

Modulation de l'utilisation digestive du phosphore chez le porcelet sevré : influence de l'apport de calcium et de phytase sur le pH et la solubilité des minéraux au niveau gastro-intestinal

Agnès NARCY (1), Marie-Pierre LÉTOURNEAU-MONTMINY (2), Eddy BOUZOUAGH (1),
Nathalie MÊME (1), Michel MAGNIN (3), Jean-Yves DOURMAD (4)

(1) INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380 Nouzilly

(2) Agriculture et Agroalimentaire Canada, Sherbrooke, QC, J1M 1Z3 Canada

(3) BNA-NA, F-53200 Château-Gontier

(4) INRA-Agrocampus Ouest, UMR1079 SENAH, F-35590 Saint-Gilles

anarcy@tours.inra.fr

Avec la collaboration technique de M. ALIX, H. DEMAY, F. FAVREAU, G. GUILLEMOIS, F. LE GOUVEVE, R. JANVIER, F. LAVIRON, J. LIGER, F. PONTRUCHER

Modulation de l'utilisation digestive du phosphore chez le porcelet sevré : influence de l'apport de calcium et de phytase sur le pH et la solubilité des minéraux au niveau gastro-intestinal

L'étude a été menée afin d'évaluer l'effet de l'apport de phytase microbienne (0 et 1000 FTU/kg) selon trois concentrations alimentaires de calcium (Ca, 0,50, 0,75 et 1,00%) sur l'utilisation digestive du phosphore (P) chez le porcelet sevré. Après une période d'adaptation de 5 jours avec un aliment standard, 40 porcelets mâles sevrés ont été répartis par blocs selon leur poids vif et ont reçu un des six régimes expérimentaux durant 29 jours. Une collecte totale des urines et des fèces a été réalisée entre le 15^{ème} et le 24^{ème} jour d'expérimentation. Le jour de l'abattage, le fémur et les digesta de l'estomac et des différents segments de l'intestin grêle ont été prélevés. La phytase a augmenté la digestibilité du P ($P < 0,001$), indépendamment de l'apport calcique, alors que l'abaissement de Ca a amélioré légèrement la digestibilité du P ($P < 0,01$), avec ou sans phytase. En revanche, pour les aliments contenant de la phytase, l'abaissement de la teneur en Ca a provoqué une élimination urinaire accrue de P (Ca x phytase, $P < 0,001$). Le pH des différents segments suivait un gradient proximo-distal croissant (segment, $P < 0,001$) mais ne différait pas entre les traitements. En dépit de l'absence d'effet sur le pH, une relation négative entre le pH de l'estomac et les proportions de P inorganique (Pi) et de Ca soluble a été établie. Dans le même compartiment, l'ajout de phytase favorisait la solubilité du Pi de façon d'autant plus importante que la teneur en Ca était faible (Ca x phytase, $P = 0,055$). Ainsi, en présence de phytase, la baisse de solubilité du P dans l'estomac liée à un apport élevé en Ca ne semblait pas constituer une étape limitante quant à l'efficacité de l'enzyme à améliorer l'absorption digestive de P.

Modulation of phosphorus digestive utilisation in weanling pigs: influence of dietary calcium and phytase on gastro-intestinal digesta pH and mineral solubility

The study was conducted to evaluate the impact of microbial phytase (0 and 1000 FTU/kg) according to three dietary concentrations of calcium (Ca, 0.50, 0.75 et 1.00%) on the digestive utilisation of phosphorus (P) in weanling pigs. After a 5 day adaptation period under a standard diet, 40 male weanling pigs were blocked by weight and allotted to one of the six dietary treatments in a 29 day experiment. Total collection of urines and faeces were performed between the 15th and the 24th days of the experimental period. At the end of the experiment, the left femur and the digesta of the stomach and of the different parts of the small intestine were removed. Phosphorus digestibility was improved in diets supplemented with phytase ($P < 0.001$) whatever Ca concentration, whereas it was depressed by increased dietary Ca ($P < 0.01$). However, in piglets given diets with phytase, reduction of Ca concentration increased urinary losses of P (Ca x phytase, $P < 0.001$). The pH of the different segments followed an increasing proximo-distal gradient (segment, $P < 0.001$) but did not differ among the treatments. Nevertheless, a negative relation was observed between the gastric pH and the proportion of soluble inorganic P (iP) and Ca. In the same segment, phytase improved iP, especially in low-Ca diets (Ca x phytase, $P = 0.055$). In diets with phytase, the decrease in gastric P solubility due to high dietary Ca content did not appear to be a limiting step regarding the enzyme efficacy in ameliorating P digestibility.

