



UNIVERSITÉ FRANÇOIS - RABELAIS DE TOURS



ÉCOLE DOCTORALE SST

ÉQUIPE CROISSANCE ET MÉTABOLISME

THÈSE

présentée par :

Nathalie ROUGIÈRE

soutenue le 26 mai 2010

pour obtenir le grade de : **Docteur de l'université François - Rabelais**

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie

ÉTUDE COMPARÉE DES PARAMÈTRES DIGESTIFS DES POULETS ISSUS DES LIGNÉES GÉNÉTIQUES D⁺ ET D⁻ SÉLECTIONNÉES POUR UNE EFFICACITÉ DIGESTIVE DIVERGENTE

THÈSE dirigée par :

Monsieur CARRÉ Bernard Directeur de Recherches, INRA de Nouzilly

RAPPORTEURS :

Madame CHAMP Martine Directeur de Recherches, INRA de Nantes

Monsieur GUILLOTEAU Paul Directeur de Recherches, INRA de Saint Gilles

JURY :

Monsieur CARRÉ Bernard Directeur de Recherches, INRA de Nouzilly

Madame CHAMP Martine Directeur de Recherches, INRA de Nantes

Monsieur GUILLOTEAU Paul Directeur de Recherches, INRA de Saint Gilles

Monsieur LABARTHE François Professeur des Universités, Université de Tours

Monsieur MALBERT Charles-Henri Directeur de Recherches, INRA de Saint Gilles

Monsieur MINVIELLE Francis Directeur de Recherches, INRA de Jouy en Josas

TABLE DES MATIERES

Remerciements	1
Résumé	3
Résumé en anglais	4
Liste des abréviations françaises	5
Liste des abréviations anglaises	6
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES	7
LISTE DES PUBLICATIONS	14
Introduction générale.....	15
Partie I. Introduction bibliographique	20
I. ANATOMIE ET HISTOLOGIE DE L'APPAREIL DIGESTIF.....	23
1. Organisation du tube digestif du poulet (Figure 1)	23
2. Effet de l'âge sur le développement des organes digestifs	25
3. Effet de l'espèce aviaire et du génotype sur le poids relatif des organes digestifs.	27
3.1. Différences inter-espèces	27
3.2. Influence du génotype sur le poids du proventricule et du gésier (Tableau 2 ; Figures 6).....	27
3.3. Influence du génotype sur le poids de l'intestin grêle.....	27
3.4. Influence du génotype sur le rapport pondéral « Gésier / Intestin grêle »	23
4. Effets des caractéristiques des aliments	23
4.1. Taille des particules alimentaires	23
4.1.1. Cas des régimes présentés sous forme de farine.....	23
4.1.2. Cas des régimes présentés sous forme de granulés	23
4.1.3. Influence de la présence de grains entiers dans les régimes (Tableau 3).....	23
4.2. Granulés versus farine (Tableau 4)	23
4.3. Type de céréale (Tableau 5)	24
4.4. Fibres insolubles (Tableau 6)	24
II. FONCTIONS DIGESTIVES.....	32
1. Sécrétions digestives	32
1.1. Description	32
1.2. PH des contenus digestifs.....	34

1.3. Ontogenèse	35
1.3.1. <i>Enzymes pancréatiques</i>	35
1.3.2. <i>Enzymes intestinales</i>	35
1.4. Facteurs de variation des sécrétions enzymatiques	36
1.4.1. <i>Facteurs génétiques</i>	36
1.4.2. <i>Facteurs alimentaires</i>	36
2. Motricité de l'appareil digestif et transit	37
2.1. Motricité	37
2.1.1. <i>Méthodes de mesure de la motricité chez le poulet</i>	37
2.1.2. <i>Le gésier et le proventricule</i>	37
2.1.3. <i>L'intestin</i>	40
2.2. Transit des digesta dans l'appareil digestif du poulet	42
2.2.1. <i>Notion de transit</i>	42
2.2.2. <i>Techniques de suivi</i>	42
2.2.3. <i>Temps de rétention moyens observés chez le poulet (Tableau 10)</i>	46
2.2.4. <i>Facteurs de variation liés à l'animal (Tableau 10)</i>	48
2.2.5. <i>Facteurs liés à l'aliment</i>	50
2.2.6. <i>Relation entre transit et digestion</i>	51
3. Régulation neuro-humorale de la digestion	52
3.1. Système humoral	52
3.1.1. <i>Présentation des peptides régulateurs (Tableau 12 et figure 11)</i>	52
3.1.2. <i>Stimulation de leur production et facteurs de variation (Tableau 13 et Figure 11)</i>	55
3.2. Système nerveux	55
3.2.1. <i>Le système nerveux intrinsèque (Figure 12)</i>	55
3.2.2. <i>Le système nerveux extrinsèque (Figures 13 et 14)</i>	56
III. FACTEURS DE VARIATION DES EFFICACITES DE DIGESTION, LIEES A L'ANIMAL	58
1. Effets associés à l'âge	58
2. Effets associés à l'anatomie	60
3. Effets associés au transit gastro-intestinal	61
4. Effet de l'origine génétique des animaux	62
4.1. <i>Souches légères versus souches lourdes</i>	62
4.2. <i>Souches à haute ou faible efficacité alimentaire</i>	63

4.3. Lignées expérimentales D ⁺ et D ⁻	64
4.3.1. <i>Processus de sélection</i>	64
4.3.2. <i>Caractéristiques des lignées</i>	64
4.3.3. <i>Évolution au fil des générations de sélection (Figure 17)</i>	23
4.3.4. <i>Interactions entre génotype et aliment</i>	23
4.3.5. <i>Liens entre paramètres digestifs et paramètres anatomiques</i>	67
Partie II. Matériels et Méthodes	68
A. LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX	70
1. Les schémas expérimentaux	70
1.1. Expérience 1: Effets de la granulométrie des régimes sur les paramètres de digestion des poulets D ⁺ et D ⁻ . (Figure 18)	70
1.2. Expérience 2: Effets d'une forte incorporation de coques de tournesol sur les paramètres digestifs des poulets D ⁺ et D ⁻ . (Figure 19).....	72
1.3. Expérience 3: Comparaison de la motricité du gésier des poulets D ⁺ et D ⁻	74
2. Animaux	75
3. Locaux expérimentaux	75
3.1. Cages et sol.....	75
3.2. Éclairage.....	76
3.3. Température	76
4. Alimentation.....	76
5. Période de Bilan - Méthode de bilan digestif avec période de jeûne	78
6. Dissections anatomiques	78
7. Comportement alimentaire/ repas test.....	79
8. Étude du transit digestif.....	79
B. LES METHODES D'ANALYSES	81
1. Énergie Métabolisable	81
2. Mesure de la matière sèche	82
3. Dosage des parois végétales insolubles dans l'eau	82
4. Calcul de la digestibilité apparente	83
5. Dosage de l'amidon.....	83
6. Dosage de l'azote total (méthode Kjeldhal).....	83
7. Dosage de l'acide urique	84
8. Dosage des lipides	84

9. Granulométrie.....	84
9.1. Tamisage sec	84
9.2. Tamisage humide	85
10. Lyophilisation.....	85
11. Marquage des aliments et dosage des marqueurs (pour l'étude du transit digestif) .	86
11.1. Technique de mordantage des fibres végétales	86
11.2. Procédure expérimentale	86
11.3. Dosage des marqueurs dans les excréta et contenus digestifs	87
11.3.1. Dosage du TiO_2	87
a. méthode	87
b. Influence de la présence de chrome sur la concentration en titane	89
11.3.2. Dosage du Cr_2O_3	89
a. Méthode	89
b. Calcul des résultats.....	90
c. Mise au point de la méthode de dosage du chrome.....	91
12. Étude de motricité du gésier	96
12.1. Description du matériel	96
12.2. Enregistrement de la motricité	98
12.2.1 Appareillage/ principe de fonctionnement des jauges de contraintes.....	98
12.2.2 Mesures	98
Partie III. Résultats expérimentaux	101
Première étude. Effets de la granulométrie du régime sur les paramètres digestifs des poulets des lignées D^+ et D^-	102
Deuxième étude. Comparaison du transit digestif chez les poulets des lignées D^+ et D^- ..	107
Troisième étude. Comparaison de l'activité gastrique chez les poulets des lignées D^+ et D^-	115
Partie IV. Discussion	116
1. Performances des poulets D^+ et D^-	117
1.1. Poids vif et croissance des poulets D^+ et D^-	117
1.2. Consommation alimentaire des poulets D^+ et D^-	118
2. Anatomie, fonctionnalité et efficacité digestives chez les poulets D^+ et D^-	118
2.1. Compartiments digestifs proximaux (proventricule et gésier)	119
2.2. Pancréas.....	124

2.3. Intestin grêle	126
2.4. Le rapport des poids [compartiments antérieurs / intestin grêle]	127
2.5. Interactions lignées x âge	129
3. Conclusion.....	131
4. Perspectives	132
Références Bibliographiques.....	134

Remerciements

Je tiens à remercier :

- Messieurs **Yves Nys** et **Michel Duclos**, directeurs successifs de l'Unité de Recherches Avicoles de Nouzilly, pour m'avoir permis d'effectuer cette thèse.
- Monsieur **Bernard Carré** pour son encadrement scientifique durant ces trois années de thèse, et pour ses conseils avisés.
- les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail de thèse :
- Madame **Martine Champ**, Directeur de Recherche à l'INRA-Université de Nantes et
- Monsieur **Paul Guilloteau**, Directeur de Recherche à l'INRA de Saint Gilles, qui ont accepté d'être rapporteurs de la thèse,
- Monsieur **François Labarthe**, Praticien Hospitalier à l'hôpital de Clocheville à Tours
- Monsieur **Charles-Henri Malbert**, Directeur de Recherches à l'INRA de Rennes, qui a accepté d'être examinateur. Je tiens à le remercier aussi pour sa collaboration essentielle dans la dernière étude de cette thèse, pour sa disponibilité, et pour le prêt du matériel (jauges de contraintes, enregistreur..).
- Monsieur **Francis Minvielle**, Directeur de Recherche à l'INRA de Jouy en Josas, pour avoir accepté d'examiner ce travail de thèse.
- **l'entreprise INZO°** pour le financement de cette thèse. Je tiens particulièrement à remercier Mesdames **Claire Launay** et **Carole Margetyal** pour leur suivi pendant ces 3 années, et pour tous les échanges, à Tours et Château-Thierry.
- Madame **Maryline Kouba**, Monsieur **Christophe Bressac**, et Madame **Claire Launay**, pour avoir accepté de participer à mon comité de thèse.
- Madame **Juliette Cognié**, et toute l'équipe de l'hôpital-abattoir de la PRC pour les opérations sur poulets lors de la dernière manip de la thèse.

Au sein de l'URA, je remercie :

- Madame **Joëlle Gomez** pour son aide pendant les premiers mois de la thèse
- Mesdames **Joëlle Roncin** et **Nathaëlle Wacrenier** pour toute l'aide à la documentation
- Madame **Nicole Rideau** pour toute l'aide apportée, sa disponibilité, les nombreuses discussions et l'encouragement qu'elle m'a apportée durant ces trois années
- Madame **Sandrine Grasteau** pour son aide et ses conseils en statistique
- Toute l'équipe Croissance et Métabolisme, ainsi que toutes les personnes de l'équipe Dynamiques Nutritionnelles, pour leur accueil chaleureux, et pour la bonne humeur qui

régnait au rez-de-chaussée. Un grand merci notamment à Messieurs **Philippe Lescoat** et **Michel Lessire**, et à Mesdames **Sophie Tesseraud** et **Irène Gabriel** pour leur soutien et leurs conseils. Merci à Monsieur **Jean-Marc Hallouis** pour sa disponibilité et son aide technique.

- **Aurélien Tolmont** et **Fanny Mérelle**, qui m'ont bien aidée pendant leur stage de BTS.
- Merci également à toutes les personnes qui ont participé aux dissections anatomiques, notamment Messieurs **Michel Derouet**, **Thierry Bordeau**, **Serge Mallet**, et Mesdames **Maryse Lecomte**, **Agnès Narcy**, **Vérane Gigaud**, **Nathalie Même**, **Marie Chabault**, ...
- Monsieur **Kléber Gérard** et Madame **Florence Favreau** pour s'être occupés de l'élevage des poulets.
- Je remercie sincèrement **Sarah Guardia**, colocataire de bureau, pour sa bonne humeur, et toute l'aide et le soutien qu'elle m'a apporté.
- Un grand merci à **Elodie Pillet** pour avoir été là pendant ces 3 années. Après Rennes et Tours, j'espère qu'on se retrouvera dans une autre ville !
- Je remercie toutes les personnes qui m'ont permis d'apprécier ces trois années l'URA, notamment Sarah, Elodie, Hugues, Florence (1 et 2), Marie, Angélique... et tant d'autres. Enfin, je souhaite un bon courage à ceux qui n'ont pas encore fini leur thèse !

Je tiens à remercier également ma famille pour son soutien permanent. Enfin, je termine par un merci spécial à Mathieu pour avoir été à mes côtés pendant ces trois années.

Résumé

Les poulets de lignées divergentes D^+ et D^- , sélectionnés depuis plusieurs années sur le critère de l'efficacité de digestion avec un régime à base de blé, constituent un véritable modèle pour comprendre l'origine des différences d'efficacité de digestion entre génotypes.

Les travaux de cette thèse ont débuté avec des poulets appartenant à la 6^{ème} génération de sélection des lignées D^+ et D^- , avec plus de 40% d'écart d'EMAn entre les deux lignées sur blé. Le but était de comparer les deux lignées sur le plan des paramètres digestifs, pour caractériser chaque lignée, et essayer de trouver les limites de digestion. Pour effectuer cette comparaison, nous avons choisi d'étudier les interactions entre le génotype et les caractéristiques de l'aliment, qui sont un facteur de variation important des paramètres digestifs. Des études précédentes avaient mis en évidence des différences anatomiques entre les lignées, avec un plus gros gésier chez les D^+ que les D^- . Nous avons donc exploité ce résultat, en testant dans une première étude les interactions entre les lignées et la taille particulière du régime sur les paramètres digestifs. Nous avons alors trouvé que les poulets de la lignée D^- avaient besoin d'un stimulus sous forme de particules grossières dans l'aliment pour permettre le développement de leur gésier, tandis que les D^+ n'en avaient pas besoin. En parallèle, nous avons mis en évidence une forte interaction entre lignée et régime sur les critères de digestion (EMAn, digestibilités, efficacité de digestion), avec une amélioration de ces critères chez les D^- nourris avec un régime grossier, et une réduction des différences entre lignées. Nous avons établi des relations positives entre l'anatomie digestive et l'efficacité de digestion, qui suggéraient notamment que le gésier était un organe central dans les différences de digestion entre D^+ et D^- , et qu'un gésier bien développé était associé à une meilleure efficacité de digestion. Dans une seconde étude, nous avons démontré que les temps de rétention moyens (TRM) du digesta étaient contrastés entre les lignées dans le système « proventricule+gésier », avec une rétention plus longue chez les D^+ que chez les D^- . Avec un régime dilué par des particules grossières, le temps de rétention moyen était augmenté dans ce compartiment chez les D^- , et ceci était associé à une amélioration de l'efficacité de digestion et de la digestibilité des protéines. Nous en avons conclu que la taille du gésier était associée au TRM dans cet organe, qu'un allongement du TRM chez les D^- était probablement associé à un meilleur contrôle de l'évacuation gastrique. Dans une troisième étude, nous nous sommes alors intéressés à la motricité du gésier chez les D^+ et les D^- , et nous avons observé que la motricité était plus élevée chez les D^- que chez les D^+ , et que le gésier semblait en permanence en activité chez cette lignée, tandis que l'on observait des phases de repos chez les D^+ . Ceci suggérait que, chez les D^- , le chyme était en permanence évacué dans le duodénum, probablement du fait d'une évacuation gastrique peu contrôlée, en association avec un gésier peu développé chez cette lignée.

En conclusion, nous avons mis en évidence que le gésier était fortement impliqué dans les différences de digestion entre les D^+ et les D^- , de par sa structure et ses fonctions.

Mots-clés : poulet, génétique, digestion, EMAn, gésier

Résumé en anglais

D⁺ and D⁻ divergent genetic chicken lines, selected for several years on the criteria of digestion efficiency with a wheat-based diet represent a model for high (D⁺) and low (D⁻) digestion. Our work began with chickens from the 6th generation of selection of D⁺ and D⁻ lines, with more than 40% AMEn difference between lines.

The aim of our work was to compare the digestive criterion in D⁺ and D⁻ lines, in order to characterize each line and try to assess digestion limits. We chose to study the interactions between genotype (D⁺ versus D⁻ lines) and diets characteristics, given that diet composition and structure can impact on digestive parameters. Previous work pointed out anatomical differences between D⁺ and D⁻ lines, namely a bigger gizzard in D⁺ lines than in D⁻ line. Then, in a first experiment, we tested the interactions between the genotype and the diet particle size on digestive parameters. We found that D⁻ birds needed a stimulus through big particles in diet for improving the development of their gizzard, whereas D⁺ birds didn't need such a stimulus. We also found a strong interaction between genotype and diet on digestion parameters (AMEn, digestibilities, digestion efficiency), with an improvement of this parameters in D⁻ birds fed a coarse diet, and a decrease of differences between lines. We established positive relationships between digestive anatomy and digestion efficiency, suggesting that gizzard was a major organ implicated in digestion differences between D⁺ and D⁻ lines. In a second experiment, we found that digesta mean retention time (MRT) were contrasted in the "proventriculus + gizzard" (P+G) system, with a longer retention in D⁺ birds. However, with a coarse diet, MRT values in P+G were increased in D⁻ birds, and this was associated with an improvement of digestion efficiency and protein digestibility. We concluded that gizzard size was associated with MRT in this compartment, and that an increase of MRT in D⁻ birds was probably associated with a better control of gastric emptying in duodenum. In a third and last experiment, we compared gastric motility in D⁺ and D⁻ birds. We observed that gizzard motility was stronger in D⁻ birds than in D⁺ birds, and that the gizzard seemed to be continuously contracting, whereas there were periods of low activity for the gizzard in D⁺ birds. This suggested that, in D⁻ birds, the digesta was continuously evacuated in the duodenum, probably due to a weakly regulated gastric pylorus, in association with a poorly developed gizzard in this line.

In conclusion, we pointed out that gizzard was strongly implicated in digestion differences between D⁺ and D⁻ lines, due to its structure and functions.

Key words: chicken, genetic, digestion, AMEn, gizzard

Liste des abréviations françaises

CCK : Cholecystokinine

CIC : Cellules Interstitielles de Cajal

Duo : Duodénum

EB : Energie Brute

EM : Energie Métabolisable

EMA : Energie Métabolisable Apparente

EMAn : Énergie Métabolisable Apparente corrigée pour un bilan azoté nul

GPIR : [(poids de gésier + proventricule)/ poids d'intestin grêle]

IC : Indice de Consommation

IG : Intestin Grêle

Ilé : Iléon

Jeju : Jéjunum

MAT : Matière Azotée Totale

Min : Minutes

MS : Matière Sèche

PNA : polysaccharides non amylacés

Prov : Proventricule

PV : Poids Vif

TRM : Temps de Rétention Moyen

Liste des abréviations anglaises

AMEn: Apparent Metabolizable Energy corrected to zero nitrogen retention

APP: Avian Pancreatic Polypeptide

BW: Body Weight

C+O: crop + oesophagus

CP: Crude Protein

DM: Dry Matter

GE: Gross Energy

GIP : Gastro Intestinal Polypeptide

GIT: Gastro-intestinal tract

GMD : Geometrical Mean Diameter

GPIR: [(Gizzard + Proventriculus)/ small Intestine] weight Ratio

ICC: Interstitial Cell of Cajal

MCR: [Measured AMEn / Calculated AMEn] Ratio

MRT: Mean Retention Time

NSP: Non-Starch Polysaccharide

P+G: Proventriculus + gizzard

ROC: Rhythmic Oscillating Complex

RW: Relative Weight

SGT: Strain gauge transducers

SH: Sunflower Hulls

SPB: Spike Potential Bursts

STD: Standard deviation

VIP: Vasoactive Intestinal Peptide

WICW: Water-Insoluble Cell Wall

LISTE DES TABLEAUX ET FIGURES

Partie I. Introduction Bibliographique

Figures

Figure 1. Appareil digestif du poulet

Figure 2. Proventricule et gésier, vue externe et coupe longitudinale.

Figure 3. Coupe longitudinale de la zone pylorique (a : photographie ; b : schéma) d'un poulet (1cm= 2mm).

Figure 4. Schéma d'une coupe d'intestin grêle (d'après Hodges, 1974).

Figure 5 (a et b). Comparaison des structures digestives du porc et du poulet.

Figure 6a. Évolution du poids relatif de l'estomac (gésier et proventricule) en fonction de l'âge.

Figure 6b. Évolution du poids relatif des segments de l'IG (duodénum, jéjunum et iléon) en fonction de l'âge.

Figure 6c. Effet de l'âge sur le poids relatif de l'intestin grêle, du rapport « poids de gésier / poids d'intestin grêle (g/g) » et du poids relatif de pancréas.

Figure 7. Représentation schématique du cycle de contraction gastro-intestinale.

Figure 8. Schéma de complexes moteurs migrants, dans l'iléon.

Figure 9. Schéma des SPB.

Figure 10. Relation entre le poids relatif des contenus, à l'état équilibre, et le poids relatif du gésier.

Figure 11. Schéma récapitulatif de la régulation hormonale de la digestion.

Figure 12. Représentation schématique du système nerveux intrinsèque.

Figure 13. Représentation schématique du système nerveux extrinsèque.

Figure 14. Le système nerveux extrinsèque.

Figure 15. Schéma de la sélection des poulets des lignées D^+ et D^- .

Figure 16. Évolution au cours des générations de sélection du rapport de poids [gésier / intestin grêle] (g/g) chez des poulets des lignées D^+ et D^- nourris avec un régime à base de blé ou de maïs.

Figure 17. Évolution au cours des générations de sélections de l'EMAn et des digestibilités de l'amidon, des protéines et des lipides chez les poulets des lignées D^+ et D^- à 3 semaines d'âge (d'après Carré *et al.*, 2008a).

Tableaux

- Tableau 1. Références bibliographiques pour les tableaux 2 à 6 et les figures 6 a, b, c.
- Tableau 2. Effet du génotype sur le poids relatif des organes digestifs.
- Tableau 3. Effet de la présence de grains entiers sur le poids des organes digestifs.
- Tableau 4. Effet de la présentation de l'aliment (farine *versus* granulés).
- Tableau 5. Effet du type de céréales sur le poids relatif des organes digestifs.
- Tableau 6. Effets de la présence de fibres sur le poids relatif des organes digestifs.
- Tableau 7. Valeurs de pH dans les contenus digestifs chez le poulet.
- Tableau 8. Récapitulatif des études de la motricité du tractus gastro-intestinal chez le poulet et la dinde. Méthodes et conditions expérimentales.
- Tableau 9. Comparaison des Temps de Rétention Moyens (TMR, h) dans le tube digestif du poulet et du porc en croissance
- Tableau 10. Temps de rétention moyens (TRM, min) dans les segments digestifs de poulets appartenant aux souches « poulet de chair » et « ponte ».
- Tableau 11. Récapitulatif des principaux facteurs de variation du transit digestif chez le poulet.
- Tableau 12. Localisation des différentes hormones digestives dans le tractus digestif du poulet.
- Tableau 13. Rôle des hormones digestives chez le poulet.
- Tableau 14. Comparaison des valeurs d'EMAn d'un régime à base de blé Rialto ou de maïs chez des poulets âgés de 3 semaines, appartenant aux lignées D⁺ et D⁻ (D'après Carré *et al.*, 2008a).

Partie II. Matériels et Méthodes

Figures

- Figure 18. Protocole de l'expérience 1.
- Figure 19. Protocole de l'expérience 2.
- Figure 20. Schéma de l'expérience 3.
- Figure 21. Schéma du bilan digestif.
- Figure 22. Schéma du protocole de suivi du transit digestif à 9j. Pour l'étude à 29j, même schéma, mais en commençant à J26 au lieu de J5.

Figure 23. Représentation schématique du calcul de l'énergie métabolisable.

Figure 24. Courbe d'étalonnage pour le dosage du TiO_2 .

Figure 25. Relation entre la concentration en Cr_2O_3 d'un échantillon et sa densité optique, dans différents milieux (aliment (A), excréta (E), maïs broyé (I) ou tourteau de soja (S)).

Figure 26. Schéma des essais.

Figure 27. Cinétique d'évolution de la DO au cours du temps, pour la série A.

Figure 28. Cinétique d'évolution de la DO au cours du temps, pour la série B.

Figure 29. Anesthésie du poulet avant l'opération.

Figure 30. Montage électrique pour une jauge (pont de Wheatstone)

Figure 31. À gauche, un poulet avec son doigt de gant (jauges repliées à l'intérieur); à droite, le boîtier de connexion des jauges de contrainte.

Figure 32. Enregistreur papier.

Figure 33. Dispositif d'enregistrement. De gauche à droite, la caisse avec le poulet en enregistrement, l'enregistreur papier, et l'enregistreur informatique.

Tableaux

Tableau 15. Récapitulatif des essais.

Tableau 16. Schéma des essais réalisés pour chaque matière.

Tableau 17. Tableau récapitulatif des essais permettant de doser l'oxyde de chrome en présence d'un autre marqueur (l'oxyde de titane).

Partie III. Résultats expérimentaux

Tableau 8. Comparaison de l'épaisseur des différents muscles du gésier chez des poulets de lignée D^+ et D^- , à 63 jours d'âge, nourris avec le régime standard S ou le régime dilué H (n=9 animaux par traitement).

Première étude - Publication n°1

Tableaux

Table 1. Composition of experimental diets.

Table 2. Particle size (% retained on sieves) of coarse ingredients and pelleted diets measured by wet sieving (means of 3 replicates).

Table 3. Effects of experimental diets on growth performances (7 to 20d) and feed intake (7 to 20d) in growing chicks from the D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestive efficiency.

Table 4. Effects of experimental diets on digestibilities, AMEn values and measured AMEn / calculated AMEn ratio (MCR) in 3-weeks chickens from the D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestive efficiency.

Table 5. Effects of divergent lines (D⁺ versus D⁻) on digestive organ weights¹ at day 1, 8 and 26. Chicks were fed with a commercial starter diet until day 8, then with the “S” standard diet².

Table 6. Effects of experimental diets on digestive organ weights¹ in 26d-old chickens from the D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestion efficiency.

Table 7. Correlations (r ; n=120) between individual digestion criteria (starch, protein and lipid digestibilities, and [measured AMEn / calculated AMEn] ratio) and digestive organs weight, measured at 26d of age, in D⁺ and D⁻ broilers fed the experimental diets.

Figures

Figure 1. Relationship between individual [measured AMEn/ calculated AMEn] ratio and (Gizzard + Proventriculus)/ Small Intestine weight ratio for D⁺ and D⁻ birds fed with the experimental diets.

Figure 2. Comparison of the feed intake (g) of 16d-old chicks from D⁺ and D⁻ genetic lines over the period of observation¹ (Mean ± SEM). Feed intake of individuals was recorded every 30 minutes. Birds were fed either the Standard (S) diet or the Hull (H) diet (n=18).

Deuxième étude

Figures

Figure 34. Photographies de proventricule et de gésier appartenant à des poulets D⁺ et D⁻, à 29 jours d'âge.

Figure 35. Schéma de l'ensemble proventricule + gésier et des mesures de l'épaisseur des muscles du gésier.

Figure 36. Relation entre les valeurs individuelles de l'efficacité de digestion et le rapport GPIR (Proventricule + gésier/ intestin grêle).

Tableaux

Tableau 18. Comparaison de l'épaisseur des différents muscles du gésier chez des poulets de lignée D⁺ et D⁻, à 63 jours d'âge, nourris avec le régime standard S ou le régime dilué F (n=9 animaux par traitement).

Publication n°2

Tableaux

Table 1. Composition of experimental diets.

Table 2. Effects of experimental diets (Standard (S) *versus* Fibres (F) diets) and genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on growth performances, feed intake, feed efficiency (9 to 20d), protein digestibility, AMEn and [Measured AMEn / Calculated AMEn] ratio (MCR) (20 to 23d).

Table 3. Effects of experimental diets (Standard (S) *versus* Fibres (F) diets) and genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on digestive relative organ weight (mg/g BW) from 29 days to 63 days.

Table 4. Effects of genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on Mean Retention Time (MRT) (min) of two dietary markers (TiO₂ and Cr-mordanted H) in 9 d-old birds fed the Standard labelled pelleted diet.

Table 5. Effects of experimental diets (Standard S *versus* Fibre F labelled diets) and genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on mean retention time (min) of TiO₂ and Cr-Mordanted H in segments of the gastrointestinal tract in 29d-old chickens.

Figures

Figure 1. Effects of divergent genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on digestive organ relative weight (Mean $\pm$ s.e.) at hatching (n = 25), 9d (n = 34), 29d (n = 17), 42d (n = 10) and 63d (n = 13). Chicks were fed with the Standard (S) pelleted diets.

Figure 2. Relationships between digestion efficiencies (Mean and s.e.; n=30) at 3 weeks of age and mean retention times (Mean and s.e.; n=11) in the proventriculus-gizzard

system at 4 weeks in chickens from D⁺ and D⁻ genetic lines fed on S or F diets. Relationships were significant ($P < 0.05$) except the relationship between [measured AMEn / calculated AMEn] and mean retention time (min) of Cr-mordanted H.

Troisième étude

Tableaux

Tableau 1. Répartition du nombre de poulets de chaque lignée D⁺ et D⁻ opérés lors des séries d'opération (1^{ère} série à 28 jours, 2^{ème} à 36 jours, 3^{ème} série à 48 jours et 4^{ème} série à 58 jours).

Tableau 2. Activité moyenne du gésier par périodes d'enregistrement, chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ ou D⁻.

Tableau 3. Comparaison de l'activité du gésier entre deux périodes consécutives d'enregistrement (moyenne $\pm$ erreur standard, n=6), chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ et D⁻.

Tableau 4. Proportion du temps passé à haute ou faible activité du gésier, chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ ou D⁻.

Figures

Figure 1. Schéma de l'expérience 3.

Figure 2. Préparation du poulet anesthésié avant l'opération. La zone de chirurgie est plumée et désinfectée avec de la teinture d'iode. La zone d'incision est représentée par la flèche rouge.

Figure 3. Pose d'une jauge de contrainte sur le gésier. Une laparotomie est effectuée sur le poulet anesthésié, le gésier est isolé et la jauge est fixée à l'aide de fils de suture.

Figure 4. Schéma de mesure de la motricité du gésier sur une journée d'enregistrement (environ 24h).

Figure 5. Nomenclature des périodes d'enregistrement sur une journée d'enregistrement de motricité.

Figure 6. Évolution du poids relatif du gésier (mg/g PV) en fonction de l'âge, chez les poulets appartenant aux lignées D⁺ (en symbole plein) et D⁻ (en symbole vide), ayant été opérés (symbole : triangle) ou non (symbole : cercle).

Figure 7. Relation entre les rapports des valeurs individuelles d'activité du gésier [Allumage (P5)/ Nuit (P4)] et le poids relatif du gésier (mg/g PV).

Partie IV. Discussion

Figures

Figure 37. Lien entre le TRM dans le système « proventricule+gésier » à 9j et le poids relatif du proventricule+gésier (mg/g PV), pour les deux lignées D^+ et D^- .

Figure 38. Lien entre TRM dans le système « proventricule+gésier » à 29j et le poids relatif du proventricule+gésier (mg/g PV), pour les lignées D^+ et D^- , avec les régimes témoin et dilué.

Figure 39. Relations entre les efficacités de digestion (moyenne et erreur standard $n=30$) à 3 semaines d'âge et les TRM (proventricule + gésier) (moyenne et erreur standard $n=11$) à 4 semaines d'âge, chez des poulets D^+ et D^- nourris avec un régime témoin à base de maïs (régime S) ou avec un régime dilué par 15% de fibres grossières (régime F) (expérience 2).

Figure 40. Relation entre l'efficacité de digestion et le rapport de poids (gésier+proventricule) / intestin grêle (GPIR) chez les poulets des lignées D^+ et D^- . Ce schéma est issu de l'expérience 1. Les symboles ($\bullet$, $\blacklozenge$, $\blacksquare$) pour la lignée D^+ et ($\circ$, $\diamond$, $\square$) pour la lignée D^- représentent les régimes Témoin, Dilué et Grossier, respectivement.

Figure 41. Récapitulatif des hypothèses concernant les différences de digestion entre les D^+ et les D^- , et effet (couleur verte) de l'addition de particules grossières chez les D^- .

LISTE DES PUBLICATIONS

1. **Rougière, N.**; Gomez, J.; Carré, B. 2007. Effects of diet particle size on digestive parameters in D⁺ and D⁻ chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *In* : 16th European Symposium on Poultry Nutrition; Strasbourg (France); 2007/08/27-29, 75-78. WPSA, Nouzilly (France).
2. Carré, B.; Mignon-Grasteau, S.; Besnard, J.; **Rougière, N.**; Juin, H.; Bastianelli, D. 2008. The D⁺ and D⁻ “Digestion” chicken lines selected for divergent digestion efficiency on a wheat-based diet. *In* : 23th World’s Poultry Congress; Brisbane (Australie); 2008/06/30-07/04, CD : 8 pages. WPSA, Brisbane (Australie).
3. **Rougière, N.**; Carré, B. 2009. Effects of a diet dilution with sunflower hulls on digestive parameters in D⁺ and D⁻ chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *In* : Proceedings and Abstracts of 17th European Symposium on Poultry Nutrition; Edinburgh (UK); 2009/08/23-27, p.301. WPSA, Roslin (UK).
4. **Rougière, N.**; Mignon-Grasteau, S.; Sellier, N.; Carré, B. 2009. Effets d’une forte dilution du régime sur la croissance et les paramètres digestifs de poulets des lignées divergentes D⁺ et D⁻ sélectionnées sur l’aptitude à la digestion. *In* : 8èmes Journées de la Recherche Avicole; Saint Malo (FRA); 2009/03/25-26 ; 584-588. INRA, ITAVI, Nouzilly (FRA).
5. **Rougière, N.**; Gomez, J.; Mignon-Grasteau, S. ; Carré, B. 2009. Effects of diet particle size on digestive parameters in D⁺ and D⁻ genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *Poultry Science*, 88: 1206–1215.
6. **Rougière, N.**; Carré, B. 2010.. Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal*, *in press*.

Introduction générale

Le blé est une céréale largement utilisée dans l'alimentation aviaire. Cependant, chez le poulet en croissance, il a été observé une diminution de la digestion suite à la consommation de blé (Mollah *et al.*, 1983; Carré *et al.*, 2002), qui s'accompagnent de pertes économiques dans les élevages, et également de rejets (azote en particulier) plus importants dans l'environnement. Ces problèmes de digestion sont associés aux **caractéristiques des blés**, telles que la viscosité de l'extrait aqueux (due à la présence de polysaccharides non amylacés hydrosolubles) et leur dureté (Carré *et al.*, 2002; Carré *et al.*, 2005b). L'augmentation de la viscosité des contenus intestinaux (Choct *et al.*, 1995) entraîne chez le poulet une diminution de la digestibilité des protéines et des lipides (Choct & Annison, 1992; Maisonnier *et al.*, 2001a; Carré *et al.*, 2002). Des corrélations négatives entre la digestibilité de l'amidon et la dureté du blé ont été observées (Carré *et al.*, 2002; Carré *et al.*, 2005b), qui peuvent en partie s'expliquer par une mauvaise accessibilité dans les grosses particules (Péron *et al.*, 2005 et 2006).

Les caractéristiques des blés n'expliquent pas entièrement la variabilité des réponses. En 1997, il a été proposé que la réponse aux blés pouvait dépendre des individus (Hughes et Choct, 1997). En 2001, Maisonnier *et al.* (2001b) ont démontré qu'une part de la variabilité de l'énergie métabolisable des aliments était liée aux **individus**. En 2004, Mignon-Grasteau *et al.* (2004) ont mis en évidence que la variabilité individuelle de la digestion chez le poulet en croissance avait une origine génétique, avec de fortes héritabilités observées pour les digestibilités des constituants alimentaires (0,35- 0,50). Partant de cette étude, une sélection génétique sur l'efficacité de digestion a été entreprise à l'Unité de Recherches Avicoles de l'INRA de Nouzilly. L'efficacité de digestion était évaluée par la mesure de l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) d'un régime contenant du blé de mauvaise qualité (variété Rialto). Les lignées de poulets bons digesteurs D⁺ (haute EMAn du régime blé) et mauvais digesteurs D⁻ (faible EMAn du régime blé) ont ainsi été créées. Les écarts d'EMAn et de digestibilité des constituants alimentaires se sont accentués au fil des générations. A la 6^{ème} génération de sélection, la différence d'EMAn entre les deux génotypes atteignait 30% (Carré *et al.*, 2008a). Ces lignées qui, à notre connaissance, représentent un modèle animal unique, sont un outil puissant pour étudier les facteurs de variation de la digestion, d'origine génétique et physiologique.

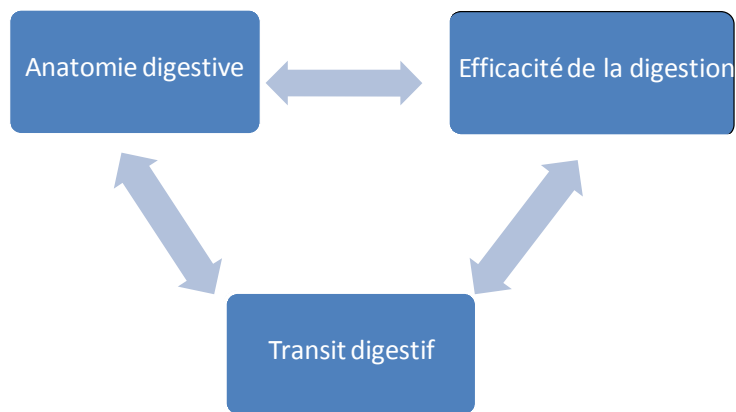
L'objectif de cette thèse est de comparer les paramètres de digestion des lignées D⁺ et D⁻, afin de comprendre pourquoi ces lignées digèrent différemment. Nos études ont débuté à la 6^{ème} génération de sélection des lignées D⁺ et D⁻.

Des études précédentes ont commencé à caractériser ces lignées. Des différences anatomiques concernant le tractus gastro-intestinal ont été observées dès la 2nde génération (Péron *et al.*, 2006), avec un poids du proventricule et du gésier plus fort chez les D⁺ que chez les D⁻. A la 5^{ème} génération de sélection, outre les différences observées sur les compartiments gastriques, des différences au niveau distal ont également été observées : l'intestin grêle est plus gros chez les D⁻ que chez les D⁺ (García *et al.*, 2007). Ces études ont été effectuées en distribuant aux animaux un régime à base de **blé**. Le choix de cette céréale introduit une contrainte supplémentaire pour les animaux, étant donné les problèmes de digestion qui peuvent être rencontrés suite à son ingestion. La comparaison des paramètres digestifs chez les lignées nourries avec un tel régime se trouve compliquée par les effets du blé sur la digestion. C'est pourquoi, dans les études de cette thèse, nous utilisons des régimes à base de **maïs**. Cette céréale ne pose pas de problème de digestion chez les poulets, ce qui permet de se focaliser sur les facteurs de variation provenant des seuls individus.

Au cours de cette thèse, nous poursuivons la caractérisation de ces lignées. Nous avons formulé plusieurs hypothèses quant à l'origine des différences de digestion entre les lignées.

L'anatomie digestive (compartiments gastriques principalement) serait impliquée dans les différences de digestion entre les D⁺ et les D⁻. Chez les volailles, les fonctions principales du gésier sont de stocker, broyer les aliments ingérés, et réguler le transit intestinal. La taille de ce compartiment digestif reflèterait sa fonctionnalité. Notre hypothèse est qu'un gésier plus lourd est associé à une rétention plus longue dans cet organe, et une évacuation gastrique plus lente. Ces paramètres pourraient avoir des conséquences sur la digestion des digesta. Une régulation différente de l'évacuation gastrique entre les lignées pourrait être impliquée dans les différences entre lignées.

Pour répondre à ces hypothèses, trois paramètres de digestion sont abordés : l'efficacité digestive, l'anatomie digestive et le transit digestif. Ces paramètres sont probablement liés, selon le schéma représenté ci-dessous :



Nous essayons d'établir des relations entre ces trois paramètres.

L'étude des interactions « génotype x environnement » est un outil puissant d'étude de la variabilité des réponses des individus. Cela peut permettre de déterminer les facteurs limitant de la digestion chez chacune des lignées. Une interaction « lignées x dureté du blé » a précédemment été mise en évidence sur la digestion chez les D⁺ et les D⁻ (Péron *et al.*, 2006). Nous étudions au cours des études de la thèse d'autres interactions « génotype x caractéristiques de l'aliment » sur les paramètres de digestion.

La thèse rassemble plusieurs études expérimentales.

Dans une **première étude**, nous nous intéressons à l'étude des interactions « lignées x taille particulière des aliments » sur les paramètres anatomiques (0 à 26 jours d'âge) et digestifs (3 semaines d'âge) des lignées D⁺ et D⁻. Dans la littérature, il est rapporté que l'utilisation de particules grossières dans les régimes influence la taille des organes digestifs, notamment celle du gésier (stimulation de son développement et donc de son activité), que ce soit avec des céréales entières (Taylor & Jones, 2004) ou des particules de fibres indigestibles (Gonzales-Alvarado *et al.*, 2008). Dans cette première étude, nous testons donc deux types de particules grossières: soit du maïs concassé, soit des fibres grossières incorporées dans les granulés. Le test des fibres grossières permet aussi l'évaluation des effets d'une dilution du régime (fibres). Nous cherchons à établir des relations entre l'anatomie digestive et l'efficacité de la digestion chez les D⁺ et D⁻, puisqu'une de nos hypothèses est que le gésier est très impliqué dans les différences entre les deux lignées.

Dans une **seconde étude**, nous testons sur une période plus longue (0-9 semaines) l'effet de l'incorporation d'une forte quantité de particules grossières (fibres insolubles) sur

les paramètres digestifs. Par opposition à la première étude, 15% de fibres grossières (c'est-à-dire le double de la quantité utilisée dans la première étude) sont incorporés dans le régime. Outre le suivi des paramètres anatomiques au cours du temps (0-63 jours d'âge), de l'EMAn et de la digestibilité des protéines à 3 semaines d'âge, nous nous intéressons au transit digestif à deux âges (9 et 29 jours). La taille du gésier très différente entre les deux lignées laissait supposer des différences de temps de rétention dans cet organe. Les temps de rétention du chyme dans le gésier pourraient influencer l'efficacité de la digestion et la motricité de l'intestin grêle par le biais de la régulation de l'évacuation gastrique (Carré, 2000).

Enfin, dans la **dernière étude**, nous choisissons de nous focaliser sur le gésier, organe considéré comme central dans la digestion, et d'étudier plus en détails sa motricité. La taille du gésier semble refléter son activité mécanique, puisque, par exemple, l'incorporation de grains entiers entraîne une augmentation de sa taille, par stimulation de son activité musculaire. L'étude de la motricité est effectuée à l'aide de jauges de contraintes fixées sur le gésier, comme décrit dans la littérature (Duke & Kostuch, 1975). Nous procédons à des enregistrements en continu au cours d'une journée (24h), contrairement à la majorité des études de motricité réalisées sur poulet. L'activité du gésier est observée dans plusieurs conditions expérimentales (jeun, repas, nuit, ...) pour tenter de trouver d'éventuelles différences entre les lignées.

Le manuscrit de la thèse est organisé en 4 parties.

L'**introduction bibliographique** fait un état des lieux de la physiologie digestive, traitant du fonctionnement et de l'efficacité de l'appareil digestif : la digestion est la résultante de plusieurs facteurs : la morphologie, les sécrétions digestives et la motricité de l'appareil digestif, l'ensemble étant régulé au niveau humoral et nerveux. Le but est de voir comment ces structures et fonctions interagissent, et d'étudier leurs facteurs de variation.

La partie « **Matériels et Méthodes** » présente les supports et les techniques utilisés au cours des expériences.

La partie « **Résultats** » regroupe les résultats des trois études, sous forme d'articles scientifiques (un publié, un soumis, et un en préparation).

Cette partie est suivie d'une « **Discussion générale** » se terminant sur des conclusions et perspectives qui clôturent le manuscrit, et donnent des pistes pour des travaux futurs.

Partie I. Introduction bibliographique

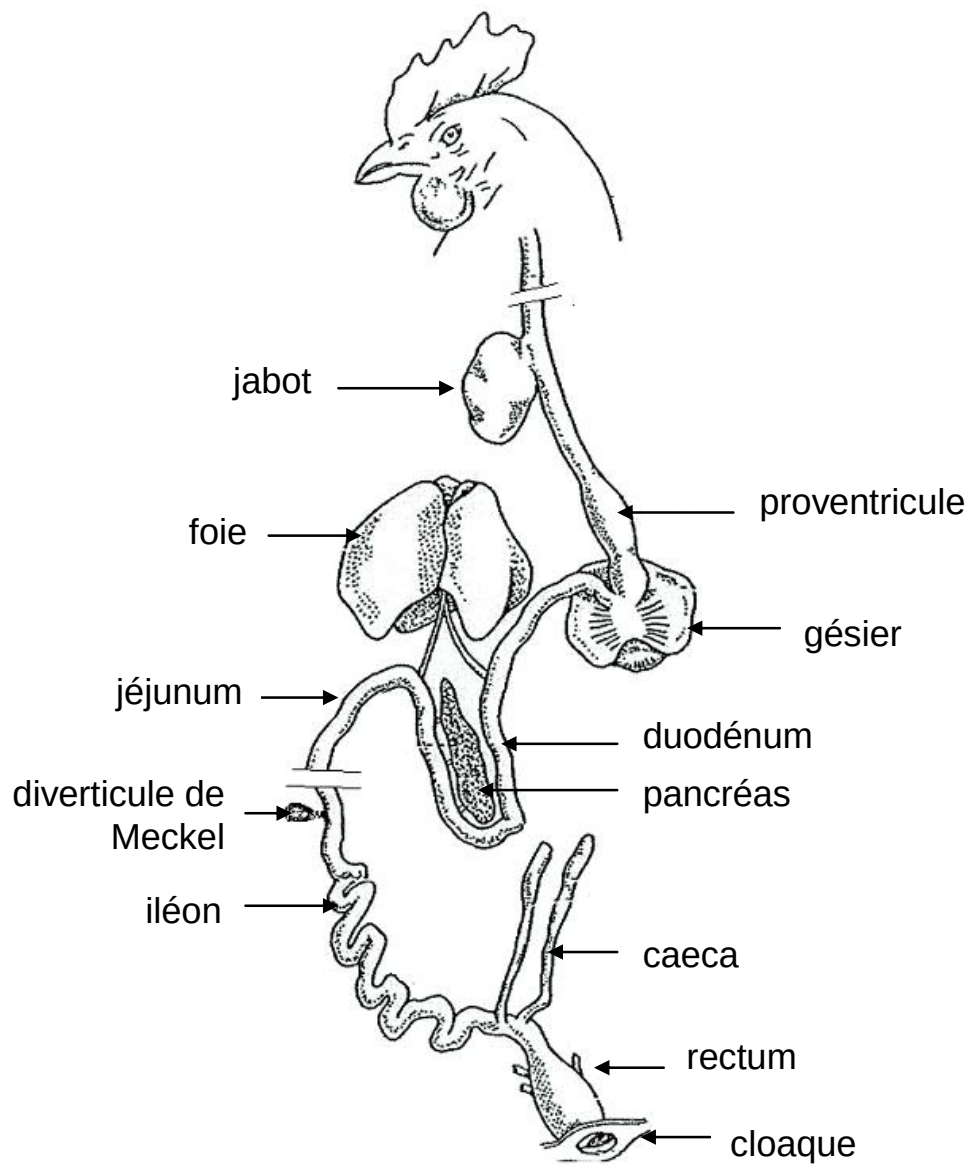


Figure 1. Appareil digestif du poulet
(à partir de (Gadoud *et al.*, 1992))

I. ANATOMIE ET HISTOLOGIE DE L'APPAREIL DIGESTIF

1. Organisation du tube digestif du poulet (Figure 1)

Dans cette première partie, nous allons faire un bref rappel descriptif des différents organes digestifs du poulet. La figure 1 illustre les différentes parties de l'appareil digestif du poulet.

Les aliments, après préhension par le bec, sont transférés dans le proventricule, avec un éventuel stockage préalable dans le jabot (Klasing 1998a). Ce stockage est régulé par l'état de remplissage du gésier : si le gésier est plein, le chyme est stocké dans le jabot. Dans le jabot, certaines bactéries amylolytiques, tels que des lactobacilles, initient la dégradation de l'amidon (Champ *et al.*, 1981, 1985).

Le proventricule est le lieu de la sécrétion de pepsine et d'HCl (Moran, 1985). Le proventricule débouche sur le gésier où s'effectuent le broyage et le malaxage du chyme. Cet organe est entièrement musculaire (à part une couche cornée interne). Le poids du gésier reflète donc la puissance de broyage de l'organe, ainsi que son activité (Moran, 1982; Mc Lelland, 1990; Denbow, 2000). Le gésier est séparé du proventricule et du duodénum respectivement par l'isthme et le pylore (Figure 2). Ces deux zones sont impliquées dans la régulation des processus de digestion. La région pylorique (Figure 3) est courte (Yamamoto *et al.*, 1995), mais essentielle. Elle permet de réguler le passage du chyme du gésier vers le duodénum, et joue un rôle de filtre en ne laissant passer que des particules de très faible taille (Ferrando *et al.*, 1987), sans être un sphincter (Turk, 1982), c'est-à-dire que le pylore, chez le poulet, autorise les reflux du duodénum vers le gésier.

L'intestin grêle, qui débute anatomiquement au pylore, est divisé en trois parties : le duodénum (du pylore jusqu'à la portion distale de l'anse duodénale), le jéjunum (de la portion distale de l'anse duodénale jusqu'au diverticule de Meckel), et l'iléon (du diverticule de Meckel à la jonction iléo-caecale) (Figure 1). La paroi de l'ensemble de l'intestin grêle est constituée de 4 couches successives, qui sont définies comme suit, en partant de la lumière du tube digestif (Figure 4):

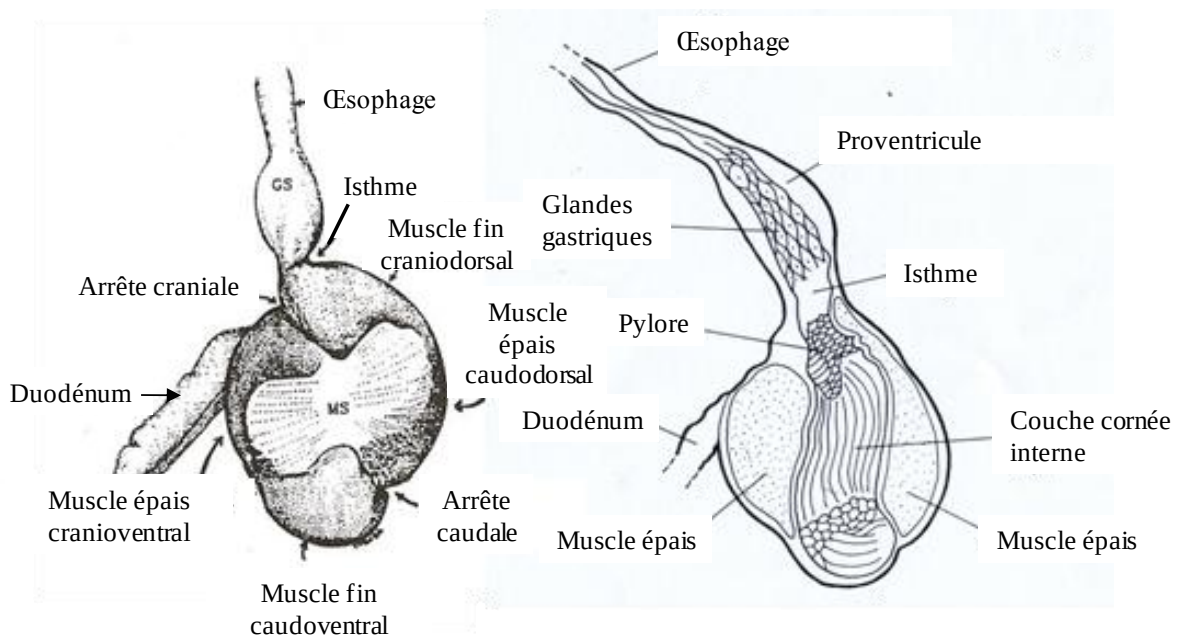


Figure 2. Proventricule et gésier, vue externe (d'après Denbow, 2000) et coupe longitudinale (d'après (Moran, 1982)).

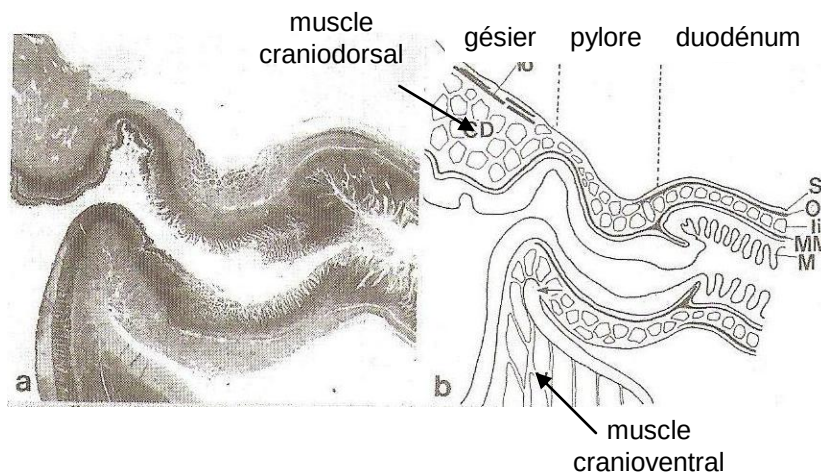


Figure 3. Coupe longitudinale de la zone pylorique (a : photographie ; b : schéma) d'un poulet (1cm= 2mm).

O : couche musculaire externe ; Io : partie externe de la couche musculaire interne ; Li : partie interne de la couche musculaire interne ; S : sous-muqueuse ; MM : muqueuse musculaire ; M : muqueuse (d'après (Yamamoto *et al.*, 1995)).

(1) La muqueuse, tapissée au niveau le plus interne (lumière du tube) par un épithélium simple constitué principalement d'entérocytes, de cellules à mucus et de cellules endocrines. L'épithélium repose sur un tissu connectif, la lamina propria, qui elle-même repose sur une couche de muqueuse musculaire.

(2) La sous-muqueuse, où passent vaisseaux sanguins et lymphatiques vers lesquels sont transportés les nutriments après l'absorption (Duke *et al.*, 1986). Le plexus nerveux sous-muqueux est également présent dans cette couche.

(3) La musculuse, formée de 2 couches de muscles, entre lesquelles se trouve le plexus nerveux myentérique.

(4) La séreuse, fine couche membranaire.

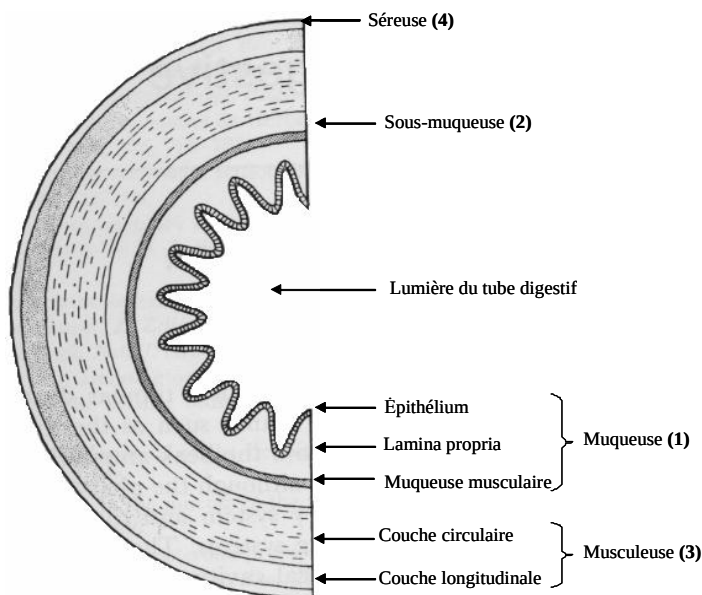
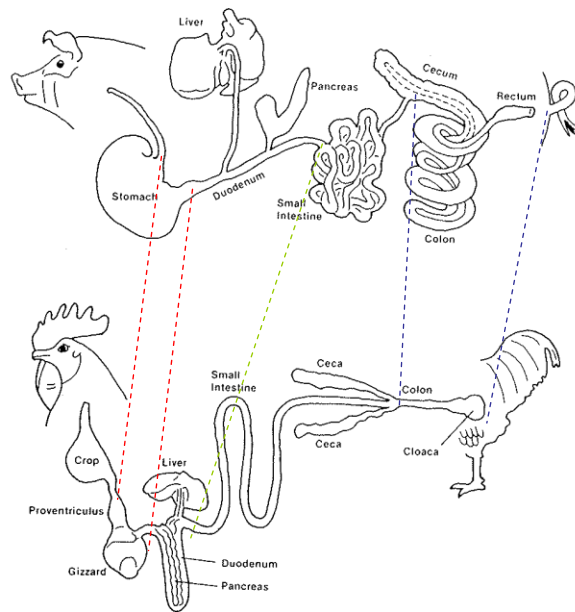


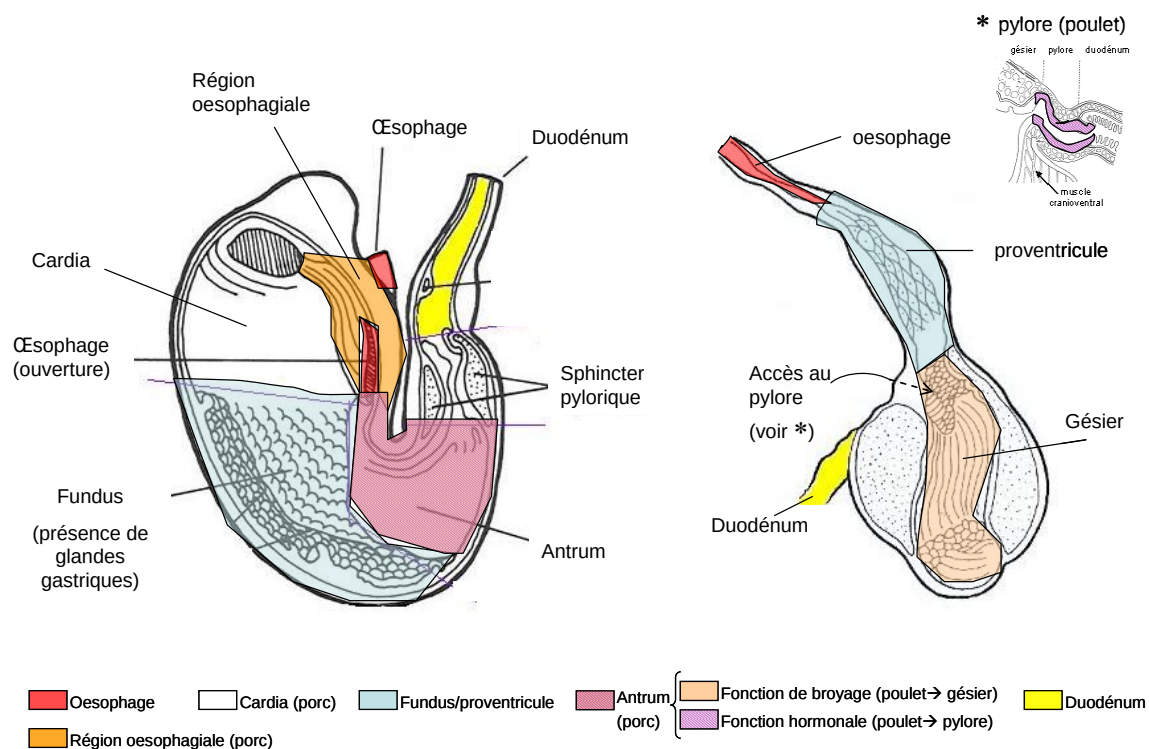
Figure 4. Schéma d'une coupe d'intestin grêle (d'après (Hodges, 1974).

Le gros intestin, ou rectum, est très court chez le poulet. Il débouche sur le cloaque, compartiment commun où se terminent les tractus gastro-intestinal, urinaire et reproducteur (D'après Denbow, 2000 et Moran, 1985).

A la jonction entre l'intestin grêle et le rectum se trouvent les cæca (McNab, 1973). L'entrée dans les cæca est sélective : seule la fraction liquide ou les particules très fines, provenant du chyme ou de l'urine par rétropéristaltisme (Thomas & Skadhauge, 1988) entrent dans les cæca (McNab, 1973; Mc Lelland, 1990).



a. Comparaison des systèmes digestifs du poulet et du porc (d'après (Moran, 1982)). Les pointillés rouges délimitent le « segment gastrique » (estomac chez le porc, proventricule+gésier chez le poulet) ; les pointillés verts marquent la fin du duodénum, et les pointillés bleus encadrent le colon.



b. Structure de l'estomac chez le porc (d'après Moran et al. 1985) et équivalence chez le poulet. Les différentes zones décrites dans le texte sont définies avec des surfaces colorées.

Figure 5 (a et b). Comparaison des structures digestives du porc et du poulet.

Le pancréas et le foie sont considérés comme des glandes annexes de l'appareil digestif.

Le pancréas est situé dans l'anse du duodénum. Il possède des fonctions endocrines et exocrines. Le pancréas endocrine ne représente que 1 à 2% de la glande. Les cellules endocrines regroupées en îlots produisent de l'insuline, du glucagon, de la somatostatine, et de l'APP (Avian Pancreatic Polypeptide) (Cramb & Langslow, 1984). Le pancréas endocrine est traversé par un réseau capillaire sanguin considérable, qui permet un transport rapide des hormones (Cramb & Langslow, 1984; Denbow, 2000). Le pancréas exocrine occupe la majorité de la glande pancréatique. Il est impliqué dans la synthèse et la sécrétion des enzymes responsables de la digestion des protéines, des lipides et de l'amidon. Les cellules sécrétrices sont organisées en acini, regroupés en lobules dans les différents lobes pancréatiques, au nombre 2 de chez le poulet. Les enzymes sécrétées sont : la trypsine, la chymotrypsine, l'élastase et les carboxypeptidases pour la digestion des protéines, l'alpha-amylase pour celle de l'amidon, et la lipase et de la colipase pour celle des lipides. Les sécrétions pancréatiques se déversent dans les canaux pancréatiques, au nombre de 2 à 3 chez le poulet, qui aboutissent au niveau de la partie terminale du duodénum, proche du jéjunum antérieur (Duke, 1986a).

Le foie, entourant anatomiquement le gésier, est constitué majoritairement d'hépatocytes. Le foie reçoit le sang porte provenant de l'intestin, chargé des nutriments absorbés. Le foie est également le siège de la synthèse et de la sécrétion des sels biliaires nécessaires à la digestion et à l'absorption des lipides. La bile (sels biliaires + pigments biliaires), est évacuée par deux canalicules, l'un partant directement du foie vers le duodénum, et l'autre conduisant d'abord à la vésicule biliaire, qui débouche dans le duodénum. Ces canalicules sont reliées au duodénum dans la partie la plus inférieure du duodénum, proche du jéjunum (Duke, 1986a).

Comparaison porc/poulet

Nous comparons ici brièvement l'appareil digestif du poulet à celui du porc, pour illustrer les particularités observées chez le poulet par rapport aux autres monogastriques. Une des différences repose sur le compartiment "estomac": chez le porc, l'estomac est constitué par un seul organe alors que chez le poulet l'estomac regroupe le proventricule et le gésier. Plusieurs zones anatomiquement et fonctionnellement différentes peuvent être définies chez le porc (Figure 5 ; Moran, 1985), dont certaines sont analogues à celles du poulet:

- la région oesophagiale : elle correspond au prolongement de l'œsophage et n'a pas d'équivalence chez le poulet;

# Référence	Source
1	Amerah et al., 2007b
2	Bennett et al., 2002a
3	Carré et al, communication
4	Cherry & Siegel, 1977
5	Dror et al., 1977
6	Engberg et al., 2002
7	Engberg et al., 2004
8	Ernst et al., 1994
9	Gabriel et al., 2008
10	Gonzales-Alvarado et al., 2008
11	Gracia et al., 2003
12	Hetland et al., 2003
13	Hetland et al., 2002
14	Iji et al., 2001
15	Jamroz et al., 2001
16	Jones & Taylor, 2001
17	Jorgensen et al., 1996
18	Maiorka et al., 2003
19	Nir et al., 1994a
20	Nir et al., 1993
21	Nir et al., 1994b
22	Nir et al., 1994c
23	Nitsan et al., 1991b
26	Shires et al., 1987
27	Svihus & Hetland, 2001
28	Svihus et al., 2004a
29	Taylor & Jones, 2004
30	Thomas & Ravindran, 2008
31	Uni et al., 2003c
32	Wu & Ravindran, 2004
33	Wu et al., 2004a
34	Batal & Parsons, 2002
35	Péron et al., 2006
36	García et al., 2007
37	Svihus et al, 1997
38	Hetland et al., 2001

Tableau 1. Références bibliographiques pour les tableaux 2 à 6 et les figures 6 a, b, c.

- le cardia, où sont présentes des glandes à mucus : il s'agit du lieu de réception des aliments dans l'estomac ; cette zone n'existe pas en tant que telle chez le poulet, puisque les aliments passent directement de l'œsophage dans le proventricule.

- le fundus, où se trouvent des glandes gastriques, qui secrètent de l'HCl et de la pepsine : le chyme est réceptionné dans ces zones, et brassé avec les sécrétions gastriques. Cette zone peut s'apparenter au proventricule chez le poulet.

- l'antrum, zone riche en glandes à mucus et en cellules endocrines : chez le porc, cette zone remplit deux types de fonctions, à savoir une fonction de malaxage, et une fonction hormonale ; chez le poulet, l'équivalent de cette zone est le pylore où se trouvent une concentration élevée de cellules endocrines. Contrairement au poulet, chez le porc, le pylore est un sphincter, qui empêche les reflux entre le duodénum et l'estomac.

Une autre différence importante entre porc et poulet est la longueur du colon (figure 5a); en effet, il est très court chez le poulet (Denbow 2000), tandis qu'il mesure plusieurs mètres chez le porc (Moran 1985). Il faut noter que le gros intestin est le siège de fermentations microbiennes intenses (Cranwell, 1968) qui sont négligeables chez le poulet au niveau du colon. Chez le poulet, les fermentations digestives microbiennes ont lieu dans les ceca, essentiellement (Apajalahti, 2005).

2. Effet de l'âge sur le développement des organes digestifs

Les données concernant le poids des organes digestifs pendant l'incubation sont quasi-inexistantes, alors que les données pendant la période post-éclosion sont plus abondantes. Cette période est cruciale pour le développement de l'appareil digestif. Les schémas d'évolution du poids relatif avec l'âge sont différents pour chaque organe digestif. Une synthèse bibliographique sur un ensemble de données obtenues avec des poulets (majoritairement des poulets de chair) permet de rendre compte de l'évolution du poids des organes digestifs de l'éclosion jusqu'à environ 9 semaines d'âge (Figures 6 a, b, c).

Les références correspondant aux numéros reportés sur les graphiques et dans les tableaux sont regroupées dans le tableau 1.

Dans les premiers jours qui suivent l'éclosion, le développement de l'appareil digestif est prioritaire sur le reste du corps, avec une vitesse de croissance des organes digestifs plus rapide que celle du corps entier (Lilja, 1983; Sell *et al.*, 1991; Nir *et al.*, 1993), et un taux de croissance de l'appareil digestif maximal dans les 7 premiers jours après l'éclosion (Shanawany, 1994).

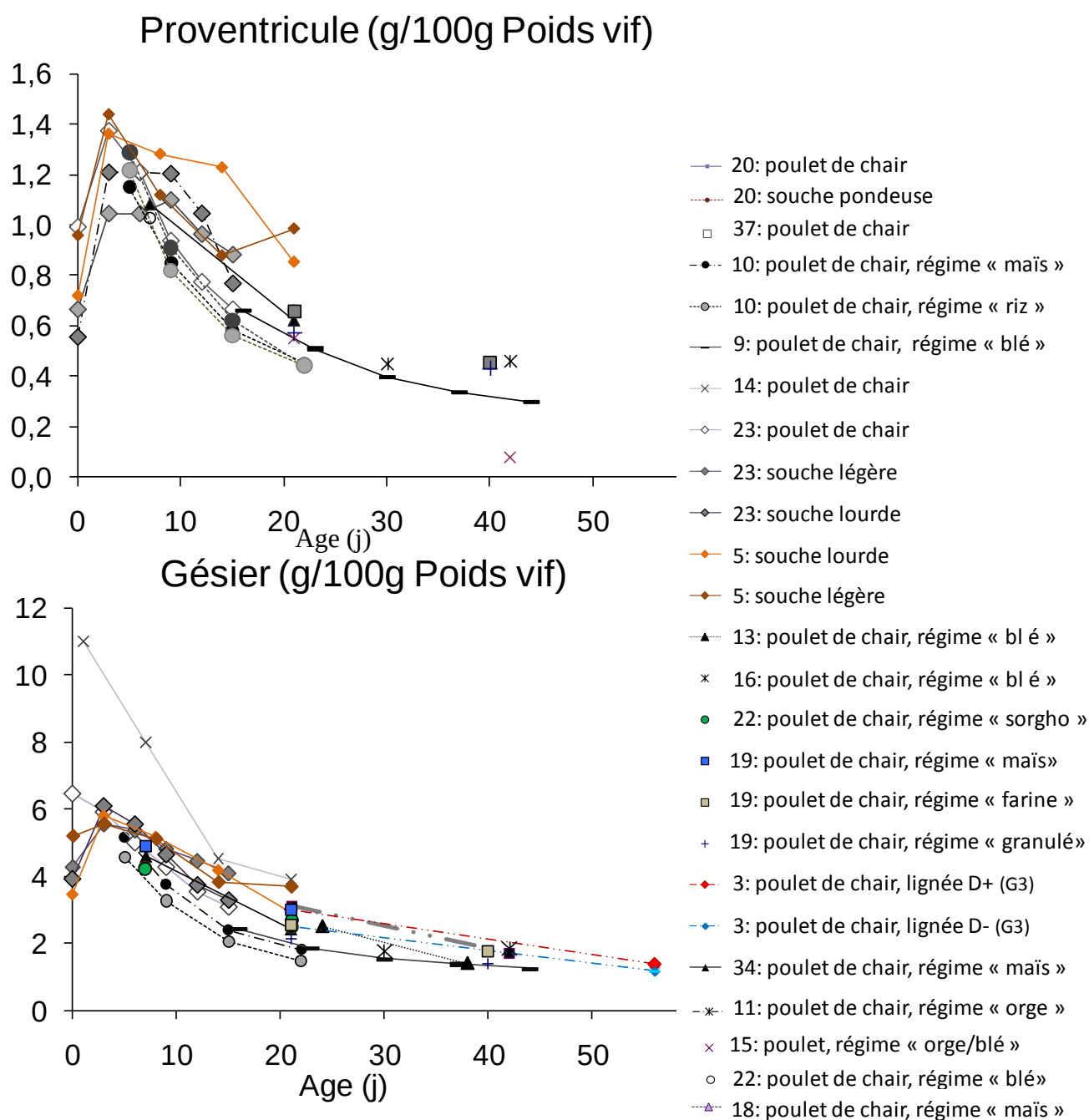


Figure 6a. Évolution du poids relatif du gésier et du proventricule en fonction de l'âge. Les numéros de la légende correspondent aux références bibliographiques (voir tableau 1), et sont suivis de la souche utilisée, et du type de régime (céréale dominante), s'il est défini.

Les poids relatifs du proventricule, de l'intestin grêle et du pancréas augmentent fortement pendant les premiers jours suivant l'éclosion (Figures 6), avec un pic de poids relatif situé entre 3 et 5 jours pour le proventricule (Dror *et al.*, 1977; Nitsan *et al.*, 1991b), entre 5 et 8 jours pour l'intestin grêle (Dror *et al.*, 1977; Nitsan *et al.*, 1991a; Nitsan *et al.*, 1991b; Nir *et al.*, 1993) et vers 10 jours pour le pancréas (Dror *et al.*, 1977; Nitsan *et al.*, 1991b) (Figure 6). De l'éclosion à 3 jours d'âge, le poids relatif du proventricule double et celui du pancréas triple. Pour l'intestin grêle, selon les segments (Figures 6) le poids relatif est 2 à 5 fois supérieur à 8 jours par rapport à l'éclosion. Le duodénum a une croissance plus rapide que les autres segments (Sklan 2001). Le développement très rapide de l'intestin grêle pendant les premiers jours post-éclosion s'accompagne de la croissance considérable de la muqueuse intestinale. La hauteur et la surface des villosités augmente d'un facteur 10 entre le 14^{ème} jour d'incubation et le 7^{ème} jour après éclosion, du fait de la prolifération des entérocytes (nombre et taille) (Uni *et al.*, 1995a,b).

Concernant le gésier, les données sont différentes selon les études (Figure 6) : certaines indiquent une augmentation du poids relatif jusqu'à 3 jours après l'éclosion, puis une diminution progressive (Dror *et al.*, 1977; Nitsan *et al.*, 1991a; Gracia *et al.*, 2003); d'autres indiquent un poids relatif maximal à l'éclosion puis une diminution progressive quand l'âge augmente (Iji *et al.*, 2001; Gonzales-Alvarado *et al.*, 2008). Ces différences pourraient être, au moins en partie, liées au génotype des individus puisque Nitsan *et al.* (Nitsan *et al.*, 1991b) ont observé, dès l'éclosion, une diminution du poids relatif du gésier chez une lignée commerciale à croissance rapide et une augmentation de 0 à 3 jours d'âge chez des lignées à croissance plus lente. Chez les poulets de chair à croissance rapide, le développement du gésier serait plus avancé à l'éclosion que chez les souches de poulets à croissance plus lente.

Le rapport de poids [Gésier / Intestin grêle] diminue entre l'éclosion et le 8^{ème} jour, puis reste constant. Ce critère, indépendant de l'âge, représente donc un paramètre relativement solide dans le test des effets « génétique » ou « alimentation ».

Après leur pic de croissance, les poids relatifs des différents organes diminuent progressivement et se stabilisent vers l'âge de 40 jours. À cet âge, les organes semblent avoir atteint leur taille relative définitive, variable selon le génotype des animaux. La taille des organes digestifs peut être modulée par les facteurs génétiques et alimentaires (cf. ci-après).

