

**ÉCOLE DOCTORALE SST**

**ÉQUIPE Sélection Avicole Qualité Sécurité alimentaire et Environnement**

**THÈSE** présentée par :

**Hugues DE VERDAL**

soutenue le : 21 Octobre 2011

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

Discipline/ Spécialité : Sciences de la Vie

**POSSIBILITÉS DE RÉDUCTION DES  
REJETS CHEZ LE POULET PAR LA  
SÉLECTION GÉNÉTIQUE**

**THÈSE dirigée par :**

**Madame MIGNON-GRASTEAU Sandrine** Chargée de Recherches (HDR), INRA de Nouzilly

**Et co-encadrée par :**

**Mademoiselle NARCY Agnès** Ingénieur de Recherches, INRA de Nouzilly

**RAPPORTEURS :**

**Monsieur DOURMAD Jean-Yves** Ingénieur de Recherches (HDR), INRA de Saint Gilles

**Madame PHOCAS Florence** Chargée de Recherches (HDR), INRA de Jouy en Josas

**JURY :**

**Monsieur CHEVRIER Claude** Professeur des Universités, Université de Tours  
**Monsieur DOURMAD Jean-Yves** Ingénieur de Recherches (HDR), INRA de Saint Gilles  
**Monsieur GUEMENE Daniel** Directeur de Recherches, INRA de Nouzilly  
**Monsieur LEFRANCOIS Michel** Professeur des Universités, Université de Laval (Canada)  
**Madame MIGNON-GRASTEAU Sandrine** Chargée de recherches (HDR), INRA de Nouzilly  
**Madame PHOCAS Florence** Chargée de Recherches (HDR), INRA de Jouy en Josas



# Remerciements



Cette thèse est l'aboutissement d'un travail de trois ans passés à l'INRA de Nouzilly-Tours. Je suis reconnaissant aux personnes qui m'ont supporté et qui m'ont aidé au cours de cette période. Je tiens tout particulièrement à remercier:

- **Sandrine Grasteau** et **Agnès Narcy**, pour m'avoir permis de faire cette thèse, m'avoir encadré (et supporté) au quotidien pendant ces trois années, et tout particulièrement pour leur disponibilité et toutes les discussions que nous avons pu avoir, sur le travail de thèse comme dans les moments de détente, qui ont permis de rendre cette thèse plus facile et encore plus enrichissante. Cette thèse n'aurait pu exister sans leur grande patience et leur engagement.

- **Elisabeth Duval**, pour m'avoir permis de réaliser cette thèse dans son équipe ainsi que pour ses nombreux conseils et discussions, sans lesquels je ne serais probablement pas arrivé où j'en suis aujourd'hui.

- **Michel Duclos**, directeur de l'Unité de Recherches Avicoles de Nouzilly, pour m'avoir accueilli et m'avoir permis de faire cette thèse dans son laboratoire.

- **Didier Boichard** et **Denis Milan**, chefs de département de Génétique Animale, qui ont permis le financement de ce travail, avec la Région Centre, que je remercie aussi.

- les membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail de thèse :

- **Florence Phocas**, Chargée de Recherches à l'INRA de Jouy en Josas, pour sa participation en tant que rapporteur de ce travail.

- **Jean-Yves Dourmad**, Ingénieur de Recherches à l'INRA de Rennes, qui a bien voulu être rapporteur de ce travail

- **Michel Lefrançois**, Professeur à l'Université de Laval (Canada), qui a accepté d'être examinateur de cette thèse.

- **Daniel Guémené**, Directeur de Recherches à l'INRA de Nouzilly et directeur du SYSAAF, pour sa participation dans mon jury de thèse.

- **Claude Chevrier**, Professeur à l'Université de Tours, qui a bien voulu être membre de mon jury de thèse.

- les membres de mon comité de thèse, sans qui ce travail ne serait pas celui que vous avez devant les yeux :

- **Edwige Quillet (INRA, Jouy en Josas)**, qui m'a apporté ses nombreuses connaissances dans le domaine de la génétique.

- **Denis Bastianelli (CIRAD)**, pour son implication dans les analyses de digestibilité.

- **Patrick Schlegel (Agroscope Liebefeld-Posieux ALP)**, qui m'a permis de comparer porcs et poulets, et qui m'a apporté une vision plus nutritionnelle de ma thèse.

- **Loys Bodin (INRA, Toulouse)**, qui m'a apporté son aide et ses connaissances au niveau de la modélisation.

- **Isabelle Bouvarel (ITAVI)** et **Hervé Chapuis (SYSAAF)**, qui m'ont permis d'avoir aussi une vision plus globale intégrant les différents échelons de l'industrie avicole.

- **Laurent Bonnal (CIRAD)**, qui a toujours répondu à mes questions techniques sur les analyses par spectrophotométrie.

- **Claude Aubert (ITAVI)**, pour m'avoir fait bénéficier de sa vision avisée sur les questions de pollution et d'environnement.

Je tiens à remercier aussi plusieurs personnes au sein de l'Unité de Recherches Avicoles :

- **Catherine Beaumont**, pour ses discussions et son recul scientifique.

- **Nicole Rideau**, pour ses nombreuses connaissances de physiologiste.

- **Anne Colin**, pour ses commentaires et discussions au cours de cette thèse, principalement au niveau métabolique.

- **Nathalie Mème**, pour son savoir faire et son aide au cours des expériences et des mesures de laboratoire.

- **Séverine Urvoix**, pour sa contribution aux expérimentations et ses discussions pendant les « pauses cigarettes ».

- **Maryse Leconte** pour son aide dans les mesures histologiques.

- **Nathalie Wacrenier**, pour toute l'aide apportée à la documentation.

- **Christelle Hennequet**, pour ses compétences statistiques (et surtout son « hétérogénéité de variances », qui a fortement été utilisée dans ma dernière étude).

- Toute l'équipe **SAQSE** qui m'a supporté pendant ces trois ans, et qui a surtout supporté de boire le café que je leur ai préparé tous les jours, ainsi que toutes les personnes de l'équipe Dynamique Nutritionnelle qui m'ont aidé dans l'acquisition des mesures, dont **Michel Lessire, Serge Mallet** et **Jean-Marc Hallouis**.

- Merci également aux Charlotte(s) : **Charlotte Jeulin** et **Charlotte Martin** qui m'ont bien aidé pour l'étude histologique pendant leurs stages de Licence professionnelle et de Master, respectivement.

-Toutes les personnes qui m'ont aidé lors des abattages et des découpes, et tout particulièrement **Thierry Bordeau, Michel Derouet, Anne-Marie Chagneau, Marie Chabault, Angélique Travel, Michel Couty, Michel Derouet, Bernard Carré, Vérane Gigaud, Estelle Godet, Florence Laviron...**

- L'unité expérimentale PEAT, et tout particulièrement **Kléber Gérard, Nadine Sellier et Frédéric Mercierand**, pour leur aide dans l'élevage des animaux.

- Je remercie également **Nathalie Rougière**, qui est passée par là avant moi et qui m'a permis, au cours de nos discussions, de mieux connaître ces lignées D+ et D-.

- **Son Tran**, nouvel homme de l'équipe, qui va devoir apprendre à faire le café à ma place, à qui je souhaite plein de courage et de ténacité pour sa fin de thèse.

- Je tiens enfin à remercier ma famille, et tout particulièrement mes parents, ma sœur Marie et ma tante Sylvie, qui ont cru en moi et qui m'ont supporté lors de mes moments de doutes.

- Enfin, je tiens à remercier **Sarah**, qui m'a supportée pendant cette thèse et qui m'a apporté soutien, motivation et moments de détente nécessaires. Sans elle, cette thèse ne serait pas ce qu'elle est.





# Résumé



La production avicole est aujourd'hui largement questionnée quant à son impact négatif sur l'eau, l'air et les sols. Trouver des moyens permettant de maîtriser l'excrétion des poulets est donc d'une grande importance pour le développement d'une agriculture durable. Ce travail se propose d'étudier l'efficacité de la sélection génétique pour la réduction des rejets, en proposant des critères de sélection qui pourraient être intégrés aux schémas de sélection, tels que l'efficacité digestive et des mesures quantitatives et qualitatives des rejets. Ce travail repose sur trois études utilisant des poulets issus d'une expérience de sélection divergente pour une faible (D-) ou forte (D+) efficacité digestive, lignées pour lesquelles des travaux précédents ont mis en évidence des caractéristiques d'excrétion différentes.

Dans un premier temps, nous avons montré que sélectionner les animaux à 3 semaines sur l'EMAn ou sur un critère direct des rejets, le coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche (CUDMS), était possible, l'héritabilité de ces critères étant assez élevée (0.30). Ce travail a également permis d'obtenir de fortes améliorations des caractéristiques d'excrétion, les corrélations génétiques étant élevées entre EMAn et CUDMS d'une part et rejets d'autre part (-0.64 à -0.97 avec les poids excrétés, 0.39 à 0.46 avec la teneur en eau des excréta, -0.84 à -0.87 avec le ratio azote / phosphore dans les excréta). En outre, les corrélations génétiques entre ces caractères et les performances zootechniques indiquent qu'une sélection pour réduire les rejets ne dégraderait pas ces performances.

Dans un second temps, une étude cinétique a permis de suivre l'évolution de la réponse des animaux sur l'ensemble du cycle de production. Chez les D+, l'EMAn est de 5 à 25 % et de 3 à 6 % plus élevée que chez les D- et les témoins commerciaux (CL), respectivement. Cela correspond à un indice de consommation de 2.00 chez les D+, 2.26 chez les CL et 2.93 chez les D-. Les rejets des D+ sont 26 % moins abondants que ceux des CL et 56 % moins abondants que ceux des D-.

Enfin, dans un dernier temps, nous avons étudié les relations entre EMAn et la structure du tractus gastro-intestinal afin de comprendre la nature des modifications entraînées par la sélection. L'EMAn présente de fortes corrélations génétiques avec les poids relatifs du gésier et du proventricule (0.43 à 0.59) et ceux du jéjunum et de l'iléon (-0.67 à -0.77). Des adaptations histologiques de l'intestin face au développement du proventricule et du gésier ont été mises en évidence, avec des villosités intestinales plus grandes, des cryptes plus profondes et une couche musculaire plus épaisse dans l'intestin des D-.

Ainsi, la sélection génétique pourrait être un bon moyen pour maîtriser les rejets des poulets sans avoir d'impact négatifs sur l'économie ou le bien-être animal.

Mots-clés : poulet, rejets, génétique, digestion, durabilité, environnement



Résumé en anglais



Poultry production is now widely queried about its negative impact on water, air and soils. Finding ways to control chicken excretion is of importance for the development of a sustainable agriculture. The aim of this work is thus to study the efficiency of a genetic selection for reduce excretion, by suggesting selection criteria that could be integrated in selection schemes, as criteria of digestive efficiency and quantitative and qualitative excreta measurements. This work relied on three studies using chickens coming from a divergent selection experiment for a low (D-) or a high (D+) digestive efficiency, lines for which previous studies highlighted different excretion characteristics.

Firstly, we have shown that selecting chickens at 3 weeks of age on AMEn or directly on an excretion trait as the coefficient of digestive utilization of the dry matter (CDUDM), could be possible, heritability of these criteria being relatively high (0.30). This resulted in significant improvements in the excretion characteristics, genetic correlations being high between AMEn or CDUDM and the excretion traits (from -0.64 to -0.97 with the excretion weights, from 0.39 to 0.46 with the water content of the excreta, from -0.84 to -0.87 with the nitrogen/phosphorus ratio in the excreta). Moreover, the genetic correlations between these traits and the zootechnical performances showed that selection in view to reduce excretion would not reduce these performances.

Secondly, a kinetic study allowed us to follow the evolution of the chicken response on the whole rearing period. In D+, AMEn is 5 to 25% and 3 to 6% higher than in D- and commercial control line (CL), respectively. This corresponds to a feed conversion ratio at 2.00 for the D+, 2.26 for the CL and 2.93 for the D- birds. The D+ birds produced 26% less excreta than CL birds and 56% less than D- birds.

Finally, we studied the relationships between AMEn and the morphology of the gastro-intestinal tract structure in view to understand the nature of the modifications induced by the selection experiment. AMEn showed high genetic correlations with the proventriculus and gizzard relative weights (from 0.43 to 0.59) and with jejunum and ileum relative weights (from -0.67 to -0.77). Histological adaptations of the small intestine consecutive to the development of proventriculus and gizzard has been observed, with larger intestinal villi, deeper crypts and a thicker intestinal muscle layer in D- birds compared to D+ birds.

Genetic selection could be a good way in view to control chicken excretion, without negative impacts on economy and animal welfare.

Keywords: chicken, excretion, genetics, digestion, sustainability, environment





# Table des matières



Remerciements .....	1
Résumé .....	4
Résumé en anglais .....	5
Table des matières .....	6
Liste des publications .....	9
Liste des abréviations françaises .....	10
Liste des abréviations anglaises .....	13
Liste des tableaux, figures et annexes .....	15
Liste des tableaux .....	15
Liste des figures .....	17
Liste des annexes.....	19
<b>Introduction générale .....</b>	<b>20</b>
<b>Première partie : Introduction bibliographique .....</b>	<b>23</b>
1. Les rejets avicoles et l’environnement .....	23
1.1. Production de rejets et réglementation .....	23
1.1.1. Contexte .....	23
1.1.2. Régionalisation.....	26
1.1.3. Aspects réglementaires.....	27
1.2. Cycle de l’azote .....	32
1.3. Cycle du phosphore .....	34
1.4. Impacts des rejets .....	35
1.4.1. Impacts sur l’environnement.....	35
1.4.2. Impacts sur la santé .....	43
1.5. Transports et traitements .....	44
1.5.1. Transports.....	44
1.5.2. Traitements.....	46
2. Maîtrise des rejets au niveau de l’animal .....	50
2.1. Besoins des animaux .....	50
2.1.1. Besoins en azote .....	50
2.1.2. Besoins en phosphore.....	51
2.2. Utilisation digestive d’azote et de phosphore .....	53

2.2.1.	Le tractus gastro-intestinal .....	53
2.2.2.	Facteurs influençant la digestion.....	64
2.3.	Stratégies nutritionnelles d'optimisation.....	69
2.3.1.	Adéquation des apports aux besoins .....	69
2.3.2.	Choix des matières premières .....	70
2.3.3.	Utilisation d'additifs alimentaires .....	75
2.4.	Stratégies d'optimisation par la sélection génétique .....	81
2.4.1.	Sélection sur la vitesse de croissance.....	83
2.4.2.	Sélection sur l'efficacité alimentaire (IC et RFI).....	84
2.4.3.	Sélection sur la composition corporelle .....	85
2.4.4.	Sélection sur la capacité à digérer .....	86
<b>Deuxième partie : Résultats expérimentaux.....</b>		<b>91</b>
CHAPITRE I – Estimation des paramètres génétiques .....		91
ARTICLE I - Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency.....		92
ARTICLE II - Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency.....		119
ARTICLE III - Genetic variability of metabolic characteristics in chickens selected for their capacity to digest wheat .....		149
CHAPITRE II - Compréhension des mécanismes physiologiques impliqués dans les différences d'efficacité digestive entre D+ et D-.....		182
ARTICLE IV - Digestive tract measurements and histological adaptation in broilers lines divergently selected for digestive efficiency.....		183
CHAPITRE III – Etude cinétique des caractéristiques d'efficacité, d'excrétion et de morphologie du tractus.....		206
ARTICLE V - Impact of a genetic selection on digestibility on excretion, gastro-intestinal tract morphology and economic traits in broilers from hatch to slaughter age.....		207

<b>Troisième partie : Discussion</b> .....	<b>244</b>
1. Sélection génétique et maîtrise des rejets.....	246
2. Comment expliquer ces différences de rejets ?.....	257
<b>Conclusion</b> .....	<b>262</b>
Références bibliographiques .....	265
Annexes .....	311
Résumé .....	328
Résumé en anglais .....	328



## Liste des publications





## Publications

1 – de Verdal, H., Mignon-Grasteau, C. Jeulin, E. Le Bihan-Duval, M. Leconte, S. Mallet, C. Martin, A. Narcy. Digestive tract measurements and histological adaptation in broiler lines divergently selected for digestive efficiency. *Poultry Science*. 2010. **89**: 1955-1961.

2 – de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, H. Chapuis, N. Mème, S. Urvoix, E. Le Bihan-Duval, S. Mignon-Grasteau. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics*. 2011a. **12**:59.

3 - de Verdal, H., A. Narcy, D. Bastianelli, H. Chapuis, N. Mème, S. Urvoix, E. Le Bihan-Duval, S. Mignon-Grasteau. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics*. 2011b. **12**:71.

## Communications orales

1 – de Verdal, H., A. Narcy, E. Le Bihan-Duval, H. Chapuis, D. Bastianelli, N. Mème, S. Mignon-Grasteau. Selection for excretion traits in chicken. *9<sup>th</sup> World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, 2010. Leipzig, Germany.

2 – de Verdal, H., A. Narcy, E. Le Bihan-Duval, S. Mignon-Grasteau. Excretion and gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their capacity of digestion. *XIII<sup>th</sup> European Poultry Conference*, 2010. Tours, France.

3 - de Verdal, H., A. Narcy, H. Chapuis, D. Bastianelli, N. Mème, E. Le Bihan-Duval, S. Mignon-Grasteau. Possibilités de diminution des rejets chez les poulets par la sélection génétique. *9<sup>èmes</sup> Journées de Recherches Avicoles*. 2011. Tours, France.



## Liste des abréviations françaises



1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub> : 1 $\alpha$ -cholécalférol hydroxylé  
1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> : 1,25 dihydroxylécalférol  
a\* : indice de rouge  
AA : acide aminé  
ADP et ATP : adénosine bi- et triphosphate  
Al : Alun ou sulfate d'aluminium  
Al (OH)<sub>3</sub> : hydroxyde d'aluminium  
AlPO<sub>4</sub> : orthophosphate d'aluminium  
As : arsenic  
B : bore  
b\* : indice de jaune  
BBS : résistance à la rupture de l'os  
BW : poids vif  
CA : consommation alimentaire  
Ca : calcium  
CaO : oxyde de calcium  
Cd : cadmium  
CH<sub>4</sub> : méthane  
CL : lignée commerciale utilisée à l'origine de la sélection divergente  
Co: cobalt  
CO<sub>2</sub> : dioxyde de carbone  
Cr : chrome  
Cu : cuivre  
CUD : coefficient d'utilisation digestive  
CUDMS : coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche  
D+ : lignée de poulets sélectionnée pour de fortes valeurs d'EMAn  
D- : lignée de poulets sélectionnée pour de faibles valeurs d'EMAn  
 $\Delta$ T : augmentation de température postprandial rapporté à la consommation alimentaire  
Diam : diamètre  
EMAn : énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul  
GH : somatotropine  
h<sup>2</sup> : héritabilité  
H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> : acide phosphorique  
HCl : acide chlorhydrique

IC : indice de consommation  
IGF-I et IGF-II : facteurs de croissance analogues à l'insuline I et II  
 $K_2O$  : potasse  
 $L^*$  : clarté  
Lg : longueur  
LPA : pauvre en acide phytique  
MgO : magnésie  
MS : matière sèche  
Mn : manganèse  
Mo : molybdène  
N : azote  
Na : sodium  
 $NaHCO_3$  : bicarbonate de sodium  
 $N_2$  : diazote  
 $N_2O$  : protoxyde d'azote  
NE : azote excrété  
 $NH_3$  : ammoniac  
 $NH_4^+$  : ammonium  
NI : azote consommé  
Ni : nickel  
 $NO_x$  : oxydes d'azote  
NO : oxyde nitrique (ou oxyde d'azote)  
 $NO_2^-$  : nitrite  
 $NO_3^-$  et  $NO_3$  : nitrate  
NS : non significatif  
 $O_3$  : ozone  
P : phosphore  
 $P_2O_5$  : phosphate  
Pb : plomb  
PBA : biodisponibilité en phosphore phytique  
Pds : poids  
PE : phosphore excrété  
PI : phosphore consommé  
PM : particules en suspension dans l'air

PNA : polysaccharides non amylacés

QTL : quantitative trait loci

RFI : consommation alimentaire résiduelle

$r_g$  : corrélation génétique

$\rho$  : corrélation phénotypique

Se : sélénium

SO<sub>2</sub> : dioxyde de soufre

T<sub>3</sub> : hormone thyroïdienne

TGI : tractus gastro-intestinal

ZES : zone en excédant structurel

Zn : zinc





## Liste des abréviations anglaises



AA: amino acids  
AFY: abdominal fat yield  
AMEn: apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen retention  
BBS: bone breaking strength  
BMY: breast meat yield  
BW: body weight  
BWG: body weight gain  
CDUDM: coefficient of digestive utilisation of the dry matter  
CL: commercial line used at the beginning of the D+/D- selection experiment  
CW: crop weight  
D+: chicken line selected for high AMEn value  
D-: chicken line selected for low AMEn value  
DD: duodenum density  
 $\Delta T$ : postprandial temperature increment relative to FI  
DEW: dry excreta weight  
DL: duodenum length  
DM: dry matter  
DW: duodenum weight  
FCR: feed conversion ratio  
FEW: fresh excreta weight  
FT: fast temperature  
FI: feed intake  
GIT: gastro-intestinal tract  
GLM: general linear models  
GZW: gizzard weight  
h<sup>2</sup>: heritability  
ID: ileum density  
IL: ileum length  
IW: ileum weight  
JD: jejunum density  
JL: jejunum length  
JW: jejunum weight  
K: maturation rate  
L: initial specific growth rate

LPA: low phytic acid  
LW: liver weight  
N: nitrogen  
NE: nitrogen excreted  
NI: nitrogen intake  
P: phosphorus  
PE: phosphorus excreted  
pHu: ultimate pH of the breast meat.  
PI: phosphorus intake  
PRW: proventriculus weight  
PVG/INT: ratio of the proventriculus and gizzard weights relative to small intestine weight  
QTL: quantitative trait loci  
REML: restricted maximum likelihood  
 $r_g$ : genetic correlation  
RFI: residual feed intake  
SE: standard error  
SEM: pool standard error of the mean  
Ti: age of inflexion  
WE or WEC: water content of excreta  
WG: weight gain

## Liste des tableaux, figures et annexes



## Liste des tableaux

Tableau 1 - Principales catégories de polluants de l'air, du sol et de l'eau issues des activités humaines, et contribution de l'agriculture dans ces catégories.....	23
Tableau 2 - Type d'exploitation et équilibre de phosphore selon les exploitations standards de 1996 .....	27
Tableau 3 - Valeurs limites de concentrations des différentes formes d'azote dans l'air et dans l'eau par les réglementations européennes. ....	28
Tableau 4 - Pertes de NH <sub>3</sub> au bâtiment, stockage et épandage des élevages avicoles .....	37
Tableau 5 - Teneur moyenne en azote et phosphore dans les rejets de différentes espèces animales d'élevage collectées par des producteurs de l'Arkansas.....	41
Tableau 6 - Coûts de transport des effluents d'élevage.....	45
Tableau 7 - Besoins relatifs en acides aminés pour le développement et la croissance chez les volailles.....	51
Tableau 8 - Disponibilité de la lysine, la méthionine et la thréonine selon la céréale utilisée dans les régimes alimentaires de poulets de chair.....	71
Tableau 9 - Teneur en phosphore total (moyenne et écart-type), ratio phosphore phytique sur phosphore total et activité phytasique de différentes matières premières.....	72
Tableau 10 - Biodisponibilité des suppléments de phosphore inorganique dans l'aliment chez les poulets de chair de 3 semaines d'âge .....	73
Tableau 11 - Effets des ajouts croissants de phytase dans la ration des poulets de chair sur l'utilisation des nutriments.....	77
Tableau 12 - Effet de l'ajout de <i>Lactobacillus</i> au régime sur la rétention d'azote et de phosphore chez des poules pondeuses. ....	80
Tableau 13 - Statistiques élémentaires pour l'azote et le phosphore excrétés et pour le taux de phosphore plasmatique chez les deux lignées D+ et D-.....	179
Tableau 14 - Estimations ( $\pm$ erreurs standard) des héritabilités et des corrélations génétiques de NE, PE et P plasmatique avec les caractéristiques morphologiques du tractus gastro-intestinal. ....	179
Tableau 15 - Estimation des corrélations génétiques ( $\pm$ erreurs standard) entre P plasmatique, NE, PE et les mesures de performances, d'efficacité et d'excrétion .....	180
Tableau 16 - Estimation des corrélations génétiques ( $\pm$ erreurs standard) entre P plasmatique, NE, PE et les mesures métaboliques.....	181

Tableau 17 -	Statistiques élémentaires (moyennes $\pm$ erreurs standard) pour les mesures de caractéristiques osseuses pour chaque lignée et chaque âge de mesure.....	241
Tableau 18 -	Statistiques élémentaires (moyennes $\pm$ erreurs standard) pour les mesures de pH des contenus digestifs pour chaque lignée et chaque âge de mesure. ....	243
Tableau 19 -	Réponse attendue à la sélection directe ou indirecte sur les caractères de rejets par génération de sélection.....	245
Tableau 20 -	Réponse attendue à la sélection indirecte sur l'EMAn ou l'efficacité alimentaire (IC et RFI) sur les caractères de rejets. ....	247
Tableau 21 -	Estimation des paramètres génétiques chez les D+ et les D-. ....	249



## Liste des figures

Figure 1 - Emissions totales de $\text{NH}_3$ ( $\text{kg N.km}^{-2}.\text{an}^{-1}$ ) en Europe des 27 en 2000 : a) émissions de $\text{NH}_3$ des écosystèmes terrestres, de l'industrie et des déchets, b) répartition des émissions totales de $\text{NH}_3$ .....	24
Figure 2 - Répartition d'azote (a) et de phosphates (b) contenus dans les déjections animales produites par les élevages français en 2008, en quantités moyennes rapportées aux surfaces agricoles fertilisables.....	25
Figure 3 - Composition des engrais des fermes en éléments fertilisants, a) $\text{CaO}$ et $\text{K}_2\text{O}$ , b) $\text{N}$ et $\text{P}_2\text{O}_5$ , c) $\text{MgO}$ .....	30
Figure 4 - Le cycle de l'azote.....	32
Figure 5 - Le cycle du phosphore.....	34
Figure 6 - Distribution des émissions d'azote en Europe (en $\text{kg N.km}^{-2}.\text{an}^{-1}$ , données de 2000) incluant les émissions dans l'air de $\text{NO}_x$ ( $\text{NO}$ , $\text{NO}_2$ , $\text{NO}_3$ ), $\text{NH}_3$ et $\text{N}_2\text{O}$ et les pertes totales dans les systèmes aquatiques, incluant les nitrates et les autres formes d'azote .	36
Figure 7 - Facteurs affectant la volatilisation d'ammoniac à partir des rejets épandus sur les terres agricoles .....	38
Figure 8 - Schéma de l'impact de la pollution par l'azote et le phosphore au niveau de l'eau. ....	42
Figure 9 - Pertes cumulées d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) pour les 68 jours de compostage de litière de volailles traitées avec a) de l'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ou b) de l'alun ( $\text{Al}$ ).....	47
Figure 10 - Schéma de l'appareil digestif du poulet .....	54
Figure 11 - Structure de la partie supérieure du tractus gastro-intestinal .....	55
Figure 12 - Coupe sagittale de l'isthme au niveau du gésier .....	56
Figure 13 - Structure générale de l'intestin grêle.....	59
Figure 14 - Schéma des processus d'utilisation de l'azote, de l'ingestion des protéines jusqu'à l'excrétion d'acide urique.....	61
Figure 15 - Schéma des mécanismes hormonaux intervenant dans le métabolisme phosphocalcique .....	64
Figure 16 - Représentation des effets biochimiques du phytate sur le tractus gastro-intestinal des poulets. ....	66
Figure 17 - Influence de la teneur de l'aliment en phosphore sur la croissance et la minéralisation osseuse.....	69

Figure 18 - Fractionnement des différents types de phosphore retrouvés dans les grains de maïs, orge ou de riz selon le génotype étudié (Témoin sauvage (Svge), avec mutation <i>lpa1-1</i> ou avec mutation <i>lpa2-1</i> ). .....	74
Figure 19 - Schéma explicatif des différences entre efficacité alimentaire et efficacité digestive. ....	82
Figure 20 - Différences entre énergie brute, digestible, métabolisable et nette.....	83
Figure 21 - Teneur en phosphore total (rapporté à la matière sèche MS) dans les excréta fécaux de porcs conventionnels et de porcs transgéniques nourris avec différents niveaux de tourteaux de soja dans l'aliment comme seule source de phosphore alimentaire. ....	89
Figure 22 - Distribution de l'EMAn (a) et du poids de fientes sèches rapporté à la consommation alimentaire (b) chez les D+ et les D- .....	251

## Liste des annexes

Annexe 1 - Selection for excretion traits in chickens.....	311
Annexe 2 – Excretion and gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their capacity of digestion .....	315
Annexe 3 – Possibilités de diminution des rejets chez les poulets par la sélection génétique	321



# Introduction générale



A l'heure actuelle, la production avicole est très largement questionnée quant à son impact négatif sur l'environnement. En 2005, la production française de volailles était d'environ 2 millions de tonnes, générant une quantité de rejets estimée à près de 3 millions de tonnes pour la part solide et 6 millions de tonnes pour la part liquide (CORPEN 2006a). L'insuffisance des surfaces d'épandage dans les zones à forte densité d'élevage pouvant avoir un impact délétère sur l'environnement, le développement de stratégies d'élevage offrant des possibilités de maîtrise des rejets devient crucial. Jusqu'à présent une attention particulière a été portée aux stratégies nutritionnelles d'optimisation de l'utilisation des nutriments (amélioration des systèmes de formulation, utilisation d'additifs comme les enzymes...). La sélection de certains caractères liés à l'efficacité alimentaire comme l'indice de consommation, à la vitesse de croissance ou à la composition corporelle a également permis de limiter les rejets. L'efficacité digestive n'a été envisagée comme critère de sélection que plus récemment. En effet, les études portant sur l'héritabilité de la biodisponibilité de l'énergie et des nutriments (phosphore, azote et calcium, Zhang *et al.* 2003; Ankra-Badu *et al.* 2010) reposaient sur des animaux nourris avec des aliments hautement digestibles (à base de maïs-soja), masquant probablement la variabilité entre individus. Ces caractères étaient donc considérés comme peu héréditaires. Avec un aliment à base de blé, plus difficilement digestible, Mignon-Grasteau *et al.* (2004) ont pu mettre en évidence que la digestibilité de l'énergie, des protéines, des lipides et des glucides avait une origine génétique, avec des héritabilités estimées entre 0.33 et 0.47. Suite à cette étude, une expérience de sélection génétique divergente a été mise en place sur la capacité des animaux à digérer un blé de mauvaise qualité (le blé Rialto), utilisant l'énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) comme critère de sélection. Deux lignées de poulets ont ainsi été développées, les bons digesteurs (D+, sélectionnés pour de fortes valeurs d'EMAn) et les mauvais digesteurs (D-, sélectionnés pour de faibles valeurs d'EMAn). Les écarts d'EMAn et de digestibilité des nutriments se sont accentués au cours des générations, avec des écarts d'EMAn atteignant 30 % à la 6<sup>ème</sup> génération de sélection (Carré *et al.* 2008a). Cette différence d'efficacité digestive est également observée pour l'amidon, les lipides et les protéines, pour lesquels les coefficients d'utilisation digestive des D+ sont plus élevés que ceux des D-, de 10%, 20% et 13%, respectivement (Mignon-Grasteau *et al.* 2010b). Lorsque les animaux sont nourris avec un régime facile à digérer à base de maïs, ces différences sont plus faibles mais toujours significatives pour l'EMAn et les coefficients d'utilisation digestive des lipides et des protéines, qui sont de 5 à 7% plus élevés chez les D+ que chez les D-. Pour l'amidon en revanche, les deux lignées présentent des coefficients d'utilisation digestive similaires sur régime maïs (Mignon-Grasteau *et al.* 2010b).

Plusieurs études ont précédemment mis en évidence que de fortes différences de morphologie du tractus gastro-intestinal accompagnaient ces différences d'efficacité digestive, avec un fort développement de la partie supérieure du tractus, et à l'inverse, un développement inférieur de l'intestin grêle chez les D+ par rapport aux D- (Garcia *et al*, 2007 ; Rougère *et al*, 2009 ; Rougère & Carré, 2010). Dans le même sens, Péron *et al* (2006) ont mis en évidence des corrélations phénotypiques entre les poids relatifs des différents organes digestifs et les paramètres de digestion. Ces auteurs ont par exemple observé une corrélation positive entre le développement du gésier et la digestibilité de l'amidon.

Concernant les performances de croissance, avec le régime à base de blé utilisé au cours de la sélection, les poids vifs des animaux des deux lignées sont identiques à 23 jours d'âge, conformément au processus de sélection. Cependant, les D- montrent une consommation alimentaire plus forte que les D+ (Rougère *et al.*, 2009). Enfin, au cours du projet COSADD (Critères et Objectifs de Sélection Animale pour un Développement Durable), il a été mis en évidence que cette divergence d'efficacité digestive s'accompagnait d'une différence d'excrétion. A 3 semaines, les D+ excrètent environ 35 % moins de fientes sèches que les D- (Lafeuille 2007). Cependant, ces premières études étaient restreintes à des comparaisons phénotypiques, et ne permettaient pas d'évaluer les corrélations génétiques entre rejets et efficacité digestive et donc de prédire comment la sélection de ce critère modifierait les rejets. Enfin, aucune étude à ce jour n'a envisagé la possibilité de sélectionner directement sur des caractéristiques des rejets. La réduction des rejets n'était en effet considérée que comme un sous-produit de l'efficacité et non comme un objectif à part entière.

L'objectif de cette thèse était de mettre en évidence les critères de sélection pertinents pour maîtriser l'excrétion des poulets de chair, en termes de quantité comme de composition, soit par une sélection directe sur les caractères de rejets, soit par une sélection indirecte sur l'efficacité digestive. Cela implique dans un premier temps de disposer de l'héritabilité des mesures de rejets et de l'efficacité digestive pour savoir si ces caractères pourraient être utilisés avec succès en sélection. Il est également important de disposer des corrélations génétiques entre les caractères de rejets ou d'efficacité digestive et d'autres caractères d'importance économique afin de prévenir d'éventuelles dérives de ces caractères consécutives à la sélection des rejets ou de l'efficacité digestive. Au-delà des conséquences pratiques, étudier les liens entre digestibilité et caractéristiques du tractus digestif ou du métabolisme post-digestif permet de comprendre quels mécanismes ont été affectés par la sélection de l'efficacité digestive. En effet, des différences anatomiques ont été mises en



évidence entre D+ et D- nourris soit avec un aliment à base de blé, soit avec un aliment à base de maïs-soja. Le proventricule et le gésier sont plus développés chez les D+. A l'inverse, l'intestin grêle est plus développé chez les D- (Péron *et al.* 2006; Garcia *et al.* 2007; Rougrière *et al.* 2009; Rougrière & Carré 2010). Rougrière et Carré (2010) ont également pu mettre en évidence des temps de rétention des aliments dans le gésier et le proventricule significativement plus longs chez les D+ que chez les D-, alors qu'au niveau intestinal, aucune différence n'était visible.

Afin de déterminer quel critère pouvait être utilisé en sélection et quelles conséquences indirectes leur introduction dans un schéma de sélection pourrait avoir, nous avons donc tout d'abord estimé les paramètres génétiques des rejets, de l'efficacité digestive, des performances zootechniques, des caractéristiques anatomiques du tractus digestif et des caractères liés au métabolisme post-digestif. En effet, il a été précédemment montré que sélectionner les animaux sur l'efficacité alimentaire, ce qui est souvent réalisé en sélection avicole, induisait des modifications au niveau de nombreuses caractéristiques métaboliques (thermogenèse, composition corporelle, minéralisation osseuse, Luiting *et al.* 1994). A l'inverse, la sélection sur la consommation résiduelle du porc en croissance et de la poule pondeuse ne semble pas avoir modifié l'efficacité digestive (Carré *et al.* 2008b; Barea *et al.* 2010). Le présent travail a donc également comme but de confirmer ou d'infirmer le lien entre efficacité digestive et métabolisme post-digestif. Cette étude repose sur 630 animaux issus des lignées D+ et D-. De ce fait, les mesures ont été majoritairement réalisées à l'âge de 3 semaines, âge auquel la sélection a été réalisée. Cet âge correspond à un stade crucial du développement du tractus gastro-intestinal (TGI), mais est encore relativement éloigné de l'âge d'abattage. De plus, le grand nombre d'animaux qu'il est nécessaire de mesurer pour estimer les paramètres génétiques limite la finesse de mesure des caractères, notamment pour les critères anatomiques.

Dans une seconde étape, des analyses morphologiques et histologiques au niveau intestinal ont donc permis d'étudier plus finement le développement des parties supérieures (proventricule et gésier) et inférieures (intestin grêle) du tractus gastro-intestinal et d'appréhender les évolutions de l'intestin grêle face aux modifications du proventricule et du gésier qu'entraînait la sélection.

Enfin, une dernière étude a eu pour but d'estimer si l'impact de la sélection de l'EMAn sur les caractéristiques d'excrétion et le tractus digestif observées à 3 semaines persistaient jusqu'à l'âge d'abattage commercial des poulets. En plus des D+ et des D-, l'inclusion d'animaux issus de la lignée commerciale qui avait été utilisée au début de l'expérience de sélection a pour objectif d'évaluer le gain apporté par les D+, seule cette lignée présentant un intérêt dans un objectif commercial. Enfin, la mesure de la composition corporelle et de la qualité de la viande à l'âge d'abattage permet d'évaluer les conséquences de la sélection sur ces caractères à fort impact économique.

Après avoir dressé un état des lieux des différents types de rejets, de leurs impacts sur l'environnement, ainsi que des moyens de réduire les rejets chez les animaux d'élevages dans une introduction bibliographique, les principaux résultats obtenus au cours de la thèse seront présentés sous forme de publications. Enfin, la discussion de l'ensemble de ces résultats nous permettra de mieux comprendre d'où pourraient provenir les différences d'excrétion entre les animaux, mais aussi de mettre en évidence les intérêts potentiels de ces travaux pour l'élevage avicole au niveau du développement durable.

Première partie :  
Introduction bibliographique



# 1. Les rejets avicoles et l'environnement

## 1.1. Production de rejets et réglementation

### 1.1.1. Contexte

L'ensemble des activités humaines génère l'émission de divers polluants dans l'atmosphère, l'écosystème terrestre ou encore dans l'hydrosphère. L'agriculture contribue dans des proportions variables selon le type de polluants (Tableau 1). Elle joue notamment un rôle majeur pour les nitrates, ammoniac et phosphates.

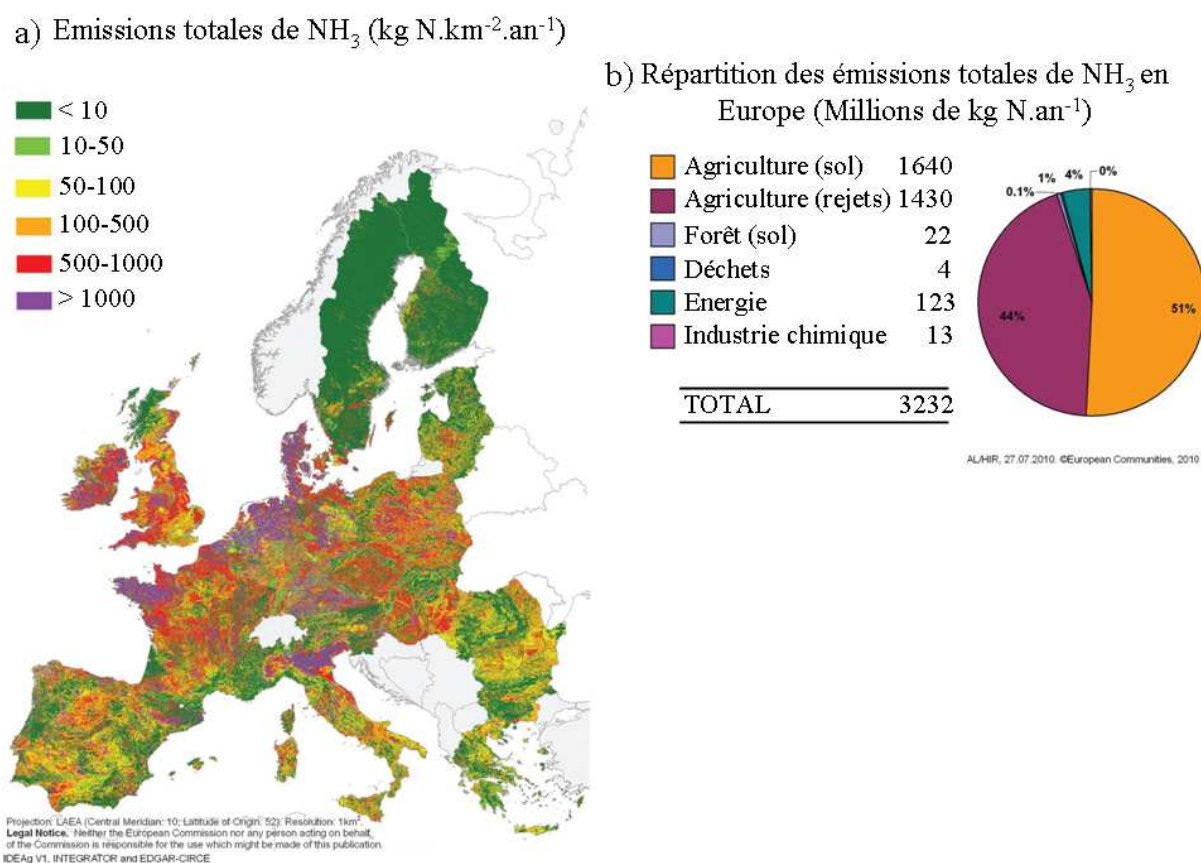
**Tableau 1 - Principales catégories de polluants de l'air, du sol et de l'eau issues des activités humaines, et contribution de l'agriculture dans ces catégories.**

Catégorie de polluant	Air	Sol	Eau	Contribution de l'agriculture
Nitrates		X	X	Majeure
Phosphates		X	X	Majeure
Particules solides	X			Moyenne
Produits chimiques	X	X	X	Moyenne
Métaux lourds		X	X	Mineure
Radiation et hydrocarbures		X	X	Très mineure
Oxydes d'azote (NOx)	X			Mineure
Ammoniac	X	X	X	Majeure
Gaz à effet de serre	X			Moyenne (CO2) à forte (CH4, N2O)
Dioxyde de soufre (SO2)	X			Mineure
Eaux usagées et non traitées			X	Moyenne
Eaux à forte température			X	Très mineure

En France, l'élevage génère 275 millions de tonnes par an de rejets solides et liquides soit 50 % des déchets des activités humaines totaux français (avec 570 millions de tonnes par an, Anonyme 2001). Les deux principaux éléments présents dans les rejets animaux responsables des dégradations de l'environnement sont l'azote (N) et le phosphore (P). L'apport de phosphore dans les sols français a été estimé à 775 000 tonnes en 2001, sous forme d'engrais minéraux (50 %), de déjections animales (40 %), d'effluents urbains domestiques (environ 5 %) ou industriels (environ 3 %) et de boues de station d'épuration (environ 2 %,

Commissariat général au développement durable 2009). Au niveau de l'air, l'agriculture est responsable de 93 % des émissions totales d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) dans l'atmosphère (Rom 1993; CITEPA 2001; Monteiro *et al.* 2010), dont 70 à 90 %, selon les sources, résultant des élevages animaux (Figure 1, Buijsman *et al.* 1987; Rom 1993; Pain *et al.* 1998; McCubbin *et al.* 2002; Oenema *et al.* 2011).