INTRODUCTION

Depuis le début des années 90, l'utilisation de la phytase microbienne dans les aliments pour porcs s'est généralisée contribuant à diminuer les apports de phosphore (P) sous forme minérale. De nombreuses études ont conclu que l'efficacité de la phytase microbienne chez le porc était améliorée par des teneurs en calcium (Ca) faibles et des ratio Ca: P relativement bas (Lantzsich *et al.*, 1995 ; Qian *et al.*, 1996 ; Liu *et al.*, 1998). Selon ces auteurs, l'impact négatif de teneurs élevées en Ca proviendrait de la précipitation progressive des molécules de phytates en complexes hautement insolubles Ca-phytates dans le tractus digestif, limitant l'absorption du P (Maenz *et al.*, 1999). Cependant, ces résultats sont aujourd'hui soumis à controverse par

divers auteurs (Adeola *et al.*, 2006 ; Selle *et al.*, 2009 ; Létourneau- Montminy *et al.*, 2010), en raison du dispositif expérimental inapproprié de ces études avec en particulier l'absence systématique de témoins sans phytase.

De nombreuses questions concernant l'influence de la teneur alimentaire en Ca sur la dégradation des phytates par la phytase demeurent. Le présent essai a ainsi été réalisé dans le but de tester l'impact de divers ratios Ca: P dans des régimes légèrement sub-déficients en P sur l'utilisation digestive du P et de ses répercussions à l'échelle métabolique chez le porcelet. L'estomac étant reconnu pour être le site majeur d'hydrolyse des phytates par la phytase (Yi et Kornegay, 1996), le pH et la solubilité du Ca et du P inorganique (Pi), forme de P potentiellement absorbable, ont été étudiés dans ce segment.

Tableau 1 - Niveaux d'incorporation des sources de calcium et phosphore et de phytase microbienne dans les aliments expérimentaux¹ et caractérisation analytique

Niveaux de Ca	BCa		MCa		HCa	
Niveaux de phytase	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+
Ingrédients, % matière fraîche						
Amidon de maïs	1,44	1,44	0,78	0,78	0,12	0,12
Carbonate de calcium	0,55	0,55	1,21	1,21	1,87	1,87
Phosphate monocalcique	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65	0,65
Phytase microbienne ²	-	0,009	-	0,009	-	0,009
Caractéristiques analytiques						
Matière sèche, %	87,8	88,1	88,2	88,1	88,3	88,4
Calcium (Ca), %	0,52	0,51	0,77	0,76	1,00	0,99
Phosphore total (Pt), %	0,50	0,49	0,49	0,50	0,51	0,49
Phosphore digestible (Pdig), %	0,22	0,34	0,22	0,34	0,22	0,34
Phytase ³ , FTU/kg	<50	860	<50	830	<50	830
Ca: Pt	1,1	1,1	1,6	1,5	2,0	2,0
Ca: Pdig	2,4	1,5	3,6	2,2	4,8	2,9

¹Tous les aliments contiennent : maïs (64,7%), tourteau de soja (28,0%), huile de soja (3,00%), L-Lysine HCl (0,44%), DL-méthionine (0,19%), L-thréonine (0,18%), L-tryptophane (0,07%), NaCl (0,30%), mélange d'oligoéléments et vitamines (0,50%).

²Natuphos®, produit par *Aspergillus niger* (11000 FTU / g, BASF SE, Ludwigshafen, Allemagne).

³Analysé comme décrit dans la section Matériels et méthodes.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Aliments expérimentaux

Les aliments expérimentaux à base de maïs et de tourteau de soja ont été formulés de façon à satisfaire l'ensemble des besoins nutritionnels des porcelets en croissance (INRA, 1989 ; INRA-AFZ, 2004) à l'exception du Ca et du P (Tableau 1). Ils ne différaient entre eux que par leur teneur en Ca (0,50 : BCa, 0,75 : MCa, 1,00% : HCa) et leur activité phytasique (0 : PHYT- ou 1000 FTU/kg: PHYT+ ; Natuphos®, produite par *Aspergillus niger*, BASF AG, Ludwigshafen, Allemagne, 11000 FTU/g). Les trois régimes contenant la phytase microbienne ont été formulés à 0,34% de P digestible (Pdig ; INRA-AFZ, 2004), niveau légèrement sub-limitant de P, dont 0,12% de P digestible apporté par la phytase microbienne (Kornegay, 2001). Le P total (Pt) attendu était de 0,49%.