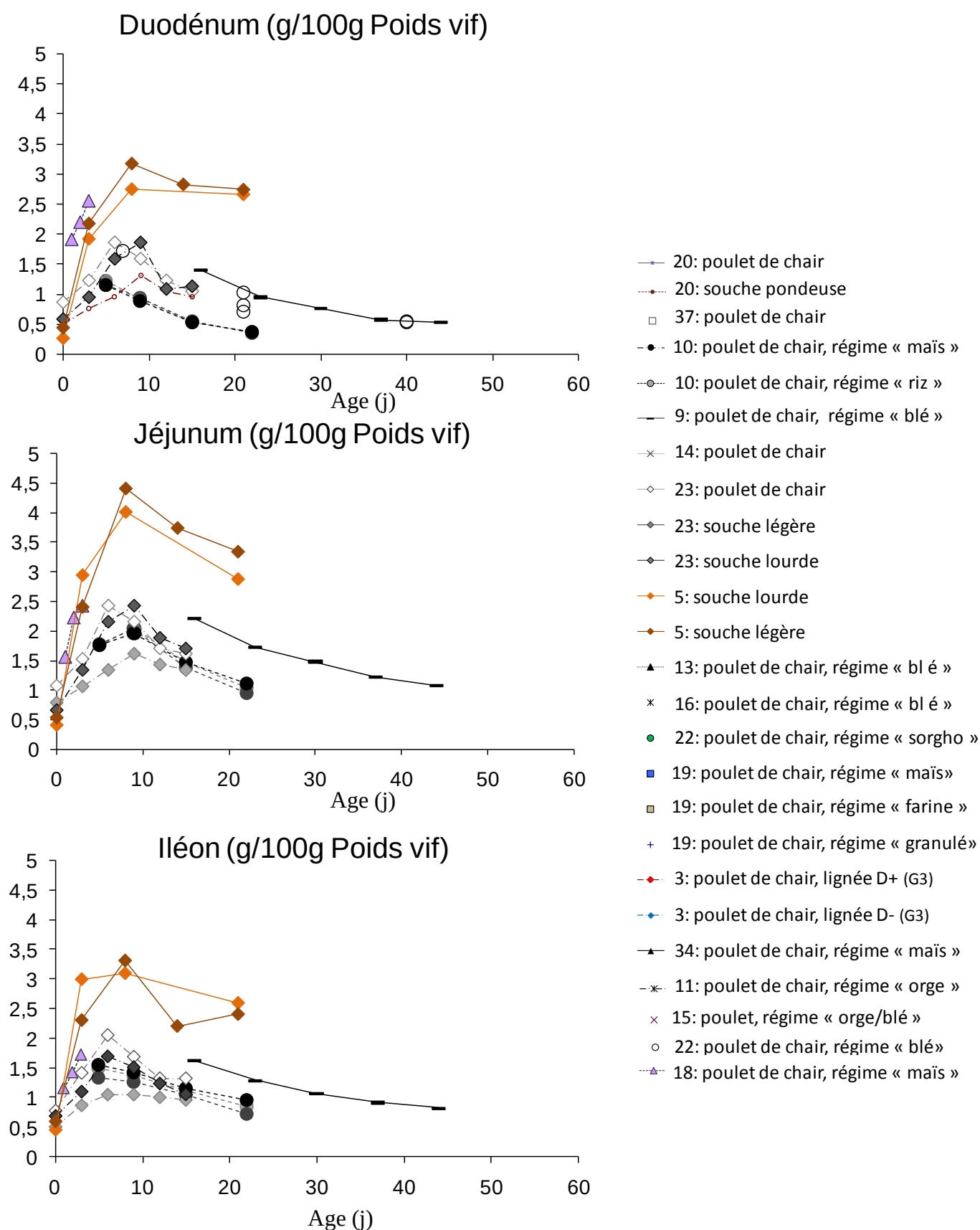


Figure 6b. Évolution du poids relatif des segments de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et iléon) en fonction de l'âge.

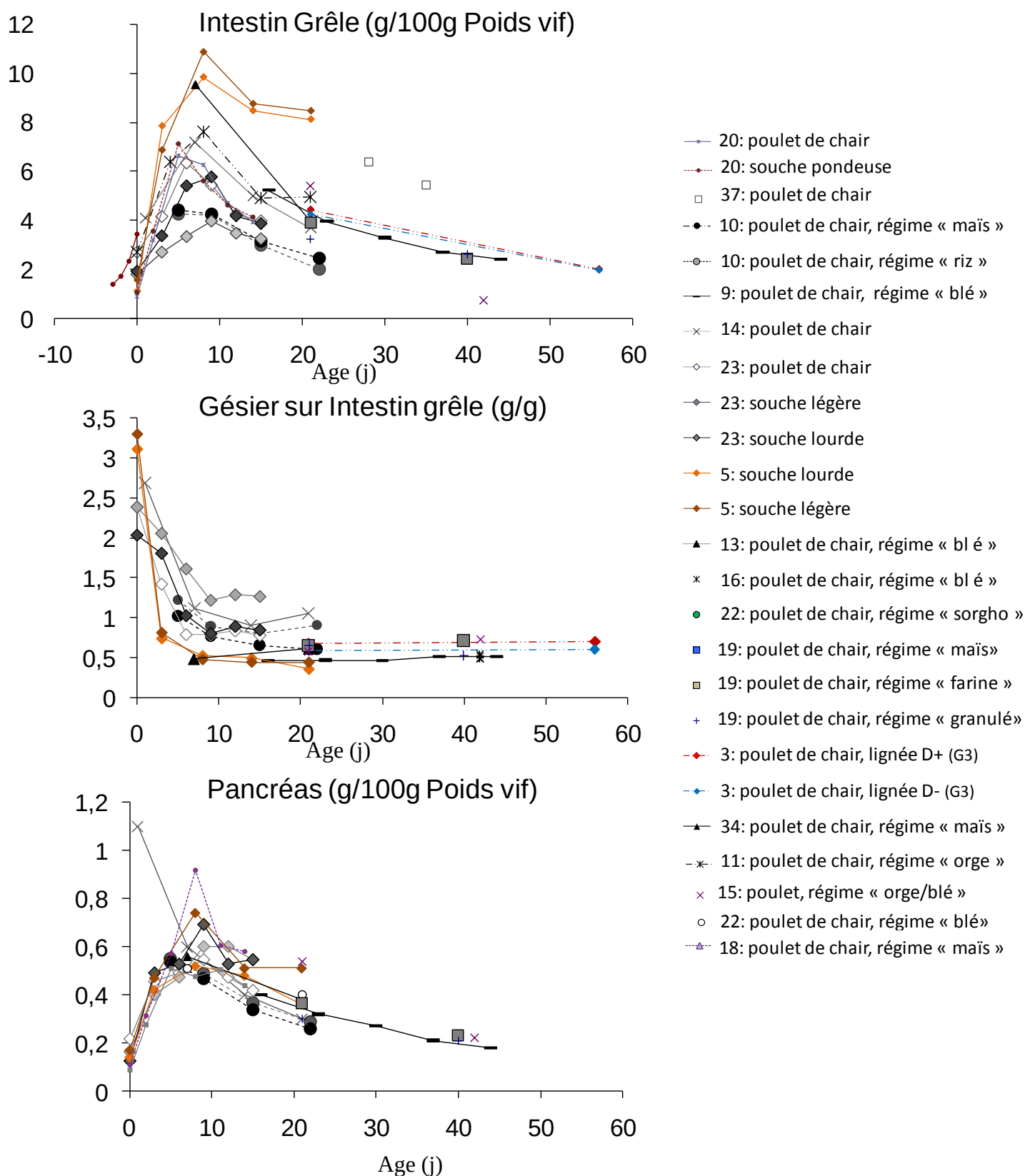


Figure 6c. Effet de l'âge sur le poids relatif de l'intestin grêle, du rapport « poids de gésier / poids d'intestin grêle (g/g) » et du poids relatif de pancréas.

Tableau 2. Effet du génotype sur le poids relatif des organes digestifs¹

Source	Souche	Age (j)	Poids vif (g)	Prov	Gésier	Duo	Jeju	Ile	IG	Gésier/IG
				(g/kg Poids Vif)						
5	Souche lourde	0	46	0.72	3.45 ^b	0.26	0.40	0.45	1.11	3.11
5	Souche légère	0	33	0.96	5.18 ^a	0.43	0.53	0.60	1.57	3.30
23	Souche commerciale	0	46	0.99 ^a	6.45 ^a	0.86 ^a	1.06 ^a	0.77 ^a	2.70 ^a	2.39
23	Souche légère	0	23	0.66 ^b	4.27 ^b	0.50 ^b	0.79 ^b	0.50 ^b	1.79 ^b	2.38
23	Souche lourde	0	34	0.55 ^b	3.91 ^b	0.59 ^b	0.65 ^b	0.68 ^{ab}	1.93 ^b	2.03
5	Souche légère	3	50	1.44	5.55	2.17	2.40	2.30 ^b	6.87 ^b	0.81
5	Souche lourde	3	67	1.36	5.82	1.91	2.93	3.00 ^a	7.85 ^a	0.74
23	Souche commerciale	3	69	1.37 ^a	5.91 ^a	1.23 ^a	1.52 ^a	1.41 ^a	4.15 ^a	1.42
23	Souche légère	3	29	1.05 ^c	5.55 ^b	0.77 ^c	1.06 ^c	0.86 ^c	2.70 ^c	2.06
23	Souche lourde	3	46	1.21 ^b	6.09 ^a	0.95 ^b	1.34 ^b	1.09 ^b	3.38 ^b	1.80
23	Souche commerciale	6	109	1.21	5.00 ^b	1.86 ^a	2.43 ^a	2.05 ^a	6.34 ^a	0.79
23	Souche légère	6	34	1.05	5.36 ^a	0.95 ^c	1.34 ^b	1.05 ^b	3.34 ^b	1.61
23	Souche lourde	6	63	1.21	5.55 ^a	1.59 ^b	2.15 ^a	1.68 ^a	5.43 ^a	1.02
5	Souche légère	8	75	1.12	5.09	3.17 ^a	4.40 ^a	3.30 ^a	10.8 ^a	0.47
5	Souche lourde	8	103	1.28	5.18	2.74 ^b	4.00 ^b	3.10 ^b	9.84 ^b	0.53
23	Souche commerciale	9	166	0.94	4.27 ^b	1.59 ^b	2.15 ^b	1.68 ^a	5.43	0.79
23	Souche légère	9	46	1.10	4.82 ^a	1.32 ^c	1.61 ^c	1.05 ^b	3.97	1.21
23	Souche lourde	9	97	1.20	4.64 ^a	1.86 ^a	2.43 ^a	1.50 ^a	5.79	0.80
23	Souche commerciale	12	263	0.77	3.55 ^b	1.23	1.70 ^a	1.32 ^a	4.25 ^a	0.84
23	Souche légère	12	51	0.96	4.45 ^a	1.05	1.43 ^b	1.00 ^b	3.47 ^b	1.28
23	Souche lourde	12	114	1.05	3.73 ^b	1.09	1.88 ^a	1.23 ^a	4.20 ^a	0.89
5	Souche légère	14	133	0.88 ^b	3.82	2.83 ^a	3.73 ^a	2.20 ^b	8.76 ^a	0.44
5	Souche lourde	14	175	1.23 ^a	4.18	1.87 ^b	3.60 ^b	3.00 ^a	8.47 ^b	0.49
23	Souche commerciale	15	360	0.66 ^c	3.09 ^b	1.05 ^b	1.61 ^a	1.32 ^a	3.97	0.78
23	Souche légère	15	57	0.88 ^a	4.09 ^b	0.95 ^b	1.34 ^b	0.95 ^c	3.25	1.26
23	Souche lourde	15	194	0.77 ^b	3.27 ^b	1.14 ^a	1.70 ^a	1.05 ^b	3.88	0.84
5	Souche lourde	21	283	0.85	2.91	2.65 ^b	2.87 ^b	2.60 ^a	8.12 ^b	0.36
5	Souche légère	21	183	0.99	3.68	2.74 ^a	3.33 ^a	2.40 ^b	8.47 ^a	0.43
15	Poulet	21		0.55 ^a	3.12 ^c				5.42 ^a	0.58
15	Canard	21		0.35 ^b	3.86 ^b				3.43 ^b	1.13
15	Oie	21		0.40 ^a	5.39 ^a				3.89 ^b	1.39
36	Lignée D+	22		0.89	2.74 ^a				5.60 ^b	0.49 ^a
36	Lignée D-	22		0.78	2.25 ^b				7.24 ^a	0.32 ^b
35	Lignée D+	27		0.66a	1.40a					
35	Lignée D-	27		0.45b	1.16b					
4	Souche légère (mâles)	35		0.48 ^a	3.41 ^a	0.96 ^a			1.82 ^a	1.87
4	Souche lourde (mâles)	35		0.43 ^b	3.12 ^b	0.83 ^b			1.70 ^b	1.84
4	Souche légère (femelles)	35		0.56 ^a	3.53 ^a	1.12 ^a			2.06 ^b	1.71
4	Souche lourde (femelles)	35		0.54 ^b	3.42 ^b	0.92 ^b			2.14 ^a	1.60
15	Poulet	42		0.08 ^b	1.68 ^c				0.74 ^b	2.27
15	Canard	42		0.12 ^a	3.01 ^b				1.17 ^a	2.57
15	Oie	42		0.10 ^a	3.50 ^a				0.99 ^b	3.54
27	Poulet de chair			1.01	4.00 ^b	1.77	2.86	1.97 ^a	6.60	0.61
27	Poule pondeuse			1.09	5.34 ^a	1.64	2.62	1.66 ^b	5.92	0.90

^{a-c} Des lettres différentes au sein d'une même colonne pour une étude donnée (délimitée par des traits horizontaux) indiquent que les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

¹Prov : Proventricule, Duo : duodénum, Jeju : Jéjunum, Ile : Iléon, IG : Intestin grêle.

3. Effet de l'espèce aviaire et du génotype sur le poids relatif des organes digestifs.

3.1. Différences inter-espèces

Les différences inter espèces sont importantes. Le poids relatif du gésier est le plus élevé chez l'oie (Jamroz *et al.*, 2001) et le canard (Jamroz *et al.*, 2001) et le plus faible chez le poulet (Jamroz *et al.*, 2001), celui de la dinde étant intermédiaire (Jamroz *et al.*, 2001). Cependant, Jamroz *et al.* (2001) ont été les seuls à effectuer une étude comparée sur des animaux nourris avec les mêmes régimes. Il est possible que ces différences de tailles de gésier reflètent des adaptations alimentaires spécifiques à chaque espèce. Ainsi, les muscles du gésier sont plus développés chez des oiseaux herbivores (oie, autruche) ou chez des granivores (poulet) que chez des oiseaux ne nécessitant pas de fort broyage des aliments, tels que les frugivores (merle) (Klasing, 1998). Le poids de l'intestin grêle est plus léger chez le canard que chez l'oie et le poulet (Jamroz *et al.* 2001).

3.2. Influence du génotype sur le poids du proventricule et du gésier (Tableau 2 ; Figures 6)

Le poids relatif du gésier est généralement plus important chez les poulets de souche « légère » (« ponte » ou « croissance lente ») par rapport aux poulets de souche « lourde » (« chair » ou « croissance rapide ») (Tableau 2 et Figures 6), de l'éclosion à 35 jours d'âge. Malgré des poids quasi identiques, les lignées D⁺ et D⁻ ne présentent pas une taille relative de leur gésier identique, celle des D⁺ étant plus importante que celle des D⁻ (Péron *et al.*, 2006 ; Garcia *et al.*, 2007). Les études sur les D⁺ et D⁻ montrent donc que le lien entre vitesse de croissance et poids relatif du gésier n'est pas généralisable. Il est probable que le poids relatif du gésier est lié à d'autres caractères, indépendants du poids de l'animal. Les différences entre génotypes observées sur la taille du proventricule sont généralement similaires à ceux observés sur le gésier, mais les données sont variables selon les études (Tableau 2 et Figures 6).

3.3. Influence du génotype sur le poids de l'intestin grêle

Les différences observées entre génotypes sur le poids relatif de l'intestin grêle sont inverses à celles observées sur les compartiments digestifs proximaux (proventricule et gésier) (Tableau

Tableau 3. Effet de la présentation de l'aliment (farine *versus* granulés)

Source	Présentation	Régime	Age (j)	Jabot	Prov	Gésier	IG ¹	Gésier / IG (g/g)
1	farine (broyage intermédiaire)	blé	21	0.31	0.58	2.20 ^a	2.89	0.76
1	farine (broyage grossier)	blé	21	0.29	0.51	2.01 ^a	2.57	0.78
1	granulés (broyage intermédiaire)	blé	21	0.32	0.52	1.07 ^b	2.83	0.38
1	granulés (broyage grossier)	blé	21	0.30	0.55	1.13 ^b	2.83	0.40
21	farine (broyage fin)	maïs/blé/sorgho	21	0.37	0.67	2.22		
21	farine (broyage intermédiaire)	maïs/blé/sorgho	21	0.39	0.68	2.80		
21	farine (broyage grossier)	maïs/blé/sorgho	21	0.36	0.71	3.13		
19	farine	sorgho/blé	21	0.39	0.66 ^a	2.54 ^a	3.92 ^a	0.65
19	granulés	sorgho/blé	21	0.34	0.57 ^b	2.12 ^b	3.25 ^b	0.65
27	farine	soja/blé	21			3.30	5.80	0.57
27	granulés	soja/blé	21			2.90	6.50	0.45
22	farine	maïs/soja	21/42	0.3	0.5	2.38 ^a	3.4	0.70
22	farine- granulés 50/50	maïs/soja	21/42	0.3	0.5	2.05 ^b	3.4	0.60
22	granulés tendres	maïs/soja	21/42	0.3	0.5	1.8 ^c	3.4	0.53
22	granulés tendres/ durs 50/50	maïs/soja	21/42	0.3	0.52	1.7 ^c	3.4	0.50
22	granulés durs	maïs/soja	21/42	0.3	0.49	1.7 ^c	3.4	0.50
19	farine	sorgho/blé	40	0.26	0.46	1.75 ^a	2.44	0.72
19	granulés	sorgho/blé	40	0.28	0.43	1.38 ^b	2.63	0.52
6	farine (fine)	blé/soja/pois	42			1.68 ^b		
6	farine (grossière)	blé/soja/pois	42			1.80 ^a		
6	granulés (fins)	blé/soja/pois	42			1.23 ^d		
6	granulés (grossiers)	blé/soja/pois	42			1.29 ^c		

^{a-c} Des lettres différentes au sein d'une même colonne pour une étude donnée (délimitée par des traits horizontaux) indiquent que les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

¹ Prov : Proventricule, IG : Intestin Grêle

2). En effet, le poids relatif de l'intestin grêle est plus élevé chez les poulets lourds que chez les poulets légers, et chez les poulets de lignée D⁻ par rapport aux D⁺ (Tableau 2). Au niveau histologique, les intestins grêles plus lourds présentent souvent des villosités plus grandes (Maisonnier *et al.*, 2003). On peut donc supposer que, à poids équivalent, les souches qui présentent des poids intestinaux plus importants ont probablement également des villosités intestinales plus longues. Il est donc probable que les différences de largeur villositaire entre souches observées par Uni *et al.* (1995 a,b) sont associées à des poids intestinaux différents.

3.4. Influence du génotype sur le rapport pondéral « Gésier / Intestin grêle »

Le rapport pondéral « gésier/ intestin grêle » résume les différences observées sur le gésier et sur l'intestin grêle. Ainsi on observe que les D⁺ et les poulets de souche « légère » ont un rapport pondéral plus élevé que les D⁻ et les poulets de souche « lourde », respectivement (Tableau 2).

4. Effets des caractéristiques des aliments

4.1. Taille des particules alimentaires

4.1.1. Cas des régimes présentés sous forme de farine

Une granulométrie grossière des particules d'un régime sous forme de farine est associée à un plus gros gésier (poids relatif) qu'avec une farine de granulométrie plus fine (Engberg *et al.*, 2002 ; Nir *et al.*, 1994).

Les profils granulométriques des régimes « farine » n'entraînent pas d'effet significatif sur la taille de l'intestin grêle (Engberg *et al.*, 2002 ; Nir *et al.*, 1994). Néanmoins, on observe une tendance à la diminution de ce poids relatif plus la proportion de particules grossières dans le régime augmente (Nir *et al.*, 1994).

4.1.2. Cas des régimes présentés sous forme de granulés

Le profil granulométrique des régimes sous forme de granulés est obtenu par tamisage humide (Engberg *et al.*, 2002 ; Péron *et al.*, 2005). Le gésier des poulets est plus gros (poids

Tableau 4. Effet de la présence de grains entiers sur le poids des organes digestifs

Source	Souche	Grain entier	Présentation	Quantité de grains entiers	Composition	Age (j)	Gésier	IG ¹	Gésier / IG
							(g/100g PV)		(g/g)
9	Ross	non	farine				1.51	3.55	0.43
9	Ross	blé	farine + blé entier	40%	blé / maïs / soja	21	1.90	3.55	0.54
27	Ross	non	granulés				2.90	6.50	0.45
27	Ross	non	farine		blé / soja	21	3.30	5.80	0.57
27	Ross	blé	granulés	40%			4.70	6.80	0.69
33	Ross	non	granulés		blé/soja		1.00 ^b	3.19	0.31
33	Ross	blé	granulés + blé entier dans granulés	20%	blé/soja	21	1.04 ^b	2.97	0.35
33	Ross	blé	granulés + blé entier hors granulés	20%	blé/soja		1.88 ^a	3.05	0.62
13	Ross	non	granulés				2.50 ^d		
13	Ross	blé	granulés + blé entier	12.5%			3.40 ^c		
13	Ross	avoine	granulés + avoine entier	12.5%			3.80 ^a		
13	Ross	orge	granulés + orge entier	12.5%	soja	24	3.60 ^b		
13	Ross	blé	granulés + blé entier	50%			3.90 ^b		
13	Ross	avoine	granulés + avoine entier	50%			3.70 ^c		
13	Ross	orge	granulés + orge entier	50%			4.40 ^a		
9	Ross	non	granulés		blé / soja / maïs	29	0.82	3.01	0.27
9	Ross	blé	granulés	40%	blé /complément		1.65	2.72	0.61
16	Type chair	non	granulés		sorgho/soja	30	17.6		
16	Type chair	triticale	granulés + grain entiers dans granulés	20%	sorgho/soja		17.5		
12	Type chair	non	granulés				2.06 ^a		
12	Type chair	non	granulés +10% fibres grossières (avoine)				2.60 ^c		
12	Type chair	blé	granulés	10%	blé / soja	33	2.79 ^b		
12	Type chair	blé	granulés +10% fibres grossières (avoine)	10%			3.01 ^a		
32	Ross	non	granulés				0.99	2.01	0.49
32	Ross	blé	granulés + blé entier	20%	blé / soja	35	1.35	2.25	0.60
7	Ross	non	granulés				1.07 ^b	3.51	0.30
7	Ross	blé	granulés + blé entier	30%	blé / soja	35	1.74 ^a	3.34	0.52
13	Ross	non	granulés				1.40 ^b		
13	Ross	blé	granulés + blé entier	30%	blé / soja	38	2.60 ^a		
13	Ross	blé	granulés + blé entier	44%			2.80 ^a		
2	Type chair	blé	granulés	45%			1.67	2.01	0.83
2	Type chair	blé	farine	45%			1.78	2.10	0.85
2	Type chair	non	granulés		blé/orge	41	1.37 ^c	2.06	0.67
2	Type chair	blé	granulés + blé entier	35%	blé/orge		1.62 ^b	2.03	0.80
2	Type chair	blé	granulés + blé entier	50%	blé/orge		1.82 ^a	2.10	0.87
2	Type chair	blé	granulés + blé entier	65%	blé/orge		1.85 ^a	2.07	0.89
29	Ross	non	granulés				1.13 ^b	2.73	0.41
29	Ross	blé	granulés+ blé entier	20%	blé / soja	42	1.22 ^a	2.54	0.48
29	Ross	non	granulés		orge / soja		1.27 ^b	2.61	0.49
29	Ross	orge	granulés+ blé entier	20%			1.43 ^a	2.41	0.59
16	Type chair	non	granulés		sorgho/soja		11.1 ^a		
16	Type chair	triticale	granulés + grain entiers dans granulés	20%	sorgho/soja	42	13 ^a		
16	Type chair	non	granulés		sorgho/soja		12.6 ^b	26	0.48
16	Type chair	blé	granulés + grain entiers dans granulés	20%	sorgho/soja		14.1 ^a	27.1	0.52

^{a-c} Des lettres différentes au sein d'une même colonne pour une étude donnée (délimitée par des traits horizontaux) indiquent que les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

¹ IG : Intestin Grêle

relatif) avec des granulés contenant des particules grossières ($>850\mu\text{m}$) qu'avec des particules fines (Engberg *et al.*, 2002 ; Péron *et al.*, 2005). L'incorporation de céréales entières avant granulation entraîne de la même façon une augmentation du poids du gésier (Hetland *et al.*, 2002 ; Svihus *et al.*, 2004).

Par contre, il n'y a pas d'effet significatif sur le poids de l'intestin grêle (Péron *et al.*, 2005).

4.1.3. Influence de la présence de grains entiers dans les régimes (Tableau 3)

De nombreuses études rapportent l'utilisation de blé entier dans les régimes (Jones & Taylor, 2001; Bennett *et al.*, 2002a; Hetland *et al.*, 2002; Svihus *et al.*, 2002b; Engberg *et al.*, 2004; Svihus *et al.*, 2004a; Wu & Ravindran, 2004). Son emploi est avantageux, puisqu'il permet de réduire les coûts de fabrication des aliments (moins de transformation) et de transport. L'utilisation de blé entier entraîne cependant des réponses différentes selon les études. L'incorporation intra granulés de grains entiers (Wu *et al.*, 2004b) n'a pas d'effet prononcé sur la taille (poids relatif) des compartiments digestifs. Cette pratique a généralement pour conséquence d'augmenter le poids relatif du gésier (Svihus & Hetland, 2001; Gabriel *et al.*, 2003; Taylor & Jones, 2004; Wu & Ravindran, 2004). Ce dernier est augmenté plus fortement lorsque des grains entiers sont introduits dans un régime « granulé » plutôt que dans un régime « farine » (Bennett *et al.*, 2002a).

Plus la quantité de grain entier est élevée, plus le poids du gésier est augmenté (Hetland *et al.*, 2002).

4.2. Granulés versus farine (Tableau 4)

Le poids relatif du gésier est plus élevé chez des poulets nourris avec un régime présenté sous forme de farine qu'avec un régime présenté sous forme de granulés (Engberg *et al.*, 2002). Ceci est probablement dû au fait que la taille particulière des farines est plus importante que celle des constituants des granulés (Nir *et al.*, 1994a; Svihus & Hetland, 2001; Engberg *et al.*, 2002; Amerah *et al.*, 2007b), et cette différence est d'autant plus marquée que la taille des particules de l'aliment de départ est élevée (Nir *et al.*, 1994b; Nir *et al.*, 1994c).

La présentation en farine ou en granulés n'a en général pas d'influence sur le poids de l'intestin grêle (Tableau 4). Après broyage dans le gésier, la taille particulière du chyme est réduite et harmonisée entre les différentes classes de tailles particulières, ce qui, d'après Hetland *et al.* (2004), pourrait expliquer l'absence d'effets entre farine et granulés sur le poids

Tableau 5. Effet du type de céréales sur le poids relatif des organes digestifs

Source	Souche	Céréales entières	Composition	Age	Poids vif	Jabot	Prov	Gésier /					
								IG ¹	IG				
				(sem)	(g)	(g/kg Poids vif)						(g/g)	
1	Type chair	non	blé	3	888	0.30	0.38	0.90	0.51	1.16	0.79	2.47	0.37
1	Type chair	non	maïs	3	823	0.29	0.46	0.94	0.53	1.08	0.75	2.35	0.40
1	Type chair	non	blé	3	872	0.31	0.40	1.00	0.52	1.17	0.76	2.46	0.41
1	Type chair	non	maïs	3	870	0.33	0.43	1.26	0.52	1.05	0.69	2.27	0.56
2	Type chair	blé	blé / orge	6		0.26	0.34	1.67				2.01	0.83
2	Type chair	blé	blé / orge	6		0.26	0.34	1.78				2.10	0.85
29	Type chair	non	blé/ soja	6	2603		0.57	1.13	0.8	1.03	0.9	2.73	0.41
29	Type chair	blé	blé/ soja	6	2606		0.41	1.22	0.77	0.97	0.8	2.54	0.48
29	Type chair	non	orge/soja	6	2546		0.45	1.27	0.79	0.98	0.84	2.61	0.49
29	Type chair	orge	orge/soja	6	2588		0.37	1.43	0.73	0.93	0.75	2.41	0.59
10	Type chair	non	maïs	5	96.1		1.29	5.16	1.16	1.76	1.33	4.25	1.21
10	Type chair	non	maïs	9	182.6		0.91	3.74	0.94	2.02	1.25	4.21	0.89
10	Type chair	non	maïs	15	406.2		0.62	2.4	0.56	1.38	1.04	2.98	0.81
10	Type chair	non	maïs	22	767.2		0.44	1.81	0.36	0.94	0.71	2.01	0.90
10	Type chair	non	riz	5	93.4		1.15	4.55	1.15	1.75	1.54	4.44	1.02
10	Type chair	non	riz	9	175.1		0.85	3.26	0.89	1.95	1.42	4.26	0.77
10	Type chair	non	riz	15	412.6		0.58	2.07	0.54	1.47	1.15	3.16	0.66
10	Type chair	non	riz	22	794.7		0.45	1.48	0.38	1.11	0.96	2.45	0.60
8	Type pondeuse	non	maïs	84	1441		0.39	2.15 ^c				1.61	1.34
8	Type pondeuse	non	20% avoine	84	1410		0.4	2.6 ^b				1.83	1.42
8	Type pondeuse	non	40% avoine	84	1386		0.41	3.0 ^a				1.77	1.69
8	Type pondeuse	non	20% orge	84	1423		0.41	2.16 ^c				1.88	1.15
8	Type pondeuse	non	40% orge	84	1443		0.39	2.39 ^{bc}				1.99	1.20
8	Type pondeuse	non	maïs	140	1935		0.39	1.80 ^c				2.47 ^b	0.73
8	Type pondeuse	non	20% avoine	140	2102		0.34	2.59 ^{ab}				2.24 ^b	1.16
8	Type pondeuse	non	40% avoine	140	2003		0.42	2.96 ^a				2.43 ^b	1.22
8	Type pondeuse	non	20% orge	140	1898		0.44	2.28 ^{bc}				2.83 ^b	0.81
8	Type pondeuse	non	40% orge	140	1876		0.43	1.96 ^c				3.49 ^a	0.56
30	Type chair	non	blé	14			0.63	1.64	1.02	2.06	1.62	4.73	0.35
30	Type chair	non	sorgho	14			0.67	1.87	1.02	1.94	1.72	4.68	0.40
30	Type chair	non	maïs	14			0.62	1.69	0.99	2.09	1.5	4.57	0.37

^{a-c} Des lettres différentes au sein d'une même colonne pour une étude donnée (délimitée par des traits horizontaux) indiquent que les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$).

¹Prov : Proventricule, Duo : duodénum, Jeju : Jéjunum, IG : Intestin grêle

et la longueur de l'intestin grêle. Cependant, la taille de l'intestin grêle ne dépend pas forcément que de la taille des particules qui y résident. Il n'est pas exclu que la vitesse de l'évacuation gastrique agisse aussi sur le poids de l'intestin, étant donné que l'on observe souvent une relation inverse entre les tailles du gésier et de l'intestin (cf. chapitre plus haut). Or des tailles particulières fortes augmentent la taille du gésier (cf. chapitre plus haut). Il se pourrait donc que l'amplitude de variation des tailles particulières induite par la granulation ne soit pas suffisante pour exprimer ce phénomène de relation inverse entre taille du gésier et de l'intestin.

4.3. Type de céréale (Tableau 5)

Selon Thomas et Ravindran (2008) et Carré *et al.* (2008), le poids relatif du gésier est plus élevé avec un régime à base de maïs qu'avec un régime à base de blé. L'ingestion de maïs tend à diminuer (Thomas et Ravindran, 2008) ou diminue (Carré *et al.*, 2008) le poids relatif de l'intestin par rapport à celui obtenu avec du blé.

4.4. Fibres insolubles (Tableau 6)

L'addition de fibres dans les aliments entraîne l'introduction de particules grossières et la dilution du régime. Les fibres s'accumulent dans le gésier (Hetland *et al.*, 2003) et provoquent une augmentation du poids musculaire du gésier (Hetland & Svihus, 2001b, 2003; Gonzales-Alvarado *et al.*, 2008). Cet effet est d'autant plus marqué que leur taux d'incorporation dans l'aliment est élevé (Tableau 6). L'effet est cumulatif avec l'ajout de grains entiers (Hetland *et al.*, 2003). Le poids relatif du gésier étant positivement associé à la rétention des digesta dans ce compartiment (Shires *et al.*, 1987), l'augmentation du poids du gésier serait associée à une plus longue rétention, en association avec un ralentissement du passage du chyme vers l'intestin grêle (Hetland *et al.*, 2003).

L'ajout de fibres insolubles tend à diminuer le poids relatif de l'intestin grêle (Tableau 10) (Hetland *et al.*, 2003 ; Gonzales-Alvarado *et al.*, 2007,2008 ; Amerah *et al.*, 2009). Cette diminution peut s'interpréter comme une conséquence de l'augmentation du poids relatif du gésier, et de l'amélioration de la digestibilité qui en résulterait. En effet, Maisonnier *et al.* (2001) ont établi une association positive entre la taille du gésier et la digestibilité des protéines, mais des corrélations négatives entre le poids des segments de l'intestin grêle et la

Tableau 6. Effets de la présence de fibres sur le poids relatif des organes digestifs

Source	Souche	Régime	Fibres	Forme	Céréales	Age (j)	Poids vif (g)	Prov	Gésier	Duo	Jeju	Ile	IG ¹	Gésier / IG
								(g/100g Poids vif)						(g/g)
10	Cobb	Témoin			riz/maïs/soja	5	94	1,22 ^b	4,7 ^b	1,22	1,76	1,49	4,5	1,05
10	Cobb	"Fibre"	avoine (3%)		riz/maïs/soja	5	95	1,20 ^b	5,2 ^a	1,10	1,72	1,36	4,2	1,24
10	Cobb	"Fibre"	soja (3%)		riz/maïs/soja	5	95	1,24 ^a	4,7 ^b	1,16	1,79	1,49	4,4	1,06
10	Cobb	Témoin			riz/maïs/soja	9	175	0,82 ^b	3,2 ^b	0,93	2,04	1,37	4,3	0,74
10	Cobb	"Fibre"	avoine (3%)		riz/maïs/soja	9	183	0,88 ^b	3,8 ^a	0,91	1,94	1,30	4,2	0,93
10	Cobb	"Fibre"	soja (3%)		riz/maïs/soja	9	178	0,94 ^a	3,5 ^b	0,91	1,97	1,34	4,2	0,82
10	Cobb	Témoin			riz/maïs/soja	15	402	0,56 ^b	2,0 ^b	0,53	1,47	1,11	3,1	0,65
10	Cobb	"Fibre"	avoine (3%)		riz/maïs/soja	15	418	0,59 ^b	2,5 ^a	0,53	1,35	1,03	2,9	0,87
10	Cobb	"Fibre"	soja (3%)		riz/maïs/soja	15	418	0,63 ^a	2,2 ^b	0,58	1,46	1,14	3,2	0,68
38	Ross	Témoin			soja/blé	17		0,53	2,2 ^c	1,43	1,38 ^b	0,99	3,8	0,57
38	Ross	"Fibre"	avoine(10%)		soja/blé	17		0,59	3,2 ^a	2,95	1,57 ^a	0,98	5,5	0,57
38	Ross	"Fibre"	avoine(10%)		soja/blé	17		0,56	2,5 ^b	2,42	1,36 ^b	0,96	4,7	0,53
10	Cobb	Témoin			riz/maïs/soja	22	756	0,44	1,5 ^b	0,38	1,04	0,85	2,3	0,64
10	Cobb	"Fibre"	avoine (3%)		riz/maïs/soja	22	782	0,43	1,9 ^a	0,36	0,99	0,78	2,1	0,91
10	Cobb	"Fibre"	soja (3%)		riz/maïs/soja	22	806	0,46	1,5 ^b	0,38	1,06	0,89	2,3	0,66
12	Type chair	Témoin		G ²	blé/soja	33			2,1					
12	Type chair	"Fibre"	avoine(10%).	G	blé/soja	33			2,6					

^{a-c} Des lettres différentes au sein d'une même colonne pour une étude donnée (délimitée par des traits horizontaux) indiquent que les moyennes sont significativement différentes ($P < 0,05$)

¹Prov : Proventricule, Duo : duodénum, Jeju : Jéjunum, Ile : Iéon, IG : Intestin grêle

²G : Granulés

³F : Farine

digestion, c'est-à-dire qu'un intestin grêle plus lourd (en poids relatif) était associé à une baisse de l'EMAn.

L'ajout de fibres insolubles grossières est également associé à l'augmentation du rapport pondéral (Gésier/ Intestin grêle) (Tableau 6). Il est possible que la nature des fibres ajoutées ait une influence sur l'effet qu'elles provoquent sur l'anatomie digestive. Par exemple, Gonzales-Alvarado *et al.* (2008) observent que les balles d'avoine induisent une augmentation de la taille du gésier, mais pas les balles de soja (Tableau 6).

La taille particulière des fibres est importante à prendre en compte, puisque Hetland et Svihus (2001) ont trouvé que le poids relatif du gésier était d'autant plus élevé que les particules de balles d'avoine étaient grossières. La taille du gésier (poids) est très malléable et réversible puisque l'alternance entre un régime à haute teneur avec un régime à faible teneur en fibre est accompagnée d'un changement rapide et réversible de la taille du gésier (Starck, 1999). L'effet des particules grossières sur le travail du gésier repose sur le fait que les particules doivent atteindre une taille inférieure à un seuil critique (ou plus 0.5 à 1.5mm) avant de passer à travers le pylore (Clemens *et al.*, 1975; Vergara *et al.*, 1989a; Hetland *et al.*, 2002; Svihus *et al.*, 2002a).

II. FONCTIONS DIGESTIVES

1. Sécrétions digestives

1.1. Description

Il faut distinguer les sécrétions digestives enzymatiques et les sécrétions digestives non enzymatiques. Parmi les sécrétions non enzymatiques se trouvent le mucus, la bile et les ions (hydrogène, sodium, chlorure et bicarbonate). Les sécrétions enzymatiques sont constituées des enzymes pancréatiques et intestinales.

Les glandes salivaires de la cavité buccale et les cellules dites "en gobelets" de la muqueuse de l'œsophage, du jabot, et de l'intestin grêle sécrètent du mucus, composé essentiellement de glycoprotéines (Denbow, 2000; Uni *et al.*, 2003a). Le mucus humidifie les aliments, joue un rôle de lubrifiant pour faciliter le déplacement du chyme (Denbow, 2000), et assure une protection de la muqueuse intestinale (Uni *et al.*, 2003a).

Dans la muqueuse du proventricule, des cellules spécialisées oxyntico-peptiques sécrètent à la fois du pepsinogène et de l'HCl (Denbow, 2000). Le pepsinogène est activé en pepsine sous l'action du pH bas qui règne dans le compartiment, ou par activation par de la pepsine déjà présente (Crévieu-Gabriel, 1999; Denbow, 2000). La pepsine initie la dégradation des protéines (Hill, 1971).

Les sécrétions pancréatiques et biliaires se déversent dans le duodénum par les canaux pancréatiques et hépatique et biliaire, respectivement.

Le suc pancréatique contient:

- du bicarbonate de sodium qui neutralise le chyme acide en provenance du gésier,
- des protéases, sous forme de zymogènes inactifs (trypsinogène, chymotrypsinogène, procarboxypeptidases, proelastase)(Moran, 1985; Pubols, 1991), qui après activation par l'entérokinase duodénale hydrolysent les protéines en peptides. Le trypsinogène est activé en trypsine par auto-hydrolyse ou par l'intermédiaire de l'entérokinase de la bordure en brosse de l'intestin ; la trypsine active à son tour les autres zymogènes.

- de la lipase (Krogh & Sell, 1989; Jin *et al.*, 1998), qui avec l'action de la colipase, permettent la dégradation des lipides, en association avec des sels biliaires.

- de l' α -amylase (Pubols, 1991; Sell *et al.*, 1991) qui dégrade les molécules d'amidon en oligomères de glucose (Whelan, 1953).

Le foie produit la bile (Denbow, 2000) qui contient du bicarbonate de sodium et des acides biliaires sous forme conjugués, dont les principaux chez le poulet sont l'acide cholique et l'acide chénodéoxycholique conjugués à la taurine ou à la glycine. Ils sont stockés dans la vésicule biliaire puis excrétés dans le duodénum (Jin *et al.*, 1998; Denbow, 2000).

Les enzymes digestives présentes au niveau de la surface apicale des entérocytes de la muqueuse intestinale assurent les étapes finales de digestion (Jin *et al.*, 1998). Ces enzymes ne sont pas sécrétées mais sont ancrées dans la membrane ou sont intracellulaires. On distingue :

- l'entérokinase qui permet l'activation du trypsinogène en trypsine (Malagelada, 1981; Jin *et al.*, 1998).
- les dipeptidases et aminopeptidases, qui libèrent des dipeptides et des acides aminés (Jin *et al.*, 1998; Crévieu-Gabriel, 1999).
- les disaccharidases telles que la maltase (Siddons *et al.*, 1985; Jin *et al.*, 1998; Uni *et al.*, 1999), l'isomaltase (Jin *et al.*, 1998) et l'invertase.

Absorption des nutriments

Une fois dégradés par les enzymes digestives, les nutriments sont absorbés à travers la muqueuse intestinale. L'absorption a lieu principalement dans la partie distale de l'intestin grêle (Crévieu-Gabriel, 1999). Le plus fréquemment, l'absorption s'effectue grâce à des transporteurs plus ou moins spécifiques.

Concernant les **protéines**, les tri- et di- peptides peuvent être absorbés tels quels, par le transporteur pepT1 (Gilbert *et al.*, 2007), qui est H⁺ dépendant (Chen *et al.*, 2005), tandis que les acides aminés libres sont absorbés grâce à des transporteurs plus ou moins spécifiques d'un acide aminé (Gilbert *et al.*, 2007). Pour les **glucides**, les transporteurs sont soit actifs (Na⁺ dépendant) soit passifs (facilités par un gradient de glucose) (Thorens, 1996). Le transport du glucose et du galactose se fait par le transporteur SGLT1 (Ferraris, 2001; Garriga *et al.*, 2002). Ce transporteur est peut-être limitant pour l'absorption (Sklan & Noy, 2003). Le transport du fructose est effectué à l'aide du transporteur GLUT5 (diffusion facilitée) (Ferraris, 2001). Quant aux **lipides**, ils sont absorbés sous forme d'acides gras libres, de monoglycérides et de cholestérol par endocytose du contenu micellaire. Les acides biliaires sont réabsorbés à plus de 90% dans le jéjunum et l'iléon (Ebihara & Schneeman, 1989).

1.2. PH des contenus digestifs

Chaque enzyme agit à un pH optimal (Herpol, 1966). Le pH dans les contenus digestifs diffère selon le compartiment digestif (Tableau 7). Il est déterminé par le déversement des sécrétions digestives tout au long du tractus digestif mais peut être influencé par la composition et la forme de l'aliment.

Le pH du contenu de gésier est plus élevé chez des poulets nourris avec un aliment présenté sous forme de granulés par rapport à des poulets nourris avec un aliment sous forme de farine (Engberg *et al.*, 2002). Un aliment sous forme de farine doit donc stimuler plus fortement la sécrétion de HCl par le proventricule. Cette différence pourrait s'expliquer par le fait que les aliments « farine » ont un temps de séjour plus long dans le gésier que les aliments « granulés », du fait de leur plus grande taille particulière (Engberg *et al.*, 2002). De façon similaire, les aliments grossiers ou contenant des grains entiers pourraient entraîner un pH plus bas dans le gésier que les aliments constitués par des particules de faible taille. Ainsi l'ajout de fibres grossières dans le régime a entraîné une baisse de pH dans le gésier (Jimenez-Moreno *et al.*, 2009).

En revanche, dans l'intestin grêle, le pH est plus faible pour les poulets nourris avec des granulés que pour ceux nourris avec un aliment sous forme de farine, ce qui suggère une moindre sécrétion de bicarbonate de sodium par le pancréas et les voies biliaires dans le cas de l'utilisation de granulés.

	Farner, 1942	Herpol et van Grembergen, 1967	Mahagna <i>et al.</i> , 1995	Engberg <i>et al.</i> , 2002		Ao <i>et al.</i> , 2007	Gonzales - alvarado <i>et al.</i> , 2008
	Poulet ¹	Poulet ²	Poulet	Poulet		Poulet	Poulet
				farine	granulés		
Jabot	4,47 - 4,54	6,26 - 6,34				6,50	
Proventricule	4,33 - 4,51	1,77 - 1,83					
Gésier	2,46 - 2,79	2,47 - 2,53	2,93	3,68	4,00	3,00	3,26
Duodénum	5,68 - 6,07	6,39 - 6,41	6,67	6,21	5,84	7,00	
Jéjunum	5,72 - 6,0	6,58 - 6,62		6,17	6,05		5,83
Iléon	6,18 - 6,50	7,18 - 7,22		7,18	6,73	7,50	6,94
Rectum	6,08 - 6,58	6,98 - 7,02		6,47	5,97		
Cæca	5,60 - 5,83	6,88 - 6,92		6,70	6,13		

¹ les mesures ont été faites sur des poulets nourris ad libitum (régime à base de maïs, avoine et blé)

² les mesures ont été faites sur des poulets à jeun.

Tableau 7. Valeurs de pH dans les contenus digestifs chez le poulet.

1.3. Ontogenèse

1.3.1. Enzymes pancréatiques

Les enzymes pancréatiques apparaissent en fin de période d'incubation (Moran, 1985; Noy & Sklan, 1997; Sklan, 2001). À partir de l'éclosion, l'augmentation du poids relatif du pancréas (cf. partie A) reflète l'augmentation de la production et du stockage d'enzymes pancréatiques.

Les sécrétions d'enzymes pancréatiques dans l'intestin grêle peuvent être mesurées directement, avec la pose de canules à la sortie du pancréas chez le poulet (Hulan et Bird, 1972), mais cette technique reste complexe. Plus simplement, les sécrétions d'enzymes pancréatiques dans l'intestin grêle peuvent être évaluées avec la mesure des activités enzymatiques dans les contenus digestifs (Krogdahl et Sell, 1989 ; Nitsan *et al.*, 1991 ; Nir *et al.*, 1993). La mesure des activités enzymatiques dans le pancréas sert d'indicateur de la production d'enzymes.

Les activités enzymatiques sont exprimées en unités internationales (U.I.). Une U.I. correspond à la quantité d'enzymes nécessaire pour hydrolyser 1 μ mol de substrat par minute dans des conditions spécifiques de pH et de température pour une enzyme donnée (Hulan et Bird, 1972). Les activités enzymatiques (U.I.) sont souvent rapportées au poids vif de l'animal (Nir *et al.*, 1993), au poids de l'organe (Krogdahl et Sell, 1989), ou à la masse de protéines (activité spécifique).

L'activité des enzymes pancréatiques rapportée au poids vif mesurée dans le pancréas et dans les contenus intestinaux augmente significativement à partir de l'éclosion (Nitsan *et al.*, 1991a; Sklan & Noy, 2003; Krogdahl et Sell, 1989), en rapport avec la consommation d'aliment. L'augmentation de l'activité de la lipase les jours suivant l'éclosion est moins forte que les autres enzymes (d'après les activités mesurées). La raison invoquée serait que la lipase est déjà active très précocement (Sklan & Noy, 2003), pour digérer le contenu du sac vitellin. L'activité de l'amylase augmente fortement dans les contenus digestifs jusqu'à atteindre un seuil vers le 24^{ème} jour suivant l'éclosion (Krogdahl et Sell, 1989). Cette augmentation reflète probablement l'adaptation à la consommation d'un aliment riche en amidon (Noy & Sklan, 1999). Les activités protéasiques (Nitsan *et al.*, 1991a; Nir *et al.*, 1993) et lipasiques (Uni *et al.*, 1995) semblent atteindre un pic vers le 11^{ème} jour d'âge.

1.3.2. Enzymes intestinales

Les enzymes de la bordure en brosse sont elles aussi déjà présentes aux derniers jours de la période d'incubation (Uni *et al.*, 2003b). Après l'éclosion, leur activité augmente beaucoup plus rapidement que pendant les derniers jours d'incubation (Uni *et al.*, 1999). L'activité de la maltase et de l'invertase atteint un pic vers le deuxième jour après l'éclosion, puis se stabilise (Uni *et al.*, 1998)

1.4. Facteurs de variation des sécrétions enzymatiques

1.4.1. Facteurs génétiques

Nir *et al.* (1993) ont mis en évidence un fort effet génétique sur l'activité des enzymes digestives, entre des poules pondeuses et des poulets de chair. A partir de 10 jours d'âge, les activités (rapportées au poids vif de l'animal) de l'amylase et de la lipase dans les contenus digestifs étaient plus importantes pour la souche « pondeuse » par rapport à la souche « chair », en association avec un poids relatif de pancréas plus élevé pour la souche « pondeuse ». Les différences de poids relatif de pancréas observées entre génotypes (voir partie A) suggèrent ainsi des différences d'activité enzymatiques. Péron *et al.* (2005) ont observé, sur des poulets nourris avec un régime « blé », que le poids du pancréas était plus élevé pour la lignée D⁻ (mauvais digesteurs) que pour la lignée D⁺ (bons digesteurs). Cependant, cet effet était probablement dû à la présence du blé dans l'aliment.

1.4.2. Facteurs alimentaires

- **Stimulation mécanique et chimique**

La distension du duodénum, provoquée par la présence de chyme, stimule le nerf vague et entraîne la libération d'hormones, notamment la secretine, par l'épithélium intestinal (cf partie C.1.). A son tour, la secrétine stimule la sécrétion d'enzymes pancréatiques dans le duodénum (Duke *et al.*, 1987). En revanche, la présence d'enzymes dans l'intestin grêle (trypsine, chymotrypsine) sert de rétrocontrôle négatif sur la sécrétion pancréatique (Fushiki *et al.*, 1999). Chez le poulet (Gertler et Nitsan, 1970), la présence de facteurs antitrypsiques dans l'aliment entraîne une augmentation des sécrétions d'enzymes pancréatiques, probablement à cause de la liaison des facteurs antitrypsiques avec la trypsine dans les digesta (Perrot, 1995). Dans ce cas, le rétrocontrôle négatif sur la sécrétion pancréatique ne peut plus s'exercer.

Tableau 8. Récapitulatif des études de la motricité du tractus gastro-intestinal chez le poulet et la dinde. Méthodes et conditions expérimentales.

Source	Espèce	Age	Technique d'étude de motricité	Conditions alimentaires
Clench et Mathias, 1995	poulet		électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	à jeun
Hall et Duke, 2000	dinde	5 sem	radiographie au sulfate de baryum	nourris ad libitum
Clench <i>et al.</i> , 1989	poulet		électrodes implantées dans l'intestin grêle	à jeun versus nourris
Duke et Kostusch, 1975	dinde	8-12 sem	jauges de contrainte suturées sur le proventricule, le gésier et le duodénum	à jeun (12-18h de jeûne)
Degolier <i>et al.</i> , 1997	poulet	10-18 sem	jauges de contrainte suturées sur le gésier et duodénum	nourris ad libitum
Jimenez <i>et al.</i> , 1994	poulet	6-9 sem	électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	nourris ad libitum versus à jeun
Dziuk et Duke, 1972	dinde	8-12sem	radiographie au sulfate de baryum	nourris ad libitum versus à jeun
Duke <i>et al.</i> , 1972	dinde	7-14 sem	électrodes implantées dans les muscles du gésier	nourris ad libitum
Rodriguez-Sinovas <i>et al.</i> , 1997	poulet	6-9 sem	électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	nourris ad libitum versus à jeun (24h)
Martinez <i>et al.</i> , 1995	poulet	6-8 sem	électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	nourris ad libitum
Clench et Mathias, 1992	poulet		électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	à jeun
Jimenez <i>et al.</i> , 1992	poulet	4 sem	électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	
Roche et Ruckebusch, 1978	poulet	8-12 sem	électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	nourris ad libitum versus à jeun (24h)
Mueller <i>et al.</i> , 1990	dindes	7-8 sem	jauges de contrainte et électrodes implantées le long du tractus gastrointestinal	nourris ad libitum versus à jeun (14h)

- **Composition des aliments**

Un régime pauvre en lipides favorise l'augmentation en trypsine, chymotrypsine, et α -amylase tandis qu'un régime riche en lipides, augmente l'activité de la lipase et diminue celles de la trypsine et de la chymotrypsine chez la dinde (Krogdahl et Sell 1989).

2. Motricité de l'appareil digestif et transit

2.1. Motricité

2.1.1. Méthodes de mesure de la motricité chez le poulet

Chez le poulet, mises à part des études anciennes qui rapportent l'utilisation de ballon pour mesurer la pression dans le gésier (Ashcraft, 1930), on distingue 3 méthodes principales d'étude de la motricité du tractus digestif : la méthode radiographique, l'utilisation d'électrodes et l'utilisation de jauges de contrainte (Tableau 8).

La méthode radiographique permet d'étudier les cycles de contraction du gésier (Dziuk et Duke, 1972 ; Hall et Duke, 2000).

L'implantation d'électrodes dans la paroi du tractus est une méthode couramment utilisée chez les volailles (Roche & Ruckebusch, 1978; Jimenez *et al.*, 1994; Clench & Mathias, 1995; Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997b) et permet d'enregistrer *in vivo* et sur un animal éveillé l'activité électrique des muscles lisses de l'appareil digestif (Duke *et al.*, 1972).

Une autre méthode consiste à fixer des jauges de contrainte (Duke & Kostuch, 1975; Mueller *et al.*, 1990; Degolier *et al.*, 1997a), petites plaques suturées à la surface des organes digestifs. Les jauges de contrainte permettent d'enregistrer l'activité mécanique des muscles. Toute contraction musculaire entraîne une déformation de la jauge, qui se traduit en une variation du signal électrique (Mesures, 2000).

Ces deux dernières techniques nécessitent l'opération chirurgicale de l'animal avec l'exposition de l'appareil digestif, afin d'accéder au gésier et d'y suturer une jauge de contrainte.

2.1.2. Le gésier et le proventricule

2.1.2.1. Les Cellules interstitielles de Cajal (CIC)

Les parois des organes du tube digestif du poulet sont formées de muscles lisses doués d'automatisme. Chez le poulet, les contractions du gésier se font sans induction neurale ; on parle d'activité myogénique (Costa, 2006); cette activité est initiée par un pacemaker intrinsèque, situé au niveau de l'isthme du gésier, principalement au niveau du plexus myentérique (Reynhout & Duke, 1999). Il s'agit des Cellules Interstitielles de Cajal (CIC). Ces cellules génèrent spontanément des ondes lentes et les propagent de façon passive dans les muscles lisses (Szurszewski, 1998).

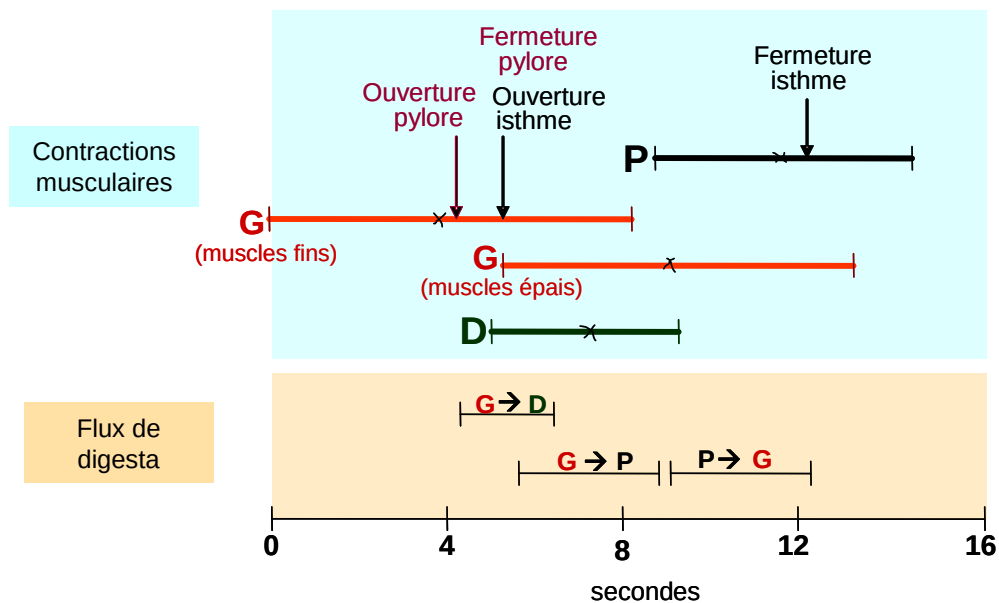


Figure 7. Représentation schématique du cycle de contraction gastro-intestinale (d'après (Dzuik & Duke, 1972)) ; P : Proventricule, G : Gésier, D : Duodénum. Les flèches (G → D, G → P et P → G) représentent des flux de chyme entre les compartiments. Les croix correspondent à la contraction maximale des organes.

Les CIC, longtemps mises en évidence par des techniques de coloration (au bleu de méthylène et chromate d'argent) (Reynhout & Duke, 1999), peuvent désormais être étudiées par histochimie, puisqu'elles expriment le produit du gène c-kit, un protooncogène qui code pour le récepteur protéine kinase (kit) (Ward & Sanders, 2001). Les anticorps contre le c-kit sont donc utilisés en tant que marqueurs des CIC chez les mammifères. Chez le poulet, les CIC apparaissent dès le 10ème jour d'incubation (Lecoin *et al.*, 1996).

2.1.2.2. Le cycle de contraction du gésier

L'initiation de la contraction du gésier se produit au niveau des nerfs encerclant l'isthme (Hall & Duke, 2000), zone où se situent les cellules interstitielles de Cajal (Sanders *et al.*, 2006). Les contractions du gésier sont rythmiques (Dzuik & Duke, 1972). Chez un animal nourri, il se produit en moyenne 3 cycles par minute, tandis qu'il n'y en a que 2,3 chez l'animal à jeun (Dzuik & Duke, 1972; Sanders *et al.*, 2006). Les contractions du gésier sont coordonnées avec celles du proventricule et celles du duodénum (Dzuik & Duke, 1972; Reynhout & Duke, 1999). Cette coordination implique le plexus myentérique (Bennett & Cobb, 1969).

La figure 7 illustre les différentes phases successives de contraction du gésier. La contraction des muscles fins du gésier initie le cycle de contraction (Dzuik & Duke, 1972). Lorsque la contraction est maximale, le pylore s'ouvre et la fraction liquide ou très fine des digesta est évacuée vers le duodénum (Vergara *et al.*, 1989a). Les muscles fins se relâchent, et les muscles épais du gésier ainsi que le duodénum se contractent à leur tour. Le pylore se ferme et l'isthme s'ouvre, permettant l'expulsion des digesta vers le proventricule. Lorsque les muscles épais commencent à se relâcher, le proventricule se contracte à son tour et son contenu est évacué dans le gésier (Hall & Duke, 2000). Ce cycle se répète jusqu'à évacuation complète du gésier. En fin de cycle, une phase de relaxation du gésier, avec reflux de digesta du duodénum vers le gésier se produit de temps en temps.

2.1.2.3. Facteurs de variation de la motricité gastrique.

Jour versus nuit. L'activité du gésier est plus forte en période de jour qu'en période de nuit (Roche & Ruckebusch, 1978), ce qui reflète l'activité générale (d'alimentation notamment) du poulet dans ces deux périodes. L'allumage de la lumière après une période d'obscurité provoque une augmentation de l'activité du gésier (Roche & Ruckebusch, 1978).

Alimentation par repas versus alimentation ad libitum. Contrairement aux mammifères monogastriques tels que le porc, le poulet fait des repas très fréquents dans la journée, en moyenne toutes les 15 minutes (Picard *et al.*, 1992). Dans ces conditions, l'activité du gésier peut donc sembler être continue. Lorsqu'il est soumis à une alimentation par repas, le poulet subit des périodes de jeûne alternées avec des périodes de repas. La vue de nourriture avant la distribution du repas provoque une augmentation de l'activité du gésier (Duke, Evanson et Redig, 1976). La distribution du repas et le début d'ingestion des aliments entraîne également une augmentation de l'activité du gésier chez la dinde et le poulet (Roche

& Ruckebusch, 1978 ; Duke *et al.*, 1976 ; Duke & Evanson, 1976 ; Savory *et al.*, 1987; Chaplin & Duke, 1988).

État nourri versus état de jeûne. L'activité du gésier est plus forte chez un poulet à l'état nourri qu'à l'état de jeûne (Roche & Ruckebusch, 1978 ; Savory *et al.*, 1987). Elle est également plus régulière, en terme de fréquence et d'intensité de contractions (Roche & Ruckebusch, 1978). Plus l'état de jeûne est prolongé, plus les reflux de digesta (en particulier entre l'intestin grêle et le gésier) s'intensifient.

2.1.2.4. Mécanismes de régulation

La motricité du gésier est très étroitement liée au transit intestinal. Elle détermine le flux de chyme dans le duodénum. La motricité gastrique est inhibée quand du chyme est présent dans le duodénum. Une étude ancienne (Duke *et al.*, 1972) a montré l'arrêt de contraction du gésier quand un ballon était gonflé dans l'intestin grêle. Des mécanorécepteurs présents dans la paroi intestinale permettraient d'exercer un rétrocontrôle de l'intestin grêle sur le gésier. Les reflux de digesta de l'intestin grêle vers le gésier sont associés à une forte réduction de l'activité électrique des muscles du gésier (Roche & Ruckebusch, 1978).

La composition chimique, la quantité et les caractéristiques physiques de l'aliment dans le duodénum sont impliquées dans la régulation de la motricité gastroduodénale. Ainsi, un pH bas stoppe les contractions du gésier, et provoque le reflux de l'intestin vers le gésier (Duke et Evanson, 1972 ; Duke *et al.*, 1972). De même, la présence de lipides ou de protéines dans l'intestin peut ralentir le flux des digesta vers l'intestin grêle (Duke et Evanson, 1972 ; Duke *et al.*, 1972). Des mécanorécepteurs sont présents dans les muscles du gésier (Duke, 1977), qui modulent et coordonnent les différentes phases de contraction en fonction des caractéristiques du chyme. L'activité du gésier est plus intense avec un aliment grossier par rapport à un aliment présenté sous forme de farine (Roche, 1974), de par la nécessité d'un broyage plus important du chyme pour être évacué par le pylore. D'ailleurs, la taille du gésier plus importante avec le régime grossier (Roche, 1974) reflète le travail intense du gésier.

2.1.3. L'intestin

Le schéma de base des contractions intestinales est constitué par des complexes moteurs migrants (CMC). Il s'agit d'ondes lentes électriques, qui parcourent l'intestin. L'existence des CMC a été démontrée chez le poulet par Clench *et al.* (1989). Il se pourrait

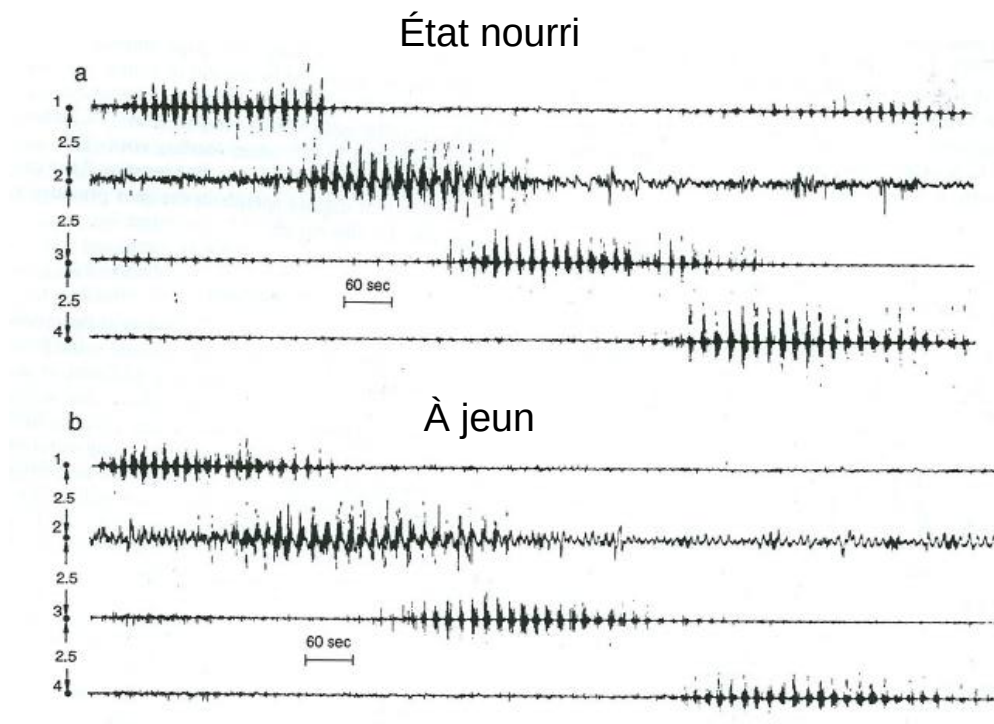


Figure 8. Schéma de complexes moteurs migrants, dans l'iléon.

Les 4 enregistrements pour chaque état (nourri ou à jeun) représentent 4 électrodes posées au niveau de l'iléon. La distance entre chaque électrode est indiquée sur le tracé (2.5cm).

D'après (Clench *et al.*, 1989).

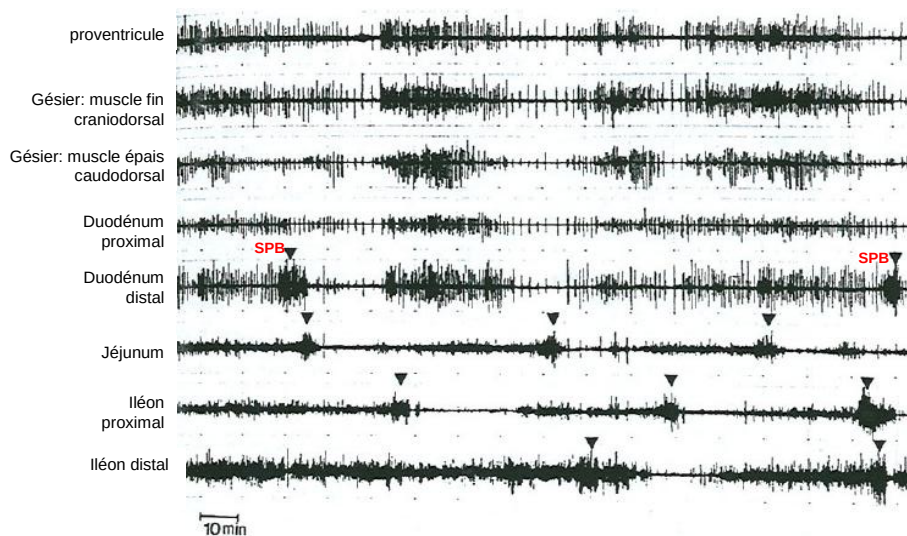


Figure 9. Schéma des SPBs.

D'après (Jimenez *et al.*, 1994).

que les CMC soient spécifiques à l'intestin ; en effet, certains auteurs n'ont pas trouvé de CMC au niveau du gésier (Clench *et al.*, 1989; Mueller *et al.*, 1990). Martinez *et al.* (1995) sont les seuls à l'avoir observé pour le gésier. Le motif des CMC est cyclique ; trois phases les caractérisent (Clench *et al.*, 1989; Denbow, 2000) (Figure 8) : une phase de quiescence, puis des pics d'activité irréguliers surimposés aux ondes lentes, et enfin des pics de haute amplitude réguliers, surimposés aux ondes lentes. Les CMC ont une périodicité de 77 à 122 min (Denbow, 2000).

Contrairement aux autres espèces telles que le porc (Bloom *et al.*, 1982), les CMC sont présents quel que soit l'état nutritionnel de l'oiseau (nourri ou à jeun) (Clench *et al.*, 1989; Mueller *et al.*, 1990; Jimenez *et al.*, 1994). Toutefois, le schéma des CMC est modulé selon l'état nutritionnel. Suite à une ingestion d'aliments, la phase de quiescence des CMC est plus courte, la phase 2 est allongée, la propagation de la phase 3 est ralentie (Martinez *et al.*, 1995). Il a été mis en évidence que les peptides régulateurs digestifs CCK et gastrine, secrétées en réponse à l'état nourri, étaient en partie responsables de la modulation du schéma des CMC entre l'état à jeun et l'état nourri (Martinez *et al.*, 1995).

Chez le veau, les sécrétions intestinales coïncident avec les phases de CMC duodénales : les sécrétions pancréatiques sont faibles pendant la phase de quiescence, et s'amplifient pendant la phase 2 (Zabielski *et al.*, 1998). De même, les sécrétions pancréatiques seraient en phase avec la motricité duodénale, chez le jeune veau (Zabielski *et al.*, 1993). Les sécrétions maximales coïncident avec la phase d'activité maximale du CMC ; pendant la phase de quiescence, les sécrétions sont minimales. Les repas stimulent la motricité duodénale (Zabielski *et al.*, 1998).

Lorsque la quantité de digesta présents dans l'appareil digestif diminue avec la dégradation et l'absorption de ses constituants au long du trajet dans le tube digestif, ou lorsque les animaux sont à jeun, d'autres schémas de motricité apparaissent (Clench & Mathias, 1995), qui permettent un recyclage et une utilisation maximale des contenus digestifs. Dans un premier temps, des salves de potentiels d'action, appelés Spike Potential Bursts (SPBs), apparaissent, de plus en plus nombreux et rapides selon l'état de completion de l'appareil digestif (Jimenez *et al.*, 1994). Ces SPBs s'intercallent dans la phase 3 des CMC, ce qui désorganise le cycle de CMC (Jimenez *et al.*, 1994) (Figure 9). Ces SPBs se propagent dans les directions orales et aborales, à raison d'un SPB oral pour plusieurs SPB aboraux.

Lorsque le jeune est prolongé, les SPBs ne suffisent plus à stimuler l'activité gastro-intestinale, et un autre mécanisme de motricité prend place : les ROCs (Rhythmic Oscillating

Tableau 9. Comparaison des Temps de Rétention Moyens (TMR, h) dans le tube digestif du poulet et du porc en croissance

	Poulet ¹		Porc ²	
	phase solide	phase liquide	phase solide	phase liquide
Estomac ³	0,80	0,28	1,0	0,9
Intestin grêle	2,65	1,02	4,3	3,6
Colon	0,58	0,45	44,4	40,4
Tractus digestif entier ⁴	4,03	1,75	49,7	44,9

¹ Moyenne des données de la littérature obtenues avec un régime standard à 3 semaines: (Hurwitz & Bar, 1966; Sklan *et al.*, 1975; Shires *et al.*, 1987; Van der Klis *et al.*, 1990; Dänicke *et al.*, 1999; Ouhida *et al.*, 2000; Weurding *et al.*, 2001)

² (Wilfart *et al.*, 2007)

³ Proventricule + gésier chez le poulet

⁴ Estomac+intestin grêle + colon

Complexes) (Clench & Mathias, 1992; Jimenez *et al.*, 1994). Ce sont des potentiels d'action rapides et organisés en direction orale et aborale. La motiline serait impliquée dans le déclenchement de ROCs (Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997b). Les ROCs permettent un reflux de quantités plus importantes de digesta, et ce sur une distance plus longue (Clench & Mathias, 1995) que les SPBs (Clench & Mathias, 1992). Clench et Mathias (1992) émettent l'hypothèse que les contenus caecaux pourraient être mobilisés lors des reflux provoqués par les ROCs.

2.2. Transit des digesta dans l'appareil digestif du poulet

2.2.1. Notion de transit

Le transit digestif peut être défini comme le passage des aliments dans le tractus digestif. Pour exprimer ce phénomène, nous présenterons ici deux notions :

- Le temps de transit digestif total, qui correspond au temps entre l'ingestion d'un marqueur et son apparition dans les fèces (Van Weyenberg *et al.*, 2006).
- Le temps de rétention moyen, qui définit le temps passé en moyenne pour un marqueur dans un compartiment digestif (Van der Klis *et al.*, 1990).

Le transit total est relativement rapide chez les poulets par rapport aux mammifères monogastriques. En moyenne, le temps de séjour moyen dans le tractus digestif varie entre 5 et 9h (Tableau 9) alors qu'il est souvent au moins de 24h chez les mammifères monogastriques, avec parfois des temps atteignant 80h (Van Leeuwen *et al.*, 2006 ; Van Weyenberg *et al.*, 2006). Ceci est surtout dû à l'absence de colon chez les oiseaux par rapport aux autres monogastriques.

2.2.2. Techniques de suivi

Plusieurs méthodes existent pour le suivi du transit digestif chez les oiseaux.

Méthode radiographique. La méthode radiographique qui consiste à suivre le déplacement d'un traceur dans l'appareil digestif pour quantifier un temps de rétention n'a semble-t-il jamais été utilisée chez l'oiseau.

Méthode à dose unique. La méthode consiste à administrer une dose unique d'un marqueur puis de suivre son excrétion dans les fèces au cours du temps. Cette technique permet d'établir une cinétique d'excrétion du marqueur. En général, le marqueur est

administré au cours d'un repas unique. Il peut être soit mélangé aux aliments (Van der Klis et Van Voorst, 1993; Dänicke *et al.*, 1997 ; Svihus *et al.*, 2002a), soit administré dans une capsule en gélatine déposée dans l'oropharynx des animaux (Hurwitz et Bar, 1966 ; Cherry et Siegel, 1977 ; Ferrando *et al.*, 1987 ; Vergara *et al.*, 1989a ; Almirall et Esteve-Garvia, 1994 ; Hetland et Svihus, 2001a). Une période de jeûne est souvent effectuée avant l'administration du marqueur (Cherry et Siegel, 1977 ; Ferrando *et al.*, 1987 ; Vergara *et al.*, 1989a; Van der Klis et Van Voorst, 1993). Cela permet d'une part de synchroniser les animaux, et d'autre part de s'assurer qu'ils ingèrent les quantités de marqueurs voulues. D'autres études ont été faites sans période de jeûne (Hetland *et al.*, 2001b), mais il a été observé qu'il n'y avait pas d'effet d'une courte période de jeûne sur le temps de transit digestif total (Hillerman *et al.*, 1953). Les fèces sont ensuite récoltées régulièrement dans les heures qui suivent l'ingestion du marqueur pour suivre les quantités de marqueurs excrétées. Le temps de première apparition du marqueur peut être observé visuellement, par apparition de coloration dans les fèces (Gonalons *et al.*, 1982).

L'excrétion du marqueur au cours du temps est généralement décrite par une courbe d'excrétion cumulative. Elle représente les quantités relatives cumulées de marqueurs par rapport à la quantité totale de marqueur excrété ; il est considéré que la totalité du marqueur ingéré est excrétée après 48h) (Almirall et Esteve-Garcia, 1994). La courbe d'excrétion du marqueur est de forme sigmoïdale ; l'équation de Hill (ci-après) est la plus souvent utilisée pour la décrire (Ferrando *et al.*, 1987):

$$y = \frac{t^m}{(t^m + k)}, \text{ avec } t \text{ le temps (h), } y \text{ la quantité de marqueur excrétée, } m \text{ le coefficient de Hill,}$$

et k une constante

A partir de cette équation, plusieurs critères peuvent être définis (Ferrando *et al.*, 1987):

T1, le temps nécessaire pour excréter 1% de la quantité de marqueur administrée, et T50, le temps nécessaire pour excréter 50% de la quantité de marqueur administrée. Le T50 correspond au temps de rétention moyen dans le tractus digestif (Ferrando *et al.*, 1987).

