

EFFET DU STATUT EN VITAMINE D SUR LA CROISSANCE POSTNATALE ET LA QUALITE DE LA VIANDE DE POULET

Cécile Berri¹, Christophe Praud¹, Michel Duclos¹, Agnès Narcy¹, Sophie Réhault-Godbert¹, Thierry Bordeau¹, Estelle Godet¹, Jérémy Bernard², Jean-Marc Thoby³,
Vérane Gigaud³

¹INRAE, Université de Tours, BOA, 37380 - NOUZILLY, France

²INRAE, PEAT, 37380 - NOUZILLY, France

³DSM - Nutritional Products France, Tour Nova, 71 boulevard National, 92 250 La Garenne-Colombes
cecile.berri@inrae.fr

RÉSUMÉ

Le statut en vitamine D, qui dépend en partie de la forme distribuée (vitamine D3 ou 25-OH-D3), peut influencer le développement musculaire et la qualité de la viande de poulet. Notre objectif était d'évaluer l'impact d'une supplémentation par voie maternelle puis alimentaire en vitamine D3 ou 25-OH-D3, sur le statut vitaminique, la croissance et la qualité de la viande de poulet. Deux groupes de reproductrices ont été supplémentées avec de la vitamine D3 (3.200 UI) ou un mix 25-OH-D3 (69-µg)/D3 (440 UI) pendant 2 mois. Les poussins issus de ces deux groupes ont reçu dès l'éclosion soit 5.000 UI de vitamine D3 soit 69-µg 25-OH-D3 + 2.240 UI de vitamine D3. Quatre groupes expérimentaux ont donc été élevés de l'éclosion à 42 jours. A l'éclosion les poussins issus des reproductrices 25-OH-D3 présentaient une [25-OH-D3] plasmatique trois fois plus faible que ceux issus des reproductrices D3. Ils répondaient toutefois mieux à la supplémentation alimentaire en 25-OH-D3 à 6 jours. Au cours de la croissance postnatale, la [25-OH-D3] plasmatique était deux à trois fois plus élevée chez les animaux supplémentés en 25-OH-D3. L'apport de 25-OH-D3 par voie maternelle améliorait la croissance des animaux jusqu'à 21 jours et limitait à 42 jours l'expression dans le muscle de 3 protéines (FN1, NCAM, MYH15) associées aux lésions observées en cas de défauts de *White Striping* et de *Wooden Breast* (nécrose, fibrose, régénération). De manière intéressante, les filets des animaux ayant reçu la forme 25-OH-D3 par voie maternelle et alimentaire présentaient un rendement technologique (saumurage-cuisson) supérieur de 2 points à celui des trois autres groupes. Cette étude indique que le statut en vitamine D des animaux est influencé par l'alimentation maternelle (*via* le jaune d'œuf) et postnatale et qu'il peut avoir des conséquences sur la croissance et la qualité de la viande de poulet.

ABSTRACT

Effect of vitamin D status on chicken growth and breast meat quality

Vitamin D status, which depends in part on the form distributed (vitamin D3 or 25-OH-D3), may influence muscle development and chicken meat quality. Our objective was to evaluate the impact of maternal and dietary supplementation of vitamin D3 or 25-OH-D3 on vitamin status, growth and meat quality. Two groups of female breeders were supplemented with vitamin D3 (3,200 IU) or a 25-OH-D3 (69-µg)/D3 mix (440 IU) for 2 months. The chicks from these two groups received either 5,000 IU of vitamin D3 or 69-µg 25-OH-D3 + 2,240 IU of vitamin D3 at hatching. Four experimental groups were thus raised from hatching to 42 days. At hatching, chicks from 25-OH-D3 breeders had a plasma [25-OH-D3] three times lower than those from D3 breeders. However, they responded better to 25-OH-D3 feed supplementation at day 6. During postnatal growth, plasma [25-OH-D3] was two to three times higher in 25-OH-D3 supplemented animals. Maternal 25-OH-D3 supplementation improved animal growth up to 21 days and limited the expression in muscle of 3 proteins (FN1, NCAM, MYH15) associated with the lesions observed in *White Striping* and *Wooden Breast* defects (necrosis, fibrosis, regeneration) at 42 days. Interestingly, the breast meat of the animals that received 25-OH-D3 maternally and in the diet had a 2-point higher curing-cooking yield than the other three groups. This study indicates that the vitamin D status of animals is influenced by maternal (*via* egg yolk) and postnatal nutrition and may have consequences for growth and quality of chicken meat.

