

UNE CONSENSUS PHYTASE BACTERIENNE VARIANT PHYG MAINTIENT LES PERFORMANCES DE POULETS NOURRIS SANS PHOSPHORE INORGANIQUE

Debicki-Garnier Anne Marie¹, Bello Abiodun¹, Dersjant-Li Yueming¹, Van Eerden Ellen², Kwakernaak Cees², Marchal Leon¹ et Messenger Bertrand³

¹DANISCO ANIMAL NUTRITION, IFF - Willem Einthovenstraat 4 - 2342 BH OEGSTGEEST

²SCHOTHORST FEED RESEARCH BV - Meereoteweg 26 - NL 8218 LELYSTAD

³ALILIS NUTRITION ANIMALE - 3 rue Gustave Eiffel - 33910 SAINT-DENIS-DE-PILE

Anne-Marie.Debicki-Garnier@iff.com

RÉSUMÉ

Dans un contexte de durabilité des productions animales et de raréfaction de certains ingrédients, il est urgent de développer des stratégies pour élever des volailles sans ajout de phosphore inorganique (Pi). La majeure partie du phosphore apporté par les matières premières végétales, sous forme de phytate, n'est pas disponible pour les monogastriques. L'efficacité de l'ajout d'une phytase dans les aliments est bien documentée, mais les études de remplacement total du Pi, en particulier durant la période de démarrage, sont rares. L'objectif de cette étude était de tester une nouvelle consensus 6 phytase bactérienne, variant PhyG, dans des formules sans Pi, pendant toute la durée d'élevage, chez des poulets nourris avec des aliments à base de plantes. Un total de 26240 poulets Ross 308, de sexes mélangés, étaient répartis en 4 traitements, avec 8 répétitions par traitement, et 820 poussins par répétition, de 1 à 37 jours. Le traitement 1 était un témoin positif, nutritionnellement adéquat. Dans le traitement 2, l'énergie était réduite de 75 kcal avec ajout de 2000 U de xylanase. Les traitements 3 et 4 étaient reformulés sans ajout de Pi et réduits en calcium de 0,15%. Ils étaient supplémentés avec 3000 FTU/kg de cette nouvelle phytase en démarrage, 2000 FTU/kg en croissance et 1000 FTU/kg en finition. Les données ont été analysées par un test à deux facteurs ANOVA. Il n'y avait pas d'interaction entre phytase et xylanase pour aucun paramètre pendant toute la durée de l'essai. La phytase a maintenu le poids vif et amélioré significativement l'indice de consommation par rapport au témoin positif à 37 jours d'âge – 1,418 versus 1,452 ($P<0,05$). L'ajout de phytase a maintenu la teneur en cendres du tibia à 21 et 36 jours d'âge et augmenté significativement la force à la rupture à 21 jours d'âge ($P<0,05$). Le coût alimentaire des oiseaux nourris avec des aliments sans Pi avec phytase a été réduit, particulièrement en présence de xylanase. Cette étude prouve la faisabilité du remplacement total du phosphore inorganique en production de poulet dans des conditions terrain.

ABSTRACT

A PhyG-variant bacterial consensus phytase maintains performance of chickens fed without inorganic P.

