



**VALIDATION DE DEUX MÉTHODES DE COLLECTE
FÉCALE SUR L'EFFICACITÉ D'UN NOUVEAU PRINCIPE
ACTIF SUR LES PERFORMANCES ZOOTECHNIQUES, LA
DIGESTIBILITÉ ET LA DISPONIBILITÉ DU CALCIUM ET
DU PHOSPHORE CHEZ LE POULET DE CHAIR**

Ana Filipa Pedreira Duarte

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Zootécnica – Produção Animal

Orientador: Marisela Arturo-Schaan

Co-orientador: João Pedro Bengala Freire

Lisboa, 2009

REMERCIEMENTS

Ce travail a été effectué au sein de l'entreprise C.C.P.A., en collaboration avec la station expérimentale Euronutrition et le laboratoire Deltavit. J'ai pu y faire la connaissance de gens qui m'ont tous beaucoup aidé dans le parcours de ce stage et grâce à qui j'ai bien enrichi mes connaissances. Je n'oublierai jamais leur accueil et leur volonté pour m'accompagner. C'est vers eux que je dirige mes remerciements.

Je remercie Marisela ARTURO-SCHAAN, mon maître de stage et Docteur Vétérinaire au service R&D de CCPA, pour son soutien, son enthousiasme stimulant et la confiance qu'elle m'a accordée, pour tous ses avis et conseils, mais aussi pour le temps qu'elle m'a consacré.

Je remercie Marina PANHELEUX, Ingénieur au département avicole-cunicole de CCPA, pour sa disponibilité, ses conseils et avis.

Je remercie Alice HAMARD, Ingénieur au service R&D de CCPA, pour l'accompagnement pendant la réalisation du protocole de l'essai expérimental.

Je remercie Alice GUERMONPREZ, Ingénieur R&D et Formulation au service R&D de CCPA, pour la transmission de ses précieuses connaissances sur la digestibilité des nutriments chez les monogastriques.

Je remercie Philippe BONIFACE, Biostatisticien responsable du traitement de l'information de CCPA pour son aide et ses conseils en statistique.

Je remercie Lucile MONTAGNE, ma tutrice et professeur à l'Agrocampus-Ouest Rennes, pour son soutien et sa disponibilité.

Je remercie Agnès NARCY de l'INRA Nouzilly, pour sa disponibilité et pour m'avoir transmis ses connaissances sur les méthodes de détermination de digestibilité et disponibilité du calcium et du phosphore chez les monogastriques.

Je remercie Florence GORDON, stagiaire à l'AFSSA et Eric BOILLETOT de l'AFSSA St. Brieuc, pour leur disponibilité et accompagnement pendant les analyses de mesure de la résistance osseuse.

Je remercie les personnes d'Euronutrition qui m'ont accompagné pendant l'essai ainsi que les personnes de Deltavit qui m'ont accompagné pendant les analyses des échantillons.

Finalement, je veux remercier ma famille, mes amis et Bruno pour leur soutien, d'autant plus important que je suis loin d'eux. Un remerciement aussi au groupe de stagiaires de C.C.P.A. : Mathilde THEVE, Elen RONDEL, Olivier VERON, Ronan NOEL et Vivien TUFFREAU pour leur aide, pour leur amitié et pour tous les bons moments.

Merci à tous

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail était de comparer et valider les méthodes pour déterminer les effets d'un additif sur la digestibilité du calcium et du phosphore, sur les performances zootechniques et sur la qualité osseuse chez le poulet de chair. Une étude bibliographique a été faite sur les méthodes, sur les mesures de digestibilité du calcium et du phosphore et sur les effets d'un additif chez le poulet de chair.

Dans l'essai station cinq traitements sont comparés: un témoin négatif, un régime avec phytase, deux régimes avec l'additif à différentes doses et un régime avec l'additif et la phytase. Les performances zootechniques des poulets, les mesures de digestibilités minérales et disponibilité ont été analysées.

Le type de collecte a un impact significatif sur l'ensemble des mesures. L'additif utilisé a amélioré les performances zootechniques de manière non significative. Il a augmenté significativement la digestibilité de la matière minérale et du calcium par la méthode de collecte totale, sans affecter pour autant la qualité osseuse.

Le taux de récupération du marqueur (CIAC) obtenu compromet la validation de la méthode de collecte indirecte. Des études complémentaires avec un effectif supérieur permettront de confirmer les résultats, notamment l'intérêt zootechnique et les effets sur la digestibilité minérale.

Mots-clés: digestibilité, calcium, phosphore, additif, méthodes d'analyse

RESUMO

Este trabalho teve como objectivo comparar e validar diferentes métodos no estudo dos efeitos de um aditivo na digestibilidade do cálcio e do fósforo, nas performances zootécnicas e na qualidade do osso de frangos de carne. Foi efectuada uma pesquisa sobre os métodos utilizados na determinação da digestibilidade do cálcio e do fósforo e sobre os efeitos do aditivo na espécie avícola.

A experiência foi efectuada numa estação experimental em frangos de carne Ross PM3. Foram comparados cinco tratamentos diferentes (oito repetições): um tratamento controlo negativo, um tratamento com fitase, dois tratamentos que diferiram na dose de aditivo adicionado e, finalmente, um tratamento com aditivo e fitase. Foram analisadas as performances zootécnicas bem como a digestibilidade do cálcio e do fósforo.

Diferenças significativas foram observadas entre os diferentes tipos de recolha de fezes. As performances zootécnicas melhoraram com a adição de aditivo (+4% para o peso vivo e -1% para o IC), embora não tenham sido observadas diferenças significativas. O aditivo teve um efeito significativo na digestibilidade mineral e na digestibilidade do cálcio em ambos os métodos de colheita fecal. As medições referentes aos ossos não foram significativamente influenciadas pelo aditivo.

A taxa de recuperação do marcador registada neste estudo (CIAC) comprometeu a validação do método indirecto de recolha de fezes. Estudos complementares com um efectivo animal maior, poderão confirmar os resultados deste estudo, nomeadamente o interesse zootécnico e os efeitos deste aditivo na digestibilidade mineral.

Palavras-chave: digestibilidade, cálcio, fósforo, aditivo, métodos de análise

RESUMO ALARGADO

Este trabalho teve como objectivo a comparação de dois métodos de recolha de fezes (colheita total e colheita parcial/grab sampling) no estudo dos efeitos de um aditivo na digestibilidade do cálcio e do fósforo, nas performances zootécnicas e na qualidade do osso de frangos de carne. Foi realizada uma pesquisa sobre os diferentes métodos utilizados para a determinação da digestibilidade do cálcio e do fósforo, sobre a importância destes dois minerais na alimentação do frango de carne, sobre a enzima fitase e ainda sobre os efeitos do aditivo na espécie avícola.

A experiência foi efectuada numa estação experimental, utilizando-se 160 frangos de carne Ross PM3. A todos os animais foi fornecida uma alimentação com base de milho e farelo de soja. Foram comparados cinco tratamentos diferentes tendo sido realizadas oito repetições por cada tratamento. Os tratamentos consistiram num tratamento controlo negativo (sem adição de fitase ou aditivo), um tratamento com fitase (0,2%), dois tratamentos que diferiram na dose de aditivo adicionado (0,1% e 0,3%) e finalmente, um tratamento com aditivo e fitase (0,1% e 0,2% respectivamente). As fezes dos animais foram recolhidas através do método de colheita total (3 dias de colheita) e do método de colheita parcial (12 horas de colheita). Foram analisadas as performances zootécnicas (consumo médio diário, ganho médio diário e índice de conversão), o peso, o comprimento, a força máxima à fractura e o pequeno e grande diâmetro da tibia direita de cada animal. A matéria mineral, o cálcio e o fósforo da mesma foram também analisados. Finalmente, a digestibilidade mineral, a digestibilidade do cálcio e a digestibilidade do fósforo foram igualmente determinadas. Os resultados foram sujeitos à análise de variância designada por ANOVA bem como a um teste de comparação dois a dois designado por LSD (programa SPSS).

Diferenças significativas foram observadas entre os diferentes tipos de recolha de fezes. As performances zootécnicas foram melhoradas com a adição de aditivo (+4% para o peso vivo e -1% para o IC), embora não tenham sido observadas diferenças significativas ($P>0,05$). O aditivo teve um efeito positivo significativo na digestibilidade mineral e na digestibilidade do cálcio em ambos os métodos de colheita fecal. Este efeito foi superior quando foi adicionada uma maior quantidade de aditivo. As medições referentes aos ossos não foram significativamente influenciadas pelo aditivo. No entanto, a forte correlação existente entre os parâmetros físicos e químicos demonstra um possível favorecimento das mesmas com a adição do aditivo em estudo.

A taxa de recuperação das CIAC (cinzas insolúveis em ácido cítrico) registada neste estudo comprometeu a validação do método indirecto de recolha de fezes. Este método permite a redução do tempo de trabalho e torna o processo de recolha mais simples. No entanto, a sua eficácia face ao método da colheita total não foi confirmada, uma vez que não foi observada a recuperação total do marcador (CIAC).

Estudos complementares com um efectivo animal maior poderão confirmar os resultados deste estudo, nomeadamente o interesse zootécnico e os efeitos deste aditivo na digestibilidade mineral.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	2
1. Digestibilité et disponibilité	2
1.1. Définition de digestibilité et disponibilité	2
1.2. Différentes expressions de la digestibilité	2
2. Méthodes de détermination de la digestibilité et de la disponibilité du calcium et du phosphore	2
2.1. Choix de la méthode	2
2.2. Méthodes de mesure de la digestibilité fécale	3
➤ Les marqueurs	3
3. Le calcium et le phosphore dans l'alimentation du poulet de chair	3
3.1. Fonctions du calcium	3
3.2. Digestibilité et métabolisme du calcium	4
3.3. Fonctions du phosphore	4
3.4. Digestibilité et métabolisme du phosphore	4
3.5. Nature du phosphore présent dans l'alimentation du poulet de chair	5
3.5.1. L'acide phytique	5
➤ Le phytate	5
3.5.2. Le phosphore minéral	5
4. La phytase dans l'alimentation du poulet de chair	6
4.1. Définition et sources de phytase	6
4.2. Pourquoi utiliser la phytase microbienne?	6
4.3. Contraintes à l'utilisation de la phytase microbienne	6
4.4. La phytase et les complexes de phytate	7
4.4.1. Caractéristiques des complexes de phytate	7
4.4.1.1. La solubilité et le pH	7
4.4.1.2. Le rôle du calcium	7
4.4.1.3. La taille	7
5. Les substances humiques	8
5.1. Que sont les substances humiques?	8
5.2. Les acides humiques	8
5.2.1. Structure des acides humiques	8
5.2.2. Utilisation des acides humiques chez les animaux	9
5.2.3. Acides humiques et nutrition minérale	9
5.2.3.1. Chez les plantes	9
5.2.3.3. Chez les animaux	9
5.2.4. Les effets des acides humiques chez les volailles	9
ETUDE EXPERIMENTAL	11
1. MATERIEL ET METHODES	11
1.1. Animaux et logement	11
1.2. Aliments et alimentation	11

1.3. Mesures et prélèvements	11
1.3.1. Performances zootechniques	11
1.3.2. Collecte des fientes pour les analyses de digestibilité	11
1.3.3. Prélèvements du tibia pour les analyses physico-chimiques	12
1.4. Analyses physico-chimiques	12
1.4.1. Aliment	12
1.4.2. Fientes	12
1.4.3. Tibia	12
1.5. Calculs	12
1.6. Analyses statistiques	12
2. RESULTATS	13
2.1. Performances zootechniques	13
2.1.1. Période 1 (J0-J10)	13
2.1.2. Période 2 (J11-J20)	13
2.1.3. Période 3 (J21-J35)	13
2.1.4. Période globale (J0-J35)	13
2.2. Digestibilité de la matière minérale	13
2.2.1. CUD de la matière minérale	14
2.2.2. CUD du calcium	14
2.2.3. CUD du phosphore	14
2.3. Qualité osseuse	14
2.3.1. Résultats physiques	14
2.3.2. Résultats chimiques	14
3. DISCUSSION GENERALE	15
3.1. Analyse critique des méthodes utilisées	15
3.2. Analyse critique des régimes utilisés	16
3.2.1. Performances zootechniques	16
3.2.2. Digestibilité	17
3.2.3. Qualité osseuse	18
4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	19
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	21
ANNEXES	33

Liste des Annexes

Liste des Figures

Liste des Tableaux

Liste des Abréviations

Liste des Annexes

Annexe I : Bibliographie traitant de méthodes utilisées pour déterminer la digestibilité et la disponibilité du calcium et du phosphore	33
Annexe II : Avantages et inconvénients des méthodes de détermination de la digestibilité et de la disponibilité du calcium et du phosphore	37
Annexe III : Méthodes de récupération et de mesure du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os	38
Annexe IV : Avantages et inconvénients des méthodes de récupération du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os	43
Annexe V : Avantages et inconvénients des méthodes de mesure du calcium des aliments, des fientes et des os	45
Annexe VI : Avantages et inconvénients des méthodes de mesure du phosphore des aliments, des fientes et des os	46
Annexe VII : Marqueurs utilisés pour la détermination de la digestibilité des nutriments	47
Annexe VIII : Avantages et inconvénients des marqueurs utilisés pour la détermination de la digestibilité des nutriments	49
Annexe IX : Résultats de l'essai sur les performances zootechniques (J0 à J20)	51
Annexe X : Résultats de l'essai sur les performances zootechniques (J21 à J35)	52
Annexe XI : Effet du type de collecte sur les résultats de digestibilité	54
Annexe XII : Effet du type de collecte sur les résultats de qualité osseuse	55

Liste des Figures

Figure 1 - Absorption, métabolisme et excrétion du calcium	4
Figure 2 - Absorption, métabolisme et excrétion du phosphore	5
Figure 3 - Différentes sources de phosphore dans l'alimentation des volailles	6
Figure 4 - Représentation de la molécule de phytate et ses possibles liaisons avec le calcium	6
Figure 5 - Composition de la partie organique du sol	8
Figure 6 - Modèle structural des acides humiques	8
Figure 7 - Interaction entre le pH du système digestif des poulets de chair et la solubilité des complexes de phytate, l'activité de la phytase, et la solubilité et activité des acides humiques	9
Figure 8 - Répartition des poulets dans le bâtiment de l'essai	12
Figure 9 - Mesure du diamètre des tibias	13
Figure 10 - Machine universelle de mesure de la résistance osseuse, série 400/M	13
Figure 11 - Impact du traitement sur le CMJ et l'IC de J0 à J35	14
Figure 12 - Impact du traitement sur le GMQ et l'IC de J0 à J35	14
Figure 13 - Impact du type de collecte sur le CUD de la matière minérale	14
Figure 14 - Impact du traitement sur le CUD de la matière minérale pour la collecte totale (CT)	15
Figure 15 - Impact du traitement sur le CUD du calcium pour la collecte totale (CT)	15
Figure 16 - Impact du traitement sur le CUD du phosphore pour la collecte totale (CT)	15
Figure 17 - Relation entre la force maximale à la résistance et la matière sèche du tibia pour le grab sampling (GS) et impact du traitement	16
Figure 18 - Impact du traitement sur la matière minérale du tibia pour le grab sampling (GS)	16
Figure 19 - Impact du traitement sur le calcium du tibia pour le grab sampling (GS)	16
Figure 20 - Impact du traitement sur le phosphore du tibia pour le grab sampling (GS)	16
Figure 21 - Analyse en composante principale (ACP) des mesures du tibia	16

Liste des Tableaux

Tableau 1 - Quantité de phosphore excrété par des poulets standard (de J19 à J23) en fonction de la quantité de phosphore ingérée sans addition de phytase	1
Tableau 2 - Effets des acides humiques sur le poids, l'indice de conversion et le taux de mortalité des poulets de chair	10
Tableau 3 - Composition de l'aliment des différents régimes pour la période de démarrage et croissance de l'essai	12
Tableau 4 - Méthode de la collecte totale (CT) des fientes	12
Tableau 5 - Méthode du grab sampling (GS)	13
Tableau 6 - Performances zootechniques d'un poulet Ross PM3 et doses recommandées de calcium et de phosphore	17
Tableau 7 - Performances zootechniques moyennes des poulets de l'essai concernant notre étude (acides humiques - AH) et des essais précédentes à la station expérimentale Euronutrition	17
Tableau 8 - Composition du maïs et du tourteau de soja : activité phytasique, phosphore total, phosphore phytique et phosphore disponible	18

Liste des Abréviations

A1 : traitement avec 1 kg/tonne d'acides humiques
A3 : traitement avec 3 kg/tonne d'acides humiques
A1+Ph : traitement avec 1 kg/tonne d'acides humiques et 0,2% de phytase
AH : Acides humiques
Ca : Calcium
CIAC : Cendres insolubles en acide chlorhydrique
CMJ : Consommation moyenne journalière
CT : Collecte totale
CUD : Coefficient d'utilisation digestive
GMQ : Gain moyen quotidien
GS : Grab sampling
IC : Indice de consommation
MM : matière minérale
MS : matière sèche
P : Phosphore
Ph : traitement avec 0,2% de phytase (témoin positif)
PNP : Phosphore non phytique
T : traitement témoin négatif

Tableau 1 - Quantité de phosphore excrétée par des poulets standard (de 19 à 23j) en fonction de la quantité de phosphore ingérée sans addition de phytase (Frapin, 1996)

	Régime contrôle
P ingéré ^(*)	3,45±4,5 ^c
P excrété ^(*)	2,15±0,17 ^b
C.R. (%)	38,0±5,4 ^a
P excrété / P ingéré (%)	62,3

^(*) En g/2 animaux/4j : car nous avons 2 animaux/cage et le prélèvement a été fait sur 4 jours

INTRODUCTION

Les rejets de phosphore (P) sont de plus en plus problématiques dans les élevages de volailles. Ceci est dû aux nouvelles exigences réglementaires qui sont d'autant plus importantes que les volailles excrètent environ 60% du P ingéré (tableau 1) (Frapin, 1996). Les principales conséquences sont une accumulation dans les sols et le transport par lessivage vers les cours d'eau, ce qui provoque une eutrophisation de ces derniers (Narcy *et al*, 2009a). Les travaux menés sur le P visent l'objectif majeur de diminuer la quantité P excrétée en :

- ❖ réduisent la quantité de P inorganique fourni aux animaux à cause de son prix et de l'épuisement des réserves de celui-ci (Jondreville et Dourmad, 2005 ; Santos, 2008 ; Narcy *et al*, 2009a),
- ❖ valorisant le P d'origine végétale.

Si on réussit à améliorer sa disponibilité, on peut diminuer la quantité de P donnée sans changer la productivité et le bien-être animal. Cependant, une grande partie du P végétal est sous forme de P-phytique non disponible pour les animaux et qui dépend d'une enzyme appelée phytase pour être hydrolysé (Frapin, 1996). Le potentiel d'action de cette enzyme est négativement affecté par les fortes concentrations en minéraux qui sont fournies aux animaux. Ainsi le calcium (Ca) interagit avec le phytate pour former de complexes insolubles (Tamim *et al*, 2004). Ceux-ci, difficilement digérés par les phytases ajoutées aux aliments, sont à l'origine d'une augmentation des rejets de Ca et de P, minéraux pourtant essentiels (Angel *et al*, 2002).

Certaines études récentes ont montré qu'une nouvelle substance composée de substances humiques*, notamment d'acides humiques (AH), a des effets positifs sur la digestibilité et métabolisme des nutriments comme les protéines et les minéraux (HuminTech, 2009a). De plus, les AH auraient des bénéfices dans la croissance, la stabilisation de la flore intestinale, l'indice de consommation (IC), la consommation et par conséquent du poids vif (HuminTech, 2009b). L'utilisation des AH comme additif alimentaire prend de plus en plus d'importance comme facteur de croissance à cause de l'interdiction par la communauté européenne des antibiotiques comme promoteurs de croissance (Eren *et al*, 2008).

Dans ce contexte, pour les résultats de cet étude, on attend une amélioration des performances zootechniques ainsi que de la digestibilité et disponibilité du Ca et du P chez le poulet de chair avec l'utilisation des AH comme additif alimentaire.

Objectifs de l'étude

Deux objectifs principaux ont été fixés pour le présent travail :

- ❖ Valider une méthode pertinente pour la détermination des effets des AH sur la digestibilité du Ca et du P,
- ❖ Analyser les effets des AH sur les performances zootechniques, sur la digestibilité et la disponibilité du Ca et du P et sur la qualité osseuse des poulets de chair comparativement ou en association avec une phytase microbienne.

Dans l'étude bibliographique, seront présentées les notions de digestibilité et de disponibilité du Ca et du P chez le poulet de chair. Les AH seront abordés sous l'aspect de la nutrition végétale et animale. Les méthodes de détermination de la digestibilité et disponibilité du Ca et du P trouvées dans la bibliographie seront brièvement présentées. Puis nous justifierons le choix des méthodes utilisées dans ce travail à partir de leurs avantages et inconvénients. Discussion et perspectives s'appuieront sur les résultats obtenus.

* Formes organiques naturellement présentes dans le sol et provenant de matières végétale et animale décomposées



**Etude
Bibliographique**

1. DIGESTIBILITE ET DISPONIBILITE

1.1. Définition de digestibilité et disponibilité

La digestibilité est la quantité d'un nutriment absorbée par un organisme vivant donné (Thornton, 1999, cité par UMR 1222 INRA-Agro.M, 2004). Elle englobe les phénomènes qui ont lieu au niveau du tube digestif comme l'activité des enzymes et de la flore, l'absorption et le transit digestif (Larbier et Leclercq, 1992). Elle est mesurée par la disparition d'un nutriment du tube digestif, c'est-à-dire, par le rapport entre la quantité de nutriments ingérée et excrétée (Wilfart, 2007).

Cependant, la digestibilité ne nous donne qu'une estimation de la fraction qui est finalement métabolisée et utilisée par l'animal (Wilfart, 2007). Cette fraction métabolisée correspond à la disponibilité du nutriment et la minéralisation osseuse est, dans le cas du Ca et du P, un bon critère pour son estimation (Sauvant *et al*, 2002 ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Narcy *et al*, 2009a).

1.2. Différentes expressions de la digestibilité

La digestibilité peut être mesurée, soit au niveau iléal, soit au niveau fécal. Il existe 3 types de digestibilité (Wilfart, 2007):

- La Digestibilité Apparente (différence entre la quantité ingérée et la quantité totale excrétée à la fin d'un segment, divisée par la quantité ingérée),
- La Digestibilité Vraie ou Standardisée (soustraction de la quantité d'origine endogène indépendante de la nature des ingrédients ingérés, à la quantité totale excrétée),
- La Digestibilité Réelle (soustraction de la quantité d'origine endogène indépendante de la nature des ingrédients ingérés plus la quantité endogène spécifique de l'aliment, à la quantité totale excrétée).

Dans ce rapport, on va approfondir la digestibilité fécale apparente (DFA), celle qu'on va utiliser pour le Ca et le P. Elle est calculée de la façon suivante (Wilfart, 2007):

$$\text{DFA (Ca ou P)} = \frac{(\text{Ca ou P ingéré}) - (\text{Ca ou P excrété})}{\text{Ca ou P ingéré}}$$

Ca ou P ingéré = quantité de Ca ou P ingérée exprimée en g/kg MS ingérée (Kg/j)

Ca ou P excrété = quantité de Ca ou P excrétée dans les fientes (volailles) en g/kg MS ingérée (Kg/j)

La digestibilité peut aussi être représentée sous la forme d'un coefficient d'utilisation digestive (CUD = digestibilité x 100).

2. METHODES DE DETERMINATION DE LA DIGESTIBILITE ET DE LA DISPONIBILITE DU CALCIUM ET DU PHOSPHORE

2.1. Choix de la méthode

Dans la bibliographie, les méthodes utilisées pour déterminer la digestibilité et la disponibilité du Ca et du P sont présentés dans l'annexe I. Elles consistent à évaluer :

- leur quantité dans l'organisme et le sang de l'animal,
- leur CUD iléale et fécale,
- la résistance osseuse et la minéralisation osseuse.

Après avoir listé les avantages et inconvénients de chaque méthode (annexe II), notre choix s'est orienté vers les méthodes de digestibilité fécale, de résistance osseuse et de minéralisation osseuse. La résistance osseuse nous donne la solidité de l'os ou sa capacité de supporter la pression jusqu'à sa fracture (Rath *et al*, 2000).

Pour la récupération et la mesure du Ca et du P dans l'aliment, les fientes et les os, une recherche bibliographique a été menée sur les méthodes les plus utilisées ces dernières années (annexe III) et un choix a été pris selon leurs avantages et inconvénients (annexe IV, V et VI).

2.2. Méthodes de mesure de la digestibilité fécale

En ce qui concerne la digestibilité, nous avons choisi de mettre en œuvre et de comparer les deux méthodes trouvées dans la bibliographie : la collecte totale (CT) et le grab sampling (GS). Une comparaison entre les deux a été faite et l'influence de chacune sur la digestibilité de la MM, du Ca et du P a pu être analysée.

La méthode de la CT est basée sur la collecte de la totalité des fientes pendant une période de temps définie, avec parallèlement la détermination de la quantité d'aliment ingérée. Pour le GS, un échantillon représentatif des fientes et de l'aliment suffisent, ce qui permet une alimentation *ad libitum* et un temps de collecte plus faible. Cependant, cette méthode nécessite l'utilisation d'un marqueur.

➤ Les marqueurs

Les marqueurs sont des substances non digestibles qui sont utilisés pour mesurer la digestibilité des nutriments. Ils sont donnés avec l'aliment et sont mesurés dans les échantillons des fientes (Warner, 1981, cité par Berchielli *et al*, 2005 ; Scott et Boldaji, 1997). Le marqueur idéal possède les caractéristiques suivantes (Wilfart, 2007; Jarrige *et al*, 1997):

- Il doit être strictement non digestible et sa récupération dans les fientes doit être totale (détection à faibles doses par méthodes rapides et spécifiques, sans interférence avec les autres méthodes),
- Il ne doit pas être toxique pour l'animal,
- Il ne doit pas être produit naturellement par l'animal (Laplace, 1972, cité par Wilfart, 2007),
- Il ne doit pas affecter le tractus gastro-intestinal (phénomènes mécaniques ou chimiques de la digestion, flore microbienne et processus enzymatiques),
- Il doit avoir des caractéristiques physiques qui lui permettent une dispersion homogène dans la phase qu'il doit marquer et qui permettent son déplacement à la même vitesse que celle des particules alimentaires (association irréversible avec celles-ci),
- La méthode pour sa détermination doit être spécifique, sensible et ne doit pas affecter les autres analyses.

