maîtrisons pas complètement l'action de ces enzymes qui interagissent avec de nombreux facteurs et dont tout le potentiel n'a probablement pas été exploité. Cet essai contribue à préciser les points clés à considérer lors de l'évaluation d'une phytase et permettant d'aboutir à une valeur pertinente. Une surestimation pourrait en effet s'avérer délétère en termes économique et de bien-être. La phytase testée a permis de délivrer dans les conditions de l'essai 0,173% et 0,215% de P disponible pour 400 et 800 FTU/kg. Néanmoins, il est à noter que cet essai a été réalisé en cages individuelles et s'affranchit donc de toutes les contraintes liées au groupe. C'est pourquoi, une valeur moyenne pour une dose donnée doit être déterminée avec un intervalle de confiance consistant à partir d'un jeu de données conséquent.

Classiquement pratiquée dans les essais d'évaluation d'une phytase, la distribution d'un régime optimal sur les premiers jours (de 5 à 10 jours suivant les études), n'est pas à recommander si l'objectif est de déterminer une valeur d'équivalence en P disponible au risque de surestimer son potentiel.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bedford M.R., C.L. Walk. And H.V. Masey O'Neill, 2015. Assessing measurements in feed enzyme research: Phytase evaluations in broilers, J. Appl. Poult. Res., 0:1-9
- Huber, K., E. Zeller, and M. Rodehutschord, 2015, Modulation of small intestinal phosphate transporter by dietary supplements of mineral phosphorus and phytase in broilers, Poult. Sci. 94:1009–1017
- Rousseau X., A-S Valable, M-P Létourneau-Montminy, N. Mème, E. Godet, M. Magnin, Y. Nys, M.J Duclos et A. Narcy, 2016, Adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions, Poult. Sci. 0:1–12
- Yan F., R. Angel, C. Aschwell, A. Mitchell et M. Christman, 2005, Evaluation of the broiler's ability to adapt to an early moderate deficiency of phosphorus and calcium, Poult. Sci. 84:1232-1241

Figure 1. Réponse logarithmique du gain de poids vif (GPV, g/j) au P disponible en fonction des conditions alimentaires de démarrage (CAD)

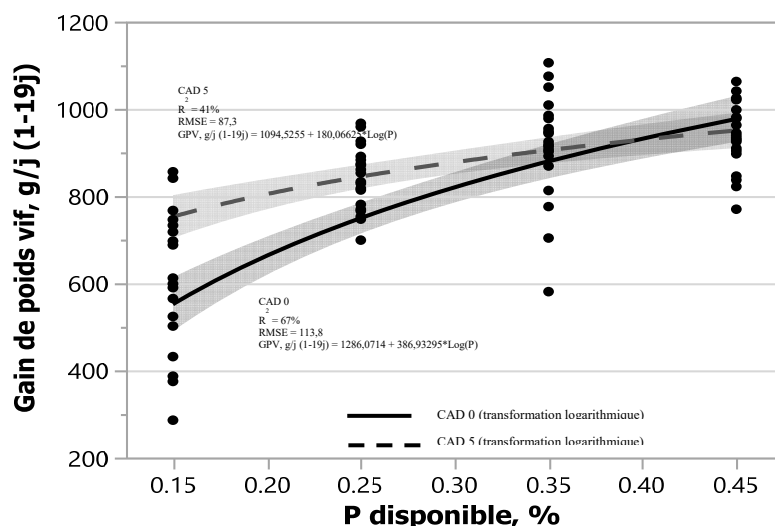


Tableau 1. Description des différents traitements alimentaires

Traitements	D1	D2	D3	D4	D1 + 400	D1 + 800	D1	D2	D3	D4	D1 + 400	D1 + 800
CAD ¹ (j)	0						5					
P disponible (%)	0,15	0,25	0,35	0,45	0,15	0,15	0,15	0,25	0,35	0,45	0,15	0,15
Ca total (%)	0,57	0,68	0,79	0,90	0,57	0,57	0,57	0,68	0,79	0,90	0,57	0,57
Phytase (FTU/kg)	0	0	0	0	400	800	0	0	0	0	400	800

¹CAD= conditions alimentaires de démarrage (0 ou 5 jours)

Tableau 2. Description et valeurs analytiques Ca total, P total et activité phytasique

	D1	D2	D3	D4	D1 +400	D1 +800
P disponible, %	0,15	0,25	0,35	0,45	0,15	0,15
P Phytique, %	0,26					
P total attendu, %	0,41	0,51	0,61	0,71	0,41	0,41
P total analysé, %	0,36	0,49	0,60	0,69	0,36	0,36
Ca total attendu, %	0,57	0,68	0,79	0,90	0,57	0,57
Ca total analysé, %	0,64	0,84	0,97	1,09	0,64	0,64
Phytase attendue, FTU/kg	0	0	0	0	400	800
Phytase analysée, FTU/kg	< 50	< 50	< 50	< 50	679	1311

Tableau 3. Effet des différents traitements alimentaires en termes de performances de croissance et minéralisation osseuse

CAD (j)	Traitement	Gain de poids 1-19j (g)	Ingéré 1-19j (g)	IC 1-19j (g/g)	AID P (%)	RR (N)	PCT (g)	CT (%)
0		816	1070	1,33	59,1	120	0,89	37,4
5		878	1149	1,31	58,9	120	0,91	37,2
	0,15(D1)	622	858	1,43	61,9ab	54	0,53d	30,9d
	0,25(D2)	841	1097	1,31	55,4bc	106	0,82c	36,2c
	0,35(D3)	916	1186	1,30	50,7c	147	1,05a	39,3a
	0,45(D4)	928	1182	1,28	52,4c	145	1,07a	40,1a
	0,15+400	865	1138	1,32	65,6a	130	0,94b	37,8b
	0,15+800	911	1195	1,31	68,2a	138	1,02a	39,5a
0	0,15	497f	688f	1,47a	62,7	43g	0,46	31,0
0	0,25	829d	1077de	1,30cde	53,7	103e	0,79	35,9
0	0,35	920abc	1216ab	1,33bcd	47,9	152ab	1,08	39,6
0	0,45	914abc	1143abcd	1,25e	54,6	155a	1,10	40,5
0	0,15+400	844cd	1122bcde	1,34bc	64,7	128cd	0,93	37,9
0	0,15+800	892abcd	1172abc	1,31cd	71,3	138abc	1,02	39,3
5	0,15	746e	1028e	1,38b	61,1	65f	0,59	30,7
5	0,25	853bcd	1117cde	1,31cd	57,2	110de	0,84	36,5
5	0,35	912abc	1157abcd	1,27de	53,5	142abc	1,02	39,1
5	0,45	941a	1222a	1,30cde	50,2	134bc	1,05	39,7
5	0,15+400	885abcd	1153abcd	1,30cde	66,6	132c	0,96	37,7
5	0,15+800	930ab	1218ab	1,31cd	65,1	138abc	1,02	39,7
	Modèle	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	CAD ¹	<0,001	<0,001	0,099	ns*	ns	ns	ns
	P ²	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
	CAD*P	<0,001	<0,001	0,030	ns	0,039	ns	ns

¹CAD= conditions alimentaires de démarrage (0 ou 5 jours) ; ²P = P disponible

*ns = non significatif (p>0.05)