In a context of animal production sustainability and scarcity of certain ingredients, it is urgent to develop strategies to raise poultry without any inorganic phosphorus (iP). Most of the phosphorus provided by plant raw materials, in the form of phytate, is not available for monogastric animals. The efficacy of adding a phytase to feed is well documented, but studies of full replacement of iP, especially during the starter period, are rare. The objective of this study was to test a new bacterial phytase consensus 6 variant PhyG, in formulas without iP throughout the rearing period in chickens fed a plant-based diet. A total of 26,240 Ross 308 chickens, of mixed sexes, were divided into 4 treatments, with 8 replicates per treatment and 820 chicks per replicate, from 1 to 37 days of age. Treatment (T) 1 was a positive, nutritionally adequate control. In T2, energy was reduced by 75 kcal with the addition of 2000 U of xylanase. T3 and T4 were reformulated without addition of iP and reduced in calcium by 0.15%. They were supplemented with 3000 FTU/kg of this new phytase in starter, 2000 FTU/kg in grower and 1000 FTU/kg in finisher. Data were analyzed by a two-way ANOVA test. There was no interaction between phytase and xylanase for any parameter throughout the trial. Phytase maintained live weight and significantly improved feed conversion compared with the positive control at 37 days of age - 1.418 versus 1.452 ($P<0.05$). Addition of phytase maintained tibia ash content at 21 and 36 days of age and significantly increased break strength at 21 days of age ($P<0.05$). The feed cost of birds fed iP-free diets with phytase was reduced, particularly in the presence of xylanase. This study proves the feasibility of total replacement of iP in chicken production under field conditions.

INTRODUCTION

Le phosphate inorganique (Pi) est ajouté aux régimes alimentaires des poulets de chair pour garantir la satisfaction des besoins en phosphore. Cependant, en tant que ressource naturelle, la disponibilité du Pi est limitée. L'offre mondiale diminue d'année en année et pourrait être épuisée au cours des 100 prochaines années. Il est urgent de développer des stratégies pour élever des volailles sans ajout de Pi afin d'améliorer la durabilité de la production de poulets de chair et de réduire son impact environnemental. La majorité du phosphore contenu dans les ingrédients d'origine végétale est sous forme de phytate (Selle et Ravindran, 2007), mal hydrolysé par les monogastriques. Le remplacement total du Pi alimentaire par la phytase a rarement été étudié et constitue un défi en particulier pendant la phase de démarrage, lorsque les besoins en phosphore sont élevés. L'objectif de cette étude était de tester une nouvelle consensus 6 phytase bactérienne, variant PhyG, dans des formules ne contenant pas de Pi pendant toute la durée d'élevage, chez des poulets nourris avec des aliments à base de plantes.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Protocole expérimental

Une analyse factorielle 2 x 2 avec 2 niveaux de xylanase et 2 niveaux de phytase a été utilisée. Un total de 26240 poulets Ross 308 (mâles et femelles) d'un jour a été réparti dans 32 parquets, soit 820 oiseaux par parquet et 8 parquets par traitement (densité à 37 jours : 37,7 kg/m²). Aliment et eau de boisson ont été distribués à volonté. Les régimes alimentaires étaient composés de maïs, blé, tourteaux de soja et de tournesol, avec ajout d'huile de soja et de remoulage de blé et se présentaient sous forme de miettes en démarrage et de granulés (3,0 mm) en croissance et finition. Des coques d'avoine ont été incluses pour stimuler le développement du gésier (**Tableau 1**). Le témoin positif (PC1) a été formulé en accord avec les recommandations du sélectionneur (CVB, 2018). La teneur en phytate était de 0,33 %, 0,31 % et 0,26 % et le phosphore retenu (retP) de 0,38 %, 0,30 % et 0,26 % en démarrage, croissance et finition, respectivement. Un deuxième régime (PC2) a été formulé à partir de PC1 avec ajout de 2000 U/kg d'une xylanase produite par *Trichoderma reesei* (Danisco Xylanase, Danisco Animal Nutrition, IFF) en réduisant l'énergie métabolisable (EM) de 75 kcal/kg. Les deux régimes expérimentaux (IPF1 et IPF2) étaient reformulés, à partir des régimes PC1 et PC2, mais sans phosphate inorganique et réduits en calcium (Ca) de 1,5 g/kg. Une consensus phytase bactérienne, variant PhyG, produite par *Trichoderma reesei* (Axta PHY GOLD, Danisco Animal Nutrition, IFF) y était ajoutée à 3000, 2000 et 1000 FTU/kg en démarrage, croissance et finition respectivement. Le poids des oiseaux a été