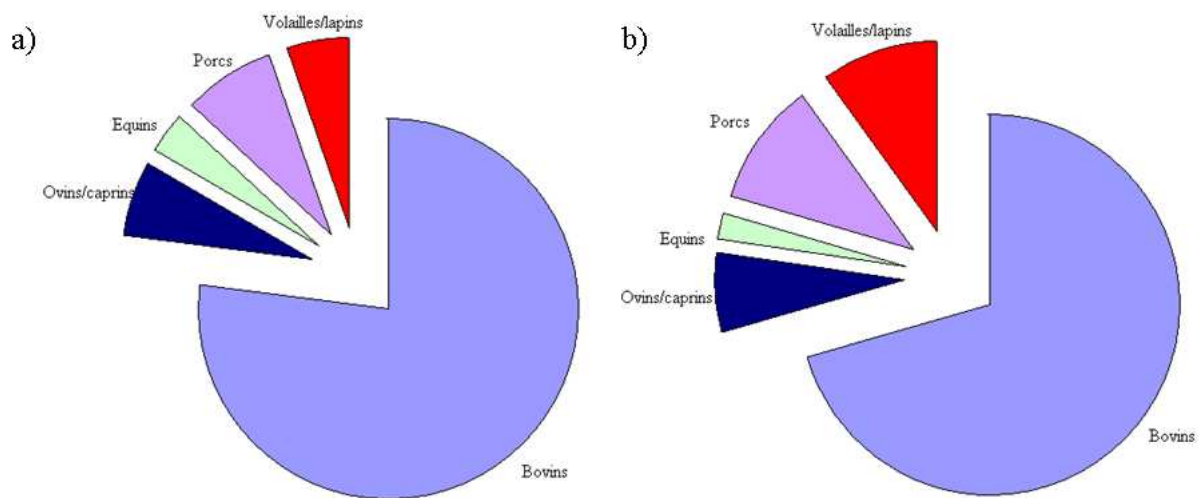
Dans les 50 dernières années, les émissions de  $\text{NH}_3$  ont augmenté de façon significative dans de nombreux pays (Ni *et al.* 2010), principalement du fait de l'intensification des élevages animaux (McCrary & Hobbs 2001). Sur la Figure 1 (carte), on constate que les zones les plus touchées par les émissions de  $\text{NH}_3$  sont des zones de très forte production, telle que l'Ouest de la France, les Pays Bas ainsi que le Nord de l'Italie, l'Allemagne et le Danemark.



**Figure 1 - Emissions totales de  $\text{NH}_3$  ( $\text{kg N.km}^{-2}.\text{an}^{-1}$ ) en Europe des 27 en 2000 : a) émissions de  $\text{NH}_3$  des écosystèmes terrestres, de l'industrie et des déchets, b) répartition des émissions totales de  $\text{NH}_3$  (d'après Leip *et al.* 2011).**

La part de l'aviculture dans les rejets agricoles reste très modeste, dans la mesure où n'elle est impliquée qu'à hauteur de 2-3 % dans la production des effluents d'élevage en France (Quideau 2010) et 10 % aux Etats-Unis (Ferket *et al.* 2002).

Cependant, comme une part importante des rejets avicoles se présente sous la forme de fientes ou fumiers relativement secs, cinq à dix fois plus concentrés en azote et  $P_2O_5$  que les déjections bovines ou porcines, l'aviculture représente 10 % des pertes de  $P_2O_5$  dues aux rejets animaux (Quideau 2010). La situation est similaire pour l'azote, pour lequel l'aviculture représente 5 et 20 % des pertes d'azote en France et aux Etats-Unis, respectivement (Figure 2, Ferket *et al.* 2002; Quideau 2010), en partie au travers des émissions d'ammoniac ( $NH_3$ ), puisque les élevages de volailles générant 25 % des pertes totales de  $NH_3$  (Nahm 2003a).



**Figure 2 - Répartition d'azote (a) et de phosphates (b) contenus dans les déjections animales produites par les élevages français en 2008, en quantités moyennes rapportées aux surfaces agricoles fertilisables (d'après Quideau 2010).**

La pollution par les phosphates (pouvant induire une pollution des sols et une eutrophisation des eaux de surface) proviendrait à 51 % des rejets d'eau domestique (Miquel 2003) via l'usage de triphosphates de sodium (TPPS) comme additifs dans les lessives textiles et les produits pour lave-vaisselle. Les autres usages industriels du phosphore (chimie de synthèse, photographie, lithographie...) constituent des sources ponctuelles moins importantes de contamination des eaux. Si l'agriculture a globalement un rôle plus modeste dans les rejets de phosphore, dans les régions où la production agricole est intensive, l'utilisation d'engrais phosphatés peut néanmoins constituer la principale source artificielle d'enrichissement des eaux en phosphore.

### 1.1.2. Régionalisation

Alors que les ruminants sont la plus grande source de rejets d'azote et de phosphore parmi les animaux d'élevages, les problèmes environnementaux liés à ces deux éléments concernent essentiellement les monogastriques (porcs et volailles) du fait de la forte concentration d'élevages dans certaines régions très ciblées, comme la Bretagne et les Pays-Bas en Europe, ou encore la Caroline du Nord, l'Arkansas, l'Alabama, le Mississippi et la Géorgie aux Etats-Unis (Ferket *et al.* 2002; Meschy *et al.* 2008).

Le développement rapide et l'intensification des productions de céréales et de volailles ainsi que l'augmentation de la spécialisation et de la concentration d'élevages et de cultures dans certaines régions très différenciées a conduit à un fort export de nutriments des zones de productions végétales vers les zones de productions animales (Knowlton *et al.* 2004). En effet, depuis 1995, la majorité des élevages importent l'aliment utilisé pour les animaux (Lanyon & Thompson 1996). Moins d'un tiers des céréales sont consommées dans la ferme où elles ont été produites (Sharpley 1999). Or, on estime que seulement 20 à 40 % du phosphore entrant en tant qu'aliment dans les élevages avicoles ressort en tant que produits animaux (CORPEN 2006a), ce qui est un rendement très médiocre par rapport aux cultures ou à l'élevage bovin (Tableau 2). Pour l'azote, les mêmes tendances sont visibles, avec seulement 30 à 50 % de l'azote entrant sous forme d'aliment qui est retrouvé dans les produits animaux, ce qui est faible comparé à d'autres espèces comme par exemple les bovins allaitants (88.9 %, Jarvis *et al.* 2011). Cette évolution permet également d'avoir des élevages avicoles de grande taille sur des exploitations agricoles de surface réduite, ce qui limite d'autant les surfaces potentielles d'épandage. Cette évolution de l'agriculture a donc induit une accumulation de phosphore dans le sol et l'eau de ces régions d'élevage.

Cette concentration des élevages de monogastriques induit une augmentation de la quantité de rejets à épandre par hectare, alors que la surface moyenne des élevages avicoles est faible par rapport à la moyenne (Monteiro *et al.* 2010). Aux Etats-Unis, l'élevage des bovins en feedlots les met dans une situation similaire aux élevages avicoles, 4 % du parc d'engraissement des bovins aux Etats-Unis produisant 84 % des bovins (Carpenter *et al.* 1998), d'où une grande quantité de rejets épandus sur une petite surface (Knowlton *et al.* 2004). De ce fait, entre 1973 et 1988, la concentration de phosphore de l'eau du lac Okeechobee en Floride a augmentée de



**Tableau 2 - Type d'exploitation et équilibre de phosphore selon les exploitations standards de 1996 (issu de Sharpley (1999) d'après Lanyon & Thompson (1996))**

Phosphore (kg P.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup> )	Type d'exploitation		
	Céréales <sup>1</sup>	Vaches laitières <sup>2</sup>	Volailles <sup>3</sup>
Entrant			
- Fertilisant	22	11	.
- Aliment	.	22	1 540
Sortant	20	15	365
<b>Equilibre</b>	<b>+2</b>	<b>+18</b>	<b>+1 175</b>

<sup>1</sup>Ferme de culture de maïs et de luzerne de 30 ha

<sup>2</sup>Ferme de vaches laitières de 40 ha avec 65 Holsteins produisant en moyenne 6 600 kg de lait.vache<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>, 5 vaches taries et 35 génisses. Les céréales produites sont du maïs (pour l'ensilage et le grain), de la luzerne et du seigle (pour le fourrage)

<sup>3</sup>Ferme de volailles de 15 ha avec 74 000 poules pondeuses. Les sortants incluent 375 kg P.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> en œufs, 22 kg P.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> épandu dans les cultures et 11 kg P.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> exporté dans d'autres exploitations

250 % (Negahban *et al.* 1993), avec l'accroissement du nombre de vaches laitières (+900 animaux par an sur ce secteur, Boggess *et al.* 1997). Ces élevages sont la source de 40 % de la charge de phosphore dans l'eau du lac (Negahban *et al.* 1993).

La conséquence du déséquilibre entre les apports de fertilisants via les rejets et les besoins des cultures induit une forte pollution dans les zones d'élevages intensifs. Cette situation est d'autant plus contradictoire que les sols des régions céréalières réclament une supplémentation en phosphore minéral et en fertilisants chimiques azotés.

### 1.1.3. Aspects réglementaires

A l'heure actuelle, l'impact environnemental de l'épandage des rejets animaux étant de plus en plus connu et pris en compte, de nombreuses réglementations ou directives sont mises en place en Europe et aux Etats-Unis. Aux Etats-Unis, plusieurs Etats présentent des lois limitant l'application de rejets au niveau des besoins des cultures, comme dans le Maryland (Water Quality Improvement Act, 1998) pour tous les élevages, ou en Virginie (Virginia Poultry

**Tableau 3 - Valeurs limites de concentrations des différentes formes d'azote dans l'air et dans l'eau par les réglementations européennes (d'après Oenema *et al.* 2011).**

<b>Effets</b>	<b>Indicateurs</b>	<b>Valeurs limites / seuils</b>	<b>Référence des réglementations</b>
Maladies respiratoires chez l'humain	NO <sub>x</sub>	40 µg.m <sup>-3</sup> (moyenne annuelle)	Directive sur la qualité de l'air ambiant (2008/50/EC)
		200 µg.m <sup>-3</sup> (moyenne par heure)	
		400 µg.m <sup>-3</sup> (seuil sur 3 heures)	
	PM <sub>2,5</sub> <sup>1</sup>	20-25 µg.m <sup>-3</sup> (moyenne sur 3 ans)	Directive sur la qualité de l'air ambiant (2008/50/EC)
PM <sub>10</sub>	40-50 µg.m <sup>-3</sup> (moyenne sur 3 ans)		
O <sub>3</sub>	180-240 µg.m <sup>-3</sup> (moyenne par heure)		
Risques pour les plantes	NO <sub>x</sub>	30 µg.m <sup>-3</sup> (moyenne annuelle)	Directive sur la qualité de l'air ambiant (2008/50/EC)
Effets des nitrates sur l'humain	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	50 mg.l <sup>-1</sup> dans l'eau	Directive sur l'eau potable (98/83/EC)
			Directive Nitrates (91/676/EEC) Directive sur les eaux souterraines (2006/118/EC)
Effets des nitrites sur l'humain	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	0.5 mg.l <sup>-1</sup> dans l'eau potable, ou [NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ]/50 + [NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> ]/3 ≤ 1	Directive sur l'eau potable (98/83/EC)
Effets de l'ammonium sur l'humain	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0,5 mg.l <sup>-1</sup>	Directive sur l'eau potable (98/83/EC)
Eutrophisation des eaux de surface	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	25-50 mg.l <sup>-1</sup>	Directive Nitrates (91/676/EEC)
Contamination des eaux de profondeur	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	50 mg.l <sup>-1</sup>	Directive Nitrates (91/676/EEC)
			Directive sur les eaux souterraines (2006/118/EC)

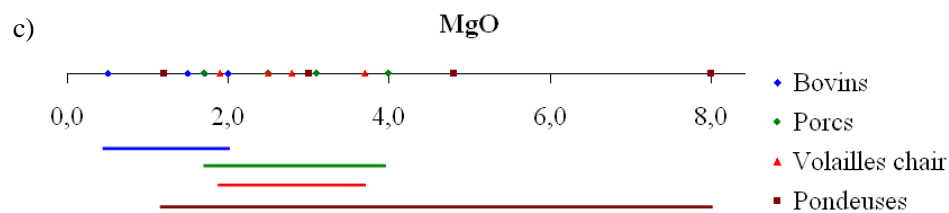
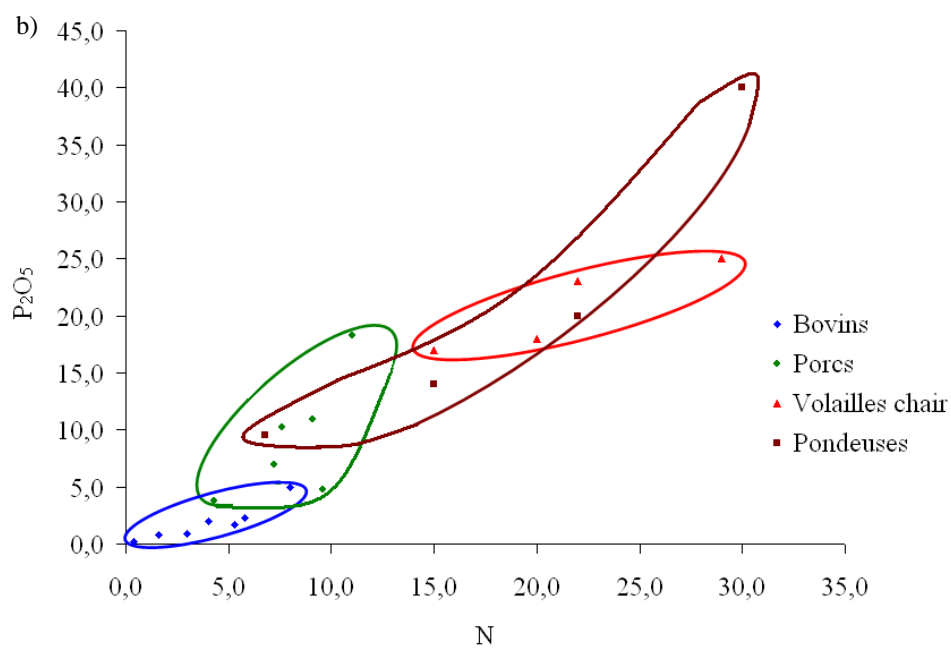
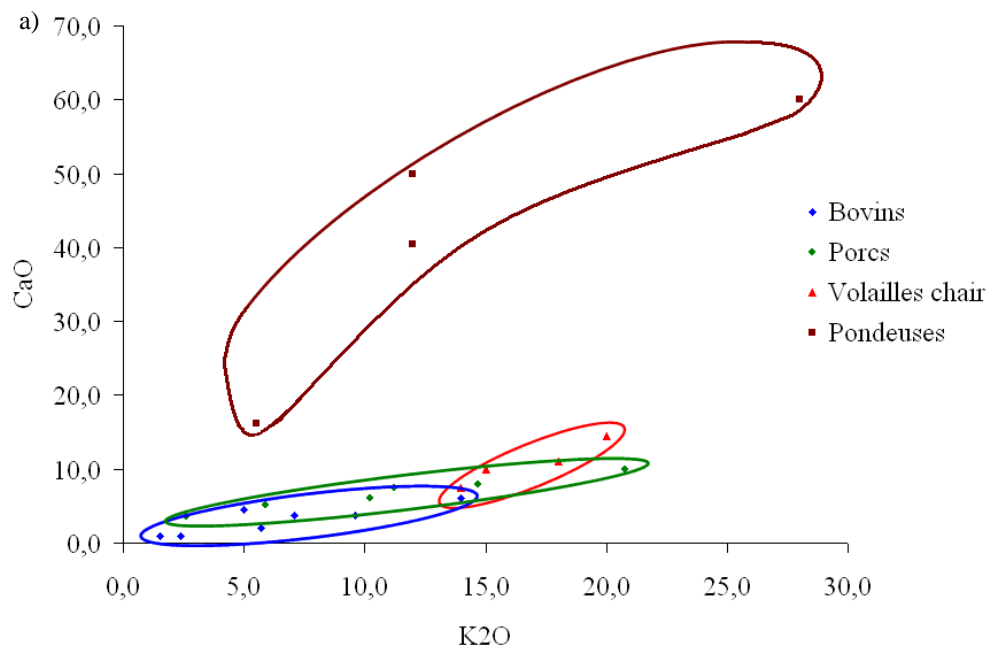
<sup>1</sup>PM<sub>2,5</sub> et PM<sub>10</sub> correspondent aux particules en suspension dans l'air ayant des diamètres inférieures à 2.5 et 10 µm, respectivement.

Waste Management Program, 1999) pour les élevages avicoles. En Europe, des seuils limites ont été déterminés pour les différentes formes d'azote retrouvées dans l'environnement, en fonction de leurs impacts potentiels (Tableau 3). La directive Nitrate (91/676/CEE), mise en place depuis 1991, constitue le principal instrument réglementaire pour réduire la pollution azotée provenant des sources agricoles. En effet, cette directive limite les apports azotés sur les terres agricoles à  $170 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$  d'azote par an. L'objectif principal de cette directive est de limiter la contamination des eaux des nappes phréatiques par les nitrates dont la concentration ne devrait pas être supérieure à  $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  (Sonneveld & Bouma 2003). Ces mesures ont permis de réduire sensiblement les teneurs en nitrates dans les cours d'eau bretons, passant de près de  $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  en 1999 à  $36 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  en 2009 (Ministère de l'agriculture 2011a). Cependant, le relèvement du seuil d'épandage d'azote actuellement en cours de discussion pourrait conduire à inverser cette tendance.

Les Pays-Bas et la Belgique ont élargi leurs réglementations aux rejets de phosphore (Flaten *et al.* 2003). La Directive n°98/15/EC du 27 Février 1998 de la Commission Européenne limite selon l'importance des rejets la teneur en P dans les eaux rejetées dans les zones sensibles à l'eutrophisation à 1 ou  $2 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . L'interdiction des phosphates dans les détergents pourrait permettre de réduire de plus de 40 % les rejets de phosphore dans les écosystèmes aquatiques (Union Européenne 2002). En France, la situation est en train de se durcir. En effet, la plupart des départements français calent désormais les plans d'épandage sur une norme phosphore ( $100 \text{ kg P}_2\text{O}_5\cdot\text{ha}^{-1}$ ), à l'image de ce qui se fait déjà depuis plusieurs années en Vendée. De plus, les préfets de Bretagne ont mis en place des réglementations encore plus strictes, limitant l'apport de phosphates par épandage sur les terres agricoles à 80 ou  $85 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{an}^{-1}$  selon les zones pour les petites exploitations, et imposant un équilibre entre les apports par fertilisation et les exports pour les exploitations de grande taille produisant plus de 25 000 kg d'azote par an.

Enfin, aux Etats-Unis, l'Etat du Maryland a aussi instauré une loi sur la gestion des nutriments (Nutrients Management Practices Act, 1998) imposant l'utilisation des phytases dans les aliments des monogastriques pour diminuer l'incorporation de phosphore minéral.

Les rejets d'élevages peuvent se trouver sous différentes formes, selon l'espèce et le type de rejets et montrent également de fortes variations de compositions. Ces figures (Figure 3) mettent en évidence la forte concentration en azote, phosphate ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ), potasse ( $\text{K}_2\text{O}$ ) et d'oxyde de calcium ( $\text{CaO}$ ) des rejets avicoles par rapport à ceux des porcins ou des bovins, la différence étant particulièrement marquée pour les poules pondeuses. On constate également une forte hétérogénéité de la composition des rejets intra-espèce. Pour la magnésie ( $\text{MgO}$ ), les



**Figure 3 - Composition des engrais des fermes en éléments fertilisants, a) CaO et K<sub>2</sub>O, b) N et P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, c) MgO (d'après le CORPEN 2006b).**

différences entre espèces sont moins marquées entre productions avicoles et bovins ou porcins, même si les poules pondeuses présentent là encore une forte hétérogénéité selon la forme de rejets.

A composition chimique identique, l'impact environnemental diffère selon la forme des rejets. En effet, la forme liquide a tendance à favoriser la volatilisation de l'azote ou les pertes par ruissellement et lessivage après l'épandage des rejets sur les terres agricoles. Les poulets de chair sont élevés sur une litière dont la composition est variable, impliquant une activité de gestion de fumiers. Dans la plupart des cas, les déjections de poulets sont émises dans les bâtiments d'élevages. Cependant, dans les élevages où les animaux ont accès à un parcours, les déjections émises sur ces parcours peuvent représenter entre 20 et 80 % de la totalité des déjections (CORPEN 2006b).

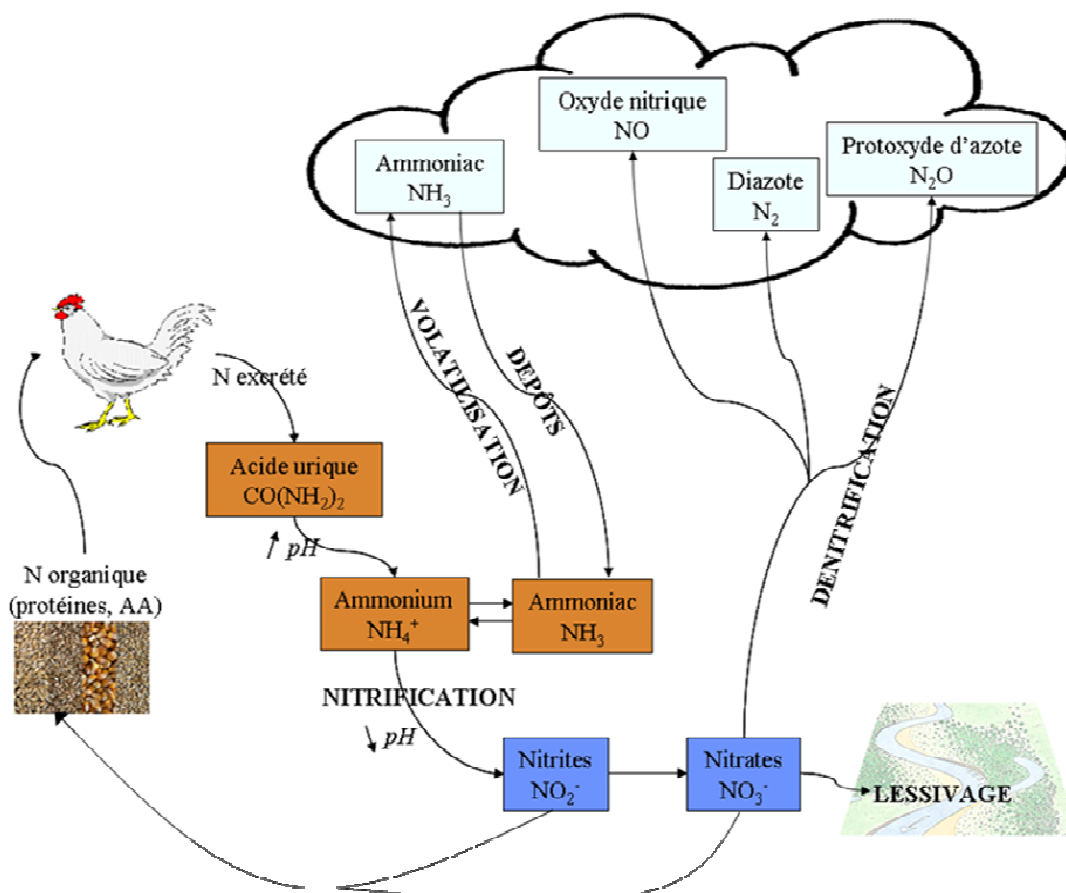
En poules pondeuses, l'élevage en cages est toujours prépondérant, avec une production de lisier (moins de 20 % de matière sèche) ou de fientes plus ou moins sèches (de 35 à 85 % de matière sèche). Dans ces élevages, des systèmes de séchage des fientes ont été mis en place, permettant de réduire les pertes d'azote sous forme d'ammoniac et de faciliter son transport lorsqu'elles sont exportées à l'extérieur de l'élevage. Dans près de 20 % des cas, les élevages de poules pondeuses se font au sol, avec parfois accès à un parcours. Dans ces conditions, les déjections dans le bâtiment sont retrouvés sous deux formes : des fientes pures et du fumier (CORPEN 2006b).

En élevage porcin, les animaux sont principalement élevés sur caillebotis lors de l'engraissement (91 %) et la gestation ou maternité (80 %). Ce mode d'élevage induit la formation de rejets sous forme de lisier (75 % des déjections porcines, CORPEN 2006b). Ce lisier est à 90 % stocké pendant plusieurs mois dans des fosses non couvertes. Cependant, l'élevage des porcs sur litière augmente à l'heure actuelle, induisant des rejets sous forme de fumiers, qui pourront être compostés.

Enfin, pour les élevages bovins, les déjections sous forme de lisier sont relativement rares (6 % des rejets de bovins viande et 20 % des rejets des vaches laitières), laissant une grande part des déjections bovines sous la forme de fumiers, souvent émises directement dans les champs.

## 1.2. Cycle de l'azote

Le cycle de l'azote (Figure 4) fait intervenir trois grands réservoirs (Portejoie 2002) : l'azote organique (azote lié à des atomes de carbone pour former des molécules complexes tels que les acides aminés ou encore plus largement, les protéines...), l'azote minéral (tel que l'ammonium  $\text{NH}_4^+$  ou le nitrate  $\text{NO}_3^-$ ), et les composés gazeux (le diazote  $\text{N}_2$ , l'ammoniac gazeux  $\text{NH}_3$ , le protoxyde d'azote  $\text{N}_2\text{O}$  ou l'oxyde nitrique  $\text{NO}$ ).



**Figure 4 - Le cycle de l'azote (en marron : au niveau des sols ; en bleu foncé : au niveau de l'eau ; en bleu clair : au niveau de l'air).**

L'azote émis dans l'environnement via les déjections se présente sous forme d'urée (chez les porcs et bovins) ou d'acide urique (chez les volailles) transformé par hydrolyse en molécules d'ammoniac  $\text{NH}_3$  ou d'ammonium  $\text{NH}_4^+$  dans le sol ou l'air :

- La nitrification puis la nitration transforment les produits de fixation (ammonium  $\text{NH}_4^+$ ) en nitrites  $\text{NO}_2^-$  puis en nitrates  $\text{NO}_3^-$ . Ces processus correspondent à des

réactions d'oxydation se faisant par catalyse enzymatique reliée à des microorganismes aérobies du sol et de l'eau.

- La dénitrification intervient à la suite de la nitrification et correspond à la transformation des nitrates en azote gazeux ( $N_2$ ). Cette transformation produit en outre du  $CO_2$ , de l'oxyde d'azote (NO) et du protoxyde d'azote  $N_2O$  (gaz à effet de serre). Il s'agit d'une réaction de réduction de  $NO_3^-$  grâce à des microorganismes anaérobies du sol transformant la matière organique. Ce processus de dénitrification se réalise principalement avec des teneurs élevées en eau dans les sols, ce qui réduit la teneur en dioxygène dans le sol et augmente ainsi l'activité des bactéries dénitrifiantes anaérobies.

Plusieurs caractéristiques physico-chimiques des sols et des rejets animaux peuvent influencer les teneurs en éléments azotés dans l'environnement. Le taux d'oxygène dans les rejets influence l'évolution de l'azote sous l'action des bactéries, puisque celles favorisant la nitrification sont aérobies alors que celles favorisant la dénitrification sont anaérobies. Il semble donc que remuer fréquemment les fumiers au cours du compostage permettrait d'augmenter les concentrations d'oxygène et par conséquent, de réduire les processus de dénitrification induisant les pertes gazeuses d'azote. Le pH est le principal facteur régulant l'équilibre entre  $NH_4^+$  et  $NH_3$  gazeux dans les rejets, le ratio  $NH_3 : NH_4^+$  augmentant avec le pH des litières (DeLaune *et al.* 2004; Namroud *et al.* 2010). En effet, la dégradation de l'acide urique et des protéines indigestibles est augmentée avec des pH supérieurs à 5.5, avec un optimum à un pH de 9 pour l'uricase (Vogels & van der Drift 1976). Au-delà du pH de 8, la transformation de  $NH_4^+$  en  $NH_3$  devient très importante, ce qui augmente la volatilisation d'azote sous forme d'ammoniac. Or en moyenne, les litières de volailles ont un pH compris entre 8.3 et 8.8 (Tiquia & Tam 2000; Kelleher *et al.* 2002). Cependant, l'augmentation du pH des sols est plutôt favorable à l'augmentation de l'efficacité des engrais, celui-ci favorisant l'assimilation par les plantes.

La dégradation de l'acide urique et des protéines indigestibles est également augmentée par une température élevée (Elliott & Collins 1982), la plus forte décomposition étant observée entre 20 et 30°C dans les bâtiments d'élevages. Ainsi, une augmentation de 1°C de la température du bâtiment d'élevage induit une augmentation de 10.2 % des émissions de  $NH_3$  (Calvet *et al.* 2011). Enfin, le taux d'humidité influence fortement le développement microbien dans les litières, et donc les dégagements de  $NH_3$  (Valentine 1964; Liu *et al.* 2007). Le développement maximal est observé pour des taux d'humidité de 40 à 60 % (Elliott & Collins 1983). Lorsque le taux d'humidité est plus faible, la quantité de  $NH_3$  libérée est aussi

réduite, voire stoppée lorsque ce taux est très faible. A l'opposé, si l'on ajoute de l'eau à la litière, la quantité d'ammoniac émise augmente (Liu *et al.* 2007; Miles *et al.* 2011).

### 1.3. Cycle du phosphore

Le phosphore présent dans l'aliment pour monogastriques provient essentiellement des matières premières végétales (phosphore organique) et des ajouts minéraux (phosphore inorganique, sous forme d'ions phosphates). Une partie du phosphore consommé par les animaux retourne aux sols par épandage à partir des rejets (Figure 5). Une fois épandu, le phosphore organique excrété subit avec la matière organique du sol des processus de sédimentation grâce à l'action combinée des organismes saprophytes et des microorganismes décomposeurs. Ces processus permettent la transformation du phosphore organique en phosphate minéral ( $P_2O_5$ ) qui est fortement perdu par ruissellement et lessivage dans les eaux. Par conséquent, l'excédent d'engrais phosphatés dans les sols par l'agriculture contribue à la pollution des eaux souterraines et à l'eutrophisation des eaux de surface (Sharpley 1999). Alors que les sources naturelles de phosphore inorganiques s'épuisent, il existe une accumulation de phosphore au fond des océans sous forme sédimentaire qui n'est pas récupérable.

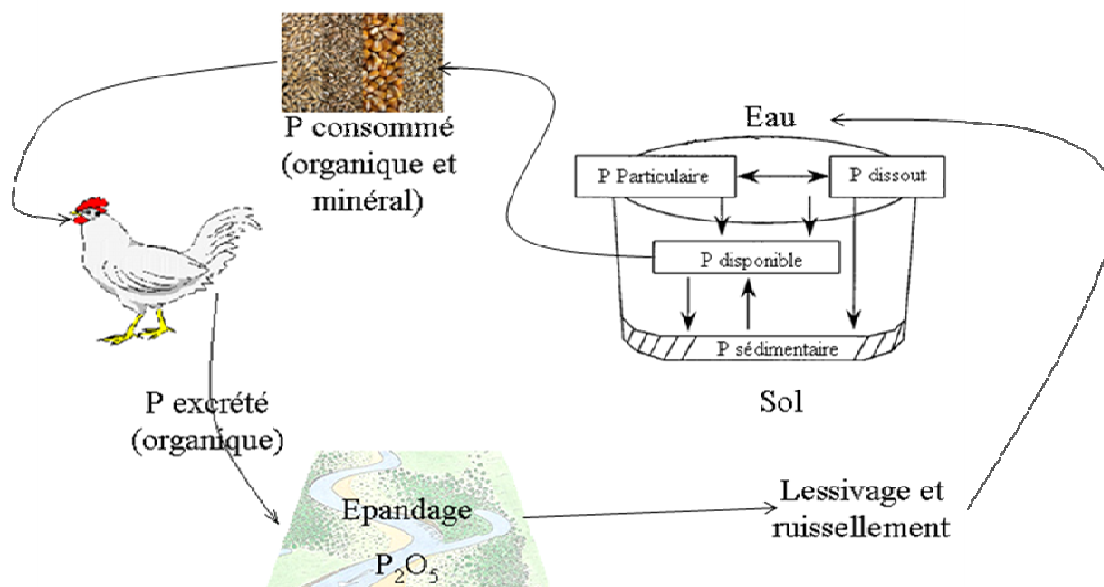


Figure 5 - Le cycle du phosphore.

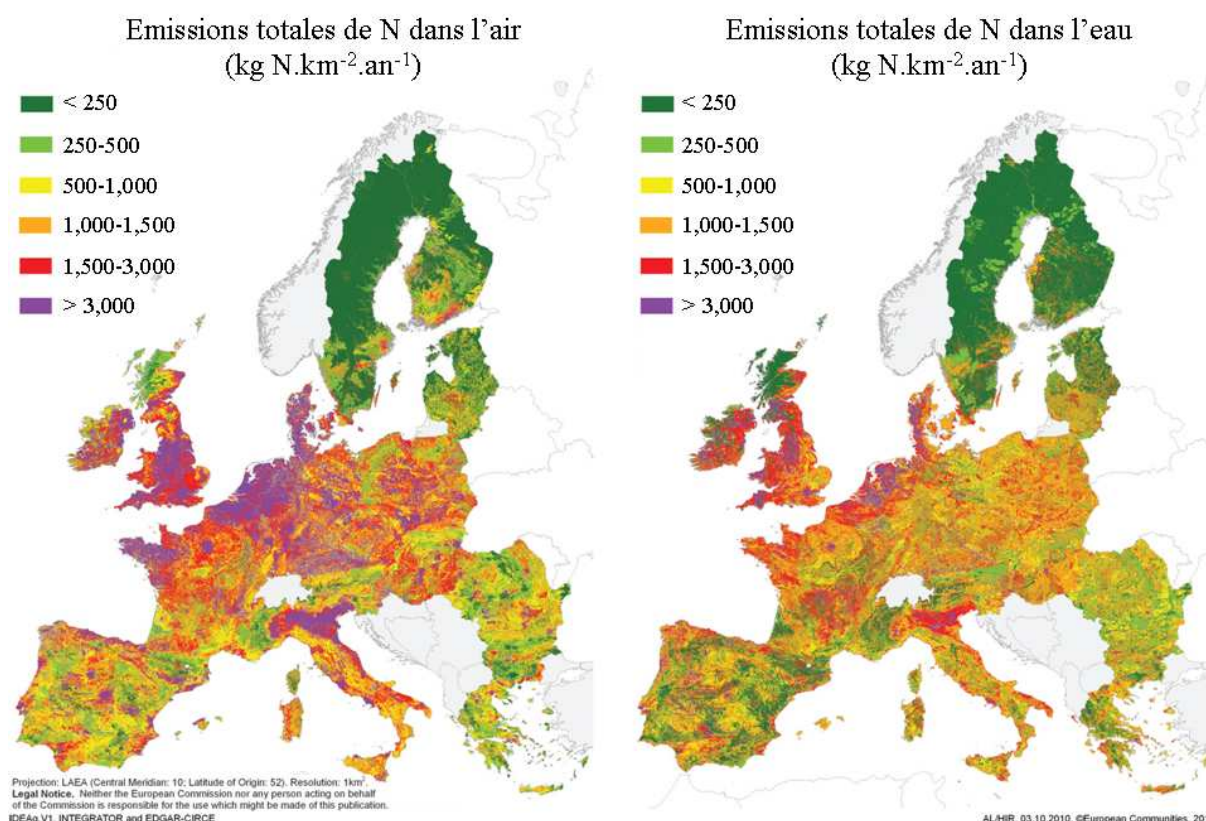


De même que pour l'azote, les paramètres physico-chimiques des rejets influencent l'évolution du phosphore. Ainsi, l'humidité des litières augmente l'activité microbienne, d'où une réduction de la teneur en carbone dans les litières du fait de l'utilisation du dioxyde de carbone par les microorganismes (McGrath *et al.* 2005). Ceci conduit à dégrader le phosphore contenu dans les litières en une forme soluble dans l'eau, qui sera perdu par ruissellement directement après épandage sur les terres agricoles (McGrath *et al.* 2005; Maguire *et al.* 2006).

## 1.4. Impacts des rejets

### 1.4.1. Impacts sur l'environnement

L'application des rejets de volailles sur les sols est une excellente source de nutriments pour le développement des plantes et de la matière organique et permet d'améliorer la structure des sols (Mukhtar *et al.* 2004). De plus, puisque les rejets avicoles présentent des taux d'humidité relativement faibles comparé aux rejets des autres espèces d'élevage, ils représentent l'un des meilleurs fertilisants pour les terres agricoles (Moore Jr. *et al.* 1995). Cependant, la spécialisation des régions vers l'élevage ou les cultures font que les lieux d'épandage ne sont pas les mêmes que ceux où le besoin des plantes nécessite un apport de fertilisant. On constate donc fréquemment un apport excessif de fertilisant dans les zones d'élevages intensifs. La Figure 6 montre ainsi la concordance des grandes régions d'élevages intensifs comme les Pays-Bas ou la Bretagne avec les régions concernées par les forts rejets d'azote dans l'air ou l'eau. Au-delà des conséquences pour l'environnement, les rejets peuvent avoir des répercussions économiques fortes. En effet, dans certains pays comme le Canada ou les Pays-Bas, les éleveurs sont pénalisés financièrement si leur production de rejets est trop forte par rapport aux réglementations. De plus, le phosphore minéral étant une ressource non renouvelable, les réserves s'épuisent, augmentant ainsi son prix. Une trop forte concentration de  $\text{NH}_3$  limite aussi la croissance des animaux. On peut ainsi estimer que contrôler les concentrations de  $\text{NH}_3$  atmosphérique dans 10 % des élevages de poulets de chair pourrait augmenter le poids vif des animaux de 45 g, ce qui représente un profit supplémentaire de 0.21 € par animal (soit 4200 € pour un lot de 20 000 poulets, Miles *et al.* 2004).



**Figure 6 - Distribution des émissions d'azote en Europe (en kg N.km<sup>-2</sup>.an<sup>-1</sup>, données de 2000) incluant les émissions dans l'air de NO<sub>x</sub> (NO, NO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub>), NH<sub>3</sub> et N<sub>2</sub>O et les pertes totales dans les systèmes aquatiques, incluant les nitrates et les autres formes d'azote (d'après Sutton *et al.* 2011).**

#### 1.4.1.1. Au niveau de l'air

Au niveau de l'air, les principaux facteurs d'impact environnemental sont les poussières, les odeurs et les rejets d'azote sous forme d'ammoniac (NH<sub>3</sub>, Portejoie 2002; Hjorth *et al.* 2009) à partir de l'acide urique, de l'urée et des protéines indigestibles (Nahm 2003b). Ce processus se fait dans des conditions aérobies et anaérobies et dépend de nombreuses caractéristiques, tels que le pH, l'humidité ou encore la température (Elliott & Collins 1982, 1983).

Les pertes d'azote sous forme d'ammoniac gazeux correspondent à 32-60 % de l'azote excrété chez les volailles (CORPEN 2006b). Ces pertes par volatilisation ont lieu dans les bâtiments d'élevage (pendant la production), mais aussi pendant le stockage des rejets et lors de l'épandage. Le Tableau 4 indique les proportions de pertes de NH<sub>3</sub> gazeux dans les élevages avicoles selon les différents états des rejets et selon les types d'élevages.