L'excrétion du marqueur peut aussi être décrite par une courbe d'excrétion non cumulative (Vergara *et al.*, 1989b). Les données sont alors exprimées en pourcentage de la quantité totale de marqueur excrétée en 48h, ce qui permet de voir des pics d'excrétion au cours du temps (Vergara *et al.*, 1989b).

Cette méthode présente l'avantage de ne pas nécessiter l'abattage des animaux, et permet un suivi de la cinétique d'excrétion à différents âges. L'inconvénient est qu'il n'est pas possible d'accéder à la répartition du temps dans les différents compartiments digestifs.

Méthode par abattage. Cette méthode repose sur l'administration d'un marqueur en continu, dans les aliments. Ce marqueur est ensuite dosé dans les digesta des compartiments digestifs après abattage des animaux, ce qui permet de calculer les temps de rétention moyens (TRM) dans chaque compartiment digestif (Hurwitz & Bar, 1966; Van der Klis *et al.*, 1990). Le calcul des TRM nécessite un état d'équilibre (Van der Klis *et al.*, 1990; Dänicke *et al.*, 1999) où l'on considère que les taux d'entrée de marqueur dans le tube digestif et d'excrétion de marqueur dans les fèces sont constants (Shires *et al.*, 1987; Dänicke *et al.*, 1999); la concentration en marqueur dans un compartiment donné est supposée constante (Van der Klis *et al.*, 1990). Pour cela, les animaux doivent être nourris ad libitum avec des aliments contenant le ou les marqueurs, avec en moyenne 3 (Shires *et al.*, 1987) à 5 (Van der Klis *et al.*, 1990) jours d'adaptation. Lorsque l'état d'équilibre est atteint, les animaux sont euthanasiés (Shires *et al.*, 1987; Dänicke *et al.*, 1999), et les contenus des différents compartiments digestifs sont prélevés et analysés pour obtenir les concentrations en marqueurs. Le TRM dans un compartiment donné est calculé à partir de la formule suivante (Persson & Svensson, 1960) :

$$\text{TRM (min)} = 1440 \times \frac{\text{quantité de marqueur dans le segment (mg)}}{\text{quantité de marqueur consommée (mg/j)}}$$
, avec 1440 : nombre de minutes par jour.

Quelle que soit la méthode, il faut tenir compte de l'hétérogénéité des digesta. Il est donc préférable d'utiliser plusieurs marqueurs, pour suivre les fractions liquides et solides des digesta.

Choix des marqueurs. Un marqueur doit permettre de suivre une fraction donnée de digesta ; ainsi, il doit se comporter au cours du transit digestif de façon semblable à la fraction que l'on veut suivre.

Les marqueurs de phase liquide sont hydrosolubles. Le marqueur le plus couramment utilisé est le Cr-EDTA (Clemens *et al.*, 1975; Vergara *et al.*, 1989a; Vergara *et al.*, 1989b).

Les marqueurs de phase solide sont insolubles. Le Cr₂O₃, TiO₂, Fe₂O₃ sont couramment utilisés (Vergara *et al.*, 1989a). Du fait de la faible taille de leurs particules (0.2mm), ils reflètent les particules du digesta de très petite taille.

Tableau 10. Temps de rétention moyens (TRM, min) dans les segments digestifs de poulets appartenant aux souches « poulet de chair » et « ponte ».

Source	Marqueur	Age	Génotype	MRT (min)									
				Jabot	Prov	Gésier	Duo	Jéju	Iléon	Intestin grêle	R+C	Ceca	Total (sans ceca)
Shires <i>et al.</i> , 1987	¹⁰³ Ru	3 sem	poulet de chair	7,4 ^b	4,2	50,2 ^b	7,2 ^a	59,5	86,4 ^a	153	44,4	78,7	338
Shires <i>et al.</i> , 1987	¹⁰³ Ru	3 sem	souche ponte	24,6 ^a	2,7	83,7 ^a	5,0 ^b	59,8	73,3 ^b	138	39,7	71,2	360
Ouhida <i>et al.</i> , 2000	TiO2	3 sem	poulet de chair		26					98		39	124
Dänicke <i>et al.</i> , 1999	TiO2	3 sem	poulet de chair	60			18	110	140	268	36	77	422
Weurding <i>et al.</i> , 2001	Cr2O3	4 sem	poulet de chair						5	54	99	158	20
Sklan <i>et al.</i> , 1975	⁵¹ Cr	6 sem	poulet de chair	166		17	4	20	38	61	27	61	332
Sklan <i>et al.</i> , 1975	⁹¹ Y	6 sem	poulet de chair	246		54	3	23	49	75	27	74	477
Van der Klis <i>et al.</i> , 1990	¹⁸⁴ Ru	6 sem	poulet de chair	41	33		5	71	90	166	26		266
Hurwitz et Bar, 1966	⁹¹ Y	14 mois	souche ponte				4	78	120	202	48		

Pour suivre des particules plus grossières, la technique de mordantage de fibres végétales est bien adaptée (Uden *et al.*, 1980) : le chrome a souvent été utilisé pour être mordancé sur différents supports (foin, balles de céréales) (Uden *et al.*, 1980; Van Weyenberg *et al.*, 2006).

2.2.3. Temps de rétention moyens observés chez le poulet (Tableau 10)

Le TRM dans la totalité de l'appareil digestif varie entre 5h (Tableau 10) et 8 (Ferrando *et al.*, 1987) à 9h (Vergara *et al.*, 1989b; Almirall et Esteve-Garcia, 1994), en fonction de la fraction de digesta suivie (liquide ou solide) et en fonction de la taille particulaire des digesta (Ferrando *et al.*, 1987 ; Vergara *et al.*, 1989a). Dans le jabot, le TRM est très variable (entre 10 et 250 minutes selon les études). Cette variation dépend en partie du mode d'alimentation des poulets. Chez un poulet nourri en *ad libitum*, la consommation alimentaire est régulière tout au long de la journée (Savory *et al.*, 1976). Les aliments ne sont donc probablement pas stockés longtemps dans le jabot mais passent rapidement dans le gésier, ce qui pourrait expliquer les TRM relativement courts dans le jabot (Shires *et al.*, 1987). Au contraire, alors que les animaux étaient aussi nourris en *ad libitum*, Sklan *et al.* (1975) ont mesuré des TRM particulièrement longs (environ 4h) dans le jabot, mais ne proposent pas d'explication.

Dans le proventricule, le TRM est relativement court. Souvent, le TRM est mesuré pour l'ensemble « proventricule + gésier » (Van der Klis *et al.*, 1990 ; Ouhida *et al.* 2000), probablement à cause de la quantité de contenus généralement faible présente dans le proventricule.

Dans le gésier, la valeur du TRM varie entre 30 minutes et 2h, en particulier selon la nature et la taille des digesta (Tableau 10). Ainsi, la fraction liquide (Sklan *et al.*, 1975) ou de faible taille particulaire (Ouhida *et al.*, 2000 ; Van der Klis *et al.*, 1990) des digesta reste moins longtemps dans le gésier que des particules plus grossières (Sklan *et al.*, 1975 ; Shires *et al.*, 1987 ; Vergara *et al.*, 1989a).

Dans l'intestin grêle, le TRM dure en moyenne un peu plus de 2h chez un poulet âgé de 3 semaines et environ 1h chez un poulet âgé de 4 à 6 semaines (Tableau 10). Le TRM est plus long dans l'iléon que dans le jéjunum et dans le duodénum. Le TRM est très court dans le duodénum puisqu'il dure en moyenne 5 minutes (Tableau 10).

Le TRM varie entre 30 et 50 minutes dans le rectum (Tableau 10). Ce TRM est relativement long malgré la faible longueur de ce compartiment chez le poulet (cf chapitre précédent). Enfin, dans les ceca, les valeurs de TRM mesurés varient d'une étude à l'autre (entre 40 et 160 minutes) (Tableau 10). Le TRM dans les ceca semble relativement court,

mais il faut préciser que chez le poulet, seules la fraction liquide et une partie des particules très fines peuvent entrer dans les ceca (Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a).

Tableau 11. Récapitulatif des principaux facteurs de variation du transit digestif chez le poulet.

Compartiment	Principaux facteurs de variation du transit digestif
Jabot	- rythme alimentaire - remplissage gésier - age
Proventricule/ Gésier	- granulométrie chyme (taille particulaire) + composition (particules indigestibles..) - musculature gésier - permissivité pylore - rythme de contractions - signaux régulateurs (systèmes nerveux et hormonal) - age
Duodénum	- granulométrie digesta + viscosité - taille duodénum: diamètre, longueur, surface d'absorption - taille musculuse (puissance et nombre contractions) - signaux régulateurs (systèmes nerveux et hormonal) - age
Jéjunum + Iléon	- caractéristiques digesta - age
Cæca	- fermentations - age
Colon	- age

La fraction liquide peut rester plusieurs heures dans les ceca, d'où les TRM longs mesurés avec des marqueurs hydrosolubles (Vergara *et al.*, 1989a). Concernant la phase solide, étant donné que seule une partie des particules de la fraction solide entre dans les ceca, les TRM mesurés dans les ceca sous-estiment le temps réellement passé dans les ceca pour les particules qui y sont entrées. En effet, les TRM mesurés dans les ceca avec des marqueurs de phase solide (Vergara *et al.*, 1989a) sont des moyennes qui prennent en compte à la fois les particules qui rentrent dans les ceca et les particules qui n'y entrent pas.

2.2.4. Facteurs de variation liés à l'animal (Tableau 10)

2.2.4.1. Influence de l'âge (Tableaux 10 et 11)

Il est souvent rapporté, chez les volailles, que les temps de passage et les temps de rétention moyen du digesta dans le tractus digestif sont plus longs quand l'âge augmente (Hillerman *et al.*, 1953; Hurwitz & Bar, 1966; Sklan *et al.*, 1975; Shires *et al.*, 1987). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette évolution avec l'âge. D'une part, il existe une relation positive entre le poids vif et le TRM dans l'intestin grêle (Shires *et al.*, 1987), d'où l'augmentation observée du TRM avec l'âge. Cependant cette relation n'est valable ni pour le proventricule ni pour le gésier, puisqu'une relation négative a été observée entre le poids vif et le TRM pour ce dernier compartiment (Shires *et al.*, 1987). D'autre part, pendant la première semaine suivant l'éclosion du poussin, le tractus digestif, bien qu'anatomiquement complet, n'est pas encore tout à fait mature fonctionnellement. Par exemple, la fonction des enzymes n'est pas encore optimale (cf partie précédente). Les nutriments non digérés ou mal digérés seraient donc excrétés plus rapidement. De plus, les cæca semblent non fonctionnels à une semaine d'âge (Vergara *et al.*, 1989b), d'où une réduction du temps de séjour de la fraction liquide dans le tractus digestif, lorsque les ceca sont pris en compte.

Inversement, certaines études rapportent une diminution du TRM quand l'âge augmente, notamment dans le gésier (Shires *et al.*, 1987 ; Almirall & Esteve-garcia, 1994; Vergara *et al.*, 1989b). La principale hypothèse sous-jacente repose sur l'augmentation de l'ingestion alimentaire avec l'âge (Shires *et al.*, 1987 ; Vergara *et al.*, 1989b). Par ailleurs, il est envisageable que le gésier, à une ou deux semaines d'âge, ne soit pas suffisamment efficace pour broyer les aliments ingérés, d'où un stockage plus long dans ce compartiment et une évacuation gastrique plus lente dans le duodénum qu'à des âges plus avancés.

Les comparaisons de TRM avec l'âge rapportées dans la littérature sont néanmoins à nuancer, puisque certaines études comparent les caractéristiques de transit entre des animaux de souches différentes. Ainsi, Almirall et Esteve-Garcia (1994) comparent des poulets de chairs de 3 semaines avec des poules pondeuses âgées de 1 an. De même, Hillerman *et al.* (1953) comparent des dindes âgées de 4 à 5 mois avec des poules d'1 à 2 ans. Les différences observées ne sont pas attribuables à l'âge uniquement, mais également aux caractéristiques propres à chaque génotype. D'autre part, il faut tenir compte du type de marqueur utilisé dans ces études. En effet, Vergara *et al.* (1989) mettent en évidence un comportement inverse des phases liquide et solide de digesta entre 1 et 3 semaines d'âge, avec une augmentation des TRM de la phase liquide quand l'âge augmente, mais une diminution des TRM de la phase solide.

2.2.4.2. Influence du génotype

Cherry et Siegel (Cherry & Siegel, 1977) ont observé, chez des poulets mâles, que le temps de transit était plus rapide pour des poulets sélectionnés sur un faible poids vif que pour des poulets sélectionnés sur un fort poids vif, du fait de l'apparition plus rapide du marqueur dans les excréta. Néanmoins, le temps de transit n'est pas indicateur suffisant pour comparer les génotypes, puisque les effets observés sur les temps d'évacuation totale des digesta dans les fécès sont contraires à ceux observés pour le temps de transit. Ainsi, le temps de rétention total des digesta était plus long chez la souche de faible poids vif (environ 13h) que chez la souche lourde (environ 11h). Ces temps de rétention plus longs dans l'appareil digestif sont d'ailleurs associés à un poids relatif de proventricule, de gésier et de duodénum plus élevé chez la souche légère que chez la souche lourde (Cherry et Siegel, 1977).

La comparaison entre poulets de souches « ponte » et « chair » (Shires *et al.*, 1987) montre qu'à poids égal, le temps de transit total n'est pas différent entre ces deux types (Shires *et al.*, 1987), mais que les temps de rétention moyens dans les différents compartiments digestifs sont contrastés. Les temps de rétention dans le jabot et le gésier sont plus longs, et les temps de rétention dans le duodénum et l'iléon sont plus courts chez la souche « ponte » par rapport à la souche « chair ». Ces différences s'expliquent par des différences anatomiques : les poulets de souche « ponte » ont un plus gros poids relatif de jabot et de gésier que les poulets de souche « chair », et un plus faible poids relatif d'iléon (Shires *et al.*, 1987). Un plus gros gésier est associé à une quantité plus grande de contenus (Figure 10), et à un temps de rétention plus long dans cet organe (Shires *et al.*, 1987).

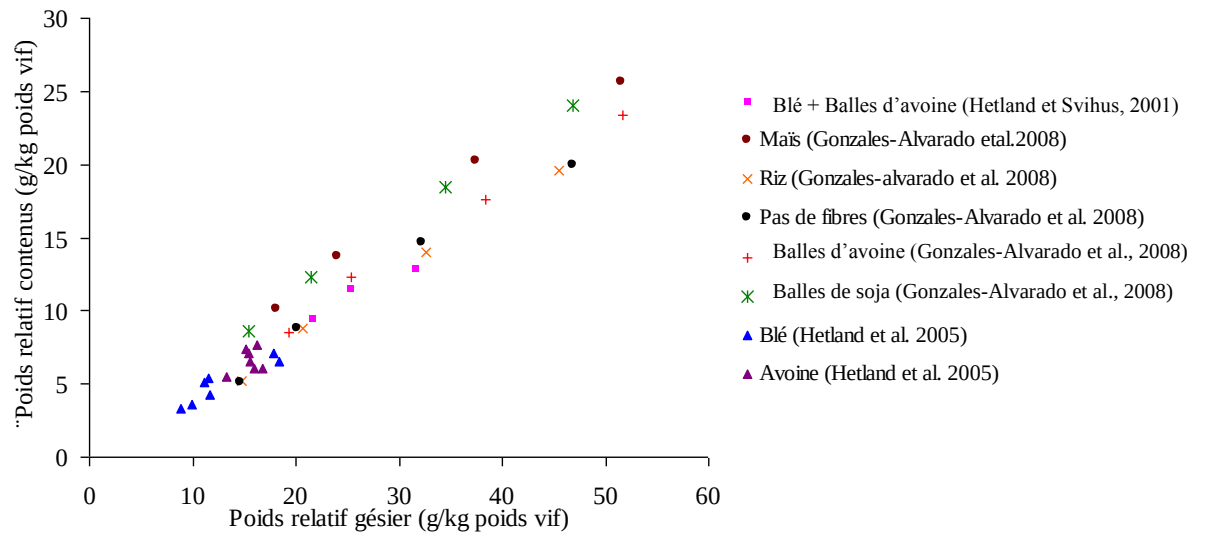


Figure 10. Relation entre le poids relatif des contenus, à l'état équilibre, et le poids relatif du gésier.

D'après (Hetland & Svihus, 2001; Hetland *et al.*, 2005; Gonzales-Alvarado *et al.*, 2008).

Le développement du gésier favoriserait l'augmentation des reflux entre l'intestin grêle et le gésier (Shires *et al.*, 1987), entraînant une augmentation du TRM dans le gésier.

2.2.5. Facteurs liés à l'aliment

Composition de l'aliment

Le type de céréale ne semble pas avoir d'influence directe sur le transit ; en effet, Amerah *et al.* (2008) n'ont pas observé de différence de temps de transit entre un régime à base de blé et un régime à base de maïs. Weurding *et al.* (2001), qui ont comparé les temps de rétention dans l'intestin grêle pour plusieurs types de céréales, dont le maïs, le blé, le sorgho, le pois n'ont pas non plus observé de différences significatives des TRM dans les compartiments digestifs.

La quantité de lipides et leur origine influencent les temps de transit (Dänicke *et al.*, 1997). Il existe une relation linéaire entre la quantité de lipides ajoutées dans le régime et le temps de transit (Mateos *et al.*, 1980): l'ajout de lipides provoque un ralentissement de la vitesse de transit. Cependant, l'influence d'ajout de lipides sur les temps de transit reste très limitée chez les poussins (Golian & Polin, 1984) probablement du fait que l'activité de la lipase pancréatique n'est pas optimale chez le jeune poussin.

La vitesse de transit semble influencée par la viscosité du digesta (Almirall & Esteve-garcia, 1994) puisqu'une forte viscosité, due à la présence de polysaccharides non amylacés (PNA) hydrosolubles dans l'aliment réduit l'absorption intestinale et ralentit la vitesse de transit (Van der Klis & Van Voorst, 1993; Almirall & Esteve-garcia, 1994; Sieo *et al.*, 2005). Ce ralentissement peut être expliqué d'une part par une rétention en eau plus importante, associée à une augmentation du mélange du chyme dans l'intestin grêle, et d'autre part par une augmentation de la longueur de l'intestin grêle quand la viscosité augmente (Van der Klis & Van Voorst, 1993).

Taille des particules - phases de digesta

Le temps de rétention dans l'appareil digestif entier est plus long pour des particules (suivie par des marqueurs de phase solide) que pour la phase liquide (suivie par des marqueurs de phase liquide) (Clemens *et al.*, 1975; Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a). Plus les particules sont grossières, plus le temps de rétention est long (Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a). Les temps de rétention entre types de marqueurs varient surtout dans les compartiments digestifs supérieurs (jabot, proventricule, gésier) (Clemens *et al.*,

1975). Le gésier retient les particules jusqu'à ce qu'elles atteignent une taille suffisamment réduite pour pouvoir passer à travers le pylore (Clemens *et al.*, 1975; Vergara *et al.*, 1989a). Ainsi, la vitesse de vidange du gésier est plus lente avec les phases solides que liquides, et d'autant plus lente que les particules sont grossières (Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a). Les caractéristiques physiques des particules grossières (plasticité, rigidité,..) sont à prendre en compte également. Par exemple, des pellicules de grain de riz sont plus rigides que des sons de blé ; les particules plus rigides seront plus facilement cassables et par conséquent évacuées plus rapidement dans l'intestin grêle, tandis que les particules déformables resteront dans le gésier plus longtemps (Ferrando *et al.*, 1987). L'influence des particules grossières peut être observée à travers la présence de fibres grossières (Hurwitz & Bar, 1966; Vergara *et al.*, 1989a) ou de céréales entières ou grossièrement concassées dans l'aliment (Svihus *et al.*, 2002b). L'introduction de fibres grossières permet de tester l'influence de particules neutres (sans constituant digestible par le poulet), qui constituent un stimulus physique alimentaire et qui entraînent une dilution du régime alimentaire.

2.2.6. Relation entre transit et digestion

Les temps de passage et de rétention du digesta dans les différents compartiments déterminent le temps disponible pour la digestion des nutriments. Ainsi, on peut supposer qu'un temps de rétention plus long favorise une meilleure digestion. Quelques données semblent aller dans ce sens, avec une augmentation de la digestibilité des protéines concomitante à un temps de rétention plus long dans l'appareil digestif entier (Ouhida *et al.*, 2000). Quelques études établissent des liens entre la taille des organes digestifs et les TRM dans ces compartiments (Shires *et al.*, 1987 ; Cherry et Siegel, 1977), mais elles n'établissent pas de lien entre les TRM et l'efficacité de digestion.

Dans les compartiments digestifs proximaux (proventricule et gésier), une rétention longue des digesta permet notamment la réduction de la taille particulaire dans le gésier, et permet un brassage plus long des digesta avec les enzymes digestives (provenant du proventricule et de l'intestin grêle par reflux) et par conséquent une meilleure préparation du chyme à digestion et absorption dans l'intestin grêle.

Un TRM plus long dans le gésier serait donc favorable à une meilleure efficacité digestive. Des relations ont déjà été établies entre le poids du gésier et l'efficacité de digestion (Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007). Etant donné que le TRM dans le gésier est lié au poids relatif de cet organe (Shires *et al.*, 1987), nous pouvons émettre l'hypothèse que les

	proventricule	gésier	pylore	duodenum	jéjunum	iléon	cæca	rectum	pancréas
APP ^{a,b,c}	rares/+	-	-	-/+	-/+	-/+	-	-	++
CCK ^d				++	++	+			
entéroglucagon ^a	+	-	rares	+	++	+++	-	-	
gastrine ^{a,e}	-	-	++++	+	+	-	-	-	
gastrine releasing peptide ^{a,b}	+++	++++	-	-	-	-	-	-	
motiline ^{a,b}	-	-/+	-/+	rares/+	rares	rares	-	-	
neurotensine ^d	-	-	+++	++	++	++	++	++	
pancréatique glucagon ^{a,c}	+	-	-	-	+	+	-	-	++
peptide YY ^b				+	+	+			
secretine ^e				+	+	+			
sérotonine ^{a,b}	+	-	-	++	++	+++	++	++++	
somatostatine ^{a,c}	++	+	++++	+	+	rares	-	-	+
substance P ^b				++	++	+	+	+	
VIP ^{b,e}				+	+	+			

-: présence non détectée; +: faible présence; ++ à ++++: forte à très forte présence

^a Yamanaka *et al.*, 1989

^b Rawdon et Andrew, 1999

^c Cramb et Langslow, 1984

^d Atoji *et al.*, 1994

^e Yamada *et al.*, 1983

Tableau 12. Localisation des différentes hormones digestives dans le tractus digestif du poulet.

relations positives observées entre l'efficacité de digestion et taille des organes digestifs pourraient s'expliquer en partie par une plus longue rétention des digesta dans le gésier. Cette plus longue rétention serait permise par la taille du gésier, et par l'existence de reflux plus nombreux entre l'intestin grêle et le gésier (Shires *et al.*, 1987).

Chez les mammifères monogastriques, l'évacuation gastrique a été établie comme clé de l'efficacité de l'intestin grêle (Kelly, 1981). Une vitesse d'évacuation trop rapide a des effets négatifs sur l'utilisation digestive des protéines et des lipides, notamment chez le jeune veau (Guilloteau *et al.*, 1981).

Dans les compartiments digestifs distaux (intestin grêle), des TRM longs reflèteraient une mauvaise utilisation digestive au niveau proximal, d'où une compensation au niveau inférieur. Un temps de rétention trop long dans l'intestin grêle n'est pourtant pas favorable en raison des fermentations bactériennes (Gabriel *et al.*, 2006).

Un récapitulatif des principaux facteurs de variation du transit digestif est présenté dans le tableau 11.

3. Régulation neuro-humorale de la digestion

3.1. Système humoral

3.1.1. Présentation des peptides régulateurs (Tableau 12 et figure 11)

Le système hormonal contrôle et coordonne les sécrétions digestives et la motricité du tractus digestif. Dans cette partie, nous présenterons dans la mesure du possible des données existantes chez le poulet. Cependant, en absence d'information pour le poulet, nous donnerons un exemple chez les mammifères.

Les peptides régulateurs sont produits tout au long du tractus digestif. Dans l'intestin grêle, les cellules intestinales de type endocrines sont présentes au niveau des cryptes ou à la base des villosités, de façon disséminée dans l'épithélium de la muqueuse digestive (Yamada *et al.*, 1983). La plupart des cellules endocrines apparaissent vers 12-14 jours d'incubation (Rawdon et Andrew, 1999). Dès l'éclosion, de nombreux types de cellules endocrines sont donc présents dans l'appareil digestif du poulet. Il existe deux types principaux de cellules endocrines. Il s'agit d'une part des cellules dites de « type ouvertes » (« open-type »), qui sont en contact avec la lumière intestinale, souvent par des ramifications du cytoplasme de ces

	stimulation	cibles / actions
Somatostatine ^a	présence de digesta	inhibe la sécrétion des autres hormones digestives diminue le flux sanguin intestinal
Sérotonine ^b		régulation de la pression sanguine stimulation de la motricité gastrique
Neurotensine ^{c,d}		régulateur de la digestion des lipides : stimule la sécrétion de bile (acides biliaires, ..) effet trophique sur la croissance du pancréas et de la muqueuse intestinale
Gastrine ^{b,e,f}	chyme (certains lipides, peptides..); CCK, sécrétine, Ach, nerf vague	proventricule : inhibe les sécrétions gastriques pancréas et vésicule biliaire : inhibe les sécrétions pancréatiques et biliaires; intestin : stimule l'absorption des nutriments
Entéroglucagon /GIP ^g	digesta	stimule sécrétions intestinales et synthèse/libé insuline ralentissement du transit digestif
Motiline ^{g,h}		contractions inter digestives (ROC)/ favorise motricité
Avian pancréatique peptide ^{g,i}		stimule les sécrétions gastriques inhibe la motricité gastrique
CCK ^{f,h',j,k}	protéines, AA, lipides du chyme ; pH; distension de l'intestin; nerf vague	contrôle la prise alim (+ ou - selon récepteurs) rôle trophique sur la croissance du pancréas inhibe la motricité gastrique stimule la sécrétion d'acétylcholine dans le plexus myentérique stimule la vidange de la vésicule biliaire et les sécrétions pancréatiques
VIP ^{e,g}	nerf vague	vaisseaux sanguins : effet vasodilatateur pancréas : régule les sécrétions d'électrolytes pancréatiques proventricule : inhibe la libération de gastrine intestin grêle : stimule l'absorption
Sécrétine ^{g,l}	pH bas (duodénum)/ stimulation par nerf vague et CCK	pancréas : stimule les sécrétions d'enzymes, d'eau et d'ions HCO ₃ ⁻ (neutralise acidité) proventricule : inhibe les sécrétions gastriques
Polypeptide Pancréatique ^m	distension duodénum; pH; présence d'AA dans le duodénum)	inhibe la sécrétion d'enzymes pancréatique inhibe la motricité stimule les sécrétions gastriques
Peptide YY ^j		inhibiteur de la croissance pancréas ?

a Denbow et al 2000; b (Aksoy & Cinar, 2009); c (Gui *et al.*, 2000); d (Atoji *et al.*, 1994); e moran 1985; f: (Furuse, 1999);g (Yamada *et al.*, 1983); h (Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997b), h' (Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997a) i: Duke et al 1972; j: (Guan *et al.*, 1993); k: martinez et al 1993; l: duke et al 1987; m: (Hazelwood, 1993)

Tableau 13. Rôle des hormones digestives chez le poulet.

cellules, en allure de microvillosités (Yamada *et al.*, 1983; Atoji *et al.*, 1994; Aksoy et Cinar, 2009).

Ces cellules pourraient agir comme des chémorécepteurs, recevant l'information provenant de la lumière intestinale. Il s'agit d'autre part des cellules dites de « type fermées » (« closed-types »), qui par opposition aux cellules de « type ouvertes », ne sont pas en contact avec le lumen (Yamada *et al.*, 1983; Atoji *et al.*, 1994; Aksoy et Cinar, 2009). Elles pourraient agir en tant que mécanorécepteurs par contact interposé avec d'autres cellules (Yamada *et al.*, 1983).

Le tableau 12 résume la présence des différents peptides régulateurs dans les compartiments digestifs, et le tableau 13 rassemble leurs principales fonctions. Parmi les principaux peptides régulateurs chez les volailles, se trouvent la cholecystokinine (CCK), la gastrine, le peptide intestinal vasoactif (VIP) et le polypeptide pancréatique aviaire (APP).

La **CCK**, produite par l'intestin grêle, agit sur le pancréas en stimulant la sécrétion d'enzymes pancréatiques par le pancréas exocrine (Grider, 1994) et la libération d'insuline et de glucagon par le pancréas endocrine (Liddle, 1997). Elle provoque la contraction de la vésicule biliaire (Gui *et al.*, 2000), ce qui implique la CCK dans la régulation de la digestion des lipides. Au niveau des compartiments digestifs proximaux, la CCK stimule la sécrétion de pepsine et d'ions H⁺ par les cellules oxynticopeptiques du proventricule (Burhol, 1982). Enfin, la CCK inhibe la motricité du gésier chez la dinde nourrie (Savory *et al.*, 1981), ce qui provoque un ralentissement de l'évacuation gastrique (Martinez *et al.*, 1993).

La **sécrétine**, produite au niveau de l'intestin grêle, a pour rôle de stimuler les sécrétions digestives (Yamada *et al.*, 1983). Elle agit en particulier sur le pancréas et stimule la sécrétion d'eau et de bicarbonates, ce qui neutralise l'acidité du chyme dans le duodénum.

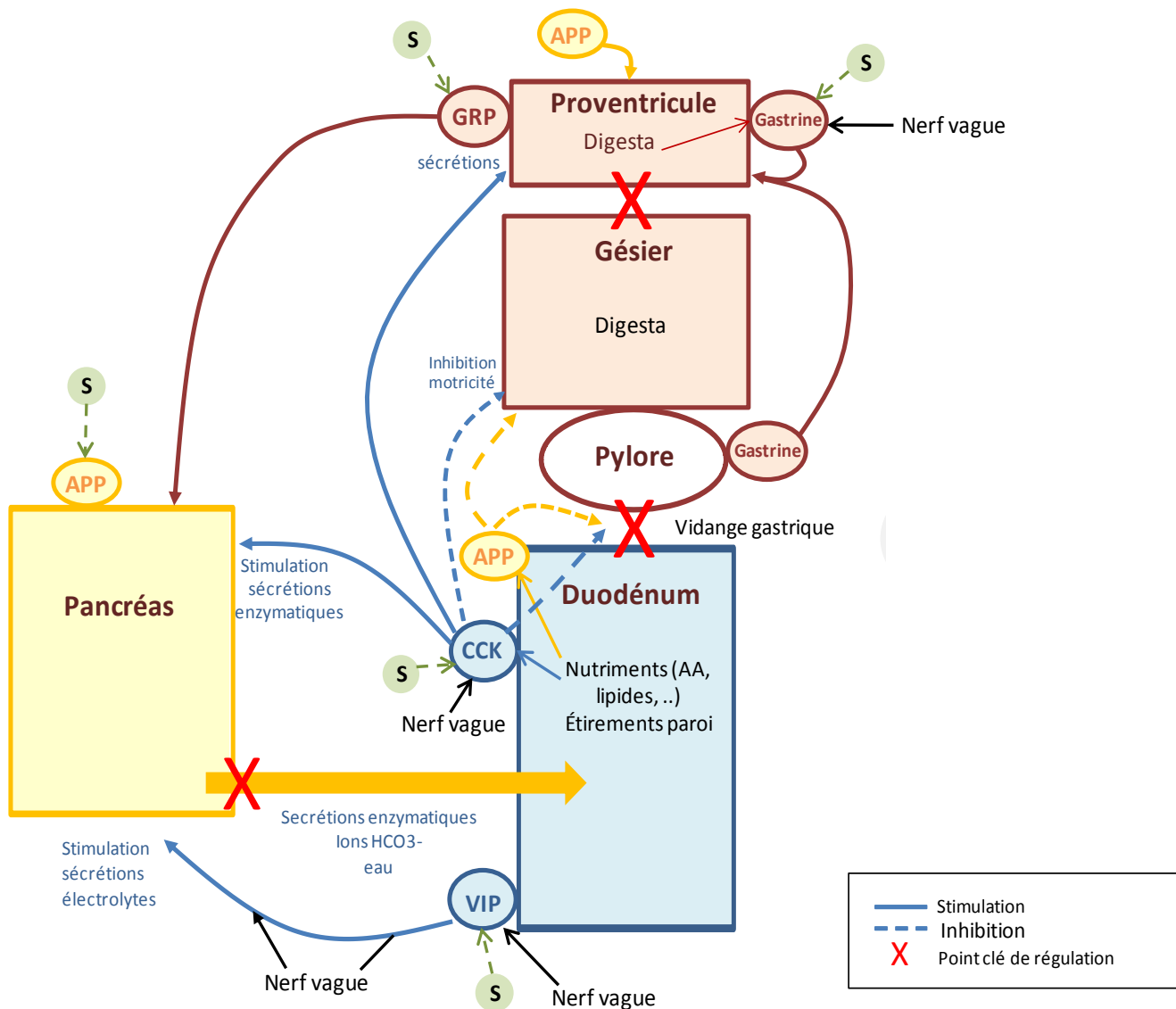


Figure 11. Schéma récapitulatif de la régulation hormonale de la digestion. Les principales hormones impliquées (CCK, APP, VIP, Gastrine, GRP, Somatostatine (S)) sont identifiées au niveau de leur lieu de production. Les actions « stimulantes » sont représentées à l'aide de traits pleins tandis que les actions « inhibitrices » sont représentées à l'aide de traits en pointillés. Les croix rouges indiquent les principaux lieux de flux (digesta et/ou sécrétions digestives), dont les régulations influencent les paramètres de digestion.

La **gastrine**, produite au niveau du pylore, possède un rôle similaire à la CCK, puisqu'elle stimule la sécrétion d'HCl et de pepsine par les cellules oxyntico-peptiques du proventricule (Aksoy et Cinar, 2009) et qu'elle inhibe la motricité du gésier (Martinez *et al.*, 1992). La gastrine exerce également un rôle trophique sur la croissance de la muqueuse du proventricule (Aksoy et Cinar, 2009).

Chez le poulet, la **neurotensine**, produite au niveau de l'intestin grêle (Gui *et al.*, 2000) est considérée comme le régulateur principal de la digestion lipidique. Elle agit en association avec la CCK pour stimuler les sécrétions pancréatiques et biliaires, et elle augmente l'absorption des acides gras au niveau de l'intestin grêle (Degolier *et al.*, 1997a).

Le **VIP**, produit au niveau de l'intestin grêle, stimule la libération d'eau et d'électrolytes dans l'intestin grêle chez l'oiseau (Duke *et al.*, 1987). Le VIP serait également le principal régulateur de la sécrétion pancréatique (davantage que la sécrétine) (Denbow, 2000). Enfin, il agit en tant que vasodilatateur (Moran, 1982; Yamada *et al.*, 1983), ce qui potentialise l'action de tous les autres peptides régulateurs digestifs du fait de l'augmentation du débit sanguin.

L'**APP**, produit au niveau du pancréas, du proventricule et du duodénum, stimule les sécrétions de HCl et de pepsine dans le proventricule du poulet (Duke *et al.*, 1972) sous le contrôle du nerf vague (Hazelwood *et al.*, 1973).

Chez les mammifères monogastriques, la **sérotonine** (5-HT), majoritairement produite dans les cellules endocrines de la muqueuse intestinale (Wouters *et al.*, 2007), stimule non seulement la sécrétion des hormones produites au niveau des cellules endocrines de la muqueuse intestinale, mais elle stimule également la motricité gastrique chez le porc (Shiihara *et al.*, 1997; Nakajima *et al.*, 1997), le chien (Haga *et al.*, 1998; Prove et Erhlein, 1983), le mouton (Plaza *et al.*, 1996) et le rat (Dhasmana *et al.*, 1993). Cependant, très peu d'informations sont disponibles sur le rôle de la sérotonine chez l'oiseau.

La **somatostatine**, produite au niveau de l'ensemble de l'appareil digestif, possède un rôle contraire à la sécrétine et aux autres peptides régulateurs digestifs, puisqu'elle inhibe la sécrétion des autres hormones intestinales et gastriques (Denbow, 2000). Elle diminue également le flux sanguin intestinal, ce qui ralentit le transport des hormones vers leurs cibles.

La figure 11 résume les principaux flux hormonaux.

	stimulation	cibles / actions
Somatostatine ^a	présence de digesta	inhibe la sécrétion des autres hormones digestives diminue le flux sanguin intestinal
Sérotonine ^b		régulation de la pression sanguine stimulation de la motricité gastrique
Neurotensine ^{c,d}		régulateur de la digestion des lipides: stimule la sécrétion de bile (acides biliaires, ..) effet trophique sur la croissance du pancréas et de la muqueuse intestinale
Gastrine ^{b,e,f}	chyme (certains lipides, peptides..); CCK, sécrétine, Ach, nerf vague	proventricule: inhibe les sécrétions gastriques pancréas et vésicule biliaire: inhibe les sécrétions pancréatiques et biliaires; intestin: stimule l'absorption des nutriments
Entéroglucagon /GIP ^g	digesta	stimule sécrétions intestinales et synthèse/libé insuline ralentissement du transit digestif
Motiline ^{g,h}		contractions inter digestives (ROC)/ favorise motricité
Avian pancréatique peptide ^{g,i}		stimule les sécrétions gastriques inhibe la motricité gastrique
CCK ^{f,h',j,k}	protéines, AA, lipides du chyme ; pH; distension de l'intestin; nerf vague	contrôle la prise alim (+ ou - selon récepteurs) rôle trophique sur la croissance du pancréas inhibe la motricité gastrique stimule la sécrétion d'acétylcholine dans le plexus myentérique stimule la vidange de la vésicule biliaire et les sécrétions pancréatiques
VIP ^{e,g}	nerf vague	vaisseaux sanguins: effet vasodilatateur pancréas: régule les sécrétions d'électrolytes pancréatiques proventricule : inhibe la libération de gastrine intestin grêle: stimule l'absorption
Sécrétine ^{g,l}	pH bas (duodénum)/ stimulation par nerf vague et CCK	pancréas: stimule les sécrétions d'enzymes, d'eau et d'ions HCO ₃ ⁻ (neutralise acidité) proventricule: inhibe les sécrétions gastriques
Polypeptide Pancréatique ^m	distension duodénum; pH; présence d'AA dans le duodénum)	inhibe la sécrétion d'enzymes pancréatique inhibe la motricité stimule les sécrétions gastriques
Peptide YY ^j		inhibiteur de la croissance pancréas ?

a Denbow et al 2000; b (Aksoy & Cinar, 2009); c (Gui *et al.*, 2000); d (Atoji *et al.*, 1994); e moran 1985; f: (Furuse, 1999);g (Yamada *et al.*, 1983); h (Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997b), h'(Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997a) i: Duke et al 1972; j: (Guan *et al.*, 1993); k: martinez et al 1993; l: duke et al 1987; m: (Hazelwood, 1993)

Tableau 13. Rôle des hormones digestives chez le poulet.

3.1.2. Stimulation de leur production et facteurs de variation (Tableau 13 et Figure 11)

L'étirement de la paroi intestinale due au passage du chyme, ou le **contact entre le chyme et les cellules endocrines** (chez l'homme, Liddle, 1997) stimulent la libération dans le sang des peptides régulateurs, tels que la CCK (Liddle, 1997), le polypeptide pancréatique (Yamada *et al.*, 1983), la gastrine, le GIP et le 5-HT (Spiller, 2007).

La composition du chyme influence également les productions d'hormones. Un pH bas de chyme stimule la production de CCK (Liddle, 1997), de sécrétine, de 5-HT (Spiller, 2007) et d'APP. Les lipides et les acides aminés sont d'importants secrétagogues (chez l'homme, Liddle 1997). La présence de lipides ou d'acides aminés dans le duodénum provoque la libération et l'action du polypeptide pancréatique. Chez le poulet, la présence de lipides dans le duodénum déclencherait la libération de CCK et de gastrine (Tableau 13).

Le système nerveux est très impliqué dans la stimulation de libération des peptides régulateurs digestifs, notamment via le nerf vague (Kuenzel, 2000). Par exemple, l'activité motrice du gésier stimulerait, via le nerf vague, la libération de CCK par la muqueuse duodénale (Svihus *et al.*, 2004); la CCK stimule à son tour la sécrétion d'enzymes pancréatiques dans le duodénum (Martinez *et al.*, 1993). Par ailleurs, les peptides régulateurs agissent soit directement, soit via le système neural (Murai *et al.*, 2000), en association avec d'autres neurotransmetteurs.

A notre connaissance, chez les volailles, seules de rares études traitent de l'influence d'hormones digestives selon le génotype. Ainsi, Savory et Gentle (1983) ont comparé les effets d'injection de CCK entre des poulets de type « chair » et de type « ponte » sur leur consommation alimentaire, mais n'ont pas trouvé de différences dues au génotype.

3.2. Système nerveux

L'innervation du tube digestif des volailles comprend une innervation intrinsèque (le système nerveux entérique) et une innervation extrinsèque (systèmes parasympathique et sympathique) (Kuenzel, 2000).

3.2.1. Le système nerveux intrinsèque (Figure 12)

Le système nerveux intrinsèque est formé de deux plexus (réseau de nerfs), le plexus myentérique (ou plexus d'Auerbach), situé entre les couches musculaires lisses longitudinales

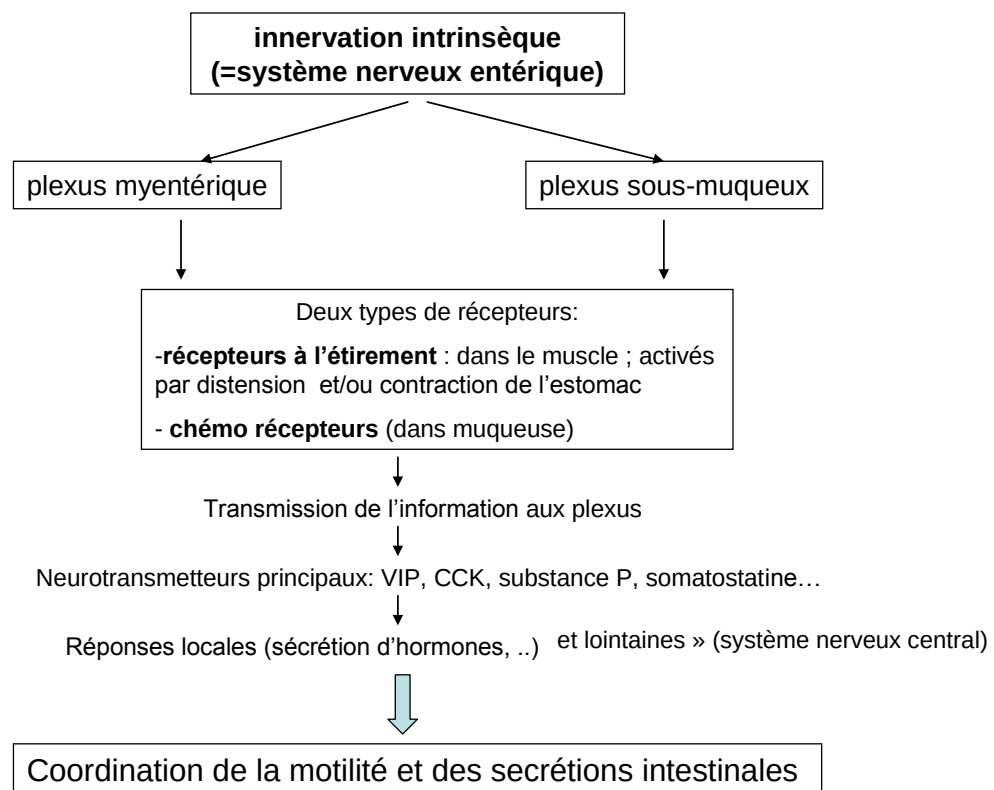


Figure 12. Représentation schématique du système nerveux intrinsèque.

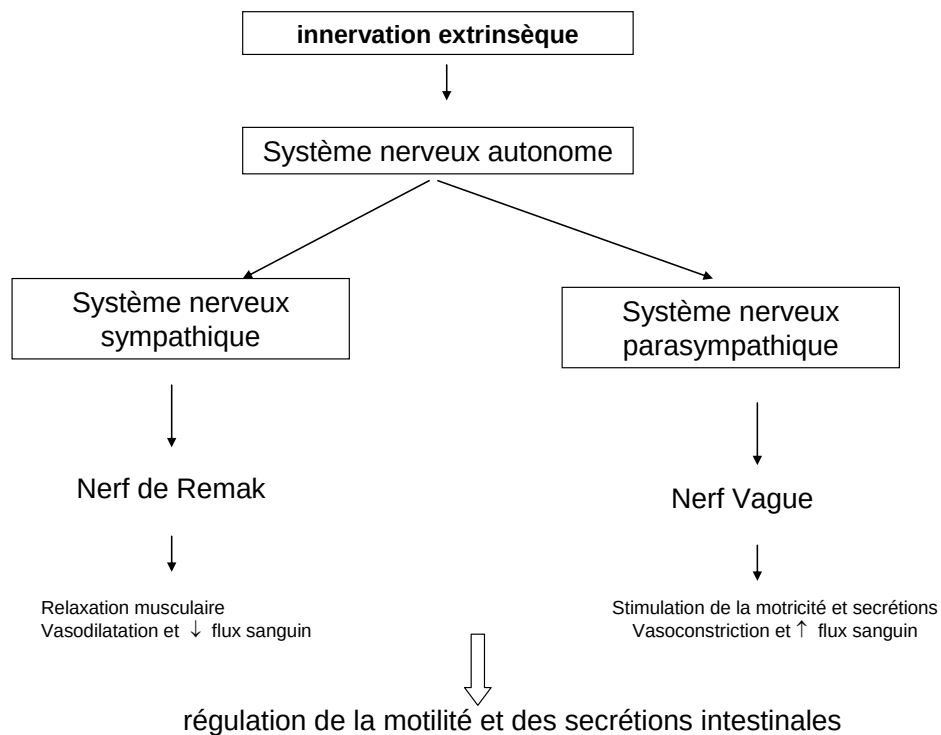


Figure 13. Représentation schématique du système nerveux extrinsèque.

et circulaires de la musculature externe de la paroi du tube digestif, et le plexus sous-muqueux, situé dans la sous muqueuse (McLelland, 1979).

Le plexus myentérique est responsable du contrôle moteur, et le plexus sous muqueux est responsable des sécrétions gastro-intestinales (Duke, 1986a,b). Des signaux tel que l'étirement de la paroi intestinale sont reçus par des récepteurs sensibles à l'étirement, qui transmettent l'information au plexus sous muqueux.

Le gésier est innervé par le plexus myentérique (Hodges, 1974 ; Duke, 1992). Ce plexus, qui entoure l'isthme et les muscles fins du gésier, doit rester totalement intact pour que la motricité gastrique se déroule correctement (Hall et Duke, 2000) et que les contractions soient coordonnées (Bennett et Cobb, 1969). La dénervation de l'isthme entraîne quant à elle une diminution de 50% de la fréquence des contractions du gésier et du duodénum, et provoque des troubles de coordination entre le proventricule et le gésier (Chaplin et Duke, 1990).

3.2.2. Le système nerveux extrinsèque (Figures 13 et 14)

Le système nerveux extrinsèque correspond au système nerveux autonome, responsable des fonctions automatiques de régulation, telles que la digestion. Il est ainsi impliqué dans la régulation des mouvements du tractus digestif et dans la régulation des sécrétions digestives (Akester, 1979; Kuenzel, 2000).

Le système nerveux extrinsèque regroupe les systèmes sympathiques et parasympathiques.

Le système sympathique (Figure 14) est constitué d'une chaîne de ganglions partant de la corde spinale, essentiellement aux niveaux des régions thoracique et lombaire. Les neurones pré ganglionnaires, partant de la corde spinale vers des ganglions, sont très courts. Ils libèrent un neurotransmetteur, principalement l'acétylcholine, qui se fixe sur les récepteurs nicotiniques des neurones post ganglionnaires (d'après Akester, 1979 et Kuenzel, 2000). Les neurones post ganglionnaires, très longs, s'étendent jusqu'aux organes cibles, notamment l'œsophage, le jabot, et l'intestin. À leur tour, ces neurones libèrent un neurotransmetteur, principalement la norépinéphrine qui se fixe sur les récepteurs au niveau des organes cibles (cellules sécrétrices, muscle lisse,...). Leur effet est plutôt de type inhibiteur, avec notamment une diminution du tonus musculaire, de la motricité, et du flux sanguin (d'après Akester, 1979 et Kuenzel, 2000).

Chez les oiseaux, il existe une spécificité : le nerf de Remak (Figures 13 et 14), encore appelé nerf intestinal. Ce nerf est parallèle au tube digestif, du duodénum jusqu'au cloaque. Il

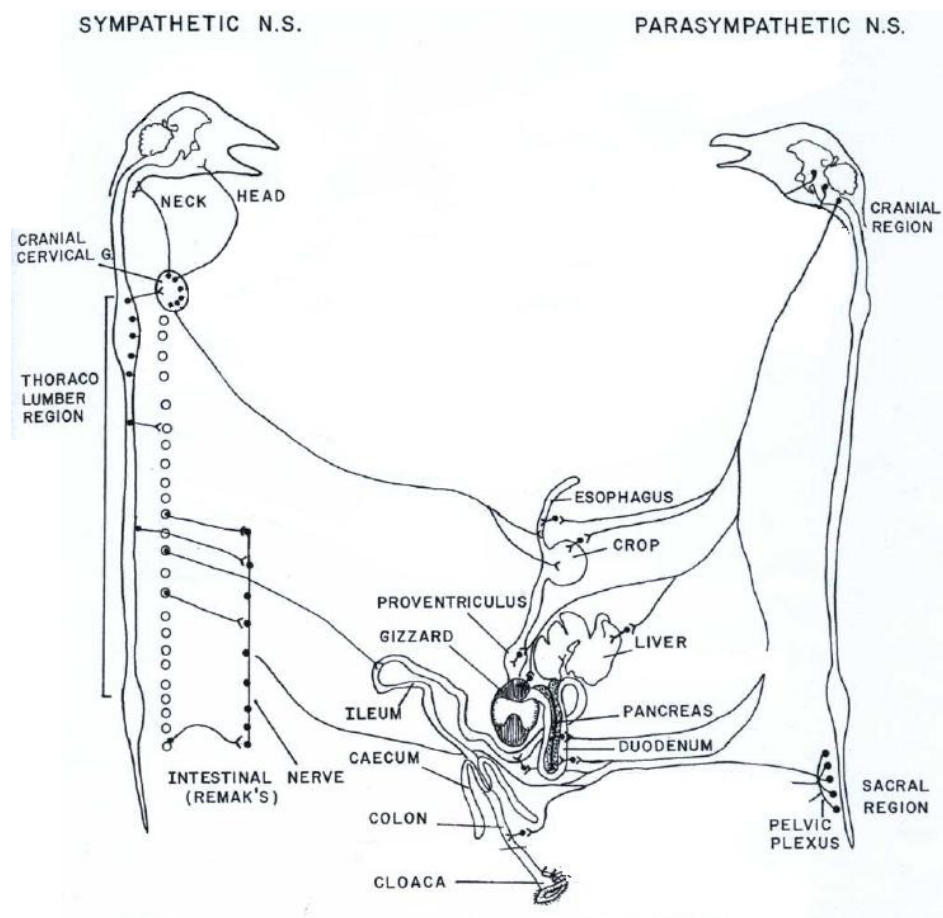


Figure 14. Le système nerveux extrinsèque (d'après (Kuenzel, 2000)).

appartient au système sympathique ; il présente de nombreuses ramifications vers l'intestin (grêle et rectum) (Watanabe, 1983). Le nerf de Remak est impliqué dans la régulation de la motricité intestinale. La distension de l'intestin stimule le nerf de Remak (Young, 1990; Smith et Lunam, 1998) via des neurones associés, utilisant l'acétylcholine comme neurotransmetteur.

Le système parasympathique (*Figure 14*) est constitué de nerfs partant du cerveau ou de la région sacrée de la corde spinale. Les fibres parasympathiques stimulent la motricité, la vasoconstriction, l'activité sécrétoire du tube digestif. Elles innervent les organes digestifs. Elles sont principalement de type cholinergiques (Moran, 1985). Les neurones pré ganglionnaires sont très longs contrairement à ceux du système sympathique, et se projettent jusqu'à proximité des organes cibles (d'après Akester, 1979 et Kuenzel, 2000). Les nerfs pré-ganglionnaires libèrent de l'acétylcholine qui se fixe sur les récepteurs nicotiniques au niveau des neurones post ganglionnaires. Ces derniers sont courts, et libèrent de l'acétylcholine qui se fixe sur des récepteurs muscariniques des organes cibles (d'après Akester, 1979 et Kuenzel, 2000).

Le nerf vague est le nerf principal du système nerveux parasympathique (Akester, 1979). Les contractions du gésier sont spontanées mais modulées par la stimulation du nerf vague (Denbow, 2000; Hall et Duke, 2000). L'énervation vagale du gésier provoque une réduction de 75% de la motricité gastrique (Roche et Decerprit, 1977). Chez les volailles, le nerf vague stimule les sécrétions de pepsine et d'ions H^+ par le proventricule (Duke 1986 ; Burhol 1982).

III. FACTEURS DE VARIATION DES EFFICACITES DE DIGESTION, LIEES A L'ANIMAL

L'efficacité digestive chez l'oiseau peut être estimée d'une manière globale par la mesure de l'énergie métabolisable (EM) d'un aliment. L'EM correspond à l'énergie brute (EB) d'un aliment à laquelle est retranchée l'énergie brute perdue dans l'urine et les fèces. Le critère de l'énergie digestible n'est pas retenu puisque, chez les oiseaux, l'urine et les fèces sont excrétés simultanément au niveau du cloaque. Par opposition à l'énergie métabolisable vraie (EMV), l'énergie métabolisable apparente (EMA) ne prend pas en compte les pertes d'origine endogènes.

Pour supprimer les variations d'origine métabolique dans les mesures d'EMV ou d'EMA, on effectue une correction pour un bilan azoté nul (EMAn). Les variations d'EMAn s'assimilent alors aux seules variations d'origine digestive. Chez les jeunes, le bilan azoté étant positif, l'EMA ou l'EMV sont toujours supérieures aux EMAn ou EMVn. Par contre, chez le coq adulte, où le bilan azoté est nul, les différences entre EMA (ou EMV) et EMAn (ou EMVn) sont extrêmement faibles.

Ces mesures d'efficacité digestive peuvent également s'appliquer à des constituants alimentaires précis. On parle alors de digestibilité. La digestibilité d'un constituant alimentaire est la proportion de ce constituant qui est digérée et absorbée par rapport à sa quantité ingérée.

1. Effets associés à l'âge

L'effet de l'âge sur les valeurs d'EMA(n) des aliments s'apprécie en examinant un même pool d'individus, appartenant à un même génotype, à des âges différents (Zelenka, 1967; Laurin *et al.*, 1985; Hassan et Delpech, 1986; Ten Doeschate *et al.*, 1993; Buyse *et al.*, 1998; Scott *et al.*, 1998). Certaines études comparent les valeurs d'EMAn (Laurin *et al.*, 1985; Hassan et Delpech, 1986) ou d'EMVn (Buyse *et al.*, 1998) des aliments tandis que d'autres comparent des valeurs d'EMA non corrigées des aliments (Zelenka, 1967; Ten Doeschate *et al.*, 1993; Scott *et al.*, 1998), ce qui peut dans ce cas atténuer les différences observées entre jeunes et adultes, étant donné que le bilan azoté est positif chez les poulets en croissance (les valeurs d'EMA sont donc supérieures aux valeurs de l'EMAn).

On peut déduire de ces études que, pour des poulets appartenant à un même génotype, la valeur de l'EMAn d'un aliment augmente quand l'âge des animaux augmente (Zelenka, 1967 ; Laurin *et al.*, 1985; Hassan & Delpech, 1986; Bourdillon *et al.*, 1990; Ten Doeschate *et al.*, 1993; Buyse *et al.*, 1998 ; Scott *et al.*, 1998). Cela signifie que les animaux plus âgés digèrent mieux un aliment donné que les animaux plus jeunes. Les différences observées dans ces études sur les valeurs d'EMAn entre deux âges varient de 3% à 10%. Zelenka (1967) a effectué une cinétique de l'EMA de l'aliment avec l'âge des poulets, et a observé une augmentation de l'EMA d'environ 10% entre le 8^{ème} et le 20^{ème} jour d'âge, jusqu'à atteindre un plateau. Cette augmentation de l'EMA chez les animaux plus âgés ne peut pas être attribuée à la non correction de l'EMA pour un bilan azoté nul, puisque le bilan azoté devient nul quand l'âge augmente.

Entre 1 semaine et 15 j (Scott *et al.*, 1998) ou 21 j (Laurin *et al.*, 1985), la valeur d'EMA (Scott *et al.*, 1998) ou d'EMAn (Laurin *et al.*, 1985) augmente entre 3 et 5%. Entre 3 et 6 semaines d'âge, Buyse *et al.* (1998) rapportent une augmentation d'environ 7% de l'EMVn, qui peut s'apparenter à l'EMAn.

L'étude de Hassan et Delpech (1986) montre que les différences d'EMAn observées entre deux génotypes (une souche « chair » et une souche « ponte ») à 35 jours disparaissent quand les poulets ont 60 jours. Ceci signifie que les différences entre génotypes s'expriment plus chez le jeune que chez l'adulte. D'autres études mettent en évidence des interactions entre génotype et âge sur les valeurs de l'EMA (Ten Doeschate *et al.*, 1993) ou de l'EMAn (Laurin *et al.*, 1985). Ten Doeschate *et al.* (1993) montrent que les différences d'EMAn entre des poulets commerciaux (par opposition aux poulets *expérimentaux*) et des poulets sélectionnés sur l'efficacité alimentaire diminuent entre 14 jours et 42 jours d'âge. Par rapport à des différences observées à 1 semaine, Laurin *et al.* (1985) montrent une disparition à 3 semaines d'âge des différences d'EMAn observées entre des poulets commerciaux et des poulets sélectionnés pour une faible quantité de gras abdominal.

Les différences observées entre des poulets de 3 semaines et des coqs adultes, n'appartenant pas au même génotype (Bourdillon *et al.*, 1990 ; Carré *et al.*, 1995), s'apparentent à un effet âge seul, puisque l'effet du génotype sur l'EMAn a tendance à disparaître chez l'adulte (Hassan et Delpech, 1986 ; Ten Doeschate *et al.*, 1993). Ainsi, la comparaison entre des poulets âgés de 3 semaines et des poulets adultes (Bourdillon *et al.*, 1990) fait état d'une augmentation entre 4 et 6% de la valeur de l'EMAn mesurée avec un régime à base de blé et maïs.

Cette amélioration de la valeur de l'EMAn chez des animaux plus âgés s'explique par une amélioration des processus de digestion des nutriments quand l'âge augmente. Une part de cette amélioration est attribuable à la digestion des lipides, moins élevée chez les jeunes que chez l'adulte (Laurin *et al.*, 1985; Bourdillon *et al.*, 1990), du fait d'une moindre sécrétion d'acides biliaires chez le poulet en croissance (Krogdahl, 1985 ; Maisonnier *et al.*, 2003). Une autre part de cette amélioration due à l'âge provient également de la digestion des glucides (Carré *et al.*, 1995), probablement associée à une meilleure efficacité des enzymes digestives.

La maturation du système digestif (au niveau de l'anatomie et des fonctions digestives) est également probablement impliquée dans l'amélioration de la valeur de l'EMAn tout au long de la croissance.

2. Effets associés à l'anatomie

Les mesures anatomiques et les mesures d'efficacité de digestion sont rarement effectuées conjointement dans les études. Certaines associations ont toutefois été établies entre des paramètres anatomiques et des paramètres digestifs. Ainsi, le poids du gésier est positivement lié à la digestibilité de l'amidon (Rogel *et al.*, 1987, Hetland et Svihus, 2001 ; Péron *et al.*, 2006) et des protéines (Maisonnier *et al.*, 2001 ; Garcia *et al.*, 2007), et à l'EMAn (Maisonnier *et al.*, 2001b; McEntee *et al.*, 2003; Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007). Souvent, ces relations sont établies en faisant varier le poids du gésier, par l'intermédiaire de particules grossières incorporées dans le régime.

L'amélioration de la digestibilité de l'amidon et des protéines avec un gésier plus gros pourrait s'expliquer par plusieurs phénomènes :

- L'évacuation gastrique serait mieux régulée, en association avec un TRM des digesta plus long dans le gésier et un ralentissement du passage du chyme dans le duodénum (Nir *et al.*, 1994b). Les digesta seraient broyés plus intensément avec un gésier bien développé, ce qui permettrait une meilleure accessibilité des enzymes digestives aux particules.

- Dans le gésier, les digesta se mélangeraient mieux avec les sécrétions digestives venant du proventricule et du pancréas par reflux des digesta de l'intestin grêle vers le gésier (voir partie 2). Ce mélange serait permis par le TRM plus long dans le gésier, et par une augmentation des reflux de digesta de l'intestin grêle vers le gésier.

- Les concentrations d'activité enzymatiques pancréatiques dans les digesta seraient augmentées (Svihus *et al.*, 2004a). Le travail musculaire du gésier, accentué par la présence de particules grossières, stimule probablement le nerf vague, qui à son tour provoque la sécrétion de CCK par la muqueuse duodénale, stimulant la sécrétion d'enzymes pancréatiques dans l'intestin grêle. Cette augmentation d'activité des enzymes pancréatiques dans les digesta intestinaux contribue probablement à l'amélioration de l'EMAn du régime (Svihus *et al.*, 2004) et des digestibilités des nutriments (Hetland *et al.*, 2002).

Nir *et al.* (1994b) observent une relation inverse entre le poids du gésier et le poids du duodénum. Il est possible que le duodénum se développe en réponse à l'efficacité fonctionnelle du gésier, en compensant plus ou moins cette dernière efficacité.

Par ailleurs, il a été souvent observé une relation inverse entre les efficacités digestives et le poids des compartiments intestinaux chez le poulet en croissance (Maisonnier *et al.*, 2003 ; Péron *et al.*, 2006 ; Garcia *et al.*, 2007), ce qui corrobore l'hypothèse selon laquelle le développement de l'intestin grêle chez le poulet réagirait pour une bonne part en terme d'adaptation à une mauvaise digestion.

3. Effets associés au transit gastro-intestinal

Les associations observées entre les critères anatomiques et l'EMAn ou les critères digestifs sont probablement liées au temps de rétention moyen des digesta dans les différents compartiments digestifs. En effet, Shires *et al.* (1987) ont montré que la taille du gésier (g/kg PV) était positivement associée au TRM dans ce compartiment. Par conséquent, il semblerait qu'un TRM long dans le gésier favorise une meilleure efficacité de digestion (Hetland *et al.*, 2004), avec des raisons analogues à celles décrites au paragraphe « III.2 ». Chez le rat (Kelly, 1981), le porcelet (Fledderus *et al.*, 2007) et le veau (Guilloteau *et al.*, 1981), une rétention gastrique plus longue est d'ailleurs associée à une meilleure efficacité de l'intestin grêle (meilleure digestibilité des protéines et des lipides, et meilleure efficacité d'absorption des nutriments).

4. Effet de l'origine génétique des animaux

Les comparaisons d'EMAn entre génotypes concernent surtout des poulets en croissance, puisque chez le poulet adulte, les différences d'EMAn entre génotypes ont tendance à disparaître (Laurin *et al.*, 1985 ; Hassan et Delpech, 1986 ; Ten Doeschate *et al.*, 1993).

4.1. Souches légères *versus* souches lourdes

Les valeurs de l'EMAn des régimes sont généralement plus élevées pour des poulets de souche légères (ou à croissance lente) que pour les poulets de souche lourde (ou à croissance rapide). L'EMAn d'un régime à base de blé est en moyenne 7% supérieure chez les poulets de souche légère que chez des poulets de souche lourde, à 3 semaines d'âge (Carré *et al.*, 2008b). À 4 semaines d'âge, les valeurs d'EMAn de régimes à base de maïs ou à base d'orge sont plus élevées (2.5%) chez des poulets de souche légère par rapport à des poulets de souche lourde (Sibald et Slinger, 1963). Les poulets de souche légère ont généralement un gésier plus lourd (en poids relatif au poids corporel) que les poulets de souche lourde (voir partie 1). Ces différences anatomiques pourraient expliquer en partie les écarts d'EMAn observés entre poulets de souche légère et lourde, compte tenu des associations positives entre le poids du gésier et les paramètres de digestion (voir plus haut).

De façon contradictoire, Proudman *et al.* (1970) ont mesuré de plus fortes EMAn du régime pour des lignées à croissance rapide par rapport à des lignées à croissance lente, mais avec un écart de 1.7% seulement entre les deux lignées à 44 jours d'âge. Dans le même sens, Hassan et Delpech (1986) ont mesuré des valeurs d'EMAn du régime 4% supérieures pour des poulets de souche lourde par rapport à des poulets de souche légère, à 35j d'âge.

Sur le critère « poids vif », il y a donc contradiction entre les expériences quant à son association avec l'efficacité digestive. Ceci n'est pas surprenant dans la mesure où il a été observé que les corrélations génétiques entre poids vif et efficacités digestives étaient proches de zéro (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). Le critère « poids vif » ne serait donc pas pertinent pour rechercher les causes de variation d'efficacité digestive d'origine génétique.

4.2. Souches à haute ou faible efficacité alimentaire

Les valeurs d'EMAn de l'aliment sont souvent plus élevées avec les poulets sélectionnés pour une efficacité alimentaire élevée par rapport aux poulets sélectionnés pour une faible efficacité alimentaire.

Ainsi, Pym *et al.* (1984, 2005) ont comparé des souches sélectionnées depuis 12 générations pour une forte consommation alimentaire ou pour une forte efficacité alimentaire. Ils ont observé un écart de plus de 20% dans les valeurs d'EM entre ces deux souches, en faveur de la souche sélectionnée pour une haute efficacité alimentaire.

Dans le même sens, Ten Doeschate *et al.* (1993) ont comparé les EM des régimes entre des poulets de souche commerciale (type Ross) et des poulets d'une souche sélectionnée sur l'efficacité alimentaire. Il en résultait que les valeurs étaient plus élevées avec les lignées sélectionnées pour l'efficacité alimentaire qu'avec la lignée commerciale, de 15 à 29 jours d'âge. Néanmoins, les différences d'EMAn du régime observées entre les 2 génotypes ont diminué de moitié entre 15 et 29 jours. A 42 jours, aucune différence significative entre les deux lignées n'était observable (Ten Doeschate *et al.*, 1993). Comme déjà mentionné dans le paragraphe « III 1. », on assiste à une réduction voire une disparition de l'effet du génotype quand l'âge des individus augmente.

Il serait logique que le transit digestif soit plus rapide à mesure que la consommation alimentaire augmente (voir précédemment). Ainsi, chez les poulets présentant une forte consommation alimentaire (Pym *et al.*, 1984 ; Ten Doeschate *et al.*, 1993), le transit digestif est plus rapide par rapport aux autres génotypes (Pym *et al.*, 2005). Le temps alloué à la digestion des nutriments est donc réduit, ce qui peut en partie expliquer la plus faible EMAn de l'aliment chez ces animaux.

Contrairement à ces études, Buyse *et al.* (1998) n'ont observé aucune différence significative de l'EMVn de l'aliment (assimilable à l'EMAn) à 3, 4 et 5 semaines d'âge, entre des poulets issus de deux génotypes, l'un sélectionné sur le poids vif à 6 semaines et l'autre sélectionné sur l'efficacité alimentaire entre 3 et 6 semaines (Buyse *et al.* 1998). Cette absence de différence peut s'expliquer par les critères de sélection de ces animaux ; cette sélection n'a pas sans doute pas altéré leur capacité à digérer l'aliment, mais a probablement modifié la répartition de l'utilisation de l'énergie entre synthèses protéique et lipidique.

4.3. Lignées expérimentales D⁺ et D⁻

4.3.1. Processus de sélection

Il a été observé que la présence de blé dans les régimes distribués aux poulets de chair s'accompagnait d'une forte variabilité des valeurs de l'EMAn entre les échantillons de blé, mais aussi entre les mesures individuelles. Les écarts entre les valeurs individuelles extrêmes de l'EMAn mesurées chez des poulets de chair s'élevaient jusqu'à environ 550kcal/g. Des tendances individuelles des poulets de chair pour des faibles valeurs d'EMA ont été prédites par Hugues et Choct en 1997, puis démontrées en 2001 par Maisonnier *et al.* (2001). Trois ans plus tard, Mignon-Grasteau *et al.* (2004) ont montré que l'héritabilité de la valeur de l'EM d'un régime à base de blé chez les poulets en croissance était élevée ($h^2 = 0.37$). Ce fut le point de départ de la sélection des lignées « digestion ». Les lignées divergentes D⁺ et D⁻ ont été sélectionnées à l'URA sur l'efficacité de digestion d'un régime contenant 55% de blé de la variété Rialto, connu pour sa forte dureté et sa viscosité élevée (Carré *et al.*, 2002). Les poussins ont été nourris de J7 à J23 avec ce régime.

Le processus de sélection (Figure 15) est détaillé par Mignon-Grasteau *et al.* (2004). Le critère d'efficacité de digestion a été estimé par la mesure de l'EMAn du régime chez les animaux âgés de 3 semaines. L'EMAn et les digestibilités de l'amidon, des protéines et des lipides ont été mesurées en même temps.

L'héritabilité de l'EMAn s'est révélée forte (0.36 à 0.38). Les héritabilités des digestibilités des protéines, amidon et lipides, étaient également élevées et variaient entre 0.33 et 0.47. Les digestibilités étaient très bien corrélées à l'EMAn. La sélection sur l'EMAn n'a pas affecté le poids vif à 23 jours, du fait de la très faible corrélation génétique entre l'EMAn et le poids vif (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004).

La sélection s'est effectuée à chaque génération en choisissant 12 males et 36 femelles parmi 216 animaux testés de chaque lignée. La sélection s'est effectuée pendant 8 générations. Les lignées de 8^{ème} génération de sélection sont maintenant conservées, ce qui n'était pas le cas pour les générations antérieures.

4.3.2. Caractéristiques des lignées

Comme attendu, les valeurs de l'EMAn sont meilleures pour les D⁺ par rapport aux D⁻, quel que soit le régime (Carré *et al.*, 2005a; Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007).

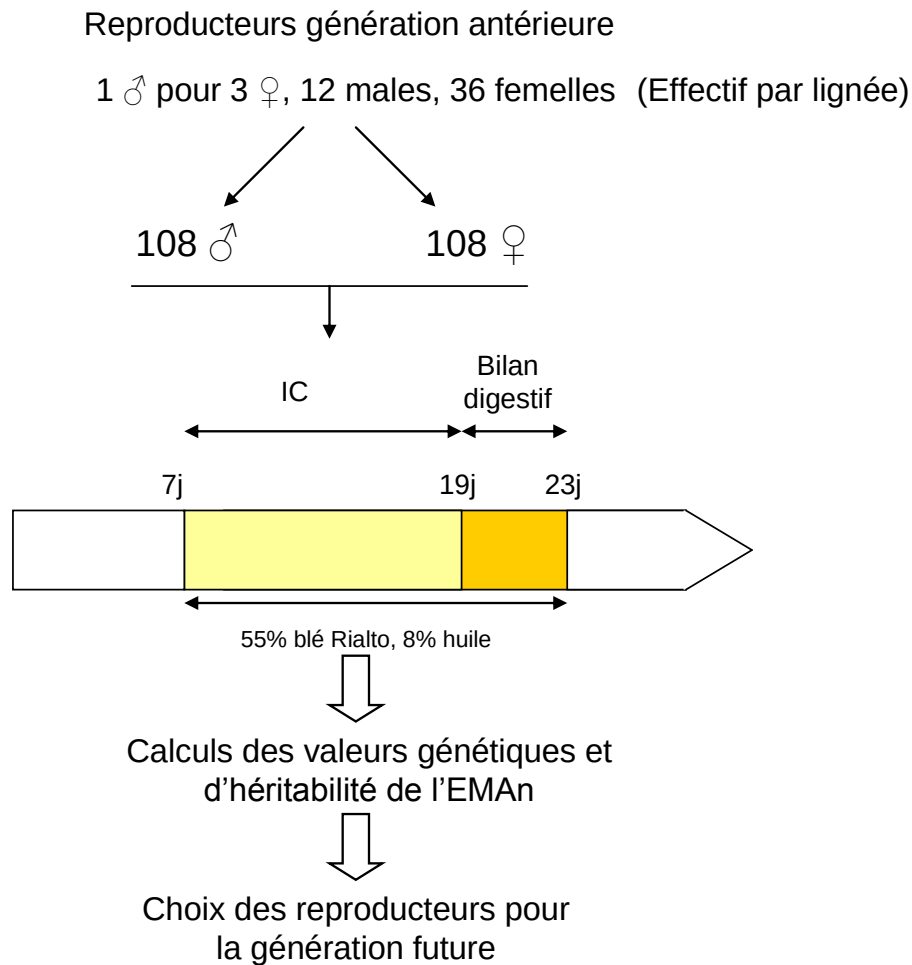


Figure 15. Schéma de la sélection des poulets des lignées D^+ et D^- . Pour chaque lignée, à une génération donnée, 12 males et 36 femelles sont sélectionnés en tant que reproducteurs. Parmi les œufs éclos, 108 mâles et 108 femelles de chaque lignée sont retenus. Les poussins sont nourris avec le régime blé Rialto de sélection. De 7 à 20 jours, l'indice de consommation (IC) est déterminé. Un bilan digestif est réalisé de 19 à 23 jours pour la détermination de l'EMAn et des digestibilités des nutriments. Les hérabilités de ces critères sont déterminées. À partir de ces valeurs, les futurs reproducteurs sont choisis, pour la génération suivante.

Cependant, les valeurs d'EMAn mesurées à 3 semaines avec un régime à base de blé sont beaucoup plus variables chez les D⁻ que chez les D⁺ (Carré *et al.*, 2008a).

Les différences de digestion entre les D⁺ et les D⁻ ne s'observent que pendant la période de croissance (0-7 semaines). À partir de 8 semaines d'âge, les différences entre lignées disparaissent (Carré *et al.*, 2005a).

La quantité d'excrétas rejetés chez les D⁻ est 40% plus élevée que chez les D⁺ (en quantité d'excreta secs rapportée à la consommation alimentaire en matière sèche), ce qui traduit la différence de digestion entre les deux lignées (Carré *et al.*, *comm. perso.*).

Concernant les performances de croissance, avec un régime à base de blé, les poids vifs des deux lignées sont identiques à 23j, conformément au processus de sélection (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). Cependant, lorsque ces lignées sont nourries avec un régime à base de maïs, les D⁻ sont plus lourds que les D⁺ (entre 6 et 10%) pendant les premières semaines post-éclosion (Carré *et al.*, 2008a). Ainsi, avec un régime à base de maïs, les D⁻ peuvent exprimer pleinement leur potentiel de croissance, alors qu'ils ne le pouvaient pas avec un régime à base de blé.