Les rapports Ca: Pt étaient de 1,0, 1,5 et 2,0 respectivement pour les régimes BCa, MCa et HCa. Les matières premières ont été broyées à l'aide d'un broyeur à marteau muni d'une grille de 2,5mm avant d'être mélangées.

L'aliment a ensuite été granulé en veillant à ce que la température ne dépasse pas 65°C pour éviter toute détérioration de la phytase.

1.2. Animaux et conduite expérimentale

Cinquante porcelets mâles croisés Piétrain x (Landrace x Large White) pesant en moyenne $8,7 \pm 0,8$ kg au sevrage (28 jours) ont été utilisés dans l'expérimentation qui comprenait deux répétitions (25 porcelets par répétition).

Pendant les 5 premiers jours, les porcelets ont été placés par paire dans des cages et ont reçu un aliment standard 1^{er} âge permettant de couvrir l'ensemble de leurs besoins nutritionnels (INRA, 1989).

Après une nuit de jeûne, chaque individu a été pesé et 40 porcelets (soit 20 porcelets par répétition) ont été sélectionnés et répartis en 4 blocs de 7 et 2 blocs de 6 animaux sur la base de la portée et du poids vif.

Les animaux ont ensuite été placés individuellement en cages métaboliques dans une salle maintenue à $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ et se sont vus attribuer un des 6 régimes expérimentaux.

Pendant les 30 jours de la période expérimentale, les animaux ont reçu une quantité d'aliment correspondant à 4% de leur poids vif en 2 repas par jour. Quatorze jours après le début de la période expérimentale, les fèces et les urines ont été collectées en totalité, séparément et quotidiennement pendant 10 jours consécutifs.

Le jour de l'abattage, chaque porc a reçu la première moitié de sa ration quotidienne le matin puis la seconde 2 h 30 avant d'être abattu l'après-midi.

Les porcelets ont été abattus par saignée après avoir été anesthésiés par choc électrique. Immédiatement après l'euthanasie, les contenus de l'estomac, du duodénum, du jéjunum et de l'iléum ont été prélevés séparément, pesés et homogénéisés avant mesure du pH et congélation pour analyses ultérieures de la solubilité du P et du Ca.

Le fémur gauche de chaque porcelet a été prélevé.

1.3. Analyses chimiques

Toutes les analyses ont été réalisées en double. L'activité phytasique dans les régimes a été mesurée par colorimétrie après incubation dans une solution de phytate de sodium (Engelen *et al.*, 1994).

La matière sèche et le pourcentage de cendres du fémur ont été déterminés respectivement après séchage à 103°C durant 12h et incinération à 550°C pendant 16h.

Les matières sèches des régimes expérimentaux, des fèces et des contenus digestifs ont été mesurées après 4h à 103°C avant d'être incinérés (550°C, 8h). Les cendres ont ensuite été solubilisées dans l'acide nitrique 16N et le peroxyde d'hydrogène 30% sur un bain à sec jusqu'à évaporation, et finalement diluées dans l'acide nitrique 0,4N.

Le Ca a été dosé par spectrométrie d'absorption atomique (SOLAAR M6, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) et le Pi par colorimétrie à l'aide d'un kit-UV (BioMérieux SA, Lyon, France).

1.4. Analyses statistiques

Les données ont été analysées par ANOVA avec la procédure MIXED de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). Le modèle incluait la teneur alimentaire en Ca (BCa, MCa et HCa) ainsi que l'activité phytasique (PHYT-, PHYT+) comme facteurs principaux. Pour l'analyse des pH des contenus digestifs, l'effet du segment a également été considéré. Les effets linéaire (L) et quadratique (Q) relatifs à la teneur en Ca ont été testés au moyen de la méthode des contrastes en l'absence d'interaction Ca*PHYT. Le porcelet était considéré comme l'unité expérimentale. Les relations entre le pH des digesta et les proportions de P inorganique et de Ca solubles ont été établies à l'aide de la procédure REG de SAS.