contrôlé en continu dans chaque parquet par des balances automatiques. A 37 jours d'âge, tous les oiseaux ont été pesés par parquet, déterminant le poids corporel moyen. Les parquets étaient contrôlés quotidiennement pour vérifier la mortalité et les oiseaux morts étaient retirés. La consommation d'aliments et d'eau a été enregistrée par parquet à 37 jours d'âge et utilisée pour calculer la consommation moyenne d'aliments, la consommation d'eau et le ratio eau/aliments par poulet. L'indice de consommation (IC) a été calculé, corrigé par le poids des animaux morts. À 21 et 36 jours d'âge, les os des tibias gauche et droit de 4 oiseaux mâles par parquet ont été collectés. Les tibias gauches ont été utilisés pour déterminer la résistance à la rupture du tibia. Les tibias droits ont été regroupés par parquet et analysés pour déterminer leur teneur en cendres.

1.2. Analyse statistique

Les données ont été analysées par ANOVA à deux facteurs (plan factoriel 2 x 2 avec deux niveaux de phytase et deux niveaux de xylanase). Le bloc a été inclus comme effet aléatoire. Les données ont été analysées à l'aide de la plateforme Fit Model de JMP 15 (JMP, 2020 ; SAS Institute Inc., Cary, NC). Les différences ont été considérées comme significatives à $P < 0,05$.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les nutriments analysés étaient proches des valeurs formulées, à l'exception du Ca plus élevé que prévu dans les régimes PC1 et IPF2 en finition. Les recouvrements en phytase exogène ont confirmé que les niveaux cibles par phase avaient été atteints à +/- 20%. Les activités xylanase dans les traitements PC2 et IPF2 étaient plus variables, variant de 770 à 2 102 U/kg. Il n'y avait pas d'interaction entre phytase et xylanase pour aucun paramètre pendant toute la durée de l'essai. La phytase a maintenu le poids vif et amélioré significativement l'IC par rapport aux témoins à 37 jours d'âge) – 1,418 contre 1,452 ($P < 0,05$). La mortalité globale n'a pas été affectée par la phytase ou la xylanase (**Tableau 2**). L'ajout de phytase a maintenu la teneur en cendres du tibia à 21 et 36 jours d'âge et augmenté la force à la rupture à 21 jours d'âge (**Tableau 3**). Les caractéristiques biochimiques et enzymatiques de la phytase évaluée dans cette étude ont été décrites précédemment (Christensen et al., 2020) et son efficacité à effectuer l'hydrolyse rapide et extensive du phytate dans les aliments pour poulets de chair conduisant à une amélioration des performances de croissance, de la digestibilité du P et de la minéralisation osseuse a également été démontrée (Dersjant-Li et al., 2020a). Des études antérieures ont évalué l'efficacité de la phytase dans des régimes pour poulets de chair contenant des niveaux réduits de Pi en phases de croissance et de finition uniquement (Scholey et al., 2018, Ribeiro et al. 2019). À la connaissance des

auteurs, les essais rapportés par Marchal et al. (2021) et Dersjant-Li (2021) représentent les deux seules publications à ce jour qui ont évalué l'effet de l'absence totale de Pi à partir de 1 jour d'âge. L'une des principales différences dans la présente étude est le cadre de production commercial appliqué, dans lequel une densité élevée (820 oiseaux/parquet, soit 37,7 kg/m² à 37 jours d'âge) a été utilisée. Cela devait générer des conditions plus représentatives des pratiques de production commerciale qu'il n'est pas possible de reproduire dans un cadre de recherche. La supplémentation en PhyG dans les régimes sans Pi, avec ou sans xylanase, et réduits en EM et Ca, a maintenu ou amélioré les performances de croissance et l'utilisation de l'aliment (Gain de poids et IC) sur un cycle de croissance complet (1 à 37 jours d'âge). La minéralisation osseuse significativement ($P<0,05$) accrue (+6,6 % de force à la rupture à 21 jours d'âge dans les traitements IPF avec phytase, par rapport aux régimes PC), suggère que les besoins en P ont été satisfaits. D'autre part, la phytase a significativement ($P<0,05$) amélioré l'IC de 0,034 g/g sur la période globale, sans amélioration de la teneur en cendres des os ou de leur résistance, ce qui peut être interprété comme un effet "extra-phosphorique" (Selle et al., 2000 ; Ravindran et al., 2006) qui a pu résulter d'une amélioration de la digestibilité de l'énergie ou des acides aminés dans les traitements supplémentés en phytase. L'effet plus important observé par Marchal et al. (2021) reflète probablement les différents contextes des deux études (recherche à petite échelle vs

