

# Réponse des porcelets à la leucine

Anna WESSELS (1), Holger KLUGE (1), Frank HIRCHE (1), Jörg BARTELT (2), Etienne CORRENT (3), Gabriele STANGL (1)

(1) Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Von-Danckelmann-Platz 2, 06120 Halle/Saale, Allemagne

(2) Lohmann Animal Nutrition GmbH, Zeppelinstraße 3, 27472 Cuxhaven, Allemagne

(3) Ajinomoto Eurolysine s.a.s. 153, rue de Courcelles, 75817 Paris Cedex 17, France

Corrent\_Etienne@eli.ajinomoto.com

## Piglet response to leucine

Two studies were performed to describe piglet response to dietary leucine (Leu) and to study the interactions of Leu with the other branched-chain amino acids (BCAA) *i.e.* valine (Val) and isoleucine (Ile). The first study was a dose-response trial with five levels of standardized ileal digestible (SID) Leu to lysine (Lys) ratio (83 – 125%). Diets were provided *ad libitum* to 60 individually caged piglets (12 replicates x 5 treatments; 10 to 25 kg live weight), with a constant and sub-limiting Lys level (0.93% SID). Performances were analyzed with various linear and non-linear models. Maximum growth performance was obtained at a SID Leu:Lys level of 108% (quadratic model) but feeding a 10% deficient diet (97% SID Leu:Lys) only decreases all performance parameters by 1 to 3%, confirming recent findings about a Leu requirement at 101% SID Leu:Lys. In the second study, the excess of Leu was tested (100, 200 and 400% SID Leu:Lys) on 120 piglets (2 piglets per cage fed *ad libitum*; 20 replicates x 3 treatments). Tissue and blood samples were collected on 30 piglets after 6 weeks of feeding to analyze blood plasma AA and branched-chain keto acid dehydrogenase (BCKDH) activity. Increasing the Leu:Lys SID supply (>100%) decreased feed intake and weight gain, increased the BCKDH activity of liver tissue and reduced the Val and Ile plasmatic concentrations. Thus an increased supply of Leu above the Leu requirement decreased the Val and Ile availability, and created an AA imbalance which was detected by the piglets, leading to a reduction in feed intake and growth.

## INTRODUCTION

Les aliments pour porcelets à bas taux protéique améliorent l'efficacité d'utilisation de l'azote et permettent de réduire à la fois les risques sanitaires liés aux excès protéiques atteignant les parties distales du système digestif et les rejets azotés dans l'environnement. Formuler de tels aliments nécessite de contrôler l'apport en acides aminés essentiels (AAE) pour éviter les carences et les déséquilibres entre AA puisque des interactions au sein de groupes d'AA peuvent impacter les performances ; c'est notamment le cas pour le groupe des AA ramifiés (AAR) avec la valine (Val), l'isoleucine (Ile) et la leucine (Leu) qui partagent les mêmes voies cataboliques (Wiltafsky *et al.*, 2010). L'objectif de ce travail est d'affiner le besoin en Leu, AA peu étudié (Gloaguen *et al.*, 2013a) et d'illustrer les mécanismes d'interaction de la Leu avec la Val et l'Ile.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. Animaux et aliments

Deux essais ont été menés avec 60 (étude 1, cases individuelles) et 120 (étude 2, deux animaux par case) porcelets mâles et femelles [(German Landrace x Large White) x Piétrain] élevés entre 10 et 25 kg de poids vif. Sevrés à 28 jours d'âge, les porcelets ont reçu *ad libitum* les aliments expérimentaux une semaine après le sevrage pendant 35 jours. Les aliments étaient iso-protéiques (15%) et iso-énergie nette (10,7 MJ/kg) et apportaient 0,93% de lysine (Lys) digestible iléale standardisée (DIS), niveau estimé sub-limitant dans une étude précédente (non publiée).

Dans l'essai 1, cinq niveaux d'apport de L-Leu ont été testés (de 83 à 125% Leu:Lys DIS) dans un régime blé (27%), maïs (27%), orge (24%), tourteau de soja (5%) et poudre de lait (6%). Les niveaux d'AAE respectaient ceux proposés par Gloaguen *et al.* (2013b), hormis pour la Leu. L'essai 2 étudiait l'effet d'apports élevés de Leu (trois régimes : 100, 200 et 400% Leu:Lys DIS) à partir du même aliment de base que dans l'essai 1.