Tableau 2 - Performances de croissance et caractéristiques du fémur des porcs en fonction des teneurs alimentaires de calcium et de phytase microbienne

	BCa		MCa		HCa		Statistiques ¹		
	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	ETR	Ca	PHYT
n²	7	7	6	6	7	7			
Performances de croissance									
Poids vif initial, kg	9,64	9,85	9,67	9,65	9,85	9,63	0,44	ns	ns
Poids vif final, kg	19,4	19,7	19,0	19,4	18,9	18,8	0,75	0,088	ns
GMQ, g/j	405	410	389	406	379	383	20,4	<0,01(L)	ns
Consommation, g/j	494	493	497	498	490	487	19,8	ns	ns
IC, g/g	1,22	1,20	1,28	1,23	1,30	1,27	0,04	<0,001(L)	0,042
Caractéristiques du fémur									
MS, g	33,4	37,1	32,1	36,2	33,4	35,4	2,61	ns	<0,001
Cendres, g	10,9	13,2	10,4	13,2	11,4	12,8	1,10	ns	<0,001
Cendres, % MS	32,8	35,6	32,2	36,5	34,2	36,2	2,55	ns	<0,001

¹ETR = écart type résiduel ; valeurs de P des effets simples Ca et PHYT, l'interaction Ca*PHYT n'était jamais significative; contraste linéaire : L ; ns : P > 0,1.

²Nombre de porcelets par traitement.

Tableau 3 – Bilan de phosphore en fonction des teneurs alimentaires de calcium et de phytase microbienne

	BCa		MCa		HCa		Statistiques ¹			
	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	ETR	Ca	PHYT	Ca*PHYT
Ingéré, g/j	3,02	2,94	3,11	3,07	3,06	3,05	0,09	0,010 (L, Q)	ns	ns
Excrété fécal, g/j	1,29	0,66	1,39	0,76	1,44	0,82	0,09	<0,001 (L)	<0,001	ns
Excrété urinaire, mg/j	19,5	251	23,3	40,3	18,8	19,2	0,03	<0,001	<0,001	<0,001
Absorbé, g/j	1,74	2,28	1,72	2,30	1,62	2,23	0,11	0,091	<0,001	ns
Retenu, g/j	1,72	2,03	1,70	2,26	1,61	2,21	0,10	0,039	<0,001	0,001
Absorption, %	57,3	77,5	55,1	74,9	52,9	73,2	2,94	<0,01 (L)	<0,001	ns
Rétention, %	56,6	68,9	54,4	73,6	52,3	72,6	3,06	ns	<0,001	<0,01
Excrété urinaire/absorbé, %	1,19	11,1	1,36	1,70	1,18	0,82	1,10	<0,001	<0,001	<0,001

¹ETR = écart type résiduel ; valeurs de P des effets simples Ca et PHYT et de l'interaction Ca*PHYT ; contraste linéaire : L, contraste quadratique : Q ; ns : P > 0,1.

2. RESULTATS

2.1. Performances de croissance et caractéristiques du fémur

La teneur en Ca et l'addition de phytase dans les rations n'ont pas influencé significativement le poids vif final ($P = 0,088$), ni la consommation quotidienne ($P > 0,10$) des porcelets (Tableau 2). Le gain moyen quotidien (GMQ) des animaux a en revanche été diminué de 2,5 et 6,6% lorsque la concentration de Ca dans l'aliment augmentait respectivement de 5 à 7,5 et de 5 à 10 g/kg (contraste linéaire : L, $P < 0,01$), provoquant une hausse de l'indice de consommation (IC) de 1,21 à 1,25 et 1,28 (L, $P < 0,001$). L'addition de phytase a eu, quant à elle, un effet positif sur l'IC (1,26 vs 1,23, $P = 0,042$).

La teneur en MS et en cendres du fémur ainsi que la concentration en cendres étaient indépendantes de la teneur en Ca des aliments alloués ($P > 0,10$).

Néanmoins, les animaux recevant les régimes supplémentés en phytase présentaient une amélioration significative des caractéristiques du fémur ($P < 0,001$) comparativement aux animaux nourris avec les régimes exempts de phytase avec une augmentation de respectivement 9,8, 20 et 9,2% du poids sec, du poids de cendres et de la teneur en cendres du fémur (Tableau 2).