production commerciale) et la durée différente des deux études (1 à 42 jours d'âge vs 1 à 37 jours d'âge). La suppression totale du Pi de la formulation du régime alimentaire est intéressante pour les producteurs pour des raisons de durabilité. D'autre part, sur la base des prix du marché (mai-juin 2020), il a été estimé que les régimes IPF1 et IPF2 pourraient réduire les coûts de l'alimentation de 0,005 €/kg de poids corporel (-1,4 %) et 0,012 €/kg de poids corporel (-3,35 %) par rapport aux régimes PC respectifs, sur un cycle de croissance complet de 1 à 37 jours d'âge (**tableau 2**).

CONCLUSION

Dans un contexte de production commerciale, la phytase PhyG administrée seule ou en combinaison avec la xylanase, a maintenu ou amélioré les performances de croissance, la minéralisation osseuse et la résistance à la rupture chez des poulets de chair nourris avec des régimes ne contenant pas de Pi ajouté tout au long du cycle de croissance (1 à 37 jours d'âge). Ces résultats ont été obtenus en utilisant une stratégie de dosage progressif de la phytase (3000 FTU/kg en phase de démarrage, 2000 FTU/kg en phase de croissance et 1000 FTU/kg en phase de finition) avec une réduction progressive de la teneur en phytate de l'alimentation. Les calculs des coûts d'alimentation ont indiqué que la phytase seule ou surtout en combinaison avec la xylanase, pouvait réduire les coûts totaux d'alimentation par kg de poids corporel brut.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Christensen T., Dersjant-Li Y., Sewalt V., Mejldal R., Haaning S., Pricelius S., Nikolaev I., Sorg R. and de Kreijl A., 2020. *Curr. Eng. J.*, (6), 156–171
- Dersjant-Li Y., Archer G., Stiewert A. M., Brown A. A., Sobotik E. B., Jasek A., Marchal L., Bello A., Sort R. A., Christensen T., Kim H.-S., Mejldal R., Nikolaev I., Pricelius S., Haaning S., Sørensen J. F., de Kreijl, and Sewalt V., 2020. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (264), 114481
- Dersjant-Li Y., Bello A., Esteve-Garcia E., Ramirez Cruces C. and Marchal L., 2021. *Br. Poult. Sci.*
- Marchal L., Bello A., Sobotik E. B., Archer G. and Dersjant-Li Y., 2021. *Poult. Sci.*, (3), 100962
- Ravindran V., Morel P.C.H., Partridge G.G., Hruby M., Sands J.S., 2006. *Poult. Sci.*, (85), 82–89.
- Ribeiro T. P., Dal Pont G. C., Dahlke F., da Rocha C., Sorbara J. O. B. and Maiorka A., 2019. *J. Appl. Poult. Res.*, (28), 263–270
- Scholey D. V., Morgan N. K., Riemensperger A., Hardy R. and Burton E. J., 2018. *Poult. Sci.*, (97), 2435–2440
- Selle P.H., Ravindran V., Caldwell R.A., Bryden W.L., 2000. *Nutr. Res. Rev.* 13, 255–278.
- Selle P. H. and Ravindran V., 2007. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (135), 1-41
- Sewalt V., 2020. *Anim. Feed Sci. Technol.*, (264), 114481