La consommation alimentaire est plus forte chez les D⁻ que chez les D⁺, que ce soit avec un régime à base de blé ou un régime à base de maïs (Carré *et al.*, 2005a; Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007). Cependant, ces niveaux de consommation différents n'expliquent pas les différences d'EMAn observées entre les lignées. En effet, une étude testant les interactions entre la présentation du régime (granulés ou farine) et les lignées D⁺ et D⁻ a mis en évidence qu'un aliment sous forme de farine réduisait les différences de consommation entre les lignées, mais pas les différences d'EMAn (Carré *et al.*, 2005a).

Une autre caractéristique importante des lignées est la taille de leurs organes digestifs. À 3 semaines d'âge, quel que soit le régime, les D⁺ ont été caractérisés par un poids relatif de proventricule et de gésier plus élevé, et par un poids relatif d'intestin grêle plus faible que les D⁻ (Carré *et al.*, 2005a; Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007) (voir également la partie I). Le rapport [poids gésier/poids intestin grêle] est un bon résumé de l'anatomie des D⁺ et des D⁻, et permet ainsi de caractériser les lignées. Les résultats obtenus jusqu'à présent sont représentés sur la figure 16. Le rapport est toujours supérieur chez les D⁺ que les D⁻, quelle que soit la génération, et quel que soit le régime.

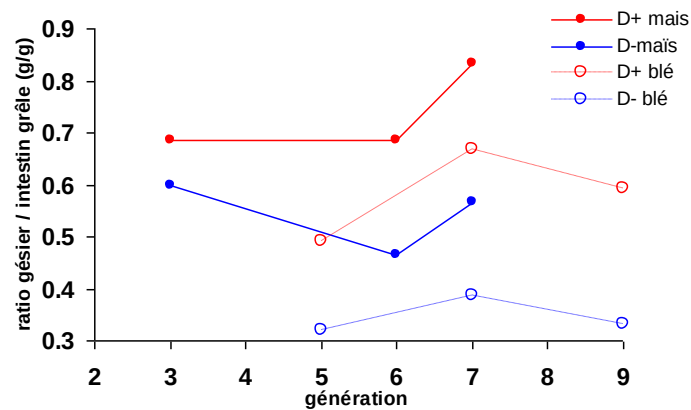


Figure 16. Évolution au cours des générations de sélection du rapport de poids [gésier / intestin grêle] (g/g) chez des poulets des lignées D^+ et D^- nourris avec un régime à base de blé ou de maïs (d'après Carré *et al.*, 2008 ; Mignon-Grasteau *et al.*, comm. person.).

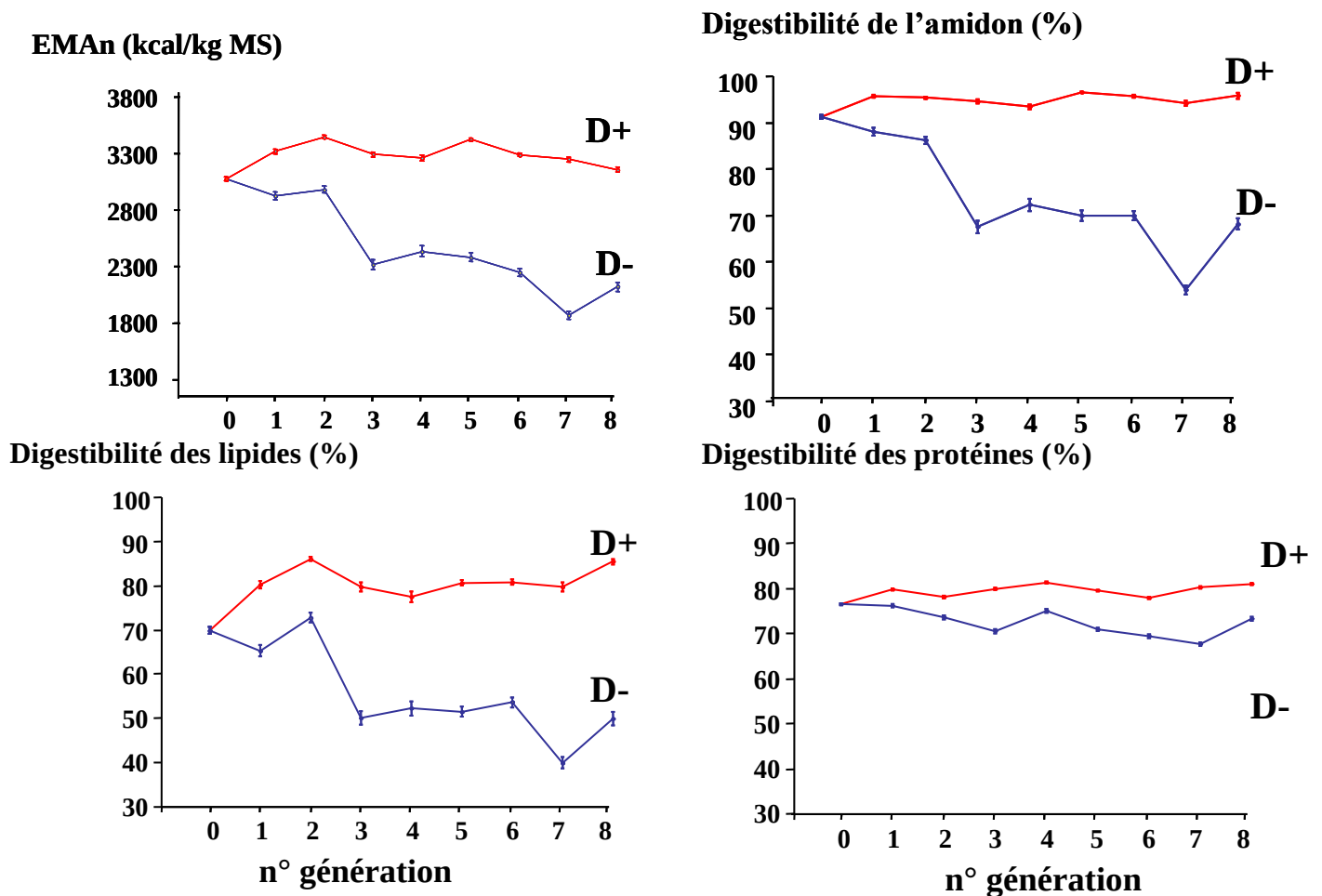


Figure 17. Évolution au cours des générations de sélections de l'EMAn et des digestibilités de l'amidon, des protéines et des lipides chez les poulets des lignées D^+ et D^- à 3 semaines d'âge. (d'après (Carré *et al.*, 2008a)). Les animaux sont nourris avec le régime de sélection à base de blé Rialto.

4.3.3. Évolution au fil des générations de sélection (Figure 17)

Au fil des générations, l'écart d'EMAn avec le régime blé de sélection s'est accentué entre les lignées (figure 17). L'écart dépassait 30% à la 6^{ème} génération de sélection, et plus de 40% à la 8^{ème} génération.

Comme attendu du fait des fortes corrélations entre l'EMAn et les digestibilités, on observe aussi à chaque génération, une légère amélioration des digestibilités chez les D⁺, et une dégradation chez les D⁻ (Figure 17). Chez les D⁺, les digestibilités et l'EMAn sont assez stables de génération en génération ; ceci est dû au fait que les D⁺ ont atteint des niveaux de digestion maximum. La digestion des protéines apparaît moins affectée par la sélection que les digestions des lipides et de l'amidon.

4.3.4. Interactions entre génotype et aliment

Par opposition au blé, le maïs est considéré comme une céréale de référence de bonne qualité pour l'alimentation des poulets. Un régime à base de maïs réduit les différences d'EMAn observées entre génotypes (Carré *et al.*, 2008a,b). Chez les D⁺, les valeurs d'EMAn du régime à base de blé et du régime à base de maïs étaient identiques. Chez les D⁻, par contre la valeur de l'EMAn était significativement améliorée avec le régime à base de maïs par rapport au régime à base de blé. Les écarts d'EMAn entre les deux lignées étaient plus faibles avec le régime « maïs » qu'avec le régime « blé » (Carré *et al.*, 2008 a,b) (Tableau 14).

L'usage de maïs permet de limiter les effets négatifs obtenus avec du blé, puisque le maïs pose peu de problèmes de digestion. Ces différences peuvent s'expliquer en partie par les propriétés physicochimiques du blé (Rogel *et al.*, 1987; Choct *et al.*, 1999; Svihus, 2001; Carré *et al.*, 2002, 2005) telles que la viscosité et la dureté. Il existe une corrélation négative entre l'EMAn d'un régime à base de blé et la viscosité *in vitro* et la dureté (Carré *et al.*, 2002, 2005). Le blé contient en effet des arabinoxylanes hydrosolubles qui induisent une augmentation de la viscosité du chyme (Carré *et al.*, 2002).

Une interaction similaire est observée lorsque l'on considère les souches labels et les poulets à croissance rapide Ross. Par ailleurs, la variabilité des valeurs d'EMAn est réduite avec un régime à base de maïs par rapport à un régime à base de blé (Choct *et al.*, 1995; Carré *et al.*, 2008b; Gutierrez del Alamo *et al.*, 2009). Ainsi, avec un aliment à base de blé, chez une lignée, à un âge donné, les valeurs d'EMA peuvent varier du simple au double (Hughes & Choct, 1997).

EMAn (Kcal/kg MS)	4 ^{ème} génération	7 ^{ème} génération
Régime "blé Rialto"		
Lignée D ⁺	3374 ^{ab}	3301 ^a
Lignée D ⁻	2954 ^c	2463 ^c
Régime "maïs"		
Lignée D ⁺	3475 ^a	3315 ^a
Lignée D ⁻	3294 ^b	3043 ^b
SEM	44,1	65,2
Effet lignée	***	***
Effet céréale	***	***
Lignée x Céréale	*	***

* P<0.01

*** P<0.0001

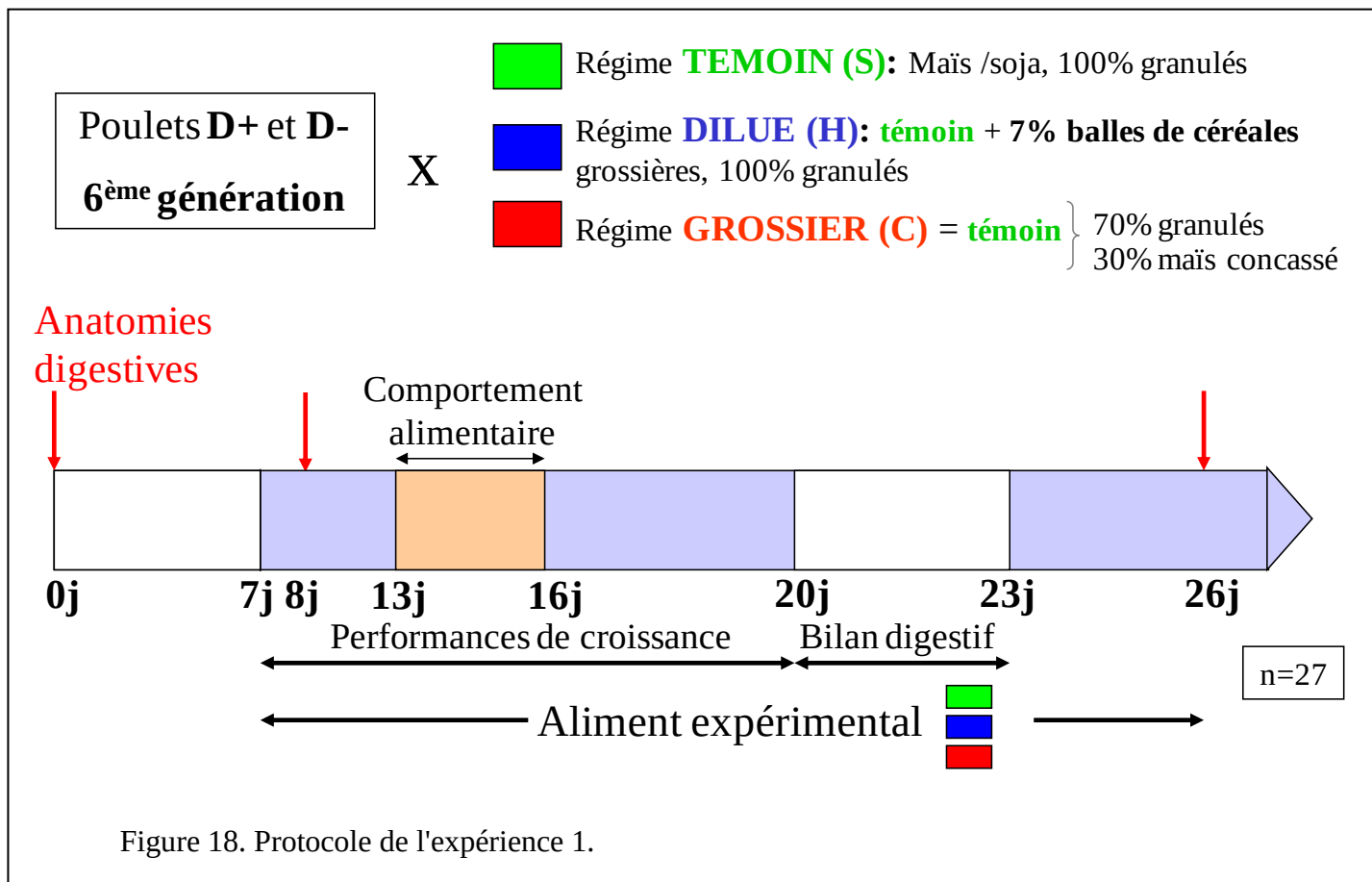
Tableau 14. Comparaison des valeurs d'EMAn d'un régime à base de blé Rialto ou de maïs chez des poulets âgés de 3 semaines, appartenant aux lignées D⁺ et D⁻ (D'après Carré *et al.*, 2008a).

4.3.5. Liens entre paramètres digestifs et paramètres anatomiques

Péron *et al.* (2006) ont observé des corrélations entre poids relatifs d'organes digestifs et paramètres de digestion individuels chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ et D⁻ ; ils ont déterminé des corrélations positives entre le poids relatif du gésier et la digestibilité de l'amidon, ce qui peut s'expliquer du fait d'un broyage plus intense des particules dans un gésier bien développé, comme précédemment développé au paragraphe « III 2. ».

Ils ont également déterminé des corrélations négatives entre le poids de l'iléon et les paramètres de digestion (EMAn, digestibilité des constituants alimentaires). Du fait de la relation inverse entre le poids du gésier et de l'intestin grêle, et de l'implication du poids du gésier dans les digestibilités des nutriments (voir précédemment), la réduction de la taille de l'intestin grêle serait associée à une amélioration des digestibilités et de l'EMAn du régime. La taille du gésier pourrait donc expliquer une part des différences d'efficacité digestive entre les D⁺ et les D⁻. Par contre, un intestin grêle plus petit serait une conséquence de cette efficacité. D'ailleurs, le rapport de poids (gésier/intestin grêle) est positivement associé à l'EMAn du régime (Garcia *et al.*, 2007). L'augmentation de ce rapport est associée à l'augmentation des valeurs individuelles de l'EMAn (Garcia *et al.*, 2007).

Partie II. Matériels et Méthodes



A. LES PROTOCOLES EXPERIMENTAUX

1. Les schémas expérimentaux

1.1. Expérience 1: Effets de la granulométrie des régimes sur les paramètres de digestion des poulets D⁺ et D⁻. (Figure 18)

L'expérience a été réalisée du jour J1 au jour J27 sur des poulets appartenant aux lignées D⁺ (bons digesteurs) et D⁻ (mauvais digesteurs), sélectionnées depuis 6 générations sur l'aptitude à la digestion, estimée par la valeur de l'EMAn à trois semaines d'âge avec un aliment blé (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). Dans cette expérience, deux types de granulométrie ont été testés, par comparaison avec un régime témoin granulé (régime TEMOIN « S ») : dans un cas, des balles de céréales ont été ajoutées aux granulés, créant un effet de dilution (régime DILUE « H »), et dans un autre cas, du maïs concassé a été présenté hors des granulés (régime GROSSIER « C »). Chacun des 6 traitements (2 lignées x 3 régimes) comportait 27 répétitions (une répétition = 1 individu). Les performances de croissance ont été mesurées de J7 à J20, et un bilan digestif a été réalisé de J20 à J23, pour mesurer l'EMAn et les digestibilités de l'amidon, des protéines et des lipides. De J13 à J16, la consommation alimentaire a été suivie sur poussins des lignées D⁺ et D⁻, nourris avec les régimes S et H (18 animaux / traitement). Les mesures ont débuté après une journée d'adaptation des animaux à la présence humaine dans les cellules expérimentales: toutes les demi-heures pendant 9h, les mangeoires individuelles des animaux choisis ont été pesées. Chaque cage a été pesée pendant deux jours de répétition (jours 13 et 15, ou jours 14 et 16).

De plus, aux jours 1, 8 et 26, des poulets ont été aléatoirement choisis pour effectuer des mesures anatomiques : poids du proventricule, du gésier, et de l'intestin grêle (duodénum, jéjunum et ileum). À J26, des prélèvements de tissus et de contenus intestinaux ont été effectués : section de duodénum, de jéjunum proximal et d'iléum proximal, pancréas entier, et contenus du gésier, du jéjunum supérieur, et de l'iléum proximal pour des analyses ultérieures.

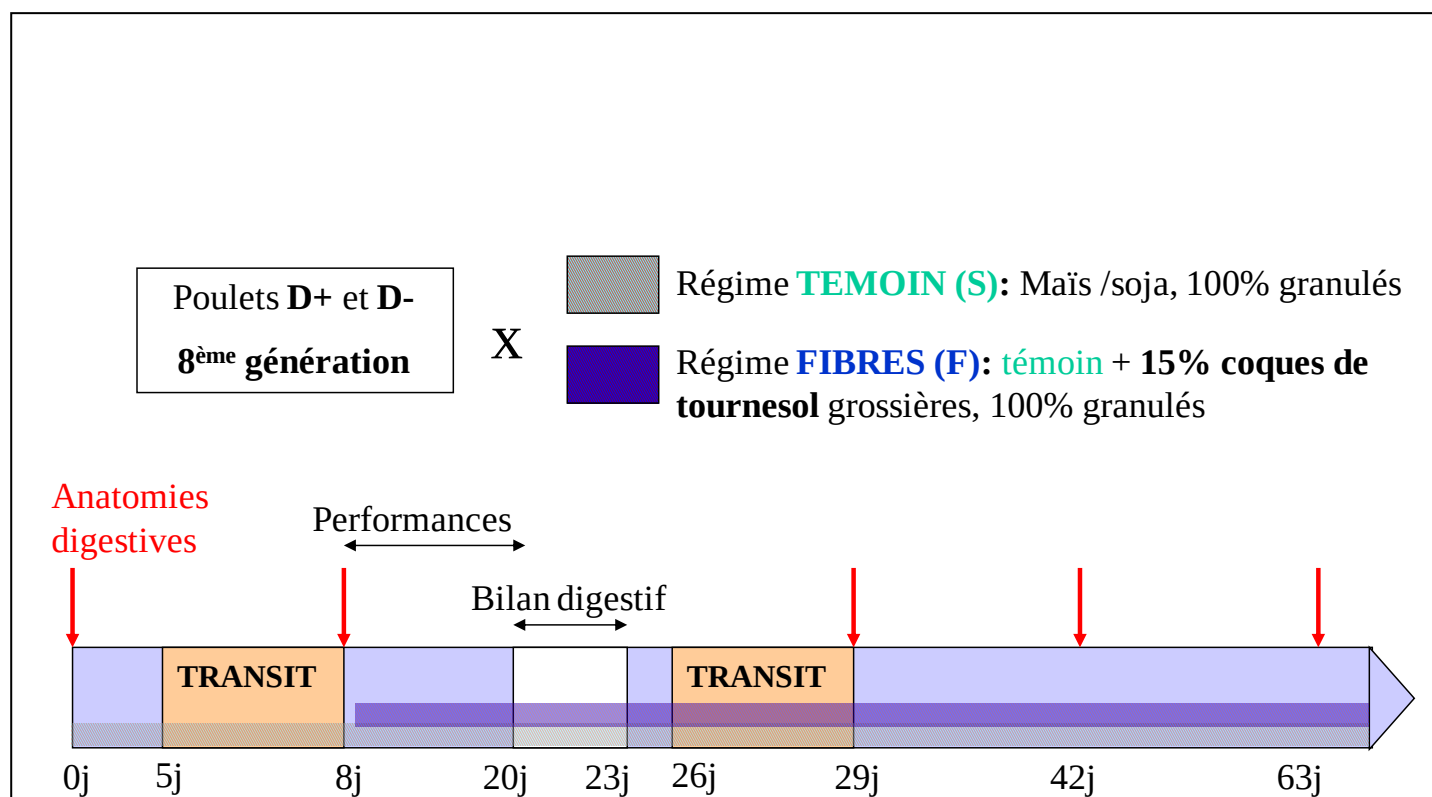


Figure 19. Protocole de l'expérience 2.

1.2. Expérience 2: Effets d'une forte incorporation de coques de tournesol sur les paramètres digestifs des poulets D⁺ et D⁻. (Figure 19)

L'expérience s'est déroulée de l'éclosion à 63 jours, avec des poulets D⁺ et D⁻ de 8^{ème} génération de sélection (n= 150 par lignée à l'éclosion). A partir de 9 jours, les animaux ont été nourris avec l'un des deux régimes expérimentaux : soit le régime témoin à base de maïs/soja (régime TEMOIN « S »), soit le régime FIBRES « F », constitué du régime témoin dilué par 15% de coques de tournesol grossières. Les deux régimes étaient présentés en granulés. Plusieurs types de mesures ont été effectués au cours de l'essai. Le poids vif des poulets a été suivi de l'éclosion à J63, avec des pesées hebdomadaires sur certains des animaux. Les performances de croissance ont été suivies sur 30 animaux par traitement, de J9 à J20, et un bilan digestif par collecte totale avec périodes de jeun a été réalisé de J20 à J23 sur ces mêmes animaux. Des dissections anatomiques ont été effectuées à J0, J9, J29, J42 et J63, pour tester l'effet du génotype et de l'aliment sur le poids des organes digestifs, et pour suivre l'évolution du poids des organes digestifs avec l'âge. Deux études de transit digestif ont été menées, la première sur des animaux de 9 jours, et la seconde sur des animaux de 29 jours. Ces animaux ont été nourris *ad libitum* pendant 3 jours avec un régime doublement marqué, contenant 5% de TiO₂, et 1% de coques de tournesol mordancées au chrome. Les animaux ayant alors atteint un état d'équilibre, ont été sacrifiés, et les contenus des compartiments digestifs prélevés. Le dosage des marqueurs dans ces contenus lyophilisés a permis de calculer les temps de rétention moyens du digesta dans les différents organes digestifs. L'utilisation de 2 marqueurs de tailles différentes a permis de suivre le comportement de « fractions » de 2 types de tailles particulières : les particules très fines avec le TiO₂, et les particules plus grossières avec les coques mordancées.

Diagramme illustrant la pose de jauges de contraintes sur le gésier (3 poulets) et le cycle d'enregistrement sur 65 jours.

Le cycle est divisé en quatre périodes d'enregistrement (Enregistrements**) et des périodes de repos (repos).

Périodes d'enregistrement (Enregistrements):**

- Période 1: 28j à 36j (Jauges n°1, n°2, n°3)
- Période 2: 40j à 48j (Jauges n°4, n°5, n°6)
- Période 3: 54j à 62j (Jauges n°7, n°8, n°9)
- Période 4: 61j à 69j (Jauges n°10, n°11, n°12)

Périodes de repos (repos):

- Période 1: 36j à 40j
- Période 2: 48j à 54j
- Période 3: 62j à 66j

Le cycle commence à 0j et se termine à 65j.

Flèches roses indiquant la pose des jauges de contraintes sur le gésier (3 poulets) au début de chaque période d'enregistrement.

Flèches noires indiquant la mesure des jauges de contraintes à chaque jour d'enregistrement.

1.3. Expérience 3: Comparaison de la motricité du gésier des poulets D⁺ et D⁻.

L'expérience 3 (Figure 20) est présentée en détails dans la partie « résultats » de la thèse. En résumé, le dispositif expérimental de cette expérience comprenait 40 poulets (20 de chaque lignée) de 9^{ème} génération de sélection. Les animaux ont tous été nourris avec le même régime ; de 0 à 28j, ils ont reçu un aliment démarrage standard (EMAn: 3100 Kcal/kg, 22% MAT), puis à partir de 28j, un aliment croissance à base de maïs/soja. 12 poulets ont été choisis pour les mesures de motricité gastrique. Quatre séries d'opérations ont été réalisées, avec opération de 3 poulets par série. Après chaque opération, les poulets ont été mis au repos pendant 3 à 5 jours, puis les enregistrements ont été conduits pendant 3 jours, avec un jour de mesure par poulet, selon le schéma suivant : 6h d'enregistrement sur le poulet à jeun (jeûne de 18h), puis repas court (30 g, 15 minutes), puis 6h d'enregistrement sur l'animal nourri. Ensuite, un test fonctionnel a été effectué, avec une injection de 500µg de sérotonine (5-Hydroxyptamine ou 5-HT), et l'enregistrement en continu pendant 30 minutes supplémentaires. A la fin des enregistrements, les poulets ont été euthanasiés, et les jauges récupérées. Après stérilisation, elles ont été suturées sur les poulets de la série d'opération suivante. À la fin de l'expérience, tous les poulets restant ont été euthanasiés, et les organes digestifs pesés.

2. Animaux

Les animaux utilisés au cours des expériences sont tous des poulets de chair appartenant aux lignées digestives D⁺ et D⁻. Les lignées n'ont pas été conservées avant la 9^{ème} génération. Ainsi, au fil des expériences, les lignées n'étaient pas de la même génération. Nous avons utilisé des poulets D⁺ et D⁻ des générations disponibles au moment de chacune des trois expérimentations.

Au cours de la première expérience, les poulets utilisés appartenaient à la 6^{ème} génération de sélection, tandis que lors de la seconde expérience, les poulets provenaient de la 8^{ème} génération de sélection, avec un écart de 40% d'EMAn avec le régime de sélection. Enfin, pour l'expérience 3, les poulets appartenaient à la 9^{ème} génération.

3. Locaux expérimentaux

Les expérimentations ont toutes été réalisées dans les bâtiments de l'unité expérimentale de recherches avicoles de l'INRA de Nouzilly.

3.1. Cages et sol

Deux types de cellules ont été utilisés; les cages individuelles et les parquets (élevage au sol). Toutes les cellules sont ventilées, et possèdent un système de contrôle de la température et de l'éclairage.

- Cages individuelles- cellule à bilan: pour les expériences 1, 2 et 3, les animaux ont été placés en cages dès l'éclosion. Pendant la première semaine, les poussins ont été placés par 3 ou 4 dans une même cage, pour respecter leur instinct grégaire. Puis, ils ont été répartis au hasard à raison d'un poussin par cage. La dimension des cages était de 30 (l) x 30 (L) x 36 (H) cm. Les cellules utilisées contenaient 48 cages, réparties sur 3 étages d'une batterie. Elles étaient équipées de mangeoires et d'abreuvoirs individuels. La consommation alimentaire pouvait donc être suivie individuellement au cours des essais. Des plateaux de collecte individuels amovibles ont été placés sous les cages pour récolter les excréta lors des périodes de bilan digestifs (expériences 1 et 2).

- Dans l'expérience 2, à partir de 49 jours, les poulets ont été transférés au sol en groupe, puisque la taille des cages n'était plus adaptée à la taille des animaux. Le sol était constitué de copeaux de bois.

Pour l'étude préalable de l'expérience 3, les poussins ont été placés au sol jusqu'à 3 semaines puis transférés en cage individuelle. Dans l'expérience 3, les poussins ont été placés dès l'éclosion en cages individuelles, pour habituer les animaux, et pour des raisons pratiques. En effet, après les opérations, les poussins opérés ont dû être isolés des autres poussins, pour éviter les picages au niveau des sutures chirurgicales.

3.2. Éclairage

Dans les expériences 1 et 2, la durée d'éclairage des cellules était de 23 h, avec une heure d'obscurité entre minuit et 1h du matin. Dans l'expérience 2, de J8 à J16, pour l'étude de comportement alimentaire, l'éclairage a été modifié de façon à synchroniser les poulets, et contrôler le moment du début d'alimentation. Il y a eu 21h de lumière, et 3h d'obscurité entre 5 et 8h.

Dans l'expérience 3, l'éclairage était continu, de 0 à 63J, pour permettre un enregistrement continu lors des études de motricité de gésier, sans biais du à l'arrêt de consommation alimentaire associée à l'extinction de lumière.

3.3. Température

La température a été contrôlée et fixée, en fonction de l'âge des poussins, à une température limitant les dépenses de thermorégulation. Le programme de température utilisé lors des 3 expériences était: 34°C à l'éclosion (J0), puis 32°C à J1 et J2, 30°C de J3 à J8, 29°C de J9 à J12, 28°C à J13, 27°C à J14, 26°C à J15, 25°C à J16, et enfin 24°C de J17 à la fin des expériences.

4. Alimentation

Au cours des 3 expériences, les animaux ont été nourris avec des régimes à base de maïs et soja. Ce choix de céréale limite les écarts d'EMAn entre lignées par rapport à un régime à base de blé. Les animaux étaient nourris *ad libitum* pour l'eau et les aliments, sauf pendant les périodes de jeûne. Le premier jour, les poussins ont été habitués à l'usage des

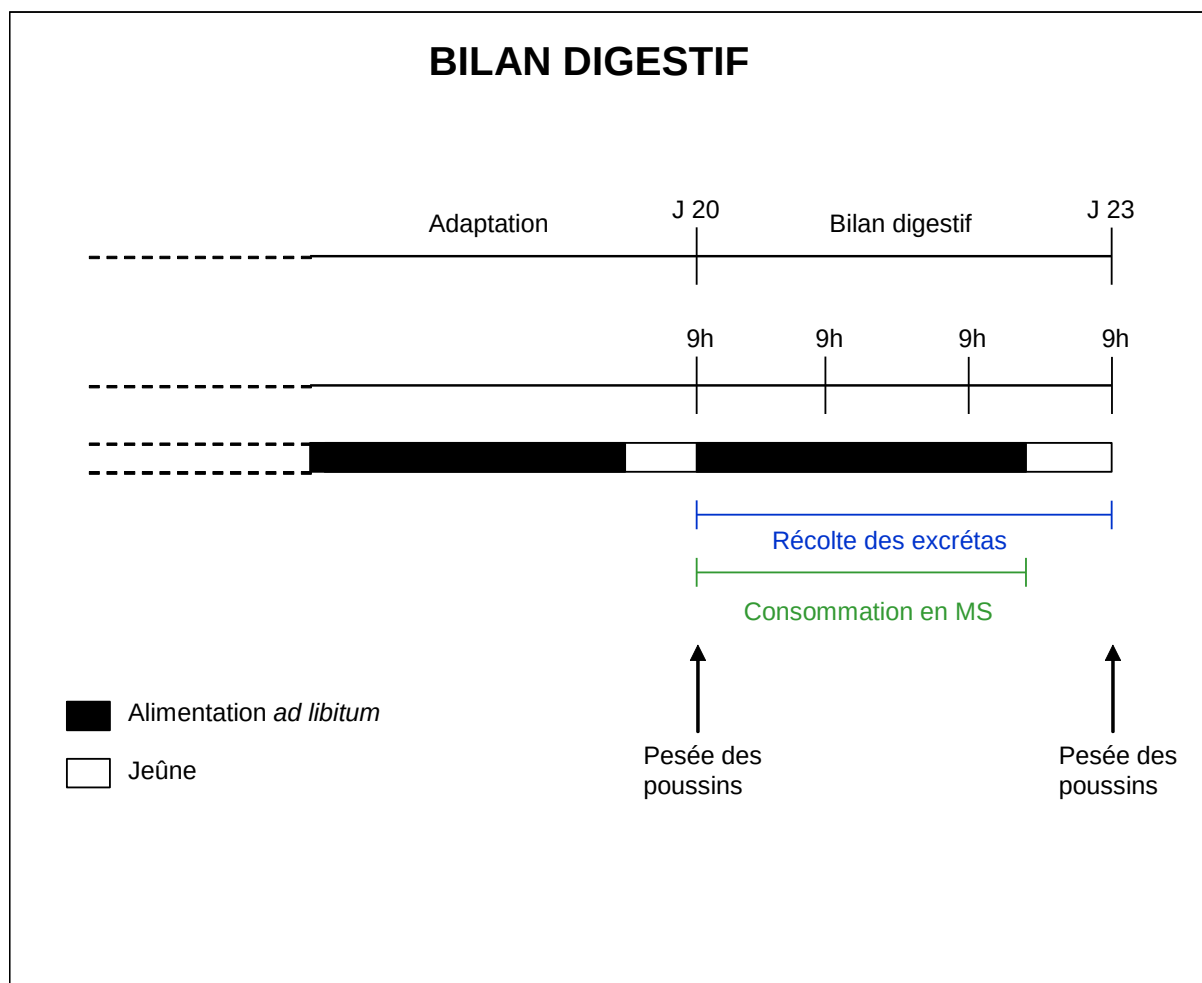


Figure 21. Schéma du bilan digestif.

abreuvoirs automatiques et à l'accès à la mangeoire.

De 0 à 7 jours (expériences 1 et 3), ou de 0 à 9 jours, les animaux étaient nourris avec un régime granulé démarrage classique pour poulet de chair (EMAn: 3100 Kcal/kg, 22% MAT). Ensuite, les régimes expérimentaux ont été introduits. Ceux-ci étaient présentés sous forme de granulés, sauf pour un régime dans l'expérience 1, qui était constitué d'un pré-mélange granulé et de maïs concassé mélangé avec ces granulés. Le but de cette expérience était de tester plusieurs granulométries grossières; il n'aurait pas été possible d'incorporer des particules de taille si importante de maïs dans les granulés puisque ceux-ci se seraient cassés. Dans l'expérimentation 2, nous avons choisi d'incorporer des balles de céréales dans les granulés, pour limiter les choix et tris particuliers. Les compositions précises des aliments expérimentaux sont présentées dans les publications.

5. Période de Bilan - Méthode de bilan digestif avec période de jeûne

La méthode de bilan par collecte totale des excréta a été employée pour déterminer la digestibilité des constituants alimentaires.

Les bilans digestifs (expériences 1 et 2) ont été réalisés entre les jours J20 et J23, c'est-à-dire après 10 à 15 jours d'adaptation des poulets aux régimes expérimentaux. Pendant ces trois jours, la consommation totale de chaque individu a été mesurée. Les excréta ont également été récoltés individuellement sur cette période, puis lyophilisés, pesés et broyés à 0,5mm. Les excréta ont été ensuite conservés à +4°C jusqu'aux analyses. En début et en fin de bilan, les poussins ont été mis à jeun pendant 12h (la durée du transit total étant considérée comme inférieure à 12h chez le poulet), pour récupérer entièrement la fraction non digérée correspondant à l'ingéré mesuré (Figure 21).

6. Dissections anatomiques

Dans l'expérience 1, les dissections anatomiques ont eu lieu à 1j, 8j et 26j ; dans l'expérience 2, elles ont eu lieu à l'éclosion, 9j, 29j, 42j et 63j. Enfin, dans l'expérience 3, elles ont eu lieu à la suite des mesures sur poulets, de J33 à J63, avec seulement un poulet par jour, et en fin d'expérience, à 64 et 65 jours. À l'éclosion, seuls le proventricule, le gésier, et

l'intestin grêle ont été prélevés. À partir de 8j, l'intestin grêle a été séparé en 3 segments (duodénum, jéjunum et iléon). Le pancréas a été isolé dès J29.

Dans l'expérience 1, les poulets ont été euthanasiés avec une période de jeûne (3h) préalable. Dans les expériences 2 et 3, les poulets n'ont pas été mis à jeun au préalable, pour pouvoir récupérer les contenus digestifs et ils ont été euthanasiés par injection d'un excès de pentobarbital (1.5ml / kg poids vif, Sanofi, Marne la Coquette, France) dans le cœur.

Les contenus digestifs ont été collectés à J26 dans l'expérience 1 après un jeûne court (3h) pour mesurer le pH et pour des analyses d'activités enzymatiques dans les contenus de gésier et d'intestin grêle. Les contenus de tous les organes digestifs (du jabot au cloaque) ont été collectés à J9 et J29 dans l'expérience 2 pour le dosage des marqueurs de transit digestif. Les contenus prélevés dans l'expérience 2 ont été lyophilisés puis broyés pour une meilleure homogénéisation.

7. Comportement alimentaire/ repas test

Lors de la première expérimentation, une étude de comportement alimentaire a été effectuée. Dès que la lumière s'allumait (à 8h du matin), et ce pendant 9h, les mangeoires des poulets étudiés ont été pesées toutes les demi-heures, pour mesurer la cinétique de consommation alimentaire au cours de la journée.

Lors de l'étude préliminaire de la 3^{ème} expérimentation, un test de repas a été effectué. Le but était de connaître la quantité d'aliments pouvant être consommée lors d'un repas court, après une période de jeûne de 16h. Au cours des enregistrements de motricité du gésier, les poulets ont reçu un repas après une période de jeûne afin de faciliter l'ingestion du repas entier proposé. En effet, pour interpréter les signaux enregistrés avec les jauges de contrainte, sans tenir compte de l'effet consommation, les poulets des deux lignées devaient tous recevoir la même quantité d'aliment (repas iso-énergétique).

8. Étude du transit digestif

Il existe plusieurs méthodes de suivi du transit digestif (voir partie bibliographique). Les deux principales méthodes reposent soit sur l'administration d'un marqueur en dose unique, associé à un suivi de l'excrétion du marqueur dans les excréta au cours du temps, soit

en administrant un marqueur en continu, et en dosant les marqueurs dans les contenus digestifs (calcul des temps de rétention moyens).

La méthode de temps de rétention moyens a été retenue dans l'expérience 2. Elle a permis de suivre le comportement des digesta tout au long du tractus digestif.

Nous avons choisi un double marquage de l'aliment à l'aide du TiO_2 (5%), et des coques de tournesol mordancées au chrome (1%). Cette technique a permis de suivre le transit des particules très fines avec le premier marqueur et des particules plus grossières ($>2\text{mm}$) avec le second.

La figure 22 résume le protocole d'étude du transit utilisé dans l'expérience 2. Les aliments marqués ont été distribués après une période de jeûne d'environ 18h, pour éliminer tout résidu d'aliment non marqué. Les aliments ont été distribués *ad libitum* pendant 3 à 5 jours, jusqu'à ce que le rythme de digestion des poulets ait atteint un état d'équilibre, c'est-à-dire que les quantités de marqueurs excrétées et consommées soient constantes.

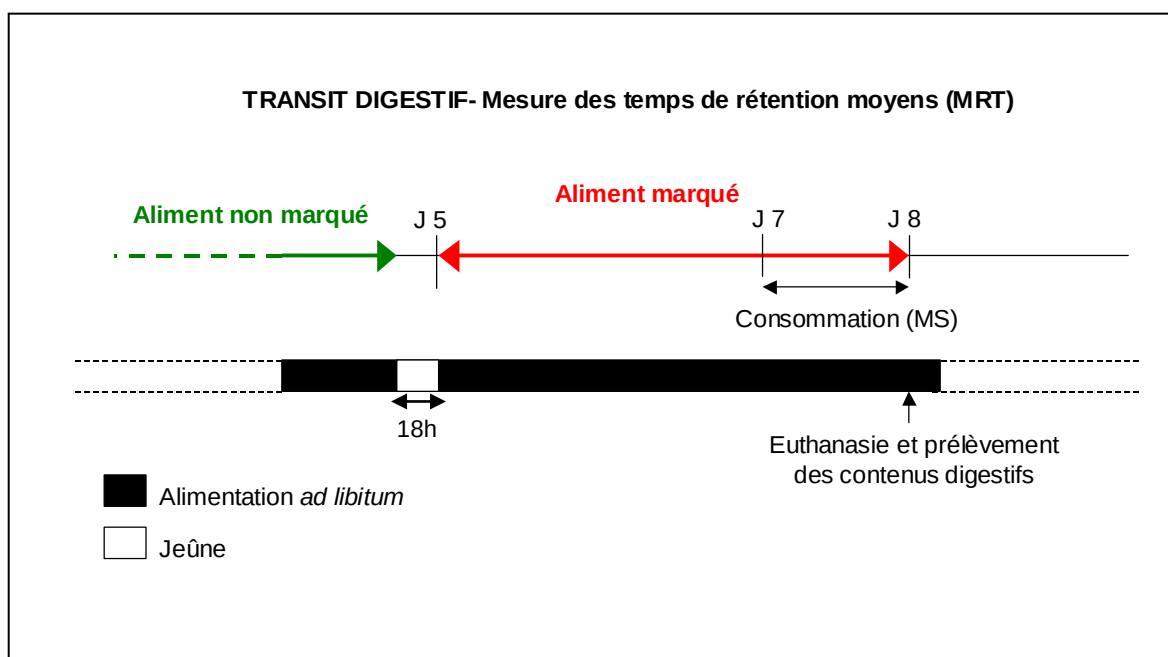


Figure 22. Schéma du protocole de suivi du transit digestif à 9j. Pour l'étude à 29j, même schéma, mais en commençant à J26 au lieu de J5.

B. LES METHODES D'ANALYSES

1. Énergie Métabolisable

Les poulets utilisés dans les expériences étant en période de croissance, nous avons utilisé la formule de l'Énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) comme valeur d'énergie métabolisable.

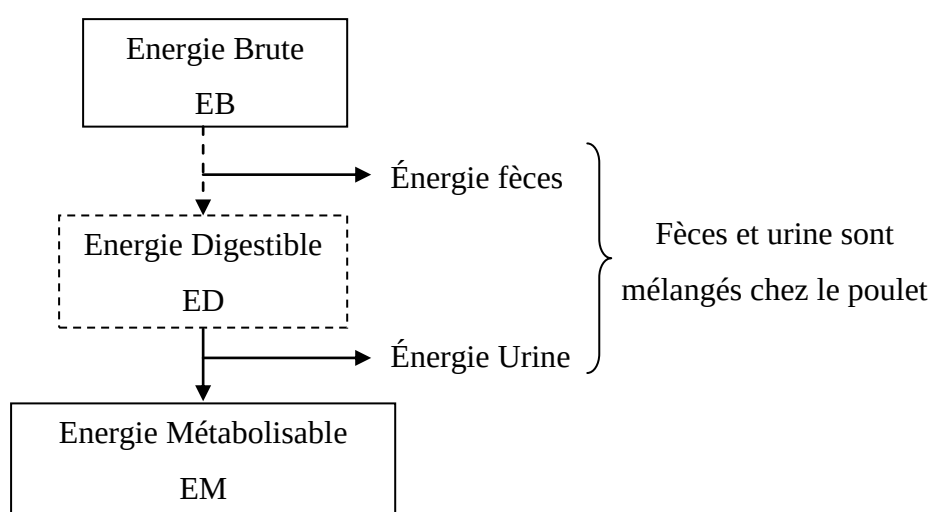


Figure 23. Représentation schématique du calcul de l'énergie métabolisable.

L'énergie brute des aliments et des fèces est mesurée à l'aide d'un calorimètre isopéribole (Kalorimeter C700 Prozessor, IKA). Chez les monogastriques en général, l'énergie digestible est obtenue par différence entre l'énergie brute et l'énergie excrétée dans les fèces. Cependant, chez le poulet, l'urine et les fèces sont mélangés, ce qui ne permet pas une mesure directe de l'énergie digestible. C'est donc l'énergie métabolisable apparente (EMA) (1) qu'il est plus facile de mesurer. Elle correspond à l'énergie brute ingérée de laquelle il est retranché l'énergie brute contenue dans les fèces, les urines et les gaz (Figure 23). C'est en fait l'énergie disponible pour les besoins métaboliques de l'animal, c'est-à-dire les besoins d'entretien et de production. L'EMA est mesurée *in vivo* par la méthode du bilan digestif, décrite auparavant.

Par ailleurs, les poulets utilisés dans nos expériences étant en période de croissance, il est nécessaire de tenir compte de la rétention azotée due aux synthèses tissulaires. Ainsi, l'EMA est corrigée pour un bilan azoté nul, permettant de connaître l'EMAn. La correction

repose sur le gain de poids (Δp , en g) en considérant que 20% de celui-ci proviennent des protéines. Or, ces protéines contiennent 16% d'azote et chaque gramme d'azote sous forme d'acide urique fournit 8.22Kcal (Hill et Handerson, 1958). D'où la formule de calcul de l'EMAn (2).

$$(1) \text{ EMA (Kcal/kg)} = (Q_a * E_{Ba} - Q_e * E_{Be}) / Q_a$$

$$(2) \text{ EMAn (Kcal/Kg)} = [Q_a * E_{Ba} - ((Q_e * E_{Be}) + \Delta p * 0.2 * (8.22 * 0.16))] / Q_a$$

Avec Q_a = quantité d'aliment ingérée (kg matière sèche - MS)

Q_e = quantité d'excrétas lyophilisés (Kg MS)

E_{Ba} = énergie brute de l'aliment (Kcal/kg MS)

E_{Be} =énergie brute des excréta (Kcal/kg MS)

L'énergie brute des aliments et des excréta a été déterminée par calorimétrie (Kalorimeter C700 Prozessor, IKA).

2. Mesure de la matière sèche

La mesure de la teneur en matière sèche des aliments, matières premières et autres échantillons, a été déterminée par une adaptation de la norme AFNOR V18-109 (1982).

3. Dosage des parois végétales insolubles dans l'eau

Les parois hydro insolubles sont dosées dans les aliments selon la méthode AFNOR XP V 18-111. Elles ne sont pas dégradables par les enzymes digestives du poulet. Les parois hydro insolubles sont principalement constituées de lignine, de cellulose, d'hémicellulose et de pectine hydro-insolubles, et de protéines constitutives des parois.

Dans un premier temps, l'amidon contenu dans les échantillons est solubilisé dans 5ml d'eau et 1.5ml de tampon acétate, puis dégradé par attaque enzymatique avec une α -amylase thermostable, à 95°C pendant 10 minutes.

Ensuite, les protéines sont solubilisées pendant une heure par un détergent (le dodécylsulfate de sodium - SDS) et dégradées par une protéase (40°C, pH=7.5). Le SDS sert aussi de détergent pour les lipides. Les échantillons sont alors lavés par des traitements

successifs à l'eau, au méthanol, et au mélange méthanol/ chloroforme, pour éliminer les produits des précédentes solubilisations ainsi que les lipides. Le résidu est séché une heure à l'étuve à 103°C, puis pesé après un refroidissement d'une heure au dessiccateur. Après séchage, le résidu insoluble est incinéré pendant une heure à 500°C et pesé après passage au dessiccateur. La quantité de parois hydro insoluble correspond à la différence entre les masses obtenues après séchage et après incinération.

4. Calcul de la digestibilité apparente

La digestibilité d'un constituant alimentaire peut être définie comme la proportion qui n'est pas excrétée dans les fèces et qui est donc supposée être absorbée par l'animal. La digestibilité d'un constituant « X » se calcule de la façon suivante :

$$\text{digestibilité X} = \frac{X_a * Q_a - X_e * Q_e}{X_a * Q_a}$$

Avec X_a : pourcentage de X présent dans l'aliment (%)

X_e : pourcentage de X présent dans les fèces (%)

Q_a : quantité d'aliment ingérée (g MS)

Q_e : quantité d'excrétas (g lyophilisés)

La digestibilité est calculée pour l'amidon, les protéines et les lipides.

5. Dosage de l'amidon

L'amidon est déterminé dans les aliments (70 mg) ou dans les excrétas (500mg) par la méthode Amyloglucosidase/DMSO/G6PDH (méthode Boehringer Mannheim, 1980). Il s'agit d'une méthode enzymatique. L'amidon est hydrolysé par l'amyloglucosidase après solubilisation au diméthylsulfoxyde (DMSO, 95%) à chaud. Le glucose formé est dosé à l'aide d'un kit de dosage du glucose (méthode Boehringer Mannheim, 1980).

6. Dosage de l'azote total (méthode Kjeldhal)

L'azote total est mesuré dans les aliments et dans les fèces par titrimétrie selon la méthode Kjeldahl (norme AFNOR V18-100, 1977). Dans les fèces, l'azote total regroupe l'azote protéique et l'azote non protéique (azote urique, forme majoritaire de l'azote présent dans l'urine).

7. Dosage de l'acide urique

L'azote urique dans les fèces est déterminé par spectrophotométrie par la méthode de Marquardt (1983), le principe étant que l'absorbance dans l'UV d'un extrait d'excréta de poulet dans l'acide perchlorique est due à l'acide urique. Ce dernier, insoluble dans l'eau, est extrait par un tampon glycine 0.1M à pH=9.3. Les protéines sont précipitées par une solution d'acide perchlorique (PCA) et éliminées par centrifugation. La densité optique à 285 nm du surnageant est mesurée, et la quantité d'acide urique est calculée à partir d'une gamme de référence.

8. Dosage des lipides

Les lipides contenus dans les aliments et dans les excréta sont déterminés par extraction à l'éther de pétrole selon la méthode AFNOR V18-104, selon le procédé B (AFNOR, 1985), c'est-à-dire avec une première étape d'hydrolyse à chaud des échantillons dans de l'acide chlorhydrique à chaud.

9. Granulométrie

Nous avons déterminé la granulométrie des aliments par tamisages sec et humide.

9.1. Tamisage sec

Une quantité d'aliment (100g) est déposée sur une colonne de tamis couplée à une plaque vibrante (Retsch AS-200). Pour le tamisage du maïs concassé, une colonne de 7 tamis a été utilisée. Les tailles des ouvertures de ce tamis étaient 600µm, 1180µm, 1600µm, 2000µm, 3150µm et 4750µm.

La présentation en granulés des régimes n'a pas permis de réaliser avec grande précision leur tamisage à sec puisque les granulés sont fragiles et passent au travers des mailles indépendamment de leur taille, avec les vibrations.

9.2. Tamisage humide

Ce type de tamisage permet d'accéder à la répartition granulométrique des particules composant les granulés. Une quantité de granulés (équivalent de 10g en MS) est désagrégée par une légère agitation dans 200 ml d'eau pendant 5 minutes. Ensuite, ce contenu est versé lentement en haut d'une colonne de tamis d'ouvertures 3150µm, 2000µm, 1180µm, 850µm, 600µm, 300µm, 150µm et 75µm. Le mélange est tamisé par un jet d'eau de pression constante, pendant 6 minutes (tamiseuse Retsch WS-1, F. Kurt Retsch GmbH & Co. KG, D-Haan, Germany). Les différents tamis sont ensuite récupérés et placés à l'étuve (+103°C) pendant 3h30. Après refroidissement, les contenus des tamis sont transvasés dans des coupelles en aluminium puis pesés. La répartition granulométrique s'exprime par le pourcentage en masse (matière sèche) de matériel récupéré sur chaque tamis.

10. Lyophilisation

Après récolte des excréta (périodes de bilan) ou de contenus digestifs (études de transit, expérience 2), les échantillons ont été immédiatement congelés à -20°C, puis lyophilisés. Les échantillons (ne contenant plus qu'1 à 5% d'eau) sont ensuite laissés 24h à l'air libre pour qu'il y ait équilibre avec l'humidité ambiante. Les échantillons sont alors pesés, puis broyés (à 0.5mm avec le broyeur Retsch pour les excréta ; au broyeur Ika-Werk pour les contenus digestifs) et homogénéisés.

11. Marquage des aliments et dosage des marqueurs (pour l'étude du transit digestif)

11.1. Technique de mordantage des fibres végétales

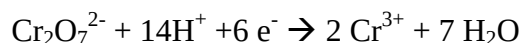
Le mordantage des fibres (coques de tournesol) a été réalisé selon la procédure de Uden *et al.* (1980).

Préparation des fibres à mordancer

Les coques de tournesol ont été tamisées pour éliminer les particules fines, et ne retenir que les particules les plus grossières (>1,6 mm). Ensuite, elles ont été lavées à chaud, avec du sodium lauryl sulfate (SLS) pour enlever l'amidon et les matériels solubles qui pourraient réagir avec le mordant. Elles ont ensuite été rincées avec de l'eau (pour enlever les matériels solubles), puis avec de l'acétone, et ont été séchées à 65°C.

Préparation du mordant Chrome

Il est d'abord nécessaire de préparer une solution de $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dont la quantité de chrome est équivalente à 12-14% du poids des coques à mordancer. Quatre volumes de cette solution sont ajoutés aux coques préparées. Le mélange est ensuite couvert d'une feuille d'aluminium et mis à l'étuve à 100°C pendant 24h. Ensuite, les coques sont rincées avec de l'eau et mises à tremper dans l'eau, pour enlever le bichromate non fixé. Les coques sont alors mises à tremper pendant 1h dans une solution d'acide ascorbique (0,5 x poids des coques), qui permet la réduction du chrome hexavalent en chrome trivalent :



Le chrome trivalent ainsi fixé sur les fibres est insoluble et indigestible. Les coques sont ensuite lavées puis séchées à 65°C.

11.2. Procédure expérimentale

Après une période de jeûne de 8h, l'aliment marqué, présenté sous forme de granulés, est distribué aux animaux, *ad libitum*, pendant 3 jours (expérience 2, de J6 à J9 pour la première étude, et de J26 à J29 pour la seconde). Après cette période, la digestion chez les animaux est en état d'équilibre (Van der Klis *et al.*, 1990), c'est à dire que les taux d'ingestion et d'excrétion de marqueurs sont constants. Les animaux ont ensuite été abattus sans mise à jeun préalable. Les contenus prélevés dans les différents compartiments digestifs ont été lyophilisés, moulus, homogénéisés, puis analysés pour déterminer la concentration en titane et en chrome.

11.3. Dosage des marqueurs dans les excréta et contenus digestifs

Nous avons aussi testé s'il n'y avait pas d'influence de la présence d'un marqueur sur la concentration mesurée pour l'autre, puisque les échantillons contenaient à la fois du chrome et du titane.

11.3.1. Dosage du TiO_2

a. méthode

La méthode utilisée a été adaptée de celle présentée par Short *et al.* (1996). Les échantillons sont lyophilisés et broyés (broyeur IKA-WERK). Une quantité de 0.5g d'échantillon est minéralisée avec une pastille de catalyseur (KJELABS AUTO : 1.5g K_2SO_4 + 7.5mg Se) et 10ml d'acide sulfurique pur pendant 1h30 à 450°C. Après refroidissement, la solution est transférée quantitativement dans une fiole jaugée, complétée à 25ml avec de l'eau distillée (solution E). Pour chaque échantillon, 1.2 ml de la solution correspondante est transférée dans une cuve spectrophotométrique. Ensuite, 0.4ml d'eau distillée et 0.4ml de H_2O_2 sont ajoutés, et après agitation par retournements, la densité optique est lue à 410 nm.

Pour chaque échantillon, un blanc est constitué, en transférant 1.2 ml de solution E et 0.8 ml d'eau distillée dans une cuve spectrophotométrique. La DO est lue à 410 nm. La concentration en TiO_2 des échantillons est déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage. Ainsi, grâce à la droite de régression tracée (Figure 24), il est possible de déterminer la concentration en TiO_2 d'un échantillon, connaissant sa densité optique, selon la formule :

$$[TiO_2]_{ech} = \frac{((DO_e - DO_{blc}) - b)}{a}$$

Avec : $[TiO_2]_{ech}$: concentration en TiO_2 de l'échantillon en $\mu g/mL$

DO_e : densité optique de l'échantillon (410nm)

DO_{blc} : densité optique du blanc (410nm)

a : coefficient directeur de la droite d'étalonnage du spectrophotomètre

b : ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage du spectrophotomètre

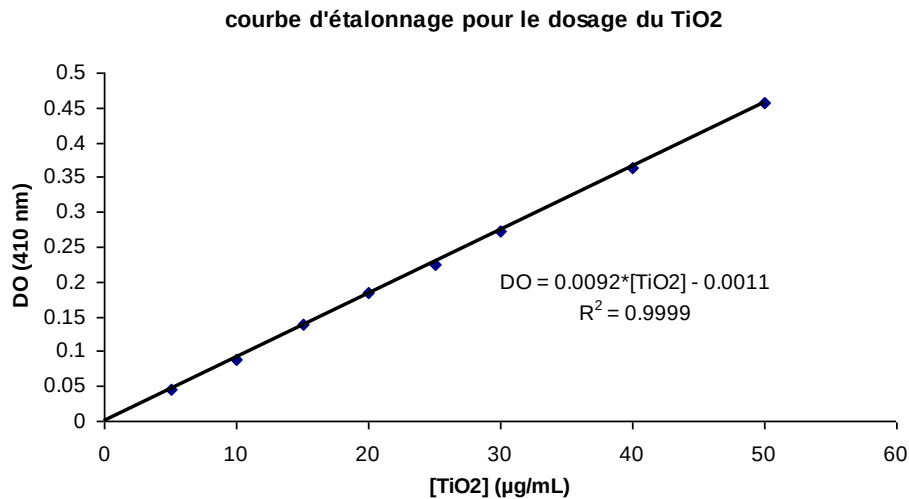


Figure 24. Courbe d'étalonnage pour le dosage du TiO₂.

La masse de TiO₂ contenue dans l'échantillon (masse par gramme d'échantillon) est déduite ainsi:

$$(m\text{TiO}_2)_{\text{lyo}} = \frac{([TiO_2]_{\text{ech}} * 0.001 * (2/1.2) * 25)}{\text{prise d'essai}}$$

avec : (mTiO₂)_{lyo}: masse de TiO₂ en mg, par gramme de contenu lyophilisé

0.001: pour convertir la concentration en mg/mL

(2/1.2): correction de la dilution (puisque 1.2ml de solution E a été introduit dans un volume final de 2ml)

25: volume total de la solution E (mL)

prise d'essai: en g

La quantité de TiO₂ présente dans la totalité du compartiment digestif peut alors être calculée: (mTiO₂)_{cpt} = (mTiO₂)_{lyo} * m contenu

avec : (mTiO₂)_{cpt}: masse de TiO₂ dans le compartiment digestif donné (mg)

m contenu: masse totale de contenu lyophilisé dans le compartiment (g)

b. Influence de la présence de chrome sur la concentration en titane

Nous avons testé l'influence de la présence de Cr_2O_3 dans un échantillon sur la teneur en TiO_2 . Pour cela, nous avons mesuré les densités optiques sur des mélanges constitués d'aliment contenant 0% ou 0.5% de TiO_2 , additionnés de 0%, 0.01%, 0.03% ou 0.1% de Cr_2O_3 , gamme de valeur de Cr_2O_3 pouvant être attendue dans les échantillons de l'expérience 2. Un récapitulatif dans essais est présenté ci-dessous (Tableau 15).

#	TiO2	Cr2O3	Prise (g)	DO Blanc (410nm)	DO Echantillon (410nm)	DO ECH - DO BLC	[TiO2] ($\mu\text{g/ml}$) (solution)	[TiO2] (mg/g aliment)	valeurs attendues
1	0%	0%	0,507	0,0105	0,0132	0,0027	0,41	0,03	0
2	0%	0,01%	0,504	0,0141	0,0177	0,0036	0,51	0,04	0
3	0%	0,01%	0,507	0,0117	0,0154	0,0037	0,52	0,04	0
4	0%	0,03%	0,5	0,0159	0,017	0,0011	0,24	0,02	0
5	0%	0,03%	0,506	0,0129	0,0172	0,0043	0,59	0,05	0
6	0%	0,10%	0,502	0,0112	0,0186	0,0074	0,92	0,08	0
7	0%	0,10%	0,501	0,016	0,0207	0,0047	0,63	0,05	0
8	0,5%	0%	0,501	0,0169	0,6571	0,6402	0,6971	5,8	5
9	0,5%	0,01%	0,506	0,0111	0,4688	0,4577	0,4987	4,2	5
10	0,5%	0,01%	0,503	0,0143	0,6096	0,5953	0,6483	5,3	5
11	0,5%	0,03%	0,503	0,0171	0,5863	0,5692	0,6199	5,1	5
12	0,5%	0,03%	0,5	0,0143	0,5903	0,576	0,6273	5,2	5
13	0,5%	0,10%	0,501	0,0191	0,8519	0,8328	0,9064	7,6	5
14	0,5%	0,10%	0,504	0,0143	0,5364	0,5221	0,5687	4,7	5

Tableau 15. Récapitulatif des essais.

Ces résultats montrent que la présence de chrome n'a pas d'influence sur le dosage du TiO_2 . Les concentrations en TiO_2 obtenues correspondent aux valeurs attendues. La méthode de dosage d'oxyde de titane décrite auparavant peut donc être appliquée sans tenir compte de la présence de chrome.

11.3.2. Dosage du Cr_2O_3

a. Méthode

Le dosage a été adapté de la méthode de Bolin *et al.* (1952), avec des ajustements dus aux faibles quantités des échantillons, et de leur faible teneur en Cr_2O_3 . Une solution oxydante a été préparée en dissolvant 10g de molybdate de sodium dans 150ml d'eau déminéralisée, puis

150ml d'acide sulfurique concentré (lentement, et en refroidissant continuellement), et 200ml d'acide perchlorique (une fois le mélange refroidi). Des quantités de 300mg (contenus digestifs) à 500mg (aliments) d'échantillons ont été pesées, puis minéralisées dans des matras avec 5ml de solution oxydante pendant 10 min à 220°C. Après refroidissement pendant 10 à 15 min, 2ml d'acide perchlorique ont été ajoutés, puis les matras ont été chauffés à 240°C pendant 30 min.

Après 5min de refroidissement, le contenu des matras a été qualitativement transféré dans des petits béchers. Une quantité de 0.5ml de solution minéralisée a été prélevé à l'aide d'une pipette à piston et transférée dans un microfuge. La masse correspondante a été pesée, pour calculer la densité de la solution. Ensuite, 0.5ml d'eau distillée ont été ajoutés dans les microfuges. Après homogénéisation par retournements, les microfuges ont été laissés reposer pendant 1h30, puis centrifugés pendant 5 minutes à 4200g. Le surnageant a ensuite immédiatement été transféré dans des cuves spectro (cuves semi-micro, capacité 2ml environ), et la DO a été lue à 440 nm, contre de l'eau déminéralisée.

b. Calcul des résultats.

$$\% \text{Cr2O3}_{\text{ech}} = 100 * \frac{[\text{Cr2O3}](\mu\text{g/ml}) * \left(\frac{V_{\text{microfuge}}}{0.5} \right) * V_{\text{matra}}}{\text{prise d'essai} * 1000000}$$

avec :

- $[\text{Cr2O3}](\mu\text{g/ml}) = 10000 * \frac{\text{DO}}{21.7}$

avec 21.7: rapport constant (DO/concentration) (cf mise au point de la méthode)

- $V_{\text{microfuge}} = \frac{\text{masse microfuge}}{\text{densité microfuge}} = \frac{0.5 + 0.5 * \text{densité matra}}{\text{densité microfuge}}$

car il a été transféré 0.5ml du matra, d'une densité « densité matra », et 0.5ml d'eau d'une densité de 1.

- $0.5 = 0.5\text{ml}$, volume d'échantillon transféré dans le microfuge

- $V_{\text{matra}} = \frac{\text{masse contenu matra}}{\text{densité matra}} = \frac{P1 - P0}{\text{densité matra}}$

- 1000000 : conversion de la prise d'essai (en g) en μg

c. Mise au point de la méthode de dosage du chrome

Interaction $\text{TiO}_2/\text{Cr}_2\text{O}_3$ et influence de la nature de l'échantillon (milieu non pur en chrome)(tests 1 à 4).

Les échantillons à doser contenant à la fois du Cr_2O_3 et du TiO_2 , nous avons testé si la présence de TiO_2 perturbait le dosage du chrome. Par ailleurs, nous avons comparé les résultats obtenus avec une gamme étalon construite avec du Cr_2O_3 pur, et des gammes construites avec du Cr_2O_3 en présence de différentes matières, pour simuler les conditions réelles de dosage des échantillons. Plusieurs matières ont ainsi été testées : l'aliment non marqué, les matières premières principales de l'aliment (le maïs et le tourteau de soja), et enfin les excréta non marqués. Pour cela, des doses croissantes de Cr_2O_3 ont été ajoutées aux matières testées, avec ou sans présence de TiO_2 , et la densité optique a été mesurée (440nm). Pour chaque matière, 3 courbes ont été tracées : une gamme sans TiO_2 , une gamme avec 1% de TiO_2 (5mg dans 0,5g), et une gamme avec 3% de TiO_2 (15mg dans 0,5g), comme cela est résumé dans le tableau ci-dessous.

Dose de Cr_2O_3 ajoutée à la matière (mg)	Dose de TiO_2 utilisée (mg)		
	0	5	15
0	X	X	X
0,4	X		
0,8	X	X	X
1,2	X		
1,6	X		
2	X	X	X

Tableau 16. Schéma des essais réalisés pour chaque matière.

Chaque croix représente une mesure, avec deux répétitions par mesure. La prise d'essai de matière était de 0,5g pour l'aliment non marqué (A), le maïs concassé (I) et le tourteau de soja (S), et de 0,3g pour l'excréta non marqué (E). Les concentrations en TiO_2 correspondent aux concentrations présentes dans les échantillons de contenus digestifs.

Les courbes obtenues sont présentées sur la figure 25. Les points correspondants aux essais 1% TiO_2 et 3% TiO_2 sont rassemblés avec une seule droite de régression, qui résume ainsi l'influence du TiO_2 .

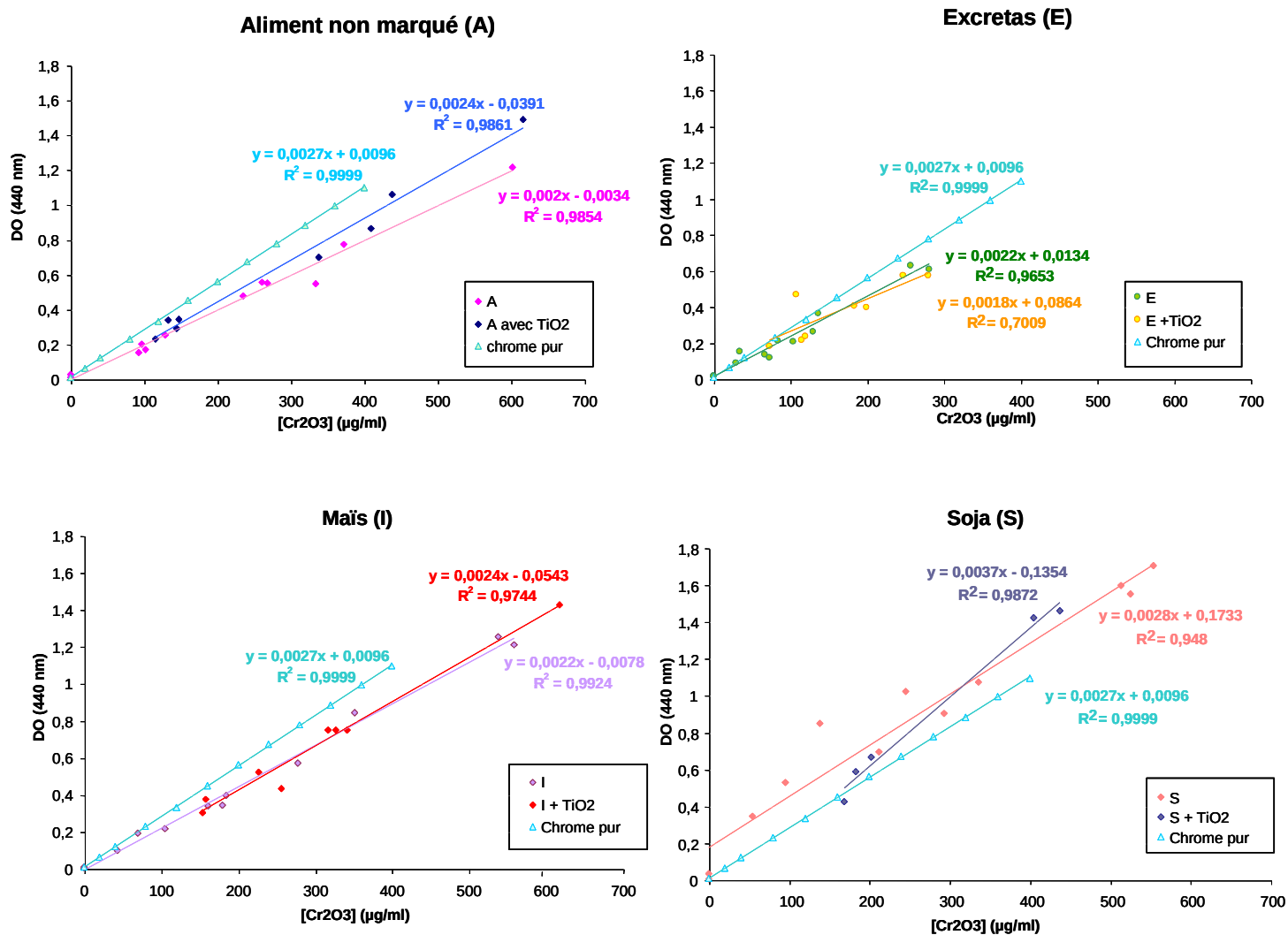


Figure 25. Relation entre la concentration en Cr₂O₃ d'un échantillon et sa densité optique, dans différents milieux (aliment (A), excréta (E), maïs broyé (I) ou tourteau de soja (S)).

Les pentes des droites obtenues avec et sans titane, pour chaque matière, sont semblables (analyse des pentes sur Statview). La présence de titane n'a donc pas d'effet sur la concentration en chrome de l'échantillon lors du dosage. Les échantillons de contenus peuvent donc être dosés sans tenir compte de la présence de titane.

Par rapport aux courbes étalons obtenues avec le chrome pur, les droites de régression obtenues avec les différentes matières sont légèrement différentes (Figure 25). Les pentes sont légèrement plus faibles avec l'aliment, le maïs et l'excréta, et légèrement plus élevées avec le tourteau de soja (analyse des pentes sur Statview). Les DO plus élevées obtenues avec le soja peuvent s'expliquer par la présence de silice (riche en minéraux) qui se dépose dans les microcuvettes lors du passage au spectrophotomètre, et qui peut perturber la valeur de DO (une solution trouble entraîne une valeur de la DO plus élevée). Ainsi, pour le calcul de la concentration en Cr_2O_3 de nos échantillons (expérience 2, contenus digestifs), nous avons choisi de ne pas utiliser la gamme étalon construite avec le chrome pur.

Autres facteurs de variations

Lors du refroidissement des matrasses après l'étape de minéralisation, il y a rapidement formation de gel (dû à l'acide) (10min). Pour empêcher ce phénomène, nous avons testé d'une part la réduction du temps d'attente entre l'arrêt de la minéralisation et le transfert dans les béchers pour la suite du dosage, et d'autre part l'agitation du contenu des béchers après minéralisation.

Le dispositif des essais comprenait donc 2 facteurs (voir schéma ci-dessous, figure 26):

- temps d'attente court (quelques minutes) (série A) ou long (20 minutes)(série B)
- agitation ou non des contenus

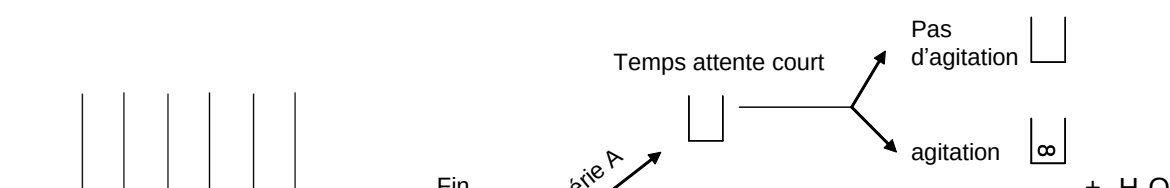


Figure 26. Schéma des essais.

Dans tous les cas (attente longue ou non, agitation ou non), il est apparu que lors de l'ajout d'eau distillée dans l'échantillon minéralisé avant la lecture de la DO, les solutions devenaient troubles, ce qui entraînait des valeurs de DO élevées et non plausibles. De plus, si la lecture n'était pas faite immédiatement, nous observions la formation d'un dépôt (silice) au fond des cuves spectrophotométriques, réduisant l'opacité des solutions, associée à une diminution de la DO. Nous avons alors choisi de suivre la cinétique de DO au cours du temps. Voici les résultats (l'échantillon testé était le soja) :

- Série A : temps d'attente très court entre l'arrêt de minéralisation et le transfert dans les béchers (figure 27)

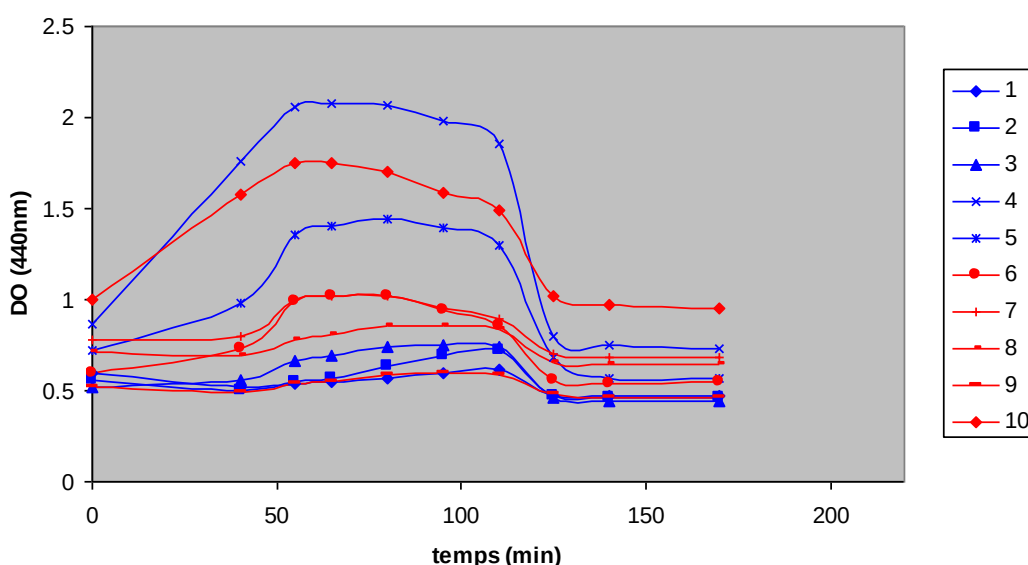


Figure 27. Cinétique d'évolution de la DO au cours du temps, pour la série A (essais de 1 à 5 : avec agitation (5 échantillons par répétition) et de 6 à 10 : sans agitation (5 échantillons par répétition))

Que les contenus soient agités ou non, la DO se stabilise après 2h. La DO est plus variable avec des échantillons non agités par rapport à des échantillons agités.