2.2. Bilan de phosphore

Bien que les quantités de matière sèche ingérée quotidiennement sur la période de bilan étaient homogènes entre les groupes ($P > 0,05$), le flux de P ingéré était

dépendant du niveau alimentaire de Ca avec une augmentation d'environ 3% lorsque la concentration de Ca passait de 5,0 à 7,5 et 10 g/kg (L, contraste quadratique : Q, $P = 0,01$; Tableau 3). L'augmentation de la teneur en Ca de 5,0 à 7,5 et de 5,0 à 10 g/kg a induit une hausse de 10,6 et 16,3% du flux d'excrétion fécale de P (L, $P < 0,001$) tandis que l'addition de phytase l'a réduit de 83,9% ($P < 0,001$). Cependant, seul un effet significatif de l'addition de phytase persiste sur le flux de P absorbé (+34,2% ; $P < 0,001$).

Notons toutefois que la teneur en Ca a eu tendance à diminuer le flux de P absorbé de 3,9% ($P = 0,091$). Le % d'absorption de l'élément a ainsi été réduit de 4,3 points pour une teneur en Ca passant de 5 à 10 g/kg (L, $P < 0,001$) mais augmentée de 20,1 points chez les animaux supplémentés en phytase ($P < 0,001$). Par ailleurs, l'effet de la teneur alimentaire en Ca sur le flux de P excrété dans les urines, le flux de P retenu, le % de rétention et le % d'excrétion urinaire de P dépendaient de la présence de phytase ($P < 0,001$).

En effet, chez les animaux recevant le régime contenant 5 g/kg de Ca et supplémenté en phytase, le flux de P urinaire était multiplié par 10 par rapport aux animaux des 5 autres régimes induisant une augmentation du taux d'élimination urinaire (excrété urinaire/absorbé, %) de près de 10 points. Ainsi, chez les animaux nourris avec les régimes sans phytase, la quantité de P retenu et le % de rétention diminuaient quand la teneur en Ca de l'aliment passait de 5 à 10 g/kg (1,72 vs 1,61 g/j et 56,6 vs 52,3%) alors que ces paramètres augmentaient (2,03 vs 2,21 g/j et 68,9 vs 72,6%) chez les animaux recevant les régimes supplémentés en phytase.

Tableau 4 - pH des contenus digestifs en fonction des teneurs alimentaires de calcium et de phytase microbienne

	BCa		MCa		HCa		Statistiques ¹			
	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	ETR	Ca	PHYT	Segment
Estomac	4,80	4,51	4,77	4,50	4,82	4,75	0,39	ns	ns	<,0001
Duodénum	5,63	5,54	5,44	5,77	5,70	5,67	0,72			
Jéjunum	6,69	6,52	6,65	6,57	6,84	6,71	0,26			
Iléum	7,06	6,88	7,32	7,20	7,32	6,86	0,45			

¹ETR = écart type résiduel ; valeurs de P des effets simples Ca, PHYT et segment, les interactions Ca*PHYT, Ca*segment et PHYT*segment n'étaient jamais significatives ; ns : $P > 0,1$.

Tableau 5 - Solubilité du phosphore et du calcium au niveau gastrique en fonction des teneurs alimentaires de calcium et de phytase microbienne

	BCa		MCa		HCa		Statistiques ¹			
	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	PHYT-	PHYT+	ETR	Ca	PHYT	Ca*PHYT
P total, % ²	0,408	0,398	0,470	0,377	0,434	0,471	0,063	ns	ns	0,045
Pi soluble, % ²	0,064	0,140	0,089	0,107	0,065	0,110	0,025	ns	<0,001	0,020
Pi soluble, % P total ³	15,8	36,0	19,1	28,4	15,2	24,1	0,66	0,05	<0,001	0,055
Ca total, % ²	0,524	0,458	0,750	0,670	0,860	0,942	0,524	<0,001 (L)	ns	ns
Ca soluble, % ²	0,100	0,173	0,248	0,164	0,180	0,176	0,105	ns	ns	ns
Ca soluble, % Ca total ³	20,9	38,2	33,4	24,9	22,0	19,5	1,46	ns	ns	0,077

¹ETR = écart type résiduel ; valeurs de P des effets simples Ca et PHYT et de l'interaction Ca*PHYT ; contraste linéaire : L ; ns : $P > 0,1$.

²Teneur en P inorganique soluble ou en calcium soluble en % de contenu sec.

³Proportion de P inorganique soluble en % de P total ou de Ca soluble en % de Ca total du contenu sec.