Ce marqueur idéal n'existe pas (annexe VII). Cependant, après avoir listé les avantages et les inconvénients des différents marqueurs couramment utilisés pour la mesure de la digestibilité des nutriments (annexe VIII), nous avons choisi les cendres insolubles à l'acide chlorhydrique (CIAC). Celles-ci se trouvent naturellement dans les aliments, notamment dans ceux qui sont riches en céréales. Cependant, ces quantités sont faibles et ont donc dû additionner une source de CIAC à l'aliment.

3. LE CALCIUM ET LE PHOSPHORE DANS L'ALIMENTATION DU POULET DE CHAIR

3.1. Fonctions du calcium

Le Ca est le minéral le plus abondant de l'organisme. Il présente des fonctions fondamentales comme la formation et la manutention de la structure du squelette, où il se trouve sous forme d'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) et de phosphates et carbonates de Ca non cristallisés (Larbier et Leclercq, 1992 ; Jongbloed *et al*, 2002b). L'hydroxyapatite est

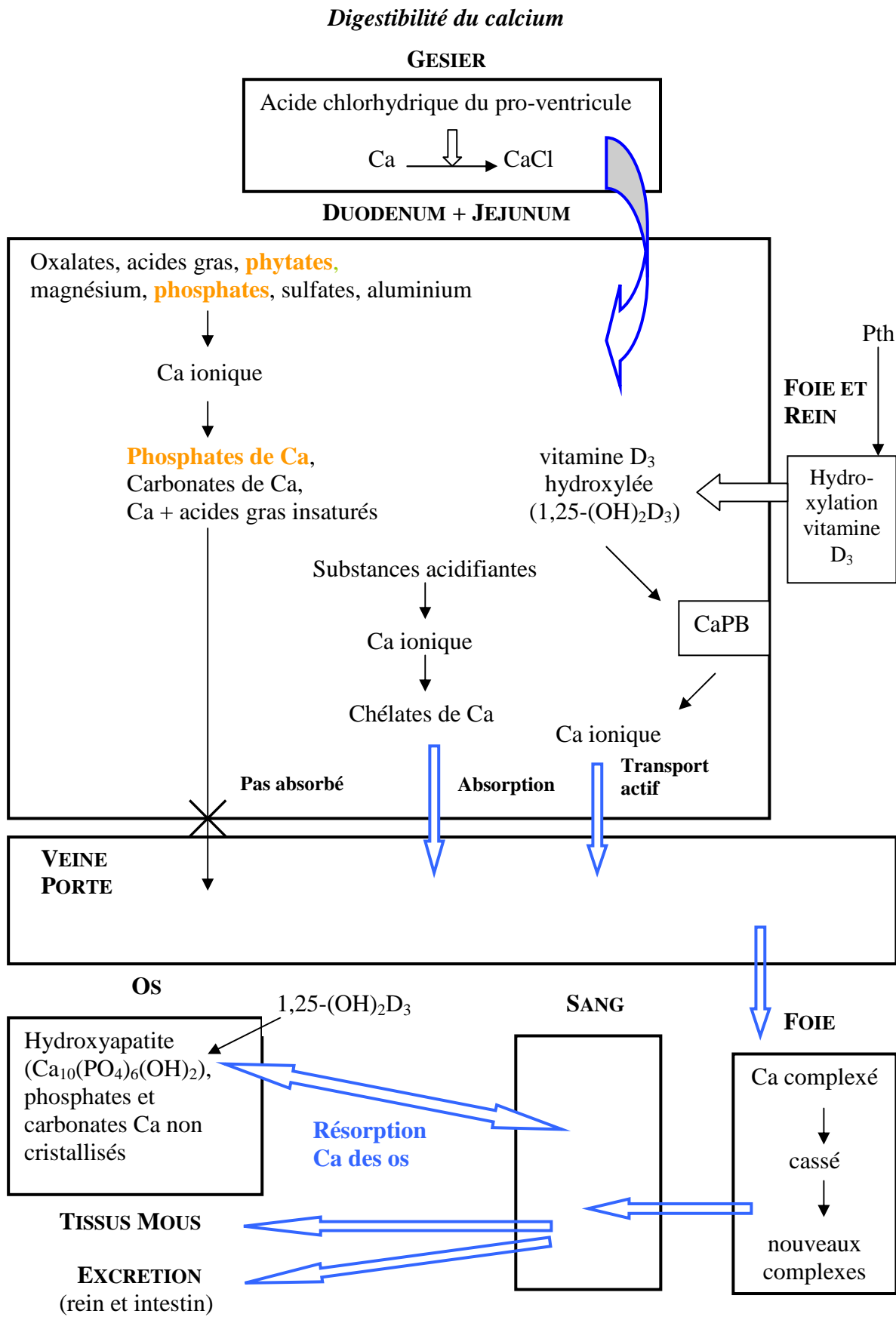


Figure 1 - Absorption, métabolisme et excrétion du calcium

Adapté de: Georgievskii *et al.*, 1982 et Underwood et Suttle, 1999a

⇒ Flux du Ca

impliquée dans la résistance osseuse (Kålebo et Strid, 1988, Field, 1999, Bruno, 2002, cités par Mendes *et al*, 2006). Le Ca des os représente 99% du Ca total de l'organisme (Jongbloed *et al*, 2002b). Le 1% restant est présent dans les liquides extra et intracellulaires, dont 50-60% est sous forme d'anion libre (Underwood et Suttle, 1999a). Celui-ci est important pour la régulation des fonctions nerveuses, musculaires et hormonales (Larbier et Leclercq, 1992 ; Underwood et Suttle, 1999a), pour la régulation du cycle de la cellule (Hurwitz, 1996, cité par Underwood et Suttle, 1999a), pour la coagulation sanguine et pour les systèmes enzymatiques (Larbier et Leclercq, 1992 ; Hurwitz, 1996, cité par Underwood et Suttle, 1999a).

3.2. Digestibilité et métabolisme du calcium

Les sources de Ca dans l'alimentation sont les carbonates (Nys, 1990). Ils sont dissous dans le gésier et l'absorption est faite dans le duodénum et le jéjunum (Hurwitz et Bar, 1965, 1968, Hurwitz *et al*, 1973, cités par Nys, 1990; Underwood et Suttle, 1999a ; Larbier et Leclercq, 1992). Le Ca est absorbé selon 2 mécanismes différents (Nys, 1990 ; Larbier et Leclercq, 1992):

- La diffusion selon un gradient électrochimique qui a lieu quand les apports de Ca sont égaux aux besoins et est fait sans apport d'énergie,
- Le transport actif qui a lieu quand les apports sont inférieurs aux besoins et quand le gradient électrochimique est réduit (Hurwitz et Bar, 1969, cité par Nys, 1990).

Le transport actif est dépendant des canaux d'ions et des transporteurs (Renfro et Clark, 1984, Quamme, 1985, cités par Huber *et al*, 2006 ; Katai *et al*, 1999) comme la calbindine (CaPB - calcium binding protein). Celle-ci est contrôlée par une forme physiologiquement active de la vitamine D₃ (le calcitriol - 1,25-(OH)₂D₃) et par l'hormone parathyroïdienne (Pth) (Underwood et Suttle, 1999a). Le Ca est finalement transporté aux organes et tissus au travers la veine porte. La partie qui n'est pas utilisée pour le métabolisme de l'animal, est excrétée *via* l'intestin et le rein (figure 1) (Georgievskii *et al*, 1982).

3.3. Fonctions du phosphore

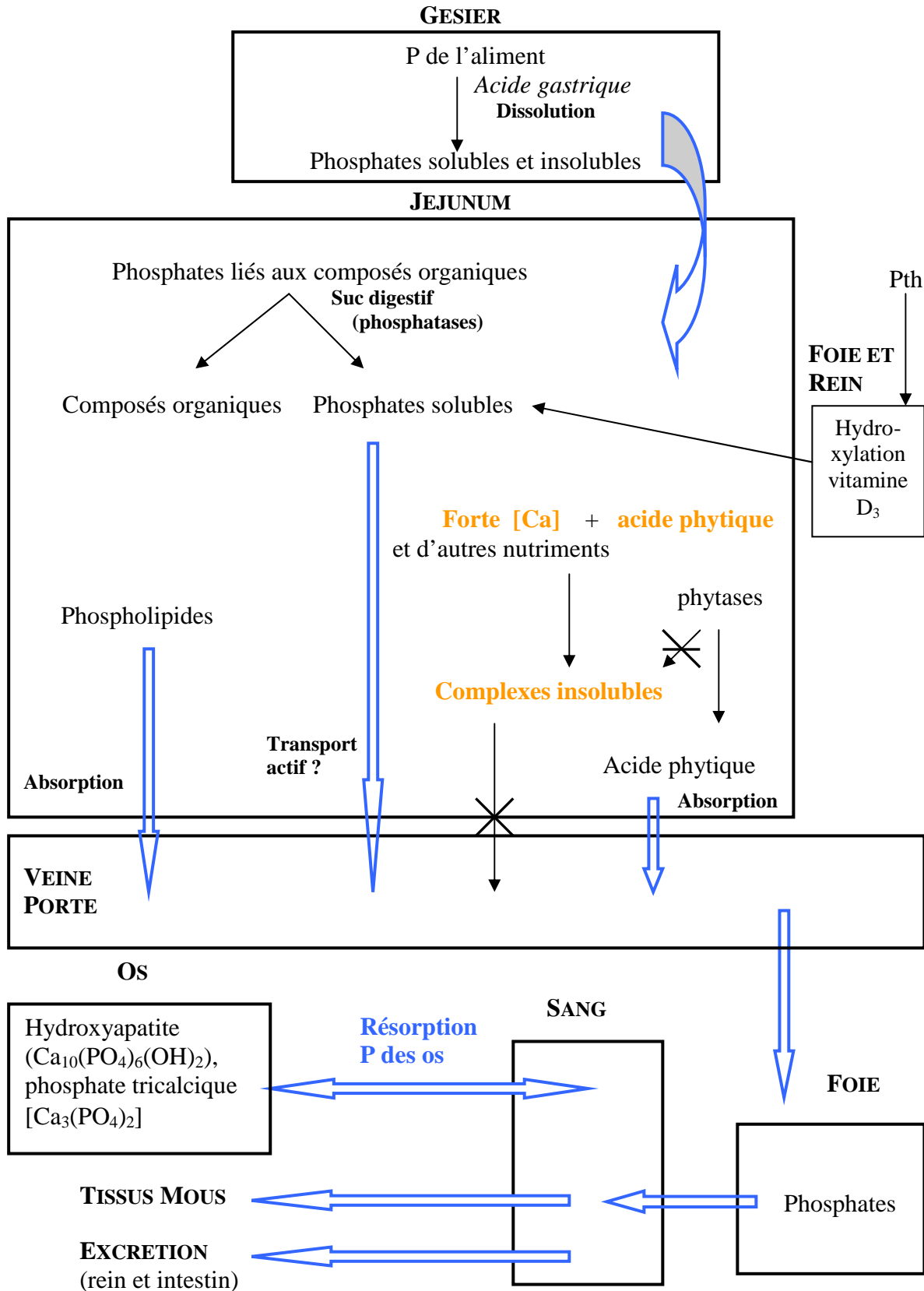
Comme pour le Ca, le P offre des fonctions physiologiques et biochimiques fondamentales à l'organisme de l'animal (Jongbloed *et al*, 2002c). Il est présent dans tous les organes et tissus (Jongbloed *et al*, 2002c). Il est important pour la formation et la manutention de la structure du squelette, des membranes cellulaires, des muscles et des tissus connecteurs. Il participe au métabolisme des protéines, des lipides, des hydrates de carbone et aussi au stockage et transfert d'énergie (Larbier et Leclercq, 1992 ; National Research Council, 1980 ; Jongbloed, 1987, McDowell, 1992, cités par Jongbloed *et al*, 2002c ; Underwood et Suttle, 1999b ; Auman, 2003 ; Bhanja *et al*, 2005). En plus, il est important pour la balance acido-basique, pour une grande partie des systèmes enzymatiques et pour la régulation du pH sanguin (Larbier et Leclercq, 1992 ; Jongbloed *et al*, 2002c ; Auman, 2003 ; Ramirez-Perez, 2007).

Dans les os, on trouve 60 à 80% du P total de l'organisme sous forme d'hydroxyapatite (Larbier et Leclercq, 1992 ; Jondreville et Dourmad, 2005) et de phosphate tricalcique [Ca₃(PO₄)₂] (Ekelund, 2003). Les 20% restant peuvent se trouver dans d'autres organes et tissus mous (Auman, 2003).

3.4. Digestibilité et métabolisme du phosphore

Le P est dissout dans le gésier et est absorbé au niveau du jéjunum. Les phosphates solubles qui passent *via* l'estomac et ceux qui se forment dans l'intestin sont rapidement absorbés à l'aide de la même forme physiologiquement active de la vitamine D₃ que pour le Ca (Georgievskii *et al*, 1982 ; Larbier et Leclercq, 1992). Le phosphate serait activement transporté *via* la paroi de l'intestin, mais la question n'est pas encore résolue (Underwood et

Digestibilité du phosphore



⇒ Flux du P

Figure 2 - Absorption, métabolisme et excrétion du phosphore

Adapté de: Georgievskii *et al*, 1982, Auman, 2003 et Underwood et Suttle, 1999b

Suttle, 1999b). Par contre, le P végétal sous forme d'acide phytique, peut former des complexes insolubles et être plus difficilement absorbé (Underwood et Suttle, 1999b). Cette partie sera approfondie plus loin dans cette révision bibliographique. Le P est finalement transporté aux organes et tissus à travers la veine porte. La partie qui n'est pas utilisée par le métabolisme de l'animal est excrétée *via* l'intestin et le rein (figure 2) (Georgievskii *et al*, 1982).

3.5. Nature du phosphore présent dans l'alimentation du poulet de chair

Le P est présent dans les aliments de volailles sous forme de P végétal et minéral (figure 3). Le premier est présent soit sous forme de P phytique (molécules d'acide phytique $C_6H_6[OPO(OH)_2]_6$ - acide myo-inositol hexaphosphorique), soit sous forme de P non phytique (PNP) (molécules comme les phosphoprotéines). Le P minéral est présent sous forme de PNP (phosphates bi-, mono- ou monobi-calciques). (Larbier et Leclercq, 1992 ; Sauvant *et al*, 2002 ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Narcy *et al*, 2009a).

3.5.1. L'acide phytique

50 à 85% du P total des graines est stocké sous forme d'acide phytique (Tran et Skiba, 2005). Il comprend 6 radicaux phosphate (Robillard, 2002 ; Narcy *et al*, 2009a) et une charge négative (Selle *et al*, 2000, cité par Tamim *et al*, 2004).

➤ Le phytate

Les caractéristiques de la molécule d'acide phytique permettent la formation de complexes appelés phytates (Narcy *et al*, 2009a) avec divers cations comme le Ca (figure 4), le magnésium, le sodium, le potassium, le fer, le zinc ou le manganèse, et avec des protéines, des acides gras ou de l'amidon (Narcy *et al*, 2009a ; Cheryan, 1980, cité par Tamim *et al*, 2004 et par Liu *et al*, 2007 ; Pallauf et Rimbach 1997, Selle *et al*, 2000, Maenz *et al*, 1999, cités par Tamim *et al*, 2004 ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Vohra *et al*, 1965, Oberleas, 1973, De Rham et Jost, 1979, Ravindran *et al*, 1999, cités par Liu *et al*, 2007 ; Angel *et al*, 2002 ; Pintar *et al*, 2005).

Les molécules de phytate constituent 1 à 3% du poids des céréales (Cheryan, 1980, cité par Angel *et al*, 2002) et contiennent 28,18% de P dans leur composition (Ravindran *et al*, 1995 ; Frapin, 1996 ; Angel *et al*, 2002). Cependant, sa disponibilité est très faible et dépend de la présence d'une enzyme spécifique, la phytase (Sebastian *et al*, 1996, Zanini et Sazzad, 1999, cité par Tamim *et al*, 2004 ; Sauvant *et al*, 2002 ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Narcy *et al*, 2009a).

3.5.2. Le phosphore minéral

Le PNP est presque totalement disponible pour les volailles (Sauvant *et al*, 2002). Sachant que les graines de céréales sont les ingrédients primaires de leur alimentation et que 2/3 de leur P est sous forme de P phytique (Narcy *et al*, 2009a), du P minéral (PNP) est ajouté aux aliments des poulets (Tamim *et al*, 2004). Cet ajout est important car il permet d'éviter une éventuelle déficience de P (Leytem *et al*, 2007). Cependant cela coûte cher et ses réserves sont toujours en décroissance (Jondreville et Dourmad, 2005 ; Santos, 2008 ; Narcy *et al*, 2009a). En plus, Ballam *et al* (1985, cité par Leytem *et al*, 2008b) ont démontré que la présence de très fortes quantités de P minéral diminue l'hydrolyse du phytate.

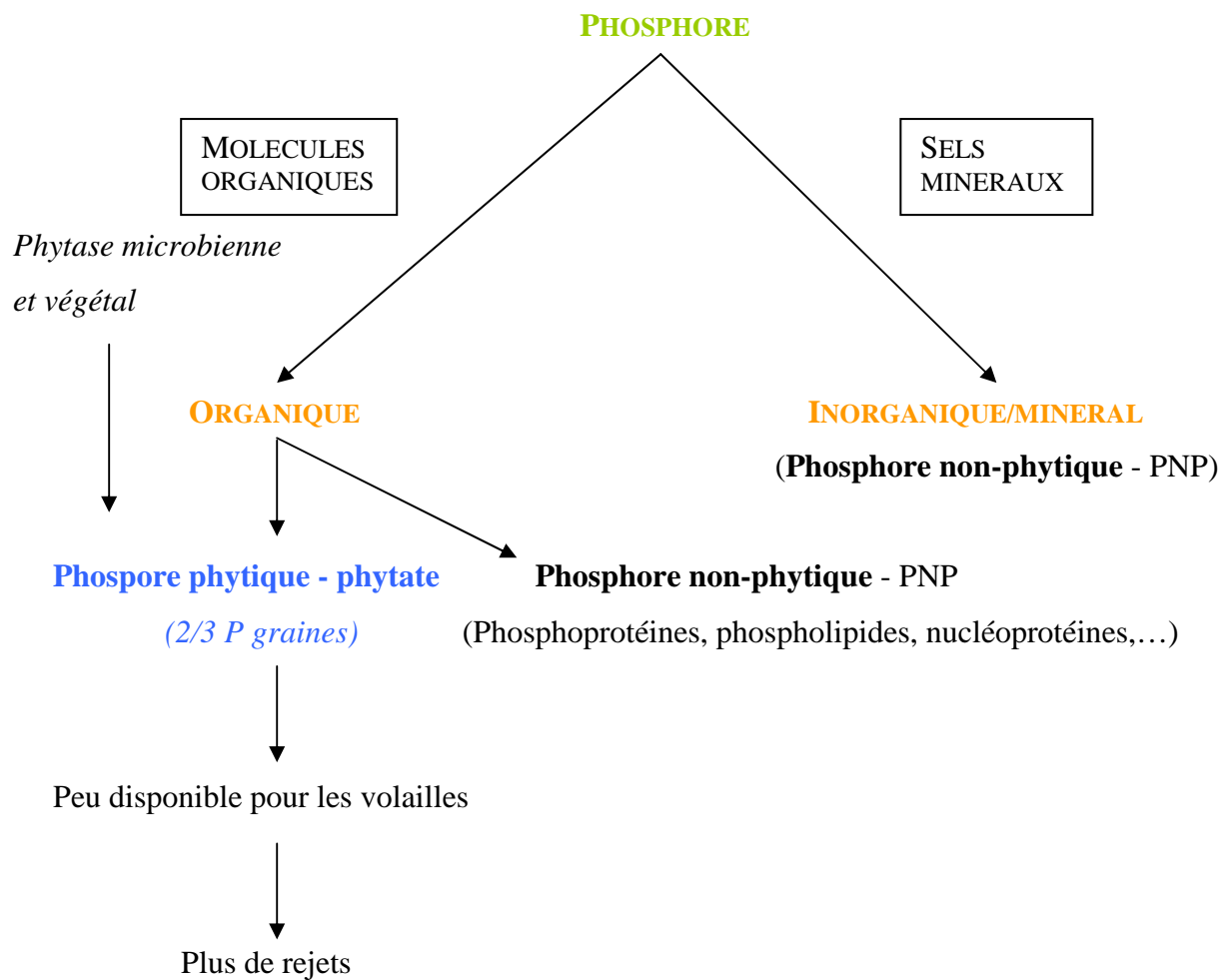


Figure 3 - Différentes sources de phosphore dans l'alimentation des volailles

Adapté de: Larbier et Leclercq, 1992; Narcy *et al*, 2009a

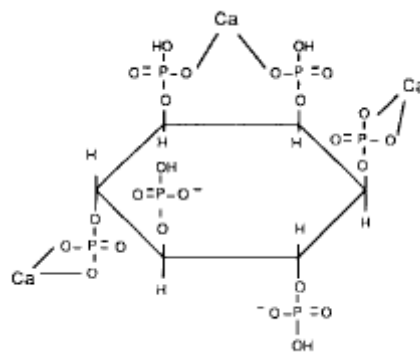


Figure 4 - Représentation de la molécule de phytate et ses possibles liaisons avec le calcium

(d'après Sauveur, 1989)

4. LA PHYTASE DANS L'ALIMENTATION DU POULET DE CHAIR

4.1. Définition et sources de phytase

La phytase est une phosphatase capable d'hydrolyser un ou plusieurs groupes phosphate de l'acide phytique dans le tube digestif des animaux (Nayini et Markakis, 1986, Lasztity et Lasztity, 1990, Harland et Morris, 1995, cités par Angel *et al*, 2002 ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Narcy *et al*, 2009a) avant les sites d'absorption, ce qui permet d'améliorer la digestibilité du P (Jondreville et Dourmad, 2005) et d'autres nutriments liés à l'acide phytique, comme le Ca, en diminuant son excrétion (Simons *et al*, 1990, cité par Underwood *et al*, 1999b).

La phytase peut être d'origine microbienne (celle qui est ajoutée aux aliments), végétale (celle qui est déjà présente dans les céréales) (Larbier et Leclercq, 1992), ou d'origine endogène/intestinale (celle qui est produite par l'animal) (Angel *et al*, 2002). Pour cette dernière, les résultats trouvés dans la bibliographie sont contradictoires:

- d'une part, Pintar *et al* (2005), Jondreville et Dourmad (2005), Bitar et Reinhold (1972, cité par Dilger et Adeola, 2006), Maenz et Classen (1998, cité par Dilger et Adeola, 2006), Leytem *et al* (2007) et Liu *et al* (2007) n'ont pas observé de production de phytases endogènes chez les volailles;
- d'autre part, Maddaiah *et al* (1964), Spitzer et Phillips (1945), Bitar et Reinhold (1972), Davies et Motzok (1972), Biehl *et al* (1995), Maenz et Classen (1998), Applegate *et al* (2000), Nelson *et al* (1976), cités par Angel *et al* (2002) ; Iragavarapu et Doerge (1999, cité par Sasyte *et al*, 2002) et Underwood et Suttle (1999b), ont eux, détecté une faible production.

4.2. Pourquoi utiliser la phytase microbienne?

Son addition aux rations des poulets de chair est fondamentale, notamment pour les régimes ayant une faible concentration de phytases végétales. L'ajout de phytase microbienne permet d'améliorer la faible capacité des phytases végétales et endogènes à hydrolyser totalement le phytate et libérer le P (Narcy *et al*, 2009a).

4.3. Contraintes à l'utilisation de la phytase microbienne

Les phytases végétales ont une activité maximale à une température comprise entre 45 et 60°C et à un pH ~5, tandis que les phytases microbiennes ont une activité maximale pour une température de 35 à 63°C et un pH de 2 à 6 (Applegate et Angel, 2009 ; Wodzinski et Ullah, 1996, cité par Angel *et al*, 2002 ; Sauveur, 1989 ; Jondreville et Dourmad, 2005) ce qui va influencer le lieu d'hydrolyse dans le tube digestif.

La phytase peut être inactivée par la chaleur pendant la fabrication de l'aliment (>75-80°C) (Ravindran *et al*, 1995 ; Wodzinski et Ullah, 1996, cité par Angel *et al*, 2002 ; Underwood et Suttle, 1999b ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Narcy *et al*, 2009a) et par un pH bas à l'entrée du tractus gastro-intestinal ou par la pepsine digestive (Phillippy, 1999, cité par Angel *et al*, 2002). Les phytases microbiennes sont cependant plus thermostables (Wyss *et al*, 1998, cité par Angel *et al*, 2002 ; Jondreville et Dourmad, 2005) et plus résistantes à l'inactivation par les enzymes digestives que les phytases végétales (Phillippy, 1999, cité par Angel *et al*, 2002 ; Jondreville et Dourmad, 2005). Ces avantages néanmoins, dépendent de facteurs comme la source microbienne, la forme de l'enzyme, la concentration en minéraux de l'aliment, les matières premières, la méthode de fabrication de la ration, la forme de la ration, le moment d'addition de la phytase, du type et niveau des métabolites de la vitamine D, et du statut sanitaire de l'animal (Ravindran *et al*, 1995).