### 1.2. Mesures et analyses statistiques

Les aliments ont été analysés pour leur teneur en MAT et en AA totaux et déclarés conformes à l'attendu. Dans les deux essais, le poids et la consommation d'aliment ont été mesurés chaque semaine afin de calculer la consommation moyenne journalière (CMJ), le gain moyen quotidien (GMQ) et l'efficacité alimentaire (EA=GMQ/CMJ). Dans l'essai 2, des prélèvements sanguins ont été effectués après 6 semaines sur 10 porcelets par régime pour mesurer la concentration plasmatique en AA et  $\alpha$ -keto-acides libres. Pour chaque traitement, 10 échantillons de foie ont été prélevés afin de déterminer l'activité de la Branched-Chain  $\alpha$ -Keto-acid DeHydrogenase (BCKDH). Dans les deux études, les performances ainsi que les paramètres physiologiques ont été traités par analyse de variance (avec teneur en Leu, sexe et leur interaction comme effets fixes, ces deux derniers non présentés car non significatifs) et comparés par le test de Tukey. La réponse à l'apport de Leu (essai 1) a été modélisée avec les modèles quadratique (Quad), linéaire-plateau et curvilinéaire-plateau (proc MIXED et NLMIXED, SAS, SAS Inst. Inc., Version 9.3, Cary, NC).

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Besoin en leucine des porcelets (essai 1)

Le poids final et le GMQ ont été significativement diminués par le régime le plus bas en Leu:Lys (Tableau 1). Pour les niveaux supérieurs, on observe une réponse à la Leu jusqu'à 104% Leu:Lys DIS puis une stabilisation ou un déclin (poids final et

GMQ,  $P < 0,05$ ; CMJ  $P = 0,19$ ). Entre les trois modèles testés, le Quad semble donc le plus approprié pour représenter la réponse observée, avec un besoin estimé à 108% Leu:Lys DIS. Néanmoins, à une valeur de -10% de ce besoin (97% Leu:Lys DIS) les performances diminuent seulement de 1 à 3% (modèle Quad) selon le critère zootechnique étudié, ce qui semble corroborer le besoin de 101% Leu:Lys DIS estimé par Gloaguen *et al.* (2013a).

**Tableau 1** – Effet des niveaux de leucine (Leu) sur les performances de porcelets et besoins estimés par différents modèles<sup>1</sup>.

Leu:Lys DIS <sup>2</sup> (%)	83	94	104	115	125	ETR <sup>2</sup>	P <sup>2</sup>	Besoin (%) LP <sup>3</sup>	Besoin (%) CLP <sup>3</sup>	Besoin (%) Quad <sup>3</sup>
Poids initial, kg	10±1	10±1	10±1	10±1	10±1					
Poids final, kg	25,3a	27,3b	28,4b	28,3b	26,8ab	0,9	<0,05	97,1	103,8	107,7
CMJ <sup>4</sup> , g/j	615	654	707	686	651	34	0,19	101,8	105,8	107,6
GMQ <sup>4</sup> , g/j	365a	411b	438b	434b	400ab	20	<0,05	97,1	103,8	107,7
EA <sup>4</sup> , g/g	0,59	0,62	0,62	0,62	0,61	0,01	0,13	94,6	97,5	108,3

<sup>1</sup>Les valeurs sont des moyennes ajustées (LSMEANS) <sup>2</sup>P-values de l'effet Leucine; ETR écart type résiduel standardisé. Sur une ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ). <sup>3</sup>Lys : Lysine ; DIS : digestible iléal standardisé. <sup>3</sup>Modèle statistique : LP linéaire-plateau, CLP curvilinéaire-plateau et Quad quadratique. Le besoin étant le niveau permettant d'atteindre la valeur plateau pour LP et CLP et le maximum pour Quad. <sup>4</sup>CMJ consommation moyenne journalière, GMQ gain moyen quotidien, EA efficacité alimentaire.

### 2.2. Effet d'un apport de leucine en excès (essai 2)

Le poids final, la CMJ et le GMQ ont été dégradés (Tableau 2,  $P < 0,05$ ) avec les apports de Leu à 200 et 400% Leu:Lys DIS, seule l'EA n'a pas été affectée ce qui suggère qu'un excès de Leu entraîne une baisse de l'ingéré. Avec l'apport de Leu, les concentrations plasmatiques de Val, d'Ile et de leurs  $\alpha$ -Keto-acides correspondants (KIV et KMV respectivement) ont été significativement réduites tandis que la Leu plasmatique, son keto-acide (KIC) et l'activité de la BCKDH ont été augmentés. Ces résultats confirment ceux de Wiltafsky *et al.* (2010) qui montrent que l'apport de Leu augmente le catabolisme des AAR en contexte Val ou Ile déficient par activation spécifique de la BCKDH par le keto-acide correspondant à la Leu (KIC). Les niveaux de Leu testés ne se retrouvent pas en pratique mais ils indiquent que le profil métabolique des porcelets varie en fonction du niveau de Leu alimentaire. Ceci expliquerait le déclin de la CMJ et du poids final dans l'étude 1 pour les niveaux de Leu au-delà du besoin. Ces effets sur l'ingéré et la capacité des porcelets à détecter les déséquilibres en AAR correspondent aux résultats décrits par Gloaguen *et al.*, 2012.