2.3. pH et solubilité des éléments minéraux dans les contenus gastriques et intestinaux

Le pH des différents segments digestifs était indépendant de la teneur en Ca et de l'addition de phytase ($P > 0,10$; Tableau 4). Ce dernier suivait, cependant, un gradient proximo-distal : 4,69, 5,62, 6,66 et 7,10 de moyenne au niveau de l'estomac, du duodénum, du jéjunum et de l'iléum respectivement. Dans le régime MCaPHYT+, la teneur en P total dans les digesta était plus faible que dans le régime MCaPHYT- (Ca*PHYT, $P = 0,045$, Tableau 5).

La teneur (%) en P inorganique soluble a été multipliée par 2,2, 1,2 et 1,7 suite à l'addition de phytase respectivement pour les régimes BCa, MCa et HCa (Ca*PHYT, $P = 0,020$). L'addition de phytase a par ailleurs amélioré la proportion (% P total) de P inorganique soluble de 20,, 9,3 et 8,9 points respectivement pour les BCa, MCa et HCa (Ca*PHYT, $P = 0,055$). La teneur en Ca total des digesta augmentait de façon linéaire avec l'apport de Ca (L, $P < 0,001$).

L'apport de phytase a eu tendance à augmenter la proportion de Ca soluble dans les régimes BCa (20,9 vs 38,2%) mais à diminuer dans les régimes MCa (33,4 vs 24,9%, Ca*PHYT, $P = 0,077$).

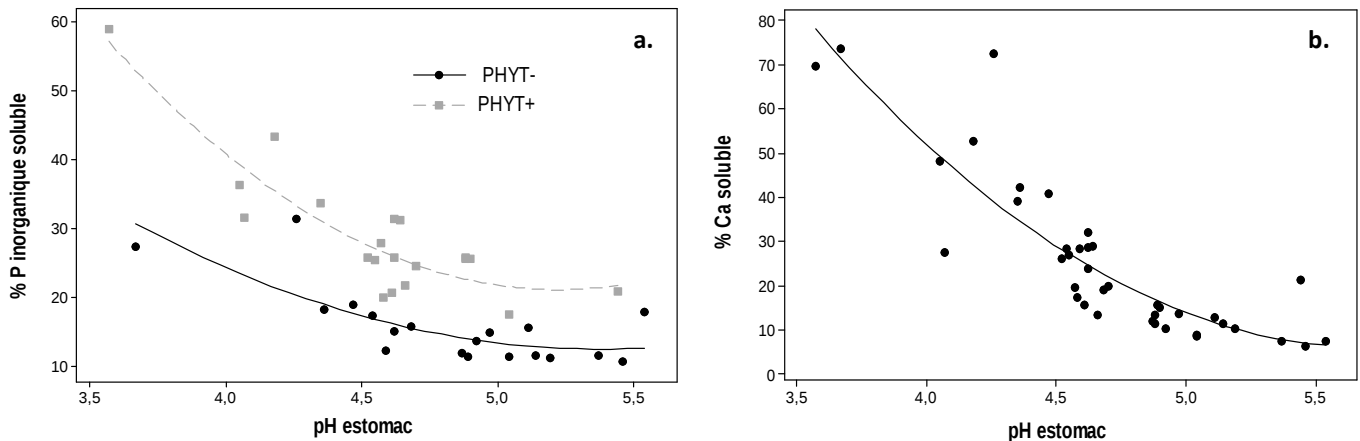


Figure 1 - Relation entre le pH et la proportion de phosphore inorganique soluble (a. PHYT- : % Pi soluble = 193 ($P = 0,010$) - 67,3 ($P = 0,030$) pH + 6,25 ($P = 0,054$) pH², R²=61,3, ETR=3,6 ; PHYT+ : % Pi soluble = 381 ($P < 0,001$) - 138 ($P = 0,001$) pH + 13,2 ($P = 0,004$) pH², R²=80,3, ETR=4,4) et de calcium soluble (b. % Ca soluble = 523 ($P < 0,001$) - 182 ($P < 0,001$) pH + 15,9 ($P = 0,003$) pH², R²=78,1, ETR=8,7) dans l'estomac.