4.4. La phytase et les complexes de phytate

4.4.1. Caractéristiques des complexes de phytate

La formation de complexes font du phytate un facteur antinutritionnel (Frapin, 1996 ; Pallauf et Rimbach, 1997, cité par Angel *et al*, 2002) car leur hydrolyse par les phytases dépend des facteurs suivants :

4.4.1.1. La solubilité et le pH

La solubilité des complexes de phytate, ainsi que leur stabilité jouent un rôle très important sur son hydrolyse et son absorption (Underwood et Suttle, 1999b ; Angel *et al*, 2002). La solubilité est maximale à pH 3,5 et diminue au-delà (Wise, 1983, Maenz *et al*, 1999, Selle *et al*, 2000, cités par Tamim *et al*, 2004 ; Kaufmen et Kleinberg, 1971, cité par Angel *et al*, 2002). La phytase est incapable d'hydrolyser les complexes insolubles du phytate (Sasyte *et al*, 2002 ; Taylor et Coleman, 1979, Reddy *et al*, 1982, Wise, 1983, cités par Tamim *et al*, 2004 ; Applegate et Angel, 2009 ; Maenz *et al*, 1999, cité par Angel *et al*, 2002 ; Angel *et al*, 2002). Par contre elle peut les hydrolyser s'ils sont solubles (Taylor et Coleman, 1979, Reddy *et al*, 1982, Wise, 1983, Qian *et al*, 1996, 1997, cités par Tamim *et al*, 2004). La solubilité est minime pour un pH compris entre 4 et 7 (Shafey *et al*, 1991, cité par Angel *et al*, 2002), c'est-à-dire qu'ils sont très peu solubles dans l'intestin grêle des volailles (Selle *et al*, 2000, Shafey *et al*, 1991, cités par Tamim *et al*, 2004).

L'augmentation du pH au long du tractus digestif stimule la formation des complexes de phytate avec les cations divalents tel le Ca (Wise, 1983, Maenz *et al*, 1999, cités par Angel *et al*, 2002)

4.4.1.2. Le rôle du calcium

Dans l'alimentation des volailles, le Ca est le minéral ajouté en plus fortes concentrations car il est essentiel à l'obtention d'une minéralisation osseuse maximale (Narcy *et al*, 2009a). Malgré la baisse d'affinité du Ca pour la formation de complexes avec le P et la faible stabilité de ceux-ci (Angel *et al*, 2002 ; Oberleas, 1973, Maenz *et al*, 1999, cité par Tamim *et al*, 2004 ; Angel *et al*, 2002), ces fortes concentrations vont être responsables par la formation de complexes Ca-phytate peu solubles au pH de l'intestin (Nelson, 1980, Sands *et al*, 2003, Tamim et Angel, 2003, cités par Plumstead *et al*, 2008 ; Tamim *et al*, 2004). Le Ca est, comme tel, le cation ayant le plus grand impact sur la disponibilité du P de ces complexes, à cause d'une diminution de l'activité de la phytase (Angel *et al*, 2002).

Nelson *et al* (1968, cité par Plumstead *et al*, 2008) ont observé une diminution de 0,36% de la disponibilité du Ca chez les poulets de chair quand ils ont ajouté 1% de phytate au régime, et aussi une augmentation de 50% des besoins en Ca pour la minéralisation maximale des os quand le phytate du régime est passé de 0 à 1,25%. Edwards et Veltmann (1983, cité par Underwood et Suttle, 1999b) ont observé que la disponibilité du P phytique chez les poulets de chair peut varier de 11 à 39% selon les variations de Ca et de P du régime (de 0,63 à 1,67% et de 0,53 à 1,01%, respectivement).

Une diminution des quantités de Ca pourrait permettre de diminuer l'apport de PNP. Toutefois, cette diminution doit être maîtrisée à cause des possibles impacts négatifs sur la minéralisation osseuse (le Ca est important pour la fixation du P) et les performances zootechniques. Ainsi le bilan Ca : P est aussi important, sinon plus que l'apport de P (Narcy *et al*, 2009a).

4.4.1.3. La taille

La taille des complexes constitue aussi un facteur important pour l'activité de la phytase. Les petits complexes ont une surface disponible pour l'hydrolyse plus grande par

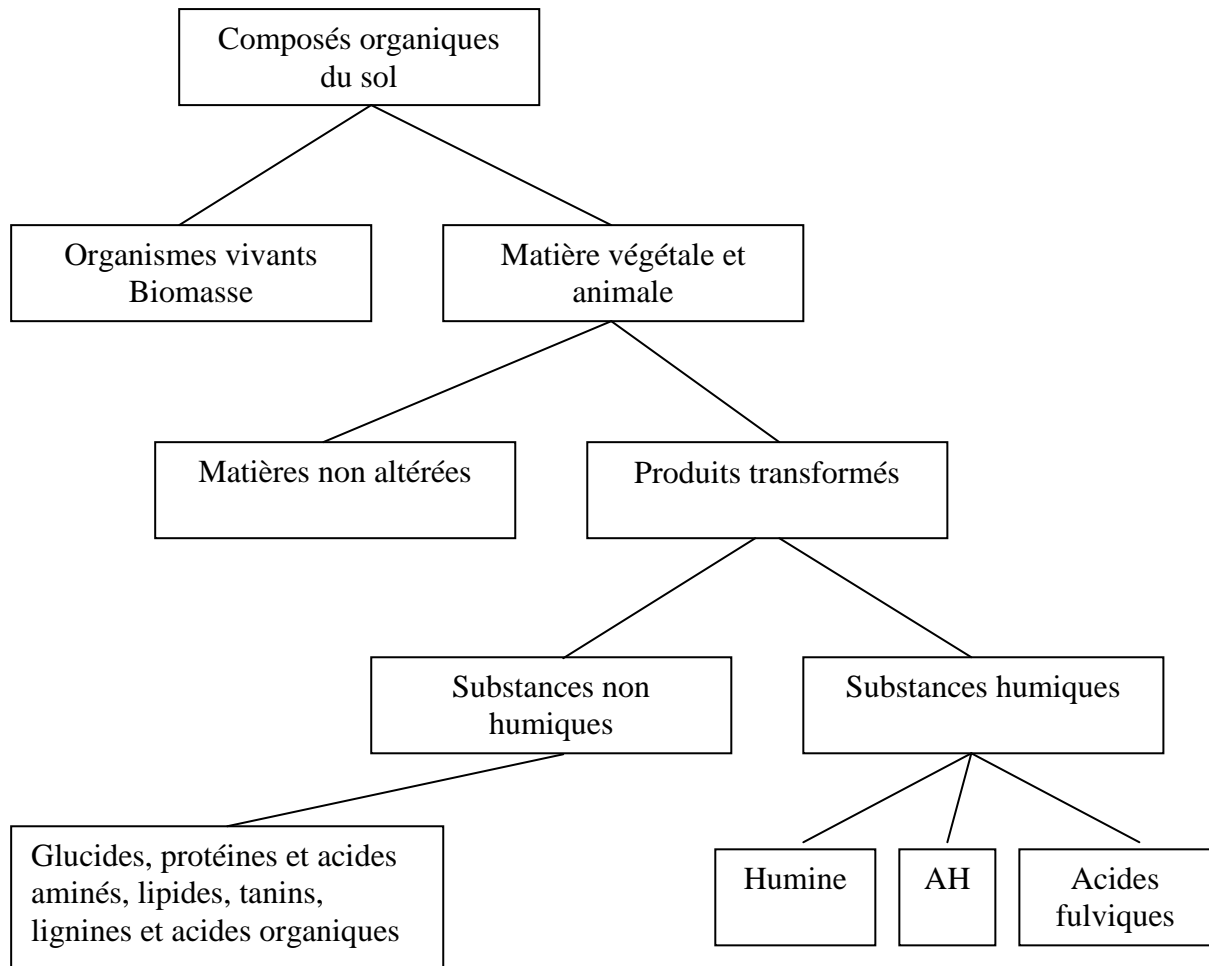


Figure 5 - Composition de la partie organique du sol

Adapté de: Eyheraguibel, 2004; Ndira, 2006; HuminTech, 2009a

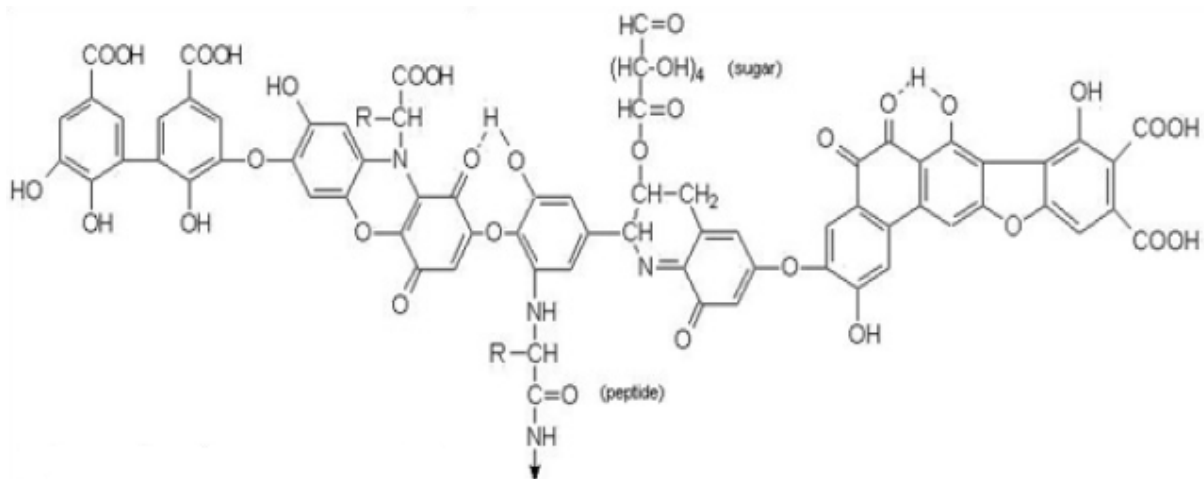


Figure 6 - Modèle structural des acides humiques (d'après Stevenson, 1982, cité par Ndira, 2006)

rapport aux complexes majeurs. Ainsi, plus la concentration de Ca est élevée, plus la taille des complexes est grande et moins de surface est disponible pour l'action de la phytase (Angel *et al*, 2002).

5. LES SUBSTANCES HUMIQUES

5.1. *Que sont les substances humiques?*

Les substances humiques (figure 5) sont les formes organiques provenant des matières végétale et animale qui ont été décomposées. Elles sont présentes dans tous les milieux et ont, parmi d'autres propriétés, la capacité d'adsorber, de complexer et d'être chélateur des composés organiques et minéraux ; d'où « un rôle important dans la dissolution, accumulation, biodisponibilité, dégradabilité, transport et échange de ces composés dans les eaux, les sols et les sédiments » (Busnot *et al*, 1994, cité par Ndira, 2006). Les principaux constituants des substances humiques sont:

- **L'Humine** - fraction de poids moléculaire > 70.000 Dalton (Van Rensburg, 2005)
- **L'Acide humique** - taille et poids moléculaires moyens (~5,000 à 100,000 Dalton selon Islam *et al*, 2005 ; > 12000 Dalton selon Van Rensburg, 2005 ; de 20.000 à 150.000 Dalton selon Zrally *et al*, 2008 ; et de 5000 à 300 000 Dalton selon Eyheraguibel, 2004), insoluble à pH < 2, soluble et chimiquement actif pour les pH neutres ou alcalins (Choppin et Labonne, 1997, Parks *et al*, 1996, cités par Eren *et al*, 2008 ; Faust, 2009), comprend 33 à 36% d'oxygène et 4% d'azote (Islam *et al*, 2005)
- **L'Acide fulvique** - taille et poids moléculaires les plus bas des substances humiques (~2000 Dalton selon Islam *et al*, 2005 ; < 500 Dalton selon Van Rensburg, 2005 ; < 1000 selon Eyheraguibel, 2004), soluble quelque soit le pH, ayant la plus forte teneur en oxygène (45-48%) et moins de 4% d'azote (Islam *et al*, 2005)

5.2. *Les acides humiques*

5.2.1. *Structure des acides humiques*

Les AH sont des molécules complexes, d'une structure tridimensionnelle composée de noyaux aromatiques contenant oxygène et azote hétérocycliques (figure 6) (Zrally *et al*, 2008 ; Klocking, 1994, McCarthy, 2001, cités par Rath *et al*, 2006 ; Kocabagli *et al*, 2002). Les chaînes latérales, liées aux noyaux aromatiques, sont formées de groupes fonctionnels : hydroxyle, carbonyle, carboxyle, amine et sulfhydryle (MacCarthy, 2001, cité par Zrally *et al*, 2008 et par Rath *et al*, 2006 ; Klocking, 1994, cité par Rath *et al*, 2006 ; Kocabagli *et al*, 2002) qui, par leur nature acide, sont responsables de la chélation avec d'autres substances (Eyheraguibel, 2004).

On trouve parfois, dans la littérature, la désignation « **humates** ». Ceux-ci correspondent aux sels d'AH dans lesquels les sites d'échange cations/anions sont le Ca, le sodium, l'aluminium, le fer et occasionnellement, l'hydrogène (Choppin et Labonne, 1997, cité par Eren *et al*, 2008).

Taille et états de conformation et d'agrégation des AH peuvent varier selon le pH, la force ionique et la présence d'ions di- ou multivalents dans les solutions aqueuses. La structure des AH varie aussi avec l'âge du sol (Van Rensburg, 2005) et avec son origine, ce qui altère ses fonctions moléculaires (Niemeyer *et al*, 1992, cité par Van Rensburg, 2005).

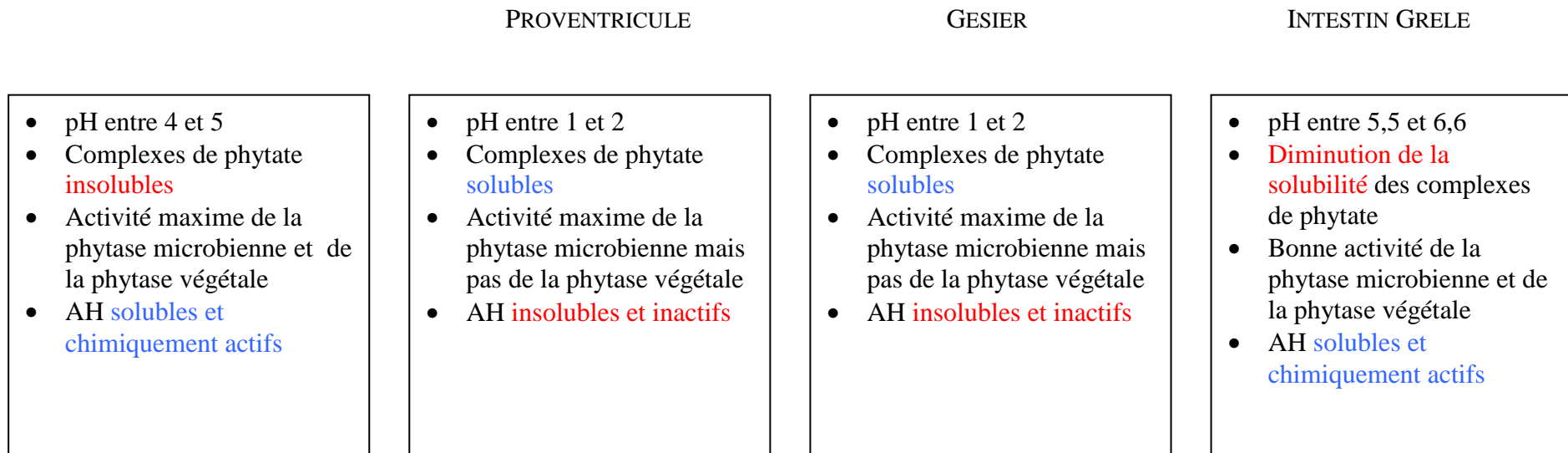


Figure 7 - Interaction entre le pH du système digestif des poulets de chair et la solubilité des complexes de phytate, l'activité de la phytase, et la solubilité et activité des acides humiques

Adapté de : Larbier et Leclercq, 1992 ; Jondreville et Dourmad, 2005 ; Eren *et al*, 2008

5.2.2. Utilisation des acides humiques chez les animaux

Dû à une absence d'effets toxiques, allergiques, muta-géniques ou tératogéniques (CVMP, 1999 ; Yasar *et al*, 2002, cité par Maysa et El-Sheikh, 2008), les AH peuvent être utilisés en médecine vétérinaire européenne du fait de ses bénéfices dans la thérapie et prévention des maladies (Schepetkin *et al*, 2002, cité par Van Rensburg, 2005 ; CVMP, 1999 ; Lenk et Benda 1989, cité par Zraly *et al*, 2008 et par Eren *et al*, 2008; Klocking, 1994, cité par Zraly *et al*, 2008 ; Kuhnert *et al*, 1989, 1991, Joone *et al*, 2003, cités par Eren *et al*, 2008 ; Zraly *et al*, 2008 ; HuminTech, 2009b).

Ils peuvent aussi être utilisés comme additif alimentaire. Quelques études ont montré leurs bénéfices dans la croissance, la stabilisation de la flore intestinale et l'augmentation de la digestibilité de nutriments comme les protéines, grâce à la régulation d'un pH intestinal optimum. Une amélioration de l'indice de consommation, de la consommation et par conséquent du poids vif ont aussi été montrés (HuminTech, 2009b). Ceci augmente l'intérêt d'une possible utilisation des AH comme promoteurs de croissance, notamment après la prohibition des antibiotiques (Eren *et al*, 2008)

En ce qui concerne la sécurité alimentaire, des essais chez le porc (0,5 et 2g AH/kg poids vif pendant 30 jours) ont montré qu'une administration orale de cette substance ne laisse pas de résidus dans le sang, les muscles, le foie ou le rein (limite de détection de 10 à 50 µg/ml) (CVMP, 1999).

5.2.3. Acides humiques et nutrition minérale

5.2.3.1. Chez les plantes

Les AH sont utilisés pour la fertilisation des sols et pour la croissance des plantes (HuminTech, 2009a). Ils augmentent l'absorption des minéraux chez celles-ci, par chélation avec eux (Kocabagli *et al*, 2002 ; De Kreij, 1995, cité par Eyheraguibel, 2004 ; Teravita, 2009) et par sa capacité d'échange de cations (HuminTech, 2009a).

Les AH ont aussi la capacité de se lier aux ions métalliques, aux oxydes et aux hydroxydes, et de les libérer lentement et en continu en fonction des besoins des plantes (HuminTech, 2009a). Ils réduisent l'interaction entre le P et le Ca, le fer, le magnésium et l'aluminium puisqu'ils forment des complexes avec ces derniers et laissent le P sous une forme disponible pour les plantes (HuminTech, 2009a ; Teravita, 2009).

5.2.3.2. Chez les animaux

Chez les animaux, la bonne capacité d'adsorption par les AH (Zraly *et al*, 2008), notamment de minéraux comme l'aluminium (Fein *et al*, 1999, Elfarissi et Perfferkon, 2000, cités par Van Rensburg, 2005), ou le Ca et les oligo-éléments, améliorent leur absorption (HuminTech, 2009a). Cette adsorption est maximale quand les AH sont chargés négativement, que la surface du minéral est chargée positivement (Van Rensburg, 2005; Vermeer *et al*, 1998, Fein *et al*, 1999, cités par Van Rensburg, 2005). En fait, on admet une activité plus forte de celles-ci au niveau du jabot et de l'intestin grêle (figure 7).

Kreutz et Schlikekewey (1992, cité par Islam *et al*, 2005) ont observé une augmentation de 16% de la calcification d'un implant de bovin avec l'apport d'AH. Ils ont aussi une grande affinité pour les métaux lourds (Herzig *et al*, 2007 ; Livens, 1991, Madronova *et al*, 2001, Hammock *et al*, 2003, cités par Zraly *et al*, 2008). Sa capacité d'accroître la perméabilité des membranes cellulaires, permet d'améliorer le transfert des minéraux du sang vers les os et cellules (Islam *et al*, 2005).

5.2.4. Les effets des acides humiques chez les volailles

Chez les poulets de chair, les AH ont un effet positif sur le gain de poids, sur l'IC et sur la mortalité (tableau 2) (Bailey *et al*, 1996 ; Kocabagli *et al*, 2002 ; Islam, 2005 ; Parks,

1998, Shermer *et al*, 1998, Eren *et al*, 2000, cités par Kocabagli *et al*, 2002 et par Eren *et al*, 2008 ; Zhorina et Stepchenko, 1991). Ils renforceraient leur potentiel immunitaire (Joone *et al*, 2003, cité par Eren *et al*, 2008) et changeraient le métabolisme des nutriments (Eren *et al*, 2008).

En ce qui concerne le métabolisme minéral, le nombre d'études sur cette thématique est faible. Cependant quelques travaux ont montré que les AH augmentent la concentration de sodium et potassium dans le sérum, ainsi que la quantité de cendres du tibia et modifient la balance acido-basique (Eren *et al*, 2000, cité par Eren *et al*, 2008). Ils diminuent la quantité de Ca, magnésium, fer et P dans le sérum (avec 2,5% d'AH), peut-être par sa capacité à former des chélates avec ceux-ci (Klocking, 1994, cité par Rath *et al*, 2006).

Par ailleurs, chez la poule pondeuse, les AH ont la capacité d'augmenter la production et la qualité des œufs (diminution du taux d'œufs cassés, augmentation du taux de cendres et de l'épaisseur de la coquille), à certaines périodes de ponte (Ceylan *et al*, 2003, Kucukersan *et al*, 2004, Zhorina et Stepchenko, 1991, cités par Eren *et al*, 2008 ; Yörük *et al*, 2004 ; Eren *et al*, 2008).



**Etude
Expérimentale**



Figure 8 - Euronutrition, répartition des poulets dans le bâtiment de l'essai, 20 juillet 2009
(Photo Ana Duarte)

Tableau 3 - Composition de l'aliment des différents régimes pour la période de démarrage et de croissance de l'essai

Age	Présentation	Composition	T	A1	A3	A1+ Ph	Ph
		Energie brute (Kcal/kg)	3980	3955	3967	3989	3985
		Protéines (%)	20,3	20,3	20,8	20,7	21,0
		Matière grasse (%)	3,1	2,8	2,7	2,7	3,0
		MM (%)	4,3	4,4	4,4	4,4	4,3
J0-J10	Miettes	Ca (%)	0,50	0,50	0,48	0,49	0,48
		P (%)	0,40	0,41	0,41	0,40	0,41
		Ratio Ca : P	1,25	1,22	1,17	1,23	1,17
		AH (%)	0,0	0,1	0,3	0,1	0,0
		Phytase (%)	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2
		Energie brute (Kcal/kg)	3991	4027	4011	3994	4058
		Protéines (%)	17,5	18,2	18,3	17,8	17,9
		Matière grasse (%)	3,7	3,8	4,0	3,9	3,9
		MM (%)	4,0	4,1	4,3	4,2	4,2
J10-J35	Granulé	Ca (%)	0,49	0,50	0,51	0,51	0,50
		P (%)	0,38	0,39	0,39	0,38	0,39
		Ratio Ca : P	1,29	1,28	1,31	1,34	1,28
		AH (%)	0,0	0,1	0,3	0,1	0,0
		Phytase (%)	0,0	0,0	0,0	0,2	0,2

Tableau 4 - Méthode de la collecte totale (CT) des fientes

Age	Jour	Horaire	Manipulation
J20	Lundi	16 h	Mise à jeun
J21	Mardi	9 h	Pesée des animaux – Plateau ; Pesée des aliments
J22	Mercredi	9 h	Collecte dans barquettes tarées (20 échantillons)
J23	Jeudi	9 h	Collecte dans barquettes tarées (20 échantillons)
		16 h	Mise à jeun
J24	Vendredi	9 h	Collecte dans barquettes tarées (20 échantillons) ; Pesée des aliments ; Pesée individuelle des animaux

1. MATERIEL ET METHODES

L'étude a été réalisée à la Station Expérimentale Euronutrition SAS du 30/06/2009 au 04/08/2009.

1.1. Animaux et logement

L'expérience a été réalisée sur 160 poulets mâles Ross PM3 jaunes âgés de 1 à 35 jours. En début d'essai, 5 lots d'animaux sont constitués en tenant compte de leur poids vif individuel. Ainsi, le poids moyen des animaux à la mise en lot était de 40,2g pour l'ensemble des lots. Les animaux ont ensuite été répartis dans 40 cages de 4 poulets (dispositif Flat-Deck), à raison de 8 cages par traitement. Les animaux d'une cage avaient un poids similaire (figure 8).

La photopériode était de 24 heures de lumière le 1^{er} jour puis de 18 heures (de 4h à 22h). Tous les régimes ont été enrichis avec 0,5% de CIAC.

1.2. Aliments et alimentation

Les aliments ont été formulés de façon à satisfaire les besoins nutritionnels des poulets de 0 à 10 jours puis de 11 à 35 jours, à l'exception de ceux de Ca et de P. Ils ont été formulés, à base de maïs et de tourteau de soja, deux matières premières présentant des taux de phytase endogènes faibles. La composition et les caractéristiques nutritionnelles de ces aliments sont décrites dans le tableau 3.

Les aliments se distinguaient par leur teneur en AH et phytase de synthèse. Deux aliments sans phytase contenaient 1 ou 3 kg/tonne d'AH. Puis, un aliment à 1 kg/tonne d'AH était testé avec phytase. Enfin, nous disposions de deux aliments témoin négatif (sans phytase, ni AH) et positif avec phytase. Tous les régimes ont été enrichis avec 0,5% de CIAC.

Les aliments ont été distribués sous forme de miettes de J0 à J10, puis sous forme de granulés (3,25mm) de J11 à J35. Sur toute la période expérimentale, les animaux recevaient l'aliment et l'eau *ad libitum*, à l'exception des 2 jours de mise à jeun nécessaires à la mesure de la digestibilité par CT (décrite ci-dessous).

1.3. Mesures et prélèvements

1.3.1. Performances Zootechniques

Les animaux ont été pesés par cage à J10, J20 et J35. Des pesées individuelles ont été réalisées au début et au 24^{ème} jour de l'essai. La consommation moyenne journalière (CMJ), ainsi que le gain moyen quotidien (GMQ) ont été mesurés sur les périodes de J0 à J10, de J11 à J20 et de J21 à J35. L'IC a été calculé par rapport entre le CMJ et le GMQ. Le nombre de poulets morts, ainsi que la cause de la mortalité ont été notés quotidiennement.