Tableau 1. Composition (% , en brut) et valeurs nutritionnelles calculées (%) des aliments expérimentaux

Matières premières, %	Démarrage (1-10 jours)				Croissance (10-22 jours)				Finition (22-37 jours)			
	PC1	PC2	IPF1	IPF2	PC1	PC2	IPF1	IPF2	PC1	PC2	IPF1	IPF2
Blé	20,00	20,00	20,00	20,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00	25,00
Maïs	30,77	30,77	30,77	30,77	30,33	30,33	30,33	30,33	39,85	39,85	39,85	39,85
Tourteau de soja	24,58	24,58	24,58	24,58	22,65	22,65	22,65	22,65	21,98	21,98	21,98	21,98
Tourteau de tournesol	11,49	11,49	11,49	11,49	9,03	9,03	9,03	9,03	4,19	4,19	4,19	4,19
Remoulages de blé	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	3,50	1,00	1,00	1,00	1,00
Coques d'avoine	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sel	0,32	0,32	0,32	0,32	0,29	0,29	0,29	0,29	0,22	0,22	0,22	0,22
L-Lysine HCl	0,38	0,38	0,38	0,38	0,36	0,36	0,36	0,36	0,31	0,31	0,31	0,31
L/DL-méthionine	0,28	0,28	0,28	0,28	0,25	0,25	0,25	0,25	0,23	0,23	0,23	0,23
L-thréonine	0,13	0,13	0,13	0,13	0,12	0,12	0,12	0,12	0,10	0,10	0,10	0,10
L-valine	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07	0,07
Huile de palme	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	0,19	0,19	0,19	0,00	0,00	0,00	0,00
NaHCO3	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,21	0,21	0,21	0,21
Prémix vitamines/minéraux	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,40	0,40	0,40	0,40
Prémix Sacox*	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58	0,58
Coques de soja	0,02	0,92	1,06	1,96	0,02	0,92	0,86	1,76	0,02	0,92	0,79	1,69
Huile de soja	4,38	3,48	4,38	3,48	4,49	3,59	4,49	3,59	3,52	2,62	3,52	2,62
Carbonate de Ca	1,22	1,22	1,36	1,36	1,21	1,21	1,18	1,18	1,14	1,14	1,05	1,05
MCP	1,18	1,18	0,00	0,00	0,81	0,81	0,00	0,00	0,68	0,68	0,00	0,00
Valeurs nutritionnelles, % (sauf énergie et P phytique)												
ME, kcal/kg	2800	2725	2800	2725	2875	2800	2875	2800	2950	2875	2950	2875
Protéine brute	21,95	21,95	21,95	21,95	20,62	20,62	20,62	20,62	18,72	18,72	18,72	18,72
Matière grasse brute	7,15	6,26	7,15	6,26	7,42	6,53	7,42	6,53	6,37	5,47	6,37	5,47
Cellulose brute	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	3,92	2,80	2,80	2,80	2,80
Calcium	0,80	0,80	0,65	0,65	0,72	0,72	0,57	0,57	0,65	0,65	0,50	0,50
Phosphore (P)	0,72	0,72	0,45	0,45	0,61	0,61	0,42	0,42	0,52	0,52	0,36	0,36
P retenu	0,38	0,38	0,15	0,15	0,30	0,30	0,14	0,14	0,26	0,26	0,13	0,13
P phytique, g/kg	0,33	0,33	0,33	0,33	0,31	0,31	0,31	0,31	0,26	0,26	0,26	0,26
Lysine dig.	1,18	1,18	1,18	1,18	1,10	1,10	1,10	1,10	1,00	1,00	1,00	1,00
Met + Cys dig.	0,87	0,87	0,87	0,87	0,80	0,80	0,80	0,80	0,73	0,73	0,73	0,73
Thr dig.	0,77	0,77	0,77	0,77	0,72	0,72	0,72	0,72	0,65	0,65	0,65	0,65
Trp dig.	0,23	0,23	0,23	0,23	0,21	0,21	0,21	0,21	0,19	0,19	0,19	0,19
Val dig.	0,94	0,94	0,95	0,95	0,88	0,88	0,88	0,88	0,80	0,80	0,80	0,80

*Le prémix Sacox contenait 12 000 mg de salinomycine sodium (Huvepharma NV), apportant 70 ppm dans l'aliment au taux d'inclusion appliqué.