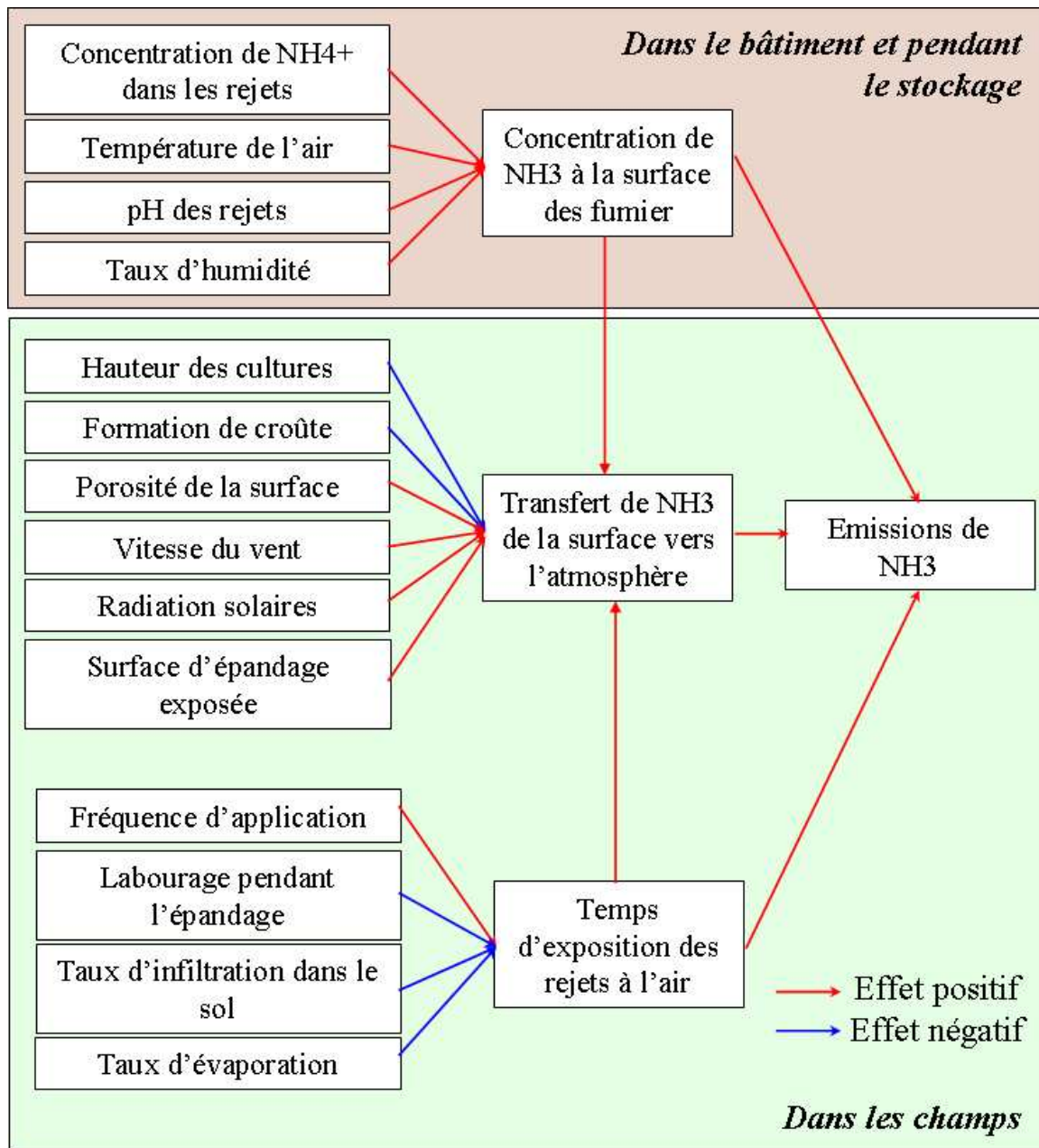
**Tableau 4 - Pertes de NH<sub>3</sub> au bâtiment, stockage et épandage des élevages avicoles (CORPEN 2006b).**

		Dans les bâtiments (% du N excrété)	Lors du stockage (% du N sorti du bâtiment)	Lors de l'épandage (% du N épandu)	Azote utilisable (% du N excrété)
	Claustration	30 %	15 %	10 %	54 %
Fumier	Avec parcours (60 % sur les parcours)	40 %	15 %	10 %	46 %
	Volailles de chair Canards et oies PAG <sup>1</sup>	50 %	15 %	10 %	38 %
	Reproducteurs	55 %	15 %	10 %	34 %
Lisier		50 %	20 %	20 %	32 %
Fientes	Préséchage + stockage sous hangar	30%	30 %	10 %	44 %
	Séchage	25 %	25 %	10 %	51 %
	Fosse profonde	60 %	15 %	10 %	29 %

<sup>1</sup>PAG, Prêt à gaver

Ces émissions gazeuses sont considérées comme une nuisance olfactive pour la population (Hjorth *et al.* 2009). Elles peuvent également réduire les performances des animaux par une augmentation des risques de maladies respiratoires comme la maladie de Newcastle (Moore Jr. *et al.* 1995).

Le passage de l'ammoniac de la phase solide à la phase liquide se produit essentiellement en fonction des conditions physico-chimiques des rejets, alors que le transfert du NH<sub>3</sub> de la phase liquide à l'atmosphère est principalement conditionné par les conditions météorologiques locales lors de l'épandage des rejets dans les champs (Figure 7, Sommer & Hutchings 2001).



**Figure 7 - Facteurs affectant la volatilisation d'ammoniac à partir des rejets épandus sur les terres agricoles (les + et - correspondent aux effets positifs et négatifs sur les émissions de  $\text{NH}_3$ , respectivement, d'après Sommer & Hutchings 2001).**

Le  $\text{NH}_3$  a une durée de vie relativement courte allant de 30 min à 5 jours (Fowler *et al.* 1997). Une fois dans l'atmosphère, une partie du  $\text{NH}_3$  est déposée au sol ou sur la végétation par des épisodes de pluies. Le reste est converti en  $\text{NH}_4^+$ , qui a une durée de vie de 5 à 10 jours (Crutzen 1983). La conversion du  $\text{NH}_3$  en  $\text{NH}_4^+$  dépend de la concentration d'acides et de vapeur d'eau dans l'atmosphère. En effet, le  $\text{NH}_3$  atmosphérique est un alcalin responsable de la neutralisation d'une grande partie des acides de l'atmosphère (Asman *et al.* 1982). Le  $\text{NH}_3$  réagit avec des acides (sulfurique, nitrique, et hydrochlorique) pour former des sulfates, bisulfates, nitrate et chlorure d'ammonium (INDTE 1994), ce qui peut provoquer des pluies acides (Renard *et al.* 2004; Mellef *et al.* 2010) dans des régions pouvant être éloignées des sites de volatilisation de l'ammoniac.

Enfin, la connaissance des niveaux d'émissions de  $\text{NH}_3$  à partir des rejets d'élevages est essentielle pour connaître les taux d'azote à épandre en fonction des besoins des cultures (Sommer & Hutchings 2001). Les pertes gazeuses d'azote sous forme de  $\text{NH}_3$  diminuent la teneur en azote disponible pour les plantes, mais à l'opposé, les retombées incontrôlées de  $\text{NH}_3$  apportent un supplément d'azote au sol dans les régions d'élevage (réduit par rapport aux pertes d'azote par volatilisation), contribuant à l'eutrophisation des milieux sensibles et à l'acidification des sols.

Le protoxyde d'azote ( $\text{N}_2\text{O}$ ), perdu sous forme gazeuse par les processus de dénitrification après épandage contribue quant à lui à l'enrichissement de l'atmosphère en gaz à effet de serre, présentant un rôle significatif dans les réactions photochimiques de l'atmosphère et par conséquent, contribuant à la destruction de la couche d'ozone stratosphérique (Schulte 1997; Chapuis-Lardy *et al.* 2007). En effet, le  $\text{N}_2\text{O}$  présente un pouvoir de réchauffement climatique global sur 100 ans 310 fois plus élevé qu'une quantité équivalente de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ). L'agriculture est la principale cause des émissions de  $\text{N}_2\text{O}$ , estimée à 63.2 % en 1990 et à 73.8 % en 1999 (ADEME 2011).

#### 1.4.1.2. Au niveau du sol

Plus de 90 % des rejets de volailles (litière et excréta) sont épandus dans les champs comme fertilisants (Moore Jr. *et al.* 1995). Les quantités d'azote et de phosphore épandus sur les terres agricoles à partir des rejets sont dans la plupart des cas en excès par rapport aux besoins des plantes (Maguire *et al.* 2005). L'azote et le phosphore en excès rejoignent l'écosystème

aquatique sous forme dissoute dans l'eau du sol (par ruissellement et lessivage) ou fixé sur des particules du sol (sous forme de nitrates  $\text{NO}_3^-$  et de phosphates  $\text{PO}_4$ , Commissariat général au développement durable 2009). Avec l'augmentation de l'application de phosphore sur les terres agricoles, les sols deviennent saturés en phosphore. On ne peut donner une valeur unique de concentration en phosphore à partir de laquelle on considère que le sol est saturé, celle-ci étant trop variable en fonction du type de sol et des conditions environnementales. En revanche, le ratio du taux de phosphore sur le taux d'aluminium peut être utilisé comme indicateur de la saturation en phosphore, la valeur critique à ne pas dépasser se situant autour de 13.1 % (Giroux & Royer 2007). Si le sol est saturé en phosphore, le ruissellement peut avoir lieu indépendamment de l'érosion (Knowlton *et al.* 2004). La concentration totale de phosphore est en moyenne de  $25 \text{ g.kg}^{-1}$  dans les fientes et de  $20 \text{ g.kg}^{-1}$  dans les litières de poulets (Barnett 1994). Cette concentration dans les rejets est largement plus élevée que dans les sols, où l'on trouve des concentrations allant de  $0.5$  à  $2.4 \text{ g}$  de  $\text{P.kg}^{-1}$  en surface (0 à 5 cm de profondeur, (Sharpley 1996). En considérant un sol moyen (de densité comprise entre  $1.36 \text{ g.cm}^{-3}$  pour un loam limoneux et  $1.43 \text{ g.cm}^{-3}$  pour un loam sablonneux, (da Silva *et al.* 1994), on peut considérer que les sols contiennent entre  $340$  et  $1\ 716 \text{ kg.ha}^{-1}$  de phosphore (en utilisant les concentrations de phosphore dans les sols estimés par Sharpley 1996). Ainsi, selon le type de sol, il apparaît que l'apport annuel de  $80 \text{ kg.ha}^{-1}$  de phosphates (soit  $183.2 \text{ kg}$  de phosphore) peut dans certains cas augmenter de façon très conséquente les teneurs en phosphore du sol. Cette augmentation des niveaux de phosphore dans les sols est accrue par le fait que lorsque tout épandage est stoppé, la disparition du phosphore est beaucoup plus lente que son augmentation au moment de l'épandage. Afin d'épandre les rejets de façon raisonnée par rapport à l'environnement, il est donc nécessaire de connaître le délai d'attente pour atteindre un niveau de phosphore suffisamment bas pour permettre un nouvel épandage. McCollum (1991) a par exemple estimé que pour réduire les teneurs de phosphore bio-disponibles dans le sol de  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$  à  $20 \text{ mg.kg}^{-1}$  (mesuré par la méthode de Mehlich, Mehlich 1953), il fallait cultiver du maïs et du soja pendant 16 à 18 ans sans nouvel apport de phosphore par épandage des rejets. La présence d'une quantité de phosphates dans le sol supérieure aux besoins des plantes tend aussi à augmenter la part de phosphore retenue par ces plantes sous forme phytique (Saastamoinen 1987; Tran & Skiba 2005), forme très peu utilisée par les animaux monogastriques. Saastamoinen (1987) a ainsi estimé que 67 % des variations de teneurs en acide phytique de l'avoine pouvait être expliquées par la fertilisation en azote et phosphore. De même, sur 56 lots de blé, Barrier-Guillot *et al* (1996) ont montré

que l'apport de 120 et 210 kg.P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>.ha<sup>-1</sup> augmentait les teneurs en phosphore phytique de 22.7 et de 55.6 % par rapport à ceux ne recevant pas de fertilisant.

Le principal impact de l'azote sur les sols n'est pas direct dans le sens où la plupart des molécules d'azote sont perdues soit par volatilisation dans l'air, soit par ruissellement et lessivage dans les eaux, mais indirect, via les retombées d'ammoniac gazeux et les processus de nitrification. En effet, au cours de ces processus, une grande quantité de protons va être libérée, induisant une acidification des sols (Velthof *et al.* 2011). Cela peut conduire à une réduction de la disponibilité des nutriments tels que le phosphore, le calcium ou encore le magnésium pour les plantes, mais aussi à une libération de composés toxiques comme l'aluminium ou le manganèse. De plus, l'acidification des sols augmente la production de N<sub>2</sub>O durant les processus de dénitrification (Velthof *et al.* 2011).

L'équilibre entre la quantité d'azote et de phosphates (N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) est également à considérer. Dans la pratique, le ratio N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> des litières de volailles est généralement d'environ 2 pour 1 (voire moins, Tableau 5, Eck & Stewart 1995; Nahm 2003a), alors que les cultures végétales présentent des besoins estimés entre 7 et 11 pour 1 (White & Collins 1982; Smith *et al.* 1998). Les rejets sont donc proportionnellement trop riches en phosphates. De plus, afin de respecter ces normes d'épandage définies par la directive nitrate (91/676/CEE), des mesures de résorption de l'azote ont été mises en place, ce qui accentue le déséquilibre du ratio N : P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, qui est, si les normes d'épandage d'azote et de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sont respectées, de 1.7 à 2.13 selon la zone prise en compte, et donc largement inférieur aux besoins des plantes.

**Tableau 5 - Teneur moyenne en azote et phosphore dans les rejets de différentes espèces animales d'élevage collectées par des producteurs de l'Arkansas (d'après Daniel *et al.* 1998, issu de Ferket *et al.* 2002).**

	Azote (N)	Phosphate (P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	Phosphore (P)	N : P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>
Litière de volailles (kg.tonne <sup>-1</sup> )	25.4	24.5	10.7	1.04
Fumier de bovins (g.l <sup>-1</sup> )	0.72	0.48	0.21	1.50
Fumier de porcs (g.l <sup>-1</sup> )	1.68	1.56	0.68	1.08

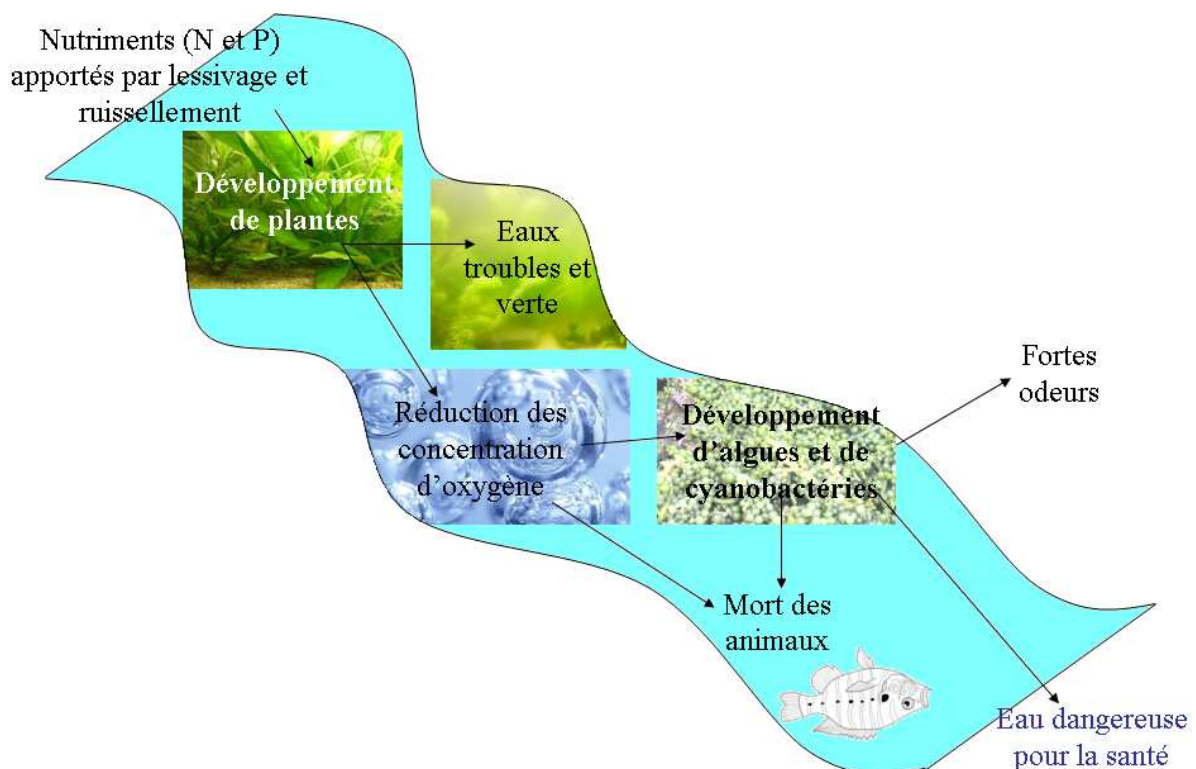
De plus, via l'épandage des rejets, le risque d'accumuler des concentrations de zinc et de cuivre dans les sols, très toxiques pour de nombreuses plantes et animaux d'élevage, devient très élevé comparé à des sols non fertilisés (Ferket *et al.* 2002; Dourmad & Jondreville 2007). En effet, un excès de zinc dans les sols pourrait induire des phénomènes de toxicité pour la microflore du sol et pour les plantes, ce qui réduirait les rendements. Dans ce sens, McGrath

*et al.* (1995) ont pu montrer qu'une teneur en zinc de 100 à 200 mg.kg<sup>-1</sup> MS dans le sol pouvait affecter significativement et négativement la masse et l'activité microbienne.

#### 1.4.1.3. Au niveau de l'eau

L'eutrophisation des lacs et des cours d'eau est le principal problème concernant la qualité des eaux de surface (Figure 8). Elle peut engendrer une dégradation de la qualité de l'eau et limiter, voire empêcher, son utilisation pour l'agriculture, la consommation et l'industrie.

En Europe comme aux Etats-Unis, l'eutrophisation des eaux (avec l'agriculture comme source de nutriments) a été identifiée comme un problème très récurrent, 50 à 60 % des lacs et des rivières étant touchés (UNEP 1994; USEPA 1996; Parry 1998). En France, 43 % des exploitations sont classées en zones vulnérables (teneurs en nitrates dans les eaux approchant ou dépassant la norme de 50 mg.l<sup>-1</sup> et/ou ayant tendance à l'eutrophisation (Ministère de l'agriculture 2011b).



**Figure 8 - Schéma de l'impact de la pollution par l'azote et le phosphore au niveau de l'eau.**



Les deux principaux nutriments provoquant une eutrophisation des eaux sont l'azote (Ferket *et al.* 2002) et le phosphore (Sharpley *et al.* 1994), par lessivage et ruissellement des eaux de surface sur les terres agricoles (Kingery *et al.* 1994). Des concentrations de phosphore inorganique et de phosphore total dans les eaux de surface entre 0.01 et 0.02 mg.l<sup>-1</sup> (Sawyer 1947) et des concentrations d'azote totales supérieures à 1 mg.l<sup>-1</sup> (Camargo & Alonso 2006; Wang *et al.* 2008) sont considérées comme des valeurs critiques au-delà desquelles l'eutrophisation est accélérée. Le plus visible des effets de cette pollution est peut-être la prolifération des algues (telles que l'ulve, plus connue comme algue verte) plutôt que des animaux (Ferket *et al.* 2002; Nahm 2007; Mellef *et al.* 2010), ce qui peut induire une eau trouble et verte (Beveridge & Pickering 1984). Comme les plantes meurent de façon surabondante, les bactéries décomposantes prolifèrent et consomment l'oxygène dissout de l'eau, le principal résultat peut être le développement de cyanobactéries (Kotak *et al.* 1993) et la réduction de la teneur en oxygène de l'eau pouvant aller jusqu'à la mort des poissons (Biehl *et al.* 1995; Carpenter *et al.* 1998). La décomposition des algues vertes comme les cyanobactéries sont sources de fortes odeurs et de dégagements d'hydrogène sulfuré. De plus, les composés libérés lorsque les algues et les cyanobactéries meurent ou sont ingérées sont très toxiques pour le système nerveux et le foie. Ceci peut provoquer la mort des animaux, et par conséquent une réduction de la biodiversité et peut poser de nombreux risques pour la santé humaine (Sharpley 1999). Enfin, l'eutrophisation peut aussi conduire au développement de dinoflagellés, *Pfiesteria piscicida* qui libèrent des toxines causant des pertes de mémoire temporaires et une immunosuppression (Burkholder & Glasgow 1997).

#### 1.4.2. Impacts sur la santé

Les émissions gazeuses d'azote sont reconnues pour entraîner des problèmes en santé humaine (Kim *et al.* 2006). En effet, les forts niveaux de NO<sub>3</sub> dans l'atmosphère peuvent causer des syndromes de bébés bleus, des cancers, et des maladies respiratoires chez l'homme (Kim *et al.* 2006). Des niveaux de 50 mg de NO<sub>3</sub>.l<sup>-1</sup> d'eau sont potentiellement dangereux pour les nourrissons et les enfants (Rotz 2004). En élevage, les éleveurs sont donc directement exposés. En effet, la mauvaise qualité de l'air (odeurs piquantes, atmosphère chargée de gaz, poussière, bactéries et endotoxines) des bâtiments d'élevage a un fort impact sur la santé des agriculteurs (Wiegand *et al.* 1994). Des études épidémiologiques ont d'ailleurs mis en

évidence des corrélations entre le taux de contamination de l'air et la fréquence des pneumopathies (Portejoie 2002). De plus, des maladies telles que les bronchites chroniques, l'asthme, les fibroses pulmonaires ou encore les affections des voies respiratoires constituent la majorité des maladies respiratoires professionnelles des éleveurs (NRC 1979; McCubbin *et al.* 2002; Portejoie 2002).

De plus, les forts niveaux de  $\text{NO}_3$  dans l'air ont aussi des forts impacts sur les animaux. En effet, il a été montré que des taux élevés de  $\text{NO}_3$  pouvaient provoquer des avortements chez les animaux d'élevage (Sommer & Hutchings 2001; Kelleher *et al.* 2002).

Enfin, le  $\text{NH}_3$  provoque des effets sur la réponse immunitaire des poulets qui pourraient s'expliquer par une réduction des immunoglobulines lorsque la concentration en  $\text{NH}_3$  dans l'air est forte (Wang *et al.* 2010). De plus, dans les bâtiments d'élevage des poulets de chair, de forts niveaux d'ammoniac peuvent réduire des performances de poulets (Charles & Payne 1966; Reece *et al.* 1981) et augmenter la susceptibilité aux maladies et la mortalité (Elliott & Collins 1982; Kristensen & Wathes 2000). A 4 semaines d'âge, les animaux élevés dans une atmosphère contenant 50 ou 75 ppm d'ammoniac montrent une réduction de 17 à 21 % des performances de croissance comparé à ceux élevés dans une atmosphère sans ammoniac (Miles *et al.* 2004).

De plus, de fortes teneurs en  $\text{NH}_3$  dans les litières induiraient un développement de pododermatites chez les volailles (Nagaraj *et al.* 2007). L'efficacité de décomposition de l'acide urique en  $\text{NH}_3$  est en effet directement liée au taux d'humidité des litières (Meluzzi & Sirri 2009), qui a un rôle prépondérant dans le développement des pododermatites (Youssef *et al.* 2011). Cependant, ces derniers auteurs, bien que montrant un lien entre humidité des fientes et développement de pododermatites, ne trouvent pas de relation directe entre ce développement de lésions au niveau des pattes et la teneur en  $\text{NH}_3$  des litières.

## 1.5. Transports et traitements

### 1.5.1. Transports

Compte tenu des problèmes de régionalisation, le transport des rejets vers des régions à fortes concentrations de cultures peut être utilisé pour limiter les excès dans les régions à fortes concentrations d'élevages et en excédant structurel (ZES, Jones & D'Souza 2001).

Dans le Delaware (Etats-Unis), un réseau de « banque » de rejets a été développé entre producteurs de volailles et céréaliers, améliorant les échanges (Sharpley 1999).

A l'heure actuelle, les rejets avicoles sont rarement transportés sur des distances de plus de 16 km par rapport à l'endroit où ils sont produits (Sharpley 1999), ce qui est principalement dû à des problèmes de manutention des rejets avicoles de par leur taux d'humidité. Cependant, le transport des rejets avicoles est plus favorable que celui des rejets de porcs, puisque ces derniers montrent des taux d'humidité plus élevés que les premiers. De plus, le transport des rejets d'une région à une autre augmente les risques de transfert de maladies. En effet, la biosécurité est l'une des principales problématiques lorsqu'on parle de transport de rejets avicoles et de l'utilisation partagée des équipements de transport. Les rejets de volailles sont poussiéreux et connus pour contenir des pathogènes tel qu'*E. coli* (McCrary & Hobbs 2001; Nandi *et al.* 2004). Les problèmes de biosécurité pourraient être fortement réduits par le compostage des rejets. Cependant, la compaction des rejets ou son transport d'une région à une autre est relativement onéreux (Tableau 6, Djaout *et al.* 2008; Meschy *et al.* 2008). De plus, l'accroissement de la production de rejets entraîne une augmentation des coûts de transport et par conséquent, une réduction de leur valeur marchande, avec un ratio coût : bénéfice moins favorable (Djaout *et al.* 2008).

Une autre approche pour réduire l'impact environnemental de l'épandage des rejets sur les terres agricoles serait de traiter les rejets avec des additifs permettant de maîtriser leur valeur fertilisante.

**Tableau 6 - Coûts de transport des effluents d'élevage (d'après Djaout *et al.* 2008).**

Elevages	Type d'effluent	Densité d'effluents (kg d'N.m <sup>-3</sup> )	Coûts de transport selon la distance (€.kg <sup>-1</sup> d'azote)				
			20 km	50 km	100 km	200 km	500 km
Volailles de chair	Fumier	10.4			0.41	0.72	1.02
Poules pondeuses	Fientes sèches	12.0			0.35	0.62	0.89
Porcs	Lisier	3.90	1.50	2.00	2.70	4.40	

### 1.5.2. Traitements

Les rejets de volailles sont un mélange d'excréta, d'aliment, de plumes et de litière. Quatre types de litières sont principalement utilisés dans les élevages de volailles : les produits de bois (copeaux, sciures...), les résidus de plantes (coques, pailles...), les produits de papier, et les produits de la terre (sable).

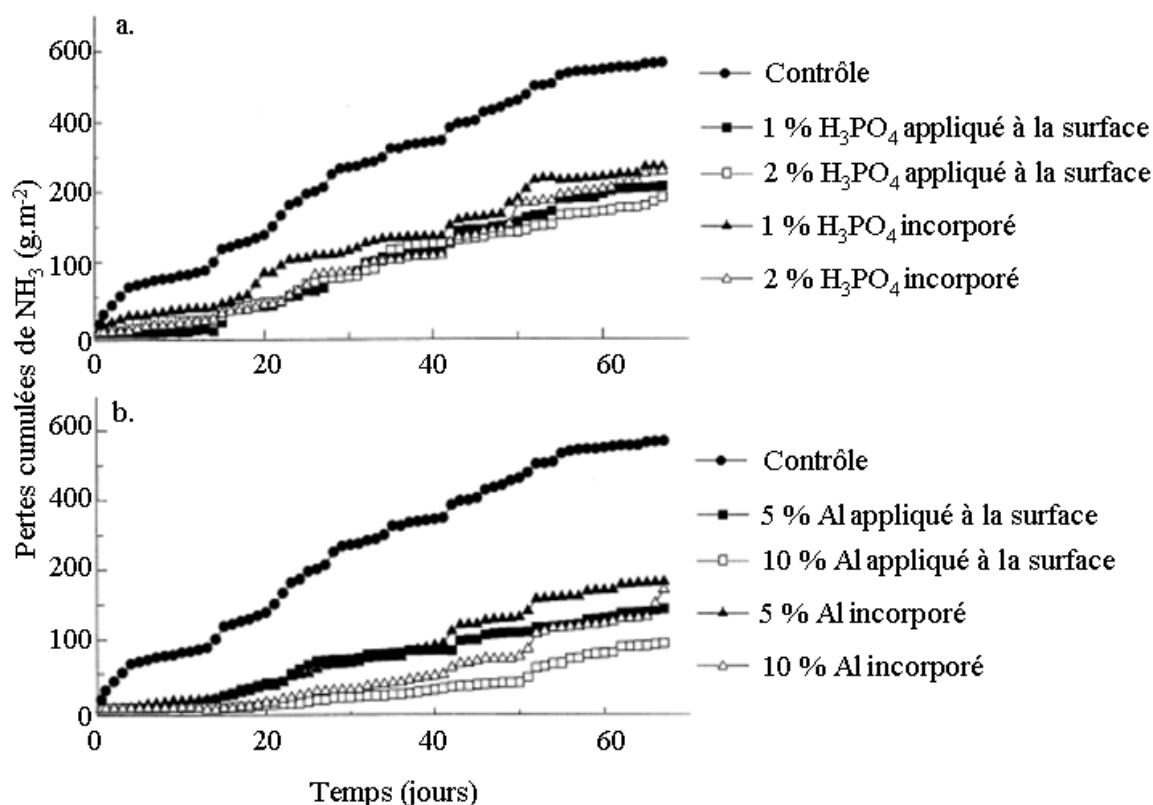
Le compostage est une dégradation aérobie des rejets organiques biodégradables. Les processus de biodégradation sont relativement rapides, de 4 à 6 semaines (Dao 1999; DeLaune *et al.* 2004). Le matériel composté est moins odorant que les rejets et a une texture plus fine avec une plus faible teneur en humidité, et peut être utilisé comme engrais organique (Kelleher *et al.* 2002). Les litières de volailles compostées sont plus faciles à manipuler et sont libres de pathogènes. Lors du compostage, 30 à 40 % de l'azote est perdu par volatilisation (Sweeten 1988; CORPEN 2006a). Une forte teneur en humidité (de plus de 75 %) réduit la vitesse de compostage et la tendance à la stabilisation par la génération de chaleur métabolique qui conduit à l'évaporation de l'eau et des molécules gazeuses (Kelleher *et al.* 2002).

Les pertes de nutriments par volatilisation peuvent être limitées en ajoutant des additifs aux rejets. De nombreux types d'additifs ont été étudiés depuis les 3 dernières décennies incluant des additifs acidifiants, des adsorbants, des inhibiteurs d'uréase, et des saponines de *Yucca* (*Yucca schidigera*, McCrory & Hobbs 2001). Ces différents additifs permettent de modifier les processus de nitrification (transformation de l'ammonium en nitrites et nitrates) et de dénitrification (transformation de nitrates en diazote et protoxyde d'azote). Par conséquent, une telle supplémentation induit des changements dans les proportions d'azote qui vont être lessivées (les nitrates et nitrites) ou être volatilisées (ammoniac).

- Les additifs acidifiants (acides sulfurique, chlorhydrique, nitrique, phosphorique et lactique, Safley *et al.* 1983; Pain *et al.* 1990; Husted *et al.* 1991; Berg & Hornig 1997; Kroodsmas & Ogink 1997) permettent de réduire le pH des rejets (en moyenne compris entre 8 et 8.5) et donc les pertes d'azote sous forme gazeuse (Groot Koerkamp 1994; Hjorth *et al.* 2009). A pH 6, 7, 8 et 9, la proportion de  $\text{NH}_3$  en solution est respectivement de 0.1, 1, 10 et 50 % (Court *et al.* 1964). Par conséquent, plus le pH des rejets est faible, plus le taux de transformation de  $\text{NH}_4^+$  en  $\text{NH}_3$  sera réduit, et plus la volatilisation d'ammoniac sera

diminuée. Par exemple, l'ajout d'acide ou de  $\text{CaCl}_2$  induit une réduction des pertes d'azote par volatilisation de 14 à 57 % selon l'acidité des rejets chez les bovins et les poulets de chair (Figure 9 a, Pain *et al.* 1990; Witter 1991).

De plus, l'ajout d'acides organiques dans les litières est connu pour avoir un impact sur la microflore des animaux permettant de réduire les infections horizontales des poulets par des bactéries pathogènes telles que *C. perfringens* ou *Enterococcus* spp (Garrido *et al.* 2004).



**Figure 9 - Pertes cumulées d'ammoniac ( $\text{NH}_3$ ) pour les 68 jours de compostage de litière de volailles traitées avec a) de l'acide phosphorique ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ou b) de l'alun (Al, d'après DeLaune *et al.* 2004).**

Outre les acides, l'alun, ou sulfate d'aluminium ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3\cdot 14\text{H}_2\text{O}$ ), est aussi utilisé pour contrôler les émissions d'ammoniac (Figure 9, b). Il produit des ions  $\text{H}^+$  quand il se dissout, ce qui réagit avec le  $\text{NH}_3$  pour former de l'ammonium non volatil (DeLaune *et al.* 2004), réduisant la volatilisation de 75 % (Moore Jr. *et al.* 2000). L'addition d'alun diminue ainsi de moitié la volatilisation d'azote et réduit la solubilité du phosphore dans les litières (Moore Jr. & Miller 1994). En effet, l'aluminium de l'alun peut être transformé en  $\text{Al}(\text{OH})_3$  dans les litières, qui adsorbe le phosphore et forme alors du phosphate d'aluminium ( $\text{AlPO}_4$ ) minéral insoluble (Cooke *et al.* 1986). Shreve *et al.* (1995) ont montré que le ruissellement de

phosphore dans des champs de fétuque (*Festuca arundinacea*) fertilisés avec de la litière traitée avec de l'alun était 87 % plus faible que sur les champs fertilisés avec de la litière non traitée.

Il faut cependant noter que l'utilisation de ces acides ou de ces composés acidifiants non dilués est relativement dangereuse pour les utilisateurs et présente un coût qui n'est pas négligeable pour les éleveurs (McCrary & Hobbs 2001).

- Un autre moyen de réduire les pertes d'azote par volatilisation est l'ajout d'adsorbants, telle que les zéolites. Les zéolites sont des cristaux de tétrasilicates caractérisés par une forte capacité d'échanges cationiques et d'eau (Jung *et al.* 2004). Parmi ces zéolites, le clinoptilolite est connu pour avoir une affinité spécifique pour les ions  $\text{NH}_4^+$  (Beck 1974; Bernal & Lopez-Real 1993). Un ajout de clinoptilolite immédiatement après épandage des rejets réduit les émissions de  $\text{NH}_3$  de l'ordre de 35 % chez les poulets, 70 % chez le porc et 60 % chez les bovins (Miner *et al.* 1997).

- Inhiber l'enzyme uréase qui convertit l'urée en ammoniac (Varel *et al.* 1999) permet aussi de réduire les pertes de  $\text{NH}_3$  par volatilisation. Les inhibiteurs de cette enzyme agissent au niveau des liaisons avec les ions de nickel, qui sont des composés de l'uréase (Mobley *et al.* 1995). L'addition de 0.14 % d'inhibiteur d'uréase (sur la base du poids de rejets épandu) réduit les pertes d'azote par volatilisation de l'ordre de 77 % (Sanz-Cobena *et al.* 2011). Cette addition n'agit cependant qu'après 24h de traitement, ce qui peut être expliqué par l'oxydation incomplète de la forme active de l'inhibiteur.

Le stockage des rejets de volailles avant l'épandage modifie également ses caractéristiques. Les fientes peuvent être stockées sous forme sèche ou fraîche. Le stockage des fientes sèches ne modifie pas significativement la fraction de phosphore soluble dans l'eau (phosphore qui sera perdu ensuite par ruissellement après épandage, Maguire *et al.* 2005), alors que le stockage de fientes fraîches induit une augmentation de la fraction de phosphore soluble (McGrath *et al.* 2005). Ceci est attribué à une dégradation microbienne lors du stockage, induisant une augmentation de la proportion de phosphore inorganique au détriment du phosphore phytique (Angel *et al.* 2005; McGrath *et al.* 2005).

L'addition de complexes de microorganismes dans les litières des bâtiments d'élevage de poulets de chair induit une augmentation de la concentration en azote des fumiers, ce qui est expliqué par une réduction des pertes d'azote par volatilisation de l'ordre de 82 % par rapport

à une litière non traitée (Allain & Aubert 2009). Ce complexe de microorganismes réduit également l'émission moyenne de  $\text{N-NH}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$  de poids vif de 36 %, ce qui correspond à des pertes de 29.7 % de l'azote excrété pour les bâtiments non traités contre seulement 19.1 % de pertes pour les bâtiments traités avec un complexe de microorganismes (Aubert *et al.* 2011).

Les différents produits développés pour réduire les impacts délétères des rejets et améliorer leur valeur fertilisante ont prouvé leur efficacité. Cependant, ils ne réduisent les rejets qu'à posteriori, et se focalisent principalement sur l'azote (et encore plus spécifiquement sur les pertes d'azote par volatilisation). Le développement de stratégies nutritionnelles ou de sélection adaptées peut offrir des possibilités de maîtrise des rejets et de leurs impacts environnementaux a priori.

## 2. Maîtrise des rejets au niveau de l'animal

### 2.1. Besoins des animaux

Chez les poulets de chair, les besoins en nutriments sont renseignés pour différentes phases, variables selon que l'on prenne en compte les tables françaises ou américaines. En prenant en compte les tables INRA (1989), les besoins sont référencés selon 3 phases : démarrage (de 0 à 2 semaines), croissance (3<sup>ème</sup> semaine), finition (au-delà de 3 semaines). Les tables américaines (NRC 1994) référencent les 3 mêmes phases mais correspondant à des âges différents : démarrage (de 0 à 3 semaines), croissance (de 3 à 6 semaines), finition (de 6 à 8 semaines).

#### 2.1.1. Besoins en azote

Les besoins en protéines sont généralement déterminés comme les niveaux d'apport permettant la croissance maximale ou le dépôt protéique le plus élevé (Tesseraud 1995). Chez les poulets en croissance, la vitesse de synthèse des protéines augmente significativement avec le taux protéique de l'aliment jusqu'à environ 21 % (Urdaneta-Rincon & Leeson 2004). Augmenter le taux protéique de l'aliment au-delà de ce seuil n'améliore pas l'accrétion des protéines (Urdaneta-Rincon & Leeson 2004) et peut avoir des effets délétères sur la synthèse protéique (Tesseraud 1995). En nourrissant des jeunes poulets avec des régimes contenant 20, 40 et 60 % de protéines, Kita *et al.* (1989) ont pu montrer une diminution significative de la vitesse de protéosynthèse avec l'augmentation de la teneur en protéines dans l'aliment. L'excès de protéines induirait des modifications de l'équilibre hormonal des animaux. Les besoins relatifs en acides aminés pour le développement et la croissance des poulets de chair sont décrits dans le Tableau 7.



**Tableau 7 - Besoins relatifs en acides aminés pour le développement et la croissance chez les volailles (en pourcentage relatif aux besoins de thréonine, d'après Stevens 1996a).**

Acide Aminé (AA)	Développement (%)	Entretien (%)
Arginine	1.5	1.6
Glycine	0.5	0.0
Histidine	0.5	0.0
Isoleucine	0.9	1.0
Leucine	1.8	1.7
Lysine	1.4	0.4
Méthionine	0.5	1.0
Cystéine	0.5	0.6
Phénylalanine	0.8	0.4
Thréonine	1.0	1.0
Tryptophane	0.2	0.2
Valine	1.3	0.8

Ils correspondent à la somme des besoins pour l'entretien, la croissance et le renouvellement des griffes, de la peau et des plumes (Ishibashi & Ohta 1999).

Dans les régimes alimentaires, une attention toute particulière est portée aux acides aminés essentiels (qui ne sont pas produits par les animaux : thréonine, valine, histidine, arginine, méthionine, leucine, lysine, isoleucine, phénylalanine, tryptophane) puisqu'ils ne peuvent être synthétisés de façon endogène et sont donc limitants pour l'entretien ou le développement des animaux. Parmi ces acides aminés, les plus limitants sont les acides aminés soufrés (méthionine et cystéine) et la lysine. Les premiers jouent entre autres un rôle essentiel dans le maintien et le développement de la muqueuse intestinale et le renouvellement des cellules épithéliales (Bauchart-Thevret *et al.* 2008). La seconde, outre son rôle dans la synthèse des protéines, agit sur le développement des os en favorisant l'absorption du calcium.

### 2.1.2. Besoins en phosphore

Environ 65 % du phosphore des matières premières végétales se présente sous forme de phosphore phytique (ou phytate) non assimilable par les animaux monogastriques, contenant 6 groupements phosphates sur chacune des 6 molécules de carbone de la molécule, le reste

étant sous forme de phosphore non phytique (phosphoprotéines, phospholipides, nucléoprotéines, Narcy *et al.* 2009). Le phytate est peu utilisable par les monogastriques qui ne possèdent pas ou peu de phytase endogène nécessaire pour la destruction de ces molécules. A faible pH, le phytate forme principalement des complexes binaires avec des protéines. A pH neutre ou alcalin, ce sont plutôt des complexes ternaires phytate-protéine-minéral qui peuvent se former (Cheryan 1980; Grifford-Steffen & Clydesdale 1993). Cette capacité de former des complexes donne à l'acide phytique des propriétés anti-nutritionnelles au pH intestinal (Pointillart 1994), qui est compris entre 5.7 et 7.4 selon le segment intestinal considéré (Engberg *et al.* 2002; Gonzalez-Alvarado *et al.* 2008; Jiménez-Moreno *et al.* 2009). Par conséquent, compte-tenu des faibles quantités de phosphore disponible (pour les animaux) dans les matières premières, un apport complémentaire, essentiellement sous forme de phosphore inorganique minéral, est nécessaire pour couvrir les besoins (Letourneau-Montminy 2009). Cette seconde forme de phosphore est directement assimilable par les animaux monogastriques.

Pour être assimilables, les phytates doivent être hydrolysées en inositol et phosphate inorganique (Sebastian *et al.* 1998). Cette hydrolyse est obtenue par l'action d'une enzyme, la phytase. Il existe trois grands types de phytases selon leur source : la phytase végétale, présente dans les céréales, la phytase endogène, produite par l'animal, et la phytase microbienne qui peut être incorporée à l'aliment (Pointillart 1994).

Le phosphore est essentiel pour l'entretien et le fonctionnement normal de l'organisme. Il est présent dans de nombreux organes et tissus, où sa fonction est très variable (structurelle dans les tissus osseux sous forme d'hydroxyapatite et les membranes cellulaires, régulatrice dans les autres tissus et organes, ENFEMA 2002). Environ 80 % du phosphore corporel est contenu dans le squelette (Narcy *et al.* 2009). Les 20 % restants sont contenus dans les nucléotides, tels que l'ATP, les acides nucléiques, les phospholipides et autres composés phosphorylés nécessaires au métabolisme. Une déficience en phosphore peut causer une réduction de la minéralisation osseuse et par conséquent, une baisse de la résistance de l'os. De plus, une déficience en phosphore réduit la consommation alimentaire, ce qui entraîne une réduction du gain de poids des animaux.

## 2.2. Utilisation digestive d'azote et de phosphore

### 2.2.1. Le tractus gastro-intestinal

L'appareil digestif des volailles peut se diviser en trois grandes régions, la région crâniale, la région stomacale et enfin la région intestinale (Figure 10).