1.3.2. Collecte des fientes pour les analyses de digestibilité

Dans le cadre de la mesure de la digestibilité apparente du Ca et du P, deux méthodes de collecte de fientes ont été testées et comparées (voir chapitre 2 de l'étude bibliographique). Nous avons procédé soit par CT des fientes (tableau 4) soit par GS (tableau 5). La CT des fientes a été réalisée sur 20 cages pendant 3 jours. Une mise à jeun des animaux avant et en fin de collecte a permis de vider en totalité le tractus digestif. La consommation d'aliment durant la période de collecte a été mesurée. Dans le cadre du GS les fientes ont été collectées sur une période de 12 heures au 21^{ème} jour d'essai.

Les fientes ont été ensuite pesées.

Tableau 5 - Méthode du grab sampling (GS)

Age	Jour	Horaire	Manipulation
J21	Mardi	8 h	Plateau
		20 h	Collecte dans barquettes tarées (20 échantillons)

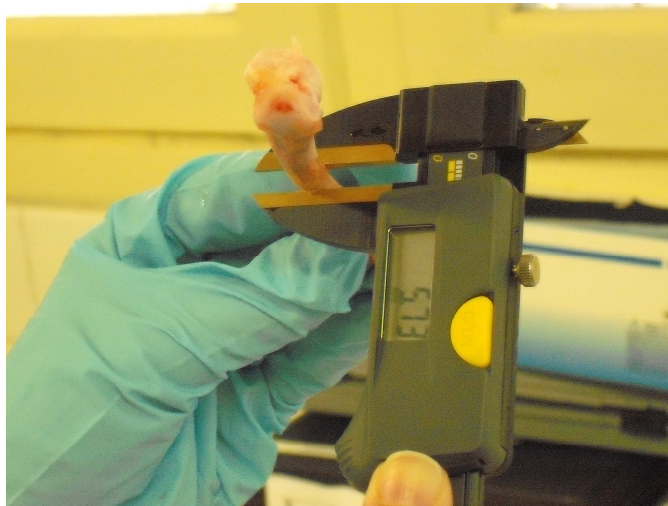


Figure 9 - Mesure du diamètre des tibias, AFSSA de Ploufragan, 27 juillet 2009 (Photo Marisela Arturo-Schaan)

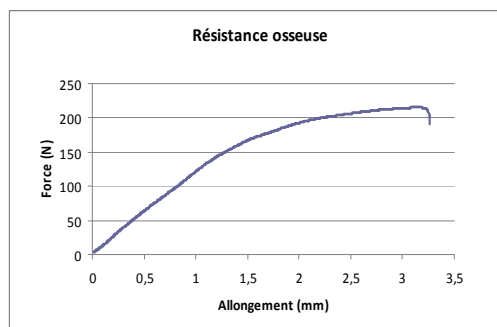
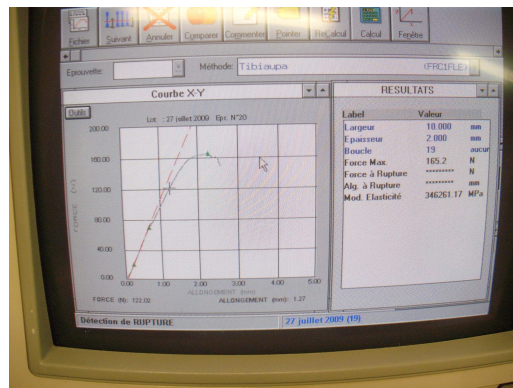
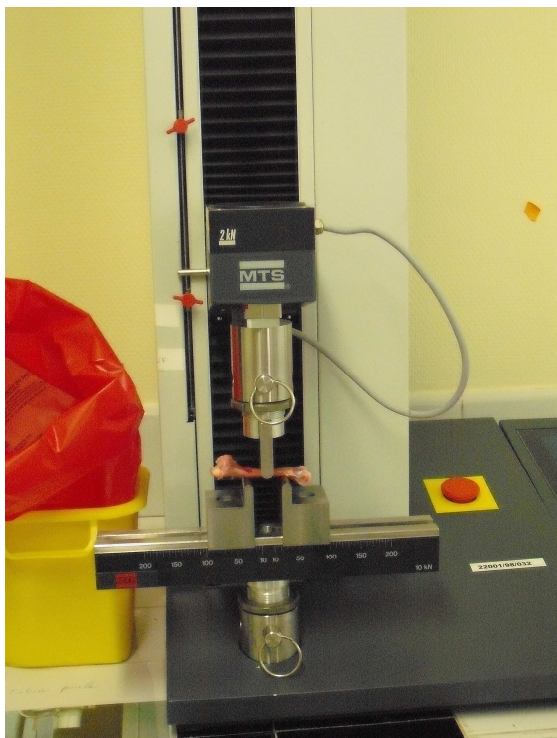


Figure 10 - Machine universelle de mesure de la résistance osseuse, série 400/M, AFSSA de Ploufragan, 27 juillet 2009 (Photo Marisela Arturo-Schaan)

1.3.3. Prélèvements du tibia pour les analyses physico-chimiques

Au 24^{ème} jour d'essai, un poulet par cage, choisi dans le poids moyen de la cage, a été abattu. Les tibias gauches de ces poulets ont été prélevés et nettoyés des muscles et des graisses. Ils ont été conservés à -20°C jusqu'à leur analyse.

1.4. Analyses physico-chimiques

1.4.1. Aliment

Les analyses des aliments des 5 régimes ont été faites à l'unité de chimie du laboratoire Deltavit (groupe C.C.P.A.). Ces analyses comprennent : mesure de la matière sèche (MS), du P total (toutes les formes du P), du Ca et de la MM des miettes et des granulés. Pour ces derniers, les CIAC ont aussi été mesurées.

L'aliment a été digéré par des acides nitrique et chlorhydrique concentré pour la récupération du Ca et du P total. La teneur en P total a été mesurée par colorimétrie (430 nm) avec le réactif nitro-vanado-molybdique, tandis que le Ca a été mesuré par spectrophotométrie d'absorption atomique (ISO 6498). Les CIAC ont été mesurées par la méthode V18-102 de l'AFNOR 1977.

1.4.2. Fientes

L'analyse de la MS a été faite au laboratoire Deltavit (séchage pendant une nuit à 105°C). L'analyse de la MM, du Ca, du P et des CIAC ont aussi été faites à Deltavit, selon les mêmes méthodes que pour les aliments.

1.4.3. Tibia

Le poids, la longueur, le petit et le grand diamètre des tibias ont été mesurés (figure 9). La mesure de la force maximale à la fracture a été réalisée à l'AFSSA grâce à une machine universelle d'essai de chez MTS, série 400/M à 3 points de flexion (figure 10).

A l'unité de chimie du laboratoire Deltavit, la MS des tibias a été mesurée. Ensuite, elles ont été incinérées à 550°C jusqu'à l'obtention de cendres blanches pour la mesure de la MM. Le Ca et le P ont été mesurés par les mêmes méthodes qu'utilisées pour l'aliment.

1.5. Calculs

Les formules suivantes ont été utilisées pour déterminer la digestibilité apparente fécale du Ca et du P :

COLLECTE TOTALE

$$\text{CUD fécale apparente Ca ou P (\%)} = 1 - \left[\frac{\text{Ca ou P excrété (g)}}{\text{Ca ou P ingéré (g)}} \right] \times 100$$

GRAB SAMPLING

$$\text{CUD fécale apparente Ca ou P (\%)} = 1 - \left[\frac{\text{Ca ou P fientes (g)}}{\text{CIAC fientes (g)}} \times \frac{\text{CIAC aliment (g)}}{\text{Ca ou P aliment (g)}} \right] \times 100$$

1.6. Analyses statistiques

Les données ont été traitées par analyse de variance ANOVA suivi d'un test de comparaison deux à deux LSD, à l'aide du logiciel SPSS. Les différences ont été considérées significatives quand $P < 0.05$.

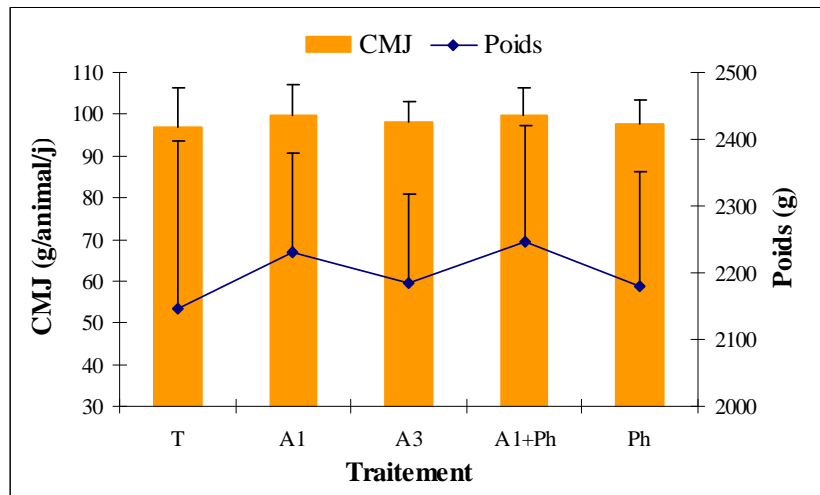


Figure 11 - Impact du traitement sur le CMJ J0 à J35 et le poids à J35

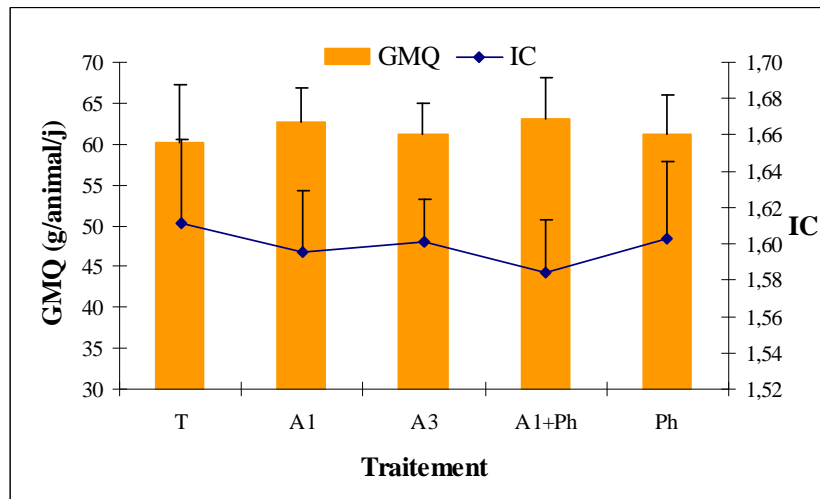


Figure 12 - Impact du traitement sur le GMQ et l'IC de J0 à J35

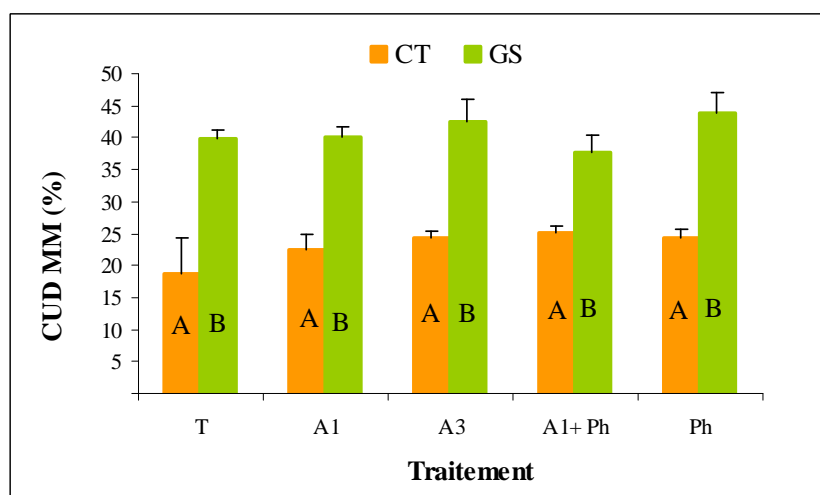


Figure 13 - Impact du type de collecte sur le CUD de la matière minérale

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de probabilité de 0,05

2. RESULTATS

2.1. Performances zootechniques

Les performances zootechniques obtenues dans cet essai sont présentés dans les annexes IX et X. L'inclusion des différents additifs à différentes doses n'a pas permis de mettre en évidence de différences significatives entre les animaux des différents traitements (P=NS). Néanmoins, on observe les résultats suivants par rapport au témoin négatif (T) :

2.1.1. Période 1 (J0-J10)

La CMJ et le GMQ ont été supérieurs avec le traitement A1+Ph (respectivement +4,5% et +5,6%). L'IC a été le meilleur avec le traitement Ph (-2,4%). Pour cette période, on observe cependant une tendance significative à l'amélioration de l'IC (P=0,078).

2.1.2. Période 2 (J11-J20)

La CMJ a été améliorée de 1,6% avec le traitement A1. Le GMQ et l'IC ont été les meilleurs avec le traitement A1+Ph (respectivement +4,4% et -3,6%).

2.1.3. Période 3 (J21-J35)

Pour cette période, le type de collecte a modifié significativement les performances zootechniques, à l'exception de l'IC. La CMJ et le GMQ ont été toujours supérieurs pour le GS soit, en moyenne et respectivement, +8,8% (P=0,001) et +9,7% (P=0,003) comparativement à la méthode de la CT. Par rapport à l'effet traitement et, sans faire de distinction entre les deux types de collecte, il a été montré que l'A1 et l'A1+Ph ont eu des résultats supérieurs. On observe des améliorations de 3,9% (A1) et 3,6% (A1+Ph) pour la CMJ et de 4,9% (A1) et 4,7% (A1+Ph) pour le GMQ, respectivement. L'IC a été amélioré de 2,7% pour l'A1 et de 1,2% pour l'A1+Ph.

2.1.4. Période globale (J0-J35)

Le type de collecte a eu une influence significative sur les performances zootechniques globales, sauf pour l'IC. La CMJ et le GMQ ont été, en moyenne, de 5,7% supérieurs pour le GS (respectivement P=0,016 et P=0,043). En prenant en compte les résultats globaux (CT plus GS), il a été observé que les deux meilleurs traitements ont été l'A1 et l'A1+Ph. Une amélioration de 3% pour la CMJ de ces deux traitements a aussi été observé (figure 11). Elle s'accompagne d'une augmentation du poids moyen des animaux à J35 de +84g et +98,6g pour chacun de ces deux régimes respectivement. Pour le GMQ, le traitement A1+Ph a permis une amélioration de 4,7% et le traitement A1 de 4%. L'IC a aussi été amélioré : -1% pour l'A1 et -1,7% pour l'A1+Ph (figure 12).

Concernant la mortalité, il n'y a pas eu d'effet significatif ni du traitement ni de la méthode de collecte (P=NS).

2.2. Digestibilité de la matière minérale

Les résultats obtenus suite à la mesure de digestibilité sont présentés en annexe XI. Ceux-ci présentent un effet significatif du traitement et du type de collecte.

Le CUD des CIAC négatif (en moyenne -29,7%) est en désaccord à l'attendu qui devrait être égal à 0. Ce CUD impacte sur le calcul des CUD de la MM (figure 13), du Ca et du P pour la méthode du GS. De ce fait, seuls les résultats de la CT nous semblent pertinents à exploiter pour les différents traitements.

Par rapport au témoin négatif (T), les résultats sont les suivants :

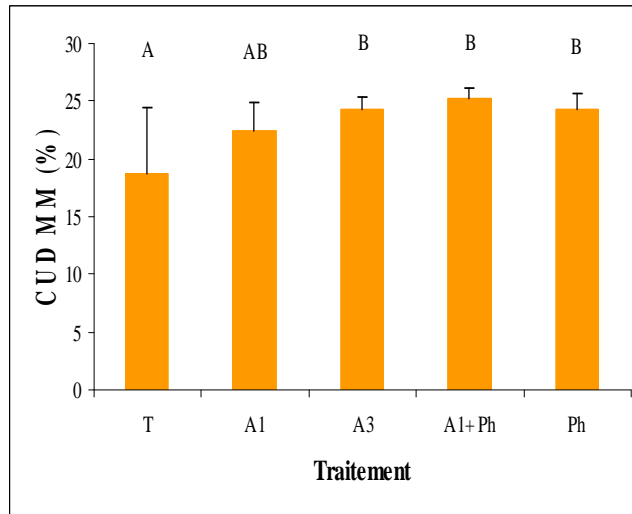


Figure 14 - Impact du traitement sur le CUD de la matière minérale pour la collecte totale (CT)

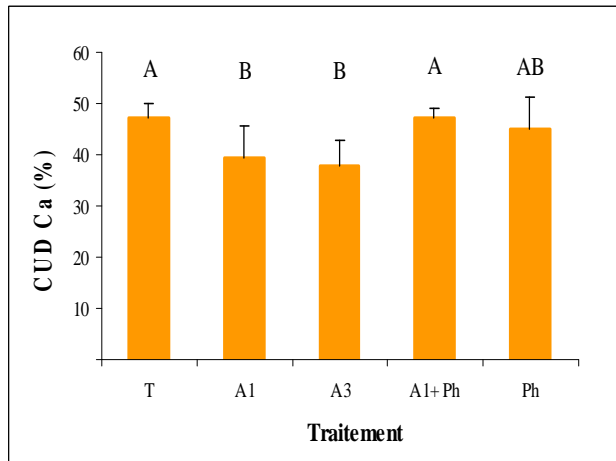


Figure 15 - Impact du traitement sur le CUD du calcium pour la pour la collecte totale (CT)

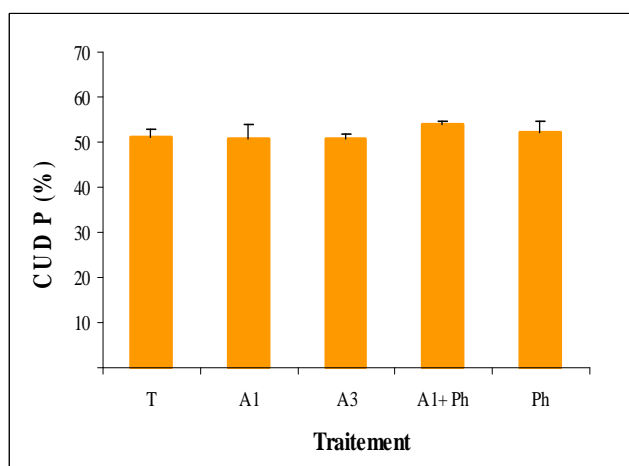


Figure 16 - Impact du traitement sur le CUD du phosphore pour la pour la collecte totale (CT)

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de probabilité de 0,05

2.2.1. CUD de la matière minérale

Pour cette mesure, les écarts sont significativement expliqués par l'effet traitement ($P=0,042$). En effet, il a été observé une amélioration du CUD de la MM de l'ordre de 31,2% avec les traitements A3, A1+Ph et Ph, comparativement à T. Cependant, le traitement A1 n'a pas été significativement différent du témoin (T) (figure 14).

2.2.2. CUD du Calcium

Il y a un effet statistiquement significatif des traitements sur le CUD du Ca ($P=0,038$). Les trois meilleurs traitements, à savoir T, A1+Ph et Ph ont eu, en moyenne, une valeur de CUD proche de 53,8% (figure 15).

2.2.3. CUD du Phosphore

Comme pour le CUD du Ca, les résultats pour le CUD du P suivent le même ordre et les meilleurs traitements sont toujours les mêmes (T, A1+Ph et Ph). Ils ont eu une valeur moyenne de 58,9%. Pour cette mesure, il n'y a pas eu un effet significatif du traitement ($P=NS$) (figure 16).

2.3. Qualité osseuse

Les résultats des mesures de qualité osseuse sont rassemblés dans l'annexe XII. Il faut signaler que le type de collecte a affecté les résultats obtenus pour les mesures physico-chimiques réalisées sur les os. En effet, les tibias prélevés sur les animaux qui ont été soumis à la méthode de la CT ont montré un poids plus faible, ainsi que des valeurs de MM, Ca et P aussi plus faibles que ceux de la méthode du GS. Pour cette raison, il a été décidé de présenter uniquement les résultats obtenus avec cette dernière méthode de récolte de fientes.

Aucun effet significatif du traitement sur l'ensemble des mesures n'a été observé ($P=NS$).

2.3.1. Résultats physiques

Concernant les caractéristiques physiques, les animaux du régime contenant la phytase (Ph) ont présenté les tibias les plus lourds et les plus longs (+0,9% et +1,7% respectivement) par rapport aux animaux du régime témoin (T). Cependant, ce sont les animaux du régime T qui présentent les os les plus solides (force à la résistance = 253 N) (figure 17).

2.3.2. Résultats chimiques

Les tibias des animaux du traitement témoin (T) ont révélé les taux les plus élevés en MS, MM, Ca et P (36,20%, 35,5%, 13,2% et 6%) (figure 18 à 20).

Il existe une bonne corrélation entre la résistance osseuse et le teneur de MS des os (voir figure 17).

Après la réalisation de l'analyse en composante principale (ACP), on observe une corrélation positive et significative entre les données MM, Ca, P et poids de l'animal (axe 1), entre le poids du tibia, son petit diamètre, son grand diamètre et sa longueur (axe 2) et, finalement, entre sa MS et sa force maximale à la résistance (axe 3) (figure 21). L'axe 1 explique 37,3% de la variance, l'axe 2 explique 30,9% et l'axe 3 explique 13,5%. Au total, on vérifie que nos mesures expliquent 81,7% de la variabilité, avec une possibilité d'erreur de 18,3%.

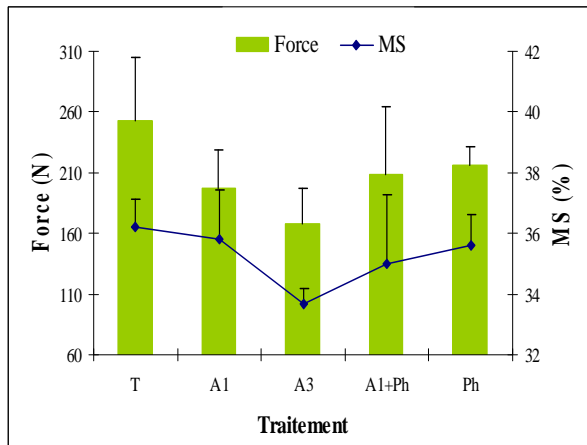


Figure 17 - Relation entre la force maximale à la résistance et la matière sèche du tibia pour le grab sampling (GS) et impact du traitement

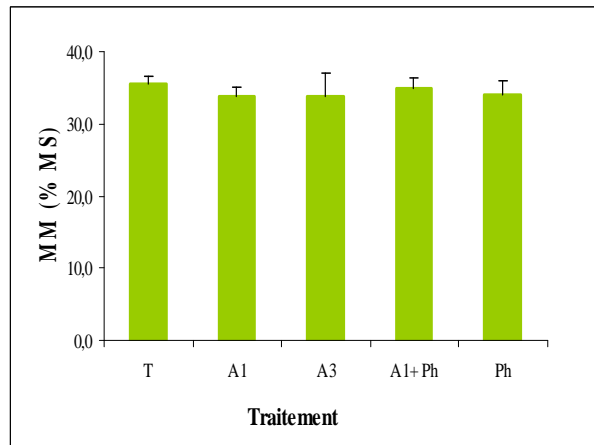


Figure 18 - Impact du traitement sur la matière minérale du tibia pour le grab sampling (GS)

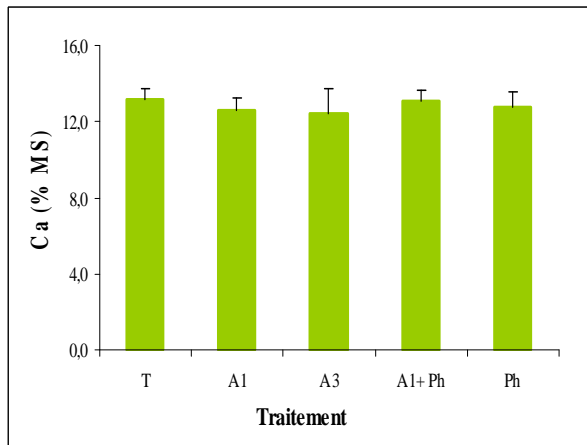


Figure 19 - Impact du traitement sur le calcium du tibia pour le grab sampling (GS)

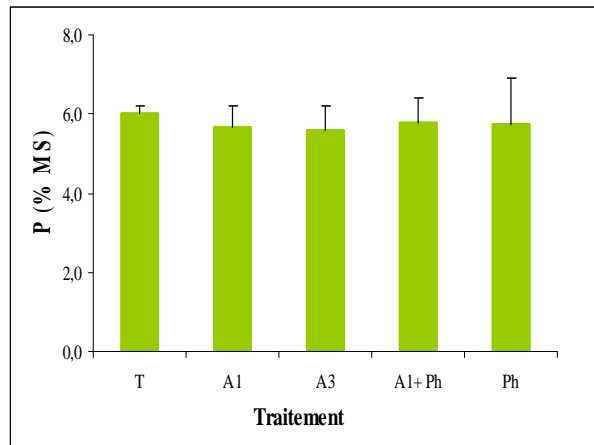


Figure 20 - Impact du traitement sur le phosphore du tibia pour le grab sampling (GS)

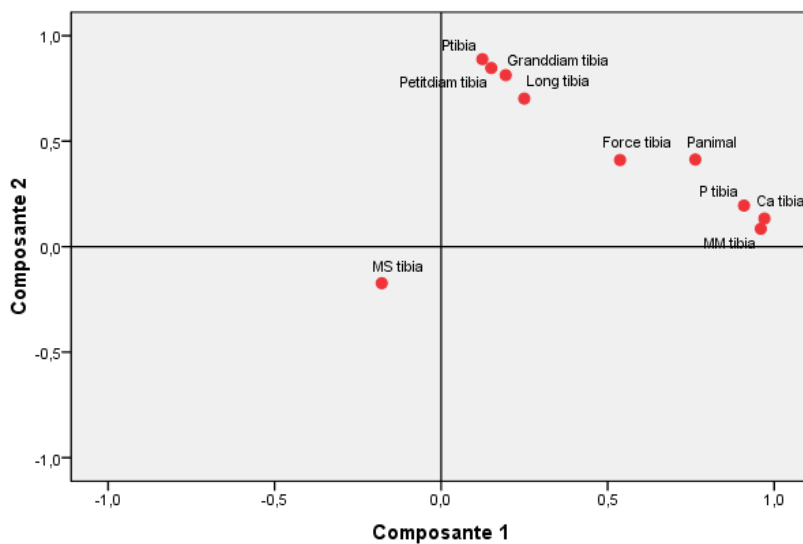


Figure 21 - Analyse en composante principale (ACP) du tibia

3. DISCUSSION GENERALE

3.1. Analyse critique des méthodes utilisées

Comme le montrent les résultats, il ressort de cette étude que la méthode de la CT a eu un impact significatif sur la CMJ et le GMQ. Ceci est dû à la mise à jeun effectuée. Cependant, les deux types de collecte ont été pris en compte pour la discussion des résultats zootechniques car les animaux n'ont été perturbés qu'une semaine sur cinq semaines d'élevage.