Tableau 2. Effet du remplacement total du phosphate inorganique par la phytase sur les performances de poulets nourris avec des aliments avec et sans xylanase ; analyse factorielle* 2x2 – période de 1 à 37 jours d'âge

1 à 37 jours d'âge			Gain de poids	Consommation d'aliment	Indice de consommation	Consommation d'eau	Mortalité	Coût d'aliment
			g/oiseau	g/oiseau	g/g	ml/oiseau	%	€/kg gain de poids**
Moyennes par traitement								
PC1	Non	Non	2,256	3,259	1,445	6,255	4,722	0,361
PC2	Non	Oui	2,265	3,305	1,459	6,361	5,057	0,357
IPF1	Oui	Non	2,256	3,211	1,423	6,031	5,331	0,356
IPF2	Oui	Oui	2,245	3,167	1,413	6,122	4,891	0,345
SEM*** cumulée			20,73	30,82	0,011	89,82	0,42	0,003
Moyennes effet principal								
Phytase	Non (PC)		2,260	3,282 ^a	1,452 ^a	6,308 ^a	4,889	0,359 ^a
	Oui (IPF)		2,249	3,189 ^b	1,418 ^b	6,077 ^b	5,111	0,351 ^b
Xylanase		Non	2,256	3,235	1,434	6,143	5,026	0,359 ^a
		Oui	2,254	3,236	1,436	6,242	4,974	0,351 ^b
SEM*** cumulée			14,66	21,80	0,01	63,51	0,30	0,002
P - phytase			0,605	0,006	0,005	0,016	0,516	0,004
P - xylanase			0,918	0,983	0,874	0,281	0,256	0,007
P - phytase x xylanase			0,587	0,155	0,277	0,935	0,320	0,211

*Analyse factorielle 2 x 2 avec deux niveaux de phytase et deux niveaux de xylanase

** Calculs effectués à partir des prix de matières premières de Juin 2020 en Hollande, incluant le coût des enzymes.

*** SEM : erreur standard de la moyenne

^{a,b} Différence significative à P<0,05

Tableau 3. Effet du remplacement total du phosphate inorganique par la phytase sur la teneur en cendres (% MS) et la force de rupture du tibia (MPa) - aliments avec et sans xylanase ; analyse factorielle* 2x2

		Cendres des tibias		Force à la rupture		
	Phytase	Xylanase	21 j d'âge	36 j d'âge	21 j d'âge	36 j d'âge
Moyennes par traitement						
PC1	Non	Non	50,1	52,1	47,4	45,4
PC2	Non	Oui	49,8	52,2	47,2	48,2
IPF1	Oui	Non	49,6	52,1	51,2	45,9
IPF2	Oui	Oui	50,1	51,4	49,6	46,6
SEM** cumulée			0,37	0,37	1,2	0,16
Moyennes effet principal						
Phytase	Non (PC)		49,9	52,1	47,3 ^a	46,8
	Oui (IPF)		49,8	51,8	50,4 ^b	46,2
Xylanase		Non	49,8	52,1	49,3	45,6
		Oui	49,9	51,8	48,4	47,4
SEM** cumulée			0,26	0,19	0,81	0,82
P - phytase			0,77	0,12	0,011	0,624
P - xylanase			0,75	0,32	0,447	0,139
P - phytase x xylanase			0,28	0,16	0,546	0,376

*Analyse factorielle 2 x 2 avec deux niveaux de phytase et deux niveaux de xylanase

** SEM : erreur standard de la moyenne

^{a,b} Différence significative à P<0,05