- Série B : temps d'attente long (20 minutes) entre l'arrêt de minéralisation et le transfert dans les béchers (Figure 28) :

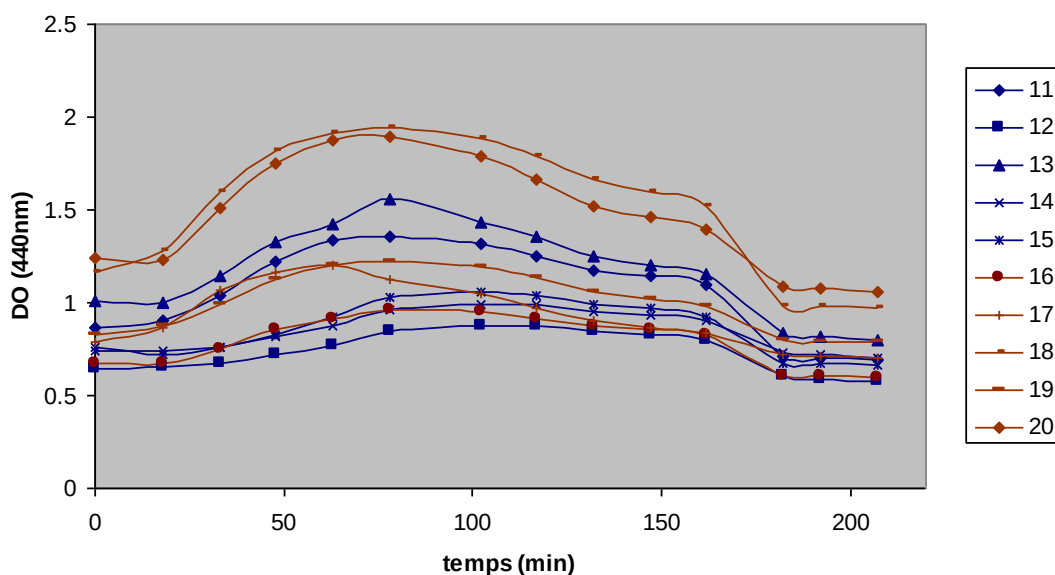


Figure 28. Cinétique d'évolution de la DO au cours du temps, pour la série B.

11 à 15 : avec agitation (5 échantillons par répétition)

16 à 20: sans agitation (5 échantillons par répétition)

Avec ou sans agitation, la DO se stabilise à partir de 3h ou plus. Les valeurs de DO sont cependant plus variables entre les répétitions pour les échantillons sans agitation.

Conclusion. Suite à ces essais, nous avons choisi un temps court après la minéralisation, avant d'ajouter l'eau distillée (série A), sans agitation. Ensuite, après un temps d'attente de 1h30, les solutions ont été centrifugées avant lecture de la DO, pour s'affranchir de la présence de dépôt.

Le tableau 17 regroupe les résultats des essais réalisés. Il ressort que le rapport DO/concentration est peu variable ($DO / [Cr_2O_3] = cte$). Cependant les ratios obtenus pour les gammes de chrome pur sont supérieurs aux ratios obtenus dans les divers essais. Pour les analyses qui ont permis les résultats qui suivent (article 2), nous n'avons pas utilisé de gamme chrome pur pour déterminer la concentration en chrome des échantillons. En revanche, nous avons utilisé un coefficient DO/concentration fixe, égal à la moyenne des ratios calculés dans les différents essais, c'est-à-dire 21.7.

$$D'où : 10000 * \frac{DO}{[Cr_2O_3](\mu g / ml)} = 21.7, \text{ soit } [Cr_2O_3](\mu g/ml) = 10000 * \frac{DO}{21.7}$$

essai	matière	TiO2	temps attente apres minéralisation	agitation contenu matra	moyenne 10000*DO/[Cr2O3](µg/ml)	écart-type	nb echantillons
1	aliment non marqué	non	long	pas d'agitation	19.2	2.05	10
1	aliment non marqué	oui	long	pas d'agitation	22.4	2.11	8
2	excreta	non	long	pas d'agitation	24.5	8.29	10
2	excreta	oui	long	pas d'agitation	24.7	7.95	8
3	maïs	non	long	pas d'agitation	22.1	2.39	10
3	maïs	oui	long	pas d'agitation	21.8	2.44	8
4	soja	non	long	pas d'agitation	40.8	13.73	10
4	soja	oui	long	pas d'agitation	30.0	5.27	6
5	aliment non marqué	non	long	pas d'agitation	27.1	9.62	4
5	chrome pur	non	long	pas d'agitation	21.7	1.95	4
5	excretas	non	long	pas d'agitation	25.0	4.92	4
5	maïs	non	long	pas d'agitation	20.3	3.47	4
5	soja	non	long	pas d'agitation	38.0	7.51	4
6	soja	non	court	agitation	22.4	2.11	9
6	soja	non	court	pas d'agitation	21.7	2.11	10
7	chrome pur	non	court	pas d'agitation	19.0	5.02	4
7	excreta	non	court	pas d'agitation	20.0	5.45	4
7	R1	non	court	pas d'agitation	21.5	2.01	4
7	R2	non	court	pas d'agitation	26.4	7.95	4
7	soja	non	court	pas d'agitation	16.9	3.33	4
8	soja	non	court	agitation	18.5	1.19	5
8	soja	non	court	pas d'agitation	20.1	0.96	5
8	soja	non	long	agitation	20.0	2.58	5
8	soja	non	long	pas d'agitation	21.8	1.05	5
9	soja + aliment marqué	non	court	agitation	28.3	2.22	5
9	soja + aliment marqué	non	court	pas d'agitation	29.4	4.30	5
9	soja + aliment marqué	non	long	agitation	30.4	6.58	5
9	soja + aliment marqué	non	long	pas d'agitation	23.9	6.61	5
10	gamme 0-400µg/ml	non	long	pas d'agitation	28.3	1.10	11
11	gamme 0-200µg/ml	non	long	pas d'agitation	28.9	1.26	6

Tableau 17. Tableau récapitulatif des essais permettant de doser l'oxyde de chrome en présence d'un autre marqueur (l'oxyde de titane).

12. Étude de motricité du gésier

Dans la dernière expérience réalisée au cours de la thèse, nous avons procédé à une étude de la motricité du gésier des poulets D⁺ et D⁻, à l'aide de jauges de contraintes.

12.1. Description du matériel

Les opérations se sont déroulées dans une salle d'opération agréée, équipée d'une table d'opération et d'un dispositif d'anesthésie générale (Hopital-abattoir, PRC, INRA de Nouzilly). Le descriptif de l'opération est présenté dans le chapitre suivant (partie III - expérience 3).

L'anesthésiant utilisé était l'isoflurane (2%) gazeux. Un masque adapté englobant le bec a été placé sur le poulet, avec ou sans intubation (Figure 29).



Figure 29. Anesthésie du poulet avant l'opération.

Les jauges de contrainte (longueur 10mm x largeur 14 mm x épaisseur 1 mm, Vishay Micromesure (France)) et leur fil de liaison, protégés dans du polyéthylène ont été fournies par Mr Charles-Henri Malbert (INRA de Rennes - Saint Gilles).

Le poulet opéré a été placé dans un caisson à oxygène pendant la phase de réveil.

12.2. Enregistrement de la motricité

12.2.1 Appareillage/ principe de fonctionnement des jauges de contraintes

Les jauges de contraintes sont de structure souple, donc déformable. Elles sont suturées sur le gésier. Les déformations de la jauge traduisent les déformations du gésier en variations de résistance électrique. Celles-ci sont trop faibles pour être mesurables directement. Les jauges sont donc insérées dans un montage électrique en pont de Wheatstone (Figure 30). Alimenté par une source de courant et à l'équilibre, le pont présente une tension nulle entre les points B et D. Les résistances R_2 , R_3 et R_4 sont fixes. En revanche, la résistance R_1 est variable. Un mouvement du gésier va se traduire par une modification de la valeur de la résistance R_1 , et par conséquent une modification de la tension E_0 (**MESURES 725** - MAI 2000, pp94-97).

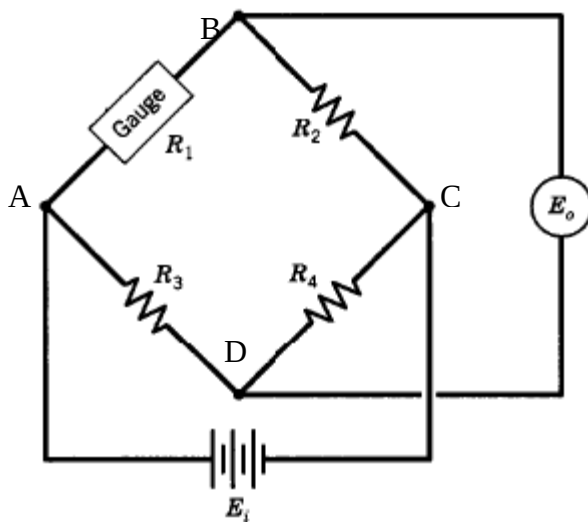


Figure 30. Montage électrique pour une jauge (pont de Wheatstone)

12.2.2 Mesures

Après quelques jours de repos, chaque poulet opéré a été mis en enregistrement pendant environ 24h. Le matin du jour de mesures, les fils des jauges de contrainte étaient connectés à des fils électriques reliés à un transducteur afin de retranscrire le signal (Figure 31).

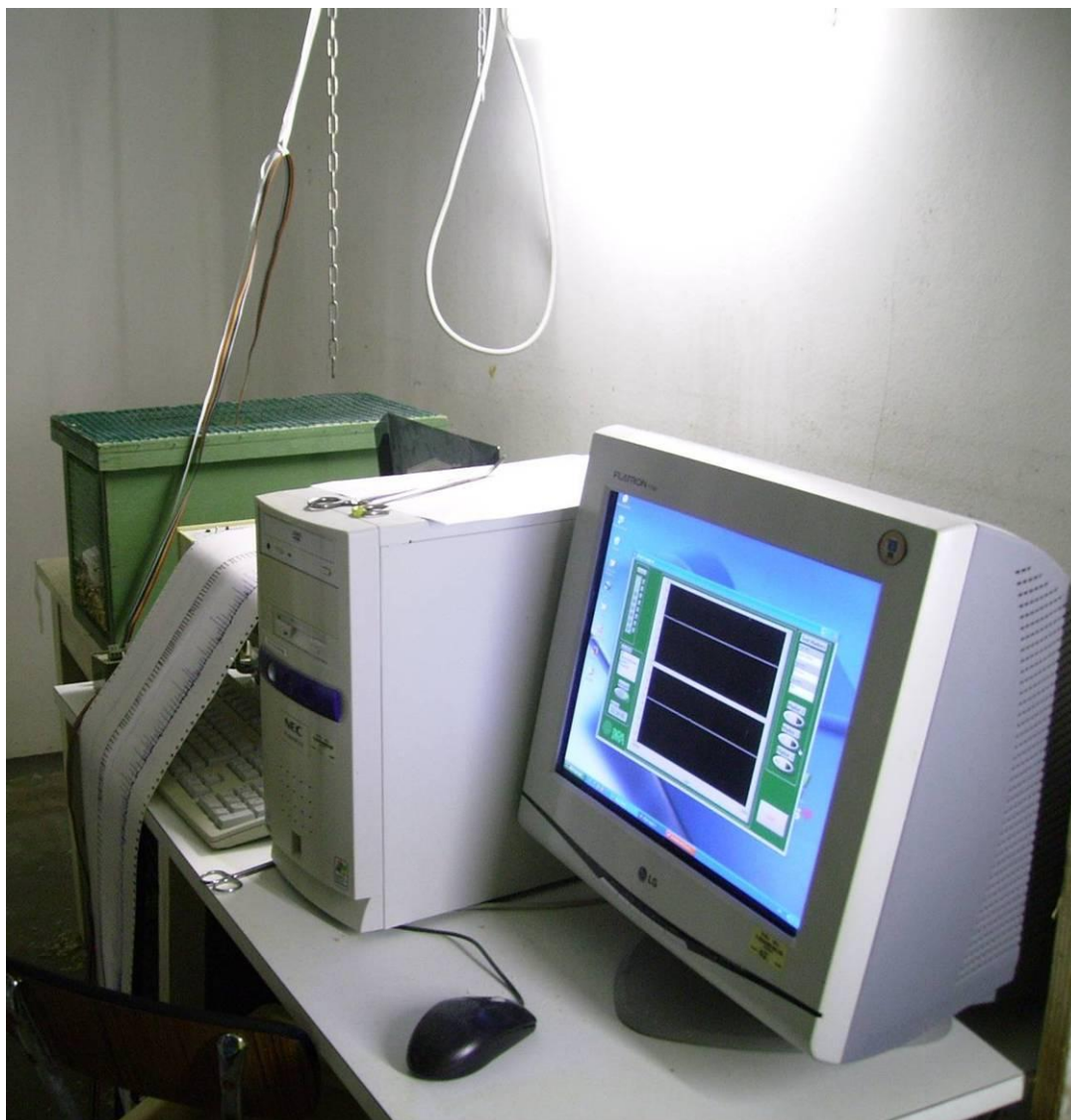


Figure 33. Dispositif d'enregistrement. De gauche à droite, la caisse avec le poulet en enregistrement, l'enregistreur papier, et l'enregistreur informatique.



Figure 31. À gauche, un poulet avec son doigt de gant (jauges repliées à l'intérieur); à droite, le boîtier de connexion des jauges de contrainte.

Les enregistrements ont été faits simultanément avec un enregistreur papier (Figure 32), et avec un programme informatique (programme AcquiJauge) (Figure 33). Les variations d'intensité ont donc été suivies sur les enregistrements.

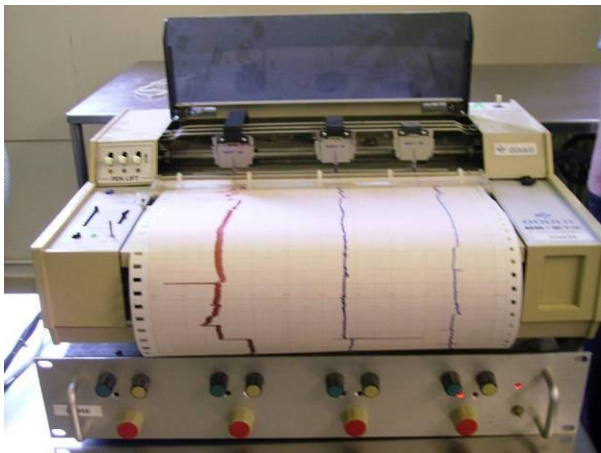


Figure 32. Enregistreur papier.

Partie III. Résultats expérimentaux

Première étude. Effets de la granulométrie du régime sur les paramètres digestifs des poulets des lignées D^+ et D^-

RÉSUMÉ

La première expérience conduite au cours de la thèse avait pour but de tester l'effet de la granulométrie des régimes alimentaires sur les processus de digestion chez les poulets de chair. Ceux-ci appartenaient aux lignées expérimentales D^+ et D^- , sélectionnées sur l'aptitude à la digestion exprimée par la valeur d'EMAn sur blé (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004).

Des différences anatomiques avaient précédemment été mises en évidence entre les poulets de lignées D^+ et de lignée D^- : les D^+ avaient un plus gros gésier que les D^- , avec un régime à base de blé (Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007). Notre hypothèse était que le gésier, de par sa taille, doit être impliqué dans les différences de digestion entre les lignées D^+ et D^- . L'incorporation de particules grossières telles que des grains entiers (Hetland *et al.*, 2002; Taylor & Jones, 2004) ou des fibres grossières insolubles (Hetland & Svihus, 2001a; Gonzales-Alvarado *et al.*, 2008) stimule le développement du gésier. Nous avons donc choisi de tester les effets de régimes « grossiers » sur l'anatomie digestive, et sur l'efficacité de digestion, et plus particulièrement les interactions lignées x régimes.

Dans cette expérience, les animaux ont été nourris avec un régime de bonne qualité, à base de maïs, permettant de limiter la variabilité de digestion rencontrée avec un régime blé, et de réduire les écarts d'EMAn entre lignées (Carré *et al.*, 2005a, 2007a).

L'étude a été menée entre les âges de 0 à 27 jours chez des poulets appartenant à la 6^{ème} génération de sélection des lignées divergentes D^+ et D^- . A partir du 7^{ème} jour, les poulets ont été nourris avec un des trois régimes: le régime « témoin - S », granulé à base de maïs et soja, le régime « Balles - H », granulé, constitué du régime témoin dilué par 7% de balles de céréales et le régime « Grossier - C », de même composition que le régime témoin, avec 70% du régime présenté en granulé, le reste (30% de maïs) étant sous forme concassée grossière

(diamètre moyen : 2.28mm) (le granulé et le maïs concassé sont distribués dans un même mélange).

Les régimes « H » et « C » ont permis de tester deux types de granulométrie différents, l'un reposant sur une dilution du régime avec des particules indigestibles, et l'autre sur des particules grossières affectant directement la taille particulière du régime présenté.

Des études de performances de croissance ont été effectuées de J7 à J20, et un bilan digestif a été conduit de J20 à J23 pour mesurer la digestibilité de l'amidon, des protéines et des lipides.

Des études anatomiques ont été effectuées à différents âges. A J1 et J8, un groupe de 81 poussins de chacune des deux lignées, nourris avec un régime démarrage classique, a été aléatoirement choisi puis euthanasiés, pour mesurer le poids du proventricule, du gésier, et de l'intestin grêle. A J26, 27 animaux de chacun des six traitements (2 lignées * 3 régimes) ont été aléatoirement choisis. Après euthanasie, les proventricules, gésiers, pancréas, et intestins grêles ont été isolés, vidés et pesés. Des prélèvements de tissus (gésier, proventricule, pancréas et sections d'intestin) et de contenus digestifs (gésier, jéjunum et iléum) ont été effectués et conservés à -20°C pour analyses.

Une étude de comportement alimentaire a été menée entre J 13 et J16, sur des poussins des deux lignées, nourris avec les régimes S et H (18 animaux par traitement). Les mesures ont débuté après une journée d'adaptation des animaux à la présence humaine dans les cellules expérimentales. Toutes les demi-heures pendant 8 heures, les mangeoires individuelles des animaux choisis ont été pesées, avec deux jours de répétition par cage.

Les résultats montrent que les poulets de la lignée D⁺ ont une meilleure EMAn, une meilleure digestibilité des protéines, de l'amidon et des lipides que ceux de la lignée D⁻, et une meilleure efficacité de digestion (exprimée par le rapport EMAn mesurée/ EMAn calculée).

Des interactions lignée x régime ont été observées sur l'EMAn, le rapport [EMAn mesurée/ EMAn calculée] et les digestibilités. L'efficacité de digestion et la digestibilité des composants de l'aliment sont améliorées avec les régimes H et C chez les D⁻ uniquement, tandis qu'elles restent à un niveau élevé chez les D⁺.

Cette étude a aussi confirmé les différences anatomiques entre lignées. Avec un régime « maïs », les poulets de la lignée D⁺ ont un plus gros poids relatif du proventricule et du gésier, et un plus faible poids relatif de l'intestin grêle que les poulets de la lignée D⁻. Le rapport [(poids de gésier + proventricule)/ poids d'intestin grêle] (GPIR), supérieur chez les D⁺, s'est avéré être un bon critère pour caractériser les différences d'anatomie entre les deux lignées. Le poids relatif du pancréas est également plus élevé chez les D⁺ que chez les D⁻.

Les deux régimes grossiers H et C ont entraîné une augmentation du poids relatif de proventricule et de gésier chez les deux lignées, ainsi qu'une augmentation du rapport GPIR. Des relations ont été établies entre les critères anatomiques et les critères de digestion. Des corrélations positives ont été montrées entre l'efficacité de la digestion d'une part et le poids du gésier ou du pancréas d'autre part. En revanche, des corrélations négatives ont été obtenues entre l'efficacité de digestion et le poids de l'intestin grêle. Le gésier et le pancréas sont donc probablement très impliqués dans les variations de la digestion entre les D⁺ et les D⁻. De plus la variation du rapport GPIR est un bon indicateur de la variation de l'efficacité digestive.

En conclusion, la variation globale de l'efficacité de digestion en fonction des lignées de poulets et des régimes alimentaires est positivement corrélée aux poids de pancréas et de gésier. Ceci suggère que ces deux organes sont fortement impliqués dans les variations de digestion. Ainsi, les fonctions du gésier et du pancréas et leurs régulations seraient moins développées chez les D⁻ par rapport aux D⁺. L'utilisation de particules grossières chez les poulets de lignées D⁻ stimule le développement des fonctions du gésier et du pancréas, et

améliore leur efficacité de digestion. En revanche, ce n'est pas le cas chez les poulets de lignée D⁺.

Les résultats de cette première expérience ont fait l'objet d'un article publié dans Poultry Science (Référence : Poultry Science 2009, 88, pp1206–1215) l'article est présenté ci-après sous sa forme acceptée.

Effects of diet particle size on digestive parameters in D⁺ and D⁻ genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency

N. Rougière,¹ J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, and B. Carré

Unité de Recherches Avicoles, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 37380 Nouzilly, France

ABSTRACT The aim of this experiment was to compare the D⁺ and D⁻ chicken lines genetically selected for divergent digestion efficiency by testing the effects of diet particle size on growth performances, digestion efficiencies, and digestive organ weights in both lines. A 2 × 3 factorial arrangement of treatments was used to test the D⁺ and D⁻ lines (sixth generation) and 3 diets, namely a pelleted standard corn diet (S), a pelleted hull diet (H) made by diluting S diet with 7% coarse cereal hulls, and a coarse corn diet (C) identical to the S diet, distributed as 30% coarsely crushed corn mixed with the 70% pelleted remaining part. Experimental diets were fed from 7 to 26 d of age. Combining results from all diets obtained at 26 d of age, D⁺ birds showed 9% heavier ($P < 0.0001$) gizzard and 10% lighter ($P < 0.0001$) small intestine than D⁻ birds. The AME_n and digestibilities of lipids, protein, and starch measured at 3 wk of age were, on average, 3.5, 5.6, 5.8, and 0.5% higher ($P < 0.0002$) in D⁺ than in D⁻ birds, respec-

tively. Significant ($P \leq 0.05$) interactions between lines and diets were observed for AME_n and digestibility values. Measured:calculated AME_n ratio and digestibilities of protein and starch were improved ($P < 0.05$) by dietary coarse particles in D⁻ birds, not in D⁺ birds. Measured:calculated AME_n ratio differed between lines by 6.0% with S diet versus 2.3% with H and C diets. In D⁻ birds, the digestion increases due to coarse particles were associated with increased weights of gizzard ($P < 0.0001$) and pancreas ($P < 0.05$). In D⁺ birds, coarse particles resulted in increased weights of gizzard ($P < 0.0001$) only. In conclusion, growth and functions of gizzard and pancreas needed to be stimulated by dietary coarse particles for optimum digestion efficiencies in D⁻ chickens, whereas such stimulations were not needed in D⁺ chickens. The D⁺ chickens showed high digestion efficiencies in all cases, independently of diet particle size.

Key words: chicken, genetics, nitrogen-corrected apparent metabolizable energy, digestion, gizzard

2009 Poultry Science 88:1206–1215
doi:10.3382/ps.2008-00408

INTRODUCTION

Divergent D⁺ and D⁻ chicken lines were genetically selected on digestion efficiency assessed by the AME_n of a wheat-based diet, measured at 3 wk of age (Mignon-Grasteau et al., 2004). With a wheat-based diet, the AME_n difference between genetic lines reached 30% on the fifth generation of selection (Carré et al., 2007).

Previous studies pointed out differences in digestive organ weights between D⁺ and D⁻ lines, D⁺ birds being characterized by a bigger gizzard and a smaller intestine than D⁻ birds (Péron et al., 2006; Garcia et al., 2007). It was hypothesized that gizzard functions were implicated in the digestion differences between D⁺ and D⁻ lines (Péron et al., 2006).

Gizzard responds to dietary stimulus (diet composition and structure) by size variations reflecting changing muscular work. It was previously shown that feeding coarse particles through the use of whole cereals (Nir et al., 1993; Carré, 2000; Jones and Taylor, 2001; Hetland et al., 2003; Taylor and Jones, 2004) or cereal hulls (Hetland and Svihus, 2001; Hetland et al., 2003) results in gizzard enlargement.

The aim of the present study was to compare the D⁺ and D⁻ lines regarding the effects of dietary coarse particles on digestion efficiencies and digestive anatomy, to examine whether gizzard function is a major factor that explains differences between D⁺ and D⁻ lines. Two types of coarse particles were used, namely cereal hulls or coarsely ground corn. These types of coarse particles were commonly used in the past (Hetland et al., 2003). However, contrary to many other experiments, corn was chosen instead of wheat.

Effects of lines (D⁺ and D⁻, sixth generation), diets (corn standard, corn standard with cereal hull, or coarse corn diets), and their interactions were tested on

©2009 Poultry Science Association Inc.

Received September 23, 2008.

Accepted January 21, 2009.

¹Corresponding author: rougiere@tours.inra.fr

digestive organ weights, AME_n, and digestion of starch, protein, and lipids. Relationships between digestion efficiencies and digestive anatomy were also investigated.

MATERIALS AND METHODS

Birds and Management

The experiment was carried out on 81 chickens (male or female) from each of the genetic divergent lines D⁺ and D⁻ selected on digestion efficiency (Mignon-Grasteau et al., 2004). Birds were from the sixth selection generation. They were wing-banded at hatching, weighed, and put in metal cages (36 cm length × 22 cm width × 40 cm height) with 3 or 4 chicks per cage until 7 d of age. On d 7, the chickens were randomly allocated to individual cages provided with an individual feeder, a waterer, and a plastic tray placed under the cage for excreta collection. Environment conditions were controlled for ventilation, light (23L:1D from 1 to 12 d and from 17 to 26 d, with dark period beginning at midnight; 21L:3D from 13 to 16 d, with dark period beginning at 0500 h), and temperature (34°C at 1 d, 33°C until 3 d, 31°C until 8 d, 29°C until 15 d, 26°C until 22 d, and 24°C until 26 d).

The experimental design was composed of 6 experimental treatments (2 lines × 3 dietary treatments), with 27 individual replicates per treatment. All birds were weighed on d 7, 20, and 23 and individual feed consumptions were measured between d 7 and 20. A digestive balance experiment was conducted from d 20 to d 23, using the method of total excreta collection with food deprivation periods, as described previously by Péron et al. (2005).

Experimental Diets

Chicks were fed ad libitum with a commercial starter pelleted diet (3,000 kcal/kg of AME_n, 22% CP) until 7 d. Then, they were fed 1 of the 3 experimental diets (Table 1). The standard (S) pelleted diet contained 58.26% corn and 33.4% soybean meal. The hull (H) pelleted diet was made by diluting the S diet with 7% coarse cereal hulls. The coarse (C) diet had the same ingredient composition as that of the S diet. The C diet contained 30% corn presented under a coarsely crushed form, mixed with the remaining part of diet presented as pellets.

Feed Intake Pattern Over Time

From d 13 to 16, D⁺ and D⁻ chicks fed with the diets S and H were randomly selected for studying their feed intake behavior (*n* = 18 chicks per treatment).

After 1 d of adaptation to human presence, individual feeders of the selected cages were weighed every 30 min, just after lighting, for 8.5 h. These weighings were performed with 2 d of replication per bird.

Digestive Organ Weight

On d 1 and 8, dissection for digestive organ weighing was performed on chicks from each genetic line (*n* = 13 and *n* = 14 on d 1 and 8, respectively), fed with a starter diet. Birds were fasted 3 h before dissection. On d 26, twenty individual replicates from each of the 6 experimental treatments were randomly selected for dissection. These birds were not fasted before dissection, to allow sampling of digestive contents. Digestive contents were immediately frozen at -20°C for future analyses.

Before dissection, chicks were individually weighed and then killed by intracardiac injection of pentobarbital (Sanofi, Marne la Coquette, France).

On d 1, 8, and 26, proventriculus, gizzard, and small intestine were isolated, emptied, and weighed. Pancreas was weighed on d 26.

The small intestine was cut off into 3 parts, comprising the duodenum (from the gizzard junction to the bile duct junction), the jejunum (from the duodenum end to the Meckel's diverticulum), and the ileum (from the Meckel's diverticulum to cecal junction).

These animal handling protocols were allowed to be conducted according to authorization no. 007196 by Indre-et-Loire Préfecture (France).

Analytical Methods

Diet and freeze-dried excreta samples were analyzed for gross energy and contents of starch, lipid, and water-insoluble cell wall (WICW), as described by Carré et al. (2002). Total nitrogen content was determined in diets and excreta by Kjeldahl method (V18-100 AF-NOR, 1977). Uric acid content in excreta was measured using the method of Marquardt (1983). Protein nitrogen content was estimated in excreta by subtracting uric acid nitrogen from total nitrogen, to calculate protein digestibility.

Particle size distribution of diets (pellets, coarsely crushed corn, and cereal hulls) was assessed by wet sieving as described previously (Péron et al., 2005), using 9 sieves ranging from 75 to 3,150 µm.

Calculations

Apparent ME values were corrected to zero nitrogen retention as described by Hill and Handerson (1958). Calculated AME_n values of diets were obtained using the measured gross energy, CP, and WICW contents of diets (Bourdillon et al., 1990), according to Carré and Brillouet (1989).

Adjusted organs weights were considered to compare digestive organ weights independently of individual BW variations. The individual digestive organ weights were adjusted to a mean BW, according to the following equation:

Table 1. Composition of experimental diets

Ingredients (%)	Coarse diet ¹				
	Standard diet	Hull diet	Distributed mixture	Chosen mixture (20 to 22 d)	
				D ⁺ line	D ⁻ line
Coarsely crushed corn	0.00	0.00	30.00	19.80 ²	22.10 ²
Pellets					
Corn	58.28	54.00	28.28	32.38	31.41
Cereal hulls ³	0.00	7.00	0.00	0.00	0.00
Rapeseed oil	1.50	1.40	1.50	1.70	1.70
Soybean meal 48	33.38	31.00	33.38	38.29	37.15
Corn gluten meal 60	3.21	2.98	3.21	3.68	3.59
Calcium carbonate	0.76	0.76	0.76	0.87	0.85
Dicalcium phosphate	1.91	1.91	1.91	2.19	2.14
Sodium chloride	0.37	0.37	0.37	0.42	0.41
Mineral and vitamin mix ⁴	0.40	0.40	0.40	0.46	0.44
DL-Methionine	0.14	0.13	0.14	0.16	0.16
Robenidine ⁵	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Calculated values					
AME _a ⁶ (kcal/kg)	3,027	2,837	3,027	2,976	2,987
Lysine (%)	1.15	1.07	1.15	1.28	1.25
Methionine + cystine (%)	0.92	0.85	0.92	0.99	0.98
Calcium (%)	0.93	0.92	0.93	1.06	1.03
Available phosphorus (%)	0.47	0.46	0.47	0.53	0.52
Measured values					
GE (kcal/kg)	4,100	4,084	4,097	4,099	4,099
CP (%)	22.9	21.9	23.0	24.9	24.5
Crude fat (%)	5.3	4.8	5.0	5.0	5.0
WICW (%)	11.1	14.8	11.0	11.4	11.3

¹Distributed mixture referred to the feed that was put in the feeders, whereas chosen mixture referred to the mixture that was really eaten by the birds.

²Standard errors were 2.68 and 2.16 for D⁺ and D⁻ means, respectively.

³Oat and wheat coarse hulls.

⁴Supplied per kilogram of diet: Co, 0.5 mg; Cu, 16 mg; Fe, 47 mg; I, 1.6 mg; Mn, 65 mg; Se, 0.2 mg; Zn, 72 mg; retinyl acetate, 12,000 IU; cholecalciferol, 3,440 IU; DL- α tocopheryl acetate, 80 mg; thiamine, 4 mg; riboflavin, 6.4 mg; calcium pantothenate, 20 mg; vitamin B₁₂, 0.02 mg; menadione, 4 mg; pyridoxine hydrochloride, 5.6 mg; folic acid, 0.4 mg; biotin, 0.24 mg; niacin, 80 mg; choline, 440 mg; antioxidant, 40 mg.

⁵Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ.

⁶Calculated values, for adult cockerels, according to Carré and Brillouet (1989): AME_a (as-is basis) = 0.9362 $\times$ GE (kcal/kg) - 15.38 $\times$ CP (%) - 25.70 $\times$ WICW (%)^{1,2}, where GE = gross energy and WICW = water-insoluble cell wall.

$$\text{Adjusted organ weight} = \text{organ weight}_i + (\text{mean BW} - \text{BW}_i) \times m,$$

where m = slope of regression line (organ weight = $m \times \text{BW} + b$); Organ weight _{i} = organ weight of the individual i ; BW _{i} = BW of the individual i ; mean BW = mean BW of all individuals.

Regression lines were calculated for each age on the basis of all pooled individual data (there was no line effect on the regression coefficients).

The actual quantities of crushed corn and pellets consumed from d 20 to 23 were measured for each bird fed on the C diet by analyzing the protein content of residual feed left in feeders on d 23. Crushed corn percentages in remaining feed were calculated as follows:

$$C = 100 \times \frac{(P_R - P_P)}{(P_C - P_P)},$$

where C = percentage of crushed corn in the remaining feed; P_C = percentage of protein in the crushed corn;

P_P = percentage of protein in the pellets; and P_R = percentage of protein in the remaining feed.

For the experiment measuring the feed intake pattern over time, shifting CV were calculated as CV of 2 consecutive feed intakes, as follows:

$$\text{Shifting CV} = \text{CV}(t; t+1) = \frac{\text{Standard deviation } [I(t); I(t+1)]}{\text{mean } [I(t); I(t+1)]},$$

where I = feed intake (g) and t = time of measurement.

The 2 replication days per bird were considered.

Statistical Analyses

Analyses of variance (Steel and Torrie, 1980), correlations, and regression analyses were performed using the SAS software (version 8.0, SAS Institute Inc., Cary, NC). Two-way ANOVA were performed using the GLM procedure to assess combined effects of line, diet, and

the interaction between line and diet. Differences between means were assessed by Fisher's protected least significant difference test (Steel and Torrie, 1980). Significance was set at $P < 0.05$.

An exponential model for expressing measured AME_n:calculated AME_n (MCR) was computed with the PROC NLIN procedure of SAS.

RESULTS

Diets

Composition of experimental diets is shown in Table 1. The quantities of crushed corn consumed from d 20 to 23 by birds fed the C diet were not significantly different between D⁺ and D⁻ lines ($19.8 \pm 2.68\%$ and $22.1 \pm 2.16\%$, respectively). A build up of uneaten crushed corn led to an increase in pellet consumption and thereby a higher protein concentration of the diet (27.5% DM in the chosen mixture versus 25.5% DM in the distributed diet).

As expected, the WICW content of the H diet was higher than in the other diets, and fat and protein contents of the H diet were lower than in the S diet, due to the dilution by cereal hulls.

Geometric mean diameter of particles was slightly higher in the H diet than in the S diet (Table 2). Pellet-ing probably reduced the coarse particle size of cereal hulls because the particle size distribution of the S diet and cereal hulls were not additive. However, the H diet contained more particles above 600 μm than the S diet (42.3 versus 38%).

The particle size distribution of the C diet was clearly different from the 2 other diets. The C diet contained more coarse particles with a diameter above 2 mm (30.6%) compared with the S (4.6%) and H (7.8%) diets.

Growth Performances

The D⁻ birds were 15% heavier than D⁺ at 7 and 20 d ($P < 0.0001$; Table 3). This difference tended to be reduced at 26 d. There was no diet effect on weight,

weight gain, or feed intake (7 to 20 d). Feed intake (7 to 20 d) was 22% greater in D⁻ chicks than in D⁺ chicks ($P < 0.0001$). Gain:feed ratio (7 to 20 d) was lower in D⁺ birds than in D⁻ birds ($P < 0.0001$), with an interaction ($P = 0.0007$) as follows: no difference was found between diets in D⁻, whereas, in D⁺, G:F was higher ($P < 0.0001$) with the S diet than with other diets. Moreover, difference in G:F ratio between lines was much higher with the S diet than with other diets.

AME_n and Digestibilities

The AME_n values were higher in D⁺ than in D⁻ birds ($P < 0.0001$), with a strong diet $\times$ line interaction ($P = 0.0001$) consisting of a higher difference between lines with the S diet than with other diets (6.5% difference versus 2% difference; Table 4). The AME_n values differed significantly between diets ($P < 0.0001$), the lowest value being observed with the H diet (Table 4).

The MCR was considered to remove the effects due to variation in diet composition. Thus, this ratio can be ascribed to the digestion efficiency for the whole of potentially available components (starch, protein, lipid, sugars).

The MCR and digestibilities (20 to 23 d) were higher in the D⁺ than in the D⁻ line (Table 4). Strong diet effects were also observed for these criteria. Mean digestibilities of the S diet were the lowest for protein, starch, and MCR and the highest for lipids (Table 4). Mean lipid digestibility of C diet was the lowest. The pattern of diet $\times$ line interactions (Table 4) was the same for MCR and for protein and starch digestibilities: in D⁺ birds, differences between diets were either small or not significant, whereas in D⁻ birds, the H and C diets resulted in similar pronounced improvements compared with the S diet. In D⁻, MCR was improved by 4.3% with the H and C diets compared with the S diet. The pattern of diet $\times$ line interaction for lipid digestibility was the same as for other digestibilities in the case of comparison between S and C diets. Considering S and H diet comparison, the diet $\times$ line interaction was different with lipid digestibility compared with other digestibilities: in D⁻ birds, the S diet resulted in a 2.6% improvement for lipid digestibility compared with the

Table 2. Particle size (% retained on sieves) of coarse ingredients and pelleted diets measured by wet sieving (means of 3 replicates)

Item	Sieve openings (μm)									GMD ¹ (μm)
	<75	75	150	300	600	850	1,180	2,000	3,150	
Coarse ingredients										
Cereal hulls	2.3	0.1	0.1	0.1	0.2	0.2	1.1	4.8	91.1	
Coarsely crushed corn	3.1	0.1	0.1	0.2	0.3	0.8	5.0	19.8	70.6	
Pellets of coarse diet	29.8	9.1	7.2	15.6	11.7	10.1	11.4	3.7	1.4	209
Diets										
Standard	27.1	8.5	8.1	18.2	11.1	10.3	12.0	3.4	1.2	228
Hull	27.3	6.5	7.6	16.4	11.8	10.6	12.1	4.1	3.7	251
Coarse (distributed mixture)	21.8	6.4	5.1	11.0	8.3	7.3	9.5	8.5	22.1	453

¹Geometric mean particle diameter.

Table 3. Effects of experimental diets on growth performances (7 to 20 d) and feed intake (7 to 20 d) in growing chicks from the D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestive efficiency

Item	Diet	BW (g) 7 d	BW (g) 20 d	Weight gain (g) (7 to 20 d)	Feed intake ¹ (g) (7 to 20 d)	G:F (7 to 20 d)
Genotype						
D ⁺ line	Standard	95.1	388.3	292.8	402.9	0.74 ^a
	Hull	101.1	377.6	276.5	429.6	0.65 ^b
	Coarse	96.9	375.1	278.2	418.5	0.66 ^b
D ⁻ line	Standard	111.9	440.9	328.2	515.8	0.64 ^b
	Hull	115.0	438.4	323.4	519.3	0.62 ^b
	Coarse	114.1	428.0	313.8	497.1	0.63 ^b
SEM (n = 27)		2.88	11.76	9.77	13.5	0.012
Genotype						
D ⁺ line		97.7 ^b	380.4 ^b	282.5 ^b	417.0 ^b	0.68 ^a
D ⁻ line		113.7 ^a	435.7 ^a	321.8 ^a	510.7 ^a	0.63 ^b
SEM (n = 81)		1.66	6.78	5.64	7.80	0.007
Diet						
Standard		103.5	414.6	310.5	459.3	0.69 ^a
Hull		108.1	408.0	299.9	474.5	0.63 ^b
Coarse		105.5	401.5	296.0	457.8	0.64 ^b
SEM (n = 54)		2.03	8.3	6.91	9.55	0.008
Effects		P-value				
Line		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Diet		NS ²	NS	NS	NS	<0.0001
Line × diet		NS	NS	NS	NS	0.0007

^{a,b}Means with different letters within columns were significantly different ($P < 0.05$).

¹Dry matter basis.

² $P > 0.05$.

H diet, whereas this former diet resulted in lower values for other digestibilities.

The positive effect of both coarse diets was stronger on protein digestibility than on starch digestibility. Differences in digestibilities between D⁺ and D⁻ lines were higher for protein and lipid than for starch. In the S diet, differences in digestibilities between D⁺ and D⁻ birds reached 6.7 and 5% for protein and lipids,

respectively. In D⁻ birds, the C and H diets resulted in a 5.3% increase in protein digestibility compared with the S diet.

Digestive Organ Weights

Effect of Lines on Organ Growth (Standard Diet).

No line effect was observed on adjusted digestive or-

Table 4. Effects of experimental diets on digestibilities, AME_n values, and measured AME_n:calculated AME_n ratio in 3-wk-old chickens from the D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestive efficiency

Item	Diet	Starch digestibility (%)	Protein digestibility (%)	Lipid digestibility (%)	Measured AME _n (kcal/kg of DM)	Measured AME _n :calculated AME _n ¹
Genotype						
D ⁺ line	Standard	98.0 ^a	80.2 ^{ab}	90.1 ^a	3,343 ^a	0.992 ^{ab}
	Hull	98.4 ^a	81.4 ^{ab}	89.2 ^a	3,166 ^c	1.003 ^a
	Coarse	98.0 ^a	82.8 ^a	82.6 ^{bc}	3,261 ^b	0.987 ^{ab}
D ⁻ line	Standard	96.7 ^b	73.5 ^c	85.3 ^b	3,141 ^c	0.934 ^c
	Hull	98.2 ^a	78.8 ^b	82.7 ^{bc}	3,080 ^d	0.978 ^b
	Coarse	98.0 ^a	78.8 ^b	80.3 ^c	3,222 ^{bc}	0.971 ^b
SEM (n = 27)		0.16	0.76	0.87	19.0	0.0051
Genotype						
D ⁺ line		98.1 ^a	81.5 ^a	87.3 ^a	3,257 ^a	0.994 ^a
D ⁻ line		97.6 ^b	77.0 ^b	82.7 ^b	3,148 ^b	0.961 ^b
SEM (n = 80)		0.09	0.44	0.50	11	0.0030
Diet						
Standard		97.4 ^b	76.9 ^b	87.7 ^a	3,242 ^a	0.964 ^b
Hull		98.3 ^a	80.1 ^a	85.9 ^a	3,123 ^b	0.990 ^a
Coarse		98.0 ^a	80.8 ^a	81.4 ^b	3,241 ^a	0.979 ^a
SEM (n = 54)		0.11	0.54	0.69	13	0.0036
Effects		P-value				
Line		0.0002	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Diet		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
Line × diet		0.0001	0.0258	0.0509	0.0001	0.0002

^{a-d}Means with different letters within columns were significantly different ($P < 0.05$).

¹Calculated AME_n (DM basis) = $0.9362 \times \text{GE (kcal/kg)} - 15.38 \times \text{CP (\%)} - 25.16 \times \text{WICW (\%)}^{1,2}$ (Carré and Brillouet, 1989).

Table 5. Effects of divergent lines (D⁺ versus D⁻) on digestive organ weights¹ at d 1, 8, and 26²

Genotype	Proventriculus (g)			Gizzard (g)			Small intestine (g)			(Gizzard + proventriculus)/ small intestine (g/g)		
	1 d	8 d	26 d	1 d	8 d	26 d	1 d	8 d	26 d	1 d	8 d	26 d
D ⁺ line	0.45	1.20	4.69	2.77	5.18	16.3	2.01	7.85	28.8	1.68	0.82	0.75
D ⁻ line	0.45	1.15	4.13	2.64	4.60	13.5	1.81	8.87	33.8	1.73	0.66	0.52
SEM ³	0.028	0.046	0.161	0.101	0.199	0.45	0.091	0.220	1.02	0.100	0.036	0.023
Line effect	NS	NS	0.0184	NS	0.047	<0.0001	NS	0.003	0.0011	NS	0.0032	<0.0001

¹Weight adjusted to mean BW (44.6 g, 124.7 g, and 794 g, at d 1, 8, and 26, respectively).

²Chicks were fed with a commercial starter diet until d 8, then with the standard diet. Commercial diet = 3,000 kcal/kg of AMEn, 22% CP; standard diet = 3,027 kcal/kg of AMEn, 22.9% CP. Both diets were pelleted.

³Pooled SE, with 13, 14, and 20 individual replicates per treatment, at d 1, 8, and 26, respectively.

gan weights at d 1 (Table 5). Adjusted proventriculus size did not differ between lines from d 1 to 8 and was 14% higher in D⁺ than in D⁻ at d 26. From 8 d of age, adjusted weight of gizzard was significantly higher and that of small intestine was significantly smaller in D⁺ chickens than in D⁻ chickens (Table 5). Therefore, from d 8, the (gizzard + proventriculus):small intestine ratio (GPIR) was higher in D⁺ birds than in D⁻, with 24 and 44% differences at d 8 and 26, respectively.

Organ weight-to-BW ratios were the highest at d 1 for gizzard (0.0621 g:g and 0.0592 g:g for D⁺ and D⁻ birds, respectively, 0.0415 g:g and 0.0369 g:g at d 8 and 0.0205 g:g and 0.0170 g:g at d 26) and proventriculus (0.0101 g:g and 0.0101 g:g at d 1 for D⁺ and D⁻ birds, respectively, 0.0096 g:g and 0.0092 g:g at d 8 and 0.0059 g:g and 0.0052 g:g at d 26) and at d 8 for small intestine (0.0451 g:g and 0.0406 g:g at d 1 for D⁺ and D⁻ birds,

respectively, 0.063 g:g and 0.071 g:g at d 8 and 0.036 g:g and 0.043 g:g at d 26).

Effects of Lines and Experimental Diets on d 26.

Except for duodenum and pancreas, there were highly significant line effects on digestive organ weights (Table 6). Proventriculus and gizzard were heavier in D⁺ than in D⁻ chickens. Jejunum, ileum, and entire small intestine were heaviest in D⁻ birds. A significant diet effect was observed for gizzard and pancreas, with both coarse diets (C and H) being observed to induce similar positive effects compared with the S diet. However, for pancreas, this positive effect was significant ($P < 0.05$) only in D⁻ birds, not in D⁺ birds. No interaction was found between line and diet except for GPIR ($P = 0.0193$) that was more increased by coarse diets in D⁻ than in D⁺ birds. The GPIR was observed to be higher in D⁺ than in D⁻ birds, and this difference was reduced by adding coarse particles in diet.

Table 6. Effects of experimental diets on digestive organ weights¹ in 26-d-old chickens from the D⁺ and D⁻ genetic lines selected for divergent digestion efficiency

Item	Diet	BW (g) 26 d	Proventriculus (g)	Gizzard (g)	Duodenum (g)	Jejunum (g)	Ileum (g)	Small intestine (g)	Pancreas (g)	GPIR ² (g/g)
Genotype										
D ⁺ line	Standard	769	4.66	16.3	8.11	11.5	8.39	27.9	2.27	0.75 ^b
	Hull	718	4.82	21.2	8.92	12.0	8.19	29.1	2.35	0.90 ^a
	Coarse	714	4.73	19.5	8.50	12.3	8.53	28.7	2.36	0.83 ^{ab}
D ⁻ line	Standard	820	4.05	13.2	9.40	13.5	10.48	33.2	2.04	0.52 ^c
	Hull	819	4.55	20.3	8.91	14.0	9.02	32.5	2.35	0.80 ^{ab}
	Coarse	821	4.56	18.2	8.60	13.3	9.15	31.5	2.37	0.74 ^b
SEM (n = 20)		25.0	0.144	0.50	0.338	0.49	0.341	1.03	0.085	0.027
Genotype										
D ⁺ line		734 ^b	4.74 ^a	19.0 ^a	8.51	11.9 ^b	8.40 ^b	28.8 ^b	2.33	0.83 ^a
D ⁻ line		820 ^a	4.39 ^b	17.2 ^b	8.97	13.6 ^a	9.55 ^a	32.6 ^a	2.25	0.69 ^b
SEM (n = 60)		14.4	0.083	0.29	0.197	0.28	0.196	0.60	0.049	0.015
Diet										
Standard		794	4.36	14.7 ^c	8.75	12.5	9.48 ^a	30.8	2.16 ^b	0.63 ^c
Hull		769	4.68	20.8 ^a	8.91	13.0	8.61 ^b	30.5	2.35 ^b	0.85 ^a
Coarse		768	4.64	18.9 ^b	8.55	12.8	8.84 ^{ab}	30.1	2.37 ^a	0.79 ^b
SEM (n = 40)		17.6	0.102	0.35	0.24	0.34	0.241	0.72	0.060	0.019
Effects					P-value					
Line		<0.0001	0.0037	<0.0001	NS	<0.0001	<0.0001	<0.0001	NS	<0.0001
Diet		NS ³	NS	<0.0001	NS	NS	0.030	NS	0.026	<0.0001
Line × diet		NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.0193

^{a-c}Means with different letters within columns were significantly different ($P < 0.05$).

¹Weight adjusted to the mean BW (776 g).

²GPIR = (gizzard + proventriculus):small intestine weight ratio.

³ $P > 0.05$.

Table 7. Correlations (r ; $n = 120$) between individual digestion criteria (starch, protein, and lipid digestibilities and measured AME_n :calculated AME_n ratio) and digestive organ weight,¹ measured at 26 d of age, in D⁺ and D⁻ broilers fed the experimental diets

Item	Proventriculus (g)	Gizzard (g)	Duodenum (g)	Jejunum (g)	Ileum (g)	Small intestine (g)	Pancreas (g)	GPIR ² (g/g)
Measured AME_n :calculated AME_n	0.22*	0.39***	-0.31***	-0.43***	-0.50***	-0.47***	0.25**	0.56***
Starch digestibility (%)	0.12	0.44***	-0.16	-0.19*	-0.41***	-0.28**	0.31***	0.48***
Protein digestibility (%)	0.24**	0.42***	-0.19*	-0.32***	-0.34***	-0.33***	0.23*	0.50***
Lipid digestibility (%)	0.11	-0.14	-0.22*	-0.35***	-0.15	-0.29**	0.03	0.13

¹Weight adjusted to the mean BW (776 g).

²GPIR = (gizzard + proventriculus):small intestine weight ratio.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

Correlations

Pooling all data, significant correlations were found between individual digestive organ weights and digestibilities (Table 7). In particular, gizzard weight and GPIR were strongly ($P < 0.0001$) positively correlated to starch digestibility, protein digestibility, and MCR. These relationships were often curvilinear as shown for the relationship between MCR and GPIR (Figure 1). Pancreas weight was also positively correlated ($P < 0.05$, Table 7) with digestibilities of starch and protein, and with MCR. On the contrary, small intestine parts, especially ileum, were generally negatively correlated to digestibilities (Table 7).

Significant ($P < 0.05$) correlations for lipid digestibility were only found with duodenum, jejunum, and small intestine weights. These correlations were negative, as for other digestibilities.

Feed Intake Pattern Over Time

Throughout the measurement period, feed intake of D⁻ was greater ($P < 0.0001$, Figure 2) than that of D⁺ chickens. Feed intake was also greater with the H diet

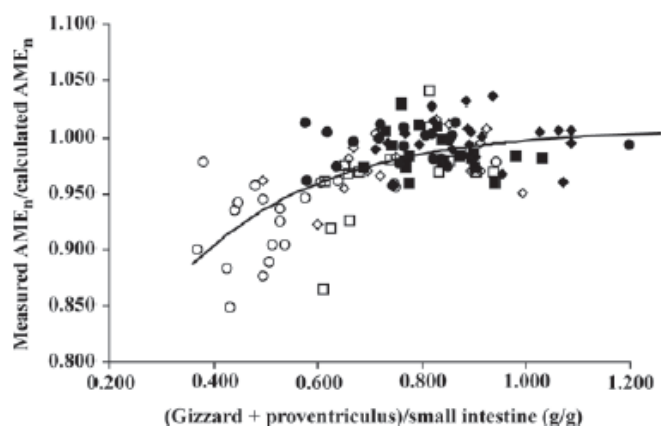


Figure 1. Relationship between individual measured AME_n :calculated AME_n ratio and (gizzard + proventriculus):small intestine weight ratio for D⁺ and D⁻ birds fed with the experimental diets. Symbols (●, ◆, ■) for D⁺ line and (○, ◇, □) for D⁻ line stand for standard, hull, and coarse diets, respectively. Organ weights were adjusted to the mean BW (776 g). Equation was as follows: $Y = 1.005 [1 - \exp(-3.97X - 0.711)]$.

than with the S diet ($P = 0.0180$). There was no line $\times$ diet interaction.

Shifting CV reflect the variability of feed intake between 2 consecutive periods. There was no line effect on mean shifting CV (0.63 and 0.62 for D⁺ and D⁻ lines, respectively), but there was a diet effect ($P = 0.014$; shifting CV values were 0.59 and 0.67 for the H and S diets, respectively).

DISCUSSION

As expected, D⁺ birds showed higher feed efficiencies and digestibility values than D⁻ birds (Tables 3 and 4). The AME_n differences between lines were smaller than in previous studies conducted with wheat diets (Mignon-Grasteau et al., 2004; Garcia et al., 2007). This was consistent with previous experiments showing that efficiency or AME_n differences between D⁺ and D⁻ birds were less pronounced with corn than with wheat diets (Carré et al., 2005, 2007).

Feed intakes were higher in D⁻ than in D⁺ birds (Figure 2), which can be interpreted in terms of an adaptation to meet energy requirements. The variability of feed intake over time did not differ between lines (Figure 2), which suggests that, in these feeding conditions, the consequences of feed intake control were similar in both lines.

Body weights of D⁻ birds were observed to be higher than those of D⁺ birds at d 26 (Table 6), whereas these lines usually show about the same weight from 3 wk of age (Mignon-Grasteau et al., 2004). However, this previous experiment was conducted with a wheat diet. Thus, in this previous experiment, D⁻ birds probably did not reach their maximum BW because wheat diet did not allow them to meet their energy requirements. On the contrary, with corn diets, risk of AME_n deficiency in D⁻ birds was much less pronounced, and, thus, these birds could probably express their growth potential under this feeding condition. Concerning D⁺ birds, the growth potential would be fully expressed in the same way with wheat or corn diets because of negligible differences in AME_n values between wheat and corn diets in these birds (Carré et al., 2007).

A strong positive relationship ($R^2 = 0.72$) was found between mean values of G:F (Table 3) and AME_n (Ta-

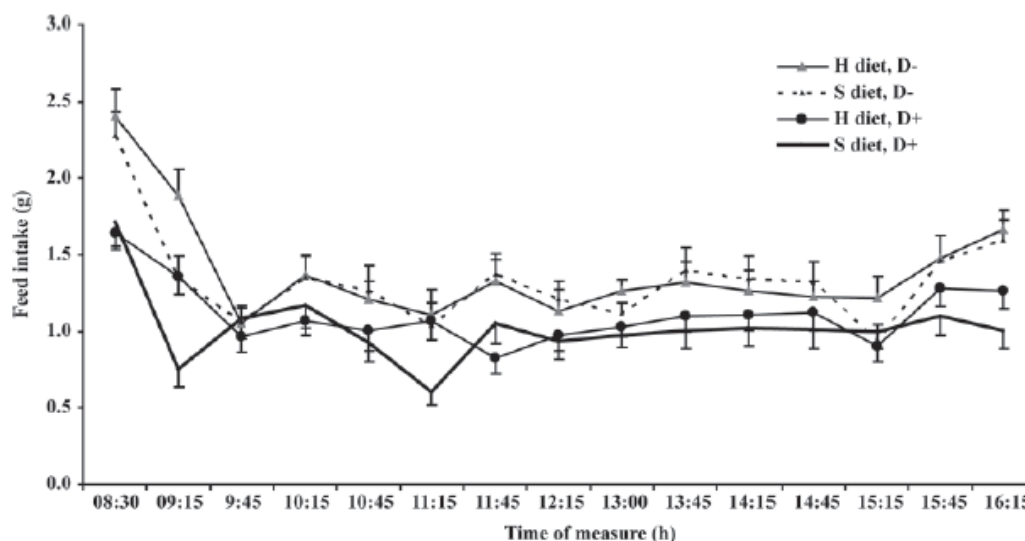


Figure 2. Comparison of the feed intake (g) of 16-d-old chicks from D⁺ and D⁻ genetic lines over the period of observation (mean $\pm$ SEM). Birds were fed either the standard (S) diet or the hull (H) diet ($n = 18$). To compare variabilities of feed intakes over the whole period of measurement, shifting CV (i.e., CV of feed intake between 2 consecutive periods) were calculated. It resulted that the means of the shifting CV were significantly smaller ($P = 0.014$) with H than with the S diet and were not different between D⁺ and D⁻ lines ($P = 0.57$).

ble 4), which shows that energy value was a major nutritional limiting factor in our experiment.

Compared with other diets, the AME_n value of the H diet had to be accounted for by a dilution with hull addition. Thus, to assess the variations in the availability of nutrients (starch, protein, lipids, and sugars), the MCR were computed, with the calculated AME_n value being based on the chemical composition of diets (Carré and Brillouet, 1989).

Data obtained from H and C diets were rather similar, both for MCR (Table 4) and gut anatomy (Table 6). Because the common property of hulls (H diet) and coarse corn particles (C diet) was their big particle size, this suggests that most of the effects of H and C diets were mediated by particle size effects. In the case of lipid digestibility, 2 other mechanisms were also probably involved in the effects of H and C diets. In both lines, the C diet resulted in lowered lipid digestibility values (Table 4) compared with the S diet, which was probably due to a problem of reduced accessibility in coarse particles of corn germs. The H diet also reduced lipid digestibility (Table 4), probably because of bile salt-binding properties of fibers (Ebihara and Schneeman, 1989). However, this effect was only observed in D⁻, not in D⁺ birds (Table 4), which might be explained by lower amounts of intestinal bile salts in D⁻ than in D⁺ birds (Garcia et al., 2007).

The problem of access to starch granules in coarse corn particles was probably low because starch digestibility values were observed to be high with the C diet (Table 4). In contrast, such a problem of access with subsequent reduced starch digestibility may exist for wheat fed to broilers (Péron et al., 2007). Thus, the positive effects of coarse cereal particles on broiler digestive physiology (Hetland et al., 2004) is probably

easier to be observed with corn than with wheat diets because, with corn, there is less risk that this positive effect is hidden by negative effects due to reduced access.

Positive effects of coarse particles were attributed to an improved regulation of digesta passage rate by gizzard emptying, associated with a longer retention time in the gizzard (Hetland et al., 2004). In our experiment, positive effects of coarse particles (H and C diets) were clearly observed on MCR and digestibility values of starch and protein (Table 4). However, these positive effects were only observed in D⁻ birds, not in D⁺ ones (Table 4). Therefore, coarse particles (H and C diets) reduced the relative difference in MCR between lines from 6.0 to 2.3% (Table 4). These observations, together with the fact that gizzard was heavier in D⁺ than in D⁻ birds (Tables 5 and 6), suggested that the gizzard function was a major factor responsible for the difference between lines. According to our results, gizzard functions were optimum in D⁺ birds and did not require stimulation by coarse particles, as assessed by high digestibility values observed in D⁺ birds whatever the amount of coarse particles in their diets. In contrast, gizzard functions were not optimum in D⁻ birds and required stimulation by coarse particles.

Pancreas in birds fed on the S diet (Table 6) tended to be heavier in D⁺ than in D⁻ birds ($P = 0.059$), whereas the contrary was observed in a previous study performed with wheat diets (Péron et al., 2006). Digestibility values in our experiment were rather high in D⁻ birds. Thus, it may be hypothesized that D⁻ birds did not require an adaptative overgrowth of their pancreas in our experiment and so expressed the basal genetic size of pancreas. In contrast, when fed on wheat diets, D⁻ birds are subjected to low digestibilities and would

react by an adaptative overgrowth of pancreas, whereas D^+ birds would not need such an adaptation because of high digestibility values. Thus, our results obtained with a corn diet would be more meaningful for estimating difference in pancreas size between D^+ and D^- lines than those obtained with wheat diets. It is noteworthy that, in D^- birds, adding coarse particles resulted in increased pancreas sizes along with MCR improvements, which contradicts the common observation of pancreas overgrowth associated with digestion problems. Thus, it can be hypothesized that, in D^- birds, as for gizzard, the digestive pancreas growth and function were not optimum and required coarse particles for their stimulation, whereas, in D^+ birds, they would be optimum whatever the amount of coarse particles in diets. It should be noted that coarse particles did not change the pancreas size in D^+ birds.

Relationships between anatomy and digestibilities (Table 7) were similar to those obtained in previous studies (Péron et al., 2006; Garcia et al., 2007), except for pancreas that showed positive relationships with digestibilities, whereas they were negative in a previous study conducted with wheat diets (Péron et al., 2006). As stated above, corn and wheat feedings probably differ by digestibility levels, which would induce adaptative pancreas overgrowth with wheat, not with corn.

The strongest relationships between anatomy data and digestibilities were found with GPIR (Table 7; Figure 1), in the same way as previously found with the gizzard:small intestine ratio (Garcia et al., 2007). The R^2 value (0.42) expressing the relationship between measured MCR values and MCR values calculated with GPIR (Figure 1) was very close to that obtained for the ANOVA analysis of MCR as a function of lines and diets ($R^2 = 0.45$), which suggests that the effects of lines and diets on MCR were summarized by the variation in GPIR. Thus, GPIR did not only predict differences between lines, it also predicted differences between dietary treatments. Thus, GPIR and gizzard:small intestine ratio appear to be universal predictors of digestion efficiencies in broilers.

In conclusion, comparison of D^+ and D^- digestion lines revealed differences in digestive organ weights from 8 d of age onward, with no difference being apparent at 0 d. Coarse dietary particles resulted in increased gizzard weight in both lines and increased pancreas only in the D^- line. Digestion efficiencies were positively correlated with gizzard and pancreas weights, and with the GPIR. Correlations with GPIR were highest with starch digestibility, protein digestibility, and MCR. Digestion efficiencies were negatively correlated with duodenum, jejunum, ileum, and small intestine weights. Stimulation of gizzard and pancreas growth and functions by dietary coarse particles was necessary for D^- chickens to achieve optimum digestion efficiencies, whereas it was not necessary for D^+ birds. The D^+ chickens achieved optimum digestion in all cases, independent of diet particle size.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Inzo (Chateau-Thierry, France) and French Research Ministry for a Conventions Industrielles de Formation par la Recherche financial grant. We also thank K. Gérard (Institut National de la Recherche Agronomique, Nouzilly, France) for helpful assistance in the management of experimental birds.

REFERENCES

- AFNOR. 1977. Méthode V18-100. Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes – Méthode de Kjeldahl. Méthodes d'analyse des aliments des animaux. AFNOR, Paris, France.
- Bourdillon, A., B. Carré, L. Conan, M. Francesch, M. Fuentes, G. Huyghebaert, W. M. M. A. Janssen, M. Leclercq, M. Lessire, J. McNab, M. Rigoni, and J. Wiseman. 1990. European reference methods of in vivo determination of metabolizable energy in poultry: Reproducibility, effect of age, comparison with predicted values. *Br. Poult. Sci.* 31:567–576.
- Carré, B. 2000. Effets de la taille des particules alimentaires sur les processus digestifs chez les oiseaux d'élevage. *INRA Prod. Anim.* 13:131–136.
- Carré, B., and J. M. Brillouet. 1989. Determination of water insoluble cell walls in feed: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.* 72:463–467.
- Carré, B., A. Idi, S. Maisonnier, J.-P. Melcion, F.-X. Oury, J. Gomez, and P. Pluchard. 2002. Relationships between digestibilities of food components and characteristics of wheats (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. *Br. Poult. Sci.* 43:404–415.
- Carré, B., S. Mignon-Grasteau, A. Péron, H. Juin, and D. Bastianelli. 2007. Wheat value: Improvements by feed technology, plant breeding and animal genetics. *World's Poult. Sci. J.* 63:585–596.
- Carré, B., S. Mignon-Grasteau, B. Svihus, A. Péron, D. Bastianelli, J. Gomez, J. Besnard, and N. Sellier. 2005. Nutritional effects of feed form, and wheat compared to maize, in the D^+ and D^- chicken lines selected for divergent digestion capacity. Pages 42–44 in *Proc. 15th European Symposium on Poultry Nutrition*. World's Poultry Science Association, Balatonfired, Hungary.
- Ebihara, K., and B. O. Schneeman. 1989. Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *J. Nutr.* 119:1100–1106.
- Garcia, V., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, N. Sellier, and B. Carré. 2007. Effects of xylanase and antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks from genetic D^+ and D^- lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 1:1435–1442.
- Hetland, H., M. Choct, and B. Svihus. 2004. Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. *World's Poult. Sci. J.* 60:415–422.
- Hetland, H., and B. Svihus. 2001. Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed passage time in broiler chickens. *Br. Poult. Sci.* 42:354–361.
- Hetland, H., B. Svihus, and A. Kroghdahl. 2003. Effects of oat hulls and wood shavings on digestion in broilers and layers fed diets based on whole or ground wheat. *Br. Poult. Sci.* 44:275–282.
- Hill, F. W., and D. L. Handerson. 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy determination with growing chicks. *J. Nutr.* 64:587–603.
- Jones, G. P. D., and R. D. Taylor. 2001. The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets: Production and physiological responses. *Br. Poult. Sci.* 42:477–483.
- Marquardt, R. R. 1983. A simple spectrophotometric method for the direct determination of uric acid in avian excreta. *Poult. Sci.* 62:2106–2108.
- Mignon-Grasteau, S., N. Muley, D. Bastianelli, J. Gomez, A. Peron, N. Sellier, N. Millet, J. Besnard, J. M. Hallouis, and B. Carré. 2004. Heritability of digestibilities and divergent selection for di-

- gestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poult. Sci.* 83:860–867.
- Nir, I., Z. Nitsan, and M. Mahagna. 1993. Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broilers and egg type chicks after hatching. *Br. Poult. Sci.* 34:523–532.
- Péron, A., D. Bastianelli, F. X. Oury, J. Gomez, and B. Carré. 2005. Effects of food deprivation and particle size of ground wheat on digestibility of food components in broilers fed on a pelleted diet. *Br. Poult. Sci.* 46:223–230.
- Péron, A., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, N. Sellier, J. Besnard, M. Derouet, H. Juin, and B. Carré. 2006. Effects of wheat quality on digestion differ between the D⁺ and D⁻ chicken lines selected for divergent digestion capacity. *Poult. Sci.* 85:462–469.
- Péron, A., B. Svihus, I. Gabriel, S. Bérot, D. Tanguy, B. Bouchet, J. Gomez, and B. Carré. 2007. Effects of two wheat cultivars on physico-chemical properties of wheat flours and digesta from two broiler chicken lines (D⁺ and D⁻) differing in digestion capacity. *Br. Poult. Sci.* 48:370–380.
- Steel, R. G. D., and J. H. Torrie. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2nd ed. McGraw-Hill, New York, NY.
- Taylor, R. D., and G. P. D. Jones. 2004. The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics. *Br. Poult. Sci.* 45:237–246.

Deuxième étude. Comparaison du transit
digestif chez les poulets des lignées D^+ et D^-

RESUME

Suite à la première étude, des hypothèses peuvent être émises et des questions posées :

- La différence de taille de gésier entre les deux lignées D^+ et D^- et une consommation alimentaire plus élevée chez les D^- , suggère des différences dans les temps de rétention des digesta dans les compartiments digestifs, notamment au niveau du gésier.
- La dilution par 7% de balles d'avoine n'a pas affecté la croissance (poids vif) des D^+ et des D^- . Les deux lignées ont été capables de compenser la dilution du régime, en augmentant leur consommation alimentaire. Cependant, étant donné que la consommation des D^- est déjà élevée avec le régime témoin, se pose la question d'une limite d'adaptation de cette lignée face à un régime très dilué.
- Les résultats obtenus ne concernent que la période éclosion – J26. Etant donné que les différences entre les lignées semblent s'atténuer quand l'âge augmente (Carré *et al.*, 2005), nous avons voulu étudier ces lignées sur un temps plus long (jusqu'à 9 semaines d'âge).

Le but de cette étude était de comparer le transit digestif des deux lignées, d'étudier la taille des compartiments digestifs de 0 à 63 jours, et d'établir des relations entre le transit digestif, l'anatomie digestive, et l'efficacité digestive, chez les poulets D^+ et D^- nourris avec un régime témoin ou un régime très fortement dilué par des particules grossières. Utiliser un régime très dilué permettait de tester la capacité de compensation des lignées, en terme de consommation alimentaire et de volume des organes digestifs.

L'étude s'est déroulée de 0 à 9 semaines, en utilisant des poulets de la 8^{ème} génération de sélection divergente des lignées D^+ et D^- . À partir de 9 jours, les poussins ont été nourris soit avec le régime « Témoin » (S) à base de maïs et soja, granulé, soit avec le régime

« Fibres » (F) correspondant au régime S dilué par 15% de coques de tournesol grossières, granulé.

Le poids vif des animaux a été suivi tout au long de l'étude (0 à 63 jours) et un bilan digestif a été effectué de 20 à 23 jours. L'évolution du poids des organes digestifs a été enregistrée de 0 à 63 jours.

Enfin, deux études de transit digestif ont été effectuées, à 9 (régime S seul) et 29 jours (régimes S et F). Pour ces études, deux marqueurs, l'un suivant les particules très fines (TiO₂) et l'autre suivant les particules grossières (coques de tournesol mordancées au chrome) ont été incorporés dans les régimes expérimentaux et administrés en continu pendant 3 jours jusqu'à atteindre un état d'équilibre des phénomènes digestifs (taux d'ingestion et d'excrétion de marqueurs constants) (Van der Klis *et al.*, 1990). Les quantités de marqueurs ont été déterminées dans les compartiments digestifs, pour calculer les temps de rétention moyen des digesta (fractions très fines particules et fraction des particules plus grosses) dans ces compartiments.

Les résultats ont confirmé les différences d'efficacité digestives et d'anatomie digestive précédemment observées entre les lignées D⁺ et D⁻ (Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Rougère *et al.*, 2009a).

Les différences anatomiques ont confirmé que les différences entre lignées étaient un phénomène transitoire observé pendant la croissance des animaux ; en effet, les différences de poids relatifs diminuent avec l'âge.

Les études de transit digestif ont montré que les temps de rétention moyens du digesta étaient contrastés entre lignées dans la partie proximale du tractus digestif (proventricule+gésier), avec un temps de rétention moyen 2 fois plus élevé à 9 jours pour les D⁺ que pour les D⁻ et jusqu'à 40 fois plus élevés à 29 jours, avec le régime témoin, chez les D⁺ par rapport aux D⁻.

Les poulets D^+ comme les D^- se sont adaptés à la dilution de 15% du régime, le poids vif n'a pas été affecté. L'incorporation de 15% de coques de tournesol dans le régime a entraîné une amélioration de l'efficacité de digestion chez les D^- et les D^+ , et une amélioration de la digestibilité des protéines chez les D^- , avec une diminution des écarts entre lignées par rapport au régime témoin.

Le poids du gésier a été augmenté avec le régime F par rapport au régime S, de façon plus importante chez les D^- que chez les D^+ . Concernant le proventricule, le régime dilué a permis la réduction des cas de proventricules dilatés observés chez les D^+ nourris avec le régime témoin, et a entraîné l'augmentation du poids relatif de proventricule chez les D^- .

Une interaction lignée x régime a été observée pour les temps de rétention moyens (TRM) de digesta dans le compartiment proventricule+gésier. Avec le régime F, les TRM ont été augmentés chez les D^- , en association avec l'augmentation du poids relatif de ces organes. En revanche, ils ont été réduits chez les D^+ , en association avec la diminution de poids de proventricule. Aucune différence n'a été observée pour les TRM mesurés dans l'intestin grêle.

L'amélioration de l'efficacité de digestion des D^- avec le régime F peut être attribuée à l'augmentation du TRM du digesta, en relation avec le développement du proventricule et du gésier, et avec l'amélioration de leurs fonctions. En effet, des relations positives ont été établies entre les TRM dans le proventricule+gésier d'une part, et l'efficacité de digestion et la digestibilité des protéines d'autre part.

Ceci suppose une amélioration du contrôle de l'évacuation gastrique avec le régime contenant des particules grossières chez les D^- .

En conclusion, cette étude montre bien que les temps de rétention dans le proventricule + gésier sont fortement impliqués dans les différences de digestion entre les lignées D^+ et les D^- . Le gésier est un organe clef dans les différences, et un régime grossier

(dilué) permet le développement des fonctions chez les mauvais digesteurs, probablement par une régulation de l'évacuation gastrique.

Observations complémentaires :

- Anatomie des compartiments gastriques

La figure ci dessous montre la variabilité de la taille du gésier et du proventricule chez les poulets des lignées D^+ et D^- , nourris avec les régimes S et F, à 29 jours d'âge. Avec le régime S, on observe chez les D^+ une grande variabilité de poids, allant de proventricule et de gésier d'apparence « classique » à des cas de gésiers associés à des proventricules dilatés. Chez les D^- , les proventricules + gésiers sont toujours plus petits que ceux des D^+ et il n'a pas été observé de proventricule dilaté. Avec le régime F, la taille du proventricule et du gésier est augmentée pour les deux lignées. Chez les D^+ , aucun cas de proventricule dilaté n'a été observé.

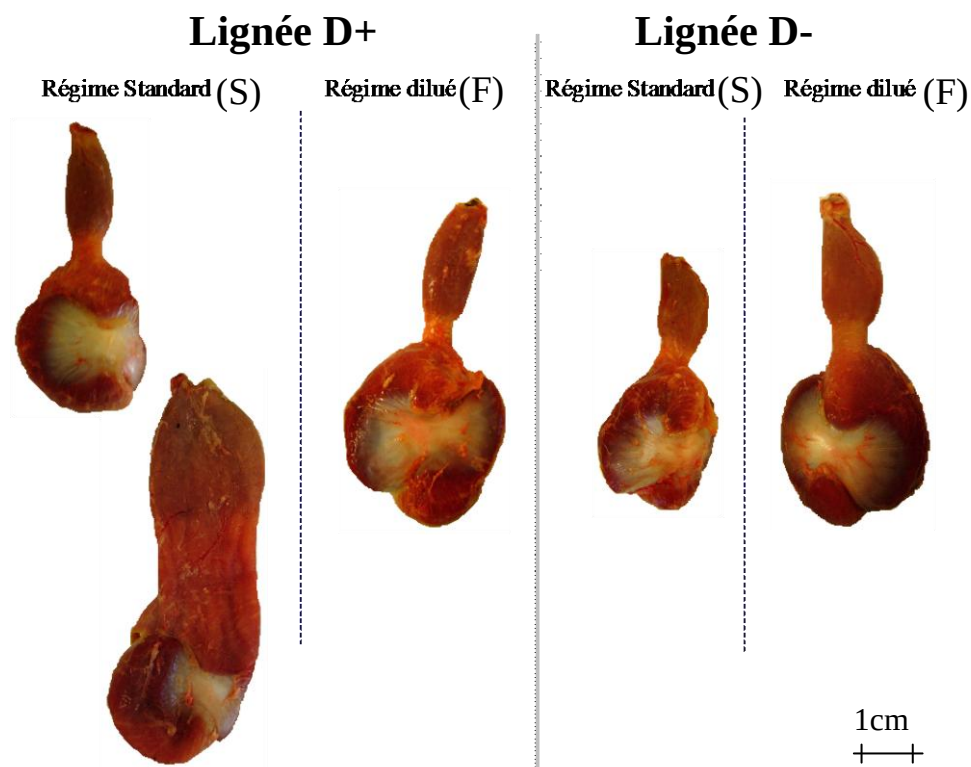


Figure 34. Photographies de proventricule et de gésier appartenant à des poulets D^+ et D^- , à 29 jours d'âge.

A 63 jours d'âge, des mesures d'épaisseur des différents muscles du gésier ont été effectuées, pour tenter d'expliquer l'origine des différences de poids de gésier entre lignées, et pour déceler d'éventuelles interactions entre lignées et régimes sur l'épaisseur des muscles.