En outre, les résultats du GS concernant la digestibilité de la MM, du Ca et du P nous paraissent peu fiables en raison d'un problème de récupération des CIAC. De ce fait, nous avons choisi de discuter uniquement les résultats de la CT pour les mesures de digestibilité.

Pour les mesures de qualité osseuse, nous avons choisi de discuter les résultats du GS car ces animaux n'ont pas été perturbés par les mises à jeun.

❖ Avons-nous trouvé une méthodologie qui permette de discriminer des effets additifs sur la digestibilité du calcium et du phosphore ?

A la vue des résultats obtenus, deux commentaires s'imposent concernant cette méthodologie :

a) d'une part, on se pose la question du bon fonctionnement du marqueur utilisé. Comme il est décrit dans la bibliographie, le marqueur doit être totalement récupéré dans les fientes. Une fois que ce taux de récupération est total, nous pouvons affirmer que le marqueur est fiable et qu'il pourra être utilisé dans la méthode indirecte de collecte de fientes (GS). Dans la bibliographie il a été constaté que les CIAC donnent un marquage fiable et un bon compromis entre la CT et le GS pour les porcs (voir annexe VIII). L'objectif était de montrer des résultats similaires chez le poulet. Une mesure du CUD des CIAC a été réalisée à partir des résultats de la méthode de CT, sachant que celle-ci permet l'obtention de la quantité totale ingérée et excrétée du marqueur. Suite aux résultats obtenus, à savoir l'obtention d'un CUD négatif (en moyenne, -29,7%), nous pouvons proposer les explications suivantes :

- un problème lié à l'échantillonnage de l'aliment et des fientes pour l'analyse du marqueur. Nous pouvons penser que le marqueur utilisé n'a pas l'homogénéité idéale dans l'aliment et les fientes. En outre, nous pouvons nous interroger sur la représentabilité de nos échantillons d'aliment et de fientes par rapport à la quantité réelle de CIAC,
- un problème lié au rendement de la méthode d'analyse lié au procès de filtration. Pendant celui-ci il peut y avoir des pertes du marqueur dans le filtrant,
- un problème de reproductibilité de la méthode d'analyse des CIAC car des essais réalisés à C.C.P.A ont montré que l'analyse des CIAC dans deux échantillons d'un même aliment ont donné des résultats différents. Le changement d'opérateur pendant les analyses pourra être aussi à l'origine de ce problème de reproductibilité. Pour la vérification de ce problème, des analyses de reproductibilité de la méthode sont en cours au laboratoire Deltavit,
- Un problème lié à la petite taille des CIAC. En fait, les volailles trient l'aliment en choisissant les particules les plus grandes en laissant aussi dans la mangeoire les particules les plus fines.

Pour ces multiples raisons, la question d'une possible surestimation de la quantité de CIAC excrétée ou d'une sous-estimation de la quantité ingérée n'est pas encore résolue mais les analyses prévues permettront de mieux comprendre nos résultats.

Tableau 6 - Performances zootechniques d'un poulet Ross PM3 et doses recommandées de calcium et de phosphore
Adapté de : Aviagen, 2009

	Poids (g)	GMQ (g/animal/j)	IC	Ca recommandé (%)	P recommandé (%)
Poulet Ross PM3 (J35)	2166	61,8	1,575	0,8% à 1,2%	0,3% à 0,4%

Tableau 7 - Performances zootechniques moyennes des poulets de l'essai concernant notre étude (acides humiques - AH) et des essais précédentes à la station expérimentale Euronutrition

	Essai AH	Essai Euronutrition
Poids à J35	2197	2195
GMQ (g/animal/j)	61,6	62,1
IC	1,6	1,646

b) d'autre part, la validation d'une méthode de collecte fécale moins laborieuse. Cette validation implique que les résultats de digestibilité des nutriments soient similaires entre les différentes méthodes. Suite au calcul du CUD de la MM, du Ca et du P pour le GS (voir annexe XI), il a été constaté que les écarts entre ceux-ci et ceux de la CT sont très grands. Le taux de récupération des CIAC supérieur à 100% dans la méthode de CT nous semble le facteur explicatif des écarts car le calcul du CUD de la MM, du Ca et du P prend en compte la quantité de CIAC ingérée et excrétée (voir chapitre 1.5 de l'étude expérimental),

La validation d'une méthode de collecte de 12 heures (GS), au lieu d'une méthode de collecte de 3 jours (CT) pourra être mise en place une fois que ces questions seront résolues. Dans cet essai nous avons choisi un temps de collecte de 12 heures pour le GS car, il nous semble représentatif par rapport au temps du transit digestif des poulets (essais C.C.P.A. antérieurs). Cependant, ce temps de collecte est aussi un facteur à revoir car, des prélèvements sur un temps de collecte de 6 heures ont été aussi réalisés. Des analyses ultérieures permettront de valider celui-ci, afin qu'il soit le plus représentatif du transit digestif des poulets.

3.2. Analyse critique des régimes utilisés

- ❖ Les additifs testés influencent-ils les performances zootechniques, la digestibilité et la qualité osseuse ?

3.2.1. Performances zootechniques :

Les performances zootechniques obtenues sont bonnes malgré les faibles niveaux de Ca et de P fournis aux animaux (environ -37,5% et -56,7% par rapport aux recommandations du sélectionneur Aviagen, 2009). Dans cet essai, les résultats zootechniques sont similaires aux performances moyennes d'un poulet Ross PM3 à J35 (tableau 6). Les poulets ont eu des performances au niveau de leur potentiel génétique et la question d'une possible diminution du Ca et du P pour satisfaire leurs besoins, se pose. Pour une future application terrain une possible diminution de la quantité de phosphore pourra être mise en place. Cependant, les différences de conditions entre le terrain et la station expérimentale doivent être prises en compte. Une comparaison de nos résultats a pu être faite par rapport aux essais précédents réalisés à Euronutrition, sur le même dispositif (Flat-Deck) (tableau 7). Les performances dans cet essai sont très proches des résultats moyens.

Par rapport à Philipps *et al* (2009b), un IC identique pour le traitement témoin (T) durant la période 2 (J11-J20) a été trouvé. Ces auteurs ont aussi montré que la phytase augmente le GMQ et améliore l'IC des animaux nourris au dessous de leurs besoins en P. Nous pouvions ainsi espérer mesurer des écarts significatifs sur les performances des poulets de notre essai, au moins pour le traitement avec la phytase. Cependant, Akyurek *et al* (2005) n'ont pas trouvé un effet significatif de la phytase sur les performances des animaux nourris sous le seuil de ses besoins en P de J0 à J21, ce qui est cohérent avec nos résultats. Une différence entre les phytases utilisées pourra être à l'origine de ces résultats.

Même si les résultats ne sont pas significatifs, on observe en général, que les traitements A1 et A1+Ph ont eu les meilleurs résultats. Les écarts obtenus, transposés dans un élevage industriel permettraient d'améliorer la quantité de viande produite et réduire les coûts alimentaires. Concernant la valeur du poids final de nos animaux à J35 pour le traitement A1+Ph par rapport à Ph, un écart d'environ 67g par animal est noté. Ce qui, pour un élevage de 20000 animaux, permet d'obtenir plus de 1340kg de viande supplémentaire. L'A3, par contre, n'a pas amélioré les performances par rapport à Ph (voir figure 12 et 13). Ceci démontre l'importance de la quantité d'additif fournie.

Tableau 8 - Composition du maïs et du tourteau de soja : activité phytasique, phosphore total, phosphore phytique et phosphore disponible
 Adapté de : INRA-AFZ, 2004, cité par Narcy *et al*, 2009a ; Sauvart *et al*, 2002

	Maïs	Tourteau de soja
Activité phytasique (UI/kg)	20	20
P total (g/kg)	2,6	6,2
P phytique/P total (%)	75	60
P disponible (%)	24	22

L'amélioration des performances zootechniques par adition d'AH également décrite dans la bibliographie (HuminTech, 2009b), pourrait s'expliquer par l'augmentation de la digestibilité de nutriments. Une stabilisation de la flore intestinale, une régulation du pH intestinal ou un renforcement du potentiel immunitaire (Joone *et al*, 2003, cité par Eren *et al*, 2008) pourrait aussi être à l'origine de ces améliorations.

L'absence d'effet significatif des AH sur la mortalité totale et sur le poids des animaux en fin de période 2 (J11-J20) est en accord avec Kocabagli *et al* (2002) (voir tableau 2). Par contre, ces résultats contredisent les travaux d'Islam (2005) et Stepchenko *et al* (1991). Ceux-ci ont vu que l'addition d'AH diminue la mortalité par rapport au témoin. Le premier auteur a aussi observé une diminution significative du poids des animaux à J14 et J35 pour de concentrations d'AH ayant de 2,4 à 4,8 kg par tonne d'aliment. De même, l'absence d'un effet significatif du traitement sur l'IC n'est pas non plus cohérente avec les travaux de Kocabagli *et al* (2002) et Bailey *et al* (2006). Les premiers ont trouvé une amélioration significative de l'IC global, par contre les derniers ont trouvé une dégradation de celui-ci. Le fait d'avoir eu une utilisation de différents produits à différentes doses dans la bibliographie est aussi important car la vraie composition de ceux-ci n'est pas connue. De ce fait, les comparaisons avec le produit testé dans cette étude restent délicates.

3.2.1. Digestibilité :

Le régime expérimental de base (sans phytase végétale), avec faibles niveaux en Ca et P devrait permettre d'apprécier les effets des additifs (tableau 8). En fait, l'apport de quantités de P et de Ca en deçà des besoins des poulets doit permettre l'obtention d'un minimum de pertes endogènes et l'optimisation de l'absorption.

Les résultats montrent que les traitements ont significativement influencé les CUD de la MM et du Ca. Nous observons une augmentation du CUD de la MM avec notre additif et la phytase par rapport au témoin. Comme constaté dans la bibliographie, les AH peuvent se lier aux minéraux en formant des complexes et en facilitant son absorption (HuminTech, 2009a). La phytase peut aussi, par l'hydrolyse des complexes de phytate, améliorer la digestibilité des minéraux qui se trouvent dans ces complexes (Simons *et al*, 1990, cité par Underwood *et al*, 1999b). Cependant, pour le CUD du Ca, les traitements A1 et A3 n'ont pas réussi à l'améliorer. Les AH ont eu un effet inverse à celui attendu. Du à cela, l'hypothèse d'une liaison entre les AH et le Ca ne se vérifie pas. Ces liaisons pourraient permettre de diminuer la quantité de Ca disponible pour la formation de complexes de phytate insolubles et non accessibles aux phytases. En conséquence, une amélioration des CUD du Ca et du P était attendue. Ceci nous permet de supposer un effet positif de l'additif sur la digestibilité d'autres minéraux présents dans l'aliment des poulets comme par exemple le sodium ou le potassium (Eren *et al*, 2000, cité par Eren *et al*, 2008).

A noter pour les CUD du Ca et du P, les résultats semblables de T, A1+Ph et Ph ne sont pas cohérents avec ceux de la bibliographie. Un effet positif de la phytase sur la digestibilité du Ca et du P par rapport à T était attendu mais n'a pas été constaté. Il a été observé que les animaux du traitement T ont eu une digestibilité du Ca et du P similaire à celle de la phytase. Ceci nous permet de poser la question sur l'effet de notre phytase ou même l'absence de celle-ci. Des problèmes associés à la fabrication de l'aliment pourraient être à l'origine de ces résultats. La réponse à cette question est importante car elle nous permettrait de mieux comprendre l'effet des AH sur ces mesures. Ayant pris le parti d'analyser uniquement les résultats obtenus suite à la CT, nous avons réduit fortement notre effectif. En conséquence, la variabilité des animaux a eu un impact plus fort dans nos mesures (16 animaux par traitement).

3.2.2. Qualité osseuse :

La force maximale à la rupture est la mesure qui caractérise la résistance osseuse (Philipps *et al*, 2009a). Les résultats obtenus pour cette mesure avec le traitement témoin diffèrent de ceux trouvés par Philipps *et al* (2009b). En effet, ils ont obtenu une force maximale à la rupture très nettement inférieure pour le témoin. Ceci pourra être dû d'une part au type de collecte réalisée (CT) par cet auteur et à un possible effet négatif de la mise à jeun sur le degré de minéralisation osseuse, celle qui influence la résistance osseuse (Reichmann et Connor, 1977, cité par Onyango *et al*, 2003). D'autre part, cette différence peut s'expliquer par l'analyse sur un effectif faible dans notre étude et une variabilité individuelle conséquente. Toutefois, en regardant les figures 18 à 21, les animaux des traitements qui ont eu une force maximale à la rupture supérieure (T, A1+Ph et Ph) sont aussi ceux qui ont plus de MM, Ca et P dans les os.

Par ailleurs, l'absence éventuelle ou l'inefficacité de la phytase peut expliquer l'absence de différences significatives entre T et Ph. Cette hypothèse est en cours d'analyse au laboratoire Deltavit.

Le Ca et le P sont les minéraux les plus importants quantitativement dans l'os (Reichmann et Connor, 1977, Ali, 1992, Watkins, 1992, Rath *et al*, 1999, cités par Onyango *et al*, 2003 ; Underwood et Suttle, 1999a). Ils représentent environ 70% de celui-ci (Kälebo et Strid, 1988, Field, 1999, cités par Almeida Paz, 2006). Cependant, dans notre essai, nous ne trouvons que 54% de Ca et de P dans la MM des tibias (voir annexe XII). Le taux de MM des tibias des poulets du traitement T a été aussi plus faible par rapport à l'essai de Philipps *et al* (2009b) (35,50% vs 42,9%). Ces mêmes auteurs ont observé que l'addition de phytase permet d'augmenter la MM des tibias ce que nous n'avons observé dans notre essai. Une explication de ces résultats peut être due à la mesure de la MM du tibia calculée par rapport à sa MS, contrairement à la procédure choisie par Philipps *et al* (2009b) qui est peu détaillée. Les résultats d'Akyurek *et al* (2005), eux, sont en accord avec les nôtres. Ils n'ont pas observé d'effet significatif de la phytase sur le taux de MM, Ca et P du tibia, ni sur sa MS.

Concernant l'effet des AH et, contrairement à ce qui a été décrit par Eren *et al* (2000, cité par Eren *et al*, 2008), le taux de MM dans le tibia n'a pas été amélioré. La question du faible effectif pourrait être à nouveau l'origine de l'absence d'un effet significatif entre nos traitements.

4. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La recherche d'une méthodologie précise permettant de mesurer les effets d'additifs sur la digestibilité minérale était le point de départ de cette étude.

La collecte fécale indirecte (grab sampling) utilisant comme marqueur le dosage des CIAC, présente de nombreux avantages : simplicité de mise en place, innocuité pour l'homme, les animaux et l'environnement et est validée chez d'autres espèces animales d'où son intérêt.

Les résultats de cette étude soulignent également la nécessité d'améliorer cette méthode pour son usage en routine en production avicole.

En effet, plusieurs questions restent en suspens :

- a) Méthode d'échantillonnage des aliments et des fientes pour garantir une bonne reproductibilité des résultats,
- b) Taux de récupération du marqueur,
- c) Homogénéité de ce dernier dans l'aliment pour garantir une consommation à 100% par les animaux,

Un autre point reste à éclaircir : la réponse à la phytase est différente de celle attendue.

Pour satisfaire aux interrogations exposées ci-dessus et avant de lancer de nouveaux essais animaux, des séries d'analyse sont actuellement en cours au laboratoire Deltavit sur les échantillons prélevés dans notre essai. Ainsi, au niveau de l'aliment, de nouvelles prises d'essai ont été effectuées pour évaluer le taux de récupération du marqueur.

Concernant la phytase, nous nous interrogeons : La phytase a-t-elle été bien incorporée ? Des mesures analytiques sont en cours pour y répondre.

Une fois ces hypothèses validées, de nouveaux essais-animaux pourront être programmés à la station expérimentale avec un effectif plus important d'animaux pour apprécier significativement la fiabilité de notre méthode. Puis des essais terrain pourront être proposés.

Concernant les acides humiques, notre étude a permis de montrer que l'apport d'un kg d'AH par tonne d'aliment améliore les performances zootechniques globales des animaux offrant ainsi un avantage économique pour la production de poulet de chair. Cet impact s'améliore sensiblement ou tout au moins se maintient en présence de phytase.

De plus, l'apport en acide humique (AH) a contribué à l'amélioration de la digestibilité fécale des matières minérales des aliments. Notons que notre régime témoin avait exceptionnellement atteint les niveaux de performances référencés pour cette souche par le sélectionneur alors qu'ils recevaient des aliments sub-carencés en Ca et P.

Concernant les os, bien que le nombre d'effectifs analysé soit faible, les mesures opérées ont montré l'existence d'une forte corrélation entre les paramètres physiques et chimiques et également entre la résistance à la rupture et le taux de MS des os, laissant présager qu'un régime avec de l'acide humique à 1kg/T pourrait jouer favorablement sur la minéralisation osseuse. Cependant pour statuer significativement sur cet effet bénéfique au niveau osseux, de nouveaux essais seront à réaliser sur un échantillon plus important. En effet, un effectif plus grand permettra de limiter la variabilité individuelle qui a, dans notre cas, certainement influencé les résultats obtenus et masqué des effets attendus.

Pour terminer, les résultats obtenus avec 3kg d'acide humique par tonne d'aliment s'avèrent moins efficaces que ceux observés avec 1kg/T. Ce constat ouvre des pistes intéressantes quant aux doses maximales à fixer pour ce nouvel ingrédient.

Cet essai contribue à remettre en question les normes nutritionnelles minérales pratiquées en production avicoles. Les animaux de ce test, (génétique contemporaine) ont eu la capacité de répondre de façon surprenante à la notion de sub-carence minérale (cas du témoin).

La régulation du métabolisme minéral est complexe et ouvre un champ d'expérimentations. Les réponses apportées seront d'autant plus pertinentes qu'elles participeront au développement durable de notre planète.



**Références
bibliographiques**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

~A~

- Adeola O. et Sands J.S. (2004). Growth performance, bone mineralization, and nutrient retention responses of chicks to dietary crude protein and non-phytate phosphorus concentrations. *International Journal of Poultry Science*, 3(9), pp.563-569.
- Akyurek H., Senkoylu N. et Ozduven M.L. (2005). Effect of microbial phytase on growth performance and nutrients digestibility in broilers. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(1), pp.22-26.
- American Society of Limnology and Oceanography (1999). Microwave digestion method for phosphorus determination of fish tissue. *Limnology and Oceanography*, 44(3), pp. 708-709.
- Amezcuca C.M., Parsons C.M. et Noll S.L. (2004). Content and relative bioavailability of phosphorus in distillers dried grains with solubles in chicks. *Poultry Science*, 83, pp.971-976.
- Angel, R., Tamim N.M., Applegate T.J., Dhandu A.S. et Ellestad L.E. (2002). Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *Journal of Applied Poultry Research*, 11, pp.471-480.
- Applegate T.J., Angel C.R., Classen H.L., Newkirk R.W. et Maenz D.D. (2000). Effect of dietary calcium concentration and 25-hydroxycholecalciferol on phytate hydrolysis and intestinal phytase activity in broilers. *Poultry Science*, 79(1), pp.21 (résumé).
- Applegate T.J. et Angel R. (page consultée le 10/04/2009). **Phytase: basics of enzyme function**. <http://www.ces.purdue.edu/extmedia/AS/AS-560-W.pdf>
- Auman S.K. (2003). **Increasing dietary phosphorus retention and decreasing fecal phosphate excretion in modern commercial broilers**. Doctorat en physiologie animal, Faculté de Graduation de l'Université de Caroline du Nord, Caroline du Nord, 166 p.
- Aviagen (page consultée le 01/09/2009). **Ross PM3**. <http://www.aviagen.com/output.aspx?sec=15&con=564&siteId=2>

~B~

- Bailey C.A., White K.E. et Domke S.L. (1996). Evaluation of Menefee Humate™ on the performance of broilers. *Poultry Science*, 75 (1), 84 (résumé).
- Ballam G.C., Nelson T.S. et Kirby L.K. (1985). Effect of different dietary levels of calcium and phosphorus on phytate hydrolysis by chicks. *Nutrition Reports International*, 32, pp. 909-913.
- Bao Y.M., Choct M., Iji P.A. et Bruerton K. (2009). Optimal dietary inclusion of organically complexed zinc for broiler chickens. *British poultry Science*, 50(1), pp.95-102.
- Berchielli T.T., Oliveira S.G. et Garcia A.V. (2005). Considerações sobre os principais indicadores utilizados em estudos de nutrição com ruminantes. *Arquivos de ciências veterinárias e zoologia UNIPAR*, 8(2), pp.205-211.
- Bhanja S. K., Reddy V.R., Panda A.K., Rama Rao S.V. et Sharma R.P. (2005). Effect of supplementing microbial phytase on performance of broiler breeders fed low non-phytate phosphorus diet. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 18, pp.1299-1304.
- Biehl R.R., Baker D.H. et De Luca H.F. (1995). 1 alphahydroxylated cholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc, and

- manganese utilization in chicks fed soy-based diets. *Journal of Nutrition*, 125, pp.2407-2416.
- Bitar K. et Reinhold J.G. (1972). Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosae of rat, chicken, calf, and man. *Biochimica et Biophysica. Acta*, 268, pp.442-452.
- Bruno L.D.G. (2002). **Desenvolvimento ósseo em frangos de corte: Influência da restrição alimentar e da temperatura ambiente**. Doctorat en sciences animales, UNESP, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 72 p.
- Busnot A., Busnot F., Le Querler J.F. et Yazbeck J. (1994). Caractérisation de matériel humique, d'origine terrestre de la région Bas-Normande. *Thermochimica Acta*, 254, pp.319-330.

~C~

- Ceylan N., Ciftçi I., Kahraman Z. et Mizrac C. (2003). **Yumurta tavugu yemlerinde humat bilesikler (farmagülatör dry plus) kullam performans, yumurta kalitesi ve bogsak mikroflorasi üzerine etkileri II**. In: Ulusal Hayvan Besleme Kongresi, Konya, 18-20 septembre.
- Cheryan M. (1980). Phytic acid interactions in food systems. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13, pp.297-335.
- Choppin G.R. et Labonne W.N. (1997). Comparison of two models for metal-humic interactions. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 221, pp.67-71.
- CVMP**. Humic acid and their sodium salts. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, 1999. 2 p. Rapport d'études n° EMEA/MRL/554/99-FINAL

~D~

- Davies M.I. et Motzok I. (1972). Properties of chick intestinal phytase. *Poultry Science*, 51, pp.494-501.
- De Kreij C. (1995). Effect of humic substances in nutrient film technique on nutrient uptake. *Journal of Plant Nutrition*, 18(4), pp.793-802.
- De Rham O. et Jost T. (1979). Phytate-protein interactions in soybean extracts and low-phytate soy protein products. *Journal of Food Science*, 44, pp.596-600.
- Dilger R.N. et Adeola O. (2006). Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing chicks fed conventional and low-phytate soybean meals. *Poultry Science*, 85, pp.661-668.

~E~

- Edwards H.M. et Veltmann J.R. (1983). The role of calcium and phosphorus in the etiology of tibial dyschondroplasia in young chicks. *Journal of Nutrition*, 113, pp.1568-1575.
- Ekelund A. (2003). **Phosphorus and the dairy cow - influence of intake level, source and stage of lactation on apparent digestibility and bone turnover**. Doctorat Recherche et Développement en Nutrition Animale, Université Suède de Sciences Agricoles, Uppsala, 44 p.
- Elfarissi F. et Pefferkorn E. (2000). Kaolinite/humic acid interaction in the presence of aluminium ion. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 168(1), pp.1-12.
- Eren M., Deniz G., Gezen S.S. et Türkmen I.I. (2000). Broyler yemlerine katilan humatların besi performansi, serum mineral konsantrasyon ve kemik külü üzerine etkileri. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 47, p.255-263.

- Eren M., Gezen S.S., Deniz G. et Orhan F. (2008). Effects of liquid humate supplemented to drinking water on the performance and eggshell quality of hens in different laying periods. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 160(2), pp.91-95.
- Eyheraguibel B. (2004). **Caractérisation des substances humiques biomimétiques – effets sur les végétaux**. Doctorat en Sciences des Agroressources, Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, 229 p.

~F~

- Faust R.H. (page consultée le 05/05/2009). Humic acids-Humates. <http://www.lassickennels.com/Agrihelp/humates.htm>
- Fein J.B., Boily J., Guçlu K. et Kaulbach E. (1999) Experimental study of humic acid adsorption onto bacteria and Al-oxide mineral surfaces. *Chemical Geology*, 162, pp.33-45.
- Field R.A. (1999). Ash and calcium as measures of bone in meat and bone mixtures. *Meat Science*, 55, pp.255-264.
- Frapin D. (1996). **Valorisation du phosphore phytique végétal chez l'oiseau: intérêt et mode d'action des phytases végétales et microbiennes**. Doctorat en Sciences animales, ENSAR, Rennes, 134 p.
- Friedrich R., François G. et Yves N. (1999). Actualisation de la composition corporelle en azote et phosphores des principales volailles de chair françaises. Conséquences sur les rejets des élevages. *Sciences et Techniques Avicoles*, 27, pp.35-40.
- Furuichi Y. et Takahashi T. (1981). Evaluation of acid insoluble ash as a marker in digestion studies. *Agricultural and Biological Chemistry*, 45(10), pp.2219-2224.