#### 2.2.1.1. Région crâniale

L'appareil digestif commence par le bec, qui est utilisé pour la préhension des aliments. Puis vient l'œsophage, organe tubuliforme musculo-muqueux qui assure le transport des aliments de la cavité buccale à la région stomacale. Chez les oiseaux, l'œsophage est divisé en une région cervicale et une région thoracique qui va venir se connecter au compartiment supérieur de la région stomacale, le proventricule (ou ventricule succenturié). Avant de pénétrer dans la zone thoracique, l'œsophage se renfle en un réservoir appelé le jabot. Cet organe est capable de stocker les aliments qui vont se ramollir en s'humectant. La dégradation de l'amidon commence dans la partie buccale, par des sécrétions d'amylase salivaire et va se poursuivre dans le jabot.

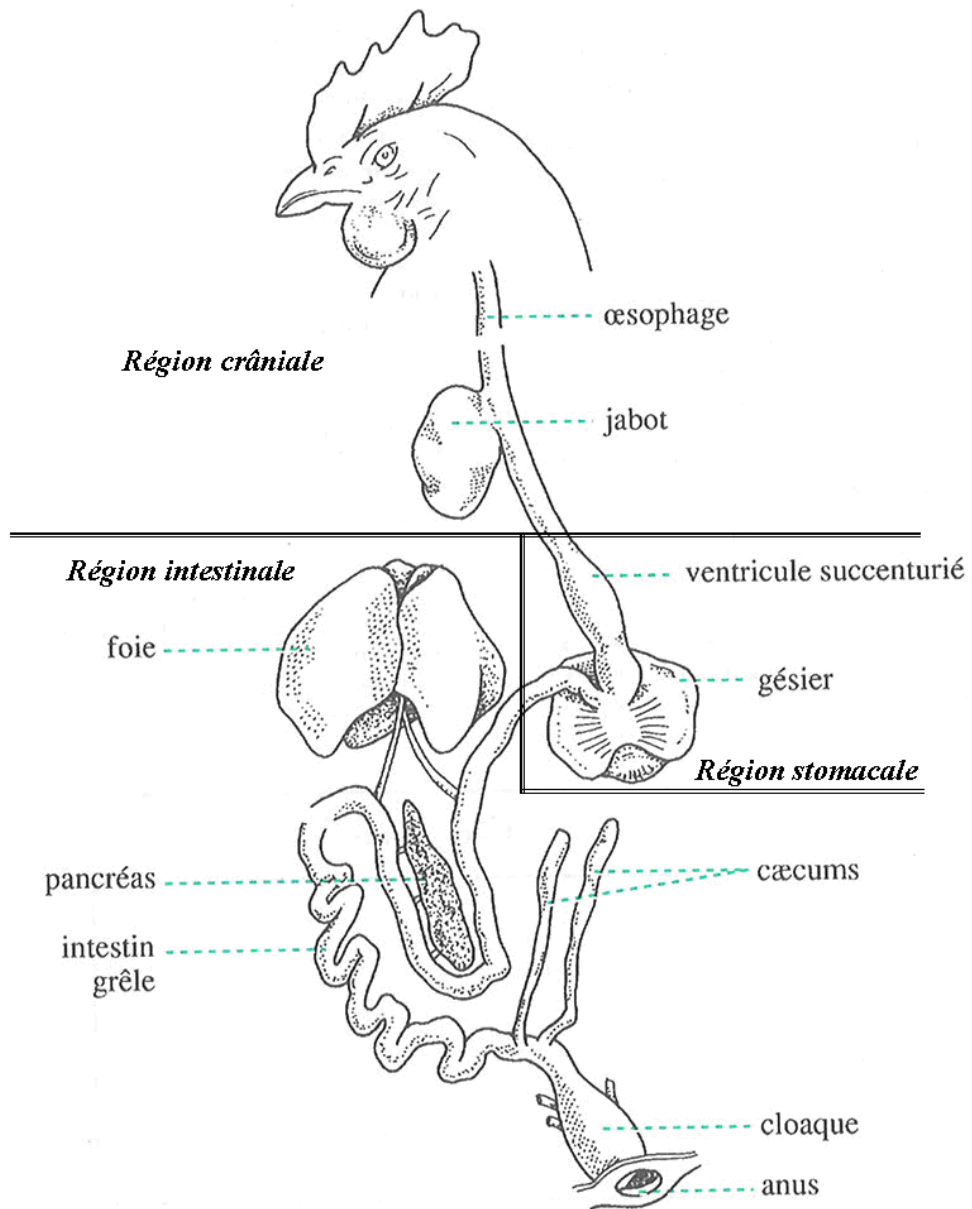
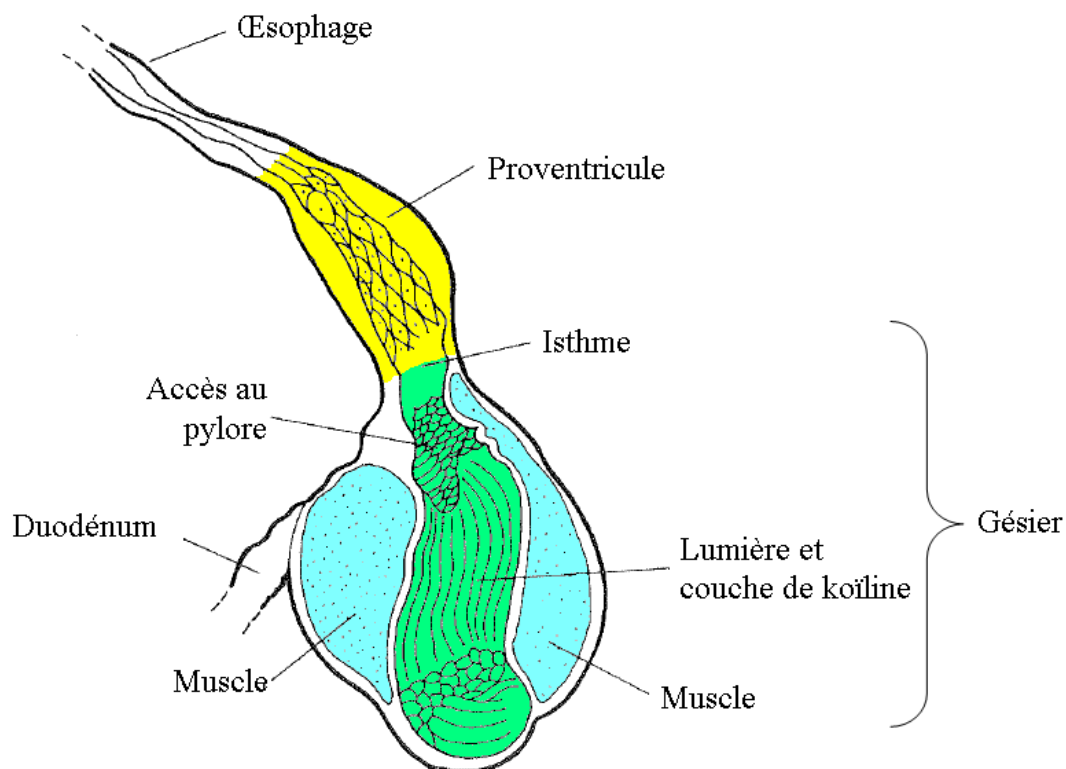


Figure 10 - Schéma de l'appareil digestif du poulet (d'après Gadoud *et al.* 1992).

### 2.2.1.2. Région stomacale

Chez les oiseaux, la région stomacale est divisée en 2 compartiments : le proventricule (ou estomac glandulaire) et le gésier (ou estomac musculaire, Figure 11).



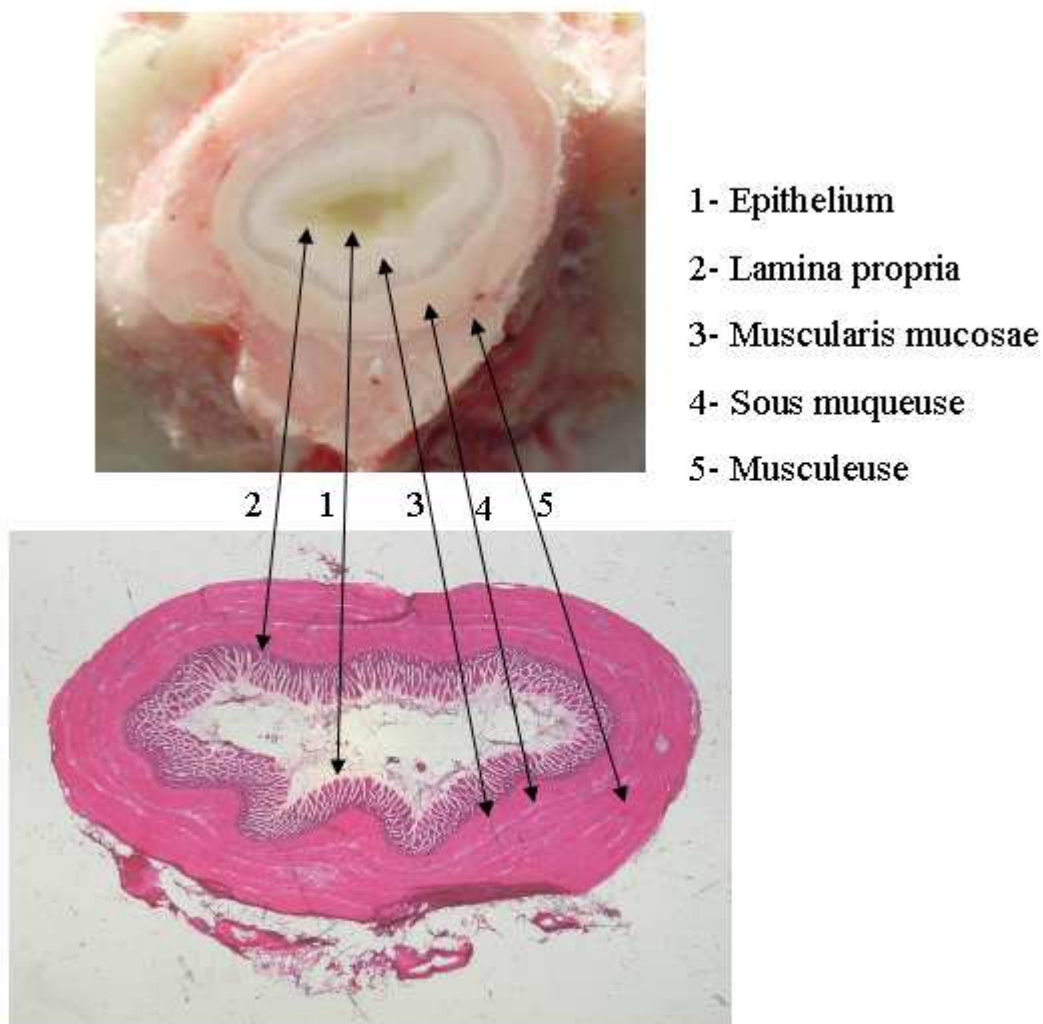
**Figure 11 - Structure de la partie supérieure du tractus gastro-intestinal (d'après Moran, 1985).**

Le proventricule est un renflement fusiforme dont la muqueuse est très riche en glandes à mucus et où sont synthétisées de nombreuses enzymes digestives telles que les pepsines ainsi que les acides aidant à la dégradation des nutriments, dont l'acide chlorhydrique. Les sécrétions proventriculaires permettent ainsi de débiter la digestion chimique des aliments. Par conséquent, à ce niveau, le digesta est très fortement acidifié (pH autour de 2.5-4, Gonzalez-Alvarado *et al.* 2008; Jiménez-Moreno *et al.* 2009).

Chez certains animaux, la région proventriculaire ainsi que l'isthme sont « dilatés ». Cette dilatation présente des caractéristiques différentes selon son origine. Lorsque le proventricule dilaté présente des parois épaissies, il s'agit d'une proventriculitis, phénomène pathologique

expliqué par un rétrovirus, qui s'accompagne d'une réduction de la croissance et de l'efficacité alimentaire, d'une accélération du transit et par conséquent, une malabsorption (Apple *et al.* 1991). Lorsque le proventricule dilaté présente au contraire des parois amincies et étirées, il s'agit d'une dilatation physiologique en réaction à un remplissage important du compartiment gastrique associé à un aliment présentant une faible granulométrie (O'Dell *et al.* 1959). Dans ce cas, les performances de croissance des animaux ne sont pas affectées.

Le gésier est un organe très musculéux (Figure 12) en communication avec le proventricule au niveau de l'isthme et avec le duodénum (première partie de l'intestin grêle) au niveau du pylore.



**Figure 12 - Coupe sagittale de l'isthme au niveau du gésier (N. Rideau)**

Le gésier permet la poursuite de la digestion chimique débutée dans le proventricule et assure la digestion mécanique du digesta de par sa couche de fibres musculaires lisses circulaires. Sa surface interne est recouverte d'une couche de cuticule, la koïline, produite par les glandes de la muqueuse et qui protège les parois du gésier des sécrétions acides et des enzymes protéolytiques sécrétées en amont par le proventricule.

La région pylorique permet de réguler le passage du digesta du gésier vers le duodénum, jouant alors un rôle de filtre en ne laissant passer que les particules de très faible taille ce qui améliore ainsi l'accessibilité des nutriments au niveau intestinal. De plus cette région n'a pas de rôle de sphincter, c'est-à-dire que chez les oiseaux, le pylore autorise les reflux du digesta du duodénum vers le gésier, permettant ainsi des actions des enzymes gastriques et de broyage du digesta plus importantes. Ceci est rendu possible par une forte réduction de l'activité électrique des muscles du gésier (Roche & Ruckebusch 1978). De plus il a pu être mis en évidence au cours de nombreux travaux que l'aliment pouvait avoir un rôle dans le développement du gésier (Hetland *et al.* 2002; Hetland *et al.* 2003; Engberg *et al.* 2004; Taylor & Jones 2004). En effet, le poids du gésier relatif au poids vif de l'animal est plus élevé chez les poulets nourris avec un régime sous forme de granulés ou contenant des grains entiers qu'avec un régime sous forme de farine (Carré 2000). Ceci est probablement dû à une plus forte stimulation des actions de broyage du gésier lorsque l'aliment est plus grossier.

Chez les poulets, les actions de broyage du digesta, et donc les contractions du gésier se font sans induction neurale, on parle d'activité myogénique (Costa 2006). Cette activité est initiée par les cellules interstitielles de Cajal, au niveau de l'isthme séparant le proventricule du gésier. Ces cellules génèrent spontanément des ondes lentes et les propagent de façon passive dans les muscles lisses (Szurszewski 1998). La motricité du gésier est très étroitement liée au transit intestinal puisqu'elle détermine le flux de digesta dans le duodénum. De plus, la motricité gastrique est inhibée quand le digesta est présent dans le duodénum. Ceci est expliqué par la présence de mécanorécepteurs situés dans la paroi intestinale qui permettraient d'exercer un rétrocontrôle sur la motricité du gésier.

### 2.2.1.3. Région intestinale

La région intestinale est constituée de l'intestin grêle, du rectum, des cæca et du cloaque. L'intestin grêle est constitué de 3 segments distincts : 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 jusqu'à la jonction iléo-cæcale). Le duodénum est la première portion de l'intestin qui fait suite au gésier. Il débute au niveau du pylore puis forme une anse qui enserme le pancréas. C'est au niveau du duodénum que se déversent les sucs pancréatiques et biliaires, induisant une augmentation du pH, qui augmente du duodénum (pH autour de 5.8) vers l'iléon (pH autour de 7, Engberg *et al.* 2002; Jiménez-Moreno *et al.* 2009). L'intestin grêle est le site majeur d'absorption des nutriments. Cependant, selon le type de nutriment, l'absorption sera plus ou moins efficace en fonction du segment considéré. En effet, alors que les carbohydrates sont principalement (à 65 %) absorbés au niveau du duodénum, le phosphore et le calcium sont essentiellement absorbés au niveau du jéjunum proximal et les acides gras au niveau du jéjunum distal (Denbow 1999). De plus, les acides aminés semblent être essentiellement absorbés au niveau jéjunal (Matthews 1975).

Les cæca, bien développés chez les poulets, se présentent comme des sacs qui débouchent dans le conduit digestif à la jonction entre l'iléon et le rectum au niveau de la valvule iléocæcale. Les cæca sont caractérisés par une très grande flore microbienne (Gabriel *et al.* 2005; Fonty & Chaucheyras-Durand 2007). Le rectum est principalement un site d'absorption d'eau et débouche sur le cloaque, dernière partie de l'intestin, dans lequel débouchent les conduits urinaires et génitaux. Les volailles se différencient des mammifères par le fait que l'urine se déverse dans le cloaque et est donc évacué avec les fèces.

#### 2.2.1.4. Structure de l'intestin grêle

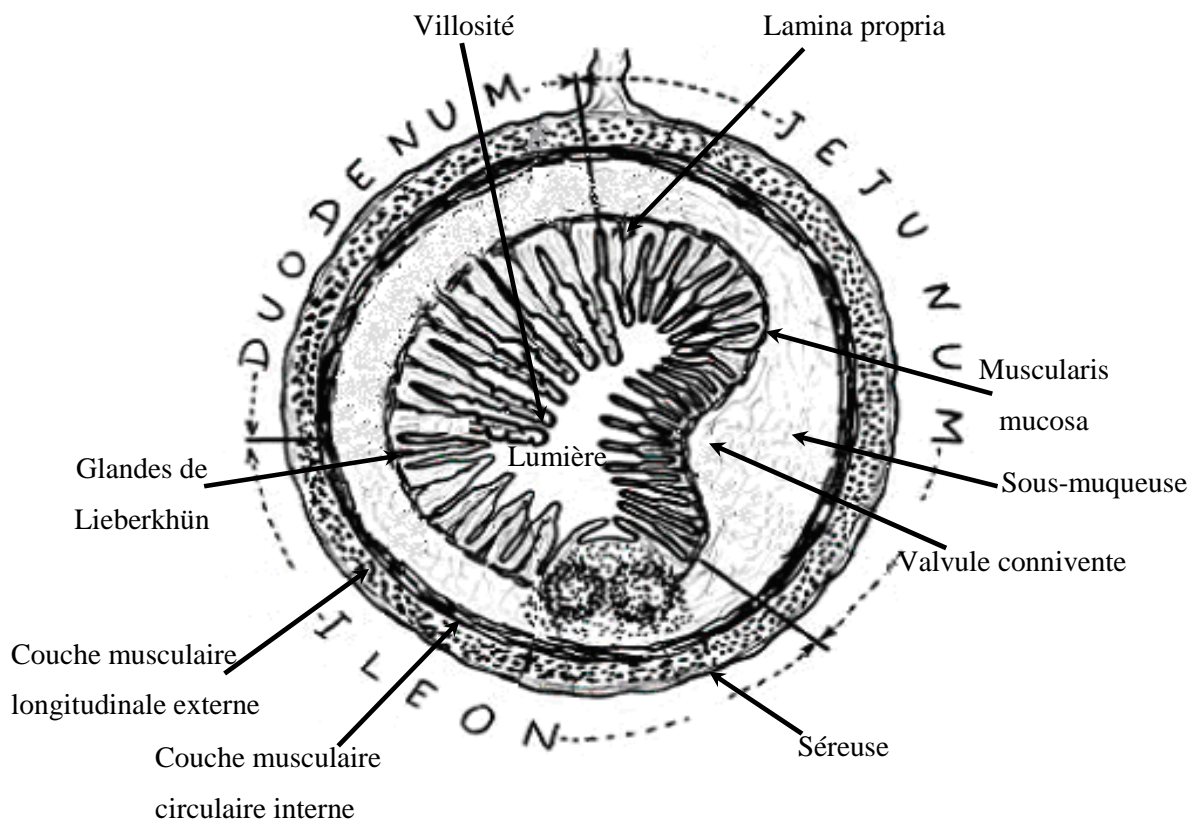
L'intestin grêle est constitué de quatre couches (Figure 13) qui sont, en allant vers la lumière du tube digestif :

- la séreuse (ou adventice ou péritoine), tissu conjonctif dans lequel circulent les vaisseaux et les nerfs pénétrant dans les couches plus internes de la paroi, est constituée d'une fine membrane formée de deux feuillets ; le feuillet viscéral (qui adhère à l'organe) et le feuillet pariétal (qui est contre la paroi de la cavité où se loge l'organe). Entre ces deux feuillets se situe un espace qualifié de virtuel, permettant la mobilité de l'un des feuillets sur l'autre.



- la musculuse (ou musculaire), tissu musculaire permettant la contraction de l'intestin, est constituée de deux couches de fibres musculaires perpendiculaires l'une à l'autre : la couche longitudinale externe et sa couche circulaire interne. Ces deux couches sont séparées par le plexus nerveux mésentérique.

- la sous-muqueuse, tissu conjonctif lâche qui contient des vaisseaux sanguins et lymphatiques ainsi qu'un réseau de nerfs sympathiques commandant la motilité du tube digestif et des glandes endocrines déversant leur produit de sécrétions par des canaux excréteurs traversant la muscularis mucosa et la muqueuse.



**Figure 13 - Structure générale de l'intestin grêle.**

- la muqueuse, qui repose sur la muscularis mucosa (ou musculaire muqueuse) et comprend la lamina propria (ou chorion) qui est recouverte par un épithélium unistratifié. La muqueuse intestinale est tapissée dans la lumière intestinale de plusieurs replis transversaux, les valvules conniventes. Ces valvules multiplient la surface d'absorption de la muqueuse, et leur nombre se réduit du duodénum jusqu'à l'iléon. Ces replis obligent le digesta à tourner sur lui-même, permettant son homogénéisation avec les sécrétions intestinales ainsi que la régulation des temps de transit du digesta. Ces valvules sont elles-mêmes tapissées de

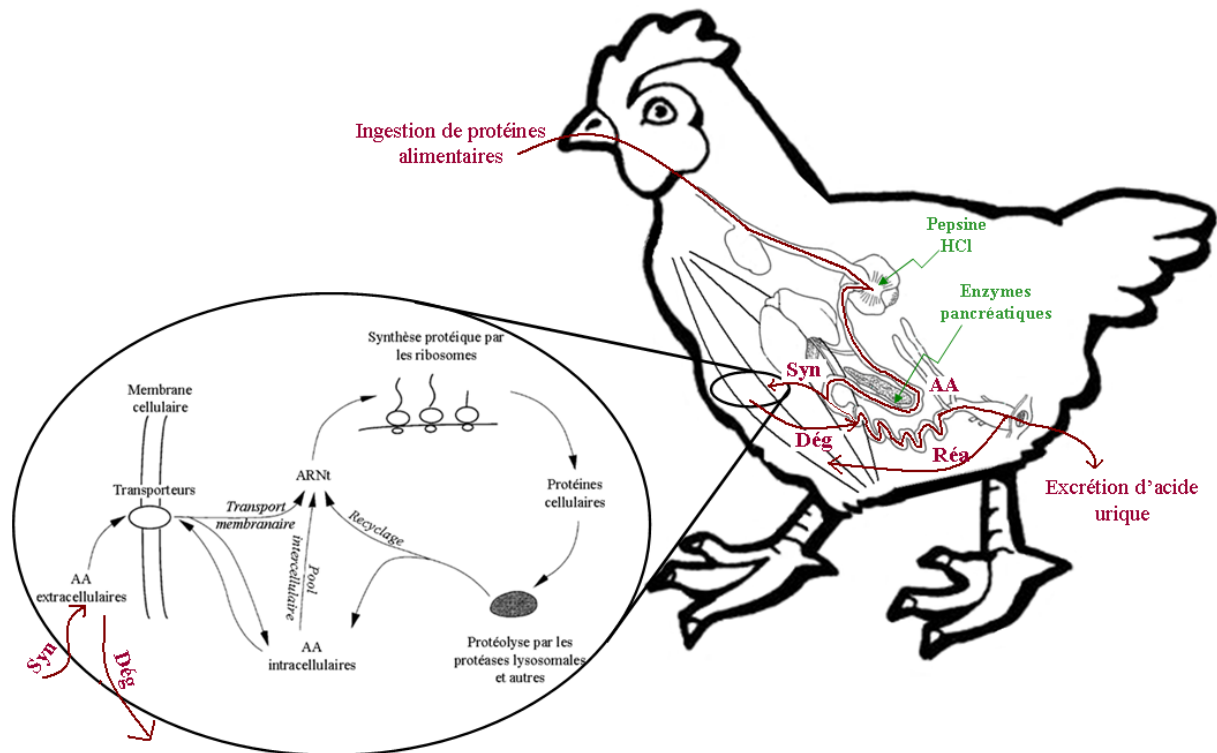
villosités, qui sont des invaginations de la muqueuse intestinale. Toutes ces invaginations permettent d'augmenter de façon très forte la surface d'échange entre le digesta et la paroi intestinale. A la base des villosités s'ouvrent les cryptes de Lieberkhün, qui assurent le renouvellement des cellules épithéliales. C'est une zone de prolifération mitotique à partir de laquelle les cellules germinales vont progresser le long de la villosité afin de devenir matures puis vont atteindre le sommet et se détacher pour aller dans la lumière intestinale. Les villosités sont recouvertes d'une couche de cellules épithéliales, principalement des entérocytes, qui représentent l'unité fonctionnelle de l'épithélium intestinal, la majorité des produits de la digestion étant absorbés au niveau du pôle apical de ces cellules.

#### 2.2.1.5. Digestion et métabolisme de l'azote

La digestion des protéines commence au niveau de l'estomac (gésier et proventricule) par l'action combinée des sécrétions gastriques (essentiellement l'acide chlorhydrique et la pepsine) et est complétée dans l'intestin grêle par les protéases pancréatiques (telle que la trypsine ou la chymotrypsine) et les peptidases sécrétées par la membrane intestinale. L'action de ces enzymes consiste à hydrolyser les liaisons peptidiques entre les acides aminés dans la chaîne polypeptidique formant la protéine. Les acides aminés pourront ensuite être absorbés principalement au niveau du jéjunum (Matthews 1975) sous la forme d'acides aminés mais aussi de di et tripeptides, qui seront hydrolysés par les enzymes cytoplasmiques (Crevieu-Gabriel 1999). Les enzymes et les cellules entériques dégradées constituent des protéines endogènes qui vont contribuer à l'excrétion fécale d'azote. Chez le porc, pour 100 g de protéines consommées, 30 g de protéines endogènes seront excrétés dans l'intestin grêle, et environ 25 % de ces protéines endogènes sécrétées seront excrétées dans les fèces (Souffrant *et al.* 1993).

Les processus d'utilisation de l'azote sont relativement complexes et font intervenir un grand nombre de mécanismes (Figure 14). L'importance relative des mécanismes de synthèse et de dégradation des protéines corporelles varie en fonction du tissu considéré et du stade physiologique de l'animal. En effet, les volailles en phase de croissance accumulent les protéines corporelles à des taux de l'ordre de 0.6 % de poids vif / jour, contre seulement 0.3 % pour les poules pondeuses (Fisher 1980). Le taux de synthèse protéique est plus élevé

que le taux d'accumulation protéique, ce qui est expliqué par un turnover élevé. Le turnover des protéines est environ 5 fois plus élevé que la consommation d'azote alimentaire, ce qui est explicable par le fait qu'environ 80 % des acides aminés provenant du turnover sont réabsorbés et réutilisés (Swick 1982).



**Figure 14 - Schéma des processus d'utilisation de l'azote, de l'ingestion des protéines jusqu'à l'excrétion d'acide urique (Syn, synthèse ; Dég, dégradation ; Réa, réabsorption).**

La dégradation des protéines suit un processus distinct selon que l'on parle de protéines de courte ou de longue durée (Stevens 1996b). Les protéines de longue durée constituent la majeure partie des protéines cellulaires et ont des taux de turnover relativement faibles, de l'ordre de 2.5 à 3 % en 90 minutes (Hershko & Ciechanover 1982; Gronostajski *et al.* 1985) et sont considérées comme des « enzymes de ménage » et des protéines non spécifiques d'un tissu particulier. Ces protéines sont récupérées dans les lysosomes et sont dégradées par des enzymes protéolytiques, les cathepsines. Les protéines de courte durée, enzymes pacemaker et protéines régulatrices, sont caractérisées par leur taux de turnover très rapides, environ 10 % en 90 minutes (Hershko & Ciechanover 1982; Gronostajski *et al.* 1985), et sont quant-à elles dégradées par des mécanismes énergie-dépendent où l'ATP est nécessaire. Les étapes de dégradation des protéines conduisant à l'excrétion d'azote sont très spécifiques chez les

oiseaux qui sont uricotéliques, c'est-à-dire qui excrètent l'azote principalement sous forme d'acide urique, alors que les vertébrés sont uréotéliques et excrètent donc l'azote majoritairement sous forme d'urée. Lorsque l'aliment est déficient en acides aminés, les protéines endogènes (provenant la plupart du temps des muscles squelettiques) sont dégradées pour générer des acides aminés. Lorsque, à l'inverse, l'aliment est trop riche en acides aminés, les animaux ne pouvant pas les stocker, ils sont dégradés, fournissant des squelettes carbonés pour la biosynthèse de carbohydrates et de gras (Stevens 1996b). Le surplus d'azote est principalement excrété sous forme d'acide urique.

Chez les monogastriques, environ 15 % de l'azote consommé est excrété dans les fèces et 50 % dans les urines (Parsons 1995; Ferket *et al.* 2002; Latshaw & Zhao 2011). Ces proportions peuvent évoluer en fonction du degré de digestibilité des protéines et des acides aminés. Les pertes urinaires peuvent être modifiées et réduites par l'équilibre entre les quantités d'acides aminés consommées et celles requises pour l'entretien et le développement.

#### 2.2.1.6. Digestion et métabolisme du phosphore

Trois organes majeurs sont impliqués dans la digestion et le métabolisme du phosphore : l'intestin grêle, le rein et l'os.

- L'intestin grêle, et principalement le duodénum et le jéjunum, est le principal site d'absorption du phosphore chez les volailles. Le phosphore absorbable provient soit de l'aliment, soit des sucs digestifs (bile, sucs pancréatiques) et du renouvellement constant des cellules de la muqueuse intestinale (Letourneau-Montminy 2009).

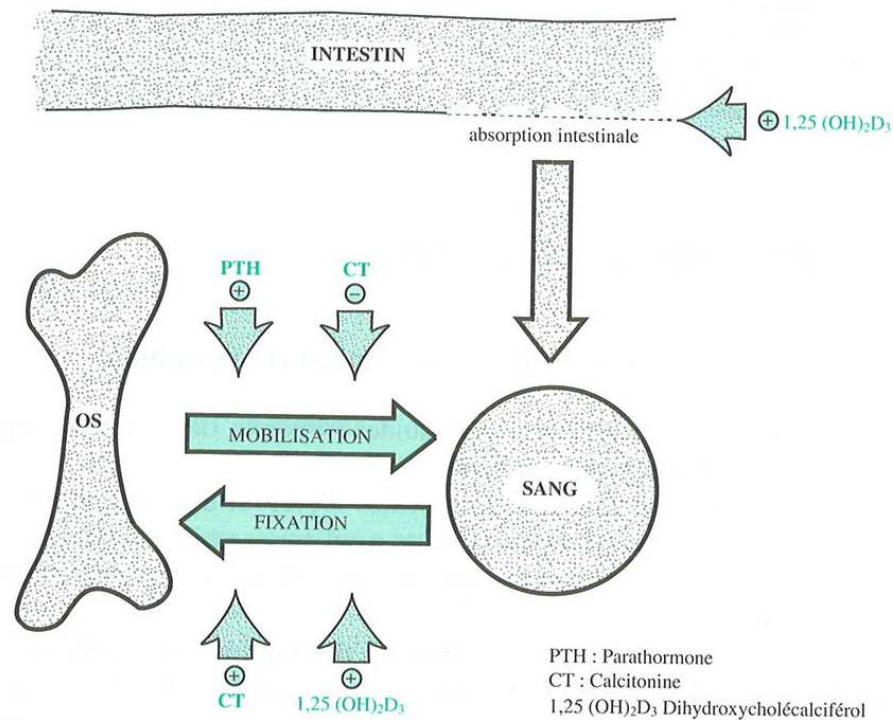
La relation entre les quantités de phosphore consommé et absorbé est le résultat de deux mécanismes de l'absorption digestive : 1) un mécanisme d'absorption paracellulaire, passif et non saturable, dépendant d'un gradient de concentration entre la lumière du tube digestif et le liquide interstitiel (qui se situe dans l'espace entre les capillaires sanguins et les cellules, qui y puisent une partie de leurs nutriments et rejettent leurs déchets). Cependant, ce gradient est peu favorable à l'entrée du phosphore dans les entérocytes, induisant une faible quantité de phosphore absorbé par ce mécanisme, 2) un mécanisme d'absorption transcellulaire, actif et saturable (Schröder *et al.* 1996), qui est la voie principale de l'absorption de phosphore (Wasserman & Taylor 1973). Dans ce mécanisme, le phosphore s'associe à un co-transporteur Na-P permettant l'entrée simultanée de phosphore et de sodium dans les entérocytes, un

gradient favorable de sodium étant maintenu par les pompes  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPases}$  (Schröder *et al.* 1996).

- Le mécanisme de réabsorption de phosphore au niveau rénal est un déterminant majeur de l'homéostasie du phosphore chez les animaux. Il a été montré que l'excrétion urinaire d'azote et de phosphore était proportionnelle aux apports alimentaires d'azote et de phosphore (Wideman 1987), comme chez le porc (Fernandez 1995).

- Une grande partie du phosphore absorbé est retrouvé au niveau des os, structure dynamique et en constant renouvellement. Plusieurs fonctions lui sont attribuées (Marieb 1999) : support mécanique du corps, locomotion, protection des organes vitaux, rôle hématopoïétique, les cellules sanguines étant produites dans la moelle osseuse, et enfin rôle dans l'homéostasie du calcium et du phosphore. L'os est en effet l'organe de réserve principal de phosphore et du calcium, puisqu'il contient environ 75 % de phosphore et 96 à 99 % de calcium.

Les flux de phosphore et de calcium entre ces différents organes et tissus sont conjointement régulés par 3 hormones principales : la parathormone, le calcitriol et la calcitonine. Les voies de régulation de phosphore et de calcium agissent à la fois sur l'absorption intestinale, l'accrétion et la résorption osseuse ainsi que l'excrétion endogène ou urinaire, permettant le maintien de l'équilibre phosphocalcique (Figure 15).



(INRAP-ITEB, 1984)

**Figure 15 - Schéma des mécanismes hormonaux intervenant dans le métabolisme phospho-calcique (d'après Gadoud *et al.* 1992).**

## 2.2.2. Facteurs influençant la digestion

### 2.2.2.1. Les fibres

La disponibilité des nutriments pour les poulets varie en fonction des matières premières (INRA-AFZ 2004). Certaines matières premières, telles que le blé, l'orge ou le seigle, contiennent des facteurs antinutritionnels tels que les polysaccharides non amylacés (PNA ou fibres, Annison & Choct 1991), constituants majeurs de la paroi des cellules de l'endosperme des graines de céréales (Bedford *et al.* 1998). La digestibilité iléale des protéines, des acides aminés et de l'énergie sont réduites avec l'augmentation de la teneur en PNA dans l'aliment (Danicke *et al.* 1999). Ces derniers augmentent la viscosité du digesta au niveau du tractus gastro-intestinal, ce qui réduit la digestibilité des nutriments (Choct & Annison 1990; Hew *et al.* 1998). En effet, les composants des parois cellulaires des céréales sont dissouts dans le tractus digestif et interagissent entre eux pour former des agrégats visqueux de haut poids

moléculaire (White *et al.* 1981; White *et al.* 1983; Fengler & Marquardt 1988; Bedford *et al.* 1991). Les PNA induisent également une augmentation des sécrétions d'acides aminés endogènes intestinaux chez les poulets (Angkanaporn *et al.* 1994) qui peuvent se retrouver dans les excréta (Nyachoti *et al.* 2000; Selle *et al.* 2003a).

La viscosité du digesta réduit le taux de passage du digesta dans le tractus gastro-intestinal (Van der Klis *et al.* 1993; Almirall & Esteve-Garcia 1994), réduit la diffusion des enzymes digestives à travers le digesta (Bedford & Morgan 1996), stimule la sécrétion d'enzymes endogènes, induisant une perte d'acides aminés endogènes (Choct & Annison 1992), et stimule la prolifération bactérienne, particulièrement dans l'intestin grêle (Annison & Choct 1991; Choct *et al.* 1996).

#### 2.2.2.2. L'acide phytique

La présence d'acide phytique (ou phytate) peut réduire la disponibilité du phosphore car les monogastriques ne possèdent pas l'équipement enzymatique nécessaire pour hydrolyser l'acide phytique. De plus, l'acide phytique peut aussi avoir un impact sur la digestibilité des protéines (Ravindran *et al.* 2006a). A pH acide (environ 2, en phase gastrique de la digestion), l'acide phytique est fortement chargé négativement alors que de nombreux acides aminés (arginine, histidine ou lysine par exemple) sont en dessous de leur point isoélectrique ce qui induit la formation de complexes entre ces deux molécules. Cowieson *et al.* (2009) ont ainsi suggéré qu'1 g de phytate pouvait lier 10 g de protéines dans des conditions idéales. Par conséquent, plus de la moitié des protéines d'un aliment standard de poulets de chair pourrait être rendue inutilisable pour l'animal par cette formation de complexes phytate-protéine (Figure 16).

En réponse à l'ingestion de phytate, les animaux augmentent la sécrétion de pepsine et d'acide chlorhydrique, ce qui induit une très forte libération de mucus (Cowieson *et al.* 2004) et de  $\text{NaHCO}_3$  (Allen & Flemstrom 2005). Il est possible que le phytate compromette l'absorption d'acides aminés alimentaires et endogènes par une interférence des systèmes de transports  $\text{Na}^+$ -dépendants et des activités de la pompe  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  (Glynn 1993). De plus, le phytate est connu pour inhiber un grand nombre d'enzymes digestives telles que l' $\alpha$ -amylase (Deshpande & Cheryan 1984) et la trypsine (Singh & Krikorian 1982; Caldwell 1992), en chélatant des ions calcium essentiels à l'activité de ces enzymes (Sebastian *et al.*

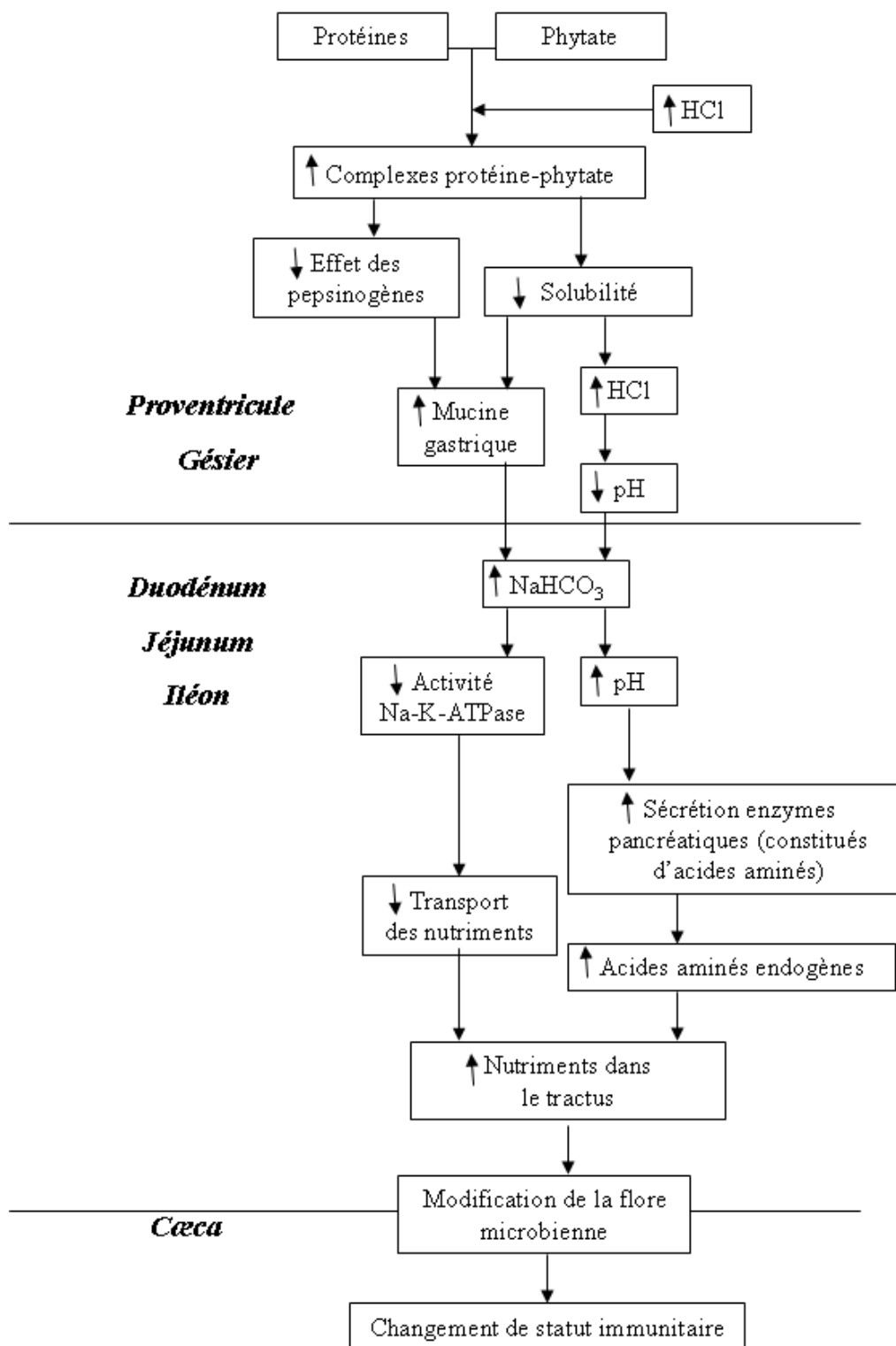


Figure 16 - Représentation des effets biochimiques du phytate sur le tractus gastro-intestinal des poulets (d'après Cowieson *et al.* 2009).



1998), et en formant des complexes phytate-protéase (Camus & Laporte 1976; Singh & Krikorian 1982).