La figure ci-dessous montre les différents lieux de mesure :

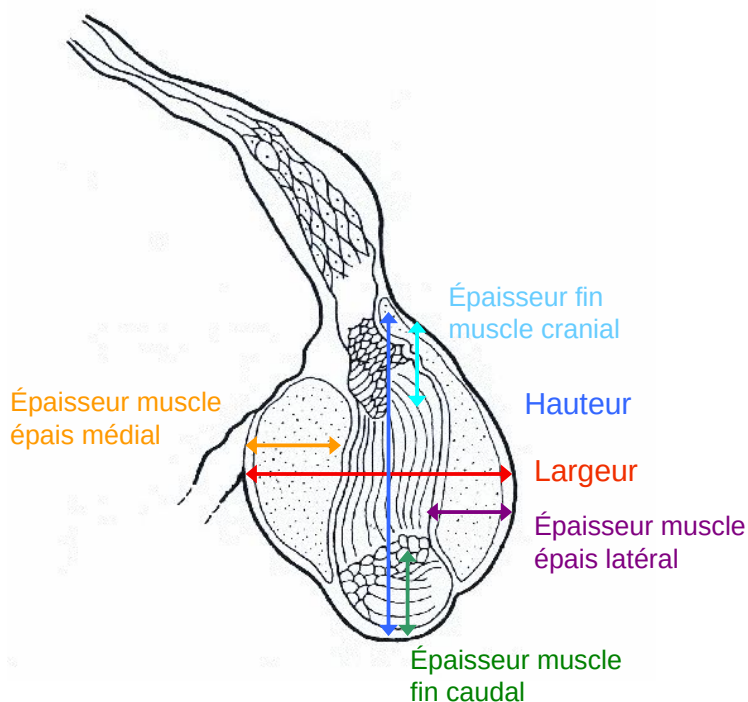


Figure 35. Schéma de l'ensemble proventricule + gésier et des mesures de l'épaisseur des muscles du gésier.

Les données sont exprimées en cm rapportés au poids du gésier (Tableau 18). La hauteur et la largeur du gésier sont supérieures chez les D^+ par rapport aux D^- . Les différences entre lignées semblent surtout provenir de la différence d'épaisseur des « muscles épais », qui sont les plus développés du gésier. L'ingestion du régime dilué F augmente l'épaisseur de tous les muscles. Aucune interaction n'a été observée (Tableau 18) entre lignée et régime pour l'épaisseur des différents muscles et la différence de poids de gésier entre lignées ne provient pas de la croissance d'un muscle en particulier.

Tableau 18. Comparaison de l'épaisseur des différents muscles du gésier chez des poulets de lignée D+ et D-, à 63 jours d'âge, nourris avec le régime standard S ou le régime dilué F (n=9 animaux par traitement).

Lignée	Régime	Largeur (cm/g gesier)	Hauteur (cm/g gesier)	Epaisseur de muscle (cm/g gésier)			
				Muscle fin cranial	Muscle fin caudal	Muscle épais latéral	Muscle épais médial
D+	Standard	133,0	157,5	73,3	65,0	48,0	45,6
	Dilué	121,8	146,6	57,3	66,2	39,2	39,7
D-	Standard	159,1	186,4	84,2	75,4	60,1	59,8
	Dilué	132,4	156,8	64,2	65,3	44,0	42,7
SEM ¹		7,80	8,97	5,38	3,57	4,82	3,99
Valeurs							
Effet Lignée		*	*	0,0997	ns	0,0767	*
Effet Régime		*	*	**	ns	*	**
Lignée x Régime		ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns : $P > 0.05$, * : $P < 0.05$, ** : $P < 0.01$

¹ erreur-type de la moyenne

- Lien entre anatomie et efficacité digestives

Comme dans la première étude, nous avons pu établir une relation positive entre les valeurs individuelles d'efficacité digestive, exprimées par le rapport EMAn mesurée/EMAn calculée, et le rapport de poids [(Proventricule+Gésier)/ Intestin Grêle] (Figure 36) :

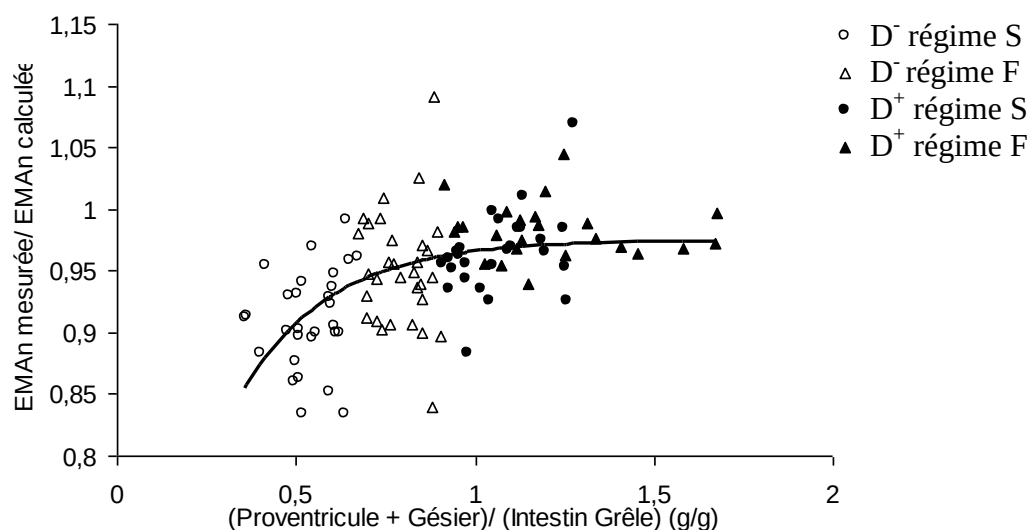


Figure 36. Relation entre les valeurs individuelles de l'efficacité de digestion et le rapport GPIR (Proventricule + gésier/ intestin grêle). L'équation est la suivante : $Y = 1,005 * (0,97 - \text{EXP}(-3,97 * X - 0,711))$.

Les résultats de cette étude ont été acceptés pour publication dans la revue *Animal*.

L'article est présenté ci- après sous sa forme acceptée.

GASTROINTESTINAL TRANSIT IN D⁺ AND D⁻ CHICKENS

**Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D⁺ and D⁻ genetic
lines selected for divergent digestion efficiency**

N. Rougère¹, B. Carré¹

¹*Unité de Recherches Avicoles, Institut National de la Recherche Agronomique (INRA),
37380 Nouzilly, France*

Corresponding author: Bernard Carré. E-mail: bernard.carre@tours.inra.fr

Abstract

D⁺ (high digestion efficiency) and D⁻ (low digestion efficiency) genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency were compared in this experiment. Gizzard functions were tested in terms of digesta mean retention time and reactions to a high dilution of a corn diet with 15% coarse sunflower hulls. The corn standard (S) and high fibre (F) experimental diets were given from 9 days of age to chickens from both lines. Besides the measurements of growth efficiencies (9-20d), digestibilities (20-23d) and gut anatomy (0d, 9d, 29d, 42d and 63d), two digestive transit studies were performed, at 9 and 29d of age. For the transit studies, the S and F diets were labelled with 0.5% TiO₂ and 1% Cr-mordanted sunflower hulls. These diets were fed *ad libitum* during 3 days, and then birds were euthanized. Digestive contents were analysed for the determination of markers concentrations and mean retention times (MRT) in digestive compartments (crop + oesophagus, proventriculus + gizzard, duodenum + jejunum, ileum, rectum + cloaca, and ceca) were determined. D⁺ birds were confirmed as better digesters than D⁻ birds during the growth period, in association with bigger gizzard and pancreas, and lighter small intestine in D⁺ than in D⁻. The MRT in proventriculus-gizzard system, higher in D⁺ than in D⁻ birds, was a major factor associated with differences between D⁺ and D⁻ birds regarding digestion efficiencies and gut anatomy. Diet dilution with fibres reduced differences in digestion efficiencies and proventriculus-gizzard MRT between lines. Differences in gut anatomy between lines tended to disappear after 8 weeks of age. In conclusion, this study showed that MRT in proventriculus-gizzard system was a major factor associated with genotype differences between the D⁺ and D⁻ genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency, with longer MRT found in D⁺ than in D⁻ birds.

Key words: chicken; genetics; digestion; gastric; transit time

Introduction

Digestion in growing chickens fed diets based on wheat, rye or barley has been studied for a long time, since these cereals sometimes can result in reduced feed efficiency (Marquardt et

57 *al.*, 1994) and risk of intestinal bacterial overgrowth (Riddell and Kong, 1992) in chickens.
58 These problems were mainly attributed to the high intestinal viscosity produced by water-
59 soluble non-starch polysaccharides occurring in these cereals (Jensen *et al.*, 1957; Murphy
60 *et al.*, 2009), resulting in negative effects on protein and lipid digestibilities (Choct and
61 Annison, 1992; Carré *et al.*, 2002), and increased intestinal retention time (Danicke *et al.*,
62 1999). So, enzyme feed additives were proposed to be used for alleviating viscosity
63 problems in growing chickens (Marquardt *et al.*, 1994).

64 However, nutritional conclusions with wheat were somewhat different because the level of
65 viscosity was much lower with wheat than with barley or rye (Marquardt *et al.*, 1994; Carré *et al.*,
66 2002), with weak negative relationships between *in vitro* viscosity and nutritional value of
67 wheat (Carré *et al.*, 2002). Negative relationships were also found between particle size or
68 hardness of wheat and starch digestibility in growing chickens (Carré *et al.*, 2002, 2005a).
69 Besides this negative effect of coarse particles, it was proposed that coarse particles could
70 also be positive on digestion efficiencies in growing chickens because coarse particles might
71 result in larger gizzard and better control of gastric emptying with subsequent improved
72 digestion efficiencies (Hetland *et al.*, 2004). For instance, positive relationships were
73 observed between gizzard weight and protein or starch digestibilities in growing chickens
74 (Maisonnier *et al.*, 2001; Péron *et al.*, 2006; Rougière *et al.*, 2009). So, feeding coarse
75 particles could result in conflicting effects on digestion efficiencies in growing chickens,
76 depending on nutrients and origin of feed particles. The genetic origin of birds was also
77 shown to influence the effect of coarse particles, as reported by Rougière *et al.* (2009) in a
78 study using the genetic chicken lines D⁺ and D⁻ selected for divergent digestion efficiency
79 (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). According to Rougière *et al.* (2009), coarse particles resulted
80 in improved digestions of protein and energy in bad digesters (D⁻ birds), whereas no effect
81 was observed in good digesters (D⁺ birds).

82 D⁺ and D⁻ chicken lines were developed because it appeared that the overall variability in
83 digestion efficiencies in growing chickens fed various wheat diets came largely from
84 individual birds, and much less from wheat samples (Choct *et al.*, 1999; McCracken *et al.*,

2001; Carré *et al.*, 2002; Carré *et al.*, 2007). So, genetic selection appeared to be an efficient way to improve digestion efficiency in growing chickens fed on wheat diets (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004; Carré *et al.*, 2007). Besides such an economic interest, D⁺ and D⁻ lines represent also a unique model for the study of physiological and genetic limiting factors of digestions. The latter interest is reinforced by the fact that total digestions in chickens are rather similar to ileal digestions in monogastric mammals, since digestions in caeca and colon are very limited in chickens (Vergara *et al.*, 1989a).

Major differences in gut anatomy were observed between D⁺ and D⁻ lines, with D⁺ birds showing larger gizzard and smaller intestine than D⁻ birds (Péron *et al.*, 2006; García *et al.*, 2007; Rougière *et al.*, 2009). Varying gizzard size by giving diets with a coarse structure provided evidences that gizzard functions were a key determinant in the difference between D⁺ and D⁻ digestion efficiencies (Rougière *et al.*, 2009). Stomach in chickens is divided into two compartments, the proventriculus or glandular part where the secretions of HCl and pepsinogen occur, and the gizzard or muscular part where the digesta are ground (Duke, 1986). Gizzard emptying in the duodenum is controlled by the pylorus that allows particles to move to the duodenum once they reach a critical size (Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a).

It may be supposed that the difference in gizzard weight observed between D⁺ and D⁻ lines is associated with differences in gastric emptying. The first aim of this experiment was to test this hypothesis, under variable conditions regarding gizzard stimulation. This variation was obtained by using two corn diets differing in fibre addition. Corn was used instead of any other cereal in order to get similar nutritional conditions for both lines, since difference in dietary metabolizable energy (**ME**) value between D⁺ and D⁻ lines does not exceed 6% with a corn diet (Rougière *et al.*, 2009), while this can reach 27% with a wheat diet (Garcia *et al.*, 2007). Retention times in digestive compartments were estimated by measuring amount of indigestible markers in stomach and in intestinal segments in birds under continuous feeding. Protein digestibility and ME values were also measured in order to establish relationships between retention times, gut anatomy and digestion efficiencies.

Another aim of the experiment was to examine the differences in gut anatomy between lines during their growth, as it was previously shown that the difference in feed efficiency between D⁺ and D⁻ lines was a transient phenomenon disappearing at 8 weeks of age (Carré *et al.*, 2005b). So, the anatomical study was performed from 0 to 63 days.

Implications

The experiment can be helpful for the research of genes implicated in digestion efficiency variations in broiler chickens. The experiment also supplies information on the beneficial effects of fibres on digestion efficiency in broiler chickens, that can be used in practice by feed manufacturers.

Materials and Methods

Experimental animals

Chickens from genetic divergent lines D⁺ (high digestion efficiency) and D⁻ (low digestion efficiency) were used in this experiment. This selection was conducted from 2002 at the Avian Research Unit (INRA, Nouzilly, FRANCE), on the basis of the apparent ME value of a wheat-based diet, corrected to zero nitrogen retention (**AMEn**), measured at 3 wk of age (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). The wheat samples of diets used for this genetic selection were all from the Rialto cultivar characterized by a very high viscosity of its water extract and a medium hard value. Heritabilities of digestion efficiencies were observed to be rather high, in the range of 0.33-0.47 (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). No significant genetic correlation was observed between 3wk body weight and AMEn (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004).

In the current experiment, chickens were obtained from the 8th generation of selection. On the 8th generation, the relative differences ($P<0.0001$) in the AMEn value of the wheat-based diet and in digestibilities of starch, lipids and proteins were observed to be 32, 29, 42 and 10% between lines, respectively, with 211 birds being individually tested in each line; digestion efficiencies were not significantly affected by sex effect.

For each line, 141 birds were removed from the hatcher, wing-banded and assigned at random to 4 groups, as follows: group 1 (25 birds from each line) was used for gut anatomy

determination at 0d. Group 2 (34 from each line) was used for gut anatomy determinations at 9d. In this group, 23 birds from each line were also used for transit time study at 9d. Group 3 (22 from each line) was used for transit time and gut anatomy studies at 29d. Group 4 (60 from each line) was used for feed efficiency determination from 9d to 20d, for digestive balance experiment from 20d to 23d and for gut anatomy determination at 29d (12 birds from each line), 42d (20 birds from each line) and 63d (26 birds from each line). Birds were placed in metal cages at 0d with 3 or 4 chicks per cage. At 9d, the chicks were randomly allocated to individual cages (36 cm length x 22 cm width x 40 cm height) provided with an individual feeder and a drinking system. Environment conditions were controlled for ventilation, light (23L: 1D with dark period beginning at 12 pm) and temperature (34°C at 1d, 33°C until 3d, 31°C until 8d, 29°C until 15d, 26°C until 22d, and 24°C until 63d). From 44d, birds were transferred to 2 floor pens (7.3m² each), with one pen being assigned to S diet, and the other one to F diet.

Experimental diets were given *ad libitum* throughout the experiment, except during food deprivation periods.

All experiments were carried out with due regard to legislation governing the ethical treatment of animals, and the animal handling protocols were allowed to be conducted according to the authorization N° 007196 delivered by Indre-et-Loire Préfecture (France).

Experimental diets

Two standard diets (**S**) based on corn and soybean meal were formulated to meet the nutrient requirement of growing birds for the 0-35d and 35-63d periods (Table 1). Fibre diets (**F**) were made by diluting the S diets with 15% coarse sunflower hulls (**H**).

Labelled diets used in the transit studies were prepared by including 0.5% TiO₂ and 1% Cr-mordanted H as dietary markers in diets S and F formulated for the 0-35d period. The particle size of TiO₂ was comprised between 80 and 200nm. Mordanting of H with chromium was prepared as described by Uden *et al.* (1980). Before mordanting, the hulls particles were sieved and only particles larger than 1.6 mm were kept. Particle size measurements were

conducted under wet conditions as described by Péron *et al.* (2005). The Geometrical Mean Diameter (**GMD**) of H particles of F diets, before pelleting, was 1029 μ m. Before diet pelleting, 90% of Cr-mordanted H particles were bigger than 2mm (GMD = 3156 μ m). Measured concentrations of markers in labelled diets were 0.20% Cr₂O₃ and 0.57% TiO₂. In the S labelled pelleted diet, 19.7% of the total Cr₂O₃ was in the fraction over 0.85mm, 16.3% in the fraction [0.6-0.85mm], 32% in the fraction [0.3-0.6mm], and 25.2% was in the fraction under 0.15mm. In the F labelled pelleted diet, 30.5% of the total Cr₂O₃ was in the fraction over 0.85mm, 23% in the fraction [0.6-0.85mm], 25.2% in the fraction [0.3-0.6mm] and 9.7% was in the fraction under 0.15mm. GMD of diets were 187 μ m and 234 μ m for S and F pelleted diets (< 35d), respectively.

All diets were pelleted before feeding.

The Standard S diet containing 60.5% corn and 33.5% soybean meal was distributed to all chicks from hatching until 9d. Then, half birds from each group and each line continued to be fed the S diets, and the other half was fed the F diets.

Feed efficiency and digestion efficiency parameters

Individual growths and feed intakes were measured with the group 4 composed with 120 birds (30 birds per treatment [(2 lines (D⁺, D⁻) x 2 diets (S, F))] between 9 and 20 days of age. Then, a digestive balance experiment was conducted from 20 to 23d, using the method of total excreta collection with food deprivation periods, as previously described by Péron *et al.* (2005), to determine the AMEn value of diets, and the total apparent protein digestibility.

Digestive organ weight

Measurements of digestive organ weight were performed at 0, 9, 29, 42 and 63d. Birds were weighed, then euthanized by intracardiac injection (1.5ml/kg BW) of pentobarbital (Sanofi, Marne la Coquette, France), without previous feed deprivation.

The group 1 (50 chicks (25 D⁺, 25 D⁻)) was euthanized at hatching (0d). The digestive tract was removed and divided into 3 parts: proventriculus, gizzard and small intestine. The segments were subsequently weighed.

On day 9, all birds from group 2 (n = 34 birds per genotype; all birds fed with the S diet) were euthanized for anatomical dissection. On day 29, all birds from group 3 and 24 birds from group 4 (n=17 birds per treatment (2 genotypes x 2 diets (S and F)) were euthanized. On day 42, 40 birds from group 4 were euthanized (n = 10 birds per treatment (2 genotypes x 2 diets)). On day 63, 52 birds from group 4 (n=13 birds per treatment (2 genotypes x 2 diets)). Proventriculus, gizzard, duodenum (from the pylorus to the distal portion of the duodenal loop), jejunum (from the distal portion of the duodenal loop to Meckel's diverticulum) and ileum (from the Meckel's diverticulum to the ileocecal junction) were isolated, emptied and weighed. Pancreas was weighed from 29d.

All digestive organ weights were related to body weight and expressed as mg/g BW.

Transit studies - Mean Retention Time (MRT) Measurements

Trial 1. At 5d, after 8 hours fasting, birds from group 2 (n = 23 chicks per line) were fed *ad libitum* the labelled version of S diet until 9d. Daily consumption was measured from 8 to 9d to estimate the rate of intake of markers. Birds' euthanasia for digestive content sampling started at 9 a.m., i.e. 8 hours after the 1-hour dark period (see above). At 9d, without fasting, chicks were euthanized by intracardiac injection (1.5ml / kg BW) of pentobarbital (Sanofi, Marne la Coquette, France). The digestive tract was immediately removed and separated into eight segments (oesophagus + crop, proventriculus, gizzard, duodenum, jejunum, ileum, rectum + cloaca, and ceca) with clamps to avoid movement of digesta during handling of gut. The whole of digestive contents from each segment were transferred into small plastic vials and frozen at -20°C. Empty segments were also weighed (see above).

Trial 2. A second trial was performed from 26d. After 8h of feed deprivation, birds from group 3 (n = 11 birds per treatment) were fed the 2 corresponding labelled diets. Daily consumption was measured from 28 to 29d to estimate the rate of intake of markers. Birds' euthanasia for digestive sampling started at 9 a.m., i.e. 8 hours after the 1-hour dark period. On d 29,

digestive contents were collected as described above for the first trial. Empty organs were also weighed (see above).

Thereafter, all stored digestive contents were freeze-dried, weighed and ground (grinder IKA-WERK A10) for further analyses. Contents of proventriculus and gizzard were mixed together, and those of duodenum and jejunum were also mixed.

Analytical Methods

Gross energy value of diets and excreta, and dietary contents of water-insoluble cell wall (**WICW**) were measured as described by Carré *et al.* (2002). Total nitrogen content was determined in diets and excreta using Kjeldhal method. Uric acid content of excreta was measured using the method of Marquardt (1983). Protein nitrogen content of excreta was estimated by subtracting uric acid nitrogen from total nitrogen, in order to calculate total apparent protein digestibility.

The particle size distribution of pelleted diets was assessed by wet sieving as previously described (Péron *et al.*, 2005), using 10 sieves ranging from 75 µm to 3,150 µm.

TiO₂ concentration was determined in labelled diets and in digestive contents by a simplified method of Short *et al.* (1996): 500 mg of diet or freeze-dried digesta were treated in 20 ml concentrated H₂SO₄ (95 %) at boiling temperature in the presence of a catalyst (Kjeltabs auto, 1.5g K₂SO₄ + 7.5mg Se). After cooling, the solutions were quantitatively transferred into 25ml volumetric flasks; the volume was adjusted to 25ml with distilled water. Then 1.2ml of each sample solution was transferred into semi-micro cuvettes, and 0.4ml distilled H₂O + 0.4ml H₂O₂ (30 %) were added. After mixing, the absorbance was measured at 410 nm.

The chromic oxide concentrations in labelled diets and digesta were determined as described by Bolin *et al.* (1952), with some modifications, as follows: 100-500 mg samples were put in previously weighed flasks. Then, they were treated at 220°C for 10 min in 5ml of an oxidizing solution made by mixing 10g sodium molybdate, 150ml concentrated sulfuric acid (95%), 200ml perchloric acid and 150ml distilled water. After cooling, 2ml perchloric acid

were added again and solutions were heated at 240°C for 30 min. After cooling, weights of final solutions were determined by weighing flasks. A 0.5ml aliquot of solution was weighed and transferred into a small micro-centrifuge tube, and 0.5ml distilled H₂O were added. After 90 minutes wait, centrifugation was performed (11400tr.min⁻¹, 5min), and the supernatant was transferred into a spectrophotometer semi-micro cuvette. The absorbance was then immediately read at 440 nm against distilled water.

Calculations

Apparent metabolizable energy values of diets measured in birds were corrected to zero nitrogen retention (AMEn) as described by Hill and Anderson (1958). Calculated AMEn values of diets were obtained using the measured gross energy (**GE**), CP and WICW contents of diets, according to Carré and Brillouet (1989):
AMEn (DM basis) = 0.9362 GE (Kcal/kg) - 15.38 CP (%) - 25.16 WICW (%)^{1,2} (AMEn and contents on DM basis).

The measured to calculated AMEn ratio (**MCR**) was calculated to assess the variations in the digestibility of whole food components.

The MRT in digestive segments were calculated from the ratio between the amount of marker measured in a segment and the daily marker intake (Van der Klis *et al.*, 1990) using the following equation assuming a steady state of digestive flow:

$$\text{MRT (min)} = 1440 \frac{\text{marker in segment (mg)}}{\text{marker intake (mg/d)}}, \text{ where } 1440 = \text{number of minutes per day.}$$

Statistical Analyses

Data are presented as means ± SEM. Analyses of variance were performed using the Statview software (SAS Institute Inc., Cary, NC, 1992-1998, version 5.0). Two-way ANOVA analyses were performed to assess combined effects of line, diet, and the interactions between line and diet. If the F-test for treatment effects was significant, differences among

treatment means were determined with the Fisher PLSD multi-comparison test. Significance was set at $P < 0.05$.

Results

Diet composition and particle size

As expected, F diets showed higher WICW content and lower protein contents than S diets, due to dilution by sunflower hulls (Table 1). Proportion of particles over 0.85mm tended to be higher in F diet (22.5%) than in S diet (18.2%) ($P = 0.065$).

Effect of lines and diets on feed efficiency and digestion efficiencies

Feed efficiency. Feed intake was greater ($P < 0.001$) in D^- birds than in D^+ birds (Table 2). In both lines, feed intake was greater ($P < 0.05$) with F diet than with S diet. D^+ birds showed a higher ($P < 0.001$) feed efficiency than D^- birds. Diet dilution lowered ($P < 0.001$) feed efficiency by 14.3 and 7.7%, in D^+ and D^- lines, respectively. A line x diet interaction ($P < 0.05$) was observed on feed efficiency, with a 12.5% difference between lines with S diet against 7.1% with F diet.

Protein digestibility and AMEn. D^+ birds showed, in mean, a 5 percentage unit higher ($P < 0.001$) protein digestibility than D^- birds (Table 2). Although there was no significant diet effect on protein digestibility, an interaction ($P < 0.05$) was observed between line and diet: the difference between lines was reduced from 7.4 to 2.7 percentage units with F diet compared to S diet, and digestibility tended to be improved by the dilution in D^- , whereas it tended to be decreased in D^+ birds (Table 2). AMEn and MCR were, in mean, 5.5% higher ($P < 0.001$) in D^+ birds than in D^- birds. AMEn was reduced ($P < 0.001$) with F diet. However, the AMEn difference between lines was reduced by 36% with F diet compared to S diet, resulting in an interaction ($P = 0.054$). MCR was improved ($P < 0.001$) in both lines by diet dilution.

306

307 *Effects on digestive organ weights*

308 *Comparison of organ growth between lines from 0d to 63d (S diet).* Except for the duodenum
309 ($P > 0.05$), genotype had an influence on organ relative weight (**RW**) from 9d onwards. No
310 difference could be detected at hatching (Figure 1). From 9d, D⁺ birds had higher
311 proventriculus ($P < 0.01$) and gizzard ($P < 0.05$) RW, higher [(Gizzard + Proventriculus) /
312 small Intestine] weight ratio (**GPIR**) ($P < 0.001$), smaller ileum ($P < 0.01$) and intestine ($P <$
313 0.01) RW than D⁻ birds (Figure 1, Table 3). Jejunum RW was smaller ($P < 0.05$) in D⁺
314 compared to D⁻ birds from 29d (Table 3).

315 From 29d, enlarged proventriculi were observed on several D⁺ birds fed S diet, resulting in
316 high RW means and high standard errors (Figure 1).

317 Differences in gut anatomy between lines were considerably reduced at 63d. The RW of
318 gizzard was maximal at hatching and decreased with age until 63d (Figure 1). RW of
319 proventriculus and of small intestine increased from hatching until 9d and then decreased
320 until 63d (Figure 1). The GPIR decreased sharply from hatching to 9d and then showed
321 much less variation until 63d.

322

323 *Combined effects of lines and diets on digestive organs weights (29d to 63d).* With both
324 diets, D⁺ birds had greater ($P < 0.05$) proventriculus and gizzard RW, and a greater GPIR
325 than D⁻ birds. With both diets, D⁺ birds had smaller ($P < 0.01$) RW of jejunum and ileum than
326 D⁻ birds (Table 3). No significant effect was observed on duodenum whatever the age of
327 birds.

328 RW of gizzard and pancreas were increased ($P < 0.05$) by diet dilution (Table 3). From 29 to
329 63d, the RW of gizzard was, in mean, about 40% higher with F diet than with S diet. The
330 increase in gizzard RW was stronger in D⁻ birds than in D⁺ birds, resulting in an interaction (P
331 < 0.05) between line and diet at 29 and 42d (Table 3). Strong line x diet interactions ($P <$
332 0.01) were observed on proventriculus RW throughout the study: there was no diet effect in
333 D⁻ birds, whereas the RW was reduced in D⁺ birds with F diet compared to S diet (Table 3).

There was only a slightly higher ($P < 0.05$) pancreas RW in D^+ than in D^- at 42d. A positive effect of F diet ($P < 0.05$) was observed on pancreas RW at 29 and 42d in both lines, and disappeared at 63d. Pancreas RW was increased ($P < 0.05$) with F diet in both lines, at 29 and 42d.

The RW of small intestine parts (duodenum, jejunum, and ileum) were not affected by diet throughout the study (Table 3).

Ceca were observed to be bigger in D^+ than in D^- birds ($P < 0.001$) (Table 3).

GPIR was, in mean, 50% higher in D^+ than in D^- birds ($P < 0.001$), with smallest difference between lines at 63d (Table 3). F diet resulted in higher GPIR compared to S diet, only in D^- birds. No diet effect was observed on GPIR in D^+ birds (Table 3). The relative difference in GPIR of 120% between D^+ and D^- birds fed on S diet was reduced to 30% with F diet, at 29 and 42 days of age (Table 3). This line $\times$ diet interaction on GPIR was not observed any more at 63d (Table 3).

Effects of lines and diets on digestive transit times

Comparison of digesta MRT between lines at 9d. The MRT in the entire digestive tract was about 60% longer ($P < 0.001$) in D^+ birds than in D^- birds for both markers (Table 4). Total MRT were about twice longer with Cr-mordanted H than with TiO_2 . MRT in the upper digestive compartments, namely the [Proventriculus + gizzard] system (**P+G**), were twice longer in D^+ birds than in D^- birds. MRT in the small intestine were similar ($P > 0.05$) for both lines, with both markers.

MRT in P+G were much longer for Cr-Mordanted H than for TiO_2 whereas they were similar in intestine segments. Shortest MRT were observed in [Rectum + cloaca] and Ceca (Table 4).

Effects of lines and diets on TiO_2 MRT at 29 d. The MRT in the total digestive tract was longer ($P < 0.001$) in D^+ than in D^- birds with both diets (Table 5). The MRT in the P+G compartment was much longer ($P < 0.001$) in D^+ birds than in D^- birds with S diet, while, with

F diet, no significant difference was observed. Feeding F diet instead of S resulted in increased MRT in the P+G compartments for D⁻ birds but not for D⁺ birds.

MRT in the ceca was longer ($P < 0.05$) in D⁺ birds than in D⁻. Neither line effect nor diet effect was observed on MRT in the other digestive segments (Table 5).

Effects of lines and diets on MRT of Cr-mordanted H at 29 d. Total MRT was much longer ($P < 0.001$) in D⁺ than in D⁻ birds with S diet, whereas this was not significantly different with F diet (Table 5). Total MRT decreased in D⁺ line with F diet, whereas it was not significantly affected in D⁻ line. MRT values in P+G were much longer ($P < 0.001$) in D⁺ birds than in D⁻ birds with S diet and did not differ between lines with F diet. MRT was decreased with F diet in D⁺ birds, whereas it was increased in D⁻ birds (Table 5).

MRT of Cr-Mordanted H tended to be longer than MRT of TiO₂ in P+G compartment, whereas they were rather similar in other compartments except in ceca that showed highest MRT for TiO₂ (Table 5).

Relationships between digestion efficiencies at 3 weeks of age and MRT in the proventriculus-gizzard system at 4 weeks in D⁺ and D⁻ chickens fed on S or F diets were significant ($P < 0.05$) except the relationship between MCR and mean retention time of Cr-mordanted H (Figure 2).

Comparison of MRT between ages. For both lines, in birds fed S diet, total MRT obtained with TiO₂ and with Cr-Mordanted H were lower ($P < 0.05$) at 29d than at 9d (Tables 4 and 5). This was especially due to a decrease in retention time in upper digestive segments and a tendency to decrease in the ileum.

Discussion

Relationships between genes and digestive functions have been extensively studied using knockout animals (Choi *et al.*, 2007) or polymorphism genotyping (Yeo *et al.*, 2004). Very few studies have been conducted using genetic lines selected on quantitative digestive

parameters. In this regard, D⁺ and D⁻ divergent genetic chicken lines represent a unique model. The interest in using such genetic lines lies in that a hierarchy in genetic determinants can be proposed. This study shows that gastric retention time can be a major factor explaining individual genetic variations in chicken digestion efficiency. These results will be of great help in the proposal of candidate genes, when quantitative trait locus (QTL) analyses will be performed with these lines.

For the small intestine, no significant relationship was observed between individual retention times and relative weights of corresponding digestive compartments. In contrast, strong positive relationships ($0.34 < R^2 < 0.44$; $P < 0.001$) were observed for the gastric compartment. This is in agreement with the observation of a longer gizzard MRT (adjusted to a mean BW) associated with a larger gizzard relative weight in Leghorn than in broiler chickens (Shires et al., 1987). So, variations in proventriculus and gizzard weights can be extended to variations in gastric retention times. Thus, the relationships between digestion efficiency and gizzard or proventriculus weights observed in current and previous studies in D⁺ and D⁻ lines (Péron et al., 2006; García et al., 2007; Rougière et al., 2009) may be accounted for by a positive effect of gastric retention time on digestion efficiency. This is in agreement with the statement that gastric emptying is a key for the small intestine efficiency (Kelly, 1981). However, reports of relationships between gastric retention time and efficiency of the small intestine are very scarce. Fledderus et al. (2007) observed this relationship in piglets by varying diet composition. Kirby et al. (2004) varied both pharmacological treatment and genetic origin of animals to obtain in mice such a relationship. This relationship was observed in our study (Figure 2) by combining variations coming both from diet composition and animal genetics.

Differences in gizzard and proventriculus weights between D⁺ and D⁻ lines were already observed in previous studies (Péron et al., 2006; García et al., 2007; Rougière et al., 2009). This study shows that this difference is a transient phenomenon associated with growth, appearing during the early stage and decreasing in the last stage of growth. This was

consistent with a previous study showing a similar transient difference in residual feed intake between D⁺ and D⁻ lines (Carré *et al.*, 2005b).

Feed intake was observed to be higher in D⁻ than in D⁺ birds, whereas gizzard and proventriculus were bigger in D⁺ than in D⁻ birds. These reversed differences exclude the hypothesis that difference in feed intake can explain differences in gizzard and proventriculus sizes between lines. However, this does not exclude the fact that feeding is an important interacting factor. The main interactive feeding factor would not concern quantity. This would concern feeding quality regarding rheologic properties of feed particles. This is supported by the fact that fibre addition in diets considerably reduced differences between lines regarding proventriculus and gizzard sizes. Fibre added in F diet displayed bigger particle size than the remaining part of diet. A previous study showed that feed particle size was an important interactive factor in the differences between D⁺ and D⁻ lines (Rougière *et al.*, 2009). However, it is probable that the coarse appearance of fibre is not their only property that could affect gizzard growth, as it was also previously observed that feeding different sources of fibre could result in different gizzard sizes with no explanation from particle size differences (Gonzalez-Alvarado *et al.*, 2008). It was previously proposed that the flexibility of particles was probably an important property of particles explaining their gizzard retention time (Ferrando *et al.*, 1987), with, probably, subsequent consequence on gizzard growth.

From these observations, it can be deduced that feeding participated in proventriculus and gizzard growths, and that chicken sensitivity to feeding stimulations differed between D⁺ and D⁻ lines.

It is noteworthy that the pattern of line x diet interactions differed between gizzard and proventriculus growth. In D⁺ birds, fibre addition reduced proventriculus, whereas it increased gizzard size. This was not observed in D⁻ birds. Great variabilities in gizzard and proventriculus sizes were observed in D⁺ birds. These variabilities were abolished when the (proventriculus + gizzard) sum was considered, with no diet effect on this sum in D⁺ birds. So, it seems that, in D⁺ birds, the gizzard undergrowth observed with S diet was compensated by a proventriculus overgrowth. It is possible that, in D⁺ birds, stimulation by S

diet was not sufficient for reaching the potential of gizzard growth, which resulted in small gizzard with insufficient grinding power in these birds and subsequent stay of big particles in the proventriculus-gizzard system. This was reflected by MRT values of big particles in the proventriculus and gizzard system, higher with S diet than with F diet in D^+ birds. So, for D^+ birds fed S diet, feeding stimulus was probably not sufficient for gizzard growth and grinding power, then, proventriculus completed gizzard in regards to its storage function. Feeding only small particles to chickens was already shown in the past to result in enlarged proventriculus (O'Dell *et al.*, 1959). Our results show that this phenomenon depends on the genetic origin of birds.

It was previously proposed that, in chicken, particles are delivered from gizzard to duodenum only if their size is lower than a critical value (Vergara *et al.*, 1989a). According to our results, it can be hypothesized that this critical size was smaller in D^+ than in D^- birds, and was decreased by particle stimulation only in D^- birds. This critical size would control gastric emptying and amount of feed remaining in proventriculus-gizzard system. Thereafter, gizzard growth and grinding power would be stimulated by particles in gizzard. Avian gastric motility and emptying can be controlled through several pathways involving cholecystokinin (Martinez *et al.*, 1993) or avian pancreatic polypeptide (Duke *et al.*, 1979). Future works should examine how these pathways are involved in D^+ and D^- birds. Neurologic approaches through examination of stretch responsive genes, such as those coding for nitric oxide synthase (Mashimo and Goyal, 1999) should also be considered. Another matter of consideration for future works should concern interstitial cells of Cajal that are involved in neurology of avian gizzard (Reynhout and Duke, 1999).

In contrast with gizzard, no significant effect was observed on MRT in the crop (Tables 4 and 5). Digesta were retained shortly in the crop, as found in broilers by Shires *et al.* (1987). Birds were fed *ad libitum*, which probably resulted in continuous feeding without any meal effect, as usually observed in chickens. So, feed was probably not stored in the crop and passed directly to the gizzard, which would explain the very short MRT measured in the crop.

Duodenum weight was not affected at all by line and dietary factors, whereas other intestinal segments were affected, which was similar to results found in a previous study (Rougière *et al.*, 2009). Jejunum and ileum were heavier in D⁻ than in D⁺ birds, as previously found (Rougière *et al.*, 2009), with line effects appearing and decreasing along growth, in the same time as the line effects observed for weight of proventriculus-gizzard system. So, growths of small intestine and proventriculus-gizzard system were closely associated. The intestine enlargement observed in D⁻ compared to D⁺ birds was probably an adaptation process trying to counteract the digestive disorders occurring in D⁻ birds.

The digestive anatomy of white Leghorn compared to broiler chickens showed similar trends to that of D⁺ compared to D⁻, with bigger gizzard and smaller intestine in white Leghorn than in broiler chickens (Shires *et al.*, 1987). This suggests that, among chickens from various genotypes, there is perhaps a general negative relationship between gizzard and intestine weights.

No diet effect was observed on compartment weights of small intestine, whereas strong diet effects were observed on the weight of proventriculus-gizzard system. This lack of fibre effect on small intestine weight could be explained by two conflicting effects produced by fibre addition. On one hand, bulking effect of fibre would induce a positive effect on intestinal growth (Savory and Gentle, 1976). On other hand, improved gizzard functions due to fibre would be negative on intestinal growth, as similarly observed in current and previous experiments (Péron *et al.*, 2006; Rougière *et al.*, 2009) for the genetic line effects. So, these two opposite effects acting together would result for our experiment in no significant effect of fibre on intestinal growth.

Considering that a long time is generally required for intestinal fermentation processes, MRT observed for ceca (9-50 min) could seem rather low. Moreover, Vergara *et al.* (1989a) observed a much longer retention time for liquid phase entering the ceca. In fact, ceca MRT measured in our experiment represented a mean value taking account of all particles, including those entering the ceca and those not entering the ceca. So, most of the variations in ceca MRT reported here probably reflected variations in percentage of particles entering

the ceca. In this regard, ceca MRT were shorter for Cr-mordanted H than for TiO₂, which is consistent with the fact that, in chickens, proportions of particles entering the ceca are lower for big than for small particles (Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a).

Ceca functions were less developed in D⁻ than in D⁺ birds, as shown by lower ceca weight and MRT in D⁻ than in D⁺ birds. Variability in ceca weight and functions in growing chickens was already observed in the past, according to genetic origin of birds (Maisonnier *et al.*, 2001) or according to quality of diets (Carré *et al.*, 1995).

Effects observed on pancreas were similar to those previously observed (Rougière *et al.*, 2009). However, the great number of animals investigated in the current study could improve the significance of statistical analyses. So, combining all the individual data obtained at different ages, the covariance analysis considering pancreas weight as a function of body weight, diets and lines showed that pancreas was biggest in D⁺ (+ 8%; $P < 0.05$) compared to D⁻ birds, and in F diet fed birds (+ 12%; $P < 0.001$) compared to S diet. Combining all individual data, pancreas weight was observed to be positively associated ($R^2 = 0.16$; $P < 0.001$) with gizzard weight (calculation performed on residual values from linear regressions giving organ weights as function of body weight), which suggests a common pathway for regulation of growths of pancreas and gizzard. Individual pancreas weight did not show significant relationship with other digestive organ weight (calculations performed on residual organ weights) except with duodenum (positive relationship: $R^2=0.07$; $P<0.05$).

Evolution of total MRT from 9 to 29 days of age was consistent with previous studies indicating a decrease in MRT with growth of chicken (Vergara *et al.*, 1989b). This decrease could be explained by increased feed intake relative to body weight during first weeks of growth, as hypothesized by Vergara *et al.* (1989b).

In conclusion, this study showed that MRT in proventriculus-gizzard system was a major factor associated with genotype differences between the D⁺ and D⁻ genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency, with longer MRT found in D⁺ than in D⁻ birds. Differences in digestion efficiency and proventriculus-gizzard MRT between lines were both markedly reduced by adding coarse fibre in diets. The variation in proventriculus-gizzard

MRT was positively associated with proventriculus-gizzard relative weight and digestion efficiencies, with variations coming either from genotypes or from diets. So, proventriculus-gizzard MRT is probably a major limiting factor for digestion efficiencies in chickens.

No significant effect of line (D^+ versus D^-) or fibre addition was observed on MRT in compartments of small intestine. Variations in pancreas relative weight were positively associated with variations in gizzard relative weight. Differences in gut anatomy between D^+ and D^- lines were observed to be a transient phenomenon appearing at 9 days of age and almost disappearing at 63 days.

The current study provides useful information for the research of candidate genes involved in the divergent genetic selection of D^+ and D^- chicken lines. It also provides practical information about the techniques to be used for selecting improved digestion efficiency in broilers. According to our results, this could be done on the basis of the gizzard relative weight measured during the rapid growth period in birds fed a common industrial feed.

Acknowledgments

The authors are grateful to Inzo° (Chateau-Thierry, France) and French Research Ministry for a CIFRE financial grant, and to Mr. P. Chervier (SAIPOL Lezoux, France) for providing the sunflower hulls. We thank Dr Sandrine Mignon-Grasteau (INRA Nouzilly) for helpful discussions and for her participation in the supply of D^+ and D^- chickens. We thank Ms Nadine Sellier and Mr J.-D. Terlot for the breeder management, Mr. K. Gérard and Mrs. F. Favreau for helpful assistance in bird experiments, and all persons who helped for anatomical determinations.

References

- Bolin DW, King RP and Klosterman EW 1952. A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr_2O_3) when used as an index substance. *Science* 116, 634-635.
- Carré B and Brillouet JM 1989. Determination of water insoluble cell walls in feed : interlaboratory study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemists* 72, 463-467.

556 Carré B, Flores MP and Gomez J 1995. Effects of pelleting, lactose level, polyethylene glycol
557 4000, and guar gum compared to pectin on growth performances, energy values, and losses
558 of lactose, lactic acid, and water in chickens. Poultry Science 74, 1810-1819.

559 Carré B, Idi A, Maisonnier S, Melcion JP, Oury FX, Gomez J and Pluchard P 2002.
560 Relationships between digestibilities of food components and characteristics of wheats
561 (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. British
562 Poultry Science 43, 404-415.

563 Carré B, Muley N, Gomez J, Oury F X, Laffitte E, Guillou D and Signoret C 2005a. Soft
564 wheat instead of hard wheat in pelleted diets results in high starch digestibility in broiler
565 chickens. British Poultry Science 46, 66-74.

566 Carré B, Mignon-Grasteau S, Svihus B, Péron A, Bastianelli D, Gomez J, Besnard J and
567 Sellier N 2005b. Nutritional effects of feed form, and wheat compared to maize, in the D⁺ and
568 D⁻ chicken lines selected for divergent digestion capacity. In Proceedings of the 15th
569 European Symposium of Poultry Nutrition, Balatonfüred, Hungary, pp. 42-44. WPSA,
570 Budapest.

571 Carré B, Mignon-Grasteau S, Péron A, Juin H and Bastianelli D 2007. The wheat value:
572 improvements by feed technology, plant breeding and animal genetics. World's Poultry
573 Science Journal 63, 585-596.

574 Choct M and Annison G 1992. The inhibition of nutrient digestion by wheat pentosans. British
575 Journal of Nutrition 67, 123-132.

576 Choct M, Hughes RJ and Bedford MR 1999. Effects of a xylanase on individual bird variation,
577 starch digestion throughout the intestine, and ileal and caecal volatile fatty acid production in
578 chickens fed wheat. British Poultry Science 40, 419-422.

579 Choi KM, Gibbons SJ, Roeder JL, Lurken MS, Zhu J, Wouters MM, Miller SM, Szurszewski
580 JH and Farrugia G 2007. Regulation of interstitial cells of Cajal in the mouse gastric body by
581 neuronal nitric oxide. Neurogastroenterology and Motility 19, 585-595.

582 Danicke S, Vahjen W, Simon O and Jeroch H 1999. Effects of dietary fat type and xylanase
583 supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the

584 intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. Poultry Science 78,
585 1292-1299.

586 Duke, GE 1986. Alimentary canal: Secretion and digestion, special digestive functions, and
587 absorption. In Avian Physiology (Sturkie, P. D., ed.), pp. 289-302. Springer- Verlag, New
588 York

589 Duke GE, Kimmel JR, Redig PT and Polluk HG 1979. Influence of exogenous avian
590 pancreatic polypeptide on gastrointestinal motility in turkeys. Poultry Science 58, 239-246.

591 Ferrando C, Vergara P, Jimenez M and Gonalons E 1987. Study of the rate of passage of
592 food with chromium-mordanted plant cells in chickens (*Gallus gallus*). Quarterly Journal of
593 Experimental Physiology 72, 251-259.

594 Fledderus J, Bikker P and Kluess JW 2007. Increasing diet viscosity using
595 carboxymethylcellulose in weaned piglets stimulates protein digestibility. Livestock
596 Science 109, SI, 89-92.

597 García V, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N and Carré B 2007. Effects of xylanase and
598 antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks from
599 genetic D⁺ and D⁻ lines selected for divergent digestion efficiency. Animal 1, 1435-1442.

600 Gonzalez-Alvarado JM, Jimenez-Moreno E, Valencia DG, Lazaro R, and Mateos GG 2008.
601 Effects of fibre source and heat processing of the cereal on the development and pH of the
602 gastrointestinal tract of broilers fed diets based on corn or rice. Poultry Science 87, 1779-
603 1795.

604 Hetland H, Choct M and Svihus B 2004. Role of insoluble non-starch polysaccharides in
605 poultry nutrition. World's Poultry Science Journal 60, 415-422.

606 Hill FW and Anderson DL 1958. Comparison of metabolizable energy and productive energy
607 determination with growing chicks. Journal of Nutrition 64, 587-603.

608 Jensen LS, Fry RE, Allred JB and McGinnis J 1957. Improvement in the nutritional value of
609 barley for chicks by enzyme supplementation. Poultry Science 36, 919-921.

610 Kelly KA 1981. Motility of the stomach and gastroduodenal junction. In Physiology of the
611 gastrointestinal tract. (Johnson L. R. ed.), pp. 393-410. Raven Press, New York.

612 Kirby RJ, Howles PN and Hui DY 2004. Rate of gastric emptying influences dietary
613 cholesterol absorption efficiency in selected inbred strains of mice. *Journal of Lipid Research*
614 45, 89-98.

615 Maisonnier S, Gomez J, Chagneau AM and Carré B 2001. Analysis of variability in nutrient
616 digestibilities in broiler chickens. *British Poultry Science* 42, 70-76.

617 Marquardt RR 1983. A simple spectrophotometric method for the direct determination of uric
618 acid in avian excreta. *Poultry Science* 62, 2106-2108.

619 Marquardt RR, Boros D, Guenter W and Crow G 1994. The nutritive value of barley, rye,
620 wheat and corn for young chicks as affected by use of a *Trichoderma reesei* enzyme
621 preparation. *Animal Feed Science and Technology* 45, 363-378.

622 Martinez V, Jimenez M, Gonalons E and Vergara P 1993. Mechanism of action of CCK in
623 avian gastroduodenal motility: evidence for nitric oxide involvement. *American Journal of*
624 *Physiology* 265, G842-G850.

625 Mashimo H and Goyal RK 1999. Lessons From Genetically Engineered Animal Models. IV.
626 Nitric oxide synthase gene knockout mice. *American Journal of Physiology* 277, G745-750.

627 McCracken KJ, Bedford MR and Stewart RA 2001. Effects of variety, the 1B/1R translocation
628 and xylanase supplementation on nutritive value of wheat for broilers. *British Poultry*
629 *Science* 42, 638-642

630 Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Péron A, Sellier N, Millet N, Besnard
631 J, Hallouis JM and Carré B 2004. Heritability of digestibilities and divergent selection for
632 digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poultry Science* 83, 860-867.

633 Murphy TC, McCracken JK, McCann MEE, George J, and Bedford MR 2009. Broiler
634 performance and in vivo viscosity as influenced by a range of xylanases, varying in ability to
635 effect wheat in vitro viscosity. *British Poultry Science* 50, 716-724.

636 O'Dell BL, Newberne PM and Savage JE 1959. An abnormality of the proventriculus caused
637 by feed texture. *Poultry Science* 38, 296-301.

638 Péron A, Bastianelli D, Oury FX, Gomez J and Carré B 2005. Effects of food deprivation and
639 particle size of ground wheat on digestibility of food components in broilers fed on a pelleted
640 diet. *British Poultry Science* 46, 223-230.

641 Péron A, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N, Besnard J, Derouet M, Juin H and Carré
642 B 2006. Effects of wheat quality on digestion differ between the D⁺ and D⁻ chicken lines
643 selected for divergent digestion capacity. *Poultry Science* 85, 462-469.

644 Reynhout JK and Duke GE 1999. Identification of interstitial cells of Cajal in the digestive
645 tract of turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Journal of Experimental Zoology* 283, 426-440.

646 Riddell C and Kong XM 1992. The influence of diet on necrotic enteritis in broiler chickens.
647 *Avian Diseases* 36, 499-503.

648 Rougière N, Gomez J, Mignon-Grasteau S and Carré B 2009. Effects of Diet Particle Size on
649 Digestive Parameters in D⁺ and D⁻ Genetic Chicken Lines Selected for Divergent Digestion
650 Efficiency. *Poultry Science* 88, 1206-1215.

651 Savory CJ and Gentle MJ 1976. Changes in food intake and gut size in japanese quail in
652 response to manipulation of dietary fiber content. *British Poultry Science* 17, 571-580.

653 Shires A, Thompson JR, Turner BV, Kennedy PM and Goh YK 1987. Rate of passage of
654 corn-canola meal and corn-soybean meal diets through the gastrointestinal tract of broiler
655 and white leghorn chickens. *Poultry Science* 66, 289-298.

656 Short FJ, Gorton P, Wiseman J and Boorman KN 1996. Determination of titanium dioxide
657 added as an inert marker in chicken digestibility studies. *Animal Feed Science and*
658 *Technology* 59, 215-221.

659 Uden P, Colucci PE and Van Soest PJ 1980. Investigation of chromium, cerium and cobalt
660 as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal of the Science of Food and*
661 *Agriculture* 31, 625-632.

662 Van der Klis JD, Verstegen MWA and De Wit W 1990. Absorption of minerals and retention
663 time of dry matter in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* 69, 2185-2194.

Vergara P, Ferrando C, Jimenez M, Fernandez E and Gonalons E 1989a. Factors determining gastrointestinal transit time of several markers in the domestic fowl. Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences 74, 867-874.

Vergara P, Jimenez M, Ferrando C, Fernandez E and Gonalons E 1989b. Age influence on digestive transit time of particulate and soluble markers in broiler chickens. Poultry Science 68, 185-189.

Yeo A, Boyd P, Lumsden S, Saunders T, Handley A, Stubbins M, Knaggs A, Asquith S, Taylor I, Bahari B, Crocker N, Rallan R, Varsani S, Montgomery D, Alpers DH, Dukes GE, Purvis I and Hicks GA 2004. Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. Gut 53, 1452-1458.

691 Table 1. Composition of experimental diets.

	Standard Diets (S)			Fibre Diets (F)		
	0-35 d	35-63 d	labelled	9-35 d	35-63 d	labelled
Ingredients (g/kg)						
Corn	605.0	695.6	595.9	512.8	589.9	510.1
Sunflower hulls (H) ¹	—	—	—	150.0	150.0	140.0
Cr-mordanted sunflower hulls	—	—	10.0	—	—	10.0
Rapeseed oil	10.0	6.0	9.8	8.5	5.1	8.4
Soybean meal 48	334.8	238.0	329.7	284.6	202.3	282.7
Corn gluten meal 60	11.5	26.7	11.3	9.8	22.7	9.7
Calcium carbonate	8.3	6.5	8.2	7.1	5.5	7.0
Dicalcium phosphate	20.0	16.8	19.7	17.0	14.3	16.9
Sodium chloride	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Mineral and vitamin mix ²	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
DL-methionine	1.4	1.4	1.4	1.2	1.2	1.2
Robenidine ³	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
TiO ₂	—	—	5.0	—	—	5.0
Calculated						
AMEn ⁴ (Kcal/Kg)	3,347	3,405	3,328	2,84	2,932	2,822
Lysine (g/kg)	11.37	8.93	11.20	9.66	7.59	9.60
Methionine + cystine (g/kg)	8.67	8.14	8.56	7.37	6.92	7.33
Calcium (g/kg)	11.01	8.44	10.87	9.55	7.34	9.48
Available phosphorus (g/kg)	4.25	3.64	4.18	3.61	3.10	3.59
Measured values ⁵						
GE (Kcal/kg)	4,485	4,458	4,456	4,498	4,514	4,458
Crude Protein (g/kg)	231	208	236	214	186	219
WICW ⁶ (g/kg)	120	111	117	223	217	218

692 ¹ H contained 83.2 % WICW and 4.87 % crude protein (dry matter basis)

693 ² Supplied per kilogram of diet: Co, 0.6 mg; Cu, 20 mg; Fe, 58 mg; I, 2 mg; Mn, 81 mg; Se, 0.2 mg; Zn, 90 mg; Vitamin A (retinyl acetate), 15000 IU; cholecalciferol, 0.107 mg; Vitamin E (DL-alpha tocopheryl acetate), 100 IU; thiamine, 5 mg; riboflavin, 8 mg; calcium pantothenate, 25 mg; cyanocobalamin, 0.02 mg; menadione, 5 mg; pyridoxine hydrochloride, 7 mg; folic acid, 3 mg; biotin, 0.3 mg; niacin, 100 mg; choline, 550 mg; antioxidant, 50 mg.

699 ³ Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ, USA.

700 ⁴ Calculated values (dry-matter basis), for adult cockerels, according to Carré and Brillouet (1989):

701 $AMEn = 0.9362 \text{ GE (Kcal/kg)} - 15.38 \text{ CP (\%)} - 25.16 \text{ WICW (\%)}^{1,2}$

702 with GE = Gross Energy, CP = Crude Protein, WICW = Water-Insoluble Cell Wall.

703 ⁵ Dry-matter basis.

704 ⁶ WICW = Water-Insoluble Cell Wall.

Table 2. Effects of experimental diets (Standard (S) *versus* Fibres (F) diets) and genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on growth performances, feed intake, feed efficiency (9 to 20d), protein digestibility, AMEn and [Measured AMEn / Calculated AMEn⁴] ratio (MCR) (20 to 23d).

Trait	D ⁺ line		D ⁻ line		s.e. ¹	Significance ²		
	S diet	F diet	S diet	F diet		Line	Diet	Line x diet
BW (g) 9d	146	143	157	148	4.5			
BW (g) 20d	402	383	405	389	9.2		0.05	
BW (g) 23d	490	478	502	487	11.8			
Feed intake ³ (g) (9 to 20d)	399	425	445	464	9.2	***	*	
Gain:feed (9 to 20d)	0.64 ^a	0.56 ^b	0.56 ^b	0.52 ^c	0.010	***	***	*
Protein digestibility (%)	79.3 ^a	77.4 ^{ab}	71.9 ^c	74.7 ^{bc}	1.12	***		*
Measured AMEn (Kcal/kgDM)	3,243 ^a	2,816 ^c	3,040 ^b	2,701 ^d	23.0	***	***	0.05
MCR	0.970	0.991	0.908	0.951	0.0074	***	***	

^{a-d} Means with different superscripts within a row are significantly different ($P < 0.05$)

¹ n=30

² P values are indicated by * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$. Blank cells indicate non significant effect.

³ Dry matter basis.

⁴ Calculated AMEn (DM basis) = 0.9362 GE (Kcal/kg) - 15.38 CP (%) - 25.16 WICW (%)^{1,2}
(Carré and Brillouet, 1989)

Table 3. Effects of experimental diets (Standard (S) *versus* Fibres (F) diets) and genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on digestive relative organ weight (mg/g BW) from 29 days to 63 days.

Trait	D ⁺ line		D ⁻ line		s.e. ²	Significance ³		
	S	F	S	F		Line	Diet	Line x Diet
Proventriculus (mg/g BW)								
29 d	10.3 ^a	6.7 ^b	5.3 ^b	6.3 ^b	0.71	***	0.072	**
42 d	10.6 ^a	5.1 ^b	3.9 ^b	4.3 ^b	0.90	***	**	**
63 d	5.1 ^a	3.1 ^b	3.3 ^b	3.4 ^b	0.38	*	**	**
Gizzard (mg/g BW)								
29 d	22.1 ^b	27.7 ^a	13.3 ^c	23.6 ^b	1.00	***	***	*
42 d	17.2 ^c	23.2 ^a	11.1 ^d	20.2 ^b	0.78	***	***	*
63 d	14.4	18.1	12.2	16.3	0.79	**	***	
Pancreas (mg/g BW)								
29 d	2.7	3.5	2.8	3.6	0.30		*	
42 d	2.2	2.4	1.8	2.2	0.13	*	*	
63 d	1.7	2.0	1.7	1.7	0.11			0.062
Duodenum (mg/g BW)								
29 d	9.9	9.9	11.0	10.2	0.61			
42 d	6.9	6.7	6.9	7.2	0.48			
63 d	5.7	5.5	6.0	5.6	0.19			
Jejunum (mg/g BW)								
29 d	14.5	14.1	18.5	17.1	0.70	***		
42 d	9.5	9.8	13.3	11.8	0.57	***		
63 d	8.4	8.1	9.4	9.4	0.30	**		
Ileum (mg/g BW)								
29 d	10.9	11.1	13.2	12.6	0.53	***		
42 d	6.8	7.3	9.1	8.8	0.43	***		
63 d	6.0 ^c	6.6 ^{bc}	7.6 ^a	7.1 ^{ab}	0.23	***		*
Ceca (mg/g BW)								
29 d	4.6	5.2	3.7	3.9	0.19	***	0.081	
GPIR ¹ (g/g)								
29 d	0.92 ^a	0.99 ^a	0.43 ^c	0.77 ^b	0.049	***	***	*
42 d	1.20 ^a	1.20 ^a	0.53 ^c	0.90 ^b	0.069	***	*	*
63 d	0.97	1.06	0.69	0.91	0.048	***	***	

¹ GPIR = [(Gizzard + Proventriculus) / Small Intestine] weight ratio.

² n = 17 at day 29, n = 10 at day 42, and n = 13 at day 63.

³ P values are indicated by *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001. Blank cells indicate non significant effect.

^{a-c} Means with different superscripts within a row are significantly different (*P* < 0.05).

Table 4. Effects of genetic lines (D⁺ versus D⁻) on Mean Retention Time (MRT) (min) of two dietary markers (TiO₂ and Cr-mordanted H) in 9 d-old birds fed the Standard labelled pelleted diet.

Trait	D ⁺ line	D ⁻ line	s.e. ¹	Line Effect ²
BW 9d (g)	127	139	4.6	
Crop (min)				
TiO ₂	64	34	11.4	0.079
Cr-Mordanted H	78	51	16.3	
Proventriculus + Gizzard (min)				
TiO ₂	111	55	7.6	***
Cr-Mordanted H	480	229	34.3	***
Duodenum + Jejunum (min)				
TiO ₂	44	47	3.7	
Cr-Mordanted H	44	46	5.0	
Ileum (min)				
TiO ₂	81	67	6.4	
Cr-Mordanted H	83	80	7.7	
Ceca (min)				
TiO ₂	22	13	3.8	
Rectum + Cloaca (min)				
TiO ₂	16	12	2.3	
Total (min)				
TiO ₂ ³	339	229	15.1	***
Cr-Mordanted H ⁴	686	405	40.2	***

¹ n=23

² P values are indicated by *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001. Blank cells indicate non significant effect.

³ From crop to cloaca.

⁴ From crop to terminal ileum.

Table 5. Effects of experimental diets (Standard S *versus* Fibre F labelled diets) and genetic lines (D⁺ *versus* D⁻) on mean retention time (min) of TiO₂ and Cr-Mordanted H in segments of the gastrointestinal tract in 29d-old chickens.

	D ⁺ line		D ⁻ line		s.e. ¹	Significance ²		
	S diet	F diet	S diet	F diet		Line	Diet	Line x Diet
BW 29d (g)	851	873	880	885	36.4			
Crop (min)								
TiO ₂	5	5	1	6	2.3			
Cr-Mordanted H	8	6	2	7	3.0			
Proventriculus + Gizzard (min)								
TiO ₂	91 ^a	80 ^a	3 ^b	58 ^a	13.6	***		*
Cr-Mordanted H	308 ^a	149 ^b	7 ^c	113 ^b	35.4	***		***
Duodenum + Jejunum (min)								
TiO ₂	43	42	64	43	6.5		0.09	
Cr-Mordanted H	52	52	69	45	6.8		0.07	0.08
Ileum (min)								
TiO ₂	44	50	57	51	4.7			
Cr-Mordanted H	55	50	71	55	7.8			
Ceca (min)								
TiO ₂	43	50	13	28	8.2	**		
Cr-Mordanted H	23	25	9	14	4.3	**		
Rectum + Cloaca (min)								
TiO ₂	20	28	18	20	4.5			
Cr-Mordanted H	22	29	25	28	8.1			
Total Digestive Tract ³ (min)								
TiO ₂	245	264	155	204	15.9	***	*	
Cr-Mordanted H	468 ^a	320 ^b	182 ^c	256 ^{bc}	37.6	***		***

744

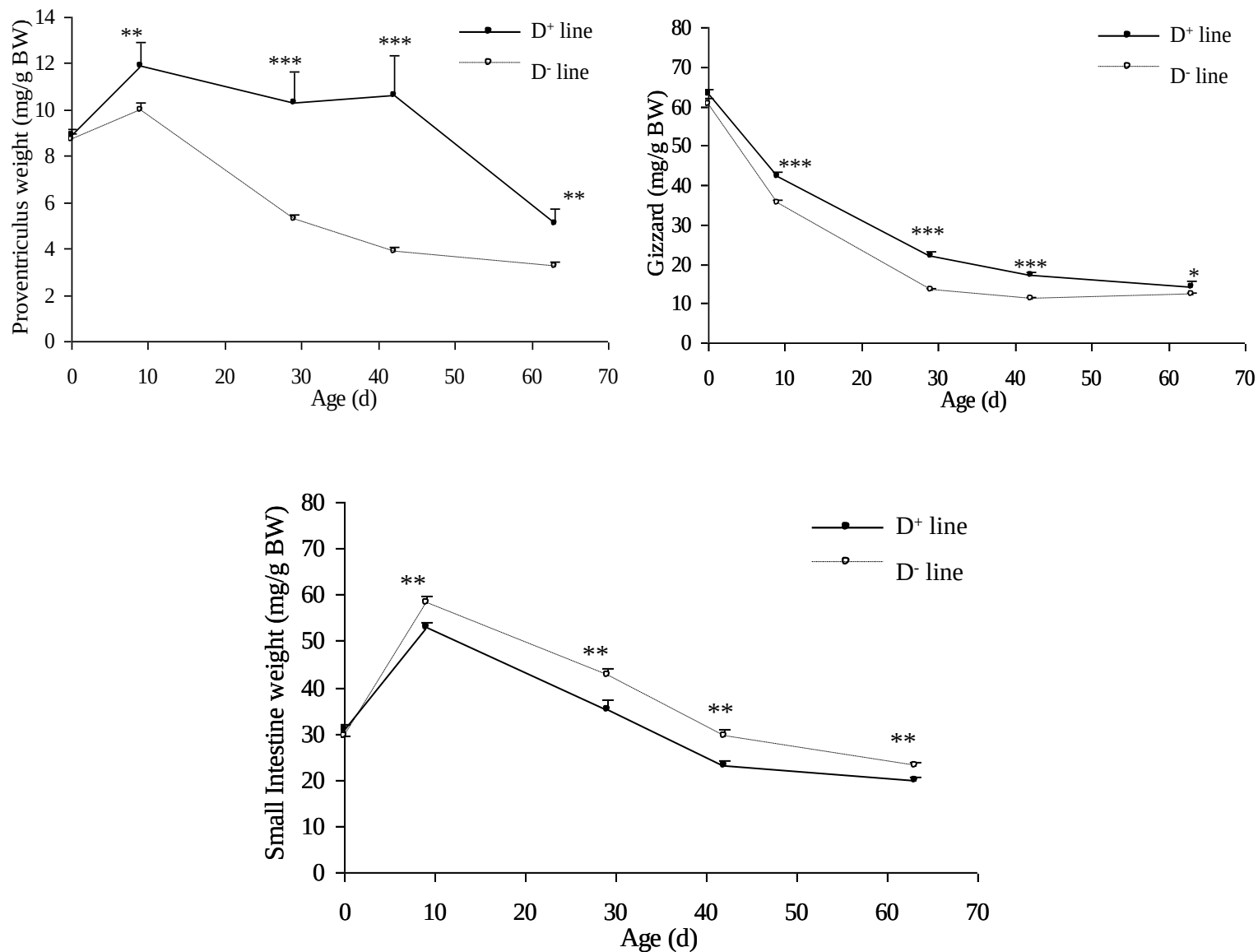
745 ¹ n=11

746 ² P values indicated by *P<0.05; **P<0.01; ***P<0.001. Blank cells indicate non significant
747 effect.

748 ³ From crop to cloaca.

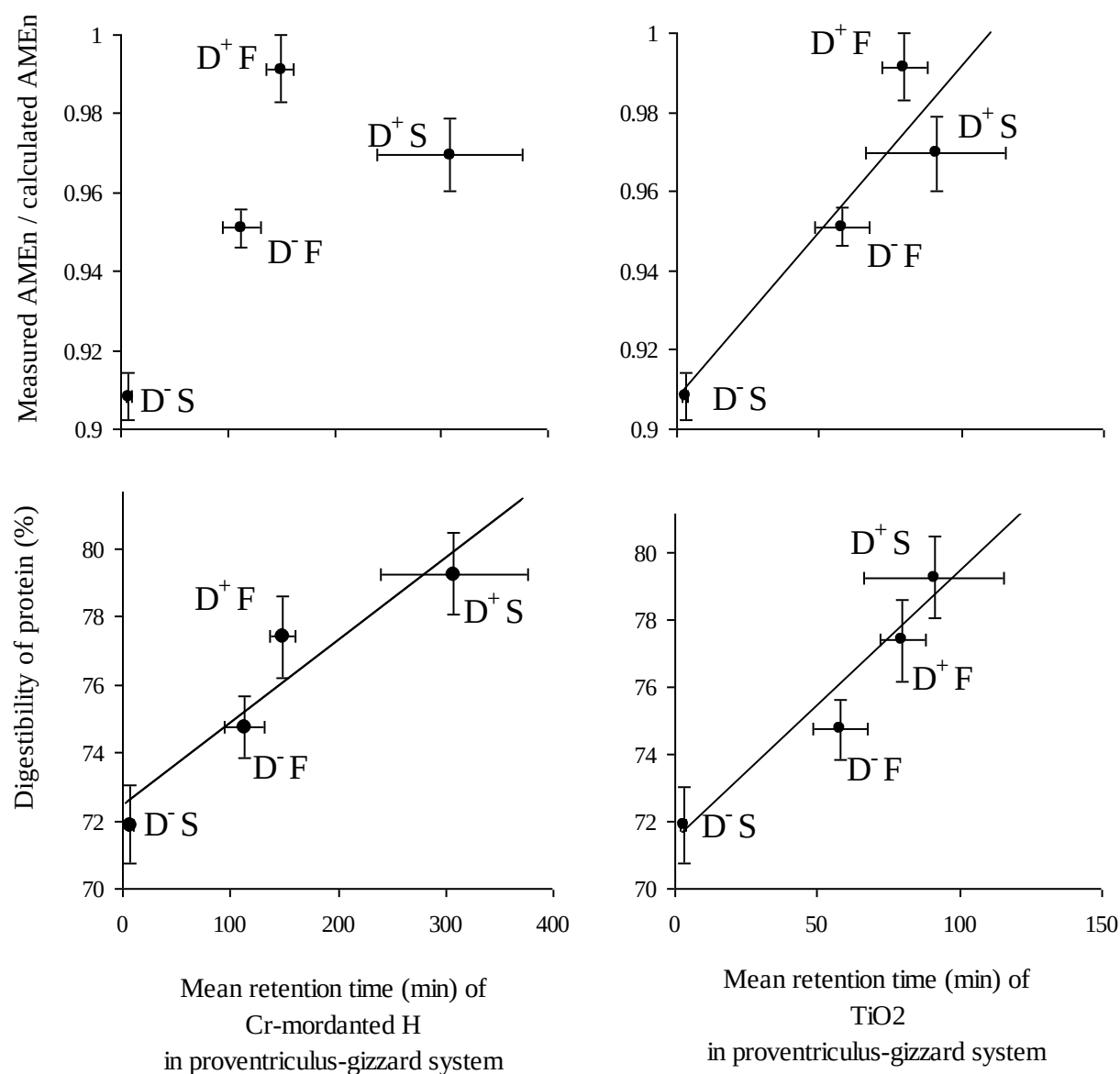
749 ^{a-c} Means with different superscripts within a row are significantly different (*P* < 0.05).

Figure 1. Effects of divergent genetic lines (D^+ versus D^-) on digestive organ relative weight (Mean $\pm$ s.e.) at hatching (n = 25), 9d (n = 34), 29d (n = 17), 42d (n = 10) and 63d (n = 13). Chicks were fed with the Standard (S) pelleted diets.



* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$

Figure 2. Relationships between digestion efficiencies (Mean and s.e.; n=30) at 3 weeks of age and mean retention times (Mean and s.e.; n=11) in the proventriculus-gizzard system at 4 weeks in chickens from D⁺ and D⁻ genetic lines fed on S or F diets. Relationships were significant ($P < 0.05$) except the relationship between [measured AMEn / calculated AMEn] and mean retention time (min) of Cr-mordanted H.



Troisième étude. Comparaison de l'activité
gastrique chez les poulets des lignées D^+ et D^-

Comparaison de l'activité gastrique entre les poulets des lignées D⁺ et D⁻ sélectionnées pour une efficacité digestive divergente

INTRODUCTION

D'après les deux études précédentes, il ressort que le gésier est un organe clef impliqué dans les différences de digestion entre les poulets D⁺ et D⁻.

Il a été montré dans l'expérience 2 que les temps de rétention moyens des digesta dans le gésier étaient très supérieurs chez les D⁺ par rapport aux D⁻. Nous avons mis en évidence que les poulets de la lignée D⁻ ont besoin d'un stimulus alimentaire plus important pour que leur gésier fonctionne d'une manière optimale. La présence de particules grossières dans le régime (maïs concassé ou fibres insolubles grossières), stimulus physique, était associée au développement du gésier, et à l'amélioration de l'efficacité digestive, essentiellement chez les D⁻. Ce développement du gésier était associé à une augmentation des temps de rétention moyens des digesta dans les compartiments digestifs proximaux (proventricule + gésier). Le temps de rétention des digesta dans le gésier est probablement en relation avec l'activité motrice des muscles du gésier.

C'est pourquoi, dans cette dernière étude, nous avons choisi de nous focaliser sur la motricité de cet organe au cours d'un enregistrement long (24h) chez les animaux des deux lignées D⁺ et D⁻. Deux techniques sont souvent utilisées pour étudier la motricité du gésier : d'une part la pose d'électrodes (Duke *et al.*, 1972; Roche & Ruckebusch, 1978; Jimenez *et al.*, 1992, 1994; Clench & Mathias 1992, 1995) qui permet de suivre l'activité électrique de l'organe, et d'autre part la pose de jauges de contraintes sur la surface de l'organe (Duke & Kostuch, 1975; Savory *et al.*, 1987; Chaplin & Duke, 1988; Degolier *et al.*, 1997) qui permet de suivre l'activité mécanique du gésier. Nous avons choisi d'utiliser des jauges de contraintes pour comparer le travail mécanique des muscles du gésier des poulets D⁺ et D⁻.

Dans la présente étude, le travail musculaire des gésiers a été testé en utilisant plusieurs stimuli. Le repas a été un de ces stimuli. Généralement, la distribution d'un repas après un jeûne stimule l'activité du gésier (Duke *et al.*, 1976 ; Duke & Evanson, 1976 ; Savory, 1987). Il est d'ailleurs probable que ceci explique que le poids du gésier soit plus élevé chez un poulet nourri par repas par rapport à un poulet nourri en *ad libitum* (Barash *et al.*, 1993). Le second stimulus testé a consisté en un stimulus lumineux, avec l'allumage de la lumière après une période d'obscurité d'une heure (Roche & Ruckebusch, 1978). Enfin, un test fonctionnel, avec une injection intraveineuse de sérotonine (5-Hydroxyptamine, 5-HT), a

été effectué en fin d'enregistrement. En effet, chez les mammifères, plusieurs études ont rapporté que la sérotonine stimulait la motricité de l'estomac, notamment chez le chien (Haga *et al.*, 1998; Prove & Erhlein, 1983), le porc (Shiihara *et al.*, 1997; Nakajima *et al.*, 1997) le mouton (Plaza *et al.*, 1996) et le rat (Dhasmana *et al.*, 1993). A notre connaissance, aucune étude de ce type sur la sérotonine n'a été rapportée jusqu'à présent chez les oiseaux.

MATERIELS ET METHODES UTILISES

1. Animaux et conditions d'élevage

Dans cette étude, comme dans les études précédentes (1 et 2), nous avons utilisé des poulets appartenant aux lignées génétiques divergentes D⁺ et D⁻ (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). Ces poulets provenaient de la 9^{ème} génération de sélection sur l'efficacité de digestion. L'étude de motricité a été conduite avec 6 poulets de chaque lignée D⁺ et D⁻, choisis aléatoirement parmi 23 poulets de chaque lignée. Ces 46 poulets ont été choisis à l'éclosion de telle manière à être représentatifs des différentes familles (père et mère des poussins connus) des lignées D⁺ et D⁻. Ils ont été bagués et pesés individuellement, puis placés en cages (longueur 36cm x largeur 22cm x hauteur 40cm), par groupe de 3 ou 4 poussins par cage.