~G~

- Gao J., Zhang H.J., Yu S.H., Wu S.G., Yoon I., Quigley J., Gao Y.P. et Qi G.H. (2008). Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. *Poultry Science*, 87, pp.1377-1384.
- Georgievskii V.I., Annenkov B.N. et Samokhin V.I. (1982). **The physiological role of macroelements**. In: Mineral nutrition of animals. Butterworths, pp.171-215.
- Guggenbuhl P., Quintana A.P. et Nunes C.S. (2009). Effects of doses croissantes d'une phytase expérimentale d'origine bactérienne sur la digestibilité du phosphore, du calcium et du zinc chez le porc en croissance. *Journées Recherche Porcine*, 41, pp.137-138.

~H~

- Hammock D., Huang C.C., Mort G. et Swinehart J.H. (2003). The effect of humic acid on the uptake of mercury(II), cadmium(II), and zinc(II) by Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) eggs. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 44, pp.83-88.
- Harland F. B. et Morris E.R. (1995). Phytin: A good or a bad food component. *Nutrition Research*, 15, pp.733-754.
- Herzig I., Navratilova M., Suchy P., Vecerek V. et Totusek J. (2007). Model trial investigating retention in selected tissues using broiler chicken fed cadmium and humic acid. *Veterinarni Medicina*, 52, pp.162-168.
- Huber K., Hempel R. et Rodehutschord M. (2006). Adaptation of epithelial sodium-dependent phosphate transport in jejunum and kidney of hens to variations in dietary phosphorus intake. *Poultry Science*, 85, pp.1980-1986.

- Humintech (page consultée le 15/04/2009a). **What are Humic Acids and their sources?**
<http://www.humintech.com/001/agriculture/information/general.html>
- Humintech (page consultée le 15/04/2009b). **Veterinary medicine.**
http://www.humintech.com/001/animalfeeds/applications/veterinary_medicine.html
- Hurwitz S. (1996). Homeostatic control of plasma calcium concentration. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 31, pp.41-100.
- Hurwitz S. et Bar A. (1965). Absorption of calcium and phosphorus along the gastrointestinal tract of the laying fowl as influenced by dietary calcium and egg Shell formation. *Journal of Nutrition*, 86, pp.433-438.
- Hurwitz S. et Bar A. (1968). Activity, concentration, and lumen-blood electrochemical potential difference of calcium in the intestine of the laying hen. *Journal of Nutrition*, 95, pp.647-654.
- Hurwitz S., Bar Z. et Cohen I. (1973). Regulation of calcium absorption by fowl intestine. *American Journal of Physiology*, 225, 150-154.

~I~

- Iragavarapu R. et Doerge T. (1999). Manure phosphorus – problems, regulations and crop genetics solutions. *Pioneer Hi-Bred International Incorporation*, pp. 1-3.
- Islam K.M.S. (2005). Dose titration, tolerance and compatibility of some feed additives in broiler. Doctorat R&D Sciences agronomiques, Faculté de Sciences Agricoles, Hohenheim, 122 p.
- Islam K.M.S., Schuhmacher A. et Gropp J.M. (2005). Humic acid substances in animal agriculture. *Pakistan Journal of Nutrition*, 4(3), pp.126-134.

~J~

- Jamroz D., Wertelecki T. et Zylka R. (2007). The retention of mineral substances, quality and chemical composition of bones of chickens fed diets containing different calcium and phosphorus levels. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities*, 10(3), #4.
- Jarrige R. et Ruckebusch Y., Demarquilly C., Farce, M.H. et Journet M. (1997). **Transit des digesta dans le tube digestif des ruminants.** In: Nutrition des ruminants domestiques: Ingestion et digestion. Quae ed., pp.431-464.
- Jondreville C. et Dourmad J. (2005). Le phosphore dans la nutrition des porcs. *INRA productions animales*, 18(3), pp.183-192.
- Jondreville C., Lescoat P., Magnin M., Feuerstein D., Gruenberg B. et Nys Y. (2007). Spring effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soya-bean meal diets for chickens. *Animal*, 1(6), pp.804-811.
- Jongbloed A.W. (1987). **Phosphorus in the feeding of pigs - effect of diet on absorption and retention of phosphorus by growing pigs.** Doctorat en recherche et développement, Wageningen, 343 p.
- Jongbloed A.W., Kemme P.A., De Groot G., Lippens M. et Meschy F. (2002a). **Terms and methods to assess and evaluate the bioavailability of minerals for livestock: a general introduction.** In: Bioavailability of major and trace minerals. International Association of the European (EU) Manufacturers of Major ed., pp.5-14.
- Jongbloed A.W., Kemme P.A., De Groot G., Lippens M. et Meschy F. (2002b). **Calcium bioavailability.** In: Bioavailability of major and trace minerals. International Association of the European (EU) Manufacturers of Major ed., pp.18-23.
- Jongbloed A.W., Kemme P.A., De Groot G., Lippens M. et Meschy F. (2002c). **Phosphorus bioavailability.** In: Bioavailability of major and trace minerals. International Association of the European (EU) Manufacturers of Major ed., pp.37-48.

- Joone G.K., Dekker J. et Van Rensburg C.E. (2003). Investigation of the immunostimulatory properties of oxihumate. *Zeitschrift für Naturforschung. Journal of Biosciences*, 58, pp.571-580.
- Juanpere J., Pérez-Vendrell A.M., Angulo E. et Brufau J. (2005). Assessment of potential interactions between phytase and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers. *Poultry Science*, 84, pp.571-580.

~K~

- Kälebo P., et Strid K.G. (1988). Bone mass determination from microradiographs by computerassisted videodensitometry. *Acta Radiologica*, 29(4), pp.465-472.
- Katai K., Miyamoto K., Kishida S., Segawa H., Nii T., Tanaka H., Tani Y., Arai H., Tatsumi S., Morita K., Taketani Y. et Takeda E. (1999). Regulation of intestinal Na⁺-dependent phosphate co-transporters by a low-phosphate diet and 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Biochemical Society*, 343, pp.705-712.
- Kaufman H.W. et Kleinberg I. (1971). Effect of pH on calcium binding by phytic acid and its inositol phosphoric acid derivatives and on the solubility of their calcium salts. *Archives of Oral Biology*, 16, pp.445-460.
- Klocking R. (1994). **Humic substances as potential therapeutic**. In: Humic substances in the global environment and implication for human health. Senesi Ni et Miano T.M. ed., Elsevier Science, Amsterdam, pp.1245-1257.
- Kocabagli N., Alp M., Acar N. et Kahraman R. (2002). The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poultry Science*, 81, pp.227-230.
- Kovanagh S., Lynch P.B., O'Mara F. et Caffrey P.J. (2001). A comparison of total collection and marker technique for the measurement of apparent digestibility of diets for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 89, pp.49-58.
- Kovar J.L. (2003). **Methods of determination of P, K, Ca, Mg and trace elements**. In: Recommended methods of manure analysis. Peters J. ed., Wisconsin, pp.39-47.
- Kreutz et Schlikekewey W. (1992). Effects of Implanted bovine calcium hydroxyapatite with humate. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 111, pp.259-264.
- Kucukersan S., Kucukersan K., Goncuoglu E. et Sahin T. (2004). The effects of dietary humate supplementation on laying hen egg production and egg quality. *Indian Veterinary Journal*, 81, pp.674-678.
- Kuhnert V.M., Bartels K.P., Knoll S. et Lange N. (1991). Huminsäurehaltige tierarzneimittel in therapie und prophylaxe bei gastrointestinalen erkrankungen von hund katze. *Monatsh Veterinarmed*, 46, pp.4-8.
- Kuhnert M., Fuchs V. et Golbs S. (1989). Farmakologisch-toxikologische eigenschaften von huminsäuren und ihre wirkungsprofile für eine veterinermedizinische therapie. *Deutsch Tierärztliche Wochenschrift*, 96, pp.3-10.

~L~

- Larbier M. et Leclercq B. (1992). **Métabolisme de l'eau et des minéraux**. In : Nutrition et alimentation des volailles. INRA ed., Paris, pp.119-137.
- Lasztity, R. et Lasztity L. (1990). **Phytic acid in cereal technology**. In: Advances in Cereal Science and Technology vol. 10. Pomeranz Y. ed., American Association of Cereal Chemistry Inc., St. Paul, pp.309-371
- Lenk T. et Benda A. (1989). Peat paste - humic acid containing animal health agent for prophylaxis and treatment of calves for diarrhea. *Monatsh Veterinarmed*, 44, p.563-565.

- Letourneau-Montminy M.P., Lescoat P., Narcy A., Sauvant D., Bernier J.F., Magnin M., Pomar C., Nys Y. et Jondreville C. (2008). Effects of reduced dietary calcium and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilisation in broilers with modified mineral status. *British Poultry Science*, 49(6), pp.705-715.
- Leytem A.B., Thacker P.A. et Turner B.L. (2007). Phosphorus characterization in feces from broiler chicks fed low-phytate barley diets. *Journal of the science of food and agriculture*, 87, pp.1495-1501.
- Leytem A.B., Plumstead P.W., Maguire R.O., Kwanyuen P., Burton J.W. et Brake J. (2008a). Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 2. Effects on total and soluble phosphorus excretion. *Poultry Science*, 87, pp.459-467.
- Leytem A.B., Willing B.P. et Thacker P.A. (2008b). Phytate utilization and phosphorus excretion by broiler chickens fed diets containing cereal grains varying in phytate and phytase content. *Journal of Animal Feed Science and Technology*, 146, pp.160-168.
- Li Y.C., Ledoux D.R., Veum T.L., Raboy V. et Zyla K. (2001). Low phytic acid barley improves performance, bone mineralization, and phosphorus retention in turkey poults. *Journal of Applied Poultry Science*, 10, pp.178-185.
- Liu N., Liu G.H., Li F.D., Sands J.S., Zhang S., Zheng A.J. et Ru Y.J. (2007). Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets. *Poultry Science*, 86, pp.2337-2342.
- Livens F.R. (1991). Chemical-reactions of metals with humic material. *Environmental Pollution*, 70, pp.183-208.

~M~

- Maddaiah V.T., Kurnick A.A. et Reid B.L. (1964). Phytic acid studies. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 115, pp.391-393.
- Madronová L., Kozler J., Ceziková J., Novák J. et János P. (2001). Humic acids from coal of the North-Bohemia coal field. III. Metal-binding properties of humic acids - measurements in a column arrangement. *Reactive and Functional Polymers*, 47, pp.119-123.
- Maenz D.D. et Classen H.L. (1998). Phytase activity in the small intestinal brush border membrane of the chicken. *Poultry Science*, 77, pp.557-563.
- Maenz D.D., Engele-Schan C.M., Newkirk R.W. et Classen H.L. (1999). The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution of canola meal. *Animal Feed Science Technology*, 81, pp.177-192.
- Magnin M., Pascal J. et Anne P.M. (2009). **Interactions entre les apports relatifs de calcium et de phosphore et la croissance du poulet de chair.** In: Huitièmes Journées de la Recherche Avicole, St. Malo, 25-26 mars 2009, pp.123-127.
- Maysa, M.H. et El-Sheikh A.M.H. (2008). The effect of dietary humic acid supplementation on some productive and physiological traits of laying hens. *Egyptian Poultry Science*, 28, pp.1043-1058.
- McCarthy P. (2001). The principles of humic substances. *Soil Science*, 166, p.738-751.
- McDowell L.R. (1992). Minerals in Animal and Human Nutrition. Academic Press, San Diego, 524 p.
- Mendes A.A., Almeida Paz I.C.L., Vulcano L.C., Takahashi S.E., Garcia R.G., Komiyama C.M. et Balog A. (2006). **Bone mineral density and bone quality characteristics of broiler breeders.** In: XII European Poultry Conference, Verona, Italie, 10-14 septembre 2006, pp. 1-6.

- Monforte-Braga G., Sarmiento-Franco L., Capetillo-Leal C., Santos-Ricalde R. et Segura-Correa J. (2006). Comparison of two dietary markers in the determination of amino acid digestibility in some foodstuffs for growing broiler chickens. *INCI*, 31 (12), pp.876-880.
- Musapuor A., Afsharmanesh M. et Shahrababak H.M. (2006). Use of microbial phytase for decrease of pollutant due to environmental poultry excreta phosphorus. *International Journal of agriculture and biology*, 8(1), pp.35-37.
- Myers W.D., Ludden P.A., Nayigihugu V. et Hess B.W. (2004). Technical Note: A procedure for the preparation and quantitative analysis of samples for titanium dioxide. *Journal of Animal Science*, 82, pp.179-183.

~N~

- Narcy A., Létourneau-Montminy M.P., Magnin M., Nys Y. et Jondreville C. (2009a). **Voies nutritionnelles d'économie de phosphore chez le poulet**. In: Huitièmes Journées de la Recherche Avicole, St. Malo, 25-26 mars 2009, pp.39-46.
- Narcy A., Magnin M. et Létourneau-Montminy M.P. (2009b). L'utilisation du phosphore dépend du statut minéral. *Filières avicoles*, 718, pp.48-49.
- National Research Council (1980). **Phosphorus**. In: Mineral tolerance of domestic animals. National Academy of Sciences, Washington D.C., pp.364-377.
- Nayini N. R. et Markakis P. (1986). **Phytases**. In: Phytic Acid: Chemistry and Applications. E. Graf, Pilatus Press ed., Minneapolis, pp.101-118.
- Ndira V. (2006). **Substances humiques du sol et du compost: Analyse élémentaire et groupements atomiques fictifs, vers une approche thermodynamique**. Doctorat en Sciences des Agroressources, Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse, 268 p.
- Nelson T.S. (1976). The hydrolysis of phytin phosphorus by chicks and laying hens. *Poultry Science*, 55, pp.2262-2264.
- Nelson T.S. (1980). **Phosphorus availability in plant origin feed-stuffs for poultry and swine**. In: 3th Annual International Minerals Conference, Orlando, pp.59-84.
- Nelson T.J., McGillivray J.J., Shieh T.R., Wodzinski R.J. et Ware J.H. (1968). Effect of phytate on the calcium requirement of chicks. *Poultry Science*, 47, pp.1985-1989.
- Niemeyer J., Chen Y. et Bollag J.M. (1992). Characterization of humic acids, composts, and peat by diffuse reflectance Fourier-transform infrared spectroscopy. *Soil Science Society of American Journal*, 56(1), pp.135-140.
- Nys Y. (1990). **Régulation endocrinienne du métabolisme calcique chez la poule et calcification de la coquille**. Doctorat en physiologie animale, Université Paris 6, Paris, 109 p.

~O~

- Oberleas D. (1973). **Phytates**. In: Toxicants Occurring Naturally in Foods, Committee on Food Protection, Food and Nutrition Board et National Research Council ed., National Academy of Sciences, Washington DC, pp.363-371.
- Onyango E.M., Hester P.Y., Stroshine R. et Adeola O. (2003). Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*, 82, pp.1787-1791.

~P~

- Pallauf J. et Rimbach G. (1997). Nutritional significance of phytic acid and phytase. *Archives of Animal Nutrition*, 50(4), pp.301-319.
- Parks C.W. (1998). **The use of Menefee Humate™ in typical and low-crude protein diets for turkey toms and in the bioremediation of petroleum-contaminated soil amended with poultry litter as a co-substrate and nutrient source.** Doctorat en Nutrition Animale et Sciences des Volailles, North Carolina State University, Raleigh.
- Parks C.P., Ferket R., Thomas L.N. et Grime J.L. (1996). Growth performance and immunity of turkeys fed high and low crude protein diets supplemented with menefee humate. *Poultry Science*, 75, pp.138-143.
- Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009b). **Efficacité d'une phytase sur la digestibilité iléale apparente du phosphore chez la poule pondeuse.** In: Huitièmes Journées de la recherche avicole, St. Malo, 25-26 mars 2009, pp.226-229.
- Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009b). **Etude comparative de plusieurs phytases sur la digestibilité des minéraux chez le poulet de chair.** In: Huitièmes Journées de la recherche avicole, St. Malo, 25-26 mars 2009, pp.230-234.
- Phillippy B.Q. (1999). Susceptibility of wheat and *Aspergillus niger* phytases to inactivation by gastrointestinal enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, p.1385-1388.
- Pintar J., Homen B., Gazic K., Janjecic Z., Sikiric M. et Cerny T; (2005). Effects of supplemental phytase on nutrient excretion and retention in broilers fed different cereal based diets. *Czech Journal of Animal Science*, 50, pp.40-46.
- Plumstead P.W., Leytem A.B., Maguire R.O., Spears J.W., Kwanyuen P. et Brake J. (2008). Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1. Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus. *Poultry Science*, 87, pp.449-458.
- Powell S., Johnston S., Gaston L. et Southern L.L. (2008). The effect of dietary phosphorus level and phytase supplementation on growth performance, bone-breaking strength, and litter phosphorus concentration in broilers. *Poultry Science*, 87, pp.949-957.

~Q~

- Qian H., Kornegay E.T. et Veit H.P. (1996). Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological, mechanical and chemical traits of tibia and performance of turkeys fed soyaben-meal-based semi-purified diets high in phytate phosphorus. *British Journal of Nutrition*, 76, pp.263-272.
- Quamme G.A. (1985). Phosphate transport in intestinal brushborder membrane vesicles: Effect of pH and dietary phosphate. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 249, pp.168-176.

~R~

- Rama Rao S.V., Raju M.V.L.N., Panda A.K., Saharai P.N., Reddy M.R., Sunder G.S. et Sharma R.P. (2008). Effect of surfeit concentrations of vitamin D₃ on performance, bone mineralization and mineral retention in commercial broiler chicks. *The Journal of Poultry Science*, 45, pp.25-30.
- Ramirez-Perez A.H. (2007). **Effet de la solubilité de la source du phosphore alimentaire sur l'activité fermentaire dans le rumen et sur son utilisation digestive et métabolique chez la chèvre laitière.** Doctorat en nutrition animale, Agro Paris

- Tech, l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement, Paris, 125p.
- Rath N.C., Huff G.R., Huff W.E. et Balog J.M. (2000). Factors regulating bone maturity and strength in poultry. *Poultry Science*, 79, pp.1024-1032.
- Rath N.C., Huff W.E. et Huff G.R. (2006). Effects of humic acid on broiler chickens. *Poultry Science*, 85, pp.410-414.
- Ravindran V., Bryden W.L. et Kornegay E.T. (1995). Phytates: Occurrence, bioavailability and implications in poultry nutrition. *Poultry Avian Biology*, 6, pp.125-143.
- Ravindran V., Cabahug S., Ravindran G. et Bryden W.L. (1999). Effects of phytase supplementation, individually and in combination with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. *Poultry Science*, 78, pp.1588-1595.
- Reddy N.R., Sathé S.K. et Salunkhe D.K. (1982). Phytates in legumes and cereals. *Advances in Food and Nutrition Research*, 28, p.1-92.
- Renfro J. L. et N. B. Clark. (1984). Parathyroid hormone effect on chicken renal brush-border membrane phosphate transport. *American Journal Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 247, pp.302-307.
- Robillard G. (2002). **Alimentation minérale et azotée. Gestion des rejets en élevages avicoles.** Maîtrise des Sciences et Techniques en Productions Animales, Université François Rabelais, Tours, 134 p.
- Rutherford S.M., Chung T.K., Morel P.C.H. et Moughan P.J. (2004). Effect of microbial phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino-acids in a low-phosphorus diet for broilers. *Poultry Science*, 83, pp.61-68.

~S~

- Sands J.S., Ragland D., Wilcox J.R. et Adeola O. (2003). Relative bioavailability of phosphorus in low phytate soy-bean meal for broiler chicks. *Canadian Journal of Animal Science*, 83, pp.95-100.
- Santos L.M. (2008). **Níveis de calcio e fosforo disponivel para frangos de corte recebendo rações com fitase em diferentes fases de criação.** Maîtrise de nutrition en monogastriques, Université Fédérale de Lavras, Brésil, 105 p.
- Sasyte V., Raceviciute-Stupeliene A., Kapocius M., Gruzauskas R., Tevelis V. et Zebelovicus V. (2002). The influence of phytase on broiler productivity and nutrient digestibility. *Zemes Ukio Mokslai*, 2, pp.57-61.
- Sauvant D., Perez J.-M., Tran G. (2002). **Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons.** INRA ed., Paris, 301p.
- Sauveur B. (1989). Phosphore phytique et phytases dans l'alimentation des volailles. *INRA Productions Animales*, 2(5), pp.343-351.
- Scott T.A. et Boldaji F. (1997). Comparison of inert markers [Chromic oxide or insoluble ash (celiteTM)] for determining apparent metabolizable energy of wheat- or barley-based broiler diets with or without enzymes. *Poultry Science*, 76, pp.594-598.
- Schepetkin I., Khlebnikov A. et Se Kwon B. (2002). Medical drugs from humus matter: focus on mumie. *Drug Development Research*, 57, pp.140-159.
- Sebastian S., Touchburn S.P., Chavez E.R. et Lague P.C. (1996). The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. *Poultry Science*, 75, pp.729-736.
- Selle P.H., Ravindran V., Caldwell R.A. et Bryden W.L. (2000). Phytate and phytase: Consequences for protein utilization. *Nutrition Research. Reviews*, 13, pp.255-278.

- SERA-17 (page consultée le 09/04/2009). **Phosphorus determination in waters and extracts of soils and by-products: Inductively coupled plasma spectrometry versus colorimetric procedures.** http://www.sera17.ext.vt.edu/Documents/P_Analysis_Comparisons.pdf
- Shafey T.M., McDonald M.W. et Dingle J.G. (1991). Effects of dietary Ca and available phosphorus on digesta pH and on the availability of Ca, iron, magnesium and zinc from the intestinal contents of meat chicken. *British Poultry Science*, 32, p.185-194.
- Shermer C.L., Maciorowski K.G., Bailey C.A., Byers F.M. et Ricke S. (1998). Caecal metabolites and microbial populations in chickens consuming diets containing amined humate compound. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, p.479-486.
- Simons P.C.M., Versteegh H.A.J., Jongbloed A.W., Kemme P.A., Slump P., Bos K.D., Walters M.J.E., Beudeker R.F. et Verschoor G.J. (1990). Improvement phosphorus availability by microbial phytase in broilers and pigs. *British Journal of Nutrition*, 64, pp.525-540
- Spitzer R.R. et Phillips P.H. (1945). Enzymatic relationships in the utilization of soybean oil meal phosphorus by the rat. *Journal of Nutrition*, 30, pp.183-192.
- Stepchenko L.M., Zhorina L.V. et Kravtsova L.V. (1991). The effect of sodium humate on metabolism and resistance in highly productive poultry. *Nauchnye Doki Vysv Shkoly Biol Mauki*, 10, pp. 90-95.
- Stevenson F.J. (1982). **Extraction, fraction and general chemical composition of soil organic matter.** In: *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley and Sons ed., pp. 24-58.
- Subcommittee on Mineral Toxicity in Animals (1980). **Titanium.** In: *Mineral tolerance of domestic animals*. National Academy of sciences ed., Washington D.C., pp.510-514.

~T~

- Tamim N.M. et Angel R. (2003). Phytate phosphorus hydrolysis as influenced by dietary calcium and micro mineral source in broiler diets. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5, p.4687-4693.
- Tamim N.M., Angel R. et Christman M. (2004). Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens. *Poultry Science*, 83, pp.1358-1367.
- Taylor T.G. et Coleman J.W. (1979). A comparative study of the absorption of calcium and the availability of phytate phosphorus in the golden hamster (*Mesocricetus auratus*) and the laboratory rat. *British Journal of Nutrition*, 42, p.113-119.
- TERAVITA (page consulté le 08/04/2009). **The use of humates with chemical fertilizers.** <http://www.teravita.com/humates/Chapter7.htm>
- Thornton I. (1999). **Bioavailability of trace elements in the food chain.** In: *Proceedings of the 5th International Conference on the Biogeochemistry of Trace Elements*, Vienne, 11-15 juillet 1999.
- Tran G. et Skiba F. (2005). Variabilité inter et intra matière première de la teneur en phosphore total et phytique et de l'activité phytasique. *INRA Productions Animales*, 18, pp.159-168.
- Tsokova L.T. (2006). Influence of the enzyme phytase on the clinical status, some plasma macroelements and the histostructure of femur and tibia in chickens. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*, 9(3), pp.201-209.

~U~

- UMR 1222 INRA-Agro.M (2004). **Biodisponibilité des éléments minéraux**. In : Rhizosphère & Symbiose. Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, Direction Générale de l'Enseignement et de la Recherche.
- Underwood E.J. et Suttle N.F. (1999a). **Calcium**. In: The mineral nutrition of livestock - 3^{ème} ed., GABI Publishing ed., pp.67-104.
- Underwood E.J. et Suttle N.F. (1999b). **Phosphore**. In: The mineral nutrition of livestock - 3^{ème} ed., GABI Publishing ed., pp.105-148.

~V~

- Van Rensburg J.C. (2005). **The ameliorating effect of oxihumate on aflatoxicosis in broilers**. Doctorat Sciences animals, Faculty of Natural and Agricultural Sciences, Pretoria, 177 p.
- Vermeer A.W.P., Van Riemsdijk W.H. et Koopai L.K. (1998). Adsorption of humic acid to mineral particles. 1. Specific and electrostatic interactions. *Langmuir*, 14(10), pp.2810-2819.
- Vogtmann H., Pfirter H.P. et Prabucki A.L. (1975). A new method of determining metabolisability of energy and digestibility of fatty acids in broiler diets. *British Poultry Science*, 16, pp.531-534.
- Vohra P., Gray A. et Kratzer F.H. (1965). Phytic acid metal complexes. *Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine*, 120, pp.447-449.