INTRODUCTION

La source commerciale courante de vitamine D pour l'alimentation des volailles est la vitamine D3 (cholécalférol). Ce métabolite doit subir des modifications supplémentaires dans le foie pour devenir le 25-hydroxycholécalférol (25-OH-D3) puis dans le rein pour devenir le 1,25-dihydroxycholécalférol (1,25-OH-2-D3), considéré comme le principal métabolite actif. Chez le poulet, le premier effet d'un remplacement partiel dans l'aliment de la vitamine D3 par le 25-OH-D3 est d'augmenter la teneur plasmatique en ce métabolite et en calcium (Zhang et al., 2020).

Les conséquences sur le plan phénotypique sont une amélioration des performances en élevage (gain de poids et indice de consommation), de la solidité des os, et une stimulation des réponses immunes, antioxydantes et inflammatoires des poulets (Zhang et al., 2020). Concernant le muscle, l'apport de 25-OH-D3 via l'alimentation améliore les rendements en filets, diminue leur teneur en gras, et semble réduire l'incidence du défaut musculaire *White Striping* (WS) à l'abattoir (Gigaud et Thoby, 2019 ; Prokoski et al., 2021). Les effets positifs sur les performances en élevage et les rendements en filets sont aussi observés en cas de supplémentation *in ovo* (Fatemi et al., 2021). Chez le poulet, les effets positifs du 25-OH-D3 sur le développement musculaire semblent impliquer l'activation des cellules satellites (Hutton et al., 2014) et de la biosynthèse des protéines via la voie mTOR (Vignale et al., 2017).

L'objectif de notre étude était d'évaluer l'impact d'un apport en 25-OH-D3 *in ovo* (via la nutrition des reproductrices), puis alimentaire, sur le statut vitaminique des œufs et le développement ultérieur des poulets, incluant des caractéristiques musculaires et de qualité des viandes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Dispositifs expérimentaux

Deux groupes de 100 reproductrices ont été supplémentés avec de la vitamine D3 (3.200 UI) ou avec 69-µg de 25-OH-D3 + 440 UI de vitamine D3 pendant 2 mois. Cinq cents œufs embryonnés par lot ont été collectés sur une première période de 10 jours destinés à mener une étude longitudinale (Dispositif 1). Les poussins mâles issus de ces deux groupes (n=200) ont été répartis en deux lots de 100 et ont reçu dès l'éclosion, soit 5,000 UI de vitamine D3, soit 69-µg de 25-OH-D3 + 2,240 UI de vitamine D3. Les 4 lots ont été élevés de l'éclosion à 35 jours.

Une deuxième collecte similaire à la première a permis la mise en place de deux groupes de 200 poussins (n=200) par lot de reproductrices, qui ont chacun été répartis en deux lots de 100 recevant dès

l'éclosion soit 5,000 UI de vitamine D3 soit 69-µg 25-OH-D3 + 2,240 UI de vitamine D3. Les 4 lots ont été élevés de l'éclosion à 42 jours (Dispositif 2).

1.2. Teneurs en vitamine D (dispositif 1)

Les dosages ont été réalisés en utilisant une méthode analytique validée basée sur UHPLC-MSMS (DSM Nutritional Products, Basel, Switzerland) sur le plasma des poules reproductrices, le jaune de leurs œufs (préalablement lyophilisés) et le plasma des descendants à l'éclosion, 6, 9, 21 et 35 jours d'âge (n=12 par lot à chaque fois). Ils ont permis de déterminer les teneurs en vitamine D3, 25-OH-D3 et 24(R),25-(OH)2-D3, qui est un métabolite du 25-OH-D3).

1.3. Paramètres de croissance et de qualité

Tous les animaux ont été pesés à l'éclosion, 6, 21 et 35 jours d'âge (dispositif 1) ou à l'éclosion, 9, 21 et 42 jours (dispositif 2). Sur ce dernier dispositif, le rendement en filets, le pourcentage de gras abdominal, ainsi que plusieurs caractéristiques de qualité du filet, dont le pH ultime, les paramètres de couleur L*, a*, b*, les pertes par exsudation ou après saumuration-cuisson ont été mesurés à 42 jours (Alnahhas et al., 2014). La fréquence et la sévérité des défauts *White Striping* et *Wooden Breast* (WB) ont également été évaluées sur la base d'une notation visuelle (Pampouille et al., 2019).