3. DISCUSSION

L'ajout de phytase microbienne a permis d'augmenter significativement l'utilisation digestive du P qui s'est répercutée favorablement sur l'IC illustrant le besoin spécifique en P pour la croissance. L'apport supplémentaire de Pdig par la phytase représentait 1,3 g de Pdig par kg d'aliment, valeur conforme à celle proposée par Kornegay (2001) (1,2 g de Pdig pour 1000 FTU). La supplémentation des rations en phytase microbienne permet ainsi de limiter fortement l'excrétion de P au niveau fécal (-0,65 g de P par animal et par jour). Parallèlement, l'augmentation de la concentration alimentaire de Ca s'est traduite par une détérioration linéaire des performances de croissance. Les résultats du présent travail ont par ailleurs confirmé que cet effet délétère de l'apport de Ca était lié à une moindre efficacité d'absorption du P se traduisant par des pertes fécales supplémentaires pouvant atteindre 0,16 g de P par animal et par jour. Létourneau-Montminy *et al.* (2010) avaient précédemment montré une baisse de digestibilité du P de l'ordre de 4 points en augmentant le ratio Ca: P de 1,3 à 1,9 dans des régimes contenant 0,55% de P total. Cet effet négatif du Ca sur la disponibilité digestive du P serait lié à la formation de complexes insolubles Ca-phosphates (Cromwell, 1996) ou Ca-phytates (Maenz *et al.*, 1999). Il est à noter cependant que dans la présente étude, l'effet de la phytase microbienne sur la digestibilité du P n'a pas été affecté par la concentration alimentaire en Ca confirmant les résultats de précédents travaux (Adeola *et al.*, 2006 ; Létourneau-Montminy *et al.*, 2010).

L'estomac, de par son pH acide favorable à l'activité de la phytase, représenterait le site majeur d'hydrolyse des phytates au niveau du tractus digestif. Les résultats montrent que le pH des digesta au niveau gastrique variait de 4,50 à 4,82, valeurs pour lesquelles la phytase utilisée est proche de son rendement maximal d'hydrolyse (Engelen *et al.*, 1994). Aucun effet notable de la teneur en Ca n'a été mise en évidence sur le pH gastrique bien qu'elle ait été ajustée par ajout de carbonate de Ca à fort pouvoir tampon (Lawlor *et al.*, 2005). D'après la figure 1, en dépit de l'absence d'effet de la teneur en Ca ou de l'addition de phytase sur le pH, une relation négative entre le pH de l'estomac et les proportions de Pi et de Ca soluble, formes potentiellement absorbables au niveau intestinal, a été établie. Le maintien d'un pH acide au niveau gastrique pourrait donc être particulièrement favorable à l'absorption des minéraux, notamment au niveau du duodénum proximal (zone d'absorption intense) où l'acidité du bol alimentaire n'est pas encore totalement neutralisée par les substances tampons d'origine pancréatique et biliaire notamment.

D'après les résultats du tableau 5, l'augmentation du ratio Ca: P dans les régimes avec phytase semble compromettre la solubilité du Pi au niveau gastrique pouvant refléter une insolubilisation des phytates (Maenz *et al.*, 1999).

Cependant, ce phénomène ne semble pas constituer un facteur limitant quant à l'efficacité de l'enzyme à améliorer la digestibilité du P. L'augmentation du pH le long de l'intestin grêle (Tableau 4) s'avère particulièrement défavorable à la solubilisation du P et du Ca (Moore et Tyler, 1955).

Des complexes insolubles Ca-phytates et Ca-phosphates sont en effet susceptibles de se former réduisant par ce biais l'absorption des minéraux (Hurwitz et Bar, 1971 ; Heaney et Nordin, 2002). Cependant, il est peu probable qu'une activité significative d'hydrolyse par la phytase persiste au niveau de l'intestin grêle (pH défavorable) impliquant que l'effet négatif du Ca soit davantage lié à la formation de complexes Ca-phosphates.

Par ailleurs, chez les porcelets nourris avec les régimes supplémentés en phytase, la rétention du P est d'autant plus importante que l'apport en Ca alimentaire est élevé. Les fuites urinaires de P chez les animaux nourris avec le régime pauvre en Ca et supplémenté en phytase proviennent directement d'un manque de Ca pour la fixation du P au niveau de l'os (Pointillart *et al.*, 1983).

Cette perte de P dans les urines est loin d'être négligeable puisqu'elle représente près de 43% de la quantité de P absorbé en plus grâce à la phytase (soit 0,23 g par animal et par jour).