~W~

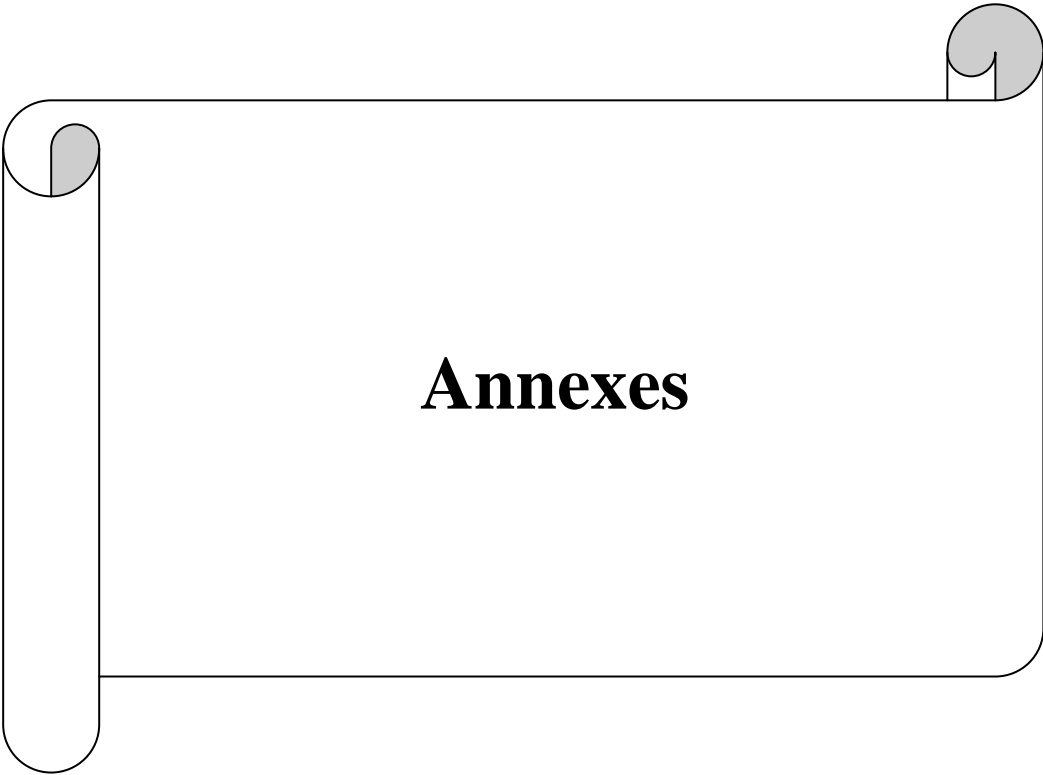
- Warner A.C.I. (1981). Rate of passage of digesta through the gut of mammals and birds. *Nutrition abstracts and reviews*, 51, pp. 789-820.
- Wilfart A. (2007). **Digestion et transit digestif chez le porc en croissance: influence de la composition de l'aliment**. Doctorat Biologie et Agronomie, ENSAR, Rennes, 201 p.
- Wise A. (1983). Dietary factors determining the biological activities of phytate. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 53, pp.791-806.
- Wodzinski R.J. et Ullah A.H.J. (1996). **Phytase**. In: Advances in Applied Microbiology vol.42. Neidleman S.L. et Laskin A.I. ed., Academic Press, New York, pp.263-302.
- Wolf A., Watson M. et Wolf N (2003). **Digestion and dissolution methods for P, K, Ca, Mg and trace elements**. In: Recommended methods of manure analysis. Peters J. ed., Wisconsin, pp.30-38.
- Wyss M., Pasamontes L., Remy R., Kohler J., Kuszniir E., Gadiant M., Muller F. et Van Loon A.P.G.M. (1998). Comparison of the thermostability properties of three acid phosphatases from molds: *Aspergillus fumigatus* phytase, *A. niger* phytase, and *A. niger* pH 2.5 acid phosphatase. *Applied Environmental Microbiology*, 64, pp.4446-4451.

~Y~

- Yasar S., Gokcimen A., Altunas I., Yonden Z. et Petekkaya E. (2002). Performance and ileal histomorphology of rats treated with humic acid preparations. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 86, pp.257-264.
- Yörük M.A., Gül M., Hayirli A. et Macit M. (2004). The effects of supplementation of humate and probiotic on egg production and quality parameters during the late laying period in hens. *Poultry Science*, 83, pp.84-88.

~Z~

- Zanini S. F. et Sazzad M.H. (1999). Effects of microbial phytase on growth and mineral utilization in broilers fed on maize soybean-based diets. *British Poultry Science*, 40, pp.348-352.
- Zeoula L.M., Kassies M.P., Fregadolli F.L., Do Prado I.N., Branco A.F., Neto S.F.C. et Dalponte A.O. (2000). Uso de indicadores na determinação da digestibilidade parcial e total em bovinos. *Acta Scientiarum*, 22(3), pp.771-777.
- Zhorina L.V. et Stepchenko L.M. (1991). The content of free amino acids in the tissues of broiler chicks administered sodium humate in the ration. *Nauchnye Doki Vyss Shkoly Biol Nauki*, 10, pp.147-150.
- Zraly Z., Pisarikova B., Trckova M. et Navratilova M. (2008). Effect of humic acids on lead accumulation in chicken organs and muscles. *Acta Veterinaria Brno*, 77, pp.439-445.



Annexes

Annexe I : Bibliographie traitant de méthodes utilisées pour déterminer la digestibilité et la disponibilité du calcium et du phosphore

Journal	Auteur + année	Titre	Espèce	Catégorie d'animaux	Mesures effectuées	Mesure performances zootechniques
British Journal of Nutrition	Qian H., Kornegay E.T., Veit H.P. (1996)	Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological, mechanical and chemical traits of tibia and performance of turkeys fed on soyabean-meal-based semi-purified diets high in phytate phosphorus	volaille	dinde	Résistance et minéralisation du tibia	Oui
Sciences et techniques avicoles	Friedrich R., François G., Yves N. (1999)	Actualisation de la composition corporelle en azote et phosphore des principales volailles de chair françaises. Conséquences sur les rejets des élevages.	volaille	poulets de chair, poulets labels, canards, dindons	Quantité de P dans l'organisme de l'animal	Non
Journal of applied poultry research	Li Y.C., Ledoux D.R., Veum T.L., Raboy V., Zyla K. (2001)	Low phytic acid barley improves performance, bone mineralization and phosphorus retention in turkey poults	volaille	dindonneau	Digestibilité fécale du Ca et du P (grab sampling avec l'oxyde de chrome comme marqueur), minéralisation des doigts et du tibia	Oui
Poultry Science	Amezcuca C.M., Parsons C.M., Noll S.L. (2004)	Content and relative bioavailability of phosphorus in distillers dried grains with solubles in chicks	volaille	poulet de chair	Quantité de P du tibia	Oui
Poultry Science	Rutherford S.M., Chung T.K., Morel P.C., Moughan J. (2004)	Effect of phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale du P (dioxyde de titane comme marqueur)	Non
Poultry Science	Tamim N.M., Angel R., Christman M. (2004)	Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale du Ca et du P (CIAC comme marqueur)	Non
International journal of poultry science 3	Adeola O., Sands J.S. (2004)	Growth performance, bone mineralization, and nutrient retention responses of chicks to dietary crude protein and non-phytate phosphorus concentrations	volaille	poulet de chair	Digestibilité fécale du P (grab sampling avec les CIAC comme marqueur), quantité de P dans le tibia et les doigts	Oui
Pakistan Journal of Nutrition	Akyurek H., Senkoylu N., Ozduven M.L. (2005)	Effect of microbial phytase on growth performance and nutrients digestibility in broilers	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale et fécale du Ca et du P (collecte totale), minéralisation des doigts	Oui

Annexe I : Bibliographie traitant de méthodes utilisées pour déterminer la digestibilité et la disponibilité du calcium et du phosphore (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Espèce	Catégorie d'animaux	Mesures effectuées	Mesure performances zootechniques
Czech journal of animal Science	Pintar J., Homen B., Gazic K., Janjecic Z., Sikiric M., Cerny T. (2005)	Effects of supplemental phytase on nutrient excretion and retention in broilers fed different cereal based diets	volaille	poulet de chair	Digestibilité fécale du Ca et du P (collecte totale)	Oui
Poultry Science	Juanpere J., Pérez-Vendrell A.M., Angulo E., Brufau J. (2005)	Assessment of potential interactions between phytase and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale et fécale du Ca et du P (collecte totale)	Oui
Journal of animal science	Bhanja S.K., reddy V.R., Panda A.K., Rama Rao S.V., Sharma R.P. (2005)	Effect of supplementing microbial phytase on performance of broiler breeders fed low non-phytate phosphorus diet	volaille	poulet de chair	Résistance et minéralisation du tibia digestibilité iléale et fécale du Ca et du P, quantité de Ca et P dans le sang, quantité de P dans l'organisme de l'animal	Oui
Bulgarian Journal of Veterinary Medicine	Tsokova L.T. (2006)	Influence of the enzyme phytase on the clinical status, some plasma macroelements and the histostructure of femur and tibia in chickens	volaille	poulet de chair	Quantité de Ca et P dans le sang	Non
Poultry Science	Dilger R. N. and Adeola O. (2006)	Estimation of True Phosphorus Digestibility and Endogenous Phosphorus. Loss in Growing Chicks Fed Conventional and Low-Phytate Soybean Meals	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale et fécale du Ca et du P (grab sampling avec le sesquioxyde de chrome comme marqueur)	Oui
International journal of agriculture and biology	Musapuor A., Afsharmanesh M., Moradi Shahrababak H. (2006)	Use of microbial phytase for decrease of pollutant due to environmental poultry excreta phosphorus	volaille	poule pondeuse	Digestibilité fécale du P (grab sampling avec l'oxyde de chrome comme marqueur), minéralisation du tibia	Oui
Journal of the science of food and agriculture	Leytem A.B., Thacker P.A., Turner B.L. (2007)	Phosphorus characterization in feces from broiler chicks fed low-phytate barley diets	volaille	poulet de chair	Digestibilité fécale P (grab sampling avec l'oxyde de chrome comme marqueur)	Non

Annexe I : Bibliographie traitant de méthodes utilisées pour déterminer la digestibilité et la disponibilité du calcium et du phosphore (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Espèce	Catégorie d'animaux	Mesures effectuées	Mesure performances zootechniques
EJPAU	Jamroz D., Wertelecki T., Zylka R. (2007)	The retention of mineral substances, quality and chemical composition of bones of chickens fed diets containing different calcium and phosphorus levels	volaille	poulet de chair	Résistance du tibia et du fémur	Oui
Animal	Jondreville C., Lescoat P., Magnin M., Feuerstein D., Gruenberg B., Nys Y. (2007)	Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soya-bean meal diets for chickens	volaille	poulet de chair	Quantité de Ca et de P dans le foie et le sang, minéralisation du tibia	Oui
Poultry Science	Liu N., Liu G.H., Li F.D., Sands J.S., Zhang S., Zheng A.J., Ru Y.J. (2007)	Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets	volaille	poule pondeuse	Digestibilité iléale du P et du Ca (dioxyde de chrome comme marqueur)	Oui
Poultry Science	Powell S., Johnston S., Gaston L., Southern L. L. (2008)	The effect of dietary phosphorus level and phytase supplementation on growth performance, bone-breaking strength, and litter phosphorus concentration in broilers	volaille	poulet de chair	Résistance du tibia	Oui
Poultry Science	Plumstead P.W., Leytem A.B., Maguire R.O., Spears J.W., Kwanyuen P., Brake J. (2008)	Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1.Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale et fécale du Ca et du P (grab sampling avec le dioxyde de titane comme marqueur)	Oui
Poultry Science	Leytem A.B., Plumstead P.W., Maguire R.O., Kwanyuen P., Burton J.W., Brake J. (2008a)	Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 2.Effects on total and soluble phosphorus excretion	volaille	poulet de chair	Digestibilité iléale et fécale du Ca et du P (collecte totale)	Oui
British poultry science	Letourneau-Montminy M.P., Lescoat P., Narcy A., Sauvant D., Bernier J.F., Magnin M., Pomar C., Nys Y., Jondreville C. (2008)	Effects of reduced dietary calcium and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilisation in broilers with modified mineral status	volaille	poulet de chair	Quantité de Ca et P dans le sang et le tibia, résistance du tibia	Oui

Annexe I : Bibliographie traitant de méthodes utilisées pour déterminer la digestibilité et la disponibilité du calcium et du phosphore (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Espèce	Catégorie d'animaux	Mesures effectuées	Mesure performances zootechniques
Poultry Science	Rama Rao S.V., Raju M.V.L.N., Panda A.K., Saharai P.N., Reddy M.R., Sunder G.S., Sharma R.P. (2008)	Effect of surfeit concentration of vitamin D3 on performance, bone mineralization and mineral retention in commercial broiler chicks	volaille	poulet de chair	Digestibilité fécale du Ca et du P, degré d'anomalies dans les jambes, résistance et minéralisation du tibia, quantité de P et Ca dans le sang	Oui
Poultry Science	Gao J., Zhang H.J., Yu S.H., Wu S.G., Yoon I., Quigley J., Gao Y.P., Qi G.H. (2008)	Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions	volaille	poulet de chair	Digestibilité fécale du P et du Ca (collecte totale)	Oui
Journées Recherche Porcine	Guggenbuhl P., Quintana A.P., Nunes C.S. (2009)	Effets de doses croissantes d'une phytase expérimentale d'origine bactérienne sur la digestibilité du phosphore, du calcium et du zinc chez le porc en croissance	porc	porc	Digestibilité fécale du P et du Ca (grab sampling avec l'oxyde de chrome comme marqueur)	Non
British Poultry Science	Bao Y.M., Choct M., Iji P.A., Bruerton K. (2009)	Optimal dietary inclusion of organically complexed zinc for broiler chickens	volaille	poulet de chair	Résistance et minéralisation du tibia, digestibilité fécale du Ca et du P (grab sampling avec les CIAC comme marqueur)	Oui
Huitièmes Journées de la recherche avicole	Magnin M., Pascal J., Anne PM. (2009)	Interactions entre les apports relatifs de calcium et de phosphore et la croissance du poulet de chair	volaille	poulet de chair	Minéralisation du tibia	Oui
Huitièmes Journées de la recherche avicole	Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009b)	Efficacité d'une phytase sur la digestibilité iléale apparente du phosphore chez la poule pondeuse	volaille	poule pondeuse	Digestibilité iléale du Ca et du P (dioxyde de titane comme marqueur), résistance et minéralisation du tibia	Oui
Huitièmes Journées de la recherche avicole	Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009b)	Etude comparative de plusieurs phytases sur la digestibilité des minéraux chez le poulet de chair	volaille	poulet de chair	Digestibilité fécale du Ca et du P (collecte totale), résistance et minéralisation du tibia	Oui

Annexe II: Avantages et inconvénients des méthodes de détermination de la digestibilité et de la disponibilité du calcium et du phosphore

Adapté de: Jongbloed *et al*, 2002a et Underwood et Suttle, 1999b

	Avantages	Inconvénients	Evaluation
Coefficients de digestibilité apparente des minéraux	<ul style="list-style-type: none"> • L'une des méthodes directes la plus efficace pour déterminer la digestibilité des macro-minéraux 	<ul style="list-style-type: none"> • Pas recommandé pour les oligo-éléments due à sa petite inclusion, à ses petits coefficients d'absorption et à sa sécrétion endogène relativement élevée • Pas d'utilisation des isotopes à cause de son prix 	+++
Résistance des os et sa minéralisation	<ul style="list-style-type: none"> • L'une des méthodes la plus efficace pour déterminer la disponibilité du Ca et du P 	<ul style="list-style-type: none"> • Nécessité d'un grand nombre d'observations à cause de la grande variabilité entre animaux • Coût d'abattage des animaux • Préparation laborieuse des os 	+++
Contenu total de minéraux dans l'organisme	<ul style="list-style-type: none"> • L'une des méthodes la plus efficace pour déterminer la disponibilité du Ca et du P 	<ul style="list-style-type: none"> • Préparation difficile des échantillons représentatifs de l'organisme 	++
Concentration des minéraux/phosphatase alcaline dans le sang	<ul style="list-style-type: none"> • Activité de la phosphatase alcaline très liée à la résistance de l'os à la rupture ($r=-0,98$) (Boyd <i>et al</i>, 1981,1983, cité par Jongbloed <i>et al</i>, 2002) malgré la grande variation de ces paramètres (23%) • Poulets de chair ont une relation linéaire entre les cendres des os et le P du sérum jusqu'à valeurs de 2,5 mmol/l (Mohammed <i>et al</i>, 1991, cité par Underwood et Suttle, 1999b) 	<ul style="list-style-type: none"> • Les différences des teneurs en minéraux dans le sang a lieu seulement quand le mécanisme de régulation n'est pas capable de maintenir le contenu extracellulaire du minéral dans les limites physiologiques (Van der Velde <i>et al</i>, 1986, cité par Jongbloed <i>et al</i>, 2002) • Il faut avoir des grandes différences de biodisponibilité des minéraux donnés • Variation diurne des concentrations des minéraux dans le sérum et l'activité enzymatique peuvent influencer les résultats 	++

Annexe III : Méthodes de récupération et de mesure du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Récupération Ca et P totaux	Mesure P total	Mesure Ca total
British Journal of Nutrition	Qian H., Kornegay E.T., Veit H.P. (1996)	Effects of supplemental phytase and phosphorus on histological, mechanical and chemical traits of tibia and performance of turkeys fed on soyabean-meal-based semi-purified diets high in phytate phosphorus	dinde	Digestion par l'acide nitrique/perchlorique (HNO ₃ -HClO ₄) (AOAC 2000; 935.13)	Colorimétrie	Spectrophotométrie d'absorption atomique
Journal of applied poultry research	Li Y.C., Ledoux D.R., Veum T.L., Raboy V., Zyla K. (2001)	Low phytic acid barley improves performance, bone mineralization and phosphorus retention in turkey poults	dindonneau	Digestion par l'acide nitrique/perchlorique (HNO ₃ -HClO ₄) (AOAC 2000; 935.13)	Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	Spectrophotométrie d'absorption atomique
Poultry Science	Amezcuca C.M., Parsons C.M., Noll S.L. (2004)	Content and relative bioavailability of phosphorus in distillers dried grains with solubles in chicks	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif	
Poultry Science	Rutherford S.M., Chung T.K., Morel P.C., Moughan J. (2004)	Effect of phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers	poulet de chair	Digestion par l'acide sulfurique/nitrique (H ₂ SO ₄ -HNO ₃)	Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	
Poultry Science	Tamim N.M., Angel R., Christman M. (2004)	Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens	poulet de chair		Colorimétrie	Spectrophotométrie d'absorption atomique
International journal of poultry science 3	Adeola O., Sands J.S. (2004)	Growth performance, bone mineralization, and nutrient retention responses of chicks to dietary crude protein and non-phytate phosphorus concentrations	poulet de chair	Digestion par la méthode AOAC (1995)	Colorimétrie	
Pakistan Journal of Nutrition	Akyurek H., Senkoylu N., Ozduven M.L. (2005)	Effect of microbial phytase on growth performance and nutrients digestibility in broilers	poulet de chair		Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	Spectrophotométrie d'absorption atomique

Annexe III : Méthodes de récupération et de mesure du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Récupération Ca et P totaux	Mesure P total	Mesure Ca total
Czech journal of animal Science	Pintar J., Homen B., Gazic K., Janjecic Z., Sikiric M., Cerny T. (2005)	Effects of supplemental phytase on nutrient excretion and retention in broilers fed different cereal based diets	poulet de chair		Méthode ISO 5984, 2002	Méthode ISO 6492, 1999
Poultry Science	Juanpere J., Pérez-Vendrell A.M., Angulo E., Brufau J. (2005)	Assessment of potential interactions between phytase and glycosidase enzyme supplementation on nutrient digestibility in broilers	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	Spectrophotometrie d'absorption atomique par plasma à couplage inductif
Journal of animal science	Bhanja S.K., reddy V.R., Panda A.K., Rama Rao S.V., Sharma R.P. (2005)	Effect of supplementing microbial phytase on performance of broiler breeders fed low non-phytate phosphorus diet	poulet de chair		AOAC (1990)	AOAC (1990)
Poultry Science	Dilger R. N. and Adeola O. (2006)	Estimation of True Phosphorus Digestibility and Endogenous Phosphorus. Loss in Growing Chicks Fed Conventional and Low-Phytate Soybean Meals	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique/perchlorique (HNO ₃ -HClO ₄) (AOAC 2000; 935.13)	Spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif	Spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif
International journal of agriculture and biology	Musapuor A., Afsharmanesh M., Moradi Shahrabak H. (2006)	Use of microbial phytase for decrease of pollutant due to environmental poultry excreta phosphorus	poule pondeuse		AOAC (1995)	
Journal of the science of food and agriculture	Leytem A.B., Thacker P.A., Turner B.L. (2007)	Phosphorus characterization in feces from broiler chicks fed low-phytate barley diets	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique/perchlorique (HNO ₃ -HClO ₄) (AOAC 2000; 935.13)	Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	

Annexe III : Méthodes de récupération et de mesure du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Récupération Ca et P totaux	Mesure P total	Mesure Ca total
EJPAU	Jamroz D., Wertelecki T., Zylka R. (2007)	The retention of mineral substances, quality and chemical composition of bones of chickens fed diets containing different calcium and phosphorus levels	poulet de chair		AOAC (2000)	AOAC (2000)
Animal	Jondreville C., Lescoat P., Magnin M., Feuerstein D., Gruenberg B., Nys Y. (2007)	Sparing effect of microbial phytase on zinc supplementation in maize-soya-bean meal diets for chickens	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	Spectrophotométrie d'absorption atomique par plasma à couplage inductif
Poultry Science	Liu N., Liu G.H., Li F.D., Sands J.S., Zhang S., Zheng A.J., Ru Y.J. (2007)	Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets	poule pondeuse		AOAC (1990; 964.06)	Spectrophotométrie d'absorption atomique par plasma à couplage inductif
Poultry Science	Plumstead P.W., Leytem A.B., Maguire R.O., Spears J.W., Kwanyuen P., Brake J. (2008)	Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1.Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif
Poultry Science	Leytem A.B., Plumstead P.W., Maguire R.O., Kwanyuen P., Burton J.W., Brake J. (2008)	Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 2.Effects on total and soluble phosphorus excretion	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif

Annexe III : Méthodes de récupération et de mesure du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Récupération Ca et P totaux	Mesure P total	Mesure Ca total
British poultry science	Letourneau-Montminy M.P., Lescoat P., Narcy A., Sauvant D., Bernier J.F., Magnin M., Pomar C., Nys Y., Jondreville C. (2008)	Effects of reduced dietary calcium and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilisation in broilers with modified mineral status	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Colorimétrie avec la méthode du molybdovanadate (AOAC, 1990; 965.17)	Spectrophotométrie d'absorption atomique par plasma à couplage inductif
Poultry Science	Rama Rao S.V., Raju M.V.L.N., Panda A.K., Saharai P.N., Reddy M.R., Sunder G.S., Sharma R.P. (2008)	Effect of surfeit concentration of vitamin D3 on performance, bone mineralization and mineral retention in commercial broiler chicks	poulet de chair		AOAC (1990)	AOAC (1990)
Poultry Science	Gao J., Zhang H.J., Yu S.H., Wu S.G., Yoon I., Quigley J., Gao Y.P., Qi G.H. (2008)	Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique concentré	Colorimétrie	Spectrophotométrie d'absorption atomique par plasma à couplage inductif
Journées Recherche Porcine	Guggenbuhl P., Quintana A.P., Nunes C.S. (2009)	Effets de doses croissantes d'une phytase expérimentale d'origine bactérienne sur la digestibilité du phosphore, du calcium et du zinc chez le porc en croissance	porc		AOAC (1990)	AOAC (1990)
British Poultry Science	Bao Y.M., Choct M., Iji P.A., Bruerton K. (2009)	Optimal dietary inclusion of organically complexed zinc for broiler chickens	poulet de chair	Digestion par l'acide nitrique et le peroxyde d'hydrogène (HNO ₃ et H ₂ O ₂)	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif

Annexe III : Méthodes de récupération et de mesure du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Récupération Ca et P totaux	Mesure P total	Mesure Ca total
Huitièmes Journées de la recherche avicole	Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009a)	Efficacité d'une phytase sur la digestibilité iléale apparente du phosphore chez la poule pondeuse	poule pondeuse	Digestion par l'acide nitrique	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif
Huitièmes Journées de la recherche avicole	Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009b)	Etude comparative de plusieurs phytases sur la digestibilité des minéraux chez le poulet de chair	poulet de chair	Digestion par l'acide sulfurique et le sulfate de sodium (H ₂ SO ₄ /Na ₂ SO ₄)	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif	Spectroscopie d'émission optique par plasma à couplage inductif

Annexe IV : Avantages et inconvénients des méthodes de récupération du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os

Adapté de: Wolf *et al*, 2003 et American Society of Limnology and Oceanography, 1999

Méthode récupération Ca et P	Avantages	Inconvénients	Evaluation
<p>Digestion sèche de l'échantillon par l'acide nitrique concentré (HNO₃) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Equipement facile à utiliser • Possibilité d'analyser plusieurs échantillons • Eléments volatiles ne sont pas perdus <p><u>Avec bloc de digestion :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Contrôle uniforme de la température • Digestion en tubes minimise la contamination croisée et permet un meilleur contrôle du volume des échantillons • Possibilité de digestion de plusieurs échantillons (40-60) pour périodes de courte durée <p><u>Avec micro-ondes :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Pas de perte d'éléments volatils si la digestion a lieu dans un vase • Minimum de possibilité de contaminations croisées • Temps court de digestion • Besoin de peu de manipulation des échantillons • Procédure sans danger 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité de contamination croisée pendant le reflux • Besoin de beaucoup de main d'œuvre • Temps de digestion long • Besoin d'acides concentrés <p><u>Avec blocs de digestion :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Blocs de digestion et tubes coûteux • Addition de H₂O₂ dans les tubes pendant la digestion nécessite un équipement pipetant spécial <p><u>Avec micro-ondes :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Micro-ondes et vases coûteux • Faible possibilité de manipulation de plusieurs échantillons en simultané • Possibilité de pertes lors de la ventilation si les échantillons sont assez grands 	<p>+++ avec bloc de digestion</p>
<p>Incinération humide et digestion sèche par l'acide nitrique-perchlorique (HNO₃-HClO₄)(AOAC, 2000; 935.13)</p>		<ul style="list-style-type: none"> • Nécessite une hotte spéciale à cause de sa caractéristique explosive 	<p>+</p>