## CONCLUSION

Un niveau de 108% Leu:Lys DIS maximise les performances de porcelets (10 à 25 kg de poids vif) mais cette valeur semble surestimer le « besoin » si l'on considère la faible réponse obtenue à -10% de ce besoin. Des apports de Leu en excès (> 100% Leu:Lys DIS) entraînent le catabolisme de l'ensemble des AAR et se traduit par une baisse de l'ingéré.

**Tableau 2** – Effet de niveaux de leucine sur les performances, les concentrations plasmatiques en acides aminés et  $\alpha$ -Keto-acides et l'activité enzymatique de la BCKDH<sup>1</sup> chez le porcelet<sup>2</sup>.

	Leu:Lys DIS <sup>3</sup> (%)			ETR <sup>5</sup>	P <sup>6</sup>
	100	200	400		
PVi <sup>4</sup> , kg	10,4±0,8	10,3±0,7	10,4±0,7		
PVf <sup>4</sup> , kg	24,8b	23,7b	21,0a	0,3	<0,05
CMJ <sup>1</sup> , g/j	638c	583b	490a	12	<0,05
GMQ <sup>1</sup> , g/j	411b	379b	322a	8	<0,05
EA <sup>1</sup> , g/g	0,64	0,64	0,64	0,14	0,99
<b>Concentration plasmatique, <math>\mu</math>mol/l</b>					
Leucine	173,3a	326,1a	605,5b	47,3	<0,05
Valine	385,9b	211,6a	152,8a	22,1	<0,05
Isoleucine	135,2b	70,1a	46,4a	8,8	<0,05
KIC <sup>1</sup>	86,6a	92,5a	118,8b	4,8	<0,05
KIV <sup>1</sup>	15,7b	4,4a	2,1a	1,3	<0,05
KMV <sup>1</sup>	53,0b	15,3a	8,5a	4,2	<0,05
<b>Activité de la BCKDH<sup>5</sup> (mU/mg)</b>					
Foie	10,8a	14,8ab	19,0b	1,2	0,012

<sup>1</sup>CMJ consommation moyenne journalière, GMQ gain moyen quotidien, EA efficacité alimentaire, KIC  $\alpha$ -keto-isocaproate, KIV  $\alpha$ -keto-isovalerate, KMV  $\alpha$ -keto  $\beta$ -methylvalerate et BCKDH Branched-Chain  $\alpha$ -Keto-acid DeHydrogenase. <sup>2</sup>Les données sont des moyennes ajustées (LSMEANS) <sup>3</sup>DIS digestible iléal standardisé. <sup>4</sup>Poids vif initial (PVi), final (PVf). <sup>5</sup>ETR écart type résiduel. <sup>6</sup>Probabilité de l'effet leucine. Sur une ligne, les valeurs affectées de lettres différentes sont significativement différentes ( $P < 0,05$ ).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Gloaguen M., Le Floc'h N., Corrent E., Primot Y., van Milgen J., 2012. Providing a diet deficient in Val but with excess Leu results in a rapid decrease in feed intake and modifies postprandial plasma amino acid and  $\alpha$ -keto acid concentrations in pigs. *J. Anim. Sci.*, 90, 3135-3142
- Gloaguen M., Le Floc'h N., Primot Y., Corrent E., van Milgen J., 2013a. Response of piglets to the standardized ileal digestible isoleucine, histidine and leucine supply in cereal-soybean meal-based diets. *Animal*, 7, 901-908.
- Gloaguen M., Le Floc'h N., van Milgen J., 2013b. Couverture des besoins en acides aminés chez le porcelet alimenté avec des régimes à basse teneur en protéines. *INRA Prod. Anim.*, 26, 277-288.
- Wiltafsky M.K., Pfaffl M.W., Roth F.X., 2010. The effects of branched-chain amino acid interactions on growth performance, blood metabolites, enzyme kinetics and transcriptomics in weaned pigs. *Brit. J. Nutr.*, 103, 964-976.