1.4. Phénotypage histologique du muscle *P. major*

Des prélèvements de muscles ont été réalisés à l'éclosion, 6, 21 et 35 jours d'âge (dispositif 1). Pour les analyses histologiques, des carottes de muscles, prélevées 15 minutes post-mortem parallèlement à l'axe des fibres, ont été congelées dans de l'isopentane refroidi à l'azote liquide, puis stockées à -80°C. Des marquages immunohistochimiques ont été réalisés sur des coupes transversales de 10 µm afin de déterminer la quantité de 3 protéines dont l'expression augmente avec la présence des défauts musculaires WS et WB : la fibronectine 1 (FN1, marqueur de fibrose), la chaîne lourde de myosine 15 (MyH15, exprimée majoritairement dans les fibres en régénération) et NCAM, marqueur de nécrose et de régénération (Praud et al., 2020).

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Concernant le statut vitaminique, nous n'avons pas observé d'impact de l'apport en 25-OH-D3 sur les teneurs plasmatiques en vitamine D3, 25-OH-D3 et 24(R),25-(OH)2-D3 des poules reproductrices. Ce résultat diffère de précédentes observations, réalisées sur pondeuses (Chen et al 2019 ; Li et al 2021) ou sur reproductrices (Coto et al., 2010), qui avaient montré

une augmentation plasmatique en 25-OH-D3 chez les animaux supplémentés.

Par contre, la [25-OH-D3] était presque doublée dans le jaune d'œuf des poules nourries au 25-OH-D3, tandis que la teneur en D3 était plus de 3 fois supérieure dans ceux issus des poules nourries à la vitamine D3 (**Figure 1**).

De manière surprenante, les poussins issus des reproductrices 25-OH-D3 présentaient à l'éclosion une [25-OH-D3] plasmatique trois fois plus faible que ceux issus des reproductrices D3 (**Figure 2A**). Deux hypothèses peuvent être formulées : soit les embryons n'étaient pas capables de mobiliser la forme 25-OH-D3 *in ovo*, alors qu'ils ont celles de métaboliser la forme D3 (Moriuchi and Deluca, 1974) ; soit ils la métabolisent plus rapidement en 1,25-OH-2-D3, ce qui pourrait expliquer les teneurs plus faibles observées chez ces poussins par rapport à ceux ayant eu accès majoritairement à la vitamine D3 *in ovo*.

Quoiqu'il en soit, nous avons observé que les animaux issus des reproductrices 25-OH-D3 répondaient mieux à une supplémentation alimentaire en 25-OH-D3 avec une [25-OH-D3] plasmatique supérieure à 6 jours par rapport aux poussins issus des reproductrices D3 (**Figure 2B**, Alimentation maternelle $\times$ alimentation postnatale, $P=0.007$).

Au cours de la croissance postnatale, et en accord avec la littérature, la [25-OH-D3] plasmatique était deux à trois fois plus élevée chez les animaux supplémentés en 25-OH-D3 que chez ceux recevant la vitamine D3.

Au niveau phénotypique, l'apport de 25-OH-D3 *via* la mère a stimulé la croissance des descendants jusqu'à 21 jours mais aussi augmenté le pH ultime des filets à l'âge d'abattage (**Figures 3A et B**). Nous avons observé une interaction significative entre alimentation maternelle et postnatale sur le rendement saumurage-cuisson des filets, qui était supérieur d'environ 2 points pour le lot ayant reçu du 25-OH-D3 par les deux voies (**Figure 4A**, Alimentation maternelle $\times$ alimentation postnatale, $P=0.027$).

Concernant le défaut WS, nous observons une tendance à la réduction (de 9 à 3%, $P = 0,09$) des formes sévères (classe 2) chez les animaux supplémentés en 25-OH-D3 par voie alimentaire (**Figure 4B**). Aucun effet n'a été observé sur le défaut WB. Ces résultats sont cohérents avec de précédents résultats obtenus en abattoir qui montraient une

proportion supérieure de muscles indemnes de défaut WS chez les poulets supplémentés en 25-OH-D3 par rapport aux témoins recevant uniquement de la vitamine D3 (63,6% vs 49,8%) et pas d'effet sur les défauts WB et *Spaghetti Meat* (Gigaud et Thoby, 2019). La réduction des formes sévères de WS observée à 42 jours était également cohérente avec la réduction significative ($P\leq 0,05$) de la quantité des protéines FN1, MyH15 et NCAM observée à 35 jours au niveau musculaire (**Figure 5**). En effet, ces protéines sont des marqueurs des principales lésions impliquées dans les défauts musculaires WS et WB chez le poulet, à savoir la fibrose, la régénérescence et la nécrose des fibres (Praud et al., 2020). La présence moindre de lésions fibrotiques ou régénératives dans les muscles des animaux ayant reçu au cours de leur croissance la forme 25-OH-D3 pourrait en partie expliquer le rendement technologique (saumurage-cuisson) supérieur des poulets 25-OH-D3/25-OH-D3, puisqu'il est maintenant bien établi que la présence des défauts affecte négativement le pouvoir de rétention d'eau de la viande chez le poulet (Petracci et al., 2019). Il est toutefois probable que d'autres facteurs interviennent, comme le pH ultime qui est également augmenté par l'apport maternel en 25-OH-D3, et qui pourrait expliquer pourquoi le rendement technologique du filet est particulièrement amélioré chez les animaux ayant reçu la forme 25-OH-D3 à la fois par la voie maternelle et alimentaire.