Enfin, l'augmentation de la consommation de phytate induit une augmentation significative du flux d'acides aminés endogènes mais également des changements dans la composition de ce flux. En effet, les acides aminés tels que l'acide aspartique, la sérine, la thréonine et la tyrosine sont plus fortement perdus avec l'augmentation de phytate dans l'aliment (Cowieson *et al.* 2009). Ceci est notamment dû à l'augmentation de sécrétion de mucine en présence de phytate. Or celle-ci est particulièrement riche en thréonine, sérine, proline et cystéine (Lien *et al.* 2001) qui seront donc plus fortement excrétés que les autres acides aminés (Cowieson *et al.* 2004; Kies 2005).

Outre les proportions d'acide phytique, le niveau et la forme de calcium ou encore la source de phosphore inorganique ajouté à l'aliment affectent l'absorption de phosphore. Un ratio de Ca : P total élevé réduit la digestion des phytates du fait de la formation de complexes calcium-phytate et calcium-phosphate insolubles dans l'intestin (Nelson 1967; Hurwitz & Bar 1971; Cromwell 1996). A des concentrations élevées de calcium dans l'aliment, l'absorption du phytate peut même être complètement stoppée (Taylor 1965). A l'opposé, réduire la teneur en calcium de l'aliment de 1.0 à 0.5 %, à taux de phosphore disponible équivalent augmente de 15 % l'utilisation du phytate (Mohammed *et al.* 1991). Cela entraîne une réduction de la consommation alimentaire, du gain de poids et de la concentration en cendres tibiales (Letourneau-Montminy *et al.* 2010). Si le taux de calcium est réduit, on peut donc néanmoins maintenir les performances de croissance en réduisant le taux de phosphore alimentaire (Rama Rao *et al.* 2006). Les performances de croissance de poulets de 3 à 14 jours sont similaires avec un aliment contenant 6 g de calcium et 3 g de phosphore non phytique par kg d'aliment ou avec un aliment contenant 9 et 4.5 g.kg<sup>-1</sup> d'aliment de calcium et de phosphore non phytique (Rama Rao *et al.* 2006).

#### 2.2.2.3. Influence des processus technologiques

Plusieurs études ont pu montrer une corrélation entre la taille des particules alimentaires et l'utilisation des nutriments. Kasim & Edwards Jr. (2000) ont déterminé que l'augmentation de la taille des particules de maïs (d'un diamètre de 484 à 894 µm) avait un impact positif sur la

rétenion du phosphore et du calcium. Les grosses particules ont un temps de rétenion dans le gésier plus important, ce qui augmente le temps d'action des enzymes (endogènes comme exogènes) et améliorerait la disponibilité des nutriments à l'entrée dans l'intestin grêle. De plus, l'action de certaines enzymes comme la xylanase est plus forte avec des particules alimentaires de gros diamètre plutôt que de petit diamètre (Kim *et al.* 2005). Selon Amerah *et al.* (2008), l'ajout de xylanase dans l'aliment n'améliorait l'efficacité alimentaire des poulets de chair que lorsque les particules sont de gros diamètre. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les grosses particules augmentent l'efficacité des enzymes digestives via une augmentation de la perméabilité du digesta (Dullen 1979; Lentle 2005)

De plus, lors de sa fabrication, la granulation de l'aliment implique un traitement thermique. A des températures variant entre 65 et 85°C, ce traitement améliore la disponibilité des nutriments en induisant la rupture des parois cellulaires végétales (Pickford 1992) et en désactivant les inhibiteurs d'enzymes présents dans les grains (Saunders 1975). Cependant, la combinaison d'une chaleur excessive avec de fortes pressions de cisaillement peut affecter la disponibilité des nutriments en dénaturant les protéines et en inhibant l'action des additifs alimentaires (Wiseman *et al.* 1991; Ravindran & Amerah 2008; Amerah *et al.* 2011b). Les fortes températures peuvent aussi solubiliser les fibres (Fadel *et al.* 1988), ce qui augmente la viscosité du digesta et réduit la disponibilité des nutriments (Bedford & Schulze 1998). La durée du traitement thermique peut aussi avoir un fort impact sur l'activité enzymatique de l'aliment (Inboor & Bedford 1994). Ainsi, par rapport à l'activité initiale, la perte d'activité de la  $\beta$ -glucanase suite à un traitement à 75°C est de 34 % si le traitement dure 30 s mais de 51 % s'il dure 15 min. De la même façon, les phytases sont inactivées par une température de granulation supérieure à 70°C (Jondreville & Dourmad 2005). Même à température plus modérée, les phytases microbiennes peuvent perdre 30 à 50 % de leur efficacité lors du traitement thermique (Chapoutot & Pressenda 2005).

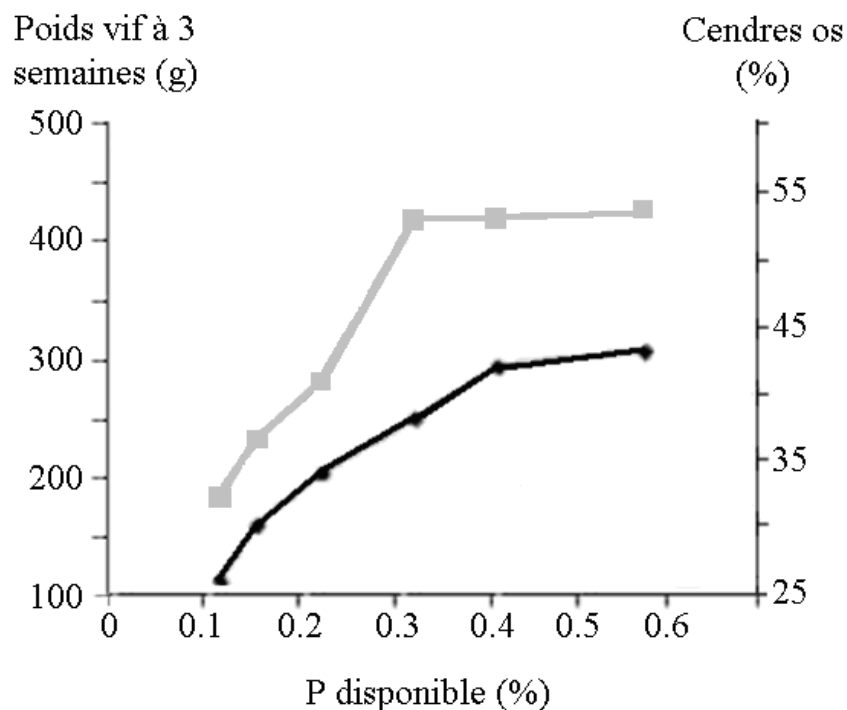
Pour éviter les pertes d'activité enzymatiques de l'aliment lors de sa fabrication, on peut vaporiser les enzymes sur les aliments après la granulation, ou encapsuler ces enzymes par des composés hydrophobes (Silversides & Bedford 1999).

## 2.3. Stratégies nutritionnelles d'optimisation

### 2.3.1. Adéquation des apports aux besoins

Pour réduire les excès de nutriments dans les aliments, et par conséquent, les rejets, on peut tout d'abord adapter les apports alimentaires aux besoins des animaux en fonction de leur stade physiologique (Leclercq 1996), par une alimentation multiphase. Cet ajustement pourrait permettre une réduction possible de 10 à 33 % de l'excrétion de phosphore (Wicker 1999; Maguire *et al.* 2005).

En raison de la difficulté de séparer fèces et urine chez les volailles, les besoins en phosphore sont généralement estimés avec une méthode empirique (NRC 1994; INRA-AFZ 2004). Il s'agit d'une approche globale où les besoins en phosphore sont définis comme ceux permettant de maximiser la minéralisation osseuse (le plus souvent mesuré par la résistance à la rupture de l'os). Cependant, ces besoins de phosphore maximisant la minéralisation osseuse sont très supérieurs aux besoins nécessaires pour la maximisation de la vitesse de croissance des animaux (Figure 17, Meschy *et al.* 2008).



**Figure 17 - Influence de la teneur de l'aliment en phosphore sur la croissance (en gris) et la minéralisation osseuse (en noir, d'après Larbier & Leclercq 1992).**

Ces estimations des besoins de phosphore pour l'animal en croissance prennent en compte une marge de sécurité importante car ils reposent sur ceux maximisant la minéralisation osseuse (Huyghebaert & Pack 1996). De ce fait, plusieurs études ont montré qu'il était possible de réduire de 30 % les apports sans impacter négativement sur les performances des poulets ou des poules pondeuses (Summers 1995; Angel 1999; Keshavarz 2000; Fritts & Waldroup 2003). Par conséquent, réduire les apports de phosphore au niveau des besoins pour la croissance plutôt que pour la minéralisation osseuse permettrait de réduire de façon significative l'excrétion de phosphore par les porcs et les volailles. Le taux de phosphore non phytique peut être réduit de 5 et 10 % en phase de croissance et finition, respectivement, par rapport à la phase de démarrage sans affecter la résistance à la rupture de l'os, la minéralisation osseuse ni les performances (Huyghebaert 1996; Angel *et al.* 2000; Ling *et al.* 2000; Nahm 2003a)

Bien qu'avec des résultats nettement plus faibles, utiliser une alimentation multiphase permet de réduire les rejets d'azote. En effet, couvrir exactement le besoin de l'animal en acides aminés permet de minimiser les risques de surconsommation de certains acides aminés, de réduire le taux protéique de l'aliment (de 3.9 % entre 21 et 63 jours, Pope *et al.* 2004) et donc de réduire les rejets azotés (Emmert & Baker 1997). Par exemple, Kadam *et al.* (2007), ont montré que les indices de consommation et des gains de poids étaient similaires chez des poulets nourris avec un régime riche ou pauvre en protéines (21.6 et 20 % de protéines pour le régime riche, et 19.8 et 18.3 % de protéines pour le régime pauvre en phases de démarrage et de finition, respectivement) supplémenté en L-thréonine en adéquation avec les besoins.

Chez le porc, le passage d'une alimentation en une seule phase à une alimentation bi-phase a permis une réduction de 10 % à 15 % de l'excrétion d'azote (Hartung & Phillips 1994; Han *et al.* 2001; CORPEN 2003) et d'environ 25 % de celle de phosphore (CORPEN 2003).

### 2.3.2. Choix des matières premières

Les protéines alimentaires (formées de plusieurs acides aminés) sont la forme prédominante de l'azote entrant dans l'organisme (Ferket *et al.* 2002). La disponibilité des acides aminés formant les protéines n'est pas la même pour tous les végétaux utilisés dans les aliments

(Tableau 8). Le blé présente notamment des valeurs de disponibilité beaucoup plus faibles que le maïs.

**Tableau 8 - Disponibilité de la lysine, la méthionine et la thréonine selon la céréale utilisée dans les régimes alimentaires de poulets de chair (d'après Ishibashi & Ohta 1999).**

Céréale	Disponibilité (%)		
	Lysine	Méthionine	Thréonine
Maïs	85.7	93.2	85.8
Sorgho	78.4	85.3	80.2
Blé	76.3	87.1	73.8
Riz	88.0	85.1	82.1
Soja	90.1	93.3	89.4

Même intra-espèce, il existe de fortes variations de dureté du grain et de teneur en protéines, caractères qui sont phénotypiquement corrélés ( $\rho = 0.534$ , Carré *et al.* 2002). Ainsi, Carré *et al.* (2002) ont montré que la dureté pouvait varier de 17 à 95 et la teneur en protéines de 96 à 134.1 g.kg<sup>-1</sup>.

Au niveau du phosphore, les teneurs en phosphore total, phosphore phytique et activité phytasique varient fortement selon le type de matière première utilisée (Tableau 9, Tran & Skiba 2005). Par exemple, sur les principales céréales, la quantité totale de phosphore est relativement proche, de 2.6 à 3.5 g.kg<sup>-1</sup>, mais la proportion de phosphore phytique varie de 55 à 75 % et l'activité phytasique végétale varie dans des proportions de 1 à 135. De même, le tourteau de colza comporte 25 % de phosphore phytique en plus que le tourteau de soja, et ne présente pas d'activité phytasique, contrairement à ce dernier.

Ces teneurs sont également influencées par la zone de récolte, l'année de récolte, le taux de fertilisation,... ainsi, la teneur en phosphore phytique est faiblement variable pour la féverole (coefficient de variation de 6 %) mais très fortement variable pour le gluten de maïs ou la

**Tableau 9 - Teneur en phosphore total (moyenne et écart-type), ratio phosphore phytique sur phosphore total et activité phytasique de différentes matières premières (d'après Tran & Skiba 2005).**

Matière première	P (g/kg brut) moyenne (écart-type)	P Phytique / P total (%)	Activité phytasique (U/kg)
Avoine	3.2 (0.4)	55	40
Blé tendre	3.2 (0.3)	65	460
Maïs	2.6 (0.3)	75	20
Orge	3.4 (0.3)	55	538
Seigle	3 (0.3)	65	5350
Triticale	3.5 (0.4)	65	770
Farine basse de blé tendre	3.6	80	3080
Remoulage demi-blanc de blé tendre	8.7 (1.4)	80	2590
Son de blé tendre	9.9 (1.1)	80	1770
Gluten de maïs	8.9 (1.5)	65	0
Son de riz gras	16.1 2.1)	85	120
Graine de colza	6.6 (0.9)	70	0
Féverole à fleurs blanches	4.7 (0.3)	60	50
Lupin blanc	3.8 (0.7)	60	140
Pois	4.0 (0.5)	45	130
Graine de soja extrudée	5.5 (0.5)	60	0
Graine de tournesol	5.4 (0.9)	85	0
Tourteau de colza	11.4 (0.9)	60	10
Tourteau de soja 48	6.2 (0.5)	60	20
Tourteau de tournesol non décortiqué	10.1 (1.4)	85	0
Manioc (amidon 67% sur brut)	0.9 (0.3)	25	0
Mélasses de canne	0.6 (0.3)	10	0
Pulpe d'agrumes déshydratée	0.9 (0.2)	40	0
Pulpe de betterave déshydratée	0.9 (0.3)	10	0
Luzerne déshydratée (protéines 17-18% sur sec)	2.4 (0.3)	5	0
Paille de blé	0.7 (0.3)	5	0

mélasse de canne (coefficient de variation de 17 et 50 %, respectivement). En utilisant des matières premières ayant de fortes activités phytasiques, il serait alors possible d'améliorer l'absorption du phosphore par les animaux et ainsi réduire les effluents de phosphore jusqu'à 30 % (Latimier & Pointillart 1993).

L'utilisation digestive de phosphore inorganique pour compléter l'aliment est relativement variable selon son origine. En effet, la proportion de phosphore disponible dans ces ajouts n'est jamais de 100 %, mais peut varier, selon Knowlton *et al.* (2004), de 55 à 92 % chez les poulets de 3 semaines (Tableau 10).

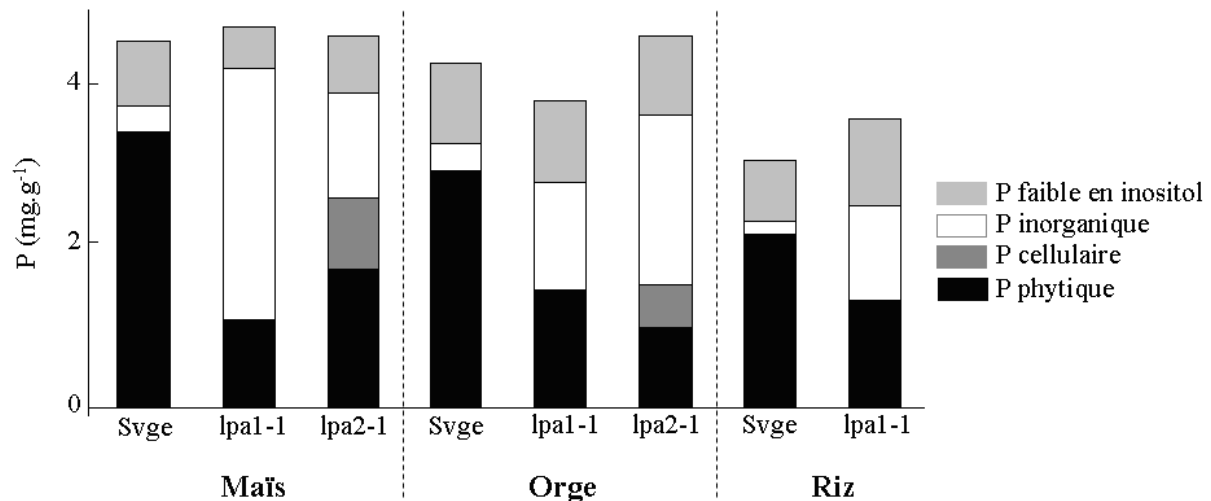
**Tableau 10 - Biodisponibilité des suppléments de phosphore inorganique dans l'aliment chez les poulets de chair de 3 semaines d'âge (d'après Knowlton *et al.* 2004).**

Forme de P inorganique	Teneur en P total (%)	P disponible (% de P total)
Calcium sodium phosphate	18.0	59
Dicalcium phosphate (anhydre)	19.7	55
Dicalcium phosphate (hydraté)	18.1	77
Monocalcium phosphate	22.6	84
Mono-dicalcium phosphate (hydraté)	21.3	79
Monosodium phosphate	22.4	92

Certains gènes ont été identifiés comme ayant un effet potentiel sur la digestibilité. C'est par exemple le cas du gène LPA (low phytic acid) chez le maïs, l'orge et le riz.

Par une technique de sélection génétique classique, plusieurs études ont mis à jour des possibilités de mutations du gène LPA sur maïs (Larson *et al.* 1998; Rasmussen & Hartzack 1998; Raboy *et al.* 2000). Les hybrides (*lpa1-1 : lpa1-1* ou *lpa2-1 : lpa2-1*) et les sauvages (*Lpa : Lpa*) montrent un taux de phosphore total similaire mais le taux de phosphore phytique des hybrides est réduit de 50 à 95 % par rapport aux sauvages (Raboy *et al.* 2001).

Cette diminution de la part de phosphore phytique chez les hybrides est due soit à une augmentation de phosphore inorganique avec la mutation au locus *lpa1-1*, soit à une augmentation de phosphore inorganique combinée à une réduction du nombre d'atomes de phosphore dans la molécule d'acide phytique par les hybrides présentant la mutation *lpa2-1*. Raboy (2002) fait l'hypothèse que la mutation *lpa1-1* interviendrait au cours de la première partie de la synthèse de l'acide phytique (la voie d'approvisionnement d'inositol, constituant



**Figure 18 - Fractionnement des différents types de phosphore retrouvés dans les grains de maïs, orge ou de riz selon le génotype étudié (Témoin sauvage (Svge), avec mutation *lpa1-1* ou avec mutation *lpa2-1*). (Adapté de Raboy *et al.* 2001) : phosphore cellulaire correspondant au phosphore retrouvé dans les ADN, ARN, amidon, protéines et lipides.**

de la molécule d'acide phytique) alors que la mutation *lpa2-1* aurait plutôt un rôle dans la dernière partie (l'ajout d'atomes de P à la molécule d'inositol phosphate, Figure 18).

L'utilisation de ce type de céréales (maïs, orge ou riz) hybrides peut permettre de réduire le taux de phosphore inorganique ajouté à l'aliment, ce qui entraîne une réduction de l'excrétion de phosphore de l'ordre de 50 % chez les volailles et les porcs (Li *et al.* 2000; Raboy *et al.* 2001; Thacker *et al.* 2009). Des résultats similaires ont aussi été retrouvés chez la truite arc-en-ciel (Sugiura *et al.* 1999). L'utilisation de céréales hybrides a aussi un fort impact sur la digestion et l'absorption des minéraux dans différentes espèces. En effet, l'apport d'orge hybride induit une augmentation de la rétention de zinc chez les poulets de l'ordre de 27.5 % (Linares *et al.* 2007). Chez l'homme, un apport de maïs présentant la mutation *lpa1-1* induit une augmentation de 50 % de la rétention de fer (Mendoza *et al.* 1998) et de 76 % de la rétention de zinc (Adams *et al.* 2000). Cet effet sur les minéraux serait dû à la diminution de la formation de complexes entre les phytates et les cations tels que le calcium, le fer ou le zinc.



### 2.3.3. Utilisation d'additifs alimentaires

#### 2.3.3.1. Glycanases (xylanases et glucanases)

L'addition d'enzymes exogènes telles que les glycanases (comme les xylanases et les glucanases) permet de contrecarrer l'effet négatif des PNA. De ce fait, l'inclusion de glycanases exogènes dans des régimes à base de blé et d'orge est devenue courante (Classen & Bedford 1991; Bedford & Schulze 1998; Ravindran *et al.* 1999). En réduisant la viscosité du contenu intestinal, ces enzymes peuvent augmenter l'EMAn (de 13.65 à 14.33 kJ.kg<sup>-1</sup>MS) et la digestibilité des nutriments d'environ 5.0 % pour l'azote et 14 % pour le calcium (Gutierrez del Alamo *et al.* 2008; Selle *et al.* 2009; Vandeplas *et al.* 2010), mais également celle des lipides (Choct *et al.* 1999).

Les mécanismes sous-jacents de ces améliorations sont mal connus. La dégradation des PNA des parois cellulaires pourrait libérer les nutriments encapsulés dans les cellules de l'endosperme des céréales. Cette hypothèse est cependant controversée car la supplémentation d'enzymes dégradant les parois cellulaires améliore fortement la digestibilité des lipides (Campbell *et al.* 1983; Classen *et al.* 1985; Danicke *et al.* 1995), plus que celle des autres nutriments, alors qu'il n'y a que peu de lipides dans les cellules de l'endosperme des céréales. Cependant, ces lipides pourraient provenir des parois cellulaires qui en sont riches.

En libérant les nutriments encapsulés et en réduisant la viscosité du digesta, ces enzymes facilitent l'action des autres enzymes telle que la phytase (Ravindran *et al.* 1999). L'addition d'une xylanase ou d'une phytase améliore significativement la digestibilité iléale apparente moyenne des acides aminés de l'ordre de 5.0 %, et de 8.6 % lorsqu'elles sont combinées, ce qui augmente de 6 % la rétention en azote (Ravindran *et al.* 1999; Selle *et al.* 2003a). Cette combinaison xylanase-phytase permet également d'améliorer la digestibilité du phytate par rapport à l'addition de xylanase ou de phytase seules (77.8 vs 30 et 64.7 %, respectivement, Peng *et al.* 2003). La xylanase faciliterait l'accès de la phytase dans la couche à aleurone du blé, où le phytate est concentré.

### 2.3.3.2. Phytase

Les trois phytases microbiennes les plus utilisées aujourd'hui sont celles provenant d'*Aspergillus niger*, de *Peniophora lycii* et d'*Escherichia coli*. Chez le poulet et le porc, la rétention apparente de phosphore phytique est doublée par l'addition de phytase microbienne (Lescoat *et al.* 2005), ce qui induit une réduction de l'excrétion de phosphore de 25 à 65 % chez le poulet (Peng *et al.* 2003; Plumstead *et al.* 2007; Mellef *et al.* 2010) et de 25 à 50 % chez les porcs (Kornegay & Qian 1996; Spencer *et al.* 2000; Veum *et al.* 2001; Thacker *et al.* 2006) Chez le porc, la réduction de l'excrétion de phosphore (Y, en % du niveau de phosphore adéquat) avec le niveau de phytase ajouté dans le régime (X, en U/kg d'aliment) est estimé à :

$$Y = 25.57 + 0.0106 X, R^2 = 0.95 \text{ (Harper } et al. 1997).$$

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'efficacité des phytases microbiennes (Qian *et al.* 1996). Celle-ci est par exemple plus élevée quand l'aliment supplémenté est déficient en phosphore phytique (Ravindran *et al.* 2006a).

Outre les quantités de phosphore, la capacité de la phytase à libérer le phosphore phytique dépendrait aussi du ratio Ca : P total (Liu *et al.* 2000; Thacker *et al.* 2006). Quand ce ratio Ca : P augmente, la réponse à la phytase en termes de performances est réduite (Narcy *et al.* 2009; Letourneau-Montminy *et al.* 2010).

Le pH optimum des phytases commerciales varie entre 2.5 et 5.5, ce qui correspond à celui retrouvé dans le jabot, le gésier et le duodénum chez les poulets. L'action de la phytase est quasiment nulle à des pH supérieurs à 6, comme dans le jéjunum et l'iléon (Sebastian *et al.* 1998). Chez le porc, Yi & Kornegay (1996) ont ainsi montré que l'activité de la phytase microbienne passe de 51 % dans l'estomac à 31 % dans la partie supérieure de l'intestin grêle, puis à 5 % dans la partie inférieure de l'intestin grêle. Cette différence de pH optimum expliquerait les différences d'efficacité des différentes catégories de phytases. Chez les poulets, les phytases microbiennes augmentent l'utilisation du phosphore phytique de 35 à 66 % de plus que les phytases d'origine végétales (Huyghebaert *et al.* 1992; Frapin 1996). Les premières ont en effet un spectre de pH d'efficacité optimale plus large que les secondes, qui est autour de 5 (Zimmermann *et al.* 2003; Letourneau-Montminy 2009). Par conséquent, chez les poulets de chair, les phytases végétales ne pourraient agir de façon optimale qu'au niveau du duodénum, alors que les phytases microbiennes ont un champ d'action plus large.

La phytase, en limitant la formation de complexes phytate-protéine, augmenterait la digestibilité iléale des protéines et des acides aminés de 3.5 à 12 % chez le porc (Sauer *et al.* 1989; Officer & Batterham 1992) et la rétention d'azote chez les poulets de chair et les poules pondeuses de 5.6 à 33.0 % (Singh *et al.* 2003; Panda *et al.* 2005). Chez les volailles, l'action de la phytase induit aussi une amélioration de l'utilisation des cations complexés (tel que le calcium) avec le phytate (Tableau 11, Qian *et al.* 1996; Yi *et al.* 1996; Brenes *et al.* 2003).

**Tableau 11 - Effets des ajouts croissants de phytase dans la ration des poulets de chair sur l'utilisation des nutriments (pourcentages de rétention d'azote, de calcium et de phosphore et pourcentage de dégradation du phosphore phytique, d'après Shirley & Edwards Jr 2003 et Mellef *et al.* 2010).**

Phytase (U/kg d'aliment)	Rétention en N (%)	Rétention en Ca total (%)	Rétention en P total (%)	Dégradation du P phytique (%)
0	58.4 <sup>c</sup>	45.6 <sup>b</sup>	51.0 <sup>c</sup>	40.3 <sup>e</sup>
93.75	68.4 <sup>bc</sup>	40.8 <sup>b</sup>	50.2 <sup>c</sup>	42.3 <sup>de</sup>
187.5	69.0 <sup>bc</sup>	42.4 <sup>b</sup>	54.7 <sup>c</sup>	51.9 <sup>d</sup>
375	68.9 <sup>bc</sup>	42.3 <sup>b</sup>	53.8 <sup>c</sup>	49.5 <sup>d</sup>
750	72.1 <sup>b</sup>	44.1 <sup>b</sup>	60.8 <sup>b</sup>	58.4 <sup>cd</sup>
1500	74.5 <sup>b</sup>	42.3 <sup>b</sup>	65.4 <sup>b</sup>	65.2 <sup>c</sup>
3000	73.2 <sup>b</sup>	45.1 <sup>b</sup>	69.0 <sup>ab</sup>	73.5 <sup>b</sup>
6000	76.9 <sup>ab</sup>	49.5 <sup>a</sup>	77.7 <sup>a</sup>	84.9 <sup>a</sup>
12 000	77.7 <sup>a</sup>	53.4 <sup>a</sup>	79.9 <sup>a</sup>	94.8 <sup>a</sup>
SEM	1.7	1.4	2.0	2.3

Les exposants <sup>a-e</sup> différents dans une même colonne indiquent une différence de significativité ( $P < 0.05$ ).

#### 2.3.3.3. Vitamine D<sub>3</sub> et ses dérivés (1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub> et 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>)

Plusieurs études ont montré que l'addition de vitamine D<sub>3</sub> ou de ses dérivés (le 1,25-dihydroxycholécalférol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) aussi bien que le 1 $\alpha$ -cholécalférol hydroxylé (1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub>)) stimulerait significativement l'utilisation du phytate par les poulets (Mohammed *et al.* 1991; Edwards Jr. 1993; Biehl & Baker 1997; Edwards Jr. 2002). L'utilisation du phytate de régimes déficients en phosphore passerait de 31-50 % à 68-87 % avec l'addition de vitamine D<sub>3</sub>.

Cette stimulation de la rétention de phytate par l'addition des dérivés de la vitamine D<sub>3</sub> pourrait être liée à une augmentation de l'activité ou de la synthèse de la phytase intestinale (endogène) qui a été observée chez les volailles et les porcs (Shafey *et al.* 1991; Biehl & Baker 1997), mais uniquement sur des régimes présentant des taux inadéquats de phosphore. Selon Pointillart (1994) ce serait plutôt l'absorption de calcium au niveau duodéal, stimulée par la vitamine D<sub>3</sub>, qui permettrait une réduction de la formation de complexes phytate-Ca insolubles et indigestibles dans la partie distale du tube digestif. La vitamine D<sub>3</sub> augmenterait l'hydrolyse du phytate en stimulant l'absorption du calcium, particulièrement si le ratio Ca : P est faible. Enfin, la 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> stimulerait l'absorption du phosphore en facilitant le transport du phosphate au niveau des entérocytes (DeLuca 1989; Edwards Jr. 1993). La synthèse du co-transporteur Na-Pi-IIIb, considéré comme le co-transporteur principal de sodium et de phosphore (Hilfiker *et al.* 1998), semble être régulée par le 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> au niveau de l'intestin grêle des poulets (Katai *et al.* 1999; Han *et al.* 2009). L'addition de 1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub> ou de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> à un aliment supplémenté en phytase microbienne améliorerait la digestibilité apparente de l'azote (Li *et al.* 1998), réduisant ainsi l'excrétion d'azote fécal jusqu'à 25 % chez les porcs en croissance. Enfin, la supplémentation de 1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub> améliorerait l'absorption du zinc, du manganèse, du fer et du cuivre (Biehl *et al.* 1995; Rama Rao *et al.* 2006).

#### 2.3.3.4. Acides aminés synthétiques

La supplémentation d'acides aminés synthétiques dans l'aliment permet d'adapter le profil en acides aminés de l'aliment aux besoins des animaux, principalement pour les acides aminés les plus limitants tels que la lysine, la méthionine et la thréonine (CORPEN 2006a). Par conséquent, une telle supplémentation induit une amélioration de la rétention d'azote et ainsi, une réduction des rejets azotés. Par exemple, la supplémentation en acides aminés soufrés (2 g.kg<sup>-1</sup> de DL-méthionine) permet d'atteindre une rétention azotée de 52 % (contre 43 % sans supplémentation), et une excrétion azotée de 26 g N.kg<sup>-1</sup> de gain de poids (contre 37 sans supplémentation, Huyghebaert & Pack 1996; Xi *et al.* 2007). On peut ainsi réduire sensiblement le taux de protéines dans l'aliment sans affecter les performances des animaux et limiter les rejets azotés (Leclercq 1996; Van Cauwenberghe & Burnham 2001). En effet, une

réduction de 1 % du taux de protéines dans l'aliment entraîne une réduction d'environ 8 % de l'excrétion d'azote (Ferguson *et al.* 1998; Kidd *et al.* 2001).

La supplémentation de méthionine ou de méthionine hydroxy analogue induit également une augmentation de l'activité de la pepsine au niveau proventriculaire (Lu *et al.* 2003), d'où une augmentation de la dégradation des protéines.

#### 2.3.3.5. Acides organiques

L'ajout d'acides organiques (propionique, formique, citrique, lactique, fumarique et ascorbique) à l'aliment pourrait améliorer la digestibilité iléale apparente des protéines et des acides aminés (Mosenthin *et al.* 1992; Kemme *et al.* 1995; Mroz *et al.* 1997) et l'absorption des minéraux tels que le phosphore, le calcium, le zinc... (Jongbloed & Jongbloed 1996). Ces acides organiques agiraient en réduisant le pH du digesta au niveau gastrique, ce qui augmenterait l'activité des enzymes protéolytiques et le temps de rétention du digesta dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal par une réduction de l'ouverture pylorique (Mayer 1994; Partanen & Mroz 1999; Boling *et al.* 2000; Jongbloed *et al.* 2000). Les acides organiques pourraient modifier la morphologie de la muqueuse du tractus gastro-intestinal par une stimulation des sécrétions pancréatiques et servir comme substrat dans le métabolisme intermédiaire. Ce rôle fonctionnel pourrait conduire à l'amélioration de la digestion, de l'absorption et de la rétention de nombreux nutriments alimentaires (Partanen & Mroz 1999). De plus, ces acides pourraient aussi former des complexes avec les minéraux, les rendant plus facilement absorbables (Jongbloed *et al.* 2000). La formation de complexes entre acides organiques et calcium réduirait ainsi la formation de complexes calcium-phytate peu accessibles (Deepa *et al.* 2011).

L'efficacité des acides organiques varierait en fonction du type d'acide et de la composition de la ration. L'acide citrique aurait ainsi un impact positif sur les performances de croissance uniquement quand l'aliment est déficient en phosphore et montre un ratio Ca : P disponible élevé (Boling-Frankenbach *et al.* 2001; Atapattu & Nelligaswatta 2005).

### 2.3.3.6. Probiotiques : *Lactobacillus*

Les probiotiques sont utilisés comme complément alimentaire microbien vivant affectant de façon bénéfique l'animal hôte par une amélioration de la balance microbienne intestinale (Fuller 1989). De nombreuses bactéries sont utilisées comme probiotiques en alimentation de volailles, dont celles du genre *Enterococcus* et *Lactobacillus*.

La supplémentation du régime de poules pondeuses par 0.11 ou 0.22 g.kg<sup>-1</sup> de bactéries *Lactobacillus* induit une réduction de 25 % de l'excrétion d'azote et une augmentation de 76 à 139 % de la rétention de phosphore (Tableau 12, Nahashon *et al.* 1994). Chez le poulet de chair, la supplémentation de *Lactobacilli*, en améliorant la rétention d'azote et de phosphore de 10 et 22 %, respectivement (Angel 1999), permettrait à des animaux nourris avec des régimes déficients (-12 % de protéines, -18 % de phosphore non phytique), de diminuer leur excrétion sans réduire leurs performances.

**Tableau 12 - Effet de l'ajout de *Lactobacillus* au régime sur la rétention d'azote et de phosphore chez des poules pondeuses (Nahashon *et al.* 1994).**

Teneur en <i>Lactobacillus</i> (g/kg d'aliment)	Rétention d'azote (%)	Rétention de phosphore (%)
0	38.3 <sup>b</sup>	14.7 <sup>c</sup>
0.11	47.9 <sup>a</sup>	25.8 <sup>b</sup>
0.22	47.8 <sup>a</sup>	35.2 <sup>a</sup>
<i>P</i> -value	0.01	0.008

L'effet des *Lactobacilli* sur le phosphore s'expliquerait par le fait qu'ils produisent de l'acide lactique dans le tractus gastro-intestinal, permettant ainsi une libération de phosphore à partir du phytate des céréales. Plusieurs hypothèses sont avancées pour expliquer l'effet de ce probiotique sur la rétention azotée. Leur production d'acides organiques pourrait activer les sécrétions de pepsinogène dans la partie supérieure du tractus gastro-intestinal, augmentant ainsi la disponibilité des protéines à l'entrée dans l'intestin grêle. Les *lactobacilli* pourraient aussi produire eux-mêmes des enzymes protéolytiques.

Enfin, utiliser une combinaison des différentes technologies disponibles (maïs muté pauvre en phosphore phytique, supplémentation d'enzymes, réduction du taux de phosphore phytique dans l'aliment), permettrait de réduire la quantité de phosphore total excrété de près de 40 % chez les volailles, 50 % chez les porcs et 30 % chez les bovins laitiers (Council for

Agricultural Science and Technology 2002). En effet, la plupart des stratégies alimentaires de réduction de l'excrétion de phosphore ont induit une augmentation de l'absorption du phosphore mais aussi une réduction des teneurs en phosphore soluble dans les rejets, excepté l'emploi de phytase qui n'induit apparemment pas de modification de la teneur en phosphore soluble (Maguire *et al.* 2006). Par conséquent, nourrir les animaux au niveau de leurs besoins ou utiliser du maïs pauvre en phosphore phytique pourrait contribuer à la réduction de l'impact environnemental négatif des rejets (Maguire *et al.* 2005). L'utilisation conjointe des plantes mutées pauvres en phosphore phytique et de phytase pourrait permettre de réduire l'excrétion de phosphore. En effet, Yan *et al.* (2000) ont observé une réduction de 37.5 % de phosphore excrété avec l'utilisation de maïs muté, améliorée par l'addition de phytase (jusqu'à -58.2 %). Cependant, alors que cette combinaison montre un impact positif avec l'utilisation de maïs ou de soja mutés (Sands *et al.* 2001; Hill & Azain 2009), aucun effet cumulatif n'a été montré lorsque la matière première de l'aliment était de l'orge muté (Htoo *et al.* 2007).

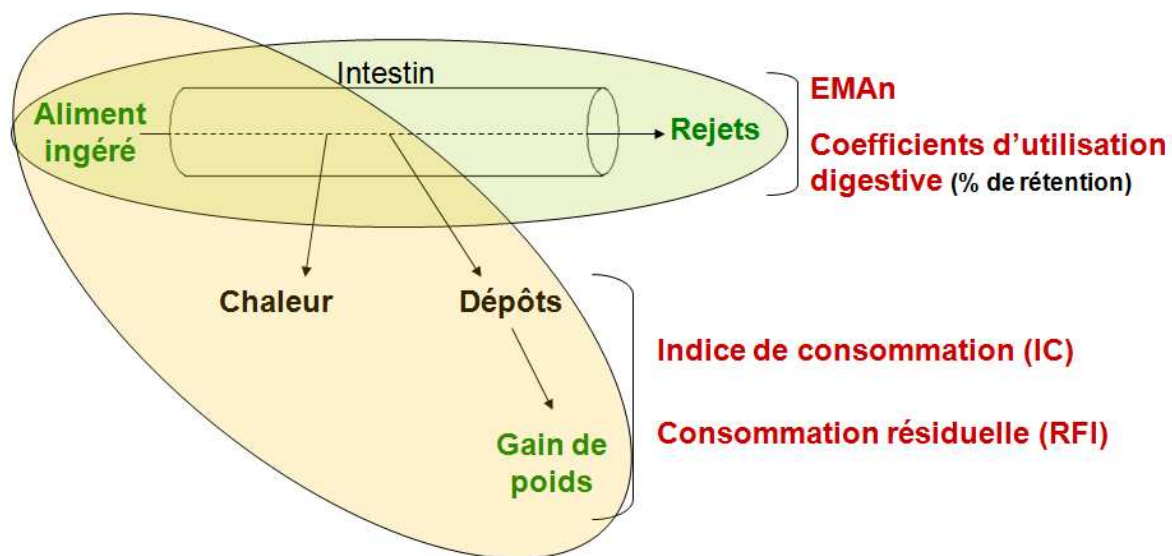
Bien que les différentes stratégies nutritionnelles offrent des possibilités d'amélioration de l'utilisation de l'azote et du phosphore, une approche liant l'alimentation et la sélection génétique sur l'animal pourrait aussi permettre une meilleure maîtrise des rejets. Par conséquent, étudier l'impact de la génétique des animaux sur la maîtrise des rejets pourrait être un autre levier pour réduire l'impact environnemental de la production animale.

## 2.4. Stratégies d'optimisation par la sélection génétique

L'amélioration génétique des animaux est un levier potentiellement puissant pour réduire les rejets. Les critères utilisés jusqu'ici relevaient des performances de croissance, de l'efficacité alimentaire via l'indice de consommation (IC) ou la consommation alimentaire résiduelle (RFI), ou encore de la composition corporelle (Mignon-Grasteau *et al.* 2010a). Plus récemment, il a également été montré que la capacité de l'animal à digérer son aliment présentait aussi une variabilité génétique chez les volailles et les porcs.

Les différences entre efficacité digestive et efficacité alimentaire sont schématisées dans la figure 19. Les critères d'efficacité alimentaire, tels que l'IC ou la RFI, prennent en compte de

nombreux caractères impliqués dans l'ingestion de l'aliment, mais aussi la perte de chaleur (sous forme de température basale, de perte de chaleur liée à l'activité physique ou à l'alimentation), et les dépôts corporels (sous forme de protéines, de lipides ou encore de minéraux). Par conséquent, les mesures d'efficacité alimentaire tiennent compte du gain de poids des animaux ainsi que de leur consommation alimentaire, mais ne prennent pas en compte les caractéristiques d'excrétion des animaux. A l'inverse, les critères d'efficacité digestive tiennent compte de la consommation alimentaire ainsi que des caractéristiques d'excrétion, mais pas des caractéristiques métaboliques comme les dépôts corporels ou les pertes de chaleur.