Annexe IV : Avantages et inconvénients des méthodes de récupération du calcium et du phosphore des aliments, des fientes et des os (suite)

Adapté de: Wolf *et al*, 2003 et American Society of Limnology and Oceanography, 1999

Méthode récupération Ca et P	Avantages	Inconvénients	Evaluation
Digestion selon la méthode AOAC (1995) (incinération humide)	<ul style="list-style-type: none"> • Simplicité de l'équipement • Besoin de faibles manipulations des échantillons • Pas besoin d'avoir des acides concentrés • Procédure sans danger • Echantillons peuvent être laissés à incinérer durant la nuit (usage du temps plus efficient) • Possibilité de manipulation de plusieurs échantillons en même temps 	<ul style="list-style-type: none"> • Crucial de maintenir la température optimale d'incinération • Différentes températures optimales d'incinération peuvent être requises • Possibilité de perte d'éléments volatils selon la température d'incinération • Pertes dues à la vaporisation et à la poudre • Pertes dues à une incinération incomplète • Possibilité de réaction avec le creuset • Possibilité de contamination à travers le revêtement de la moufle si elle n'est pas bien nettoyée 	++
Digestion par l'acide sulfurique-peroxyde d'hydrogène (H ₂ SO ₄ et H ₂ O ₂)		<ul style="list-style-type: none"> • Mesure de quantités de P plus faibles que les méthodes avec HNO₃ 	+

Annexe V : Avantages et inconvénients des méthodes de mesure du calcium des aliments, des fientes et des os

Adapté de: Kovar, 2003

Méthode pour mesurer le Ca total	Avantages	Inconvénients	Evaluation
Spectrophotométrie d'absorption atomique	<ul style="list-style-type: none"> • Très spécifique de chaque élément • Minimum d'interférences spectrales • Limites de détection plus basses pour quelques éléments par rapport à la spectroscopie d'émission • Equipement facile à utiliser 	<ul style="list-style-type: none"> • Interférences chimiques pour les éléments qui forment des complexes stables, car la flamme n'est pas capable de dissocier la molécule • Une amélioration de l'ionisation du signal a lieu quand la température de la flamme est suffisamment élevée pour générer l'ablation d'un électron d'un atome métallique, cela veut dire qu'elle produit des cations • Interférences de la matrice sont causées par la viscosité ou les différences spécifiques de gravité entre les échantillons et les normes • La gamme de linéarité d'un ou deux ordres de magnitude est plus faible que celle de la spectroscopie par plasma à couplage inductif • Seulement un élément peut être analysé à la fois • Pas souhaitable pour la mesure du P 	+++
Spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif	<ul style="list-style-type: none"> • Minimum d'interférences chimiques • Possibilité de réalisation de 4 à 6 ordres de magnitude en linéarité d'intensité vs. concentration • Possibilité de réaliser analyses multiéléments rapides • Limites de détection égales ou plus basses que celles de la spectrophotométrie d'absorption atomique pour plusieurs éléments (ex. 0,00002mg Ca/l d'eau par rapport à 0,01mg/l d'eau) • Analyses plus précises en comparaison avec d'autres sources d'émission 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité de production d'interférences spectrales, selon l'élément et le fond • Les interférences de la matrice peuvent être dues aux différences de viscosité ou à gravité spécifique entre les échantillons et les normes • Les lignes spectrales les plus utiles peuvent tomber de la gamme du spectroscope • Le plasma, généré en argon avec nébulisation normale de la solution aqueuse, peut être incapable de produire une quantité d'ions positifs mesurable pour quelques analites pouvant présenter un intérêt • L'achat, l'opération et l'équipement sont plus chers que ceux de la spectrophotométrie d'absorption atomique 	+++

Annexe VI : Avantages et inconvénients des méthodes de mesure du phosphore des aliments, des fientes et des os

Adapté de: Kovar, 2003 et SERA-17 (2009)

Méthode pour mesurer le P total	Avantages	Inconvénients	Evaluation
Colorimétrie	<ul style="list-style-type: none"> • Plus sensible que la spectrométrie par plasma à couplage inductif • Mesure d'une plus grande quantité de P de fientes (7-13%) par rapport à la spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif • Moins chère <p><u>Méthode du molybdovanadate:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • La couleur jaune reste stable pendant quelques jours et son intensité n'est pas affectée par la température de la salle • Pas d'interférences d'une large gamme d'ions pour des concentrations >1000mg/l 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité d'absorption de la lumière de la même longueur d'onde par les autres substances <p><u>Méthode du molybdovanadate:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • Faible sensibilité de la méthode (0,2mg/l) avec une cellule 1cm • La sensibilité augmente pour une longueur d'onde de 400nm, mais si les concentrations de Fe³⁺ sont supérieures à 100mg/l, elles vont interférer (il faut d'utiliser 470nm) • Pas de possibilité de mesurer le P organique 	+++
Spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité de mesurer plusieurs éléments en même temps • Mesure d'une plus grande quantité de P des fientes (20%) par rapport à la colorimétrie car la température élevée du plasma permet de mesurer les composants organiques et des complexes solubles de P • Minimum d'interférences chimiques • Possibilité de réalisation de 4 à 6 ordres de magnitude en linéarité d'intensité vs. concentration • Possibilité de réaliser analyses multiéléments rapides • Limites de détection égales ou plus basses que celles de la spectrophotométrie d'absorption atomique pour plusieurs éléments (0,02mg P/l d'eau) • Analyses plus précises en comparaison à d'autres sources d'émission 	<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité de production d'interférences spectrales dépendantes de l'élément et du fond, dues aux différences de viscosité ou de gravité spécifique entre les échantillons et les normes • Les lignes spectrales plus utiles peuvent tomber de la gamme du spectromètre • Le plasma généré en argon avec nébulisation normale de la solution aqueuse, peut être incapable de produire une quantité d'ions positifs mesurable pour quelques analytes qui pourront présenter un intérêt • L'achat, l'opération et l'équipement sont plus chers que ceux de la spectrophotométrie d'absorption atomique 	++

Annexe VII : Marqueurs utilisés pour la détermination de la digestibilité des nutriments

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Mesure digestibilité apparente (marqueurs d'indigestibilité)
Journal of applied poultry research	Li Y.C., Ledoux D.R., Veum T.L., Raboy V., Zyla K. (2001)	Low phytic acid barley improves performance, bone mineralization and phosphorus retention in turkey poults	dindonneau	Oxyde de chrome
Poultry Science	Rutherford S.M., Chung T.K., Morel P.C., Moughan J. (2004)	Effect of phytase on ileal digestibility of phytate phosphorus, total phosphorus, and amino acids in a low-phosphorus diet for broilers	poulet de chair	Dioxyde de Titane
Poultry Science	Tamim N.M., Angel R., Christman M. (2004)	Influence of dietary calcium and phytase on phytate phosphorus hydrolysis in broiler chickens	poulet de chair	Cendres insolubles à l'acide avec cébite
International journal of poultry science 3	Adeola O., Sands J.S. (2004)	Growth performance, bone mineralization, and nutrient retention responses of chicks to dietary crude protein and non-phytate phosphorus concentrations	poulet de chair	Cendres insolubles à l'acide
Poultry Science	Dilger R. N. and Adeola O. (2006)	Estimation of True Phosphorus Digestibility and Endogenous Phosphorus. Loss in Growing Chicks Fed Conventional and Low-Phytate Soybean Meals	poulet de chair	Sesquioxyde de chrome
International journal of agriculture and biology	Musapuor A., Afsharmanesh M., Moradi Shahrabak H. (2006)	Use of microbial phytase for decrease of pollutant due to environmental poultry excreta phosphorus	poule pondeuse	Oxyde de chrome
Journal of the science of food and agriculture	Leytem A.B., Thacker P.A., Turner B.L. (2007)	Phosphorus characterization in feces from broiler chicks fed low-phytate barley diets	poulet de chair	Oxyde de chrome

Annexe VII : Marqueurs utilisés pour la détermination de la digestibilité des nutriments (suite)

Journal	Auteur + année	Titre	Catégorie d'animaux	Mesure digestibilité apparente (marqueurs d'indigestibilité)
Poultry Science	Liu N., Liu G.H., Li F.D., Sands J.S., Zhang S., Zheng A.J., Ru Y.J. (2007)	Efficacy of phytases on egg production and nutrient digestibility in layers fed reduced phosphorus diets	poule pondeuse	Dioxyde de silicium
Poultry Science	Plumstead P.W., Leytem A.B., Maguire R.O., Spears J.W., Kwanyuen P., Brake J. (2008)	Interaction of calcium and phytate in broiler diets. 1.Effects on apparent prececal digestibility and retention of phosphorus	poulet de chair	Dioxyde de titane
Journées Recherche Porcine	Guggenbuhl P., Quintana A.P., Nunes C.S. (2009)	Effets de doses croissantes d'une phytase expérimentale d'origine bactérienne sur la digestibilité du phosphore, du calcium et du zinc chez le porc en croissance	porc	Oxyde de chrome
British Poultry Science	Bao Y.M., Choct M., Iji P.A., Bruerton K. (2009)	Optimal dietary inclusion of organically complexed zinc for broiler chickens	poulet de chair	Cendres insolubles à l'acide
Huitièmes Journées de la recherche avicole	Philipps P., Fidelis F., Raffaella A. (2009a)	Efficacité d'une phytase sur la digestibilité iléale apparente du phosphore chez la poule pondeuse	poule pondeuse	Dioxyde de Titane

Annexe VIII : Avantages et inconvénients des marqueurs utilisés pour la détermination de la digestibilité des nutriments

Adapté de: Vogtmann *et al*, 1975; Subcommittee on Mineral Toxicity in Animals, 1980; Furuichi et Takahashi, 1981; Scott et Boldaji, 1997; Zeoula *et al*, 2000; Kovanagh *et al*, 2001; Myers *et al*, 2004; Berchielli *et al*, 2005; Monforte-Braga *et al*, 2006; Wilfart, 2007

Marqueur	Avantages	Inconvénients	Evaluation
Oxyde/ Sesquioxyde de chrome	<ul style="list-style-type: none"> • 0,5g souhaité chez les poulets pour une bonne répétabilité du laboratoire (quantité d'échantillon inférieure à celle des CIAC) • Facile à utiliser • Facile à doser • Méthodes d'analyse fiables • Très peu absorbé (<5%), bon taux de récupération chez le porc : 96% • Pas cher • Coefficient de variation plus faible (12,04%) que celui des CIAC (31,40%) chez les bovins 	<ul style="list-style-type: none"> • Pas de capacité de se déplacer à la même vitesse que les particules alimentaires à cause de sa densité (5,2) • Variation diurne de son flux chez les ruminants • Toxicité/Manipulation • Possibilité d'accumulation en quelques zones du tractus digestif des ruminants • Volatilisation pendant incinération et digestion acide • Possible interférence avec minéraux chez les porcs et problèmes de détermination analytique, récupération plus faible en présence de Ca et P • Faible taux de récupération chez les porcs • Sa détermination prend du temps 	++
CIAC (cendres insolubles à l'acide chlorhydrique)	<ul style="list-style-type: none"> • Méthode d'analyse simple sans besoin d'équipement spécial • Méthode pas cher • Récupération ~100% avec le test de Tukey chez les caprins et les lapins, soit respectivement un taux de récupération de 97-183% et 99,9% par rapport à un taux de 96% avec l'oxyde de chrome et 92,3% avec l'oxyde de titane chez les porcs • Addition de célite (0,5%) diminue la variabilité des résultats • Bon compromis entre la CT et le GS chez les porcs et lapins • Marquage fiable pour les porcs, soit avec cages individuelles, soit avec animaux en groupe • Coefficients de digestibilité de l'énergie et de la MS plus élevés (0,855 et 0,866, respectivement) que ceux de l'oxyde de chrome et de l'oxyde de titane (0,848 et 0,859; 0,844 et 0,855, respectivement) 	<ul style="list-style-type: none"> • Répétabilité du laboratoire satisfaisante avec une quantité d'échantillon supérieure à celle de l'oxyde de chrome (3g) • Faibles quantités dans l'aliment (< 3%) peuvent donner des résultats non acceptables chez les ruminants • Absorbé en quantités supérieures qu'avec l'oxyde de chrome (~10%) chez les bovins • Sous-estimation de la digestibilité MO chez les bovins 	+++

Annexe VIII : Avantages et inconvénients des marqueurs utilisés pour la détermination de la digestibilité des nutriments (suite)

Adapté de: Vogtmann *et al*, 1975; Subcommittee on Mineral Toxicity in Animals, 1980; Furuichi et Takahashi, 1981; Scott et Boldaji, 1997; Zeoula *et al*, 2000; Kovanagh *et al*, 2001; Myers *et al*, 2004; Berchielli *et al*, 2005; Monforte-Braga *et al*, 2006; Wilfart, 2007

Marqueur	Avantages	Inconvénients	Evaluation
Dioxyde de titane	<ul style="list-style-type: none"> • Son utilisation évite les préoccupations de risque cancérigène de l'oxyde de chrome • Faible toxicité • Coefficient de variation plus faible et coefficient de digestibilité iléale des aminoacides plus élevé que celui de l'oxyde de chrome chez les porcs • Moins absorbé que l'oxyde de chrome pour la digestibilité iléale des aminoacides chez les porcs • Méthode d'analyse n'interfère pas avec sa détermination, et il n'y a pas de risque de contamination ou d'interférence avec les autres substances 	<ul style="list-style-type: none"> • Besoin d'une méthode d'analyse rapide et précise • Impossibilité de récupération totale (taux de récupération de 92,3% chez les porcs) 	++
Dioxyde de silicium		<ul style="list-style-type: none"> • Possibilité d'accumulation dans quelques zones du tractus digestif humain • Ne donne pas toujours des résultats fiables 	+

Annexe IX : Résultats de l'essai sur les performances zootechniques (J0 à J20)

		Période 1 (J0-J10)					Période 2 (J11-J20)			
		Pdeb ¹ (g)	Pfin ² (g)	CMJ ³ (g/anim/j)	GMQ ⁴ (g/anim/j)	IC ⁵	Pfin (g)	CMJ (g/anim/j)	GMQ (g/anim/j)	IC
T	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Moyenne	40,2	253,9	26,5	21,4	1,239	802,7	87,2	54,9	1,595
	Ecart-type	1,9	12,7	1,1	1,3	0,035	74,5	7,7	6,5	0,067
A1	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Moyenne	40,2	253,6	26,8	21,3	1,255	819,8	88,6	56,6	1,566
	Ecart-type	1,9	17,5	2,0	1,7	0,045	51,6	6,1	4,0	0,025
A3	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Moyenne	40,2	258,0	26,8	21,8	1,231	805,1	85,8	54,7	1,571
	Ecart-type	1,8	14,4	1,3	1,3	0,025	53,0	5,5	5,0	0,054
A1+Ph	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Moyenne	40,2	265,8	27,7	22,6	1,229	838,9	88,2	57,3	1,540
	Ecart-type	1,9	8,6	0,6	0,8	0,024	63,5	7,8	6,1	0,036
Ph	n	8	8	8	8	8	8	8	8	8
	Moyenne	40,2	263,8	27,0	22,4	1,210	816,6	86,3	55,3	1,564
	Ecart-type	1,9	5,9	0,5	0,6	0,014	45,5	5,2	4,4	0,041

Probabilité										
Effet traitement		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV résiduel		4,8%	4,5%	5,5%	2,5%	7,2%	7,5%	1,1%	3,0%	

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de probabilité de 0,05

¹ Poids des animaux au début de la période

² Poids des animaux à la fin de la période

³ Consommation moyenne journalière

⁴ Gain moyen quotidien

⁵ Indice de consommation

Annexe X : Résultats de l'essai sur les performances zootechniques (J21 à J35)

			Période 3 (J21-J35)				Période globale (J0-J35)		
Type	collecte		Pfin (g)	CMJ (g/anim/j)	GMQ (g/anim/j)	IC	CMJ (g/anim/j)	GMQ (g/anim/j)	IC
T	CT	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2034,3	140,1	83,4	1,685	91,76	57,0	1,615
		Ecart-type	276,9	16,4	12,2	0,058	10,11	7,9	0,058
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2258,6	160,0	95,8	1,673	101,8	63,4	1,608
		Ecart-type	189,8	11,7	9,5	0,048	6,41	5,4	0,041
Total	n	8	8	8	8	8	8	8	
	Moyenne	2146,5	150,0	89,6	1,679	96,8	60,2	1,611	
	Ecart-type	250,3	16,9	12,1	0,050	9,5	7,1	0,047	
A1	CT	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2155,3	148,3	88,3	1,678	96,8	60,4	1,603
		Ecart-type	170,3	13,9	7,2	0,021	8,8	4,9	0,017
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2305,8	163,4	99,8	1,593	102,7	64,7	1,588
		Ecart-type	90,6	8,2	4,3	0,042	5,3	2,6	0,048
Total	n	8	8	8	8	8	8	8	
	Moyenne	2230,5	155,9	94,0	1,635	99,8	62,6	1,595	
	Ecart-type	149,7	13,3	8,3	0,055	7,4	4,3	0,034	
A3	CT	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2150,4	148,0	87,8	1,685	96,4	60,3	1,600
		Ecart-type	148,2	7,8	6,3	0,041	4,9	4,2	0,034
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2219,2	159,8	96,1	1,663	99,9	62,3	1,603
		Ecart-type	126,1	9,1	6,9	0,028	4,9	3,6	0,015
Total	n	8	8	8	8	8	8	8	
	Moyenne	2184,8	153,9	92,0	1,674	98,1	61,3	1,601	
	Ecart-type	132,5	10,1	7,6	0,035	4,9	3,7	0,024	
A1+Ph	CT	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2212,3	150,5	91,4	1,650	97,7	62,1	1,575
		Ecart-type	120,9	7,9	5,7	0,029	4,5	3,4	0,026
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2279,9	160,2	96,2	1,668	101,6	64,0	1,593
		Ecart-type	230,3	13,5	9,9	0,036	8,7	6,6	0,032
Total	n	8	8	8	8	8	8	8	
	Moyenne	2246,1	155,4	93,8	1,659	99,7	63,0	1,584	
	Ecart-type	174,1	11,4	7,9	0,032	6,7	5,0	0,029	
Ph	CT	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2136,1	148,2	88,2	1,683	95,7	59,9	1,603
		Ecart-type	171,9	9,6	8,8	0,067	6,0	5,0	0,041
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	2222,0	156,7	93,4	1,683	99,7	62,3	1,603
		Ecart-type	188,8	11,1	9,5	0,064	6,0	5,4	0,050
Total	n	8	8	8	8	8	8	8	
	Moyenne	2179,1	152,4	90,8	1,683	97,7	61,1	1,603	
	Ecart-type	173,4	10,6	8,9	0,061	5,9	5,0	0,042	

Annexe X : Résultats de l'essai sur les performances zootechniques (J21 à J35) (suite)

			Période 3 (J21-J35)				Période global (J0-J35)		
Type	collecte		Pfin (g)	CMJ (g/anim/j)	GMQ (g/anim/j)	IC	CMJ (g/anim/j)	GMQ (g/anim/j)	IC
Total	CT	n	20	20	20	20	20	20	20
		Moyenne	2137,7	147,0	87,8	1,676	95,7	59,9	1,599
		Ecart-type	175,1	11,0	7,8	0,044	6,7	5,0	0,036
	GS	n	20	20	20	20	20	20	20
		Moyenne	2257,1	160,0	96,3	1,656	101,2	63,3	1,599
		Ecart-type	157,1	9,9	7,7	0,052	5,8	4,5	0,036

Probabilité							
Effet traitement	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Effet collecte	0,043	0,001	0,003	NS	0,016	0,043	NS
Effet traitement x collecte	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
CV résiduel	8,2%	8,3%	0,6%	2,9%	7,2%	1,0%	2,3%

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de probabilité de 0,05

Annexe XI : Effet du type de collecte sur les résultats de digestibilité

Type collecte			CUD fécal apparent MM (%)	CUD fécal apparent Ca (%)	CUD fécal apparent P (%)
T	CT	n	4	4	4
		Moyenne	18,74	47,19	51,03
		Ecart-type	5,63	2,79	1,74
	GS	n	4	4	4
		Moyenne	39,82	63,24	65,54
		Ecart-type	1,34	3,06	3,04
A1	CT	n	4	4	4
		Moyenne	22,49	39,46	50,69
		Ecart-type	2,34	6,19	3,63
	GS	n	4	4	4
		Moyenne	40,13	54,12	62,88
		Ecart-type	1,62	2,78	0,73
A3	CT	n	4	4	4
		Moyenne	24,31	37,85	50,68
		Ecart-type	1,06	5,03	1,28
	GS	n	4	4	4
		Moyenne	42,39	52,37	61,85
		Ecart-type	3,51	3,21	1,84
A1+Ph	CT	n	4	4	4
		Moyenne	25,21	47,22	53,94
		Ecart-type	0,88	1,87	0,66
	GS	n	4	4	4
		Moyenne	37,78	59,13	64,17
		Ecart-type	2,55	2,06	0,85
Ph	CT	n	4	4	4
		Moyenne	24,25	44,92	52,32
		Ecart-type	1,45	6,38	2,45
	GS	n	4	4	4
		Moyenne	43,97	61,19	66,66
		Ecart-type	3,06	4,79	2,12
Total	CT	n	20	20	20
		Moyenne	23,00	43,33	51,73
		Ecart-type	3,48	5,88	2,35
	GS	n	20	20	20
		Moyenne	40,82	58,01	64,22
		Ecart-type	3,16	5,16	2,47

Probabilité			
Effet collecte		0,000	0,000

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de probabilité de 0,05

Annexe XII : Effet du type de collecte sur les résultats de qualité osseuse

Type collecte		Poids animal J24 (g)	Poids tibia J24 (g)	Longueur tibia (mm)	Petit diamètre tibia (mm)	Grand diamètre tibia (mm)	Force tibia à la résistance (N)	MS tibia (%)	MM tibia (% MS)	Ca tibia (% MS)	P tibia (% MS)	
T	CT	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		Moyenne	949,3	8,94	82,19	6,08	6,82	146,9	36,45	29,72	10,51	4,56
		Ecart-type	58,3	0,42	2,53	0,50	0,55	20,6	2,28	0,97	0,53	0,22
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	1170,3	9,60	84,00	6,60	7,30	253,0	36,20	35,50	13,20	6,00
		Ecart-type	58,9	1,10	3,71	0,54	0,48	52,0	0,93	1,31	0,66	0,24
A1	CT	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		Moyenne	946,3	8,60	81,71	6,29	6,77	183,4	37,57	32,86	11,73	5,05
		Ecart-type	73,4	0,94	2,54	0,83	0,73	37,7	1,24	1,31	0,62	0,55
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	1073,5	9,30	83,63	6,44	7,34	197,1	35,75	33,82	12,62	5,66
		Ecart-type	74,2	1,50	4,61	0,82	1,02	31,9	1,65	2,02	0,63	0,41
A3	CT	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		Moyenne	944,5	9,00	81,87	6,08	6,38	197,4	37,83	29,41	10,46	4,74
		Ecart-type	52,9	0,75	2,27	0,27	0,43	36,5	1,90	3,35	1,26	0,63
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	1140,8	9,65	84,77	6,33	6,97	167,9	33,71	33,69	12,45	5,57
		Ecart-type	69,6	0,44	2,05	0,47	0,40	29,5	0,50	1,02	0,55	0,11
A1+Ph	CT	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		Moyenne	954,3	9,12	83,59	6,29	7,00	198,5	37,64	31,47	11,15	4,70
		Ecart-type	51,7	0,39	1,18	0,43	0,23	13,9	0,85	1,45	0,63	0,65
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	1142,3	8,97	81,02	6,06	6,92	209,0	35,01	34,88	13,05	5,76
		Ecart-type	122,8	0,96	3,98	0,44	0,15	55,7	2,28	3,91	1,75	0,74
Ph	CT	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
		Moyenne	955,0	8,81	81,20	5,87	6,69	210,4	38,62	31,42	11,20	4,77
		Ecart-type	58,2	0,60	3,22	0,46	0,40	48,7	1,81	1,74	0,84	1,19
	GS	n	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
		Moyenne	1185,0	9,69	85,46	6,12	6,85	216,7	35,59	34,10	12,76	5,73
		Ecart-type	50,4	1,16	2,25	0,51	0,50	14,3	1,01	1,24	0,63	0,26

Annexe XII : Effet du type de collecte sur les résultats de qualité osseuse (suite)

	Type collecte		Poids animal J24 (g)	Poids tibia J24 (g)	Longueur tibia (mm)	Petit diamètre tibia (mm)	Grand diamètre tibia (mm)	Force tibia à la résistance (N)	MS tibia (%)	MM tibia (% MS)	Ca tibia (% MS)	P tibia (% MS)	
Total	CT	n	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	
		Moyenne	949,9	8,89	82,11	6,12	6,73	187,3	37,62	30,98	11,01	4,76	
		Ecart-type	53,0	0,61	2,32	0,50	0,49	37,6	1,67	2,17	0,88	0,66	
	GS	n	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
		Moyenne	1142,4	9,44	83,80	6,30	7,10	208,7	35,20	34,40	12,80	5,70	
		Ecart-type	80,7	1,00	3,45	0,55	0,56	45,3	1,54	2,06	0,89	0,40	

Probabilité												
Effet collecte		0,000	0,043	NS	NS	NS	NS	NS	0,000	0,000	0,000	0,000

Les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes au seuil de probabilité de 0,05