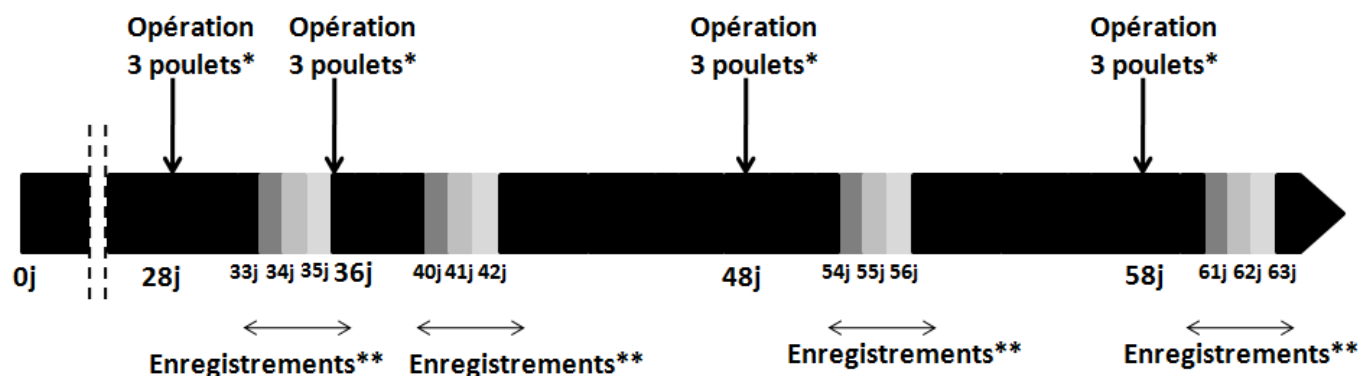
À 9 jours, les 46 poussins ont été répartis au hasard en cages individuelles équipées d'une mangeoire et d'un abreuvoir individuels. Les conditions environnementales étaient contrôlées, en terme de ventilation, de lumière (1 heure d'obscurité entre minuit et 1h du matin) et de température (34°C à l'éclosion, 33°C jusqu'à 3 jours, 31°C jusqu'à 8 jours, 29°C jusqu'à 15 jours, 26°C jusqu'à 22 jours, et 24°C jusqu'à 63 jours).

Tous les poulets ont été nourris avec un régime démarrage commercial granulé (3000 Kcal/kg d'EMAn, 22% de protéines brutes) de l'éclosion à 9 jours, puis avec un régime standard granulé, contenant 60,5% de maïs et 33,5% de soja (2905 Kcal/kg d'EMAn, 21,5% de protéines brutes). L'aliment était distribué en *ad libitum*, sauf pour les poulets en expérience.

2. Schéma expérimental

La faisabilité de l'opération a été testée lors d'une étude préliminaire sur un unique poulet.

Figure 1. Schéma de l'expérience 3.



*2 jauges de contrainte sur le gésier de 2 poulets, et une jauge sur le gésier du dernier poulet

** Après 16h de jeûne, 1 jour d'enregistrement continu, comme suit:

- 6h de jeûne
- puis distribution d'un repas court (30g) pendant 15minutes
- puis 18h d'enregistrement sans accès à la mangeoire (1h d'obscurité 8h après le repas)
- en fin d'enregistrement, injection de sérotonine (5-HT) et poursuite de l'enregistrement pendant 30 minutes.

Tableau 1. Répartition du nombre de poulets de chaque lignée D⁺ et D⁻ opérés lors des séries d'opération (1^{ère} série à 28 jours, 2^{ème} à 36 jours, 3^{ème} série à 48 jours et 4^{ème} série à 58 jours).

Age à l'opération	Nombre de poulets opérés				
	28j	36j	48j	58j	Total
Lignée D ⁺	2 ²	1 ¹	2 ²	1 ¹	6
Lignée D ⁻	1 ¹	2 ²	1 ¹	2 ²	6

¹Deux jauges ont été implantées sur le gésier du poulet

²Deux jauges ont été implantées sur le gésier d'un des deux poulets, et une seule jauge a été implantée sur le gésier de l'autre poulet.

Le schéma expérimental de l'expérience de motricité est présenté en figure et tableau 1. Au cours de la présente étude, les 12 poulets ont été opérés par série de trois poulets, selon la répartition présentée dans le tableau 1. Le nombre de poulets opérés a été limité par le nombre de jauges disponibles (5 au total). Ainsi, seulement 3 poulets pouvaient être opérés le même jour, en plaçant 2 jauges sur le gésier de deux poulets, et une seule jauge sur le gésier du troisième poulet. Placer deux jauges sur le gésier permettait à la fois d'assurer une sécurité en cas de dysfonctionnement d'une des deux jauges, et de vérifier la concordance des enregistrements.

Trois poulets ont été opérés à chaque stade correspondants aux âges de 28, 36, 48 et 56 jours (Tableau 1).

3. Descriptif des opérations chirurgicales

Les opérations se sont déroulées dans une salle d'opération agréée, équipée d'une table d'opération et d'un dispositif d'anesthésie générale (Hopital-abattoir, PRC, INRA de Nouzilly). Les opérations ont été effectuées par Mme Juliette Cognié (PRC, Inra de Nouzilly) et par Mr Charles-Henri Malbert (SENAH, Inra de Rennes), tous deux titulaires d'une habilitation pour les opérations chirurgicales.

La veille de chaque série d'opération, les 3 poulets de la série ont été mis à jeun. Le jour de l'opération, chaque poulet opéré a été anesthésié à l'isoflurane (2%). Puis, la zone chirurgicale a été plumée et désinfectée à la teinture d'iode (Figure 2). Une injection d'antibiotique a été effectuée dans le muscle de la cuisse. Ensuite, le poulet a subi une laparotomie (ouverture au niveau abdominal d'environ 4 cm) pour accéder au gésier (Figure 2). Le gésier a été isolé, et une jauge fixée au niveau du muscle caudal (perpendiculaire à l'orientation des fibres musculaires) (Figure 3). Sur les deux premiers poulets de chaque série, une seconde jauge a été fixée à l'aide de fils chirurgicaux au niveau du muscle cranial (à proximité du proventricule).

Les jauges de contrainte (longueur 10mm x largeur 14 mm x épaisseur 1 mm, Vishay Micromesure (France)) et leur fil de liaison, protégés dans du polyéthylène ont été fournies par Mr Charles-Henri Malbert (INRA de Rennes - Saint Gilles). Les jauges et les fils ont été désinfectés juste avant leur pose dans du Steranios 2% (Anios©) (30min). Ces fils ont été ressortis au niveau du dos de l'animal derrière le cou, puis repliés dans un doigt de gant, afin d'éviter toute dégradation de ce fil par le poulet, en attente jusqu'au branchement des fils à l'enregistreur de la motricité.

Figure 2. Préparation du poulet anesthésié avant l'opération. La zone de chirurgie est plumée et désinfectée avec de la teinture d'iode. La zone d'incision est représentée par la flèche rouge.

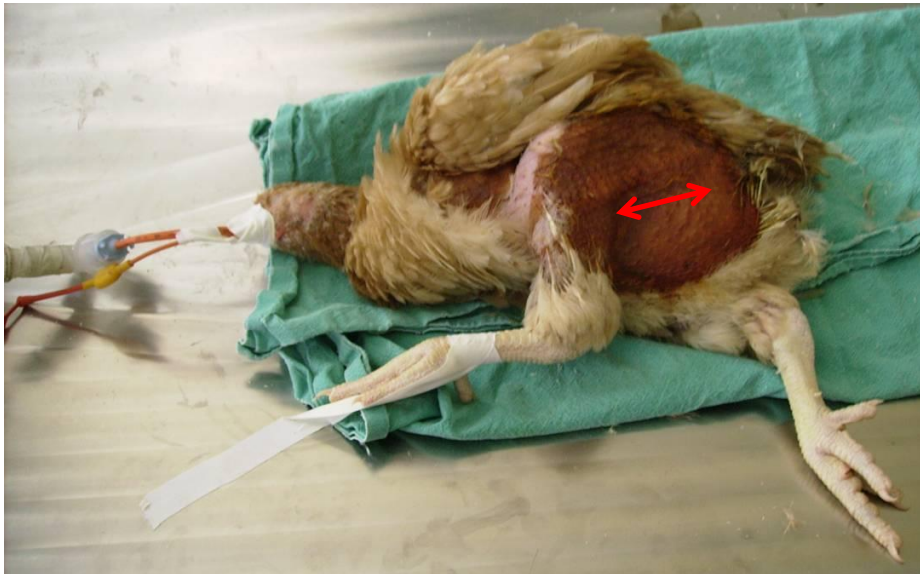
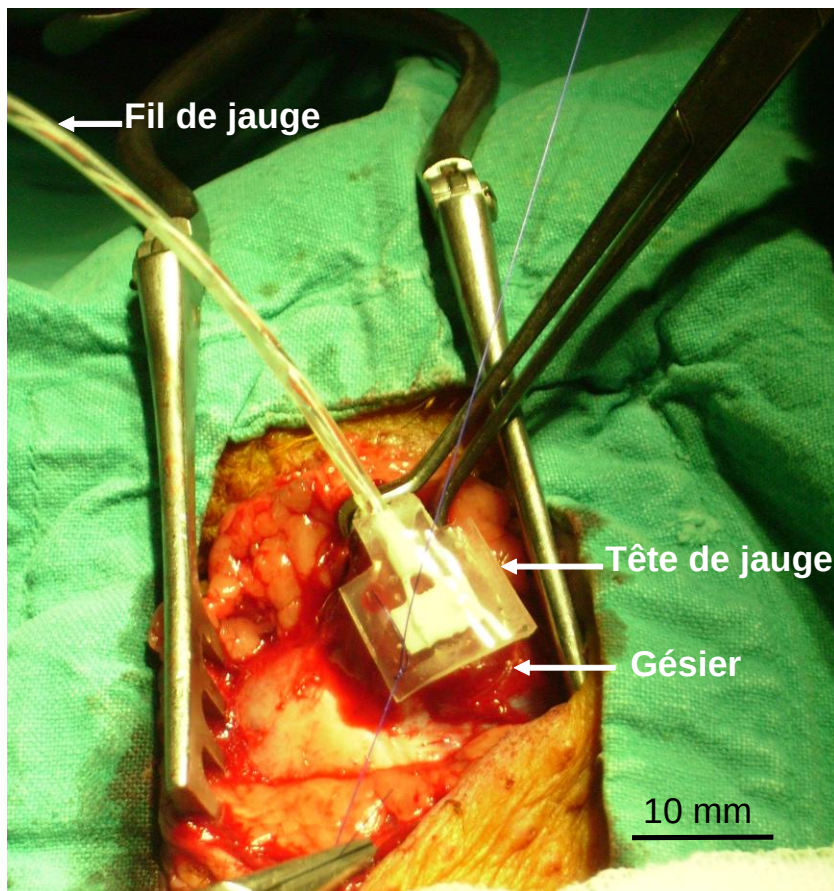


Figure 3. Pose d'une jauge de contrainte sur le gésier. Une laparotomie est effectuée sur le poulet anesthésié, le gésier est isolé et la jauge est fixée à l'aide de fils de suture.



4. Période post-opératoire

Après les opérations, les poulets étaient placés dans un caisson alimenté en oxygène pendant environ 2 heures. Une fois réveillés, ils étaient remis dans leur cage individuelle. Dès leur retour en cage, les poulets sont allés à la mangeoire et ont ingéré spontanément des granulés. Pendant les jours suivant l'opération, les poulets ne présentaient pas de comportements anormaux.

Après 3 à 5 jours post-opératoires, pendant lesquels l'eau et l'aliment étaient distribués *ad libitum*, les poulets ont été transférés dans leur cage dédiée à l'enregistrement de la motricité.

5. Enregistrement de la motricité du gésier

Le poulet en enregistrement de motricité a été placé dans une cage individuelle disposée à proximité du dispositif d'enregistrement, dans la même cellule que les autres poulets, et face à eux. Les fils ont été dépliés et soudés aux fils conduisant à l'enregistrement. Les fils sortant de l'animal ont été maintenus verticaux par un élastique relié à une patère. Ce dispositif permettait au poulet de se déplacer dans sa cage sans contrainte.

Ces fils étaient reliés à un transducteur du signal, lui-même relié à un enregistreur « papier » (Gould BS-273) et à un enregistreur « informatique ». L'enregistreur papier permettait de suivre en continu les contractions du gésier, et de déceler d'éventuels dysfonctionnements. L'enregistrement informatique a été effectué grâce au logiciel AcquiJauge© (Inra de Rennes-Saint-Gilles), donnant des valeurs d'intensité tous les dixièmes de seconde.

Conditions d'enregistrement

Les enregistrements ont été effectués *in vivo* chez l'animal éveillé pendant une journée de 24h par animal (Figure 4). Avant le début de l'enregistrement, le poulet était mis à jeun pendant 16h puis transféré dans sa cage d'enregistrement. Les six premières heures d'enregistrement ont été effectuées sur le poulet à jeun. Un repas (30g environ) a ensuite été distribué pendant 15 minutes. Le reste de l'enregistrement s'est effectué sans accès à la mangeoire mais avec accès à l'eau. Après environ 8h d'enregistrement suivant le repas, une heure d'obscurité a été imposée. Enfin, l'enregistrement s'est achevé par un test fonctionnel en fin de journée d'enregistrement, consistant en l'injection de 500µg de 5-hydroxytryptamine (5-HT) dans la veine alaire. L'enregistrement a été poursuivi pendant 30 minutes supplémentaires.

Figure 4. Schéma de mesure de la motricité du gésier au cours d'une journée d'enregistrement (environ 24h). Le début de l'enregistrement est noté T0.

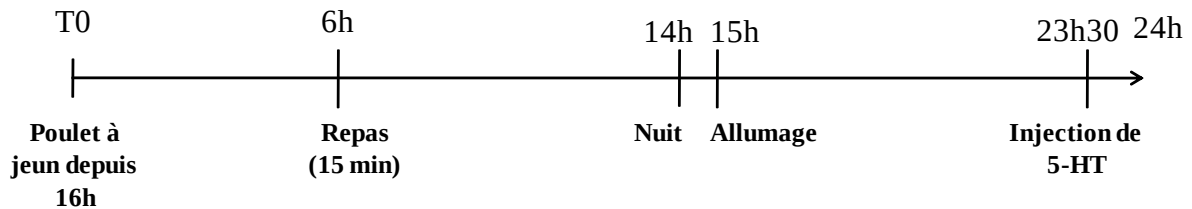
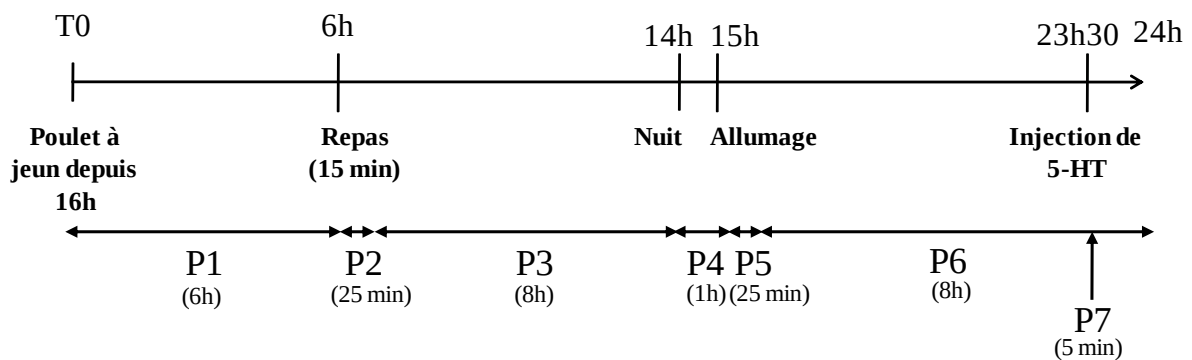


Figure 5. Nomenclature des périodes d'enregistrement au cours d'une journée d'enregistrement de motricité, avec : **P1** : début de l'enregistrement jusqu'à la distribution du repas (environ 6h), **P2** : de la distribution du repas à 25 minutes après la distribution, **P3** : de la fin de P2 jusqu'à l'extinction de la lumière (environ 8h), **P4** : période d'obscurité (1h), **P5** : 25 premières minutes suivant l'allumage de la lumière, **P6** : de la fin de P5 à la fin de la journée d'enregistrement (environ 8h), **P7** : 5 premières minutes suivant l'injection de 5-HT.



Une fois la journée d'enregistrement achevée, le poulet a été euthanasié par dislocation cervicale et pesé. La position des jauges sur le gésier a été vérifiée, et le gésier pesé. Les jauges ont ensuite été récupérées et désinfectées, avant d'être à nouveau utilisées lors de la série suivante d'opérations.

Comportement des poulets en enregistrement

Les poulets étaient couchés ou debout et pouvaient se mouvoir dans la cage d'enregistrement sans contrainte. Ils n'étaient pas prostrés. Aucun poulet n'a présenté de gestes répétitifs. Un seul animal a tenté de piquer ses fils de jauge. Lors de la distribution du repas, les poulets n'ont pas eu d'hésitation et ont instantanément commencé à ingérer l'aliment. Ils ont tous ingéré une quantité semblable d'aliment en 15 minutes, en moyenne 30g, sans distinction d'âge ni de lignée ($P = 0,16$).

La contention du poulet avant l'injection de sérotonine a provoqué une agitation passagère du poulet. L'injection de 5-HT dans la veine alaire a entraîné une hypotonie immédiate mais transitoire (moins d'une minute). Pour évaluer l'effet de l'injection en elle-même, une injection de sérum physiologique a été effectuée sur un poulet de chaque lignée, une heure avant l'injection de 5-HT.

Traitement des données

Les graphiques de données brutes représentant les variations d'intensité au cours de la journée d'enregistrement nous ont permis dans un premier temps de comparer visuellement les enregistrements des individus entre eux.

L'amplitude, l'orientation (positive ou négative) et le niveau de base des intensités se sont avérés très variables d'un enregistrement à l'autre. Les données brutes d'intensité représentaient presque un million de valeurs pour un enregistrement. Une étape de normalisation et de simplification des données s'est donc avérée nécessaire pour pouvoir les analyser. Dans ce but, nous avons calculé les écart-types des intensités toutes les 500 secondes (ET500s), ce qui permettait de réduire le nombre de valeurs à environ 170 par enregistrement, ramener tous les niveaux de base à 0 et orienter toutes les réponses en positif. Les graphiques des ET500s étaient cohérents avec les graphiques des données brutes.

Afin de s'affranchir de la variation du niveau d'amplitude des réponses, les ET500s ont été rapportés à la valeur du stimulus supposé maximum, c'est-à-dire à celle du stimulus du repas. Cette valeur était l'ET500s maximum observé durant le repas. Ces rapports sont appelés « activité du gésier ».

Plusieurs périodes ont été définies pour analyser les données (Figure 5), nommées de P1 à P7, avec P1 : début de l'enregistrement jusqu'à la distribution du repas (environ 6h), P2 : 25 minutes à partir de la distribution du repas, P3 : de la fin de P2 jusqu'à l'extinction de la lumière (environ 8h), P4 : période d'obscurité (1h), P5 : 25 premières minutes suivant l'allumage de la lumière, P6 : de la fin de P5 à la fin de la journée d'enregistrement (environ 8h) et P7 : 5 premières minutes suivant l'injection de 5-HT.

Les moyennes des activités du gésier ont été calculées pour chaque période précédemment définie. La variabilité de l'activité sur la journée d'enregistrement a été obtenue par le calcul du coefficient de variation des activités sur toute la période d'enregistrement.

Des seuils de haute et faible activité du gésier ont été définis, après observation des graphiques d'ET500s relatifs obtenus pour chaque poulet. Le seuil de faible activité a été fixé à 0,4. Le seuil de haute activité a été fixé à 1. Pour chaque enregistrement, les proportions du temps passé à haute et faible activité du gésier ont alors été déterminées.

Lorsque deux jauges étaient implantées sur le gésier d'un poulet, les enregistrements et les réponses observées pour chacune des jauges étaient concordants. Une jauge cependant n'a pas fonctionné, résultant en des enregistrements d'intensité avec une amplitude très faible (0,02). Les données obtenues avec cette jauge ont été supprimées, et seul l'enregistrement obtenu avec la deuxième jauge a été exploité. Quand deux jauges exploitables avaient été fixées sur le gésier d'un poulet, la moyenne des valeurs obtenues pour les deux jauges était effectuée et utilisée dans les calculs statistiques.

Poids du gésier

Pour les études anatomiques, les poulets opérés ou non opérés ont été pesés puis euthanasiés par une injection intracardiaque de pentobarbital (Sanofi, Marne la Coquette, France) pour les non opérés ou par dislocation cervicale pour les opérés. Le gésier a été isolé, vidé et pesé. Ces mesures sont intervenues en fin d'enregistrement pour les poulets opérés, et à J48, J56 et J64 pour les non opérés.

Analyses statistiques

Les données sont présentées dans les tableaux sous forme de moyenne $\pm$ Erreur Standard de la Moyenne. Les analyses de variances, les tests de Student appariés et les régressions simples ont été effectués avec le logiciel Statview[®] (SAS Institute Inc., Cary, NC, 1992-1998, version 5.0).

Tableau 2. Activité¹ moyenne du gésier par périodes d'enregistrement, chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ ou D⁻.

	Période 1 ² (6h)	Période 2 (25min)	Période 3 (8h)	Période 4 (1h)	Période 5 (25min)	Période 6 (8h)	Période 7 (5min)	Coefficient de variation de l'activité sur 24h
Lignée D+	0,57	0,90	0,70	0,57	0,80	0,62	0,56	0,42
Lignée D-	0,91	0,89	0,85	0,70	0,84	0,83	0,52	0,31
ESM ³	0,109	0,048	0,099	0,112	0,109	0,099	0,127	0,034
Effet Lignée (valeur de P)	0,055	0,895	0,331	0,435	0,826	0,163	0,841	0,042

¹Ecart-type des intensités observées sur 500s (ET500s), rapporté à l'ET500s maximum observé durant le repas

²**Période 1** : du début de l'enregistrement jusqu'à la distribution du repas (environ 6h), **Période 2** : de la distribution du repas à 25 minutes après la distribution, **Période 3**: de la fin de P2 jusqu'à l'extinction de la lumière (environ 8h), **Période 4** : période d'obscurité (1h), **Période 5** : 25 premières minutes suivant l'allumage de la lumière, **Période 6**: de la fin de P5 à la fin de la journée d'enregistrement (environ 8h), **Période 7**: 5 premières minutes suivant l'injection de 5-HT.

³ Erreur Standard des Moyennes (n=6)

Tableau 3. Comparaison de l'activité du gésier entre deux périodes consécutives d'enregistrement (moyenne ± erreur standard, n=6), chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ et D⁻.

	Lignée D ⁺	Lignée D ⁻
Période	Moyenne ± ES	Moyenne ± ES
Avant repas	0,57 ± 0,072 ^b	0,91 ± 0,136
Repas	0,90 ± 0,048 ^a	0,89 ± 0,047
Nuit	0,57 ± 0,085 ^B	0,70 ± 0,133
Allumage	0,80 ± 0,100 ^A	0,84 ± 0,117
Après allumage	0,62 ± 0,063	0,83 ± 0,126 ^a
5-HT	0,56 ± 0,113	0,52 ± 0,140 ^b

^{a,b} $P < 0,05$

^{A, B} $P < 0,01$

¹La comparaison des moyennes 2 à 2 a été effectuée par le test de Student apparié au niveau de chaque animal. Les moyennes ont été comparées pour tester l'effet d'une période « stimulus » par rapport à la période précédente (« repas » *versus* « avant repas », « allumage » *versus* « nuit », « 5-HT » *versus* « après allumage »)

RESULTATS

Comparaison de l'activité du gésier entre les D⁺ et les D⁻

Sur l'ensemble de la journée d'enregistrement, l'activité du gésier présentait un coefficient de variation plus important chez les D⁺ que chez les D⁻ (Tableau 2).

Sur chacune des périodes d'enregistrement définies (P1 à P7), généralement l'activité moyenne du gésier ne montrait pas d'effet significatif entre les lignées, sauf pour la première période d'enregistrement. Pendant cette première période (P1), l'activité moyenne était plus élevée chez les D⁻ (0,91) que chez les D⁺ (0,57) (Tableau 2).

L'activité du gésier a réagi significativement aux stimuli du repas ou de l'allumage chez les D⁺, contrairement aux D⁻ chez qui ces stimuli n'ont pas engendré de changement d'activité significatif (Tableau 3).

Lorsque l'on examine l'activité du gésier en terme de distribution temporelle, on observe que la proportion du temps passé à haute activité était plus de 3 fois supérieure chez les D⁻ que chez les D⁺ (Tableau 4). Cependant, l'examen du temps passé à faible activité ne montre pas d'effet significatif des lignées (Tableau 4).

L'injection intra veineuse de sérotonine (5-HT) réduisait significativement l'activité du gésier chez les D⁻ (Tableau 3). L'injection préalable de sérum physiologique à un animal de chaque lignée n'a pas été accompagnée d'une telle réduction d'activité, ce qui suggère que cet effet de la sérotonine n'était pas un artefact. Par contre, l'effet de la sérotonine n'était pas significatif chez les D⁺ (Tableau 3).

Analyses relatives au poids du gésier

L'examen de la figure 6 suggère que le gésier (g/kg PV) serait peut-être plus gros chez les poulets opérés que chez les poulets non opérés. Ceci ne peut pas être attribué à la formation du tissu conjonctif autour de la jauge, celui-ci ayant été enlevé préalablement à la pesée. L'absence de dissection d'animaux non opérés entre 30 et 45 jours ne permet pas cependant de conclure sur cet éventuel effet de l'opération.

L'activité à l'allumage rapportée à l'activité de nuit (A_{P5}/A_{P4}) est positivement corrélée au poids relatif du gésier (Figure 7). La corrélation entre ce rapport et l'âge n'est pas significative, aussi bien en régression simple ($P = 0,33$) qu'en régression multiple ($P = 0,76$) calculée en association avec le poids relatif du gésier. Dans ce dernier calcul de régression multiple, l'association entre le rapport A_{P5}/A_{P4} et le poids relatif du gésier reste significative ($P = 0,017$).

Tableau 4. Proportion du temps passé à haute ou faible activité du gésier, chez des poulets appartenant aux lignées D⁺ ou D⁻.

	Proportion ¹ (%) du temps passé à haute activité ²	Proportion ¹ (%) du temps passé à faible activité ³
Lignée D ⁺	13,8	25,7
Lignée D ⁻	43,0	15,9
ESM ⁴	9,21	5,52
Effet Lignée (valeur de P)	0,049	0,239

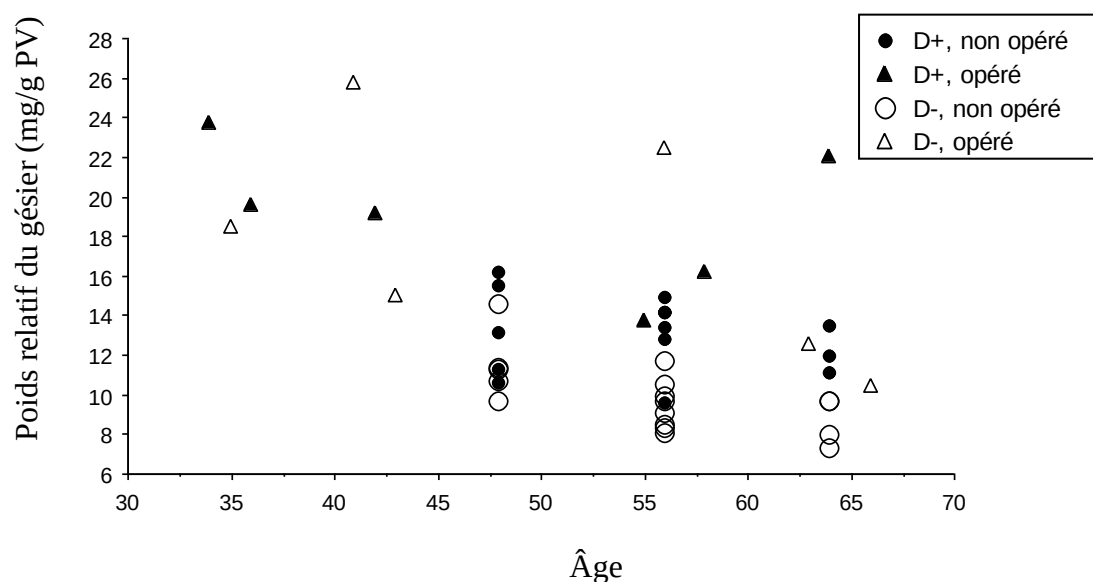
¹ Pourcentage du temps total d'enregistrement

² Haute activité = activité ≥ 1

³ Faible activité = activité $\leq 0,4$

⁴ Erreur Standard des Moyennes (n=6)

Figure 6. Évolution du poids relatif du gésier (mg/g PV) en fonction de l'âge, chez les poulets appartenant aux lignées D⁺ (en symbole plein) et D⁻ (en symbole vide), ayant été opérés (symbole : triangle) ou non (symbole : cercle).



DISCUSSION

1. Techniques utilisées

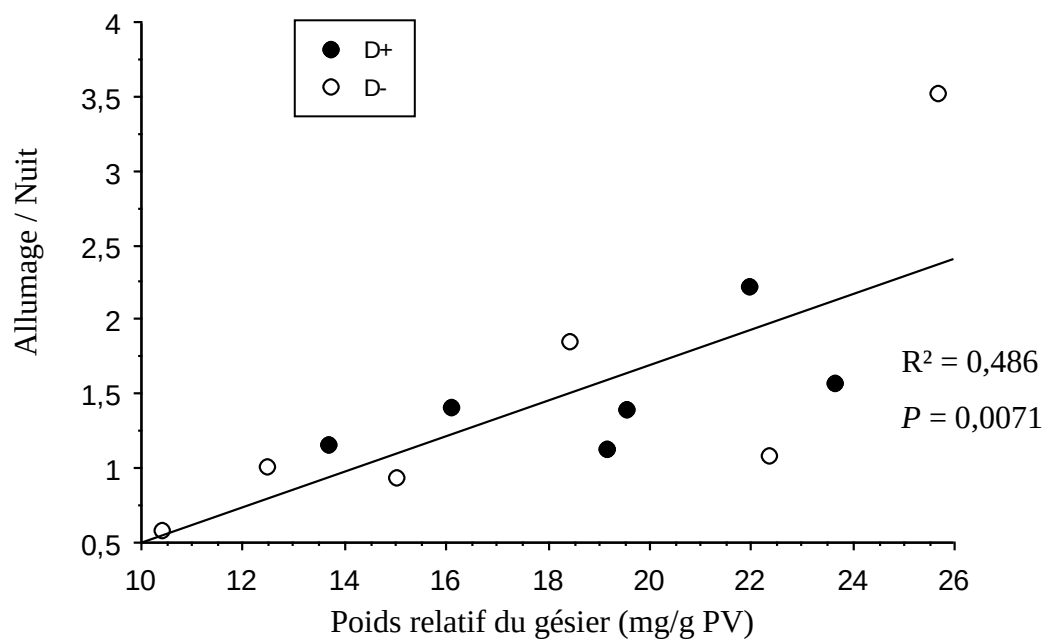
L'analyse des fréquences et hauteurs des pics d'intensité est apparue difficile au vu de la complexité des réponses. Une approche globalisante sans détail sur la structure des pics a donc été choisie. Le calcul des ET500s (écart-type 500s/ écart-type 500s) a permis de réduire considérablement le nombre de données à traiter, de s'affranchir de la difficulté à déterminer le niveau de base et de calibrer les données. Les profils des ET500s étaient très cohérents avec les intensités enregistrées sur la journée d'enregistrement, ce qui valide ce mode de calcul choisi.

Les conséquences de l'appareillage du gésier avec les jauges sur les réponses de motricité des gésiers sont difficiles à évaluer. Dans cette étude, il n'est pas exclu que le poids du gésier ait été affecté par la présence de jauges de contraintes fixées sur cet organe, ce qui pourrait poser question sur la signification des résultats. L'effet des jauges n'a pas pu être testé d'une manière rigoureuse, les pesées des gésiers n'ayant pas été faites à des âges similaires pour les animaux opérés et non opérés. Il ne serait peut-être pas inutile que de futures études testent l'effet spécifique de la présence de jauges sur la taille des gésiers et sur les digestions. En effet, la présence de jauges de contrainte sur le gésier pourrait avoir l'effet d'un stimulus physique, favorisant le développement du gésier, en particulier chez les D⁺.

2. Profil général des réponses

Chez l'oiseau, peu d'études ont été effectuées sur l'activité du gésier enregistrée en continu sur des périodes d'enregistrement de 24h ou plus. Sur ce point, nous ne connaissons que l'étude de Roche et Ruckebusch (1978). En général, les enregistrements se limitent à quelques dizaines de minutes (Jimenez *et al.*, 1992 ; Degolier *et al.*, 1997) ou quelques heures (Duke & Kostusch, 1975; Savory, 1987 ; Chaplin & Duke, 1988 ; Clench & Mathias, 1992, Clench & Mathias, 1995). Ces études ont été menées soit avec des électrodes (Roche & Ruckebusch, 1978; Jimenez *et al.*, 1994; Clench & Mathias 1992,1995), soit avec des jauges de contrainte implantées sur les muscles du gésier (Duke & Kostusch, 1975; Savory, 1987 ; Chaplin & Duke, 1988 ; Degolier *et al.*, 1997). Dans notre étude, au cours d'un enregistrement continu d'environ 24h, plusieurs stimuli ont été testés, à savoir un repas consécutif à une période de jeûne d'environ 22h, et un allumage de la lumière après une heure d'obscurité.

Figure 7. Relation entre les rapports des valeurs individuelles d'activité du gésier [Allumage (P5)/ Nuit (P4)] et le poids relatif du gésier¹ (mg/g PV)



¹ Le poids relatif du gésier ne différait pas significativement entre les deux groupes D⁺ et D⁻.

Le repas s'est souvent accompagné d'une augmentation de l'activité du gésier, comme observé précédemment chez la dinde (Chaplin & Duke, 1988) et le poulet (Roche & Ruckebusch, 1978 ; Savory *et al.*, 1987). En moyenne, la période du repas a été associée aux activités du gésier les plus fortes (Tableau 2).

Mis à part la période d'injection du 5-HT, la période de nuit a été celle où l'activité du gésier a été en moyenne la plus faible (Tableau 2), comme déjà observé par Roche & Ruckebusch (1978). Comme Roche & Ruckebusch, l'allumage de la lumière a souvent provoqué une augmentation de l'activité du gésier, avec en moyenne des valeurs d'activité proches de celles observées pendant le repas (Tableau 2).

Les activités durant les périodes de jeûne ont semblé aléatoires d'après les enregistrements obtenus. Il est possible que les animaux aient été sensibles à des stimuli de leur environnement, comme la vision de leurs congénères nourris *ad libitum*.

En fin d'enregistrement, l'effet d'une dose élevée de 5-HT a été testé. La dose a cependant été plus faible que celle utilisée par Wideman *et al.* (2009) dans leur étude sur la vasoconstriction pulmonaire chez le poulet. Dans notre étude, un des buts de cet enregistrement était d'obtenir un point de calibrage, c'est-à-dire un repère d'activité maximale du gésier. En effet, chez d'autres espèces comme le porc (Shiihara *et al.*, 1997; Nakajima *et al.*, 1997), le chien (Haga *et al.*, 1998; Prove & Erhlein, 1983), le mouton (Plaza *et al.*, 1996) et le rat (Dhasmana *et al.*, 1993), le 5-HT est un stimulateur de l'activité musculaire gastrique. A notre connaissance, l'effet du 5-HT sur la motricité gastro-intestinale n'avait jamais été testé chez l'oiseau. Compte tenu de nos résultats, l'effet du 5-HT chez le poulet est l'inverse de ce qui a été observé chez d'autres espèces, étant donné que cette injection s'est accompagnée en moyenne d'une réduction très notable de l'activité du gésier (Tableau 2). Pour cette raison, c'est le repas qui a été pris comme point de repère d'activité maximale, et non l'injection du 5-HT. Il est probable que le 5-HT est impliqué dans la régulation de la motricité gastro-intestinale chez le poulet, étant donné que de nombreuses cellules à 5-HT ont été observées au niveau de la muqueuse de l'intestin grêle du poulet (Yamanaka *et al.*, 1989 ; Rawdon & Andrew, 1999). Cependant, au vu de nos résultats, il semblerait que le mode de régulation du 5-HT sur la motricité gastro-intestinale du poulet diffère de celui observé chez d'autres espèces. On peut noter que des différences ont déjà été observées entre mammifères et oiseaux concernant l'action de certaines hormones digestives comme, par exemple, la motiline (Rodriguez-Sinovas *et al.*, 1997) ou la CCK (Satoh *et al.*, 1994).

3. Comparaison entre les D⁺ et les D⁻

A notre connaissance, avant notre étude, l'effet de l'origine génétique des animaux sur la motricité gastrique n'avait jamais été testé.

La moindre variabilité de l'activité du gésier observée chez les D⁻ comparée aux D⁺ (Tableau 2) traduit une activité plus continue chez les D⁻. En période 1 préalable au repas, la plus faible activité observée chez les D⁻ comparée aux D⁺ traduit en fait une plus faible réactivité au repas chez les D⁻, étant donné que l'activité du repas sert de référence (valeur maximale repas : 1). L'effet du repas (Période 2) comparé à la période antérieure (Période 1) est d'ailleurs significatif chez les D⁺, alors qu'il ne l'est pas chez les D⁻ (Tableau 3). De même, l'effet de l'allumage comparé à la période nocturne antérieure est seulement significatif chez les D⁺ (Tableau 3). L'ensemble de ces résultats tend donc à indiquer que les D⁺ présentent une activité de leur gésier plus variable, et plus sensible aux stimuli. On peut remarquer que le stimulus de la lumière fait obligatoirement intervenir le système nerveux central et que ce stimulus a mieux discriminé les lignées que le stimulus alimentaire qui, lui, peut se transmettre par des voies périphériques.

Les résultats de la présente étude sont cohérents avec ceux de nos deux études précédentes montrant que les gésiers des D⁻ nécessitaient des stimuli plus importants que ceux des D⁺ pour atteindre une fonctionnalité optimale. Dans nos études précédentes, les stimuli consistaient en stimuli physiques connus pour agir sur le gésier, comme la taille des particules ou la teneur en fibres insolubles. Compte tenu des résultats de la présente expérience suggérant un rôle possible du système nerveux central dans la différenciation entre les deux lignées, il n'est pas exclu que les effets différentiels des particules ou des fibres sur les deux lignées mettent éventuellement en jeu le système nerveux central.

CONCLUSION

Les enregistrements obtenus avec des jauges de contrainte fixées sur le gésier des poulets D⁺ et D⁻ montrent que le profil de motricité des gésiers est différent chez les deux lignées D⁺ et D⁻. D'une part, l'activité du gésier chez les poulets D⁻ est moins variable que chez les D⁺, et, d'autre part, elle est moins sensible aux stimuli tels que le repas ou l'allumage de la lumière. Une observation nouvelle et non attendue a été obtenue concernant l'effet de l'injection d'une forte dose de 5-HT avec un effet négatif sur l'activité du gésier, contraire aux effets du 5-HT généralement observés chez les autres espèces sur l'activité de l'estomac.

REFERENCES

- Barash I, Nitsan Z, Nir I (1993). Adaptation of light-bodied chicks to meal feeding: gastrointestinal tract and pancreatic enzymes. *Brit. Poult. Sci.* **34**, 35-42.
- Chaplin SB & Duke GE (1988). Effect of denervation on initiation and coordination of gastroduodenal motility in turkeys. *Am. J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **255**, G1-G6.
- Clench MH & Mathias JR (1992). A complex avian intestinal motility response to fasting. *Am. J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **262**, G498-G504.
- Clench MH & Mathias JR (1995). Motility responses to fasting in the gastrointestinal tract of three avian species. *The Condor* **97**, 1041-1047.
- Degolier T, Duke G & Carraway R (1997). Neurotensin decreases pepsin output and gastrointestinal motility in chickens. *Poult. Sci.* **76**, 1435-1439.
- Dhasmana KM, Zhu YN, Cruz SL, Villalon CM (1993). Gastrointestinal effects of 5-hydroxyptamine and related drugs. *Life Science* **53**, 1651-1661.
- Duke GE, Dzuik HE & Evanson OA (1972). Gastric pressure and smooth muscle electrical potential changes in turkeys. *Am. J. Physiol.* **222**, 167-173.
- Duke GE, Evanson OA & Redig PT (1976). A cephalic influence on gastric motility upon seeing food in domestic turkeys (*Melagris gallopavo*), great-horned owls (*Bubo virginianus*) and red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*). *Poult Sci.* **55**, 2155-2165.
- Duke GE & Evanson OA. (1976). Diurnal cycles of gastric motility in normal and fasted turkeys. *Poult. Sci.* **55**, 1802-1807.
- Duke GE & Kostuch TE (1975). The use of strain gauge transducers to study gastroduodenal motility in turkeys. *Poult. Sci.* **54**, 1472-1478.
- Haga N, Suzuki H, Shiba Y, Mochiki E, Mizumoto A & Zitoh Z (1998). Effect of TKS159, a novel 5-hydroxyptamine₄ agonist, on gastric contractile activity in conscious dogs. *Neurogastroenterol. Mot.* **10**, 295-303.
- Jimenez M, Martinez V, Vergara P & Gonalons E (1992). A method of analysis of the electrical activity of the proximal gastrointestinal tract of the chicken. *Poult. Sci.* **71**, 1531-1539.
- Jimenez M, Martinez V, Rodriguez-Membrilla A, Rodriguez-Sinovas A, Gonalons E & Vergara P (1994). Rhythmic oscillating complex: characterization, induction, and relationship to MMC in chickens. *Am. J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **266**, G585-595.

- Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Péron A, Sellier N, Millet N, Besnard J, Hallouis JM & Carré B (2004). Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poult. Sci.* **83**, 860-867.
- Nakajima M, Shiihara Y, Shiba Y, Sano I, Sakai T, Mizumoto A & Itoh Z (1997). Effect of 5-hydroxytryptamine on gastrointestinal motility in conscious guinea-pigs. *Neurogastroenterol. Mot.* **9**, 205-214.
- Plaza, MA, Arruebo MP & Murillo MD (1996). Involvement of somatostatine, bombesin and serotonin in the origin of the migrating myoelectric complex in sheep. *Life Sci.* **58**, 2155-2165.
- Prove J et Erhlein HJ (1983). Effects of 5-hydroxytryptophane and insulin on gastric motility and emptying in dogs. *Quart. J. Exp. Physiol.* **68**, 209-219.
- Rawdon BB & Andrew A (1999). Gut endocrine cells in birds: An overview, with particular reference to the chemistry of gut peptides and distribution, ontogeny, embryonic origin and differentiation of the endocrine cells. *Prog. Histochem. Cytochem.* **34**, 3-82.
- Roche M & Ruckebusch Y (1978). A basic relationship between gastric and duodenal motilities in chickens. *Am J Physiol. Endocrinol. Metab. Gastrointest. Physiol.* **4**, 670-677.
- Rodriguez-Sinovas A, Jimenez M, De Clercq P, Peeters TL & Vergara P (1997). Rhythmic oscillating complexes in gastrointestinal tract of chickens: a role for motilin. *Am J Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **272**, G916-922.
- Sathoh S, Furuse M, Choi YH & Okurama J (1994). Cholecystokinin is not a major regulator in the digestive-system in the chicken. *Experientia* **50**, 812-814.
- Savory CJ (1987). Gastrointestinal motility in relation to spontaneous meal occurrence in domestic fowls. *Appetite* **9**, 139-148.
- Shiihara Y, Shiba Y, Sano I, Sakai T, Mizumoto A & Itoh Z (1997). Effect of 5-hydroxytryptamine on gastrointestinal motility in conscious guinea-pigs. *Neurogastroenterol. Mot.* **9**, 205-214.
- Wideman RF, Bowen OT & Erf GF (2009). Broiler pulmonary hypertensive responses during lipopolysaccharide-induced tolerance and cyclooxygenase inhibition. *Poult. Sci.* **88**, 72-85.
- Yamanaka Y, Yamada J, Kitamura N & Yamashita T (1989). An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. *Z mikrosk-anat. Forsch.* **103**, 437-446.

Partie IV. Discussion

La comparaison des lignées D^+ et D^- au cours de nos expériences a mis en évidence que ces lignées étaient totalement séparées sur le plan de l'indice de consommation et de l'efficacité de digestion (expériences 1 et 2). L'EMAn, les digestibilités de l'amidon (expérience 1), des protéines (expériences 1 et 2) et des lipides (expérience 1) sont plus élevées chez les D^+ que chez les D^- , comme cela était prévisible.

Les poulets utilisés dans nos expériences appartenaient à la 6^{ème} (expérience 1), 8^{ème} (expérience 2) et 9^{ème} (expérience 3) génération de sélection divergente sur le critère de l'EMAn mesurée à 3 semaines d'âge avec le régime de sélection (blé Rialto). À la 6^{ème} génération de sélection, la différence d'EMAn entre lignées dépassait 30% avec le régime de sélection (Carré *et al.*, 2008a). Dans nos expériences, avec les régimes témoins à base de maïs, la différence d'EMAn entre les deux lignées n'était que d'environ 6% à 3 semaines d'âge. Un régime à base de maïs réduit considérablement les écarts d'EMAn entre lignées par rapport au régime à base de blé Rialto. En effet, une interaction entre lignées (D^+ et D^-) et céréales (blé ou maïs) avait déjà été observée pour l'EMAn (Carré *et al.*, 2005a; Carré *et al.*, 2007b): à la 4^{ème} génération de sélection, l'écart d'EMAn entre lignées était de 14% environ avec un régime « blé » tandis qu'il était de 5% environ seulement avec un régime « maïs ». Ainsi, l'utilisation de régime à base de maïs n'introduit pas une contrainte supplémentaire sur les critères de digestion, par opposition au blé.

En utilisant dans nos expériences un régime à base de maïs, de meilleure qualité que le blé Rialto, nous avons donc choisi de minimiser les facteurs limitants de la digestion provenant de l'aliment. Ce sont donc surtout les facteurs limitants provenant des individus qui ont été mis en jeu dans les études réalisées au cours de la thèse.

1. Performances des poulets D^+ et D^-

1.1. Poids vif et croissance des poulets D^+ et D^-

Nourris avec un régime à base de blé, les D^+ et les D^- ne présentent pas de différence de poids vif à 21 jours, conformément aux critères de sélection (Mignon-Grasteau *et al.*, 1994). **Dans l'expérience 1**, l'usage de maïs a révélé des différences de poids vifs entre lignées à 21 jours, avec les D^- plus lourds que les D^+ . Comme déjà observé auparavant (Carré *et al.*, 2007), il est probable qu'avec le régime « Blé Rialto », les D^- n'exprimaient pas leur

potentiel de croissance du fait d'un déficit énergétique. Par contre, avec un régime « Maïs », les D⁻ ont probablement exprimé leur véritable potentiel de croissance. Concernant les D⁺, le poids vif n'était pas affecté par la céréale (Carré *et al.*, 2008a). On peut donc en déduire que, à 21 jours, les D⁻ présentent probablement un potentiel de croissance supérieur aux D⁺.

Cependant, **dans l'expérience 2**, la différence de poids vif entre lignées n'est pas retrouvée. Ceci pourrait être dû à la différence de génération de sélection des poulets entre l'expérience 1 (poulets de 6^{ème} génération) et l'expérience 2 (poulets de 8^{ème} génération).

1.2. Consommation alimentaire des poulets D⁺ et D⁻

Dans les expériences 1 et 2, quel que soit le régime, la consommation alimentaire des D⁻ était significativement plus élevée que celle des D⁺. Cette différence pourrait suggérer que les faibles valeurs de digestibilités et EMAN observées chez les D⁻ sont dues en partie à leurs plus forts ingérés alimentaires. Or, une étude antérieure (Carré *et al.*, 2005a), qui testait les interactions entre les lignées (D⁺ *versus* D⁻) et la forme du régime (farine *versus* granulés) a montré qu'un régime sous forme de farine réduisait les quantités ingérées sans modification de l'EMAN (Carré *et al.*, 2005a). Ainsi, la différence d'ingéré alimentaire entre les D⁺ et les D⁻ n'est pas la cause principale des différences de digestion et d'EMAN entre les lignées. La plus forte consommation alimentaire des D⁻ serait donc une adaptation pour compenser leur faible digestibilité des composants de l'aliment, afin de couvrir leurs besoins en énergie. Ceci suggère que les D⁻ auraient acquis au cours de la sélection une capacité à ingérer de fortes quantités d'aliment. Or, la dilution d'un régime « maïs » par 7% (expérience 1) ou 15% (expérience 2) de fibres grossières a entraîné une augmentation de la consommation alimentaire chez les deux lignées D⁺ et D⁻ et n'a pas affecté la croissance, ni chez les D⁺, ni chez les D⁻ (expérience 2). Les deux lignées ont donc été capables de s'adapter de la même manière à un régime très dilué par une augmentation de l'ingéré, ce qui remet en question l'hypothèse formulée ci-dessus.

2. Anatomie, fonctionnalité et efficacité digestives chez les poulets D⁺ et D⁻

Notre hypothèse principale était que l'anatomie digestive, et plus particulièrement celle du gésier, était impliquée dans les différences de digestion entre les D⁺ et les D⁻. (Dans ce

chapitre, les poids des organes digestifs sont exprimés en poids relatif par rapport au poids vif de l'animal). Pour tester cette hypothèse, nous avons choisi de faire varier la taille du gésier et d'étudier les réactions de cet organe en terme d'anatomie et de fonctionnalité, chez les deux lignées D^+ et D^- . Les réactions des autres organes digestifs, en particulier l'intestin grêle et le pancréas, permettaient de caractériser le système digestif de chaque lignée dans son ensemble, et d'évaluer les coordinations entre organes, en particulier (les liens) entre les organes digestifs proximaux (proventricule et gésier) et distaux (intestin grêle et pancréas).

L'introduction de particules grossières dans l'aliment, sous forme de grains entiers (Taylor & Jones, 2004; Amerah *et al.*, 2007b), ou de fibres insolubles (Hetland & Svihus, 2001a; Gonzales-Alvarado *et al.*, 2008) est souvent associée à une augmentation du poids du gésier (cf. introduction bibliographique). Partant de cette observation, nous avons choisi de tester, au cours des expériences 1 et 2, deux types de particules grossières :

- du maïs concassé grossier (expérience 1), ce qui nous permettait de conserver une composition de régime identique à celle du régime témoin.

- des fibres grossières (expériences 1 et 2), ce qui nous permettait de tester des particules grossières sans constituants alimentaires disponibles, tout en introduisant une dilution du régime. A travers ce type de particules grossières, le but était aussi de voir comment les D^+ et les D^- étaient capables de compenser la dilution, par une augmentation de la consommation alimentaire. Ceci permettait de tester les limites de capacités (en terme de volume) du tractus gastro-intestinal.

2.1. Compartiments digestifs proximaux (proventricule et gésier)

Dès la seconde génération de sélection (Péron *et al.*, 2006), le proventricule et le gésier des D^+ étaient plus lourds que ceux des D^- , que les animaux soient nourris avec un régime à base de blé ou de maïs (Péron *et al.*, 2006 ; Garcia *et al.*, 2007 ; Carré *et al.*, 2008a). Dans nos expériences (1 à 3), avec des poulets D^+ et D^- appartenant aux 6^{ème}, 8^{ème} et 9^{ème} générations, ces différences anatomiques ont été confirmées. Par ailleurs, la relation inverse entre consommation alimentaire et taille du proventricule + gésier (consommation des D^- supérieure à celle des D^+ , malgré des proventricules et gésiers plus petits), observée dans les expériences 1 et 2, suggère que ce n'est pas la différence de consommation entre lignées qui explique la différence de taille de ces organes.

Des relations positives entre le poids du gésier et les efficacités digestives ont été établies chez les D⁺/D⁻ (Péron *et al.*, 2006 ; Garcia *et al.*, 2007 ; Rougière *et al.*, 2009). D'une façon générale, chez les poulets de chair, un plus gros gésier est associé à une amélioration de l'EMAn et des digestibilités des constituants alimentaires (Maisonnier *et al.*, 2001a, 2003 ; McEntee *et al.*, 2003 ; Péron *et al.*, 2006 ; Garcia *et al.*, 2007 ; expériences 1 et 2). Les particules grossières introduites dans les régimes (expériences 1 et 2) ont stimulé le travail du gésier, résultant en l'augmentation du poids relatif de cet organe chez les deux lignées et en l'amélioration de l'efficacité de digestion chez les D⁻. Chez les D⁺, l'efficacité de digestion était déjà presque optimale avec le régime standard (expérience 1) et pouvait donc difficilement être améliorée. Il faut noter que les deux types de particules (maïs concassé et fibres grossières) ont conduit aux mêmes effets sur le gésier. Ces effets pourraient donc être attribués à leur caractéristique commune, c'est-à-dire leur taille particulaire élevée. Par ailleurs, il semble que les limites de capacités volumiques du gésier des deux lignées n'aient pas été atteintes malgré la forte dilution du régime par des fibres grossières dans l'expérience 2, puisque le poids du gésier a augmenté de façon importante (par rapport au régime témoin) avec ce régime, surtout chez les D⁻.

L'amélioration de l'efficacité de digestion associée à un plus gros gésier pourrait s'expliquer par l'optimisation des fonctionnalités de cet organe. Notre hypothèse était que la taille du gésier était associée au temps de rétention moyen du digesta dans ce compartiment. Pour tester cette hypothèse, nous avons mesuré et comparé les temps de rétention moyen (TRM) des digesta dans les organes digestifs des deux lignées D⁺ et D⁻ (expérience 2). Comme le montrent les figures 37 et 38, il s'est avéré que le TRM dans le compartiment (proventricule + gésier) était positivement associé au poids relatif de ce compartiment à 9 et 29 jours, comme nous l'avions supposé. Ceci explique que les TRM du digesta dans les compartiments gastriques (proventricule + gésier) soient très différents entre les deux lignées, avec des valeurs plus élevées chez les D⁺, aux âges de 9 et 29 jours (expérience 2).

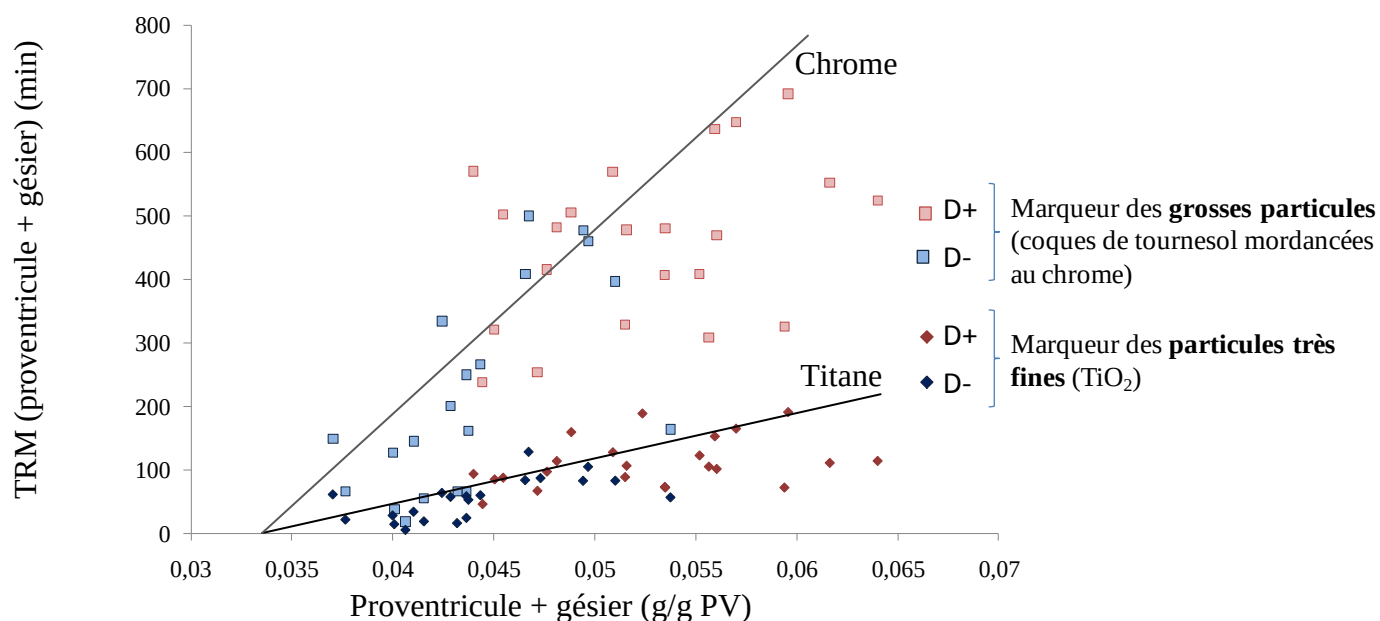


Figure 37. Lien entre le TRM dans le système « proventricule+gésier » à 9 jours et le poids relatif du proventricule+gésier (mg/g PV), pour les deux lignées D⁺ et D⁻.

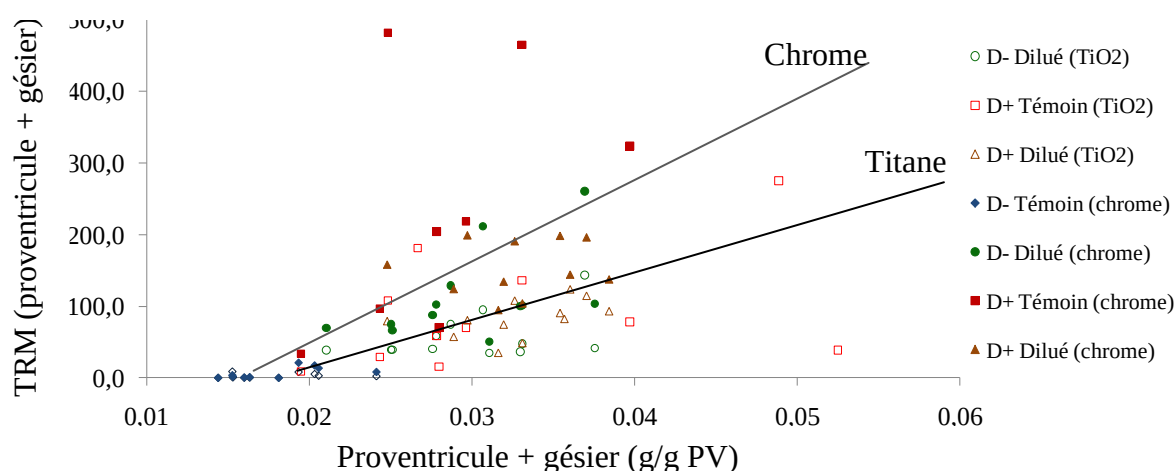


Figure 38. Lien entre TRM dans le système « proventricule+gésier » à 29j et le poids relatif du proventricule+gésier (mg/g PV), pour les lignées D⁺ et D⁻, avec les régimes témoin et dilué.

Ces différences de TRM (proventricule + gésier) entre les D⁺ et les D⁻ suggèrent des différences de **régulation de l'évacuation gastrique**, ce qui constitue la base de notre hypothèse d'explication des différences d'efficacité digestive entre les lignées. Il est probable que les relations positives entre le poids de gésier et l'efficacité de digestion observées dans beaucoup de nos expériences chez les D⁺ et les D⁻ peuvent s'expliquer au moins en partie par des TRM dans les compartiments gastriques plus longs dans les gésiers les plus lourds,

comme suggéré par la figure 39. La régulation de l'évacuation gastrique implique une **bonne fonctionnalité du pylore**, puisqu'en théorie, le pylore joue un rôle de filtre de taille particulière. Les particules grossières sont retenues dans le gésier et sont broyées jusqu'à ce qu'elles atteignent une taille critique (0,5-1,5mm) pour pouvoir être évacuées par le pylore vers le duodénum (Ferrando *et al.*, 1987; Vergara *et al.*, 1989a).

Cette fonctionnalité semble respectée (quel que soit le régime) **chez les D⁺**, puisque le TRM (proventricule + gésier) est plus long pour les particules grossières (coques mordancées au chrome) que pour les particules fines (TiO₂) (expérience 2 et figures 37, 38). Ceci suggère qu'il y a ségrégation des particules des particules selon leur taille dans le gésier. Les particules grossières sont retenues dans le compartiment proventricule + gésier plus longtemps que les particules fines.

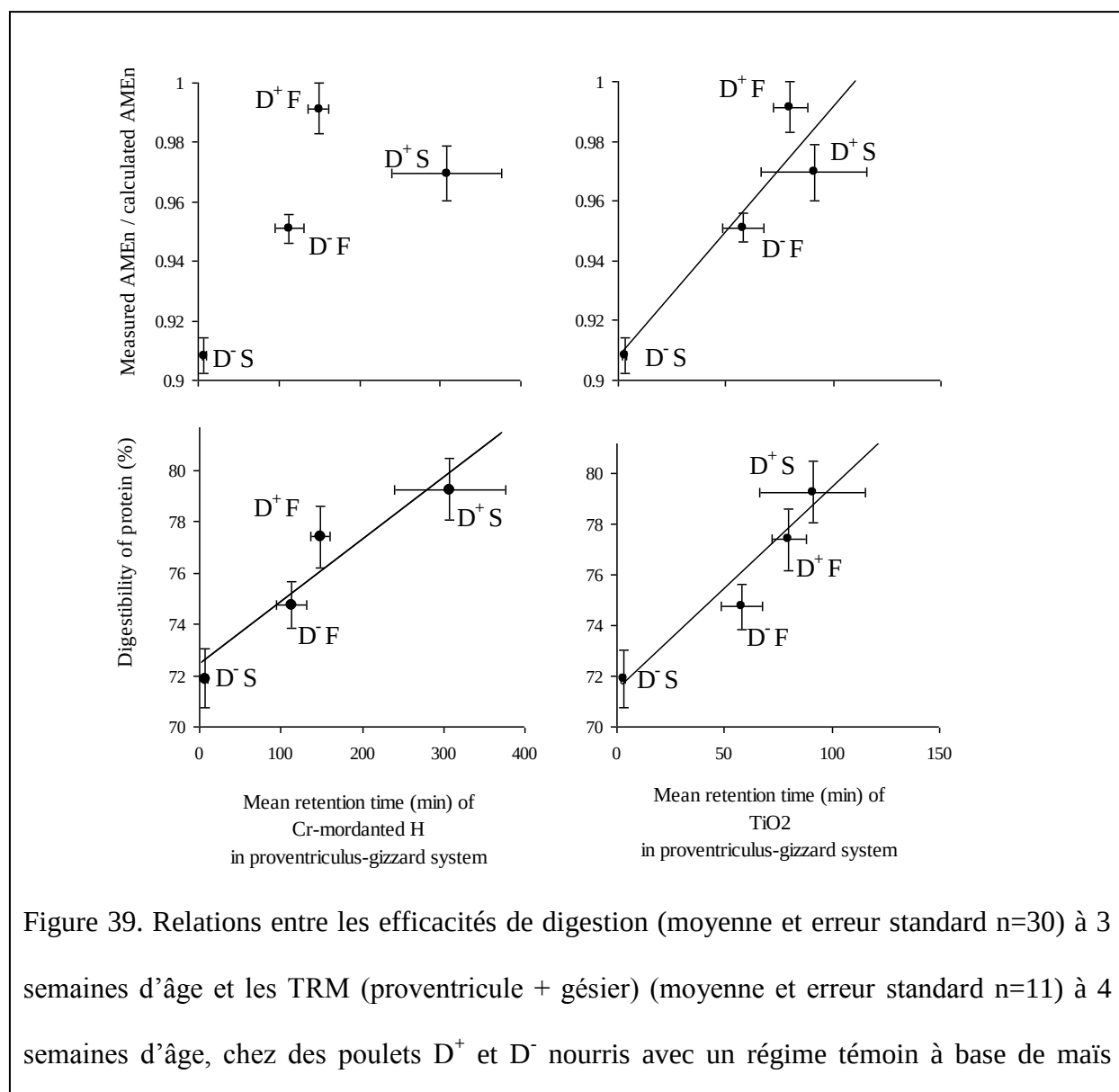


Figure 39. Relations entre les efficacités de digestion (moyenne et erreur standard n=30) à 3 semaines d'âge et les TRM (proventricule + gésier) (moyenne et erreur standard n=11) à 4 semaines d'âge, chez des poulets D⁺ et D⁻ nourris avec un régime témoin à base de maïs

(régime S) ou avec un régime dilué par 15% de fibres grossières (régime F) (expérience 2). (Les relations étaient significatives ($P < 0.05$) sauf pour la relation entre l'efficacité digestive et le TRM des particules grossières).

Chez les D^- , par contre, **avec le régime témoin**, il semblerait que le pylore soit moins fonctionnel, puisque les TRM (proventricule + gésier) des digesta sont très courts, quelle que soit leur granulométrie (fine (TiO_2) ou grossière (Coques mordancées)). Ceci suggère que les particules sont évacuées en continu et sans distinction de taille hors du gésier. Cette hypothèse est d'ailleurs d'autant plus plausible que l'activité du gésier des D^- semble peu variable au cours du nycthémère (étude 3). La mauvaise fonctionnalité du pylore chez les D^- pourrait être expliquée par le développement insuffisant du gésier, puisque chez le poulet, contrairement aux mammifères monogastriques, le pylore n'est pas un sphincter mais fonctionne en coordination avec l'action des muscles du gésier (cf. introduction bibliographique). Ainsi, chez les D^- nourris avec le régime témoin, le faible développement musculaire pourrait être la cause d'une moins bonne sélectivité du pylore, et donc conduire à une évacuation plus rapide (et/ou plus fréquente) du contenu du gésier dans le duodénum. Une altération de la régulation hormonale et/ou nerveuse du pylore pourrait aussi être en cause puisque le pylore est une zone très innervée et riche en cellules endocrines (cf. introduction bibliographique). **Avec le régime dilué**, par contre, le gésier est plus lourd et les TRM (proventricule + gésier) sont plus longs chez les D^- par rapport au régime témoin. On observe une augmentation plus importante de la durée de rétention moyenne des particules grossières que des particules fines. Ceci suggère que, avec le régime dilué, le gésier des D^- serait plus fonctionnel à « trier » les particules pouvant être évacuées dans le duodénum, grâce à un pylore plus sélectif (expérience 2). Dans de telles conditions, le fonctionnement du gésier des D^- se rapprocherait de celui des D^+ , pouvant être considéré comme un modèle de fonctionnement optimal.

Le stimulus « particules grossières » serait donc essentiel chez les D^- pour un développement optimal des fonctionnalités du gésier. Ce stimulus semble avoir plus de conséquences chez les D^- que chez les D^+ , comme le suggèrent les variations de poids du gésier entre les régimes, plus importantes chez les D^- que chez les D^+ (expérience 2). Chez les D^+ , bien que les fonctionnalités du gésier semblent quasi optimales avec un régime témoin (expérience 1), un minimum de particules grossières serait toutefois nécessaire, puisque, dans l'expérience 2, presque 20% des poulets de la lignée D^+ présentaient un proventricule dilaté.

Ce phénomène de proventricule dilaté a été précédemment décrit chez des poulets nourris avec des régimes très purifiés ou pauvres en fibres (O'Dell *et al.*, 1959; Riddell, 1975). Le travail du gésier chez les D⁺ semble dans ce cas insuffisant, et l'ensemble proventricule + gésier se comporterait alors comme un réservoir de digesta (compartiment de stockage) avant son évacuation progressive dans le duodénum. C'est pourquoi on observe pour ce groupe de poulets des valeurs de TRM (proventricule + gésier) très élevées pour les particules grossières (expérience 2 et figure 38). Le régime dilué a permis un développement adéquat du proventricule et la disparition du phénomène de proventricule dilaté associé à l'engorgement anormal de ce compartiment.

Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer pourquoi un TRM (proventricule + gésier) plus long (associé à un gésier plus gros) dans le gésier favorise une amélioration de l'efficacité de digestion. Plus le TRM (proventricule + gésier) est long, plus le **mélange des digesta avec les sécrétions digestives** (pepsine, et enzymes pancréatiques par reflux du duodénum vers le gésier) est **efficace**. Chez le poulet, les reflux entre duodénum et gésier (Dzuik & Duke, 1972; Duke, 1992) seraient d'autant plus nombreux que le gésier est gros, optimisant davantage le brassage des digesta avec les sécrétions digestives (Hetland *et al.*, 2003). Par ailleurs, la production d'enzymes digestives (exprimée en g/kg PV) serait liée au poids de proventricule et de pancréas, comme le suggèrent Péron *et al.* (2005). Ainsi, les différences de poids de proventricule et de pancréas entre les D⁺ et les D⁻ dans nos expériences impliqueraient des productions d'enzymes différentes, avec une production supérieure chez les D⁺ que chez les D⁻.

L'anatomie et les fonctions du compartiment gastrique sont donc des critères majeurs de la différenciation des lignées D⁺ et D⁻. L'importance de la fonction gastrique a déjà été observée chez d'autres espèces. Ainsi, chez le veau, une évacuation gastrique plus lente favorise une meilleure digestion des protéines (Guilloteau *et al.*, 1979). Il est très probable que les caractéristiques de ce compartiment antérieur aient une influence sur celles des compartiments faisant suite au gésier.

2.2. Pancréas

Alors que dans une étude antérieure (Péron *et al.*, 2006), le pancréas était plus léger chez les D⁺, dans nos expériences il s'est avéré plus lourd chez cette lignée. Ce contraste peut

s'expliquer par la composition des régimes distribués. Avec un régime à base de blé (Péron *et al.*, 2006), l'augmentation du poids du pancréas des D⁻ était probablement due à une hypertrophie en réponse aux faibles niveaux de digestibilités. En revanche, avec un régime à base de maïs, de meilleure qualité, le poids du pancréas serait à son **niveau normal** pour cette lignée. Avec un régime maïs, contrairement aux observations précédentes faites sur blé (Péron *et al.*, 2006), les poids observés pour cet organe sont alors positivement associés à l'EMAn et aux digestibilités de l'amidon et des protéines (expérience 1). Chez les D⁻, l'augmentation du poids du pancréas est possible par l'introduction de particules grossières dans le régime (expériences 1 et 2). Ceci suggère que, avec un régime maïs, les D⁻ ont aussi besoin d'un stimulus important (sous forme de particules grossières) pour le développement et le fonctionnement optimal du pancréas (expérience 1), comme pour le gésier. Les croissances du gésier et du pancréas semblent donc liées avec un régime à base de maïs (expériences 1 et 2). Dans nos expériences, avec un régime à base de maïs, plus le gésier est lourd, plus le pancréas est lourd, ce qui pourrait suggérer une régulation commune de la croissance de ces deux organes. Des peptides régulateurs pourraient être impliqués dans ces différences de stimulation, tels que la CCK qui a un rôle trophique sur la croissance du pancréas (Guan *et al.*, 1993), et qui stimule la sécrétion d'enzymes pancréatiques par le pancréas exocrine (Svihus *et al.*, 2004a).

L'implication du pancréas dans les différences de digestion entre les D⁺ et les D⁻ pourrait s'envisager selon deux hypothèses principales :

- 1) Il pourrait y avoir production insuffisante d'enzymes pancréatiques chez les D⁻. Cette insuffisance pourrait être la conséquence d'une stimulation insuffisante des sécrétions pancréatiques, en lien notamment avec le développement insuffisant du gésier.
- 2) Les sécrétions pancréatiques pourraient être mal synchronisées avec l'arrivée des digesta dans l'intestin grêle. En effet, étant donné que le temps de rétention du digesta dans le proventricule+gésier est très court, le flux de digesta semble être quasi continu dans le duodénum. Le rapport quantité d'enzyme /quantité de digesta n'est peut-être pas toujours optimal chez les D⁻.

Pour répondre à ces hypothèses, il faudrait étudier la sécrétion pancréatique chez les poulets D⁺ et D⁻, en particulier à travers la mesure des activités enzymatiques dans les contenus digestifs.

2.3. Intestin grêle

Inversement aux compartiments proximaux, les D⁻ ont été caractérisés dès la 2^{ème} génération de sélection par un intestin grêle plus lourd que les D⁺ (Garcia *et al.*, 2007 ; Carré *et al.*, 2008a). Concernant la longueur de l'intestin grêle, Péron *et al.* (2006) ont montré qu'elle ne différait pas entre les D⁺ et les D⁻ (nourris avec un régime « blé »). Nous n'avons pas fait de mesure de longueur ou d'épaisseur de la paroi au cours de nos expériences, mais en supposant que la longueur de l'intestin grêle n'est pas différente entre les lignées, les différences de poids d'intestin grêle (expériences 1 à 3) pourraient alors être expliquées par une différence d'épaisseur de la paroi de l'intestin grêle (qui serait plus élevée chez les D⁻), soit au niveau de la muqueuse (taille des villosités), soit au niveau de la musculature. Une muqueuse plus épaisse consisterait en des villosités intestinales plus grandes (longueur, largeur) pour optimiser l'absorption des nutriments digérés. Une musculature plus épaisse pourrait indiquer la nécessité d'un travail musculaire plus important pour favoriser le transit d'un plus grand volume de digesta vers les parties distales de l'intestin grêle. Ces éventuelles différences morphologiques de l'intestin grêle entre lignées consisteraient en fait en des **adaptations anatomiques et fonctionnelles** en réponse à une digestion non optimale chez les D⁻. En effet, dans l'expérience 1, les poids des différents compartiments intestinaux (duodénum, jéjunum, iléon) étaient négativement corrélés à l'EMAn et aux digestibilités de l'amidon, des protéines et des lipides (expérience 1), comme cela avait déjà été observé (Péron *et al.*, 2006). Ceci suggère alors qu'un **intestin grêle plus lourd** (chez les D⁻) est la **conséquence d'une digestion non optimale**. Cette digestion non optimale, d'origine gastrique, pourrait se traduire dans le duodénum principalement par des caractéristiques différentes de digesta, notamment en un broyage insuffisant des digesta. En effet (chez les D⁻), si les digesta étaient insuffisamment broyés dans le gésier, du fait d'une évacuation gastrique précoce (autorisée par un pylore permissif), **leur taille particulière** dans le duodénum serait **plus élevée**. L'accessibilité aux composants des digesta par les enzymes et les sécrétions digestives pourrait ainsi être réduite. Par exemple, Péron *et al.* (2005) ont montré que l'emprisonnement de grains d'amidon dans les particules grossières de blé était associé à une baisse de la digestion de l'amidon. Il pourrait y avoir aussi un "engorgement" de digesta au niveau de la partie antérieure de l'intestin grêle compte tenu d'un défaut éventuel de la régulation de l'évacuation gastrique chez les D⁻. Cet engorgement pourrait diminuer les quantités d'enzymes pancréatiques relatives aux digesta et donc contribuer à la dégradation de l'efficacité des digestions.

La présence de particules grossières dans le régime a entraîné la diminution du poids de l'iléon (expérience 1) et l'amélioration associée de l'efficacité de digestion. Ces changements traduisent probablement le fait qu'avec un régime grossier, le compartiment gastrique étant plus fonctionnel (voir précédemment), il n'y a pas nécessité d'un rattrapage au niveau intestinal. D'ailleurs, dans ce sens, Amerah *et al.* (2008) ont observé que le poids du gésier était inversement lié à la longueur des villosités intestinales (un plus gros gésier est associé à des villosités plus petites). Afin de comparer les lignées D⁺ et D⁻, il faudrait étudier la morphométrie de l'intestin grêle, et effectuer des mesures histologiques (épaisseur de paroi, longueur des villosités...).