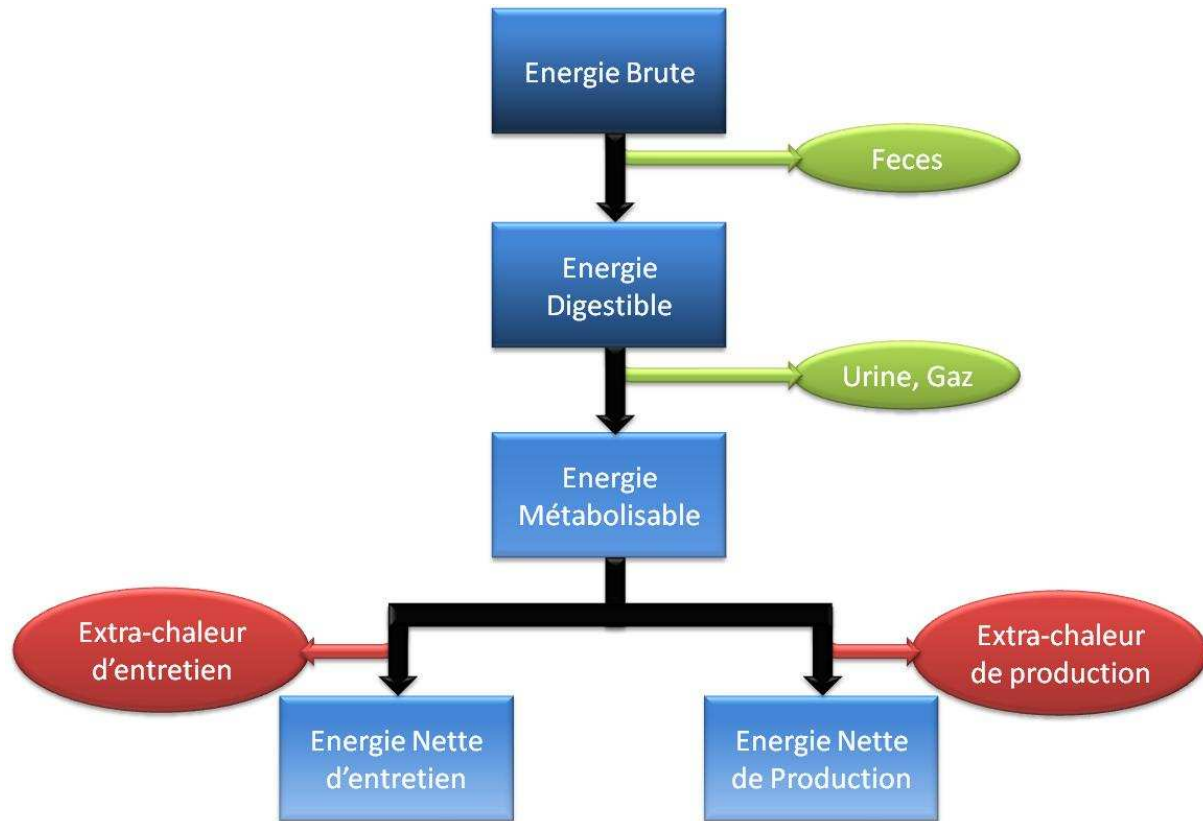


**Figure 19 - Schéma explicatif des différences entre efficacité alimentaire et efficacité digestive.**

L'efficacité digestive chez l'oiseau peut être estimée d'une manière globale par la mesure de l'énergie métabolisable (EM) d'un aliment (cf. Figure 20). L'EM correspond à l'énergie brute (EB) d'un aliment à laquelle est soustraite l'énergie brute perdue dans les fèces et l'urine. Chez l'oiseau, les fèces et l'urine sont excrétées simultanément au niveau du cloaque, le critère d'énergie digestible n'est donc pas utilisé, car il est extrêmement difficile à mesurer. L'énergie métabolisable vraie (EMV), qui prend en compte les pertes fécales et urinaires endogènes non liées à la consommation alimentaire, est généralement supérieure de 5 à 10% à l'énergie métabolisable apparente (EMA) qui ne prend pas en compte ces pertes d'origine endogènes. Enfin, pour supprimer les variations d'origine métabolique dans les mesures d'EMA, on effectue une correction pour un bilan azoté nul (EMAn). Les variations d'EMAn



s'assimilent alors aux seules variations d'origine digestives. Ces mesures d'efficacité digestive peuvent aussi s'appliquer à des constituants alimentaires précis. On parle alors de digestibilité des nutriments, ou de coefficient d'utilisation digestive, correspondant à la proportion d'un nutriment qui est digéré et absorbé par rapport à sa quantité ingérée.



**Figure 20 - Différences entre énergie brute, digestible, métabolisable et nette.**

#### 2.4.1. Sélection sur la vitesse de croissance

Les poulets de chair sont depuis plusieurs décennies fortement sélectionnés pour leur croissance rapide. Cette stratégie de sélection a induit une amélioration de l'efficacité alimentaire (Buyse *et al.* 1998). En effet, bien que la consommation alimentaire brute soit augmentée de 10 g par jour entre 17 et 28 jours, et jusqu'à 20 g par jour dans les dernières semaines d'élevage (Deeb & Cahaner 2002), l'ingestion rapportée au gain de poids est réduite, d'où une baisse de l'IC. De plus, afin d'atteindre le poids d'abattage commercial de 2 kg, les poulets à croissance rapide sont élevés moins longtemps, et par conséquent, ont une consommation alimentaire totale plus faible que les animaux à croissance plus lente (Pym 1990). Cette période d'élevage plus courte raccourcit également la période d'excrétion

(CORPEN 2006a), un poulet Label Rouge (à croissance lente) excrètera 118 g d'azote en 81 jours, soit 2.3 fois plus qu'un poulet standard à croissance rapide en 35 à 40 jours.

Les animaux à croissance rapide montrent des ratios synthèse : dégradation des protéines plus élevés que les animaux à croissance lente, ce qui est probablement expliqué par une réduction des coûts de maintenance et/ou une meilleure efficacité de gain de poids (Herd *et al.* 1991; Oddy *et al.* 1998). Les niveaux d'IGF-I (facteur de croissance analogue à l'insuline I) plasmatiques, qui favorisent l'accrétion protéique et donc la rétention d'azote, sont ainsi plus élevés chez des lignées de poulets sélectionnées sur la vitesse de croissance ou la consommation alimentaire que chez leurs témoins non sélectionnés (Tomas *et al.* 1991).

Cette augmentation de la vitesse de croissance des animaux n'est pas uniquement due à l'amélioration génétique. En effet, afin d'optimiser les performances de croissance, il est nécessaire d'utiliser des régimes alimentaires de très bonne qualité et facilement digestibles. Nourris avec ces régimes très bien équilibrés, les animaux vont plus facilement absorber les nutriments, et par conséquent, réduire leur excrétion, comparés à des animaux à croissance lente qui sont nourris avec des aliments dits « dilués ».

#### 2.4.2. Sélection sur l'efficacité alimentaire (IC et RFI)

Les deux principaux caractères de sélection de l'efficacité alimentaire sont l'indice de consommation (IC), correspondant au ratio de la quantité d'aliment consommée rapporté au gain de poids, et la consommation alimentaire résiduelle (RFI), qui a été définie par Nordskog *et al.* (1972) comme la différence entre la consommation alimentaire observée et son estimation obtenue par régression sur le poids et le niveau de production (gain de poids et/ou production d'œufs).

L'efficacité d'utilisation de l'aliment est un caractère complexe influencé par un grand nombre de composantes physiologiques, incluant la consommation alimentaire (nombre et durée des repas par exemple), la digestibilité, le métabolisme basal (incluant le turnover des protéines, le métabolisme tissulaire et le stress), les besoins d'énergie pour la croissance (rendements en muscle et en gras), les pertes endogènes de protéines ainsi que les pertes externes (comme les pertes de chaleur, Pym 1990; Zhang & Aggrey 2003; Herd & Arthur 2009). La sélection d'animaux plus efficaces entraîne donc de nombreuses conséquences. En effet, une telle sélection diminue l'engraissement des animaux par rapport à ceux

sélectionnées pour leur vitesse de croissance (Pym & Solvyns 1979; Leenstra & Pit 1988; Buyse *et al.* 1998). L'énergie retenue sous forme de protéines rapportée au poids métabolique tend à être plus élevée chez les poulets sélectionnés pour l'efficacité alimentaire que chez ceux sélectionnés pour leur vitesse de croissance. Les premiers présentent en outre un taux de dégradation des protéines musculaires plus faibles que les seconds (Tomas *et al.* 1991). Chez la poule pondeuse, la sélection pour de fortes (R+) et de faibles (R-) valeurs de consommation résiduelle (Bordas & Mérat 1984), a entraîné un niveau d'acide urique circulant plus élevé chez les R+ (Swennen *et al.* 2007), ce qui indiquerait une dégradation des acides aminés plus importante chez les R+ comparé aux R- (Goldstein & Skadhauge 2000).

Les différences d'énergie retenue pour les dépôts de gras sont encore plus prononcées, et dans le sens inverse de l'énergie retenue sous forme de protéines (Buyse *et al.* 1998).

Améliorer l'efficacité alimentaire permet de réduire les rejets (Pym 1990; Pinares-Patino *et al.* 2003; Zhang & Aggrey 2003; Hill & Azain 2009). Par exemple, Bouvarel *et al.* (2006) ont montré qu'une diminution de l'IC des poulets de chair standards de 4.8 % permettrait de réduire de 9 et 8 % les rejets azotés et phosphorés, respectivement. Par conséquent, réduire l'indice de consommation de 2.0 à 1.6 engendrerait une baisse des rejets azotés de 14 g par animal, soit 64 %.

La nature composite de l'IC et de RFI se retrouve dans les études de QTL (Quantitative Trait Loci) de ces caractères. Les QTL détectés pour l'efficacité alimentaire colocalisent en général avec des QTL de taux de croissance ou de rendement en muscle (Duthie *et al.* 2008; Gilbert *et al.* 2010).

### 2.4.3. Sélection sur la composition corporelle

La sélection d'animaux sur leur engraissement ou le taux de viande maigre, en modifiant le métabolisme protéique, va également influencer les rejets. Ainsi, la rétention des protéines est plus élevée chez les poulets sélectionnés pour un faible engraissement que chez ceux sélectionnés pour un fort engraissement (MacLeod *et al.* 1988; Geraert *et al.* 1990; Leenstra & Cahaner 1991). L'excrétion annuelle d'azote des animaux de la lignée maigre ont été estimés à 10.0 kg contre 15.8 kg pour ceux de la lignée grasse (Morel & Wood 2005).

De façon similaire, chez le porc, la concentration d'urée plasmatique est fortement corrélée à la croissance musculaire ( $r = -0.80$  à  $-0.86$ ) et à l'engraissement ( $r = 0.81$  à  $0.90$ , Gourley &

Zimmermann 1993; Hahn & Baker 1994; Coma *et al.* 1995). Sélectionner des animaux sur de faibles valeurs de concentration en urée plasmatique permettrait donc d'améliorer l'efficacité d'utilisation des protéines pour la maintenance et l'accrétion des tissus musculaires et donc de réduire l'impact environnemental des élevages.

La sélection de porcs pour une forte (HB) ou une faible (LB) structure osseuse avec un régime déficient en phosphore a modifié le métabolisme du phosphore. En situation de déficit en phosphore, les animaux de la lignée HB « sacrifient » leur vitesse de croissance au bénéfice de l'intégrité osseuse alors que les LB ont la stratégie inverse (Hittmeier *et al.* 2006). Le niveau des transcrits de plusieurs gènes impliqués dans le métabolisme du phosphore, dont le récepteur de la calcitonine, sont augmentés chez les HB. Ceci suggère des différences dans la régulation du métabolisme du phosphore entre les deux lignées. De plus, puisque le développement des os demande une grande quantité de phosphore, sélectionner des animaux capables de former des os solides avec un régime déficient en phosphore permettrait de réduire de façon substantielle les apports de phosphore dans l'aliment, et par conséquent, réduire l'excrétion de phosphore.

#### 2.4.4. Sélection sur la capacité à digérer

Il a longtemps été admis qu'à l'opposé de la consommation et l'efficacité alimentaire ainsi que l'utilisation d'énergie, la digestibilité ne dépendait pas de la génétique (Pym 1990). Cependant, il a été récemment montré par Mignon-Grasteau *et al.* (2004) qu'avec un aliment à base de blé, la digestibilité de l'énergie, mesuré par le critère de l'EMAn (énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul) était fortement héritable chez les poulets de chair ( $h^2 = 0.37$ ), ce qui n'est pas le cas lorsque les animaux sont nourris avec un aliment à base de maïs-soja ( $h^2 = 0.10$  à  $0.15$ , Ankra-Badu *et al.* 2010; Mignon-Grasteau *et al.* 2010b). La sélection divergente de poulets sur la capacité à digérer un aliment à base de blé difficilement digestible, basée sur le critère de l'EMAn entre 20 et 23 jours d'âge a abouti à une valeur d'EMAn de 30 à 40 % plus élevée chez les bons digesteurs (D+) que chez les mauvais digesteurs (D-). De plus, les D+ digèrent mieux les protéines et excrètent par conséquent moins d'azote que les D-. La sélection a aussi affecté la quantité de phosphore excrété, avec une réduction de près de 66 % chez les D+ par rapport aux D- (Mignon-Grasteau *et al.* 2010c). Bien que les D- consomment 18.5 % plus d'aliment que les D+, les

différences de poids de fientes sèches rapporté à la consommation alimentaire sont toujours significatives, avec les D+ excréant 26.8 % de moins que les D- (Mignon-Grasteau *et al.* 2010c). Ces différences pourraient provenir d'une modification de la morphologie ou du développement du tractus gastro-intestinal, l'EMAn étant positivement phénotypiquement corrélé avec le poids du gésier relatif au poids vif chez les D+ ( $\rho=0.45$ ) et négativement corrélé avec le poids relatif de l'intestin grêle chez les D- ( $\rho=-0.35$ , Mignon-Grasteau *et al.* 2010c). Cette sélection semble également avoir affecté la teneur en eau des fientes, d'environ 5 à 10 % plus élevée chez les D+ que chez les D- (Lafeuille 2007; Mignon-Grasteau *et al.* 2010c).

Plusieurs études ont également suggéré l'existence d'une variance génétique faible pour la capacité des poulets à digérer le phosphore phytique ( $h^2 = 0.09 \pm 0.03$ , Zhang *et al.* 2003; Ankra-Badu *et al.* 2010). Zhang *et al.* (2003) ont réalisé une expérience de sélection divergente sur la biodisponibilité du phosphore phytique (PBA) chez des poulets de chair nourris avec un aliment à base de maïs-soja. L'héritabilité de PBA est faible ( $0.09\pm 0.03$ ). Après 3 générations de sélection sur PBA, l'écart entre les deux lignées divergentes était de 9.7 % (Zhang *et al.* 2005a). La lignée sélectionnée pour une forte PBA présente des concentrations d'IGF-I et  $T_3$  supérieures et des concentrations d'IGF-II et de glucagon inférieures aux poulets sélectionnés pour un faible PBA (Sethi *et al.* 2008). Or, un niveau élevé d'IGF-I augmente significativement la réabsorption du phosphore dans les tubules rénaux (Caverzasio *et al.* 1990; Laroche & Boyer 2005), et le niveau sanguin de  $T_3$  est un indicateur de la capacité des poulets à retenir le phosphore phytique (Sethi *et al.* 2008). Par conséquent, les gènes liés au mécanisme des hormones thyroïdiennes pourraient être une clé dans l'identification des gènes associés à la biodisponibilité du phosphore phytique.

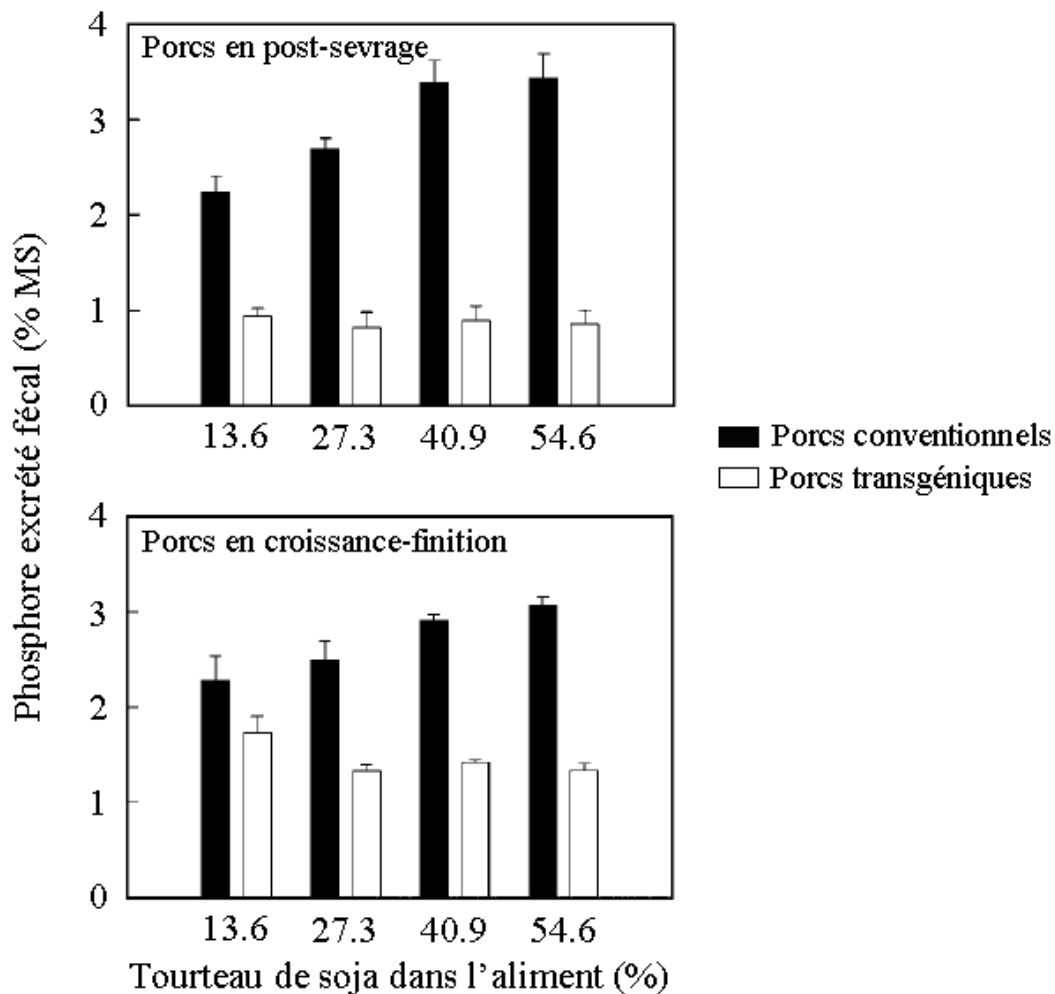
Une étude récente a estimé l'héritabilité de la disponibilité du calcium et de l'azote à 0.13, et 0.16 (Ankra-Badu *et al.* 2010). Grâce aux corrélations génétiques estimées dans cette étude, il est possible de suggérer qu'une sélection génétique pour améliorer la biodisponibilité du phosphore phytique conduise aussi à une amélioration de la biodisponibilité du calcium, de l'énergie, ainsi qu'à une amélioration de la vitesse de croissance (Ankra-Badu *et al.* 2010). Puisque le phosphore est vital pour la formation d'énergie sous forme d'ATP et d'ADP, il ne paraît pas surprenant d'observer des corrélations génétiques positives entre la biodisponibilité de l'énergie et du phosphore phytique.

Hormis dans les études de Mignon-Grasteau *et al.* (2004; 2010a), les estimations d'héritabilité de la digestibilité et de la biodisponibilité sont relativement faibles. Cette divergence pourrait être liée à l'utilisation par ces auteurs d'un régime difficile à digérer, à l'inverse des autres

études. Ce régime difficilement digestible (à base de blé) augmente la variabilité de digestibilité entre animaux par rapport à un régime à base de maïs (Mignon-Grasteau *et al.* 2010b). Cette hypothèse est confirmée par le fait que l'héritabilité de l'EMAn, du CUD des protéines et des lipides, estimée sur les mêmes lignées D+ et D-, est beaucoup plus élevée avec un aliment à base de blé qu'avec un aliment à base de maïs (0.32 et 0.09 pour l'EMAn, 0.24 et 0.04 pour le CUD des protéines, et 0.29 et 0.09 pour le CUD des lipides, respectivement avec un aliment à base de blé et de maïs, (Mignon-Grasteau *et al.* 2010b), seul le CUD de l'amidon présentant la même héritabilité avec les 2 régimes ( $h^2 = 0.25$ ). De plus, les corrélations génétiques entre EMAn et CUDs (amidon, lipides et protéines) sont plus faibles quand l'aliment est à base de maïs que lorsque les animaux sont nourris avec un aliment à base de blé. Ceci suggère qu'une sélection pour améliorer l'EMAn pourrait avoir un plus fort effet sur les CUDs si l'EMAn est mesurée avec un aliment à base de blé plutôt qu'avec un aliment à base de maïs.

Chez le porc, Golovan *et al.* (2001) ont développé une lignée de porcs transgéniques, appelés Enviropigs<sup>TM</sup>, qui sécrètent de la phytase dans leur salive, permettant d'utiliser le phosphore phytique de façon plus efficace. En effet, l'apport de phytase salivaire chez ces porcs permet la digestion presque complète du phosphore phytique alimentaire (contre environ 50 % pour les porcs non transgéniques), ce qui permet de réduire considérablement les besoins de supplémentation en phosphore inorganique dans l'aliment, et diminue l'excrétion de phosphore fécal des porcs de plus de 75% (Figure 21, Golovan *et al.* 2001). Une expérience similaire a été entreprise chez la caille, dans laquelle on recherche la production de phytase dans le proventricule (Guenther *et al.* 2006).

L'utilisation de ces porcs transgéniques permettrait aussi de réduire de 17 % les rejets d'azote sous forme de  $\text{NH}_4^+$  par rapport aux porcs conventionnels. Enfin, il semble que les sols traités avec les rejets des porcs conventionnels ont de plus fortes concentrations en  $\text{NO}_3\text{-N}$  et azote inorganique total que les sols traités avec les rejets des porcs transgéniques. (Yang *et al.* 2006). Trois autres protéines montrent des profils d'expression différents entre lignées transgénique et non transgénique (Verschoor *et al.* 2006). En effet, l' $\alpha$ -amylase et le lysozyme C1 sont sous-exprimés chez les porcs transgéniques, avec des expressions 3.53 et 2.01 fois plus faibles comparé aux porcs conventionnels (Verschoor *et al.* 2006).



**Figure 21 - Teneur en phosphore total (rapporté à la matière sèche MS) dans les excréta fécaux de porcs conventionnels et de porcs transgéniques nourris avec différents niveaux de tourteaux de soja dans l'aliment comme seule source de phosphore alimentaire (d'après Golovan *et al.* 2001).**

Seule une étude a à ce jour envisagée une sélection directe contre les rejets. Cette étude consistait en une expérience de sélection visant à réduire les rejets de méthane (CH<sub>4</sub>) chez les ruminants. Cependant, la faible répétabilité des mesures n'a pas permis d'obtenir des résultats très probants (Goopy & Hegarty 2004; Vlaming *et al.* 2008). En effet, alors que des animaux émettant des quantités de méthane très différentes ont été identifiés dans un premier temps, la répétition de ces mesures à des stades ultérieurs n'a pas permis de confirmer les différences de classement observées entre animaux à la première mesure. Ce manque de répétabilité du rang des animaux pourrait être expliqué par la fiabilité des techniques de mesures mais aussi par des variations naturelles d'émissions de méthane de chaque animal. En effet, Vlaming *et al.* (2008) ont montré que les coefficients de variation du rendement en CH<sub>4</sub> journalier

(g CH<sub>4</sub>.kg<sup>-1</sup> MS d'aliment) étaient compris entre 8 et 18 % pour chaque animal, et par conséquent, ces auteurs n'estime la répétabilité de la mesure qu'entre 47 et 73 %.

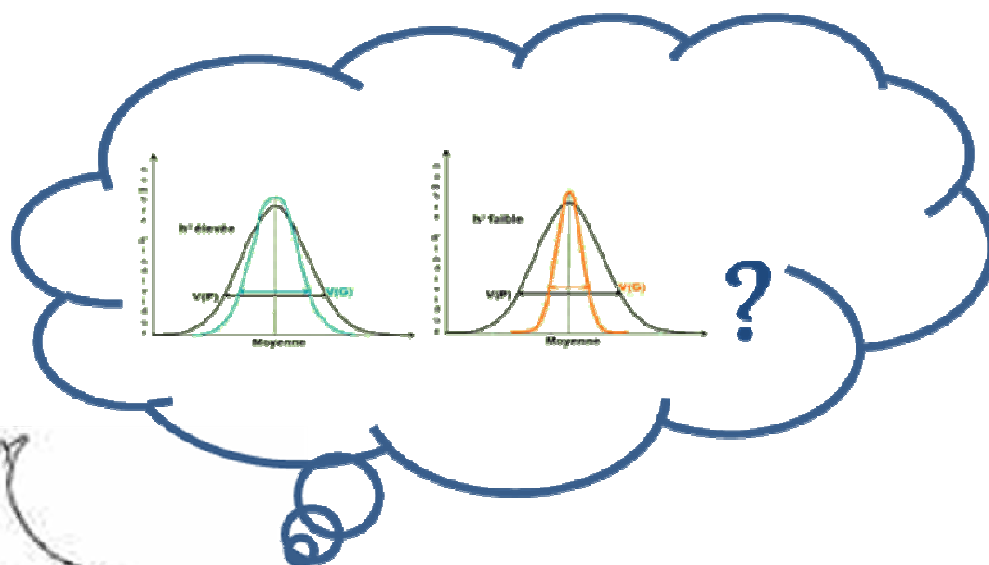
Il n'existe donc pas à l'heure actuelle de données permettant d'évaluer la possibilité d'une sélection directe sur les rejets, que ce soit pour la quantité, la composition ou les caractéristiques physico-chimiques.



Deuxième partie :  
Résultats expérimentaux



# CHAPITRE I – Estimation des paramètres génétiques





Envisager d'introduire en sélection les critères liés à l'environnement implique tout d'abord de disposer des paramètres génétiques des critères potentiels, ainsi que de leurs corrélations génétiques avec des caractéristiques importantes sur le plan économique. Il est également pertinent de disposer des corrélations génétiques avec d'autres caractères qui n'ont pas une valorisation économique directe, mais qui permettent de comprendre les mécanismes physiologiques impliqués dans la production des rejets. Cette première partie repose sur l'utilisation d'environ 630 animaux issus des lignées D+ et D- de la 8<sup>ème</sup> génération de sélection. Bien que ce nombre soit relativement modeste pour estimer des corrélations génétiques, il est néanmoins suffisant pour estimer l'héritabilité de nouveaux caractères, et il représente un dispositif expérimental de très grande ampleur, d'autant que cette étude a été l'occasion de réaliser un phénotypage très large des animaux, près de 70 caractères ayant été mesurés. Ces caractères avaient bien entendu attiré à l'efficacité digestive, mais également pour la première fois aux rejets (quantité, composition en azote, phosphore, teneur en eau). D'autre part, plusieurs études ayant montré un développement différentiel du tractus gastro-intestinal entre ces deux lignées (Péron *et al.* 2006; Garcia *et al.* 2007; Rougère *et al.* 2009; Rougère & Carré 2010), la morphologie du tractus gastro-intestinal a été incluse dans l'analyse (poids du gésier, proventricule et des segments intestinaux, longueur et densité des segments intestinaux). Pour évaluer les conséquences économiques d'une telle sélection, des caractères liés à la croissance, l'efficacité alimentaire et la composition corporelle ont également été inclus. Enfin, des caractères liés au métabolisme du phosphore ont également été intégrés, celui-ci étant à la fois un élément clé des rejets et de la structure osseuse.

Pour faciliter la lecture, les résultats de cette étude ont été répartis en 3 articles :

- Le premier a permis de mettre en évidence les liens génétiques entre le développement du tractus gastro-intestinal et les efficacités alimentaire et digestive. Cette étude a fait l'objet d'un article publié dans BMC Genetics (de Verdal *et al.* 2011a).
- Le deuxième a permis d'estimer l'héritabilité des caractéristiques des rejets, et leurs liens avec l'efficacité digestive et la morphologie du tractus gastro-intestinal. Cette étude a fait l'objet d'un article publié dans BMC Genetics (de Verdal *et al.* 2011b).
- Le troisième a consisté à évaluer les corrélations génétiques entre rejets et efficacité digestive d'une part et caractéristiques métaboliques post-digestives telles que le métabolisme du phosphore d'autre part. Cette dernière partie fait l'objet d'un article que nous voulons soumettre dans Genetics Selection Evolution.



ARTICLE I - Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency

**Hugues de Verdal<sup>1</sup>, Agnès Narcy<sup>1</sup>, Denis Bastianelli<sup>2</sup>, Hervé Chapuis<sup>3</sup>, Nathalie Mème<sup>1</sup>, Séverine Urvoix<sup>1</sup>, Elisabeth Le Bihan-Duval<sup>1</sup>, Sandrine Mignon-Grasteau<sup>1§</sup>**

BMC Genetics 12 : 59

<sup>1</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>2</sup>CIRAD, UMR SELMET, 34398 Montpellier cedex 5, France.

<sup>3</sup>SYSAAF, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>§</sup> Corresponding author : [sandrine.grasteau@tours.inra.fr](mailto:sandrine.grasteau@tours.inra.fr)





1 **Abstract**

2

3 **Background**

4 Feed costs represent about 70% of the costs of raising broilers. The main way to decrease  
5 these costs is to improve feed efficiency by modification of diet formulation, but one other  
6 possibility would be to use genetic selection. Understanding the genetic architecture of the  
7 gastro-intestinal tract (GIT) and the impact of the selection criterion on the GIT would be of  
8 particular interest. We therefore studied the genetic parameters of AMEn (Apparent  
9 metabolisable energy corrected for zero nitrogen balance), feed efficiency, and GIT traits in  
10 chickens.

11 Genetic parameters were estimated for 630 broiler chickens of the eighth generation of a  
12 divergent selection experiment on AMEn. Birds were reared until 23 d of age and fed a  
13 wheat-based diet. The traits measured were body weight (BW), feed conversion ratio (FCR),  
14 AMEn, weights of crop, liver, gizzard and proventriculus, and weight, length and density of  
15 the duodenum, jejunum and ileum.

16 **Results**

17 The heritability estimates of BW, FCR and AMEn were moderate. The heritability estimates  
18 were higher for the GIT characteristics except for the weights of the proventriculus and liver.  
19 Gizzard weight was negatively correlated with density (weight to length ratio) of duodenum,  
20 jejunum and ileum. Proventriculus and gizzard weights were more strongly correlated with  
21 AMEn than with FCR, which was not the case for intestine weight and density.

22 **Conclusions**

23 GIT traits were largely dependent on genetics and that selecting on AMEn or FCR would  
24 modify them. Phenotypic observations carried out in the divergent lines selected on AMEn  
25 were consistent with estimated genetic correlations between AMEn and GIT traits.

26

## 27 **Background**

28

29 Improving feed efficiency is a major factor in reducing the costs of poultry production and the  
30 environmental impact of chicken production. Many genetic studies have shown that feed  
31 efficiency could be improved by selecting on growth, FCR (feed conversion ratio) or feed  
32 intake, which are heritable [1]. Mignon-Grasteau *et al.* [2] recently showed that the ability of  
33 the animal to digest its feed could also be used as a selection criterion. Following this study,  
34 two lines (D+ and D-) were divergently selected on digestive efficiency assessed by the  
35 AMEn (Apparent Metabolisable Energy corrected for zero nitrogen retention) of a wheat-  
36 based diet, measured at 3 weeks of age. After 7 generations of selection, D+ and D- lines  
37 differed by about 30 to 40% on the selection criterion, but presented similar body weights [3].  
38 Mignon-Grasteau *et al.* [2] and Rougière *et al.* [4] also showed that levels of starch, protein,  
39 and lipid digestibility were greater for D+ birds compared to D- birds. These lines also  
40 differed in feed consumption which was much higher in D- [5] and in the morphology of the  
41 digestive tract [4, 6] since D+ birds presented a heavier proventriculus and gizzard and a  
42 lighter, shorter and less dense small intestine than D- birds at 23 d of age. These strongly  
43 correlated changes of gastro-intestinal tract organs suggested that both these traits were  
44 heritable and genetically correlated with AMEn.

45 The aim of the present study was therefore to understand the impact of the selection criterion  
46 (AMEn, FCR or residual feed intake (RFI)), on the characteristics of the GIT. Estimation of  
47 the genetic parameters should make it possible to establish how selection impacts on the  
48 morphology of the gut organs and to offer the opportunity to anticipate any undesirable  
49 effects of AMEn selection.

**Table 1 - Composition of diet distributed during the rearing period.**

Ingredients	Amount (g.kg <sup>-1</sup> )
Corn	60.4
Wheat (Rialto)	525.0
Soybean meal 48	284.0
Corn gluten 60	31.0
Soybean oil	60.0
DL methionine	1.2
L-Lysine 78	2.2
Calcium carbonate	13.4
Dicalcium phosphate	15.8
Sodium chloride	3.0
Mineral and vitamin mix <sup>1</sup>	3.5
Robenidine <sup>2</sup>	0.5
<hr/>	
Characteristics <sup>3</sup> (calculated)	
AMEn (kcal. kg <sup>-1</sup> )	2 943
Crude proteins (%)	20.5
Lysine (%)	1.16
Methionine + Cystine (%)	0.76
Calcium (%)	1.11
Total phosphorus (%)	0.66
Non-phytate phosphorus (%)	0.42

<sup>1</sup>Supplied per kilogram of diet: 0.5 mg Co; 16 mg Cu; 47 mg Fe; 1.6 mg I; 65 mg Mn; 0.2 mg Se; 72 mg Zn; 12,000 IU retinyl acetate; 3,440 IU cholecalciferol; 80 mg dl- $\alpha$  tocopheryl acetate; 4 mg thiamine; 6.4 mg riboflavin; 20 mg calcium pantothenate; 0.02 mg vitamin B12; 4 mg menadione; 5.6 mg pyridoxine hydrochloride; 0.4 mg folic acid; 0.24 mg biotin; 80 mg niacin; 440 mg choline; 40 mg antioxidant; <sup>2</sup>Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ; <sup>3</sup>Calculated [36]

## 50 **Methods**

51

### 52 **Birds and Housing**

53

54 The experiment was conducted according to the guidelines of the French Ministry of  
55 Agriculture for Animal Research. It included 630 birds (307 males and 323 females) of the 8<sup>th</sup>  
56 generation of selection of D+ and D- lines [2], reared in 3 hatches each separated by 4 wk.  
57 The pedigree included animals from all generations (i.e., 4495 birds: 122 and 132 sires for D+  
58 and D-, respectively, corresponding to 16.5 and 15.5 offspring per sire for D+ and D-  
59 respectively). They were individually weighed at hatching and placed in groups of 4 or 5  
60 chicks in metal cages (36 cm long × 22 cm wide × 40 cm high) for 3 d. After 3 d, chicks were  
61 randomly allocated to individual cages, in 3 different rearing rooms. The environmental  
62 conditions were controlled in terms of ventilation, lighting program (24L: 0D from 1 d to 7 d  
63 and 23L: 1D from 8 d to 23 d, dark periods beginning at midnight) and temperature (from  
64 33°C at 1 d to 22°C at 23 d). Mortality was recorded daily. The birds had free access to water  
65 and food. They were fed a wheat-based diet similar to that used during the selection  
66 experiment (Table 1 [2]).

67

### 68 **Growth Traits and Morphology of Digestive Tract**

69

70 All birds were individually weighed at 17 d and 23 d (BW23). The weight gain (WG)  
71 between 17 and 23 d of age was calculated. Total individual feed intake (FI) was also  
72 recorded from 17 to 23 d and feed conversion ratio during this period (FCR) was calculated.  
73 The apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen retention (AMEn) was  
74 individually measured between 17 and 23 d using a method based on collection of total

75 excreta, as described by Bourdillon *et al.* [31]. AMEn was measured for all birds using Near  
76 Infrared spectrophotometry (NIRS, Foss spectrometer NIRSystems 6500, Inc., Silver Spring,  
77 MD) to determine gross energy content of excreta, according to the method of Bastianelli *et*  
78 *al.* [32]. Residual feed intake (RFI) was calculated as the difference between the observed  
79 feed intake and the feed intake predicted by regression on BW and BW gain (BWG) between  
80 17 and 23 d, according to the method of Tixier-Boichard *et al.* [33].  
81 At 23 d of age after overnight fasting (8 h) all remaining chicks were sacrificed by CO<sub>2</sub>  
82 inhalation. The crop, liver, proventriculus and gizzard were excised and weighed (CW, LW,  
83 PRW, and GZW, respectively). The duodenum (from pylorus to pancreatic loop), jejunum  
84 (from the pancreatic loop to Meckel's diverticulum), and ileum (from Meckel's diverticulum  
85 to the ileo-caecal junction) were sampled and their lengths measured (DL, JL, and IL,  
86 respectively). Segments were then emptied and weighed (DW, JW, and IW, respectively). The  
87 weight to length ratio of each segment (DD, JD, and ID, respectively) was also calculated as  
88 an indicator of intestine density [14]. Organ weights and lengths were always expressed per  
89 kg of BW, corresponding to relative weight and relative length, in order to avoid any  
90 confusion between the weights and lengths GIT traits differences and the BW23 differences  
91 between D+ and D- birds.

92

### 93 Statistical Analyses

94

95 All data were analyzed according to the General Linear Models (GLM) procedure of SAS  
96 [34]. The following model was used:

$$97 \quad y_{ijklm} = \mu + L_i + C_j + H_k + S_l + LC_{ij} + LH_{ik} + e_{ijklm} \quad [1]$$

98 where  $y_{ijklm}$  is the performance of animal m,  $\mu$  the general mean,  $L_i$  the fixed effect of line i  
99 (i = D+ or D-),  $C_j$  the effect of rearing room j (j = 1 to 3),  $H_k$  the fixed effect of hatch k (k = 1

100 to 3),  $S_l$  the fixed effect of sex l,  $LC_{ij}$  the effect of the interaction between line i and rearing  
101 room j,  $LH_{ik}$  the effect of the interaction between line i and hatch k, and  $e_{ijklm}$  the residual  
102 pertaining to animal m. Least square means and standard deviations were estimated for D+  
103 and D- lines, for each trait. Differences were considered significant when the *P*-value was  
104 lower than 0.05. The relative differences between lines were calculated as the ratio of the D+  
105 value to the D- value. In order to check whether the differences in the gastro-intestinal tract  
106 morphology between the lines were not due to the differences in feed intake, a covariance  
107 analysis was performed with the GLM procedure of SAS [34] including FI in covariate in the  
108 analysis model [1].

109

#### 110 Estimation of genetic parameters

111

112 Genetic parameters were estimated by the REML (REstricted Maximum Likelihood) method  
113 with VCE4 software [35]. For all estimates, the model used was equation [1] with the addition  
114 of the additive genetic effect of animal ( $N = 4495$ ). Preliminary analyses indicated the  
115 presence of a significant maternal effect for BW23, FCR, AMEn, GZW, and PRW. A  
116 permanent environmental maternal effect was therefore included in the model for these traits.  
117 For BW23, FCR and AMEn, data of the eight generations were included in the analysis in  
118 order to take into account the effects of selection in our lines. As several traits were strongly  
119 correlated, it was not possible to run a single analysis including all traits. This is the reason  
120 why distinct multi-trait analyses were performed, always including traits used in the selection  
121 experiment, i.e. AMEn and BW23. A total of 128 analyses were performed. When a  
122 parameter (heritability or genetic correlation between two traits) was estimated in several  
123 analyses, the parameter estimates and the standard errors of parameters presented below are  
124 the means of those obtained in various analyses. Standard errors were not available for several

125 analyses, as several traits presented very high correlations and/or low heritability estimates,  
126 preventing the likelihood maximisation algorithm from reaching a single optimum.

127

128

## 129 **Results**

130

### 131 **Between-line differences**

132

133 The elementary statistics for performance traits and gastro-intestinal morphology for both  
134 lines are reported in Table 2. The sex effect was significant for BW23, FCR, RFI, crop  
135 weight, duodenum length and density. Males were 7.6% heavier and presented a 9.0% higher  
136 FCR than females. The residual consumption was 15% higher for females than for males. A  
137 line effect was significant for all traits, except for crop weight. Indeed, the D+ birds had a  
138 33.5% higher AMEn, a 14.5% higher BW23, a 13.7% higher WG and a 21.5% lower FI than  
139 D- birds. This suggests that the 36.8% difference in FCR between D+ and D- birds could be  
140 attributed to two-thirds to FI and one-third to WG differences. The difference in RFI between  
141 D+ and D- represented 21% of the average consumption. Of the GIT traits, relative gizzard  
142 and proventriculus weights were greater in D+ birds, and the jejunum and ileum were smaller,  
143 shorter, and less dense compared to D- birds. The proventriculus and gizzard weights were  
144 21.9% and 34.0% higher in D+ compared to D- birds, respectively. In contrast, the liver and  
145 the small intestine trait values (relative weight, relative length, and density) were higher in D-  
146 than in D+ birds. Differences were minor for relative liver weight and relative length of  
147 intestinal segments (between 2.7 and 6.0%), moderate for relative duodenum weight and  
148 density (between 10.3 and 13.0%), but much greater for jejunum and ileum relative weights

**Table 2 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Deviation (Coefficients of Variation)) for all traits analysed (N ranging from 570 to 598 according to the trait).**

Trait	D+	D-	D+/D- ratio (%)	Significance of line effect
BW23 <sup>1</sup>	490 $\pm$ 64.5 (13.2)	428 $\pm$ 64.9 (15.2)	14.5	< 0.001
WG	166 $\pm$ 30.6 (18.4)	146 $\pm$ 28.9 (19.8)	13.7	< 0.001
FI	285 $\pm$ 41.8 (14.7)	363 $\pm$ 66.6 (18.3)	-21.5	< 0.001
AMEn	3,278 $\pm$ 148 (4.52)	2,455 $\pm$ 533 (21.7)	33.5	< 0.001
FCR	1.72 $\pm$ 0.39 (22.7)	2.72 $\pm$ 0.54 (19.9)	-36.8	< 0.001
RFI	-33.2 $\pm$ 3.15 (9.49)	34.9 $\pm$ 3.2 (9.17)	- <sup>5</sup>	< 0.001
<i>Weight<sup>2</sup></i>				
Crop	4.78 $\pm$ 0.75 (15.7)	4.74 $\pm$ 0.77 (16.2)	0.84	0.620
Proventriculus	8.19 $\pm$ 2.08 (25.4)	6.72 $\pm$ 1.39 (20.7)	21.9	< 0.001
Gizzard	26.0 $\pm$ 4.2 (16.2)	19.4 $\pm$ 4.23 (21.8)	34.0	< 0.001
Liver	34.0 $\pm$ 3.81 (11.2)	34.9 $\pm$ 3.67 (10.5)	-2.58	0.003
Duodenum	12.7 $\pm$ 2.38 (18.7)	14.6 $\pm$ 2.32 (15.9)	-13.0	< 0.001
Jejunum	17.2 $\pm$ 2.53 (14.7)	23.5 $\pm$ 3.46 (14.7)	-26.8	< 0.001
Ileum	12.8 $\pm$ 1.98 (15.5)	17.9 $\pm$ 2.74 (15.3)	-28.5	< 0.001
<i>Length<sup>3</sup></i>				
Duodenum	49.7 $\pm$ 7.45 (15.0)	51.1 $\pm$ 7.45 (14.6)	-2.74	0.030
Jejunum	87.7 $\pm$ 15.6 (17.8)	93.3 $\pm$ 14.9 (16.0)	-6.00	< 0.001
Ileum	84.2 $\pm$ 16.1 (19.1)	87.4 $\pm$ 14.7 (16.8)	-3.66	0.019
<i>Density<sup>4</sup></i>				
Duodenum	0.26 $\pm$ 0.04 (15.4)	0.29 $\pm$ 0.04 (13.8)	-10.3	< 0.001
Jejunum	0.20 $\pm$ 0.04 (20.0)	0.26 $\pm$ 0.04 (15.4)	-23.1	< 0.001
Ileum	0.16 $\pm$ 0.03 (18.8)	0.21 $\pm$ 0.04 (19.0)	-23.8	< 0.001

<sup>1</sup> BW23, body weight at 23 d (g); WG, body weight gain between 17 and 23 d (g); FI, feed intake between 17 and 23 d (g); AMEn, apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen balance (kcal.kg<sup>-1</sup> DM); FCR, feed conversion ratio between 17 and 23 d (kg.kg<sup>-1</sup>); RFI, residual feed intake (g)

<sup>2</sup> Weight, organ weight in relation to BW23 (g.kg<sup>-1</sup>);

<sup>3</sup> Length, organ length in relation to BW23 (cm.kg<sup>-1</sup>);

<sup>4</sup> Density, weight to length ratio (g.cm<sup>-1</sup>) of the different segments of the GIT

<sup>5</sup> In this case, the difference between the lines is not relevant



149 and densities (between 23.1 and 28.5%). Including FI as covariate in the model of analysis of  
150 gastro-intestinal tract characteristics did not change the results as compared to the model  
151 without FI covariate.