CONCLUSION

Dans un contexte de baisse des apports en P, l'utilisation d'un ratio Ca: Pdig élevé (2,9) réduit la digestibilité du P et les performances de croissance indépendamment de la présence de phytase. Dans ces conditions, la baisse de solubilité du P dans l'estomac liée à un apport élevé de Ca ne semble pas constituer une étape limitante quant à l'efficacité de l'enzyme à améliorer l'absorption digestive de l'élément. L'utilisation d'un tel ratio (Ca: Pdig = 2,9) permet néanmoins de minimiser les pertes urinaires de P et son excrétion globale dans l'environnement. L'apport en Ca devra donc être ajusté en fonction du critère considéré. Par ailleurs, compte tenu des diverses interactions digestives et métaboliques entre le P et le Ca, la prise en compte d'une valeur de Ca digestible pourrait permettre à terme d'ajuster au mieux les apports phosphocalciques. Le développement de modèles mécanistes intégrant l'ensemble de ces phénomènes devrait contribuer à cette démarche.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adeola O., Oluski O.A., Jendza J.A., Dilger R.N., Bedford M.R., 2006. Response of growing pigs to peniophora lycii- and escherichia coli- derived phytases or varying ratios calcium to total phosphorus. Anim. Sci., 83, 637-644.
- Cromwell G. L., 1996. Metabolism and role of phosphorus, calcium, and vitamin D3 in swine nutrition. In: M. B. Coelho et E. T. Kornegay (Eds), Phytase in animal nutrition and waste management, 101-110. BASF Corporation, Mount Olive, NJ.
- Engelen, A.J., van der Heeft F.C., Randsdorp P.H.G., Smit E.L.C., 1994. Simple and rapid determination of phytase activity. J. AOAC Intern., 77, 760-764.
- INRA, 1989. L'alimentation des animaux monogastriques: Porc, lapin, volailles. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 282 p.
- INRA-AFZ, 2004. Tables de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage. Porcs, volailles, bovins, ovins, caprins, lapins, chevaux, poissons. D. Sauvant, J.-M. Pérez, G. Tran (Eds), INRA, Paris, 301 p.
- Heaney R.P., Nordin B.E., 2002. Calcium effects on phosphorus absorption: Implications for the prevention and co-therapy of osteoporosis. J. Am. Coll. Nutr. 21:239-244.
- Hurwitz S., Bar A., 1971. Calcium and phosphorus interrelationships in the intestine of the fowl. J. Nutr., 101, 677-686.
- Kornegay E.T., 2001. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: M. R. Bedford et G. G. Partridge (Eds), Enzymes in Farm Animal Nutrition, 237-271. CAB International, Wallingford, UK.
- Lantzsch H.J., Wjst S., Drochner W., 1995. The effect of dietary calcium on the efficacy of microbial phytase in rations for growing pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr., 73, 19-26.
- Lawlor P.G., Lynch P.B., Caffrey P.J., O'Reilly J.J., O'Connell M.K., 2005. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. Irish Vet. J., 58, 447-452.
- Létourneau-Montminy M.P., Narcy A., Magnin M., Sauvant D., Bernier J.F., Pomar C., Jondreville C., 2010. Effect of reduced dietary calcium concentration and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilization in weanling pigs with modified mineral status. J. Anim. Sci., 88, 1706-1717.
- Liu J., Bollinger D.W., Ledoux D.R., Veum T.L., 1998. Lowering the dietary calcium to total phosphorus ratio increases phosphorus utilization in low-phosphorus corn-soybean meal diets supplemented with microbial phytase for growing-finishing pigs. J. Anim. Sci., 76, 808-813.
- Maenz D.D., Engele-Schaan C.M., Newkirk R.W., 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 and in a slurry of canola meal. Anim. Feed Sci. Technol., 81, 177-192.
- Moore J.H., Tyler C., 1955. Studies on the intestinal absorption and excretion of calcium and phosphorus in the pig. 1. A critical study of the bergeim technique for investigating the intestinal absorption and excretion of calcium and phosphorus. Br. J. Nutr., 9, 63-80.
- Pointillart A., Fontaine N., 1983. Effet de deux régimes hypocalcémisants sur la rétention et l'absorption du phosphore et du calcium chez le porc en croissance. Journées Rech. Porcine, 15, 375-384.
- Qian H., Kornegay E.T., Conner D.E. Jr., 1996. Adverse effects of wide calcium:Phosphorus ratios on supplemental phytase efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. J. Anim. Sci., 74, 1288-1297.
- Selle P.H., Cowieson A., Ravindran V., 2009. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. Livest. Sci., 124, 126-141.
- Yi Z., Kornegay E.T., 1996. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. Anim. Feed Sci. Technol., 61, 361-368.