Le fonctionnement de l'intestin grêle, compartiment impliqué dans la digestion et l'absorption des nutriments (cf. introduction bibliographique), s'avère donc être coordonné à celui du gésier, et adaptable pour compenser des éventuels défauts de digestion. Les caractéristiques de l'intestin grêle seraient donc les conséquences de celles des compartiments antérieurs.

2.4. Le rapport des poids [compartiments antérieurs / intestin grêle]

Le rapport de poids [(proventricule + gésier)/ intestin grêle] (GPIR) s'est avéré être un bon critère de différenciation des lignées D⁺ et D⁻ (expérience 1 et 2) : ce rapport est élevé chez les D⁺, et plus faible chez les D⁻, en raison surtout d'un poids relatif de gésier et de proventricule plus fort. Cette différence avait précédemment été observée par Garcia *et al.* (2007) pour le rapport [poids de gésier / poids d'intestin grêle]. De plus, ce critère est stable dès 8 jours d'âge (cf. introduction et expérience 1), et pourrait donc être utilisé comme indicateur anatomique au cours de la période de croissance du poulet.

Chez les poulets D⁺/D⁻, ce critère est très bien corrélé à l'efficacité de digestion (Garcia *et al.*, 2007 ; expériences 1 et 2). Nous avons établi (expérience 1) une relation curvilinéaire entre l'efficacité de digestion et le GPIR. Cette relation est synthétisée en figure 40.

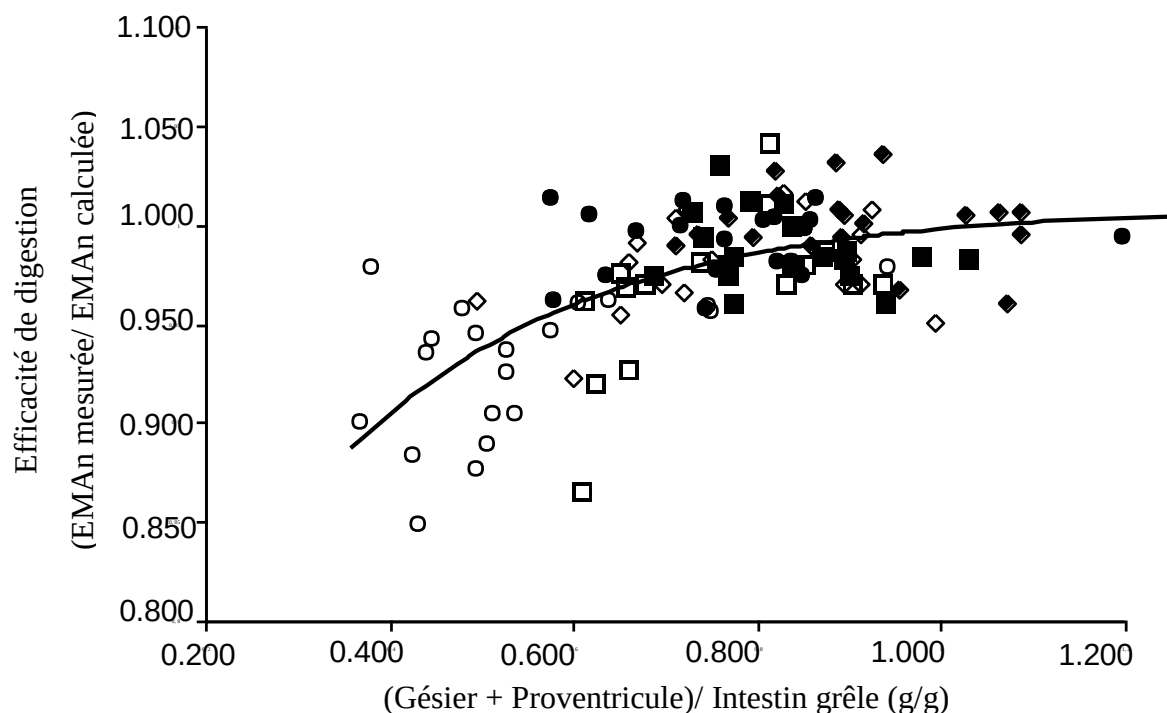


Figure 40. Relation entre l'efficacité de digestion et le rapport de poids (gésier+proventricule) / intestin grêle (GPIR) chez les poulets des lignées D^+ et D^- . Ce schéma est issu de l'expérience 1. Les symboles ($\bullet$, $\blacklozenge$, $\blacksquare$) pour la lignée D^+ et ($\circ$, $\diamond$, $\square$) pour la lignée D^- représentent les régimes Témoin, Dilué et Grossier, respectivement.

- régime Témoin : à base de maïs, granulé

- régime Dilué : constitué du régime Témoin dilué par 7% de balles de céréales

- régime Grossier, de composition identique au régime témoin, mais avec 30% du maïs présenté sous forme concassée mélangé au reste du régime granulé

Les effets des lignées et des régimes sur l'efficacité de digestion sont résumés par les variations de la valeur du GPIR. Ce critère anatomique peut donc être considéré comme un prédicteur universel de l'efficacité de digestion chez les poulets. Il faut noter que, chez les D^+ , l'efficacité de digestion est déjà presque optimum avec le régime témoin et peut donc difficilement être améliorée davantage avec les régimes grossiers. Chez les D^- par contre, l'efficacité de digestion est relativement faible avec un régime standard, mais elle est améliorée par l'introduction de particules grossières dans le régime, en association avec l'augmentation du GPIR. D'ailleurs, avec les particules grossières, certaines valeurs individuelles observées pour les D^- sont identiques à celles des D^+ .

2.5. Interactions lignées x âge

Nous avons suivi l'évolution du poids relatif des organes digestifs avec l'âge (expériences 1 et 2). Il faut noter que cette évolution correspond aux données rapportées dans la littérature (cf. Introduction bibliographique).

Dans nos expériences, aucune différence anatomique n'a été observée entre les lignées à l'éclosion, mais dès 9 jours, les poids relatifs de proventricule, gésier et pancréas étaient significativement plus élevés et celui de l'intestin grêle significativement plus faible chez les D⁺ par rapport aux D⁻. Cette évolution rapide suggère que l'âge ou l'alimentation stimule le développement de caractères propres à chaque lignée. La maturation du tube digestif serait plus avancée chez les D⁺ que les D⁻.

Les différences anatomiques diminuaient avec l'âge. A 63 jours, les écarts de poids relatifs de proventricule, gésier et intestin grêle entre les poulets D⁺ et D⁻ étaient plus faibles qu'à 29 et 42j. Ceci conforte l'hypothèse que les différences entre lignées sont transitoires et ne s'expriment que pendant la période de croissance (expérience 2 ; Carré *et al.*, 2005).

Les TRM diminuent quand l'âge augmente, pour les deux marqueurs (expérience 2). Cette diminution pourrait être attribuée à l'augmentation de la consommation alimentaire avec l'âge, comme le suggérait Vergara *et al.* (1989b). Si le TRM est inversement lié à la consommation alimentaire, on pourrait émettre l'hypothèse que, chez les D⁻, les TRM courts par rapport aux D⁺ sont expliqués par le fait que les D⁻ consomment davantage. Cependant, cette hypothèse n'est pas validée puisqu'avec le régime « fibres », à 29j, la consommation alimentaire est plus élevée qu'avec le régime témoin, alors que le TRM dans le proventricule+gésier est allongé. De plus, les écarts de consommation entre lignées sont beaucoup moins importants que les écarts de TRM (proventricule + gésier) entre lignées. Le niveau d'ingéré alimentaire ne peut donc pas expliquer les différences de TRM (proventricule + gésier) entre les lignées, ou entre les régimes. Ces différences de TRM seraient dues au fonctionnement plus (chez les D⁺) ou moins (chez les D⁻) important du gésier, comme nous l'avons suggéré précédemment.

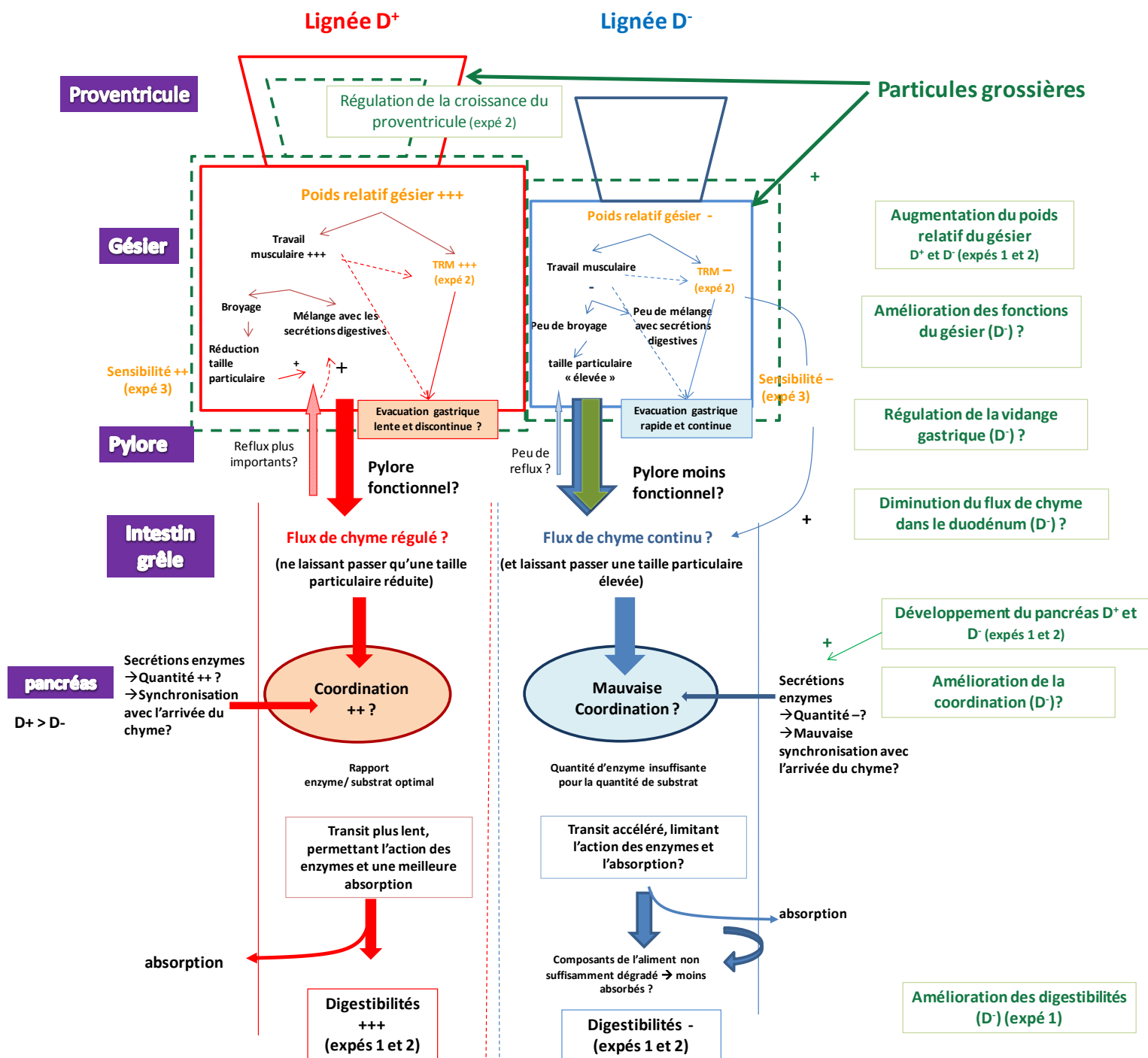


Figure 41. Récapitulatif des hypothèses concernant les différences de digestion entre les D⁺ et les D⁻, et effet (couleur verte) de l'addition de particules grossières chez les D⁻.

3. Conclusion

En conditions physiologiques normales, des signaux provenant du duodénum (mécaniques dus à la distension des parois ou chimiques dus à la composition des digesta, cf. introduction bibliographique) exercent un rétrocontrôle (neuro-humoral) sur la motricité du gésier et sur l'évacuation gastrique (Duke *et al.*, 1972), notamment via la CCK (Savory *et al.*, 1981; Martinez *et al.*, 1993). Ce rétrocontrôle pourrait être altéré chez les D⁻.

Dans l'expérience 3, il a été montré que, chez les D⁻, les intensités de contraction étaient moins sensibles aux stimuli (repas, ..) que chez les D⁺. Le gésier des D⁻ semble montrer une activité continue, comme le suggèrent les résultats obtenus dans l'expérience 3. Chez les D⁻, le flux de digesta du gésier vers le duodénum serait continu, ce qui signifierait une stimulation en continu du duodénum, et par conséquent un éventuel blocage des rétrocontrôles.

Ces observations suggèrent qu'il existerait des différences de régulation de la motricité gastrique pouvant entraîner des modifications de l'évacuation gastrique. Les régulations des sécrétions digestives se font principalement par des rétrocontrôles provoqués par les propriétés des digesta, mais aussi probablement par des signaux exercés par le gésier sur l'intestin grêle via le nerf vague. Les cellules endocrines libèreraient alors de la CCK stimulant à son tour le pancréas (cf. introduction bibliographique).

La figure 41 synthétise les résultats obtenus et les hypothèses pouvant en résulter afin d'expliquer une efficacité de digestion plus faible chez les animaux de la lignée D⁻ par rapport à ceux de la lignée D⁺.

Les fonctions gastriques (motricité, sécrétions gastriques...) semblent être au centre des différences de digestion entre les D⁺ et les D⁻. Les D⁺ ont un gésier plus gros que les D⁻, en association avec une plus longue rétention du contenu dans cet organe. La vitesse d'évacuation gastrique lente permettrait aux organes « proventricule-gésier » d'assurer au mieux leurs fonctions de broyage et d'initiation de la digestion par la pepsine et les ions H⁺ sécrétés dans le proventricule. La coordination entre gésier et intestin grêle s'en trouverait optimale chez les D⁺. En revanche, chez les D⁻, les résultats suggèrent un moins bon fonctionnement du gésier qui nécessiterait une adaptation du tractus digestif au niveau intestinal, qui semble insuffisante. L'efficacité de l'intestin grêle dans la digestion dépendrait de celle des compartiments proximaux. Les D⁻ ont besoin d'un stimulus sous forme de particules grossières pour améliorer leur digestion (Rougière *et al.*, 2009a). Chez les D⁻, les particules permettent le développement musculaire et fonctionnel du gésier et une régulation

de l'évacuation gastrique. La régulation de l'évacuation gastrique serait étroitement liée à la fonctionnalité du pylore, elle-même dépendante de la musculature gastrique. Chez les D⁺, le pylore serait fonctionnel, et jouerait un rôle de filtre ne laissant passer que des particules de taille inférieure à une taille critique. Chez les D⁻, par contre, le pylore serait permissif en raison d'un développement insuffisant du gésier. La durée de rétention gastrique ne serait pas spécifique de la taille particulaire, et l'évacuation gastrique se produirait alors en continu. Par contre, l'introduction de particules grossières dans le régime permettrait une meilleure fonctionnalité du pylore, via le développement du gésier. D'autre part, une bonne fonctionnalité du pylore favoriserait le bon déroulement des coordinations entre le duodénum et le gésier, grâce à une possible modulation des flux de digesta entre ces deux organes.

Les résultats des expériences de cette thèse seront utiles pour la recherche des gènes impliqués dans les variations d'efficacité digestives chez les poulets de chair, notamment lors des études de recherche des QTLs qui seront conduites avec les lignées D⁺ et D⁻. La relation observée entre efficacité digestive et poids des organes digestifs suggère qu'il serait peut être possible de sélectionner en pratique des poulets « bons digesteurs » sur la base de ces poids d'organe. Ce serait une méthode indirecte pratique et peu coûteuse pour améliorer la digestion des poulets commerciaux par la voie de la sélection génétique. Une autre application des résultats de ces expériences consisterait en l'utilisation des propriétés bénéfiques des particules grossières ou des fibres dans l'alimentation des poulets de chair.

4. Perspectives

Les études que nous avons menées chez les animaux issus des lignées D⁺ et D⁻ ont permis de mettre en évidence l'importance capitale du gésier, par sa structure et ses fonctions. Il semble donc important d'approfondir les recherches concernant cet organe et plus particulièrement la motricité et la régulation de l'évacuation gastrique qui pourraient expliquer les différences observées entre lignées.

Il faudrait s'intéresser à la **zone proximale du gésier** (entrée des digesta), c'est-à-dire l'isthme (entre le proventricule et le gésier). C'est dans cette zone que se situent les cellules de Cajal (CIC), lieu d'initiation des contractions motrices (Reynhout & Duke, 1999). La comparaison du nombre de cellules de Cajal, de leur localisation, leur densité, leur morphologie pourraient aider à comprendre les différences de motricité du gésier. La localisation de ces cellules pourrait se faire par immuno-histochimie grâce au c-kit, qui a été

purifié chez le poulet (Lecoin *et al.*, 1996). Il serait également intéressant d'étudier la **zone distale du gésier** (sortie des digesta), c'est-à-dire le pylore, puisque nous avons vu dans la partie bibliographique que cette zone était riche en cellules endocrines. La comparaison entre les deux lignées du nombre et du type de cellules endocrines, ainsi que les taux plasmatiques des peptides régulateurs permettrait d'établir si la régulation qui en découle est impliquée dans les différences D^+/D^- .

Ensuite, il faudrait s'intéresser aux mécanismes de régulation de l'activité musculaire du gésier(en lien avec celle des autres compartiments digestifs) et de son développement (en fonction de l'âge et de l'aliment). Le réseau neural étant très étendu sur le gésier (Duke, 1992; Kuenzel, 2000), il faudrait comparer les régulations venant des systèmes nerveux intrinsèque et extrinsèque. Des éventuelles différences permettraient de conclure par exemple à des différences de densité du plexus myentérique. Pour étudier les contractions du gésier et leur coordination avec la motricité du duodénum, il faudrait poser des capteurs à la fois sur le gésier et le duodénum. Il est probable que des électrodes seraient plus adaptées à cet effet.

Dans cette thèse, nous nous sommes focalisés sur l'étude des compartiments proximaux (proventricule, gésier), qui semblent être déterminants dans les différences de digestion entre D^+ et D^- . Cependant, il serait probablement judicieux de s'intéresser aussi aux compartiments intestinaux. Trois axes de recherche pourraient être définis :

- Le premier concernerait l'étude des contenus (digesta), avec des mesures de pH et la réalisation de profils granulométriques, pour comparer les D^+ et D^- .
- Le second concernerait l'étude du « contenant » (l'intestin grêle). Des mesures morphométriques (longueur, poids, épaisseur de la musculature et de la muqueuse,...) et histologiques (taille des villosités,...) permettraient de caractériser l'intestin grêle de chacune des lignées D^+ et D^- . Plusieurs types de régimes devraient être testés, pour mettre en évidence d'éventuelles interactions lignées x régimes sur les critères morphométriques de l'intestin grêle.
- Le troisième concernerait les productions enzymatiques. L'étude de l'activité des enzymes pancréatiques dans les contenus intestinaux et dans le pancréas pourrait apporter des précisions sur les différences entre D^+ et D^- .

Références Bibliographiques

- AFNOR. (1977). Méthode V18-100. Détermination de la teneur en azote et calcul de la teneur en protéines brutes - méthode de Kjeldahl. Méthodes d'analyse des aliments des animaux. In Méthodes d'analyse des aliments des animaux.
- AFNOR. (1985). Aliments des animaux: méthodes françaises et communautaires. Paris.
- Akester AR. (1979). The autonomic nervous system. In Form and Function in birds, ed. McLelland J., pp. 381-441. Academic Press, London.
- Aksoy A & Cinar K. (2009). Distribution and ontogeny of gastrin- and serotonin-immunoreactive cells in the proventriculus of developing chick, *Gallus gallus domestica*. *Journal of Veterinary Science* 10, 9-13.
- Ali HA & McLelland J. (1979). Neuron number in the intestinal myenteric plexus of the domestic fowl (*Gallus gallus*). *Anatomia, Histologia, Embryologia* 8, 277-283.
- Almirall M & Esteve-garcia E. (1994). Rate of passage of barley diets with chromium oxide: influence of age and poultry strain and effect of β -glucanase supplementation. *Poultry Science* 73, 1433-1440.
- Amerah AM, Ravindran V & Lentle RG. (2009). Influence of insoluble fibre and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens. *British Poultry Science* 50, 366 - 375.
- Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG & Thomas DG. (2007a). Feed particle size: Implications on the digestion and performance of poultry. *World's Poultry Science Journal* 63.
- Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG & Thomas DG. (2007b). Influence of Feed Particle Size and Feed Form on the Performance, Energy Utilization, Digestive Tract Development, and Digesta Parameters of Broiler Starters. *Poultry Science* 86, 2615-2623.
- Amerah AM, Ravindran V, Lentle RG & Thomas DG. (2008). Influence of feed particle size on the performance, energy utilization, digestive tract developemnt, and digesta parameters of broiler starters fed wheat- and corn-based diets. *Poultry Science* 87, 2320-2328.
- Anthony NB, Dunnington EA & Siegel PB. (1989). Embryo growth of normal and dwarf chickens from lines selected for high and low 56-day body weight. *Archiv für Geflügelkunde* 53, 116-122.

- Ao T, Cantor AH, Pescatore AJ & Pierce JL. (2008). In vitro evaluation of feed-grade enzyme activity at pH levels simulating various parts of the avian digestive tract. *Animal Feed Science and Technology* 140, 462-468.
- Apajalahti J. (2005). Comparative gut microflora, metabolic challenges, and potential opportunities. *Journal of Applied Poultry Research* 14, 444-453.
- Ashcraft DW. (1930). The correlate activities of the alimentary canal of the fowl. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 93, 105-110.
- Atoji Y, Watanabe H, Nimamoto N, Yamamoto Y & Suzuki Y. (1994). Neurotensine immunoreactive cells in the gastrointestinal epithelium of the chicken, pigeon and Japanese quail. *European Journal of Histochemistry* 38, 65-72.
- Bach Knudsen KE. (2001). The nutritional significance of "dietary fibre" analysis. *Animal Feed Science and Technology* 90, 3-20.
- Barbosa AMRB, Felipe SA, Araujo RC, Kawamoto EM, Carvalho MHC, Scavone C, Pesquero JB & Shimuta SI. (2009). Altered reactivity of gastric fundus smooth muscle in the mouse with targeted disruption of the kinin B1 receptor gene. *Peptides* 30, 901-905.
- Batal AB & Parsons CM. (2002). Effects of age on development of digestive organs and performance of chicks fed a corn-soybean meal versus a crystalline amino acid diet. *Poultry Science* 81, 1338-1341.
- Bennett CD, Classen HL & Riddell C. (2002). Feeding broiler chickens wheat and barley diets containing whole, ground and pelleted grain. *Poultry Science* 81, 995-1003.
- Bennett CD, Classen HL, Schwan K & Riddell C. (2002b). Influence of whole barley and grit on live performance and health of turkey toms. *Poultry Science* 81, 1850-1855.
- Bennett T & Cobb JL. (1969). Studies on the avian gizzard: the development of the gizzard and its innervation. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie* 98, 599-621.
- Bigot K, Tesseraud S, Taouis M & Picard M. (2001). Alimentation néonatale et développement précoce du poulet de chair. *INRA Productions Animales* 14, 219-230.
- Bloom SR, Christofides ND, Goodall ED & Rayner V. (1982). Motilin and the migrating myoelectric complex in pigs. *Journal of Physiology* 322, 54p.
- Bolin DW, King RP & Klosterman EW. (1952). A simplified method for the determination of chromic oxide (Cr₂O₃) when used as an index substance. *Science* 116, 634-635.

- Borin K, Lindberg JE & Ogle RB. (2006). Digestibility and digestive organ development in indigenous and improved chickens and ducks fed diets with increasing inclusion levels of cassava leaf meal. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 90, 230-237.
- Bourdillon A, Carré B, Conan L, Francesch M, Fuentes M, Huyghebaert G, Janssen WMMA, Leclercq M, Lessire M, McNab J, Rigoni M & Wiseman J. (1990). European reference methods of in vivo determination of metabolisable energy in poultry: reproducibility, effect of age, comparison with predicted values. *British Poultry Science* 31, 567-576.
- Branton SL, Lott BD, Deaton JW, Maslin WR, Austin FW, Pote LM, Keirs RW, Latour MA & Day EJ. (1997). The effect of added complex carbohydrates or added dietary fiber on necrotic enteritis lesions in broiler chickens. *Poultry Science* 76, 24-28.
- Burhol PG. (1982). Regulation of gastric secretion in the chicken. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 17, abstract.
- Buyse J, Michels H, Vloeberghs J, Saevels P, Aerts JM, Ducro B, Berckmans D & Decuyper E. (1998). Energy and protein metabolism between 3 and 6 weeks of age of male broiler chickens selected for growth rate or for improved food efficiency. *British Poultry Science* 39, 264-272.
- Camilleri M, Busciglio I, Carlson P, McKinzie S, Burton D, Baxter K, Ryks M & Zinsmeister AR. (2008). Candidate genes and sensory functions in health and irritable bowel syndrome. *American journal of physiology- gastrointestinal and liver physiology* 295, G219-G225.
- Carré B & Brillouet JM. (1989). Determination of water insoluble cell walls in feed : interlaboratory study. *J AOAC* 72, 463-467.
- Carré B & Rozo E. (1990). La prédiction de la valeur énergétique des matières premières destinées à l'aviculture. *INRA Productions Animales* 3, 163-169.
- Carré B, Flores MP & Gomez J. (1995). Effects of pelleting, lactose level, polyethylene glycol 4000, and guar gum compared to pectin on growth performances, energy values, and losses of lactose, lactic acid, and water in chickens. *Poultry Science* 74, 1810-1819.
- Carré B, Idi A, Maisonnier S, Melcion J-P, Oury F-X, Gomez J & Pluchard P. (2002). Relationships between digestibilities of food components and characteristics of

- wheats (*Triticum aestivum*) introduced as the only cereal source in a broiler chicken diet. *British Poultry Science* 43, 404-415.
- Carré B, Mignon-Grasteau S & Juin H. (2007a). Breeding for feed efficiency and adaptation to feed. In 16th European Symposium on Poultry Nutrition, ed. (FRA) Wspsa-FB, pp. 3-12. Strasbourg (FRA).
- Carré B, Mignon-Grasteau S, Besnard J, Rougière N, Juin H & Bastianelli D. (2008a). The D+ and D- "digestion" chicken lines selected for divergent digestion efficiency on a wheat-based diet. In World Poultry Congress, pp. 210. *World's Poultry Science Journal*, Brisbane, Australia.
- Carré B, Mignon-Grasteau S & Juin H. (2008b). Breeding for feed efficiency and adaptation to feed in poultry. *World's Poultry Science Journal* 64, 377-390.
- Carré B, Mignon-Grasteau S, Péron A, Juin H & Bastianelli D. (2007b). The wheat value: improvements by feed technology, plant breeding and animal genetics. *World's Poultry Science Journal* 63, 585-596.
- Carré B, Mignon-Grasteau S, Svihus B, Péron A, Bastianelli D, Gomez J, Besnard J & Sellier N. (2005a). Nutritional effects of feed form, and wheat compared to maize, in the D+ and D- chicken lines selected for divergent digestion capacity. In 15th European Symposium on Poultry Nutrition, ed. Association WsPS, pp. 42-44. Balatonfüred, Hungary.
- Carré B, Muley N, Gomez J, Oury FX, Laffitte E, Guillou D & Signoret C. (2005b). Soft wheat instead of hard wheat in pelleted diets results in high starch digestibility in broiler chickens. *British Poultry Science* 46, 66-74.
- Carré B. (1990). Predicting the dietary energy value of poultry feeds. In *Feedstuff Evaluation*, ed. Cole J., pp. 283-300. Butterworths.
- Carré B. (2000). Effets de la taille des particules alimentaires sur les processus digestifs chez les oiseaux d'élevage *INRA Productions Animales* 13, 131-136.
- Champ M & Szylit O. (1981). The influence of microflora on the breakdown of maize starch granules in the digestive tract of chicken. *Poultry Science* 60, 179-187.
- Champ M. (1985). Digestion des glucides chez le monogastrique. *Reproduction Nutrition Development* 25, 819-842.
- Chaplin SB & Duke GE. (1988). Effect of denervation on initiation and coordination of gastroduodenal motility in turkeys. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 255, G1-G6.

- Chaplin SB & Duke GE. (1990). Effect of denervation of the myenteric plexus on gastroduodenal motility in turkeys. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 259, G481-G489.
- Chen H, Pan Y, Wong EA & Webb KE, Jr. (2005). Dietary Protein Level and Stage of Development Affect Expression of an Intestinal Peptide Transporter (cPepT1) in Chickens. *Journal of Nutrition* 135, 193-198.
- Cherry JA & Siegel PB. (1977). Selection for body weight at eight weeks of age. 15. Feed passage and intestinal size of normal and dwarf chicks. *Poultry Science* 57, 336-340.
- Choct M & Annison G. (1992). The inhibition of nutrient digestion by wheat pentosans. *British Journal of Nutrition* 67, 123-132.
- Choct M, Hughes RJ & Bedford MR. (1999). Effects of a xylanase on individual bird variation, starch digestion throughout the intestine, and ileal and caecal volatile fatty acid production in chickens fed wheat. *British Poultry Science* 40, 419 - 422.
- Choct M, Hughes RJ, Trimble RP, Angkanaporn K & Annison G. (1995). Non-starch polysaccharide-degrading enzymes increase the performance of broiler chickens fed wheat of low apparent metabolizable energy. *Journal of Nutrition* 125, 485-492.
- Choi KM, Gibbons SJ, Roeder JL, Lurken MS, Zhu J, Wouters MM, Miller SM, Szurszewski JH & Farrugia G. (2007). Regulation of interstitial cells of Cajal in the mouse gastric body by neuronal nitric oxide. *Neurogastroenterology and Motility* 19, 585-595.
- Clemens ET, Stevens CE & Southworth M. (1975). Sites of organic acid production and pattern of digesta movement in the gastrointestinal tract of geese. *Journal of Nutrition* 105, 1341-1350.
- Clench MH & Mathias JR. (1992). A complex avian intestinal motility response to fasting. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 25, G498-G504.
- Clench MH & Mathias JR. (1995). Motility responses to fasting in the gastrointestinal tract of three avian species. *The Condor* 97, 1041-1047.
- Clench MH, Pineiro-Carrero VM & Mathias JR. (1989). Migrating myoelectric complex demonstrated in four avian species. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal Liver Physiology* 256, G598-603.
- Costa M. (2006). All together now: from pacemakers to gastric peristalsis. *Journal of Physiology* 571, 1.

- Cramb G & Langslow DR. (1984). The endocrine pancreas: control of secretions and actions of hormones. In *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*, ed. Freeman BM. Cranwell PD. (1968). Microbial fermentation in the alimentary tract of the pig. *Nutrition Abstracts and Reviews*, A and B 38, 721-730.
- Créviu-Gabriel I. (1999). Digestion des protéines végétales chez les monogastriques. Exemple des protéines de pois. *INRA Productions Animales* 12, 147-161.
- Dänicke S, Simon O, Jeroch H & Bedford M. (1997). Interactions between dietary fat type and xylanase supplementation when rye-based diets are fed to broiler chickens. 1. physicochemical chyme features. *British Poultry Science* 38, 537 - 545.
- Dänicke S, Vahjen W, Simon O & Jeroch H. (1999). Effects of dietary fat type and xylanase supplementation to rye-based broiler diets on selected bacterial groups adhering to the intestinal epithelium, on transit time of feed, and on nutrient digestibility. *Poultry Science* 78, 1292-1299.
- Degolier T, Duke G & Carraway R. (1997). Neurotensin decreases pepsin output and gastrointestinal motility in chickens. *Poultry Science* 76, 1435-1439.
- Denbow M. (2000). Gastrointestinal anatomy and physiology. In *Sturkie's avian physiology*, ed. Press A.
- Dhasmana KM, Zhu YN, Cruz SL & Villalon CM. (1993). Gastrointestinal effects of 5-hydroxyptamine and related drugs. *Life Science* 53,, 1651-1661.
- Dror Y, Nir I & Nitsan Z. (1977). The relative growth of internal organs in light and heavy breeds. *British Poultry Science* 18, 493-496.
- Duke GE & Evanson OA. (1972). Inhibition of gastric motility by duodenal contents in turkeys. *Poultry Science* 51, 1625-1636.
- Duke GE & Evanson OA. (1976). Diurnal cycles of gastric motility in normal and fasted turkeys. *Poultry Science* 55, 1802 -1807.
- Duke GE & Kostuch TE. (1975). The use of strain gauge transducers to study gastroduodenal motility in turkeys. *Poultry Science* 54, 1472-1478.
- Duke GE, Dzuik HE & Evanson OA. (1972). Gastric pressure and smooth muscle electrical potential changes in turkeys. *American Journal of Physiology* 222, 167-173.
- Duke GE, Evanson OA & Redig PT. (1976). A cephalic influence on gastric motility upon seeing food in domestic turkeys (*Melagris gallopavo*), great-horned owls (*Bubo virginianus*) and red-tailed hawks (*Buteo jamaicensis*). *Poultry Science* 55, 2155-2165.

- Duke GE, Kimmel JR, Redig PT & Polluk HG. (1979). Influence of exogenous avian pancreatic polypeptide on gastrointestinal motility in turkeys. *Poultry Science* 58, 239-256.
- Duke GE, Larntz K & Hunt H. (1987). The influence of cholecystokinin, vasoactive intestinal peptide and secretin on pancreatic and biliary secretion in laying hens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology* 86, 97-102.
- Duke GE. (1977). Evidence for mechanoreceptors in the muscular stomach of the chicken. *Poultry Science* 56, 297-299.
- Duke GE. (1982a). The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization. *Poultry Science* 61, 1225-1244.
- Duke GE. (1982b). Gastrointestinal motility and its regulation. *Poultry Science* 61, 1245-1256.
- Duke GE. (1986a). Alimentary canal: Anatomy, regulation of feeding, and motility. In *Avian Physiology*, ed. Sturkie PD, pp. 269-287. Springer-Verlag, New York.
- Duke GE. (1986b). Alimentary canal: Secretion and digestion, special digestive functions, and absorption. In *Avian Physiology*, ed. Sturkie PD, pp. 289-302. Springer-Verlag, New York.
- Duke GE. (1992). Recent studies on regulation of gastric motility in turkey. *Poultry Science* 71, 1-8.
- Dzuik HE & Duke GE. (1972). Cineradiographic studies of gastric motility in turkeys. *American Journal of Physiology* 222, 159-166.
- Eastwood MA. (1992). The physiological effect of dietary fiber: an update. *Annual Review of Nutrition* 12, 19-35.
- Ebihara K & Schneeman BO. (1989). Interaction of bile acids, phospholipids, cholesterol and triglyceride with dietary fibers in the small intestine of rats. *Journal of Nutrition* 119, 1100-1106.
- Engberg RM, Hedemann MS & Jensen BB. (2002). The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *British Poultry Science* 43, 569-579.
- Engberg RM, Hedemann MS, Steinfeldt S & Jensen BB. (2004). Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. *Poultry Science* 83, 925-938.

- Ernst RA, Vohra P, Kratzer FH & Ibanga O. (1994). A comparison of feeding corn, oats, and barley on the growth of white leghorn chickens, gastrointestinal weights of males, and sexual maturity of females. *Journal of Applied Poultry Research* 3, 253-260.
- Farner DS. (1942). The hydrogen ion concentration in avian digestive tracts. *Poultry Science* 21, 445-450.
- Ferrando C, Vergara P, Jimenez M & Gonalons E. (1987). Study of the rate of passage of food with chromium-mordanted plant cells in chickens (*Gallus gallus*). *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 72, 251-259.
- Ferraris RP. (2001). Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. *The Journal of Biochemistry* 360, 265-276.
- Ferrer R, Planas JM & Moreto M. (1995). Cell apical surface area in enterocytes from chicken small and large intestine during development. *Poultry Science* 74, 1995-2002.
- Fisher C & McNab JM. (1989). Techniques for determining the metabolizable energy content of poultry feeds. In *Recent Developments in Poultry Nutrition*, ed. Haresign DJACaW, pp. 54-69. Butterworths, Essex, UK.
- Fledderus J, Bikker P & Kluess JW. (2007). Increasing diet viscosity using carboxymethylcellulose in weaned piglets stimulates protein digestibility. *Livestock Science* 109, 89-92.
- Furuse M. (1999). Release and endogenous actions of the gastrin/cholecystokinin (CCK) family in the chicken. *Journal of Experimental Zoology* 283, 448-454.
- Fushiki T, Tsuzuki S & Pierzynowski SG. (1999). Feedback regulation of pancreatic secretion. In *Biology of the pancreas in growing animals*, ed. Zabielski SGPaR. Elsevier.
- Gabriel I, Lessire M, Mallet S & Guillot JF. (2006). Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. *World's Poultry Science Journal* 62, 499-511.
- Gabriel I, Mallet S & Leconte M. (2003). Differences in the digestive tract characteristics of broiler chickens fed on complete pelleted diet or on whole wheat added to pelleted protein concentrate. *British Poultry Science* 44, 283-290.
- Gabriel I, Mallet S, Leconte M, Travel A & Lalles JP. (2008). Effects of whole wheat feeding on the development of the digestive tract of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 142, 144-162.
- Gadoud R, Joseph MM, Jussiau R, Lisberney MJ, Mangeol B, Montmeas L & Tarrit A. (1992). *Nutrition et alimentation des animaux d'élevage*. Paris.

- García V, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N & Carré B. (2007). Effects of xylanase and antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks from genetic D⁺ and D⁻ lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 1, 1435-1442.
- Garriga C, Vazquez CM, Ruiz-Gutierrez V & Planas JM. (2002). Regional differences in transport, lipid composition, and fluidity of apical membranes of small intestine of chicken. *Poultry Science* 81, 537-545.
- Gertler A & Nitsan Z. (1970). The effect of trypsin inhibitors on pancreatopeptidase E, trypsin, chymotrypsin and amylase in the pancreas and intestinal tract of chicks receiving raw and heated soya-bean diets. *British Journal of Nutrition* 24, 893-904.
- Gertler A, Birk Y & Bondi A. (1967). A comparative study of the nutritional and physiological significance of pure soybean trypsin inhibitor and of ethanol-extracted soybean meals in chicks and rats. *Journal of Nutrition* 91, 358-370.
- Geyra A, Uni Z & Sklan D. (2001). Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. *Poultry Science* 80, 776-782.
- Gilbert ER, Li H, Emmerson DA, Webb KE, Jr. & Wong EA. (2007). Developmental Regulation of Nutrient Transporter and Enzyme mRNA Abundance in the Small Intestine of Broilers. *Poultry Science* 86, 1739-1753.
- Golian A & Polin D. (1984). Passage rate of feed in very young chicks. *Poultry Science* 63, 1013-1019.
- Gonalons E, Rial R & Tur JA. (1982). Phenol red as indicator of the digestive tract motility in chickens. *Poultry Science* 61, 581-583.
- Gonzales-Alvarado JM, Jimenez-Moreno E, Valencia DG, Lazaro R & Mateos GG. (2008). Effects of fiber source and heat processing of the cereal on the development and pH of the gastrointestinal tract of broilers fed diets based on corn or rice. *Poultry Science* 87, 1779-1795.
- Gonzalez-Alvarado JM, Jimenez-Moreno E, Lazaro R & Mateos GG. (2007). Effect of Type of Cereal, Heat Processing of the Cereal, and Inclusion of Fiber in the Diet on Productive Performance and Digestive Traits of Broilers. *Poultry Science* 86, 1705-1715.
- Gracia MI, Latorre MA, Garcia M, Lazaro R & Mateos GG. (2003). Heat processing of barley and enzyme supplementation of diets for broilers. *Poultry Science* 82, 1281-1291.

- Grider JR. (1994). Role of Cholecystokinin in the Regulation of Gastrointestinal Motility. *Journal of Nutrition* 124, 1334S-1339.
- Groenendijk BCW, Van der Heiden K, Hierck BP & Poelmann RE. (2007). The role of shear stress on ET-1, KLF2, and NOS-3 expression in the developing cardiovascular system of chicken embryos in a venous ligation model. *Physiology* 22, 380-389.
- Guan D, Rivard N, Morisset J & Greeley GH, Jr. (1993). Effects of peptide YY on the growth of the pancreas and intestine. *Endocrinology* 132, 219-223.
- Gui X, DeGolier TF, Duke GE & Carraway RE. (2000). Neurotensin elevates hepatic bile acid secretion in chickens by a mechanism requiring an intact enterohepatic circulation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology* 127, 61-70.
- Guilloteau P, Toullec R, Patureau-Mirand P, BouSSION S, Lareynie J, Lesne M & Manis Y. (1979). Influence de la vitesse d'évacuation gastrique des protéines et des lipides sur l'utilisation digestive chez le veau préruminant. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 19, 955-958.
- Gutierrez del Alamo A, Verstegen MWA, Den Hartog LA, Perez de Ayala P & Villamide MJ. (2009). Wheat starch digestion rate affects broiler performance. *Poultry Science* 88, 1666-1675.
- Haga N, Suzuki H, Shiba Y, Mochiki E, Mizumoto A & Zito Z. (1998). Effect of TKS159, a novel 5-hydroxytryptamine₄ agonist, on gastric contractile activity in conscious dogs. *Neurogastroenterology and Motility* 10, 295-303.
- Hall AJ & Duke GE. (2000). Effect of selective gastric intrinsic denervation on gastric motility in turkeys. *Poultry Science* 79, 240-244.
- Hassan AS & Delpech P. (1986). Energie métabolisable et digestibilité azotée chez les poulets en croissance: influence du génotype, de l'âge et du régime. *Génétique Sélection Évolution* 18, 225-236.
- Hazelwood RL, Turner SD, Kimmel JR & Pollock HG. (1973). Spectrum effects of a new polypeptide (third hormone?) isolated from the chicken pancreas. *General and Comparative Endocrinology* 21, 485-497.
- Hazelwood RL. (1993). From avian pancreatic polypeptide to mammalian neuropeptides: carbohydrate metabolism implications. In *Avian Endocrinology*, ed. Sharp PJ, pp. 189-200. Journal of endocrinology Ltd, Bristol.

- Herpol C & Van Grembergen G. (1967). Le pH dans le tube digestif des oiseaux. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 7, 33-38.
- Herpol C. (1966). Influence de l'âge sur le pH dans le tube digestif de *Gallus Domesticus*. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique* 6, 495.
- Hetland H & Svihus B. (2001a). Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed passage time in broiler chickens. *British Poultry Science* 42, 354 - 361.
- Hetland H & Svihus B. (2001b). Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed passage time in broiler chickens. *British Poultry Science* 42, 354-361.
- Hetland H, Choct M & Svihus B. (2004). Role of insoluble non-starch polysaccharides in poultry nutrition. *World's Poultry Science Journal* 60, 415-422.
- Hetland H, Svihus B & Choct M. (2005). Role of insoluble fiber on gizzard activity in layers. *Journal of Applied Poultry Research* 14, 38-46.
- Hetland H, Svihus B & Krogdahl A. (2003). Effects of oat hulls and wood shavings on digestion in broilers and layers fed diets based on whole or ground wheat. *British Poultry Science* 44, 275 - 282.
- Hetland H, Svihus B & Olaisen V. (2002). Effect of feeding whole cereals on performance, starch digestibility and duodenal particle size distribution in broiler chickens. *British Poultry Science* 43, 416-423.
- Hill FW & Handerson DL. (1958). Comparison of metabolizable energy and productive energy determination with growing chicks. *Journal of Nutrition* 64, 587-603.
- Hill FW. (1971). The structure of the alimentary tract. In *Physiology and biochemistry of the domestic fowl*, pp. 1-23. Bell, D.J. and Freeman, B.M.
- Hillerman JP, Kratzer FH & Wilson WO. (1953). Food passage through chickens and turkeys and some regulating factors. *Poultry Science* 32, 332-335.
- Hodges RD. (1974). *The histology of the fowl*. Academic Press, New York.
- Hughes RJ & Choct M. (1997). Low-ME wheat or low-ME chickens? - Highly variable responses by birds on the same low-ME wheat diet. *Proceeding of Australian Poultry Science Symposium*, 138-141.
- Hughes RJ. (2008). Relationship between digesta transit time and apparent metabolisable energy value of wheat in chickens. *British Poultry Science* 49, 716 - 720.
- Hurwitz S & Bar A. (1966). Rate of passage of calcium-45 and Yttrium-91 along the intestine, and calcium absorption in the laying fowl. *Journal of Nutrition* 89, 311-316.

- Iji PA, Saki A & Tivey DR. (2001). Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science* 42, 505-513.
- Jamroz D, Jakobsen K, Orda J, Skorupinska J & Wiliczekiewicz A. (2001). *Development* of the gastrointestinal tract and digestibility of dietary fibre and amino acids in young chickens, ducks and geese fed diets with high amounts of barley. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 130, 643-652.
- Jamroz D, Wiertelcki T, Wiliczekiewicz A, Orda J & Skorupinska J. (2004). Dynamics of yolk sac resorption and post-hatching development of the gastrointestinal tract in chickens, ducks and geese. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 88, 239-250.
- Jensen LS, R. E., Fry JBA & McGinnis J. (1957). Improvement in the nutritional value of barley for chicks by enzyme supplementation. *Poultry Science* 36, 919-920.
- Jimenez M, Martinez V, Rodriguez-Membrilla A, Rodriguez-Sinovas A, Gonalons E & Vergara P. (1994). Rhythmic oscillating complex: characterization, induction, and relationship to MMC in chickens. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 266, G585-595.
- Jimenez M, Martinez V, Vergara P & Gonalons E. (1992). A method of analysis of the electrical activity of the proximal gastrointestinal tract of the chicken. *Poultry Science* 71, 1531-1539.
- Jimenez-Moreno E, Gonzales-Alvarado JM, Lazaro R & Mateos GG. (2009). Effects of type of cereal, heat processing of the cereal, and fiber inclusion in the diet on gizzard pH and nutrient utilization in broilers at different ages. *Poultry Science* 88, 1925-1933.
- Jin SH, Corless A & Sell JL. (1998). Digestive system development in post-hatch poultry. *World's Poultry Science Journal* 54, 335-345.
- Jones GPD & Taylor RD. (2001). The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets: production and physiological responses. *British Poultry Science* 42, 477-483.
- Jorgensen H, Zhao XQ, Knudsen KEB & Eggum BO. (1996). The influence of dietary fibre source and level on the development of the gastrointestinal tract, digestibility and energy metabolism in broiler chickens. *British Journal of Nutrition* 75, 379-395.

- Kelly KA. (1981). Motility of the stomach and gastroduodenal junction. In *Physiology of the gastrointestinal tract*, ed. Johnson LR, pp. 393-410. Raven Press, New York.
- Kirby RJ, Howles PN & Hui DY. (2004). Rate of gastric emptying influences dietary cholesterol absorption efficiency in selected inbred strains of mice. *Journal of Lipid Research* 45, 89-98.
- Klasing KC. (1998). *Comparative Avian Nutrition*. Cabi Publishing.
- Krogdahl A & Sell JL. (1989). Influence of age on lipase, amylase, and protease activities in pancreatic tissue and intestinal contents of young turkeys. *Poultry Science* 68, 1561-1568.
- Kuenzel WJ. (2000). The autonomic nervous system of avian species. In *Sturkie's Avian Physiology*, ed. press A.
- Laurin DE, Touchburn SP, Chavez ER & Chan W. (1985). Methods of measuring energy utilization in broilers: effect of genetic line and presence of supplemental dietary fat. *Poultry Science* 64, 969-978.
- Lecoin L, Gabella G & Le Douarin N. (1996). Origin of the c-kit-positive interstitial cells in the avian bowel. *Development* 122, 725-733.
- Liddle RA. (1997). Cholecystokinin cells. *Annual Review of Physiology* 59:221-42.
- Lilja C. (1983). A comparative study of postnatal growth and organ development in some species of birds. *Growth* 47, 317-339.
- Mahagna M, Nir I, Larbier M & Nitsan Z. (1995). Effect of age and exogenous amylase and protease on development of the digestive tract, pancreatic enzyme activities and digestibility of nutrients in young meat-type chicks. *Reproduction Nutrition Development* 35, 201-212.
- Maiorka A, Santin E, Dahlke F, Boleli IC, Furlan RL & Macari M. (2003). Posthatching water and feed deprivation affect the gastrointestinal tract and intestinal mucosa development of broiler chicks. *Journal of Applied Poultry Research* 12, 483-492.
- Maisonnier S, Gomez J & Carré B. (2001a). Nutrient digestibility and intestinal viscosities in broiler chickens fed on wheat diets, as compared to maize diets with added guar gum. *British Poultry Science* 42, 102-110.
- Maisonnier S, Gomez J, Brée A, Berri C, Baéza E & Carré B. (2003). Effects of microflora status, dietary bile salts and guar gum on lipid digestibility, intestinal bile salts, and histomorphology in broiler chickens. *Poultry Science* 82, 805-814.

- Maisonnier S, Gomez J, Chagneau AM & Carré B. (2001b). Analysis of variability in nutrient digestibilities in broiler chickens. *British Poultry Science* 42, 70-76.
- Malagelada JR. (1981). Gastric, pancreatic and biliary responses to a meal. In *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, ed. Johnson LR. Raven Press, N. Y.
- Marquardt RR, Boros D, Guenter W & Crow G. (1994). The nutritive value of barley, rye, wheat and corn for young chicks as affected by use of a *Trichoderma reesei* enzyme preparation. *Animal Feed Science and Technology* 45, 363-378.
- Marquardt RR. (1983). A simple spectrophotometric method for the direct determination of uric acid in avian excreta. *Poultry Science* 62, 2106-2108.
- Martinez V, Jimenez M, Gonalons E & Vergara P. (1993). Mechanism of action of CCK in avian gastroduodenal motility: evidence for nitric oxide involvement. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 265, G845-G850.
- Martinez V, Jimenez M, Gonalons E & Vergara P. (1995). Modulation of the migrating myoelectric complexes by cholecystokinin and gastrin in the gastrointestinal tract of chickens. *Poultry Science* 74, 563-576.
- Mashimo H & Goyal RK. (1999). Lessons From Genetically Engineered Animal Models. IV. Nitric oxide synthase gene knockout mice. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 277, G745-750.
- Mateos GG, Sell JL & Eastwood JA. (1980). Rate of food passage (transit time) as influenced by level of supplemental fat. *Poultry Science* 61, 94-100.
- Mc Lelland J. (1990). A colour atlas of avian anatomy London.
- McEntee GM, Rance KA & McDevitt RM. (2003). Form and function in the broiler chicken: the relationship between gastrointestinal morphological parameters and digestive functional physiology. *British Poultry Science* 44, S35-S36
- McLelland J. (1979). Digestive System. In *Form and function in birds*, ed. McLelland ASKaJ, pp. 69-181. Academic Press, London.
- McNab JM. (1973). The avian caeca: A review. *World's Poultry Science Journal* 29, 251-263.
- Mesures. (2000). Quelques rappels sur les jauges de contrainte. *Mesures* 725, 94-97.
- Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Péron A, Sellier N, Millet N, Besnard J, Hallouis JM & Carré B. (2004). Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poultry Science* 83, 860-867.

- Mollah Y, Bryden WL, Wallis IR, Balnave D & Annison EF. (1983). Studies on low metabolisable energy wheats for poultry using conventional and rapid assay procedures and the effects of processing. *British Poultry Science* 24, 81-89.
- Moran ET, Jr. (1982). Comparative nutrition of fowl and swine. In *The gastrointestinal systems*. E.T.Moran, Jr.
- Moran ET, Jr. (1985). Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *The Journal of Nutrition* 115, 665-674.
- Mueller LR, Duke GE & Evanson OA. (1990). Investigations of the migrating motor complex in domestic turkeys. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 259, G329-G333.
- Murai A, Satoh S, Okumura J-i & Furuse M. (2000). Factors regulating amylase secretion from chicken pancreatic acini in vitro. *Life Sciences* 66, 585-591.
- Nakajima M, Shiihara Y, Shiba Y, Sano I, Sakai T, Mizumoto A & Itoh Z. (1997). Effect of 5-hydroxytryptamine on gastrointestinal motility in conscious guinea-pigs. *Neurogastroenterology and Motility* 9, 205-214.
- Nir I, Hillel R, Shefet G & Nitsan Z. (1994a). Effect of grain particle size on performance. 2. Grain texture interactions. *Poultry Science* 73, 781-791.
- Nir I, Nitsan Z & Mahagna M. (1993). Comparative growth and development of the digestive organs and of some enzymes in broilers and egg type chicks after hatching. *British Poultry Science* 34, 523-532.
- Nir I, Shefet G & Aaroni Y. (1994). Effect of particle size on performance. 1. Corn. *Poultry Science* 73, 45-49.
- Nir I, Twina Y, Grossman E & Nitsan Z. (1994c). Quantitative effects of pelleting on performance, gastrointestinal tract and behaviour of meat-type chickens. *British Poultry Science* 35, 589-602.
- Nitsan Z, Ben-Avraham G, Zoref Z & Nir I. (1991). Growth and development of the digestive organs and some enzymes in broiler chicks after hatching. *British Poultry Science* 32, 515-523.
- Nitsan Z, Dunnington EA & Siegel PB. (1991b). Organ growth and digestive enzyme levels to fifteen days of age in lines of chickens differing in body weight. *Poultry Science* 70, 2010-2048.
- Noy Y & Sklan D. (1995). Digestion and absorption in the young chick. *Poultry Science* 74, 366-373.

- Noy Y & Sklan D. (1997). Posthatch development in poultry. *Journal of Applied Poultry Research* 6, 344-354.
- Noy Y & Sklan D. (1999). Energy utilization in newly hatched chicks. *Poultry Science* 78, 1750-1756.
- Oberleas D, Li YC, Stoecker BJ, Henley SA, Keim KS & Smith JC. (1990). The rate of chromium transit through the gastrointestinal tract. *Nutrition Research* 10, 1189-1194.
- O'Dell BL, Newberne PM & Savage JE. (1959). An abnormality of the proventriculus caused by feed texture. *Poultry Science* 38, 296-301.
- Ohmori Y, Suzuki M & Fukuta K. (2003). Anatomical Relationship Between Enkephalin-Containing Neurones and Caecum-Projecting Neurones in the Chicken Intestinal Nerve. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 32, 179 - 182.
- Ouhida I, Perez JF, Piedrafita J & Gasa J. (2000). The effects of sepiolite in broiler chicken diets of high, medium and low viscosity. Productive performance and nutritive value. *Animal Feed Science and Technology* 85, 183-194.
- Oury F-X, Carré B, Pluchard P, Bérard P, Nys Y & Leclercq B. (1998). Genetic variability and stability of poultry feeding related characters in wheat, in relation to environmental variation. *Agronomie* 18, 139-150.
- Péron A, Bastianelli D, Oury FX, Gomez J & Carré B. (2005). Effects of food deprivation and particle size of ground wheat on digestibility of food components in broilers fed on a pelleted diet. *British Poultry Science* 46, 223-230.
- Péron A, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N, Besnard J, Derouet M, Juin H & Carré B. (2006). Effects of wheat quality on digestion differ between the D+ and D- chicken lines selected for divergent digestion capacity. *Poultry Science* 85, 462-469.
- Perrot C. (1995). Les protéines de pois : de leur fonction dans la graine à leur utilisation en alimentation animale. *INRA Productions Animales* 8, 151-164.
- Persson S & Svensson SA. (1960). Die Durchgangszeit des Futters durch den Verdauungstraktus von Küken. *Archiv für Geflügelkunde* 24, 407-416.
- Picard M, Turro I, Launay F, Mills AD, Meulin JM and Faure JM 1992. Food intake patterns of three week old broilers cages individually or in groups. *XIX World's Poultry Congress*, Amsterdam (The Netherlands) 2, 429-434.

- Plaza MA, Arruebo MP & Murillo MD. (1996). Involvement of somatostatine, bombesin and serotonin in the origin of the migrating myoelectric complex in sheep. *Life Science* 58, 2155-2165.
- Proudman JA, Mellen WJ & Anderson DL. (1970). Utilization of feed in fast- and slow-growing lines of chickens. *Poultry Science* 49, 961-972.
- Prove J & Erhlein HJ. (1983). Effects of 5-hydroxytryptophane and insulin on gastric motility and emptying in dogs. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 68, 209-219.
- Pubols MH. (1991). Ratio of digestive enzymes in the chick pancreas. *Poultry Science* 70, 337-342.
- Pym RAE, Nicholls PJ, Thompson E, Choice A & Farrell DJ. (1984). Energy and nitrogen metabolism of broilers selected over ten generations for increased growth rate, food consumption and conversion of food to gain. *British Poultry Science* 25, 529-539.
- Pym RAE. (2005). Genetic aspects of food intake and food utilisation efficiency for growth in chickens. . In *Australian Poultry Science Symposium*, pp. 153-162.
- Rawdon BB & Andrew A. (1999). Gut endocrine cells in birds: An overview, with particular reference to the chemistry of gut peptides and distribution, ontogeny, embryonic origin and differentiation of the endocrine cells. *Prog Histochem Cytochem* 34, 3-82.
- Reynhout JK & Duke GE. (1999). Identification of interstitial cells of Cajal in the digestive tract of turkeys (*Meleagris gallopavo*). *Journal of Experimental Zoology* 283, 426-440.
- Rickes EL, Ham EA, Moscatelli EA & Ott WH. (1962). The isolation and biological properties of a β -glucanase from *B. Subtilis*. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 96, 371-375.
- Riddell C & Kong XM. (1992). The influence of diet on necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Diseases* 36, 499-503.
- Riddell C. (1975). The influence of fiber in the diet on dilation (hypertrophy) of the proventriculus in chickens. *Avian Diseases* 20, 442-445.
- Roche M & Decerprit J. (1977). Controles hormonal et nerveux de la motricité du tractus digestif de la poule. *Annales de Recherches Vétérinaires* 8, 25-40.
- Roche M & Ruckebusch Y. (1978). A basic relationship between gastric and duodenal motilities in chickens. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism and Gastrointestinal Physiology* 4, E670-E677.

- Roche M. (1974). Motricité gastro-intestinale du poulet. *Annales de Recherches Vétérinaires* 5, 295-309.
- Rodriguez-Sinovas A, Fernandez E, Manteca X, Fernandez AG & Gonalons E. (1997a). CCK is involved in both peripheral and central mechanisms controlling food intake in chickens. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* 272, R334-R340.
- Rodriguez-Sinovas A, Jimenez M, De Clercq P, Peeters TL & Vergara P. (1997b). Rhythmic oscillating complexes in gastrointestinal tract of chickens: a role for motilin. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 272, G916-922.
- Rogel AM, Annison EF, Bryden WL & Balnave D. (1987). The digestion of wheat starch in broiler chickens. *Australian Journal of Agricultural Research* 38, 639-649.
- Rougière N, Gomez J & Carré B. (2009a). Effects of Diet Particle Size on Digestive Parameters in D⁺ and D⁻ Genetic Chicken Lines Selected for Divergent Digestion Efficiency. *Poultry Science* 88, 1206-1215.
- Salih ME, Classen HL & Campbell GL. (1991). Response of chickens fed on hull-less barley to dietary beta-glucanase at different ages. *Animal Feed Science and Technology* 33, 139-149.
- Sanders KM, Don Koh S & Ward SM. (2006). Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. *Annual Review of Physiology* 68, 307-343.
- Savory CJ & Gentle MJ. (1976). Changes in food intake and gut size in japanese quail in response to manipulation of dietary fiber content. *British Poultry Science* 17, 571-580.
- Savory CJ & Gentle MJ. (1983). Effects of food deprivation, strain, diet and age on feeding responses of fowls to intravenous injections of cholecystokinin. *Appetite* 4, 165-176.
- Savory CJ, Duke GE & Bertoy RW. (1981). Influence of intravenous injections of cholecystokinin on gastrointestinal motility in turkeys and domestic fowls. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* 70, 179-189.
- Savory CJ. (1976). Effects of different lighting regimes on diurnal feeding patterns of the domestic fowl. *British Poultry Science* 17, 341-350.
- Savory, C. J. 1987. Gastrointestinal motility in relation to spontaneous meal occurrence in domestic fowls. *Appetite* 9:139-148

- Scott TA, Silversides FG, Classen HL, Swift ML & Bedford MR. (1998). Comparison of sample source (excreta or ileal digesta) and age of broiler chick on measurement of apparent digestible energy of wheat and barley. *Poultry Science* 77, 456-463.
- Sell JL, Angel CR, Piquer FJ, Mallarino EG & Al-Batshan HA. (1991). Developmental patterns of selected characteristics of the gastrointestinal tract of young turkeys. *Poultry Science* 70, 1200-1205.
- Shanawany MM. (1994). Body weight in relation to the developemnt of the gastrointestinal tract in broilers. *Archiv für Geflügelkunde* 58, 66-68.
- Shiihara Y, Shiba Y, Sano I, Sakai T, Mizumoto A & Itoh Z. (1997). Effect of 5-hydroxytryptamine on gastrointestinal motility in conscious guinea-pigs. *Neurogastroenterology and Motility* 9, 205-214.
- Shires A, Thompson JR, Turner BV, Kennedy PM & Goh YK. (1987). Rate of passage of corn-canola meal and corn-soyabean meal diets through the gastrointestinal tract of broiler and white leghorn chickens. *Poultry Science* 66, 289-298.
- Short FJ, Gorton P, Wiseman J & Boorman KN. (1996). Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. *Animal Feed Science and Technology* 59, 215-221.
- Sibbald IR & Slinger SJ. (1963). The effects of breed, sex, an arsenical and nutrient density on the utilization of dietary energy. *Poultry Science* 42, 1325-1332.
- Sibbald IR. (1979). Passage of feed through the adult rooster. *Poultry Science* 58, 446-459.
- Siddons RC, Paradine J, Beever DE & Cornell PR. (1985). Ytterbium acetate as a particulate-phase digesta-flow marker. *British Journal of Nutrition* 54, 509-519.
- Sieo CC, Abdullah N, Tan WS & Ho YW. (2005). Influence of beta-glucanase-producing *Lactobacillus* strains on intestinal characteristics and feed passage rate of broiler chickens. *Poultry Science* 84, 734-741.
- Sklan D & Noy Y. (2003). Functional development and intestinal absorption in the young poult. *British Poultry Science* 44, 651-658.
- Sklan D, Dubrov D, Eisner U & Hurwitz S. (1975). ⁵¹Cr-EDTA, ⁹¹Y and ¹⁴¹Ce as nonabsorbed erence substances in the gastrointestinal tract of the chicken. *Journal of Nutrition* 105, 1549-1552.
- Sklan D. (2001). *Development of the digestive tract of poultry. World's Poultry Science Journal* 57, 415-428.

- Smith TK & Lunam CA. (1998). Electrical characteristics and responses to jejunal distension of neurons in Remak's juxta-jejunal ganglia of the domestic fowl. *The Journal of Physiology* 510, 563-575.
- Spiller R. (2007). Recent advances in understanding the role of serotonin in gastrointestinal motility in functional bowel disorders: alterations in 5-HT signalling and metabolism in human disease. *Neurogastroenterology and Motility* 19, 25-31.
- Starck JM. (1999). Phenotypic flexibility of the avian gizzard: rapid, reversible and repeated changes of organ size in response to changes in dietary fibre content. *The Journal of Experimental Biology* 202, 3171-3179.
- Steel RGD & Torrie JH. (1980). Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach. New York.
- Svihus B & Hetland H. (2001). Ileal starch digestibility in growing broiler chickens fed on a wheat-based diet is improved by mash feeding, dilution with cellulose or whole wheat inclusion. *British Poultry Science* 42, 633-637.
- Svihus B, Edvardsen DH, Bedford MR & Gullord M. (2000). Effect of methods of analysis and heat treatment on viscosity of wheat, barley and oats. *Animal Feed Science and Technology* 88, 1-12.
- Svihus B, Hetland H, Choct M & Sundby F. (2002a). Passage rate through the anterior digestive tract of broiler chickens fed on diets with ground and whole wheat. *British Poultry Science* 43, 662 - 668.
- Svihus B, Hetland H, Choct M & Sundby F. (2002b). Passage rate through the anterior digestive tract of broiler chickens fed on diets with ground and whole wheat. *British Poultry Science* 43, 662-668.
- Svihus B, Juvik E, Hetland H & Krogdahl A. (2004a). Causes for improvement in nutritive value of broiler chicken diets with whole wheat instead of ground wheat. *British Poultry Science* 45, 55 - 60.
- Svihus B, Kløvstad KH, Perez V, Zimonja O, Sahlström S, Schüller RB, Jeksrud WK & Prestløkken E. (2004b). Physical and nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammer mill. *Animal Feed Science and Technology* 117, 281-293.
- Svihus B. (2001). Research note: a consistent low starch digestibility observed in pelleted broiler chicken diets containing high levels of different wheat varieties. *Animal Feed Science and Technology* 92, 45-50.

- Svihus B. (2001). Research note: a consistent low starch digestibility observed in pelleted broiler chicken diets containing high levels of different wheat varieties. *Animal Feed Science and Technology* 92, 45-50.
- Szarka LA & Camilleri M. (2009). Methods for measurement of gastric motility. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 296, G461-475.
- Szurszewski JH. (1998). A 100- perspective on gastrointestinal motility. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 274, 447-453.
- Taylor RD & Jones GPD. (2004). The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics. *British Poultry Science* 45, 237 - 246.
- Taylor RD & Jones GPD. (2004). The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics. *British Poultry Science* 45, 237 - 246.
- Ten Doeschate RAHM, Scheele CW, Schreurs VVAM & Van der Klis JD. (1993). Digestibility studies in broiler chickens: influence of genotype, age, sex and method of determination. *British Poultry Science* 34, 131-146.
- Thomas DH & Skadhauge E. (1988). Transport function and control in bird caeca. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Molecular & Integrative Physiology* 90, 591-596.
- Thomas DV & Ravindran V. (2008). Effect of cereal type on the performance, gastrointestinal tract development and intestinal morphology of the newly hatched broiler chick. *The Journal of Poultry Science* 45, 46-50.
- Thor PJ, Krolczyk G, Gil K, Zurowski D & Nowak L. (2007). Melatonin and serotonin effects on gastrointestinal motility. *Journal of Physiology and Pharmacology* 58, 97-105.
- Thorens B. (1996). Glucose transporters in the regulation of intestinal, renal, and liver glucose fluxes. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 270, G541-553.
- Thornton PA, Schaible PJ & Wolterink LF. (1956). Intestinal transit and skeletal retention of radioactive strontium⁹⁰-yttrium⁹⁰ in the chick. *Poultry Science* 35, 1055-1060.
- Turk DE. (1982). The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization. *Poultry Science* 61, 1225-1244.

- Uden P, Colucci PE & Van Soest PJ. (1980). Investigation of chromium, cerium and cobalt as markers in digesta. Rate of passage studies. *Journal of Science Food Agriculture* 31, 625-632.
- Uni Z, Ganot S & Sklan D. (1998). Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. *Poultry Science* 77, 75-82.
- Uni Z, Noy Y & Sklan D. (1995 b). Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy- and light-strain Chicks. *Poultry Science* 74, 1622-1629.
- Uni Z, Noy Y & Sklan D. (1995a). *Development* of the small intestine in heavy and light strain chicks before and after hatching. *British Poultry Science* 36, 63-71.
- Uni Z, Noy Y & Sklan D. (1999). Posthatch development of small intestinal function in the poult. *Poultry Science* 78, 215-222.
- Uni Z, Smirnov A & Sklan D. (2003a). Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. *Poultry Science* 82, 320-327.
- Uni Z, Smirnov A & Sklan D. (2003b). Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. *Poultry Science* 82, 320-327.
- Uni Z, Tako E, Gal-Garber O & Sklan D. (2003b). Morphological, molecular, and functional changes in the chicken small intestine of the late-term embryo. *Poultry Science* 82, 1747-1754.
- Van der Klis JD & Van Voorst A. (1993). The effect of carboxy methyl cellulose (a soluble polysaccharide) on the rate of marker excretion from the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* 72, 503-512.
- Van der Klis JD, Verstegen MWA & De Wit W. (1990). Absorption of minerals and retention time of dry matter in the gastrointestinal tract of broilers. *Poultry Science* 69, 2185-2194.
- Van Leeuwen P, van Gelder AH, de Leeuw JA & van der Klis JD. (2006). An animal model to study digesta passage in different compartments of the gastro-intestinal tract (GIT) as affected by dietary composition. *Current Nutrition and Food Science* 2, 97-105.
- Van Weyenberg S, Sales J & Janssens GPJ. (2006). Passage rate of digesta through the equine gastrointestinal tract: A review. *Livestock Science* 99, 3-12.
- Vergara P, Ferrando C, Jimenez M, Fernandez E & Gonalons E. (1989a). Factors determining gastrointestinal transit time of several markers in the domestic fowl. *Quarterly Journal of Experimental Physiology* 74, 867-874.

- Vergara P, Jimenez M, Ferrando C, Fernandez E & Gonalons E. (1989b). Age influence on digestive transit time of particulate and soluble markers in broiler chickens. *Poultry Science* 68, 185-189.
- Wapnir RA & Teichberg S. (2002). Regulation mechanisms of intestinal secretion: implications in nutrient absorption. *Journal of Nutritional Biochemistry* 13, 190-199.
- Ward SM & Sanders KM. (2001). *Physiology and pathophysiology of the interstitial cell of cajal: from bench to bedside. I. Functional development and plasticity of interstitial cells of cajal networks. American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology* 281, G602-G611.
- Watanabe T. (1983). Peripheral and autonomic nervous system. In *The brain and behaviour of the fowl*, ed. Ookawa T, pp. 352. Japan scientific societies press, Tokyo.
- Weurding RE, Veldman A, Veen WAG, Van der Aar PJ & Verstegen MWA. (2001). Starch digestion rate in the small intestine of broiler chickens differs among feedstuffs. *The Journal of Nutrition* 131, 2329-2335.
- Whelan WJ. (1953). The enzymic breakdown of starch. *Biochem Soc Symp* 11, 17.
- Wilfart A, Montagne L, Simmins H, Noblet J & van Milgen J. (2007). Effect of fibre content in the diet on the mean retention time in different segments of the digestive tract in growing pigs. *Livestock Science* 109, 27-29.
- Wouters MM, Farrugia G & Schemann M. (2007). 5-HT receptors on interstitial cells of Cajal, smooth muscle and enteric nerves. *Neurogastroenterology and Motility* 19, 5-12.
- Wu YB & Ravindran V. (2004). Influence of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, digestive tract measurements and carcass characteristics of broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology* 116, 129-139.
- Wu YB, Ravindran V, Thomas DG, Birtles MJ & Hendriks WH. (2004a). Influence of method of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers. *British Poultry Science* 45, 385 - 394.
- Wu YB, Ravindran V, Thomas DG, Birtles MJ & Hendriks WH. (2004b). Influence of phytase and xylanase, individually or in combination, on performance, apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology in broilers

- fed wheat-based diets containing adequate level of phosphorus. *British Poultry Science* 45, 76 - 84.
- Yamada J, Kitamura N & Yamashita T. (1983). Avian gastrointestinal endocrine cells. In *Avian endocrinology: environmental and ecological perspectives*, ed. Mikami S, Homma K & Wada M, pp. 25-38. Japan scientific societies press, Tokyo Springer-Verlag, Berlin.
- Yamamoto Y, Atoji Y & Suzuki Y. (1995). Muscular architecture and VIP-like immunoreactive nerves in the gastroduodenal junction of the chicken. *Veterinary Research Communications* 19, 85-93.
- Yamanaka Y, Yamada J, Kitamura N & Yamashita T. (1989). An immunohistochemical study on the distribution of endocrine cells in the chicken gastrointestinal tract. *Zeitschrift für Mikroskopisch-Anatomische Forschung* 103, S. 437-446.
- Yamauchi K & Isshiki Y. (1991). Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing white leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. *British Poultry Science* 32, 67-78.
- Yeo A, Boyd P, Lumsden S, Saunders T, Handley A, Stubbins M, Knaggs A, Asquith S, Taylor I, Bahari B, Crocker N, Rallan R, Varsani S, Montgomery D, Alpers DH, Dukes GE, Purvis I & Hicks GA. (2004). Association between a functional polymorphism in the serotonin transporter gene and diarrhoea predominant irritable bowel syndrome in women. *Gut* 53, 1452-1458.
- Young HM. (1990). The ultrastructure of the intestinal nerve of Remak in the domestic fowl. *Cell and Tissue Research* 260, 601-616.
- Zabielski R, Dardillat C, Le Huerou-Luron I, Bernard C, Chayvialle JA & Guilloteau P. (1998). Periodic fluctuations of gut regulatory peptides in phase with the duodenal migrating myoelectric complex in preruminant calves: effect of different sources of dietary protein. *British Journal of Nutrition* 79, 287-296.
- Zelenka, J. (1968). Influence of the age of chicken on the metabolisable energy values of poultry diets. *British Poultry Science*, 9, 135-142.



Nathalie ROUGIERE



Etude comparée des paramètres digestifs des poulets issus des lignées génétiques D⁺ et D⁻ sélectionnées pour une efficacité digestive divergente

Résumé

La comparaison des paramètres digestifs des poulets des lignées divergentes D⁺ et D⁻ sélectionnés sur l'aptitude à la digestion nous a permis de caractériser chaque lignée. Nous avons montré que les D⁻ avaient besoin d'un stimulus sous forme de particules grossières dans l'aliment pour améliorer leurs paramètres de digestion, tandis que les D⁺ n'ont pas besoin d'un tel stimulus. L'amélioration des paramètres de digestion chez les D⁻ est associée à une augmentation du poids relatif de gésier grâce aux particules grossières. Les différences de digestion entre lignées sont réduites avec un régime grossier. Le temps de rétention moyen (TRM) dans le compartiment « proventricule+gésier » est plus long chez les D⁺ que chez les D⁻. L'inclusion de fibres grossières dans l'aliment a conduit à une augmentation concomitante de l'efficacité de digestion, du poids relatif de gésier et du TRM. De plus, nous avons observé que la motricité du gésier était élevée chez les D⁻. Ainsi, un plus gros gésier est probablement associé à la régulation de l'évacuation gastrique, conduisant à une amélioration de l'efficacité de digestion.

Mots-clés : poulet, génétique, digestion, gésier

Résumé en anglais

We compared the digestive parameters of D⁺ and D⁻ genetic chicken lines selected on divergent digestion efficiency, in order to characterize each line. Using birds from the 6th generation of selection, we found that D⁻ birds needed a stimulus by big particle size in diet in order to improve their digestion parameters, whereas D⁺ birds didn't need such a stimulus to reach optimum digestion. The improvement of digestion parameters in D⁻ birds was associated with an increase in gizzard relative weight due to coarse particles. Digestion differences between lines were reduced with a coarse diet. Digesta mean retention time (MRT) in proventriculus+gizzard was much longer in D⁺ birds than in D⁻ birds. Inclusion of coarse fiber in diet led to a concomitant increase in digestion efficiency, and gizzard relative weight and MRT. Moreover, gizzard motility was found to be high in D⁻ birds. Then, a bigger gizzard was probably associated with the regulation of gastric emptying, leading to better digestion efficiency.

Keywords: chickens, genetics, digestion, gizzard