152

### 153 Genetic parameters of performance and feed efficiency

154

155 The genetic parameters of performance traits are shown in Table 3. Heritability estimates  
156 were moderate to high, ranging between  $0.21 \pm 0.02$  for FCR and  $0.47 \pm 0.05$  for FI. Maternal  
157 permanent environmental effects were estimated at  $0.15 \pm 0.01$ ,  $0.08 \pm 0.01$ , and  $0.06 \pm 0.01$   
158 for BW23, AMEn and FCR, respectively.

159 The genetic correlation between FCR and AMEn was not significantly different from unity.

160 This was also the case for the genetic correlations between FI and RFI, and between BW23  
161 and WG. AMEn and RFI were significantly negatively correlated and, in contrast, FCR and  
162 RFI were positively correlated. The BW23 was poorly and negatively correlated with FCR  
163 and AMEn, while it was highly and positively correlated with RFI ( $0.70 \pm 0.05$ ).

164

### 165 Genetic parameters of GIT traits

166

167 The genetic parameters of the characteristics of the GIT morphology are presented in Table 4.

168 Heritability estimates were very low and not significantly above zero for proventriculus and  
169 liver weights. Crop weight was found to be moderately heritable ( $0.21 \pm 0.06$ ). For all other  
170 GIT traits, heritability estimates were high (from  $0.28 \pm 0.06$  for ileum length to  $0.53 \pm 0.11$   
171 for gizzard weight). The maternal permanent environmental effect was found to influence the  
172 relative proventriculus and gizzard weights ( $c^2=0.19 \pm 0.03$  and  $0.12 \pm 0.05$ , respectively) but  
173 not the characteristics of the other components of the GIT.

174 Correlations between components of the upper part of the GIT were heterogeneous. Crop  
175 weight was correlated with proventriculus but not gizzard weight ( $0.53$  and  $0.09$ ,

**Table 3 - Estimated genetic parameters ( $\pm$  standard errors) for body weight at 23 d (BW23), body weight gain (WG), feed intake (FI), apparent metabolisable energy (AMEn), feed conversion ratio (FCR), and residual feed intake (RFI).**

Trait <sup>1</sup>	BW23	WG	FI	AMEn	FCR	RFI
BW23	<b>0.28±0.04</b> <i>0.15±0.01</i>	0.99±0.01	0.66±0.06	0.24±0.06	-0.24±0.06	0.70±0.05
WG		<b>0.30±0.06</b>	0.60±ne <sup>2</sup>	0.24±0.07	-0.35±ne	0.54±ne
FI			<b>0.47±0.05</b>	-0.66±0.05	0.64±ne	0.99±ne
AMEn				<b>0.30±0.02</b> <i>0.08±0.01</i>	-0.98±0.02	-0.60±0.06
FCR					<b>0.21±0.02</b> <i>0.06±0.01</i>	0.57±ne
RFI						<b>0.46±0.06</b>

<sup>1</sup> Estimates of heritability ( $h^2$ ) on the diagonal in bold; maternal permanent environmental effects ( $c^2$ ) on diagonal in italics; genetic correlations ( $r_g$ ) above diagonal. <sup>2</sup> ne: not estimated.

176 respectively). In contrast, a strong positive genetic correlation was found between  
177 proventriculus and gizzard weights (0.81).

178 Whatever the measurement (weight, length or density), the three segments of the small  
179 intestine exhibited strong genetic correlations, slightly lower between the duodenum and the  
180 other two segments (ranging from 0.62 to 0.93) than between the jejunum and ileum (from  
181 0.88 to 0.93). Intestinal density was strongly positively correlated with relative weights of  
182 segments and negatively with their relative lengths, with slightly lower values for the  
183 duodenum than for the jejunum and ileum. Conversely, the genetic correlations between  
184 relative intestinal weight and length were greater for the duodenum ( $r_g=0.67$ ) than for the  
185 jejunum and ileum ( $r_g=0.21$ ). Finally, it was of note that correlations between liver weight and  
186 intestinal traits were also heterogeneous between segments, being strong and positive with JL,  
187 JW, IW and DL, but low to moderate with densities, DW and IL.

188 Liver weight was found to be strongly positively correlated with crop weight, but negatively  
189 with GW. Crop and gizzard weights were uncorrelated with weight, length and density of  
190 intestinal segments, except for a negative correlation between GZW and JD (-0.56). In  
191 contrast, relative proventriculus weight was positively correlated with intestine lengths, DW  
192 and JD, absolute values ranging between 0.51 and 0.65.

193

194 Genetic correlations between digestibility and anatomy of the GIT

195

196 The genetic correlations between the digestibility, performance and feed efficiency and the  
197 GIT morphologic characteristics are shown in Table 5. Relative crop weight was not  
198 correlated with the performance traits. BW23 was moderately to strongly correlated with all  
199 other traits, especially with relative intestine lengths, LW and DD (-0.94 to -0.96, -0.90 and  
200 0.76, respectively). Consistent with the genetic correlation between BW23 and WG (0.99),  
201 the genetic correlations between WG and the GIT morphology traits were similar to those

**Table 4 - Estimates ( $\pm$  standard errors) of heritability (on diagonal) and genetic correlations (above diagonal) for GIT traits**

Trait <sup>1</sup>	CW	PRW	GZW	LW	DW	JW	IW	DL	JL	IL	DD	JD	ID
CW	0.21 $\pm$ 0.06	0.53 $\pm$ 0.14	0.09 $\pm$ 0.06	0.75 $\pm$ 0.13	0.18 $\pm$ 0.08	-0.14 $\pm$ 0.13	0.04 $\pm$ 0.10	0.23 $\pm$ 0.19	-0.13 $\pm$ ne <sup>2</sup>	-0.10 $\pm$ 0.23	-0.05 $\pm$ 0.20	0.11 $\pm$ 0.19	0.22 $\pm$ 0.18
PRW		0.09 $\pm$ 0.06	0.81 $\pm$ 0.15	-0.55 $\pm$ ne	0.54 $\pm$ 0.20	-0.28 $\pm$ 0.40	0.17 $\pm$ 0.19	0.51 $\pm$ 0.43	0.52 $\pm$ 0.40	0.65 $\pm$ 0.29	-0.18 $\pm$ 0.26	-0.56 $\pm$ 0.20	-0.32 $\pm$ 0.27
GZW			0.53 $\pm$ 0.11	-0.51 $\pm$ 0.30	0.13 $\pm$ 0.16	-0.25 $\pm$ 0.16	-0.03 $\pm$ 0.14	0.16 $\pm$ ne	0.28 $\pm$ 0.15	0.22 $\pm$ 0.17	-0.37 $\pm$ 0.12	-0.56 $\pm$ 0.13	-0.33 $\pm$ 0.11
LW				0.05 $\pm$ 0.02	0.38 $\pm$ 0.35	0.66 $\pm$ 0.20	0.65 $\pm$ 0.25	0.70 $\pm$ 0.09	0.75 $\pm$ 0.08	0.24 $\pm$ 0.27	-0.47 $\pm$ 0.21	-0.37 $\pm$ 0.20	-0.03 $\pm$ 0.21
DW					0.33 $\pm$ 0.06	0.62 $\pm$ 0.08	0.70 $\pm$ 0.06	0.67 $\pm$ ne	0.39 $\pm$ 0.14	0.52 $\pm$ 0.11	0.38 $\pm$ ne	0.17 $\pm$ 0.13	0.20 $\pm$ 0.13
JW						0.44 $\pm$ 0.06	0.88 $\pm$ 0.03	0.40 $\pm$ 0.12	0.21 $\pm$ 0.15	0.15 $\pm$ ne	0.21 $\pm$ 0.13	0.60 $\pm$ 0.09	0.60 $\pm$ ne
IW							0.37 $\pm$ 0.05	0.33 $\pm$ ne	0.16 $\pm$ 0.13	0.21 $\pm$ ne	0.41 $\pm$ 0.14	0.54 $\pm$ 0.11	0.67 $\pm$ 0.08
DL								0.46 $\pm$ 0.06	0.89 $\pm$ ne	0.93 $\pm$ ne	-0.48 $\pm$ ne	-0.34 $\pm$ 0.13	-0.40 $\pm$ 0.12
JL									0.32 $\pm$ 0.06	0.90 $\pm$ 0.04	-0.71 $\pm$ 0.09	-0.64 $\pm$ 0.09	-0.61 $\pm$ 0.09
IL										0.28 $\pm$ 0.06	-0.52 $\pm$ 0.12	-0.56 $\pm$ ne	-0.57 $\pm$ 0.10
DD											0.39 $\pm$ 0.06	0.78 $\pm$ 0.05	0.79 $\pm$ 0.06
JD												0.50 $\pm$ 0.07	0.93 $\pm$ 0.02
ID													0.44 $\pm$ 0.06

<sup>1</sup>CW, PRW, GZW, LW, DW, JW, IW, weights of crop, proventriculus, gizzard, liver, duodenum, jejunum, and ileum in relation to BW; DL, JL, IL, lengths of duodenum, jejunum and ileum in relation to BW; DD, JD, ID, density of duodenum, jejunum and ileum. <sup>2</sup> ne: not estimated.

202 between BW23 and the GIT characteristics, except for the intestinal density, where the  
203 genetic correlations were relatively lower with WG than with BW23. Interestingly, AMEn  
204 and RFI were more highly correlated with relative proventriculus and gizzard weights (from  
205 0.43 to -0.67) than FCR (-0.19 and -0.25). In contrast, AMEn and FCR showed similar  
206 patterns of correlation with intestinal lengths and weights relative to BW23 and densities,  
207 whereas RFI and FI showed a different pattern. Indeed, AMEn and FCR were not correlated  
208 with relative intestinal lengths but moderately to highly with relative intestinal weights (-0.36  
209 to -0.77 and 0.36 to 0.66, for AMEn and FCR, respectively), whereas RFI and FI were  
210 uncorrelated with relative weights but strongly correlated with relative lengths (-0.46 to -  
211 0.63). Finally, AMEn, FCR, FI and RFI were all moderately correlated with densities, with  
212 absolute genetic correlations increasing from the duodenum to the ileum, at least for AMEn  
213 and FCR.

214

215

## 216 **Discussion**

217

### 218 Heritability estimates

219

220 Our estimates of the genetic parameters of performance traits were relatively similar to those  
221 of Mignon-Grasteau *et al.* [2] on the same lines. However, we found lower levels of  
222 heritability for BW23, FCR and AMEn, probably as our model of analysis included an  
223 environmental permanent maternal effect, which was not the case in the earlier study. For RFI  
224 the present estimate was in accordance with previous results showing similar estimates at this  
225 age [2] and between 28 and 35 d [7]. Due to the complexity of measurements, very few  
226 studies have presented genetic parameters of GIT characteristics [8, 9]. The present  
227 heritability estimate for the liver weight relative to BW23 was close to the value of 0.11

**Table 5 - Genetic correlations ( $\pm$  standard errors) between body weight at 23 d (BW23), body weight gain (WG), feed intake (FI), apparent metabolisable energy (AMEn), feed conversion ratio (FCR) and residual feed intake (RFI) and characteristics of GIT morphology.**

Trait <sup>1</sup>	BW23	WG	FI	AMEn	FCR	RFI
CW	-0.18 $\pm$ 0.21	-0.16 $\pm$ 0.21	0.19 $\pm$ 0.18	0.05 $\pm$ 0.09	0.18 $\pm$ 0.20	0.24 $\pm$ 0.18
PRW	-0.53 $\pm$ 0.28	-0.75 $\pm$ 0.11	-0.11 $\pm$ ne	0.59 $\pm$ 0.22	-0.25 $\pm$ ne <sup>2</sup>	-0.67 $\pm$ 0.48
GZW	-0.45 $\pm$ 0.15	-0.51 $\pm$ ne	-0.36 $\pm$ 0.15	0.43 $\pm$ 0.12	-0.19 $\pm$ ne	-0.47 $\pm$ ne
LW	-0.90 $\pm$ 0.10	-0.99 $\pm$ ne	-0.64 $\pm$ ne	-0.49 $\pm$ 0.18	0.53 $\pm$ 0.28	-0.32 $\pm$ 0.16
DW	-0.50 $\pm$ 0.15	-0.50 $\pm$ 0.12	0.08 $\pm$ 0.13	-0.36 $\pm$ 0.08	0.36 $\pm$ 0.09	0.02 $\pm$ 0.14
JW	-0.45 $\pm$ 0.15	-0.54 $\pm$ 0.13	0.05 $\pm$ 0.12	-0.67 $\pm$ 0.07	0.55 $\pm$ 0.09	0.02 $\pm$ 0.13
IW	-0.42 $\pm$ 0.13	-0.63 $\pm$ 0.10	0.03 $\pm$ 0.10	-0.77 $\pm$ 0.06	0.66 $\pm$ 0.08	-0.03 $\pm$ ne
DL	-0.94 $\pm$ 0.02	-0.83 $\pm$ 0.08	-0.46 $\pm$ ne	-0.05 $\pm$ 0.07	-0.05 $\pm$ ne	-0.47 $\pm$ 0.10
JL	-0.96 $\pm$ 0.02	-0.90 $\pm$ ne	-0.58 $\pm$ ne	-0.10 $\pm$ 0.07	0.07 $\pm$ 0.09	-0.60 $\pm$ 0.09
IL	-0.95 $\pm$ 0.02	-0.98 $\pm$ 0.01	-0.60 $\pm$ 0.10	-0.05 $\pm$ 0.07	0.01 $\pm$ ne	-0.63 $\pm$ ne
DD	0.76 $\pm$ 0.08	0.37 $\pm$ ne	0.58 $\pm$ ne	-0.30 $\pm$ 0.07	0.25 $\pm$ 0.08	0.54 $\pm$ 0.10
JD	0.60 $\pm$ 0.13	0.28 $\pm$ ne	0.49 $\pm$ ne	-0.39 $\pm$ 0.07	0.32 $\pm$ 0.07	0.51 $\pm$ 0.10
ID	0.58 $\pm$ 0.10	0.25 $\pm$ ne	0.52 $\pm$ ne	-0.52 $\pm$ 0.07	0.47 $\pm$ 0.07	0.53 $\pm$ 0.10

<sup>1</sup>CW, PRW, GZW, LW, DW, JW, IW, weights of crop, proventriculus, gizzard, liver, duodenum, jejunum and ileum in relation to BW; DL, JL, IL, lengths of duodenum, jejunum and ileum in relation to BW; DD, JD, ID, density of duodenum, jejunum and ileum. <sup>2</sup> ne: not estimated.

228 obtained by Rance *et al.* [9]. However, these estimates were low compared to certain studies  
229 performed in poultry [8, 10]. These authors estimated liver weight heritability at 0.27 and  
230 0.25, respectively, but worked on absolute and not relative liver weights. Moreover, they did  
231 not consider the maternal environmental effect that we estimated at  $0.09 \pm 0.02$ . In addition,  
232 Ledur *et al.* [10] and Gaya *et al.* [8] used commercial broilers at 42 d of age, whereas our  
233 genotypes exhibited slower growth and were measured at 23 d of age, probably explaining the  
234 extent of the maternal effects. The same hypothesis is advanced to explain the low heritability  
235 of the relative proventriculus weight ( $0.09 \pm 0.06$ ) compared to the literature [9]. With our  
236 data, excluding the permanent environment effects in the analysis led to a substantial  
237 overestimation of heritability of the proventriculus (i.e., 0.63).

238 The heritability of the relative gizzard weight was high ( $0.53 \pm 0.11$ ) even when  
239 environmental permanent maternal effects were included in the model. This estimate is  
240 consistent with previous estimates of Gaya *et al.* [8] and Rance *et al.* [9] for the absolute  
241 gizzard weight (0.39 to 0.52).

242 In the study presented here, heritability of the relative intestine weight was high compared to  
243 the estimates of Rance *et al.* [9] and Gaya *et al.* [8], which ranged between 0.00 and 0.29 for  
244 the relative jejunum weight [9] and the small intestine weight [8], respectively. The fact that  
245 we worked on relative and not on absolute values could not explain these differences, since  
246 Rance *et al.* [9] found similar heritability estimates for relative and absolute values. A more  
247 probable explanation of the difference between these two studies and our estimates is the  
248 difference in age at measurement, i.e. 23 d in our case and 42 d in their studies [8, 9]. At 23 d,  
249 the development of the intestine is exponential, which is no longer the case at 42 d.  
250 Furthermore, Rance *et al.* [9] and Gaya *et al.* [8] used a conventional corn-based diet, whereas  
251 we used a low digestibility wheat-based diet. Mignon-Grasteau *et al.* [11] estimated that the  
252 heritability of traits was much lower with a corn-based diet than with the latter diet, as the

253 wheat diet enhanced differences between animals. The relative lengths and densities of the 3  
254 segments of the small intestine were thus highly heritable (from  $0.28 \pm 0.06$  to  $0.50 \pm 0.07$ ).

255

256 Genetic correlations

257

258 ***Between the GIT components***

259 Very few estimates of genetic correlations are available in the literature due to the complexity  
260 of measurement. Relative proventriculus and gizzard weights were highly genetically  
261 correlated, as in Rance *et al.* (0.59 [9]). This correlation is consistent with the evolution of the  
262 gizzard and the proventriculus observed in both lines. Furthermore, it could be expected since  
263 from an anatomical and physiological point of view the proventriculus and the gizzard are  
264 linked and have complementary roles in the pre-digestion process, conditioning the  
265 availability of nutrients in the small intestine.

266 In our study, the relative gizzard weight was negatively correlated with intestine density. In  
267 agreement with this, Nir *et al.* [12] had already shown that chicken developed a larger gizzard  
268 and a lighter intestine with a coarse diet than with a fine diet. When whole wheat was added  
269 to a wheat-based diet, Wu *et al.* [13] showed that digesta viscosity was increased in the  
270 duodenum and the jejunum in parallel with an increase in absorption rates and a reduction in  
271 intestinal density [14]. For both lines in our study, jejunum and ileum weights relative to  
272 BW23 and densities were 30.0 to 39.8% lower in D+ birds, as previously shown [4, 6].  
273 Furthermore, de Verdal *et al.* [6] showed histologically that the absorptive epithelium and the  
274 muscle layer of the small intestine were thicker in D- than in D+ birds, thus explaining, at  
275 least in part, the greater intestine weight in D- than in D+ birds. These authors hypothesized  
276 that the small intestine grew in response to the functional efficiency of the gizzard.

277 The genetic correlations between the three intestinal segments estimated for the relative  
278 weights, relative lengths and densities were quite high (0.62 to 0.93), in accordance with the



279 results of Rance *et al.* [9] who estimated the genetic correlations between the duodenum and  
280 the ileum weights to be 0.98. This therefore implies that the 3 intestinal segments show  
281 similar modifications, consistent with the phenotypic differences recently observed in D+ and  
282 D- lines, indicating that the AMEn selection affected the whole small intestine [6]. Moreover,  
283 the phenotypic differences between the two divergent lines were higher for the relative  
284 intestine weights than for the relative intestine lengths. This is in accordance with the  
285 observation that, in contrast to the relative intestine lengths, the relative intestine weights  
286 were highly correlated with AMEn. The genetic correlations were therefore greater between  
287 the jejunum and the ileum than between the duodenum and the other two segments, in  
288 accordance with previous phenotypic results. Indeed, histological differences between D+ and  
289 D- lines were greater in the jejunum and ileum than in the duodenum [6]. Furthermore, this  
290 could be explained by functional differences between the intestinal segments. Absorption  
291 processes predominate in the jejunum and ileum [15] and the digestive environment is  
292 different between the segments, including pH and enzymes [16, 17]. The levels of  $\alpha$ -amylase  
293 and trypsin activity were higher in the jejunum and ileum [18], where absorption takes place,  
294 than in the duodenum. Moreover, according to some authors, post-hatch development is  
295 different between the segments: small changes occur in the duodenum length after 7 d,  
296 whereas the jejunum and ileum lengths continue to increase after 2 weeks of age [19].

297

### 298 ***Between AMEn and GIT compartments***

299 Selection on AMEn involved differential development of the digestive tract between the  
300 divergent lines. The relative proventriculus and gizzard were 21.9% and 34.0% heavier in D+  
301 than in D- birds. The positive correlations between relative proventriculus and gizzard  
302 weights and AMEn, the selection criterion, are consistent with previous phenotypic  
303 correlations on these lines [20] and fast and slow growing lines [21]. Moreover, it had already  
304 been shown that a larger gizzard was associated with better starch and protein digestibility

305 [22, 23], genetically highly correlated with the AMEn ( $0.83 \pm 0.03$  and  $0.86 \pm 0.03$ ,  
306 respectively) according to Mignon-Grasteau *et al.* [2]. In agreement with this, D+ birds have a  
307 10 and 13% better starch and protein digestibility, respectively, than D- birds [11]. Ravindran  
308 *et al.* [24] and Gonzalez Alvarado *et al.* [16] showed that a moderate development of the  
309 gizzard was related to low levels of digestibility. These findings confirmed the central role of  
310 the upper part of the digestive tract in the digestion process. Indeed, greater proventriculus  
311 and gizzard development enhances grinding of the digesta, hydrogen chloride and pepsinogen  
312 secretion by the proventriculus and reflux from the duodenum [25]. Additionally, Rougère  
313 and Carré [5] showed that the mean retention time in the proventriculus and gizzard of D- was  
314 lower than in D+ birds, which may improve nutrient accessibility and absorption.  
315 Furthermore, AMEn, and relative proventriculus and gizzard weights were negatively  
316 genetically correlated with the relative liver weight. According to Mignon-Grasteau *et al.* [2],  
317 D+ birds present higher levels of lipid digestibility (+23.6%) compared to D- birds. This  
318 suggests that although D+ birds showed lower relative liver weights, the amounts of bile salts  
319 synthesized appear not to limit lipid digestibility.

320 The negative genetic correlations between the relative weights of the intestine and AMEn  
321 were consistent with phenotypic observations [20, 26]. Taylor & Jones [14] have already  
322 reported improved absorption when intestinal density is decreased. Furthermore, Mitchell &  
323 Smith [27] showed that a decrease in the intestinal mucosal mass resulted in more efficient  
324 activity of the small intestine. Part of the explanation may be that the reduction in intestinal  
325 mucosal mass in D+ birds may result in lower energy expenditure [27]. Positive genetic  
326 correlations between the relative intestine weights and FCR were also found by Gaya *et al.*  
327 [8], consistent with the phenotypic modifications in D+ and D- lines [6]. Furthermore, the  
328 results of the analysis of covariance with FI as covariate confirmed the fact that the quantity

329 of feed passing through the gastro-intestinal tract cannot be seen as the only cause of  
330 differences between lines.

331 The selection experiment was performed at 23 d of age because it represents a key period in  
332 the GIT development [28]. In addition, the differences between lines for feed efficiency were  
333 still observed at 53 d of age, when birds reached the market weight [3]. Relative weight of  
334 gizzard and proventriculus as well as relative weight and density of intestinal segments  
335 presented similar differences between lines at 53 d and at 23 d [3]. Finally, AMEn differences  
336 are still observed at 53 d between D+ and D- birds (unpublished data). Thus, conclusions  
337 based upon data obtained at 23 d of age would still hold for a whole production cycle.

338

#### 339 ***Differences between AMEn, RFI and FCR***

340 D+ birds performed better than D- birds, as shown by the improvement in BW (+14.5%),  
341 FCR (-36.8%) and RFI. These results confirmed previous studies showing similar variations  
342 in AMEn, RFI and FCR between the two lines [2, 29].

343 The change of the genetic values between the both lines was symmetric, which was not the  
344 case of the phenotypic values. Indeed, selection on AMEn reduced more strongly digestibility  
345 in the D- birds than it increased in D+ birds. The starch digestibility nearly reached the  
346 maximum value of 100%, i.e. 96.3% in D+ vs 88.4 in D- birds [2]. Besides the increase in  
347 digestibility mean value, the D+ birds showed much more homogeneous performances, as  
348 indicated by the low coefficient of variation of AMEn in D+ compared to D- birds, which is a  
349 criterion of quality in poultry production.

350 Genetic correlations between AMEn, FCR and RFI were high. The genetic correlation  
351 between AMEn and FCR was even stronger than the value of 0.7 found by Mignon-Grasteau  
352 *et al.* [2] within the same lines. However, several differences were found in the genetic  
353 correlations between AMEn, FCR, RFI and BW and the GIT components.

354 The genetic correlation between AMEn and BW23 was low but significant, which can explain  
355 why we found a difference in BW between D+ and D- lines after 8 generations of selection,  
356 whereas no difference was found after one generation of selection by de Verdal *et al.* [3].  
357 Moreover, the strong genetic correlation between RFI and BW indicated that, in contrast to  
358 AMEn and FCR, selecting on a reduced RFI would lead to a decrease in BW23 and WG. This  
359 is in accordance with previous results in pigs selected on RFI [30], even if our correlation was  
360 much higher, probably due to the low  $r^2$  of our regression model (0.05). Moreover, reducing  
361 RFI will strongly affect FI, as shown by the genetic correlation of 0.99 between both traits.  
362 AMEn is genetically correlated with the weights of the components of the upper  
363 (proventriculus and gizzard) and lower (duodenum, jejunum and ileum) parts of the GIT. In  
364 contrast, RFI is mainly correlated with the upper part of the GIT, and FCR only with the  
365 lower part of the GIT. Consequently, given the importance of the upper and the lower GIT  
366 parts and their complementarity in digestive phenomena, selection on AMEn could optimise  
367 digestion.

368

## 369 **Conclusions**

370

371 The present study showed that morphological GIT characteristics were moderately to highly  
372 heritable, especially the gizzard and small intestine. This study also showed that the gizzard  
373 was genetically linked with intestinal density, consistent with the assumption that events in  
374 the upper part of the digestive tract can strongly influence the functionality of the lower part.  
375 The phenotypic evolution of lines selected on AMEn is consistent with the present estimates  
376 of genetic correlations between anatomy and digestive capacity of birds. The increase in  
377 relative gizzard and proventriculus weights in the high AMEn birds probably leads to greater  
378 nutrient availability in the small intestine.

379 In contrast to selection on RFI, selection on AMEn increased BW at 23 d of age. Furthermore,  
380 in contrast to FCR or RFI, selection on AMEn had an impact on both the upper and the lower  
381 parts of the GIT which together have major complementary roles. The asymmetry of the  
382 phenotypic response of AMEn between D+ and D- seems to illustrate that D+ are probably  
383 close to the biological limit of 100% of digestibility, especially for starch. Furthermore, the  
384 D- birds should be a model to study the limiting steps of nutrients digestion in relation to  
385 anatomical and physiological characteristics. Finally, in view of the negative impact of  
386 poultry manure on the environment, selection on AMEn would be one way to control  
387 excretion. Further studies are needed to quantify precisely the impact of selection on AMEn  
388 on excretion characteristics.

389

390

## 391 **Competing Interests**

392

393 The authors declare that they have no competing interests

394

395

## 396 **Authors' contributions**

397

398 HdV, AN, ELB and SMG contributed to experimental design, data analysis, interpretation of  
399 data and manuscript preparation. HC contributed to the data analysis. DB contributed to the  
400 use of NIRS in digestibility measurements. NM and SU assisted in the acquisition of data. All  
401 authors read and approved the final manuscript.

402

403

## 404 **Acknowledgements**

405

406 We thank the PEAT experimental unit (UE 1295 Pôle Expérimental Avicole de Tours, INRA,  
407 Nouzilly, France) and especially K. Gérard for bird management, L. Bonnal (CIRAD,  
408 Montpellier, France) for his help in the NIRS measurement of the excreta and all those who  
409 helped with the data collection.

410

411

## 412 **References**

413

- 414 1. Pym RAE: **Nutritional Genetics**. In: *Poultry Breeding and Genetics*. Edited by  
415 Crawford RD, Elsevier edn. Amsterdam, The Netherlands; 1990: 847-876.
- 416 2. Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Peron A, Sellier N, Millet N,  
417 Besnard J, Hallouis JM, Carré B: **Heritability of digestibilities and divergent**  
418 **selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet**. *Poult Sci* 2004,  
419 **83**:860-867.
- 420 3. Verdal H de, Narcy A, Le Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S: **Excretion and**  
421 **gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their**  
422 **capacity of digestion**. In: *XIIIth European Poultry Conference: 23-27 August 2010;*  
423 *Tours, France*; 2010: 4p.
- 424 4. Rougière N, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Carré B: **Effects of diet particle size on**  
425 **digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent**  
426 **digestion efficiency**. *Poult Sci* 2009, **88**:1206-1215.
- 427 5. Rougière N, Carré B: **Comparison of gastrointestinal transit times between**  
428 **chickens from D+ and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency**.  
429 *Animal* 2010, **4**:1861-1872.

- 430 6. Verdal H de, Mignon-Grasteau S, Jeulin C, Le Bihan-Duval E, Leconte M, Mallet S,  
431 Martin C, Narcy A: **Digestive tract measurements and histological adaptation in**  
432 **broiler lines divergently selected for digestive efficiency.** *Poult Sci* 2010, **89**:1955-  
433 1961.
- 434 7. Aggrey SE, Karnuah AB, Sebastian B, Anthony NB: **Genetic properties of feed**  
435 **efficiency parameters in meat-type chickens.** *Genet Sel Evol* 2010, **42**:1-5.
- 436 8. Gaya LG, Ferraz JBS, Rezende FM, Mourao GB, Mattos EC, Eler JP, Michelon T:  
437 **Heritability and genetic correlation estimates for performance and carcass and**  
438 **body composition traits in a male broiler line.** *Poult Sci* 2006, **85**:837-843.
- 439 9. Rance KA, McEntee GM, McDevitt RM: **Genetic and phenotypic relationships**  
440 **between and within support and demand tissues in a single line of broiler**  
441 **chicken.** *Br Poult Sci* 2002, **43**:518-527.
- 442 10. Ledur MC, Melo CMR, Nones K, Zanella EL, Ninov K, Bonassi CA, Jaenisch FRF,  
443 Moura ASAMT, Coutinho LL, Schmidt GS: **Genetic and phenotypic parameters for**  
444 **organs, body and carcass weights, and haematocrit value, in a broiler x layer**  
445 **cross resource population.** In: *8th World Congress on Genetics Applied to Livestock*  
446 *Production: 13-18 August 2006; Belo Horizonte, MG, Brazil; 2006.*
- 447 11. Mignon-Grasteau S, Juin H, Sellier N, Bastianelli D, Gomez J, Carré B: **Genetic**  
448 **parameters of digestibility of wheat- or corn-based diets in chickens.** In: *9th World*  
449 *Congress on Genetics Applied to Livestock Production: 2-6 August 2010; Leipzig,*  
450 *Germany; 2010: 4p.*
- 451 12. Nir I, Hillel R, Shefet G, Nitsan Z: **Effect of grain particle size on performance. 2.**  
452 **Grain texture interactions.** *Poult Sci* 1994, **73**:781-791.
- 453 13. Wu YB, Ravindran V, Thomas DG, Birtles MJ, Hendriks WH: **Influence of method**  
454 **of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance,**

- 455        **apparent metabolisable energy, digestive tract measurements and gut**  
456        **morphology of broilers.** *Br Poult Sci* 2004, **45**:385-394.
- 457 14.     Taylor RD, Jones GPD: **The incorporation of whole grain into pelleted broiler**  
458        **chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics.** *Br Poult Sci* 2004,  
459        **45**:237-246.
- 460 15.     Denbow DM: **Gastrointestinal anatomy and physiology.** In: *Sturkie's Avian*  
461        *Physiology*. Edited by Whittow GC, Fifth edn: Academic Press; 1999: 299-325.
- 462 16.     Gonzalez-Alvarado JM, Jimenez-Moreno E, Valencia DG, Lazaro R, Mateos GG:  
463        **Effects of fiber source and heat processing of the cereal on the development and**  
464        **pH of the gastrointestinal tract of broilers fed diets based on corn or rice.** *Poult*  
465        *Sci* 2008, **87**:1779-1795.
- 466 17.     Wang JX, Peng KM: **Developmental morphology of the small intestine of african**  
467        **ostrich chicks.** *Poult Sci* 2008, **87**:2629-2635.
- 468 18.     Matur E, Ulker C, Arslan M, Elif E, Akyazi I, Evren E: **The effects of *Enterococcus***  
469        ***faecium* NCIMB10415 on the development of pancreas and small intestine and on**  
470        **activity of pancreatic digestive enzymes in broiler chickens.** *Arch Gefluegelkd*  
471        2007, **71**:162-168.
- 472 19.     Geyra A, Uni Z, Sklan D: **The effect of fasting at different ages on growth and**  
473        **tissue dynamics in the small intestine of the young chick.** *Br J Nutr* 2001, **86**:53-61.
- 474 20.     Péron A, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N, Besnard J, Derouet M, Juin H,  
475        Carré B: **Effects of wheat quality on digestion differ between the D+ and D-**  
476        **chicken lines selected for divergent digestion capacity.** *Poult Sci* 2006, **85**:462-469.
- 477 21.     McEntee GM, Rance KA, McDevitt RM: **Form and function in the broiler chicken:**  
478        **the relationship between gastrointestinal morphological parameters and digestive**  
479        **functional physiology.** *Br Poult Sci* 2003, **44**:S35-S36.



- 480 22. Garcia V, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N, Carre B: **Effects of xylanase and**  
481 **antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in**  
482 **growing chicks from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion**  
483 **efficiency.** *Animal* 2007, **1**:1435-1442.
- 484 23. Hetland H, Svihus B: **Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed**  
485 **passage time in broiler chickens.** *Br Poult Sci* 2001, **42**:415-422.
- 486 24. Ravindran V, Wu YB, Thomas DG, Morel PCH: **Influence of whole wheat feeding**  
487 **on the development of gastrointestinal tract and performance of broiler chickens.**  
488 *Aust J Agric Res* 2006, **57**:21-26.
- 489 25. Duke GE: **Alimentary canal: secretions and digestion, special digestion functions**  
490 **and absorption.** In: *Avian Physiology*. Edited by Sturkies PD: Springer-Verlag edn.  
491 New-York, NY; 1986: 289-302.
- 492 26. Steinfeldt S: **The dietary effect of different wheat cultivars for broiler chickens.**  
493 *Br Poult Sci* 2001, **42**:595-609.
- 494 27. Mitchell MA, Smith MW: **The effects of genetic selection for increased growth rate**  
495 **on mucosal and muscle weights in the different regions of the small intestine of**  
496 **the domestic fowl (*Gallus domesticus*).** *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*  
497 1991, **99**:251-258.
- 498 28. Kadhim KK, Zuki ABZ, Noordin MM, Babjee SA, Khamas W: **Growth Evaluation**  
499 **of Selected Digestive Organs from Day One to Four Months Post-Hatch in Two**  
500 **Breeds of Chicken Known to Differ Greatly in Growth Rate.** *J Anim Vet Adv* 2010,  
501 **9(6)**:995-1004.
- 502 29. Carré B, Mignon-Grasteau S, Svihus B, Péron A, Bastianelli D, Gomez J, Besnard J,  
503 Sellier N: **Nutritional effects of feed form, and wheat compared to maize, in the**  
504 **D+ and D- chicken lines selected for divergent digestion capacity.** In: *Proceedings*

- 505 *of the 15th European Symposium of Poultry Nutrition: 2005; Balatonfüred, Hungary;*  
506 *2005: 42-44.*
- 507 30. Sellier P, Billon Y, Riquet J, Lagant H, Calderon JA, Guillouet P, Bidanel J-P, Noblet  
508 J, Gilbert H: **Six générations de sélection divergente pour la consommation**  
509 **journalière résiduelle chez le porc en croissance: réponses corrélatives sur les**  
510 **caractères de reproduction des truies et synthèse des réponses sur les**  
511 **caractéristiques de production.** In: *42<sup>nd</sup> Journées de la Recherche Porcine: 2010;*  
512 *Paris, France; 2010: 167.*
- 513 31. Bourdillon A, Carré B, Conan L, Duperray J, Huyghebaert G, Leclercq B, Lessire M,  
514 McNab J, Wiseman J: **European reference method for the in vivo determination of**  
515 **metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-intake**  
516 **and comparison with individual laboratory methods.** *Br Poult Sci* 1990, **31**:557-  
517 565.
- 518 32. Bastianelli D, Bonnal L, Juin H, Mignon-Grasteau S, Davrieux F, Carré B: **Prediction**  
519 **of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy.** *J*  
520 *Near Infra Spe* 2010, **18**:69-77.
- 521 33. Tixier-Boichard M, Boichard D, Groeneveld E, Bordas A: **Restricted maximum**  
522 **likelihood estimates of genetic parameters of adult male and female rhode island**  
523 **red chickens divergently selected for residual feed consumption.** *Poult Sci* 1995,  
524 **74**:1245-1252.
- 525 34. SAS Institute: SAS Institute Inc., Cary, NC; 1999.
- 526 35. Neumaier A, Groeneveld E: **Restricted maximum likelihood of covariances in**  
527 **sparse linear models.** *Genet Sel Evol* 1998, **30**:13-26.
- 528 36. INRA-AFZ: **Tables of composition and nutritional value of feed materials.** Edited  
529 by INRA, Association Française de zootechnie; Paris: 2004.

ARTICLE II - Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency

*BMC Genetics* **12** : 71

**Hugues de Verdal<sup>1</sup>, Agnès Narcy<sup>1</sup>, Denis Bastianelli<sup>2</sup>, Hervé Chapuis<sup>3</sup>, Nathalie Même<sup>1</sup>, Séverine Urvoix<sup>1</sup>, Elisabeth Le Bihan-Duval<sup>1</sup>, Sandrine Mignon-Grasteau<sup>1§</sup>**

<sup>1</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>2</sup>CIRAD, UMR SELMET, 34398 Montpellier cedex 5, France.

<sup>3</sup>SYSAAF, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>§</sup> Corresponding author : [sandrine.grasteau@tours.inra.fr](mailto:sandrine.grasteau@tours.inra.fr)



# 1 **Abstract**

## 2 **Background**

3 Poultry production has been widely criticized for its negative environmental impact related to  
4 the quantity of manure produced and to its nitrogen and phosphorus content. In this study, we  
5 investigated which traits related to excretion could be used to select chickens for lower  
6 environmental pollution.

7 The genetic parameters of several excretion traits were estimated on 630 chickens originating  
8 from 2 chicken lines divergently selected on apparent metabolisable energy corrected for zero  
9 nitrogen (AMEn) at constant body weight. The quantity of excreta relative to feed  
10 consumption (CDUDM), the nitrogen and phosphorus excreted, the nitrogen to phosphorus  
11 ratio and the water content of excreta were measured, and the consequences of such selection  
12 on performance and gastro-intestinal tract (GIT) characteristics estimated. The genetic  
13 correlations between excretion, GIT and performance traits were established.

## 14 **Results**

15 Heritability estimates were high for CDUDM and the nitrogen excretion rate (0.30 and 0.29,  
16 respectively). The other excretion measurements showed low to moderate heritability  
17 estimates, ranging from 0.10 for excreta water content to 0.22 for the phosphorus excretion  
18 rate. Except for the excreta water content, the CDUDM was highly correlated with the  
19 excretion traits, ranging from -0.64 to -1.00. The genetic correlations between AMEn or  
20 CDUDM and the GIT characteristics were very similar and showed that a decrease in chicken  
21 excretion involves an increase in weight of the upper part of the GIT, and a decrease in the  
22 weight of the small intestine.

## 23 **Conclusion**

24 In order to limit the environmental impact of chicken production, AMEn and CDUDM seem  
25 to be more suitable criteria to include in selection schemes than feed efficiency traits.

## 26 **Background**

27 Animal excreta provide valuable organic fertilizers. However, in regions where they are used  
28 in excess, they can be associated with environmental pollution [1], such as nitrate  
29 contamination, soil acidification and water eutrophication. This is often the case for poultry  
30 production in Europe, due to the high concentration of poultry farms in several regions such  
31 as Brittany in France. For example, French poultry meat production was estimated to be 2.0  
32  $10^6$ t in 2005 and the quantity of faeces generated has been estimated at 3.0  $10^6$ t for manure  
33 and 6.0  $10^6$ t for excreta and liquid manure [2].

34 Nitrogen (N) and phosphorus (P) concentrations in poultry manure are two major issues [3,  
35 4]. P is partly present in poultry diets as phytic phosphorus, i.e. a form that is poorly  
36 digestible for birds due to a lack of the adequate endogenous phytase activity [3]. As a  
37 consequence, the amount of P excreted represents up to 60 or even 80% of P intake [5]. The  
38 problem of N mainly originates from the difference between the amino-acid (AA)  
39 composition of the diet and the ideal AA profile for broilers. Meeting animal requirements  
40 therefore involves increasing the protein content of the diet, and thus N excretion [6]. The  
41 common approach to solve these problems is either using synthetic amino acids to limit the  
42 protein content of a diet or supplementing the feed with phytase to improve P absorption,  
43 which could limit N and P excretion by birds [3, 7].