CONCLUSION

Cette étude indique que le statut en vitamine D des poulets est influencé par l'alimentation maternelle (*via* le jaune d'œuf) et postnatale. De manière intéressante, nous avons montré que si l'apport en 25-OH-D3 par voie maternelle réduit significativement la teneur plasmatique en ce métabolite des poussins à l'éclosion, il stimule leur réponse à un apport par voie alimentaire post-éclosion et leur croissance jusqu'à 21 jours. L'apport alimentaire en 25-OH-D3 réduit l'expression des marqueurs protéiques des principales lésions rencontrées en cas de défauts musculaires chez le poulet, à savoir la fibrose, la nécrose et la régénérescence des fibres. Ceci se traduit au niveau visuel par une tendance à la réduction des formes sévères de *White Striping*. Enfin, nous observons une interaction positive d'un double apport, maternel et alimentaire, sur le potentiel technologique des filets, avec un rendement saumurage-cuisson nettement plus élevé dans ce cas par rapport aux autres traitements.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Alnahhas N. et al., 2014. J. Anim Sci. (92), 3816-3824.
 Chen et al., 2019. In 'Eur. Symp. Qual. Poult. Meat', 23-26/06, Çeşme, Turkey. p74.
 Coto C. et al., 2010. Int. J. Poult. Sci., (9), 623-633.
 Fatemi S.A. et al., 2021. Poult. Sci., (100), 101220.
 Gigaud et Thoby, 2019. In 'Eur. Symp. Qual. Poult. Meat', 23-26/06, Çeşme, Turkey. p158.
 Hutton K.C. et al., 2014. J. Anim. Sci. (92), 3291-3299.
 Li, D et al., 2021. Agriculture (11) 698.
 Moriuchi S. et Deluca H.F., 1974. Arch. Biochem. Biophys. (164),165-171.
 Pampouille E. et al., 2019. Sci. Rep. (9), 14905.
 Petracci M. et al., 2019. Compr. Rev. Food. Sci. Food Saf., (18), 565-583.
 Praud C. et al., 2020. Front. Physiol. (11), 633.
 Prokoski K., et al., 2021. Animals (Basel). (11), 2971.
 Vignale K. et al., 2015. J. Nutr. (145), 855-863.
 Zhang L.H. et al., 2020. Poult. Sci. (99), 5663-5672.

Figure 1. Impact de l'apport maternel en D3 ou 25-OH-D3 sur les teneurs en vitamine D3 (A) et 25-OH-D3 (B) dans le jaune d'œufs. *** : P < 0,001.

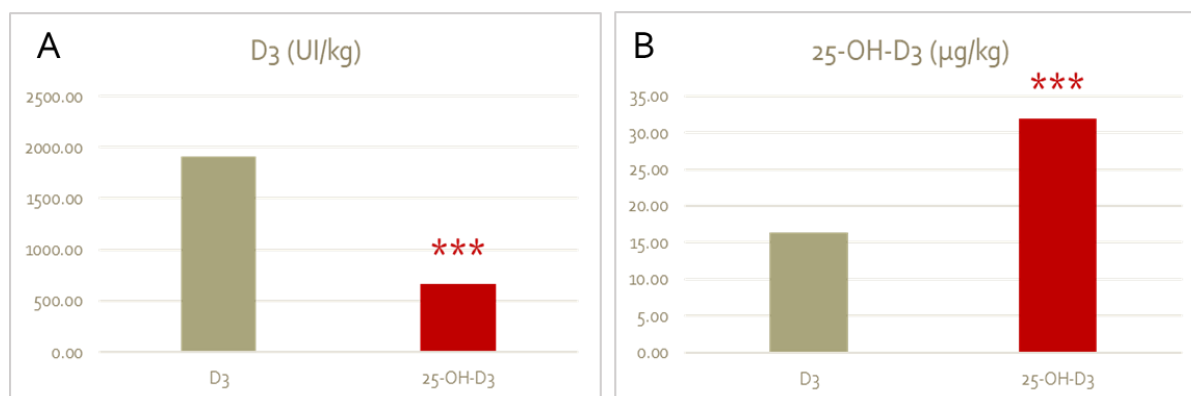


Figure 2. (A) Teneurs plasmatiques en métabolites de la vitamine D chez les poussins issus des reproductrices D3 ou 25-OH-D3 à l'éclosion. (B) Teneurs plasmatiques en 25-OH-D3 (ng/mL) chez les poussins de 6 jours issus des 4 combinaisons mères/poussins d'apport en vitamine D3 ou 25-OH-D3. *** : P < 0,001. ^{a, b, c} : différences significatives entre lots (P<0,05).



Figure 3. Impact de l'apport maternel en D3 ou 25-OH-D3 sur la croissance précoce des animaux (A) et le pH ultime du filet à 42 jours (B). * : P<0,05 ; ** : P<0,01.

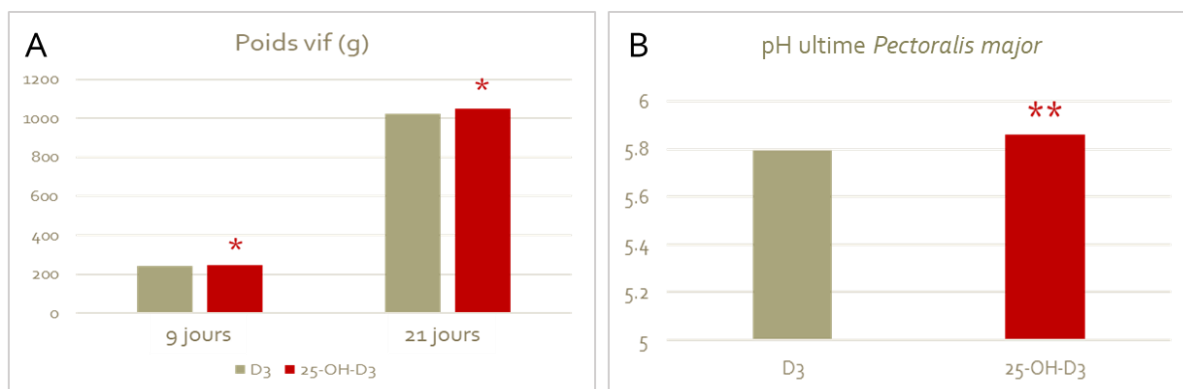


Figure 4. Impact de l'apport maternel et postnatal en D3 ou 25-OH-D3 sur le rendement saumurage-cuisson des filets (A). Fréquence et sévérité du défaut White striping (B). ^{a,b} : différences significatives entre lots (P<0,05).

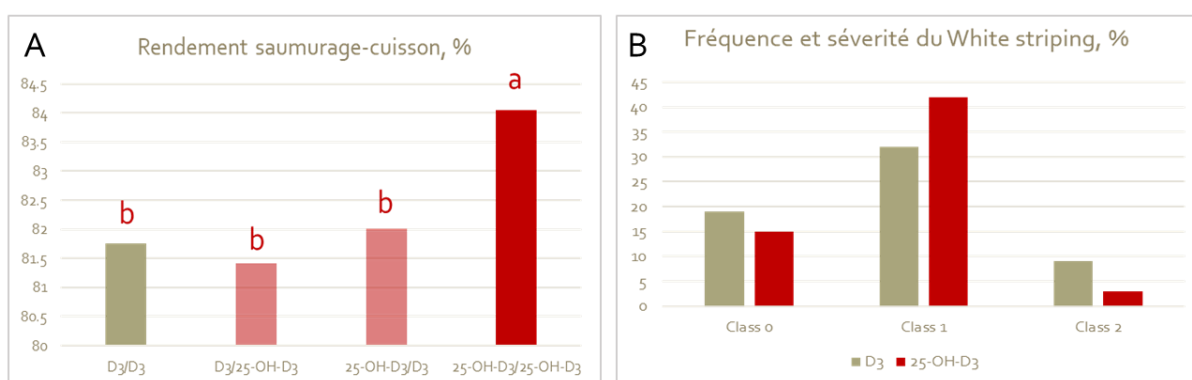


Figure 5. Impact de l'apport maternel et postnatal en D3 ou 25-OH-D3 sur l'expression des protéines FN1, MyH15 et NCAM dans le muscle *Pectoralis major* à J35 (Illustration des marquages immunohistochimiques à gauche).