44

45 In addition to nutritional methods to reduce poultry excretion, genetic solutions can also be  
46 sought. Indeed, several experiments have shown that selection could make a significant  
47 contribution to reduction in poultry excretion. For example, using divergent selection on  
48 phytate phosphorus bioavailability over 3 generations, Zhang et al. [8] obtained a difference  
49 of 9.7% between the high and low lines selected on their capacity to retain P and chickens of  
50 the low line showed an improvement of BW and FCR compared to the high line [9].

51 Similarly, Mignon-Grasteau et al [10] created the D+ and D- chicken lines by a divergent  
52 selection experiment based on high or low ability to digest a poor variety of wheat,  
53 respectively, at constant BW. Digestive efficiency was assessed by apparent metabolisable  
54 energy corrected for zero nitrogen retention (AMEn). Selection was made at 3 weeks of age.  
55 At the 7<sup>th</sup> generation of selection, D+ birds showed more favourable values than D- birds for  
56 AMEn (3258 vs 1916 kcal.kgMS<sup>-1</sup>, respectively) or FCR (1.70 vs 3.13, respectively). Both  
57 lines had similar BW at 21 d (399 vs 394 g for D+ and D-, respectively) and at 53 d (1943 vs  
58 1903 g for D+ and D-, respectively, [11]). In addition to the wide differences in digestive  
59 capacity obtained between these lines, de Verdal et al. [12] showed that the gastro-intestinal  
60 tract had been extensively modified by the selection process. More recently, Mignon-Grasteau  
61 et al. [13] showed that D- birds excreted 36.6% more than the D+ birds, and that the  
62 difference was even greater for P (+52.5% for D- birds). However, the genetic relationships  
63 between the selection criterion (AMEn) and the traits modified by selection (morphology and  
64 excretion) remain to be established. Furthermore, it would be interesting to compare the  
65 impact on the excretion characteristics of selection on the usual selection criterion of feed  
66 efficiency (FCR) or on digestive efficiency (AMEn). It can be expected that responses will  
67 not be the same since FCR is related to a broad range of traits including feed consumption,  
68 tissue deposition, heat production due to basal metabolic intensity, digestion or to physical  
69 activity and efficiency in converting of feed [14] whereas AMEn is more closely linked to  
70 digestive efficiency.

71 The aim of the present study was first to estimate the genetic parameters of the excretion traits  
72 in these two divergent lines, second to estimate the genetic correlations between excretion  
73 traits, growth performance and gastro-intestinal tract (GIT) morphology and, finally, to  
74 evaluate which criteria could be used to select against chicken excretion, including excretion  
75 of N and P, without any significant impact on growth performance.

## 76 **Methods**

77

### 78 **Birds and housing**

79

80 The experiment was conducted according to the guidelines of the French Ministry of  
81 Agriculture for Animal Research, and included 630 birds (307 males and 323 females) of the  
82 8<sup>th</sup> generation of selection of D+ and D- lines, reared in 3 hatches, each separated by 4 weeks.

83 The pedigree file included animals from all the generations of selection (i.e., 4495 birds).

84 They were individually weighed at hatching and placed in groups of 4 or 5 chicks in metal  
85 cages (36 cm long × 22 cm wide × 40 cm high) for 3 d. After 3 d, chicks were randomly  
86 allocated to individual cages, in 3 different rearing rooms. The environmental conditions were  
87 controlled for ventilation, lighting program (24L: 0D from 1 d to 7 d and 23L: 1D from 8 d to  
88 23 d, dark periods beginning at midnight) and temperature (from 33°C at 1 d to 22°C at 23 d).

89 Mortality was recorded daily. The birds had free access to water and food. They were fed a  
90 wheat-based diet similar to that used by de Verdal et al [15].

91

### 92 **Growth and excretion traits**

93

94 All birds were individually weighed at 17 (BW17) and 23 d (BW23) of age. The weight gain  
95 between 17 and 23 d was calculated (WG). Individual total feed intake (FI) was recorded  
96 from 17 to 23 d and feed conversion ratio (FCR) was calculated. Excreta were collected  
97 individually between 17 and 23 d, using the method of individual total collection of excreta  
98 [16]. Total excreta were weighed and dried to obtain both fresh excreta weight (FEW) and dry  
99 excreta weight (DEW). The water content of excreta (WE) was calculated as  
100  $(FEW-DEW)/FEW$ . The fresh and dry excreta weights relative to body weight (FEW/BW and  
101 DEW/BW, respectively) were calculated. AMEn, nitrogen excretion (NE) and nitrogen  
102 consumption (NI) were measured for all birds using Near Infrared spectrophotometry (NIRS,



103 Foss spectrometer NIRSystems 6500, Inc., Silver Spring, MD), according to the method of  
104 Bastianelli et al. [17] after validating and updating calibration equations with 20 reference  
105 measurements. AMEn was calculated according to the equation described by Lessire [18]:

$$106 \quad \text{EMAn} = 1/\text{C} \cdot [\text{C} \cdot \text{Ba} - \text{E} \cdot \text{Be} - (\text{C} \cdot \text{Na}/100 - \text{E} \cdot \text{S}/100 \cdot \text{NT}/100) \cdot 34406] \quad [1]$$

107 where C is the feed intake in dry mass (MS) (g), Ba the gross energy of the diet ( $\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$ ), Na the  
108 total nitrogen concentration of the diet (%), E the lyophilized excreta weight (g), S the MS  
109 proportion in the lyophilized excreta (%), Be the gross energy of the lyophilized excreta  
110 ( $\text{J} \cdot \text{g}^{-1}$ ), and NT the total nitrogen concentration in the excreta (%).

111 Phosphorus excretion (PE) and consumption (PI) were determined according to the Vanadate  
112 colorimetric method using a Phosphorus UV-kit (BioMérieux SA, Lyon, France). The NE/PE  
113 and FEW/FI ratios, the coefficient of digestive use of dry matter ( $\text{CDUDM} = 100 -$   
114  $(\text{DEW}/\text{FI} \cdot 100)$ ), NE/NI and PE/PI ratios were calculated. NE/PE can be viewed as an indicator  
115 of individual environmental performances whereas NE/NI and PE/PI are rather biological  
116 indicators of individual capacities to retain N and P. The residual feed intake (RFI) was  
117 calculated as the difference between the observed feed consumption and its estimate obtained  
118 by linear regression on metabolic BW ( $\text{BW}^{0.75}$ ) and weight gain (BWG) between 17 and 23 d  
119 [19].

120

## 121 Morphology of digestive tract

122

123 At 23 d of age, after overnight fasting (8 h), all chicks were sacrificed by  $\text{CO}_2$  inhalation. The  
124 crop, proventriculus and gizzard were excised and weighed (CRW, PRW, and GZW,  
125 respectively). The duodenum (from pylorus to pancreatic loop), jejunum (from the pancreatic  
126 loop to Meckel's diverticulum), and ileum (from Meckel's diverticulum to the ileo-caecal  
127 junction) were sampled and their lengths measured (DL, JL, and IL, respectively). Segments  
128 were then cleaned and weighed (DW, JW, and IW, respectively). The weight to length ratio of

129 each segment (DD, JD, and ID, respectively) was also calculated as an indicator of intestine  
130 density [20]. All the data regarding organ weight and length were expressed per kg of BW.

131

### 132 Statistical analyses

133

134 All data were analyzed according to the General Linear Models (GLM) procedure of SAS  
135 [21]. For all traits, the following model was used:

$$136 \quad y_{ijkl} = \mu + L_i + C_j + H_k + S_l + e_{ijkl} \quad [2]$$

137 where  $y_{ijkl}$  is the performance of animal  $m$ ,  $\mu$  the general mean,  $L_i$  the fixed effect of line  $i$  ( $i =$   
138  $D+$  or  $D-$ ),  $C_j$  the effect of rearing room  $j$  ( $j = 1$  to  $3$ ),  $H_k$  the fixed effect of hatch  $k$  ( $k = 1$  to  
139  $3$ ),  $S_l$  the fixed effect of sex  $l$ , and  $e_{ijkl}$  the residual term for animal  $l$ . Least square means and  
140 standard deviations were estimated for  $D+$  and  $D-$  lines for each trait. Differences were  
141 considered significant when the  $P$ -value was lower than  $0.05$ .

142

### 143 Estimation of genetic parameters

144

145 Genetic parameters were estimated by the REML (REstricted Maximum Likelihood) method  
146 with the VCE4 software [22]. For all traits except BW23, FCR, GZW PRW and CDUDM, the  
147 model [3] was used. As preliminary analyses indicated the presence of a significant maternal  
148 effect for BW23, FCR, GZW, PRW and CDUDM, these traits were analyzed with model [4].

$$149 \quad y_{ijklm} = \mu + L_i + C_j + H_k + S_l + a_m + e_{ijklm} \quad [3]$$

$$150 \quad y_{ijklmn} = \mu + L_i + C_j + H_k + S_l + a_m + d_n + e_{ijklmn} \quad [4]$$

151 with  $a_m$  the random additive genetic effect of the animal  $m$  ( $N = 4495$ ) and  $d_n$  the maternal  
152 permanent environmental effect. The pedigree file included animals from the 8 generations of  
153 the selection experiment which have been all recorded for BW23, FCR, AMEn and CDUDM.  
154 All these data have been included in the analyses. Anatomy and excretion traits were recorded  
155 only for the last generation ( $N = 630$ ). As several traits presented very strong genetic

156 correlations, it was not possible to run a single analysis including all traits, meaning that  
157 distinct multi-trait analyses were performed. In order to avoid bias in estimates due to the  
158 effect of selection in our lines, all analyses included selection criteria, i.e. AMEn and BW23.  
159 Each analysis also included two other traits, to be able to estimate genetic correlations  
160 between all traits. A total of 169 analyses were thus performed with 4 traits each time: BW23,  
161 AMEn and two others traits. The parameter estimates and the standard errors presented were  
162 the average of the estimates obtained in the various analyses. Standard errors were not  
163 available for several analyses, as several traits presented very high correlations and/or low  
164 heritability estimates, preventing the maximum likelihood algorithm from reaching a single  
165 optimum.

166 The following equations were used to compare the expected direct ( $CR_{(Y,Y)}$ , equation [5]) and  
167 indirect ( $CR_{(Y,X)}$ , equation [6]) correlated response to selection on the different criteria:

$$168 \quad CR_{(Y,Y)} = i_Y \times h^2_Y \times \sigma_{p_Y} \quad [5]$$

$$169 \quad CR_{(Y,X)} = i_X \times \sqrt{(h^2_X \times h^2_Y)} \times r_{g_{XY}} \times \sigma_{p_Y} \quad [6]$$

170 where  $CR_{(Y,X)}$  is the expected correlated response of trait Y when selection in on X;  $CR_{(Y,Y)}$  is  
171 the expected direct response of the selection on Y;  $i_X$  and  $i_Y$  are the intensity of selection on X  
172 and Y, respectively;  $h^2_X$  and  $h^2_Y$  are the heritability estimates for X and Y, respectively;  $r_{g_{XY}}$   
173 is the genetic correlation between X and Y; and  $\sigma_{p_Y}$  is the standard deviation of Y phenotype.  
174 A similar value of 1 was set for  $i_X$  and  $i_Y$ . Since  $\sigma_{p_Y}$  is constant between equations [5] and [6],  
175 there were dropped from calculations. Expected responses to selection were thus expressed in  
176 units of phenotypic standard deviation.

**Table 1 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Error) for all traits analysed (N ranging from 481 to 602 according to the trait).**

Traits	D+		D-		D+/D- ratio (%)	Significance of line effect
BW23	490	$\pm$ 3.62	428	$\pm$ 3.62	14.5	< 0.001
WG	166	$\pm$ 1.69	146	$\pm$ 1.69	13.7	< 0.001
FI	285	$\pm$ 3.13	363	$\pm$ 3.18	-21.5	< 0.001
FCR	1.72	$\pm$ 0.03	2.72	$\pm$ 0.03	-36.8	< 0.001
CDUDM	75.4	$\pm$ 0.56	58.8	$\pm$ 0.56	28.2	< 0.001
FEW	245	$\pm$ 11.7	417	$\pm$ 11.8	-41.3	< 0.001
DEW	70.3	$\pm$ 3.27	153	$\pm$ 3.29	-54.1	< 0.001
FEW/BW	0.53	$\pm$ 0.04	1.04	$\pm$ 0.04	-49.0	< 0.001
DEW/BW	0.13	$\pm$ 0.01	0.33	$\pm$ 0.01	-60.6	< 0.001
FEW/FI	0.85	$\pm$ 0.03	1.16	$\pm$ 0.03	-26.7	< 0.001
WE	71	$\pm$ 0.53	65.8	$\pm$ 0.53	7.90	< 0.001
NE/NI	0.41	$\pm$ 0.01	0.63	$\pm$ 0.01	-34.9	< 0.001
PE/PI	0.47	$\pm$ 0.01	0.58	$\pm$ 0.01	-19.0	< 0.001
NE/PE	3.46	$\pm$ 0.04	4.34	$\pm$ 0.04	-20.3	< 0.001

<sup>1</sup> BW23, body weight at 23 d of age (g); WG, body weight gain between 17 and 23 d of age (g); FI, feed intake between 17 and 23 d of age (g); FCR, feed conversion ratio between 17 and 23 d ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ); CDUDM, coefficient of digestive use of dry matter (g); FEW, fresh excreta weight (g); DEW, dry excreta weight (g); FEW/BW and DEW/BW, fresh and dry excreta weight relative to body weight at 23 d; FEW/FI, fresh excreta weight relative to feed intake ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ); WE, water content of excreta (%); NE/PE, ratio of nitrogen to phosphorus excretion ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ); NE/NI, PE/PI, nitrogen and phosphorus excreted relative to nitrogen and phosphorus intake ( $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ )

## 177 **Results**

178

### 179 **Between line differences**

180

181 Descriptive statistics for excretion traits are reported in Table 1 for both lines. A line effect  
182 was highly significant for all traits. The coefficient of the digestive utilization of dry matter  
183 (CDUDM) was 28.2% higher in D+ than in D- birds.

184 Whatever the trait, the D+ birds excreted significantly less than the D- birds. In terms of  
185 quantity, FEW and DEW were 70.2% and 118.3% higher in D- birds, respectively. The D+  
186 birds also excreted 35.1% less water than D- birds. This difference partly reflected a  
187 difference in feed consumption, which was 27.2% higher in D- birds between 17 and 23d.  
188 However, even when correcting for this difference in feed consumption, FEW, DEW, and the  
189 gross quantity of water were still 36.8, 67.9, and 25.1% higher in D- birds. Furthermore, the  
190 D+ birds excreted 49.0 and 60.6% less fresh and dry excreta than D- birds for the same BW at  
191 23 d of age. In terms of the composition of excreta, the relative nitrogen and phosphorus  
192 excretion levels were 34.9 and 19.0% lower for D+ than for D- birds, respectively. As the  
193 difference between lines was greater for nitrogen than for phosphorus, the nitrogen to  
194 phosphorus ratio in excreta was 20.3% higher for D+ than for D- birds.

195

### 196 **Heritability estimates for excretion traits**

197

198 Heritability estimates of BW23, WG, AMEn, FCR, RFI, FI and the gastro-intestinal tract can  
199 be found in de Verdal et al. [15]. The heritability estimates of excretion traits are shown in  
200 Table 2. Heritability was low for WE and FEW/BW (0.10 and 0.09, respectively). For other  
201 excretion traits, estimates were moderate (0.18 to 0.22 for DEW/BW, FEW/FI, NE/PE, and  
202 PE/PI). The highest estimates were found for CDUDM and NE/NI (0.29 and 0.30,

**Table 2 - Estimated heritability ( $\pm$  standard errors, on diagonal) and genetic correlations ( $\pm$  standard errors, above diagonal) for excretion traits.**

	CDUDM <sup>1</sup>	FEW/BW	DEW/BW	FEW/FI	WE	NE/NI	PE/PI	NE/PE
CDUDM	0.30 $\pm$ 0.02	-0.94 $\pm$ ne	-0.93 $\pm$ ne	-0.64 $\pm$ ne <sup>2</sup>	0.39 $\pm$ ne	-1.00 $\pm$ ne	-0.68 $\pm$ 0.07	-0.87 $\pm$ ne
FEW/BW		0.09 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.01	0.76 $\pm$ 0.07	-0.22 $\pm$ 0.25	0.82 $\pm$ ne	0.43 $\pm$ 0.18	0.76 $\pm$ 0.23
DEW/BW			0.20 $\pm$ 0.03	0.51 $\pm$ 0.09	-0.37 $\pm$ 0.15	0.76 $\pm$ ne	0.36 $\pm$ 0.08	0.67 $\pm$ 0.13
FEW/FI				0.17 $\pm$ 0.04	0.54 $\pm$ ne	0.67 $\pm$ ne	0.87 $\pm$ 0.08	-0.05 $\pm$ 0.17
WE					0.13 $\pm$ 0.05	-0.34 $\pm$ ne	0.33 $\pm$ 0.17	-0.75 $\pm$ 0.12
NE/NI						0.29 $\pm$ 0.02	0.74 $\pm$ 0.06	0.58 $\pm$ ne
PE/PI							0.22 $\pm$ 0.04	-0.11 $\pm$ ne
NE/PE								0.18 $\pm$ 0.04

<sup>1</sup> CDUDM, coefficient of digestive use of dry matter; FEW/BW and DEW/BW, fresh and dry excreta weight relative to body weight at 23 d; FEW/FI, fresh excreta weight relative to feed intake, WE, water content of excreta, NE/PE, ratio of nitrogen to phosphorus excretion; NE/NI, PE/PI, nitrogen and phosphorus excreted relative to nitrogen and phosphorus intake

<sup>2</sup> ne : not estimated

203 respectively). CDUDM was also found to be affected by a significant maternal permanent  
204 environment effect ( $0.08 \pm 0.01$ ).

205

#### 206 Genetic correlations between excretion traits

207

208 The genetic correlations between the various excretion traits are shown in Table 2. As several  
209 traits presented very strong genetic correlations, convergence was more difficult to establish  
210 in some analyses, meaning that it was impossible to estimate standard errors of genetic  
211 correlations. As expected, CDUDM was highly negatively correlated with all excretion traits,  
212 with correlations ranging between -0.64 and -1.00, however the -1.00 correlation between  
213 CDUDM and NE/NI was probably an overestimation due to the presence of CDUDM and  
214 AMEn in the same analysis. Consistent with this, fresh excreta weight relative to feed intake  
215 was highly positively correlated with WE, NE/NI, and PE/PI (between 0.54 and 0.87) but  
216 only the latter was significantly different from 0 as standard errors could not be estimated for  
217 the first 2 values. The only difference between relative fresh excreta weight and CDUDM was  
218 that the former was not genetically correlated with NE/PE ( $r_g = -0.05$ ) whereas the latter was  
219 very highly correlated with this trait ( $r_g = -0.87$ ). The genetic correlation between FEW/BW or  
220 DEW/BW and FEW/FI, NE/NI, PE/PI and NE/PE were high (ranging from 0.36 to 0.82).  
221 Excretion of nitrogen and phosphorus was highly correlated ( $r_g = 0.74$ ). Finally, it should be  
222 noted that the balance between N and P in excreta was mainly correlated with N excretion  
223 ( $r_g = 0.58$ ), but very poorly with P excretion ( $r_g = -0.11$ ) but standard errors of the parameters  
224 could not be estimated.

**Table 3 - Genetic correlations ( $\pm$  standard errors) between excretion traits and performance**

Trait <sup>1</sup>	CDUDM	FEW/BW	DEW/BW	FEW/FI	WE	NE/NI	PE/PI	NE/PE
BW23	0.16 $\pm$ 0.06	-0.16 $\pm$ 0.21	-0.20 $\pm$ 0.15	0.44 $\pm$ 0.16	0.86 $\pm$ 0.10	-0.19 $\pm$ 0.12	0.03 $\pm$ 0.19	-0.52 $\pm$ 0.18
WG	0.21 $\pm$ ne	-0.28 $\pm$ ne	-0.29 $\pm$ ne	0.02 $\pm$ ne	0.24 $\pm$ 0.22	-0.37 $\pm$ ne	-0.42 $\pm$ 0.15	-0.16 $\pm$ ne
FI	-0.75 $\pm$ ne	0.58 $\pm$ ne	0.73 $\pm$ ne	0.41 $\pm$ ne	-0.17 $\pm$ 0.18	0.45 $\pm$ ne	0.20 $\pm$ 0.14	0.34 $\pm$ 0.16
FCR	-0.98 $\pm$ 0.01	0.99 $\pm$ 0.03	0.92 $\pm$ 0.05	0.76 $\pm$ ne <sup>2</sup>	-0.27 $\pm$ ne	0.95 $\pm$ ne	0.66 $\pm$ 0.11	0.88 $\pm$ ne
AMEn	0.99 $\pm$ 0.00	-0.97 $\pm$ 0.04	-0.92 $\pm$ 0.03	-0.66 $\pm$ 0.07	0.46 $\pm$ 0.15	-0.99 $\pm$ 0.01	-0.64 $\pm$ 0.07	-0.84 $\pm$ 0.08
RFI	-0.64 $\pm$ ne	0.91 $\pm$ ne	0.88 $\pm$ ne	0.38 $\pm$ 0.15	-0.15 $\pm$ ne	0.37 $\pm$ 0.09	0.08 $\pm$ 0.14	0.30 $\pm$ ne

<sup>1</sup> BW23, body weight at 23 d; WG, weight gain between 17 and 23 d; FI, feed intake between 17 and 23 d; FCR; feed conversion ratio; AMEn, apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen balance; RFI, residual feed intake; CDUDM, coefficient of digestive use of dry matter; FEW/BW and DEW/BW, fresh and dry excreta weight relative to body weight at 23 d; FEW/FI, fresh excreta weight relative to feed intake; WE, water content of excreta; NE/NI, PE/PI, ratio of nitrogen and phosphorus excretion to intake; NE/PE, ratio of nitrogen to phosphorus excretion.

<sup>2</sup> ne: not estimated



225 Genetic correlations between excretion and performance traits

226

227 The genetic correlations between excretion traits and performance traits are shown in Table 3.

228 AMEn and FCR showed similar correlations with excretion traits, but logically with opposite

229 signs. Except for WE, the correlations with all excretion traits were very high, absolute values

230 of genetic correlations ranging between 0.64 and 0.99. Once again, correlation above 0.97

231 were obtained in analyses including simultaneously AMEn and CDUDM, very strongly

232 correlated, and/or FEW/BW which has low heritability. In contrast, BW23 and RFI were

233 more moderately correlated with FEW/FI and NE/PE and RFI was correlated with NE/NI but

234 both BW23 and RFI were not correlated with PE/PI. Finally, RFI was highly correlated with

235 FEW/BW and DEW/BW, and BW23 highly correlated with WE. The genetic correlations

236 between FI and the excretion traits were of opposite sign but lower than those between AMEn

237 and the excretion traits.

238 The expected response on excretion traits to direct selection or to indirect selection of AMEn,

239 CDUDM, FCR and RFI are shown in Table 4. The values were calculated with the equations

240 [5] and [6], supposing that selection intensity was 1 for all traits. Direct selection on excretion

241 traits showed lower or rather similar expected responses than indirect selection on AMEn or

242 CDUDM. Moreover, the expected responses of a selection on feed efficiency were similar or

243 lower than direct, AMEn or CDUDM selection, except for the indirect expected response of a

244 RFI selection for DEW/BW and FEW/BW.

**Table 4 – Expected responses to direct selection on excretion traits or on indirect selection on digestibility (AMEn and CDUDM) and on feed efficiency (FCR and RFI), supposing that selection intensity was 1 for all traits. Responses are expressed in phenotypic standard deviations of the trait.**

Response <sup>1</sup>	Direct	Selection on			
		AMEn	CDUDM	FCR	RFI
CDU-DM	0.300	0.297	0.300	-0.246	-0.238
FEW/BW	0.090	-0.159	-0.154	0.136	0.185
DEW/BW	0.200	-0.225	-0.228	0.189	0.267
FEW/FI	0.170	-0.149	-0.145	0.144	0.106
WE	0.130	0.091	0.077	-0.045	-0.037
NE/NI	0.290	-0.292	-0.295	0.234	0.135
PE/PI	0.220	-0.164	-0.175	0.142	0.025
NE/PE	0.180	-0.195	-0.202	0.171	0.086

<sup>1</sup>AMEn, apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen balance; CDUDM, coefficient of digestive use of dry matter; FCR, feed conversion ratio; RFI, residual feed intake; FEW/BW, DEW/BW, fresh and dry excreta weight relative to body weight at 23 d; FEW/FI, fresh excreta weight relative to feed intake; WE, water content of excreta; NE/NI, PE/PI, ratio of nitrogen and phosphorus excretion to intake; NE/PE, ratio of nitrogen to phosphorus excretion

245 Genetic correlation between excretion traits and GIT morphology

246

247 The genetic correlations between the excretion traits and GIT characteristics are shown in  
248 Table 5. All the GIT organs were correlated with excretion traits. CDUDM was positively  
249 correlated with relative proventriculus and gizzard weights (0.63 and 0.43, respectively), and  
250 negatively correlated with the relative weight and the density of the intestinal segments  
251 (correlations ranging from -0.35 to -0.75) but not with their relative length. It is however to  
252 note that standard errors were not available for genetic correlations between CDUDM and  
253 PRW, JW, and ID (0.63, -0.66 and -0.52, respectively). In contrast, the fresh excreta weight  
254 relative to feed intake was positively correlated only with the relative weight of the ileum ( $r_g =$   
255 0.47) and with the density of the 3 intestinal segments (from 0.42 to 0.72). An increased water  
256 excretion rate was genetically linked to a shorter and denser intestine (correlations ranging  
257 from 0.45 to 0.90 in absolute values), and with a lighter proventriculus ( $r_g = -0.48$ ).

258 A high positive genetic correlation was observed between phosphorus and nitrogen excretion  
259 and relative weights of jejunum and ileum ( $r_g$  between 0.63 and 0.76), but only moderate  
260 correlations with densities ( $r_g = 0.39$  on average). In the same way, FEW/BW and DEW/BW  
261 were positively correlated with intestine relative weight and density, the only non significant  
262 correlation being found between DEW/BW and DD. Phosphorus excretion was also  
263 moderately correlated with PRW, and nitrogen excretion with duodenum weight relative to  
264 BW23. The similarity of genetic correlations of anatomic traits with NE/NI and PE/PI ratios  
265 mean that made the NE/PE ratio was weakly or moderately correlated with anatomic  
266 characteristics. Indeed, the NE/PE ratio was only moderately correlated with proventriculus  
267 relative weight and with jejunum relative weight and length.

**Table 5 - Genetic correlations ( $\pm$  standard errors) between excretion traits and gastrointestinal tract morphology**

Trait <sup>1</sup>	CDUDM	FEW/BW	DEW/BW	FEW/FI	WE	NE/NI	PE/PI	NE/PE
CW	0.11 $\pm$ 0.10	0.43 $\pm$ 0.17	0.17 $\pm$ 0.15	0.30 $\pm$ 0.19	0.26 $\pm$ ne	-0.11 $\pm$ 0.13	0.02 $\pm$ 0.09	-0.13 $\pm$ ne
PRW	0.63 $\pm$ ne	-0.44 $\pm$ 0.32	0.02 $\pm$ 0.22	0.04 $\pm$ 0.18	-0.48 $\pm$ 0.18	-0.12 $\pm$ 0.19	0.36 $\pm$ 0.18	-0.48 $\pm$ 0.18
GZW	0.43 $\pm$ 0.15	0.01 $\pm$ 0.20	-0.19 $\pm$ 0.15	-0.14 $\pm$ ne	0.13 $\pm$ 0.21	-0.20 $\pm$ 0.14	0.07 $\pm$ 0.18	-0.23 $\pm$ 0.20
DW	-0.37 $\pm$ 0.08	0.44 $\pm$ 0.17	0.32 $\pm$ 0.10	-0.02 $\pm$ 0.15	-0.48 $\pm$ ne	0.42 $\pm$ 0.10	0.20 $\pm$ 0.15	0.05 $\pm$ 0.14
JW	-0.66 $\pm$ ne	0.65 $\pm$ 0.10	0.50 $\pm$ 0.11	0.17 $\pm$ ne	-0.38 $\pm$ 0.20	0.72 $\pm$ 0.08	0.63 $\pm$ 0.12	0.28 $\pm$ 0.14
IW	-0.75 $\pm$ 0.07	0.73 $\pm$ 0.10	0.44 $\pm$ ne	0.47 $\pm$ 0.15	0.09 $\pm$ 0.16	0.70 $\pm$ 0.06	0.76 $\pm$ 0.11	0.20 $\pm$ 0.14
DL	-0.03 $\pm$ ne	0.02 $\pm$ ne	0.17 $\pm$ ne	-0.35 $\pm$ 0.18	-0.87 $\pm$ 0.07	0.19 $\pm$ ne	-0.09 $\pm$ ne	0.54 $\pm$ ne
JL	-0.06 $\pm$ ne	-0.19 $\pm$ 0.19	0.09 $\pm$ 0.12	-0.25 $\pm$ 0.19	-0.90 $\pm$ 0.09	0.25 $\pm$ ne	0.17 $\pm$ 0.17	0.37 $\pm$ 0.18
IL	-0.01 $\pm$ ne	-0.20 $\pm$ ne	0.06 $\pm$ 0.13	-0.31 $\pm$ 0.19	-0.77 $\pm$ 0.21	0.08 $\pm$ ne	0.07 $\pm$ ne	0.23 $\pm$ ne
DD	-0.35 $\pm$ 0.08	0.43 $\pm$ 0.16	0.10 $\pm$ 0.12	0.48 $\pm$ 0.15	0.54 $\pm$ 0.22	0.28 $\pm$ 0.10	0.33 $\pm$ 0.15	-0.10 $\pm$ 0.16
JD	-0.41 $\pm$ 0.08	0.59 $\pm$ 0.15	0.25 $\pm$ 0.12	0.42 $\pm$ 0.14	0.45 $\pm$ 0.20	0.32 $\pm$ ne	0.39 $\pm$ 0.14	-0.14 $\pm$ 0.12
ID	-0.52 $\pm$ ne	0.68 $\pm$ ne	0.27 $\pm$ 0.13	0.72 $\pm$ 0.13	0.55 $\pm$ ne	0.50 $\pm$ 0.10	0.57 $\pm$ 0.13	-0.14 $\pm$ 0.14

<sup>1</sup>CW, PRW, GZW, LW, DW, JW, IW, relative weights of crop, proventriculus, gizzard, liver, duodenum, jejunum, and ileum; DL, JL, IL, relative lengths of duodenum, jejunum, and ileum; DD, JD, ID, density of duodenum, jejunum, and ileum; CDUDM, coefficient of digestive use of dry matter; FEW/BW and DEW/BW, fresh and dry excreta weight relative to body weight at 23 d; FEW/FI, fresh excreta weight relative to feed intake; WE, water content of excreta; NE/NI, PE/PI, ratio of nitrogen and phosphorus excretion to intake; NE/PE, ratio of nitrogen to phosphorus excretion.

<sup>2</sup> ne: not estimated

## 268 **Discussion**

269

270 Heritability estimates of excretion traits

271

272 Genetic parameters of digestibility, feed efficiency and anatomy of the digestive tract have  
273 been discussed previously by de Verdal et al. [15] on the same data set and are not detailed  
274 further here. However, it should be noted that the D+ birds had 33.5% higher AMEn, 14.5%  
275 higher BW23 and 36.8% lower FCR than D- birds. Furthermore, AMEn and FCR  
276 heritabilities were estimated at 0.30 and 0.21, respectively [15].

277 While chicken manure can be used as fertiliser, at high levels it is considered a pollutant,  
278 increasing water eutrophication, excessive algae development and ammonia volatilisation in  
279 the air. Thus, in view of the problems related to the management and the environmental  
280 impact of chicken manure, the selection of birds producing reduced quantities of excreta is  
281 important.

282 To our knowledge, the present study is the first to present estimated genetic parameters of  
283 broiler excretion traits and their correlations with performance characteristics and GIT  
284 morphology. However, probably due to the low number of birds used, the standard errors  
285 were sometimes relatively high, and consequently, some results should be taken with caution.

286 Moreover, several traits were found to be correlated at values close or equal to 1. Correlation  
287 between CDUDM and AMEn has already been found to be 0.99, and can be expected from  
288 the close relationship between both traits, as AMEn can be deduced from CDUDM. In some  
289 other cases, several parameters in the same analysis were close to the limit of parameter space  
290 (genetic correlation close to unity and  $h^2$  of some traits close to 0), which makes convergence  
291 more difficult. It was for example the case when FEW/BW with low  $h^2$  is included  
292 simultaneously with DEW/BW, with which it was very highly correlated. Similarly, even if  
293 FCR and AMEn had already been shown to be strongly correlated (-0.70 [10]), the genetic

294 correlation of 0.98 between CDUDM and FCR was probably an overestimated due to the  
295 presence of 3 highly correlated traits in the analysis.

296 Excretion traits were moderately heritable, showing that it should be possible to include such  
297 traits in poultry selection. The estimated heritability of PE was much higher than that reported  
298 by Zhang et al. [23] and Ankra-Badu et al. [24] who reported a value of 0.09 for phytic  
299 phosphorus bioavailability (PBA). However, even with this rather low heritability, Zhang et  
300 al. [8] obtained a divergence of 9.7% on P bioavailability after 3 generations. We can  
301 hypothesize that this wide difference between different studies is related to the diet used, as  
302 Zhang et al. [23] and Ankra-Badu et al. [24] used a corn-based diet that is easy to digest,  
303 while the wheat diet used in the present study made it easier to distinguish between animals  
304 with poor or high capacity of retention. Furthermore, these experiments differed from ours by  
305 genetic lines used, which showed a much slower growth than ours. Mignon-Grasteau et al.  
306 [25] showed that heritability estimates of metabolisable energy and coefficients of digestive  
307 use of proteins and lipids were much higher when animals were fed with poor wheat than with  
308 corn.

309

310 Phenotype differences between D+ and D- lines and genetic correlations for excretion traits

311

312 In the present study, we found that D+ birds had a 28.2% greater CDUDM than D- birds,  
313 showing that digestive utilization was improved in D+ compared to D- birds. This could be  
314 explained by the genetic correlations between CDUDM and GIT morphology. Indeed, it  
315 seems that selection on high CDUDM would increase the relative weight of the upper part of  
316 the GIT (proventriculus and gizzard) and conversely decrease the relative weight and the  
317 density of the small intestine, consistent with previous results [12]. A larger gizzard and  
318 proventriculus would lead to greater nutrient accessibility in the small intestine and thus to  
319 better digestive efficiency. At the intestinal level, the genetic correlations were higher

320 between CDUDM and the relative weights of the jejunum and the ileum than between the  
321 CDUDM and the relative weight of the duodenum, which could potentially be explained by  
322 the fact that absorption processes mainly take place in the jejunum and ileum [26].  
323 This higher digestive utilisation in D+ birds leads to a 41.3 and 54.1% reduction in FEW and  
324 DEW, respectively, compared to D-. These differences are also present at later ages.  
325 Furthermore, the commercial line used at the beginning of the selection experiment excreted  
326 31.5% more DEW/FI between 21 and 53 d of age than D+ birds [11]. Selection for a better  
327 AMEn thus led to a reduced environmental impact of chicken production. Although WE was  
328 greater in D+ birds, the total quantity of water excreted and the FEW/FI ratio were 51.2% and  
329 26.7% lower than in D- birds. As Williams et al. [27] explained that water consumption  
330 closely follows food consumption, and since FI was 27.4% higher in D- than in D+ birds, it  
331 could be hypothesized that D- birds consume almost 30% more water than D+ birds. This is  
332 important since this can have consequences in terms of health and welfare. An increase in the  
333 quantity of water excreted would lead to a more humid litter and consequently to an increase  
334 in the incidence of associated poultry diseases, such as breast blisters, skin burns, scabby  
335 areas, bruising, rejection or downgrades [28]. Moreover, the litter moisture content is known  
336 to have a high impact on the ammonia losses by volatilization, which may cause respiratory  
337 disorders in birds and farmers and increase the imbalance between N and P in manure [29].  
338 However, most of the studies related to environmental problems due to the spreading of  
339 manure focus on N and P content [30] and their deleterious environmental impact. The  
340 capacity of D+ birds to retain N and P was 34.9 and 19.0% higher, respectively, compared to  
341 the D-, as shown by NE/NI and PE/PI ratios. Thus, for each 100 g of BW, D+ and D- excreted  
342 0.73 and 1.65 g of N and 0.17 and 0.32 g of P, respectively. It has already been shown that the  
343 lower NE/NI ratio in D+ can be linked to the 8.7 to 13.1% better ability of these birds to  
344 utilise proteins [10, 13, 25]. Moreover, the NE/NI ratio was more highly correlated

345 genetically with the lower rather than the upper part of the GIT. This suggests a major  
346 contribution of the lower part of the intestine compared to the upper part in N utilization.  
347 Péron et al. [31] showed that the pancreas was heavier in D- than in D+ birds, and found  
348 negative phenotype correlations between pancreas weight in relation to BW and AMEn and  
349 lipid, protein and starch digestibility. These authors explained that the enlargement of the  
350 pancreas could be an adaptation to decreased digestion in D- birds.

351 Furthermore, NE/NI and PE/PI ratios were more genetically correlated with jejunum and  
352 ileum relative weights and densities than with those of the duodenum. This illustrates the  
353 major contribution of the lower part of the intestine in N and P absorption [32, 33].  
354 Nevertheless, in contrast to the NE/NI ratio, the PE/PI ratio was positively genetically  
355 correlated with PRW, indicating a major contribution of this segment to P availability. These  
356 results are probably related to the morphological and functional differences in the upper GIT  
357 characterizing both lines [12, 34]. Indeed, the greater development of the upper part of the  
358 GIT in D+ birds may underlie an increase in the synthesis of hydrochloric acid. Moreover, the  
359 mean retention time in the upper part of the GIT is greater in D+ than in D- birds [35]. All of  
360 these phenomena could lead to a lower pH of digesta that promote solubility of mineral  
361 phosphates [36] in D+ birds and the capacity of residual endogenous phytase of the feed [37].  
362 They can also favour the hydrolysis of phytic P by endogenous bacteria [38].

363 These high levels of differences in N and P excretion between D+ and D- birds could explain  
364 why the ratio of the NE to PE was 25.4% higher in D- than in D+ birds. French and European  
365 regulations limit the amounts of N and phosphates ( $P_2O_5$ ) that can be spread on fields to 170  
366  $kg. ha^{-1}$  and  $100 kg. ha^{-1}$ , respectively, the ideal ratio of N to  $P_2O_5$  on spread manure should  
367 thus be 1.7 [2]. Considering the litter and the water part of the manure being spread, the ratio  
368 of N to  $P_2O_5$  that would be found in the manure would be 1.95 and 2.33 for the D+ and the D-  
369 birds, respectively. However, since 50% of the N excreted by chickens is lost between



370 excretion and spreading [39], these ratios would become 0.976 for the D+ and 1.166 for the  
371 D- birds for manure ready to be spread on fields, implying that the manure of both lines is too  
372 rich in  $P_2O_5$  compared to N. This suggests first that N losses should be limited to increase the  
373 N/ $P_2O_5$  ratio in manure and secondly that this limitation should take into account the genotype  
374 of birds. Indeed, N losses in manure should be limited to 15% in D+ birds and 37% in D-  
375 birds, whereas the usual value is closer to 50%.

376 A second way to improve manure quality would be to combine genetic and nutritional  
377 approaches, i.e. by reducing the P rate in the diet and adjusting the phytase quantity added to  
378 the diet to each genotype in order to reduce P excretion [40].

379

380 Direct selection on excretion traits vs indirect selection on efficiency

381

382 It is often assumed that excretion can be reduced by selection on feed efficiency. By  
383 providing a full set of genetic parameters of excretion traits and efficiency, our study allows  
384 comparison of the expected responses to direct selection on excretion traits and digestibility  
385 and to indirect selection on feed efficiency. Using equations [5] and [6], for most excretion  
386 traits (CDUDM, WE, NE/NI, PE/PI and NE/PE) the expected responses to selection on FCR  
387 would be reduced by 12.3 to 50.5% as compared to selection on AMEn or CDUDM, and  
388 selection on RFI would lead to expected responses reduced by 19.9 to 85.7% compared to  
389 AMEn or CDUDM selection. While the indirect expected response was higher for selection  
390 on AMEn or CDUDM than on FCR for DEW/BW and FEW/BW, a selection on RFI would  
391 be 16.4 to 20.1% more efficient than on AMEn or CDUDM. At the opposite, for the FEW/FI  
392 ratio, the expected responses were similar for selection on AMEn, CDUDM or FCR, but  
393 selection on RFI would be 26.4 to 28.9% less efficient.

394 It therefore appears that, in order to reduce environmental pollution, selecting chickens on  
395 AMEn or CDUDM would be more effective than selection on feed efficiency, all the more  
396 true that actual methods (as NIRS) allow measuring these traits at a very moderate cost.  
397 Besides AMEn or CDUDM selection, direct selection on excretion traits could be considered.  
398 Using equation [5], it appears that for FEW/FI, DEW/FI, NE/PE and NE/NI ratios, indirect  
399 selection on AMEn or CDUDM would be more effective than direct selection, with  
400 improvements ranging from 1 to 78%. For the other excretion traits, indirect selection could  
401 be almost as effective as direct selection. Indeed, the responses of the FEW/FI ratio to indirect  
402 selection on AMEn or CDUDM were 88.2% of those of direct selection. Similarly, using  
403 AMEn or CDUDM as indirect selection criterion of WE would also be very effective (ranging  
404 from 62 to 69% of the direct response). Moreover, the PE/PI ratio would be considerably  
405 modified by selection on AMEn or CDUDM, with indirect responses ranging between 73 and  
406 82% of the direct response. Consequently, introducing AMEn or CDUDM in selection  
407 schemes could be a good way to reduce excretion and hence the environmental impact of  
408 chicken production. Finally, if evolution of genetic values in D+ and D- are symmetric, it is  
409 not the case for phenotypic values, which is commonly observed in divergent selection  
410 experiments. To draw a definitive conclusion on practical interest of such a selection, it would  
411 be necessary to compare to a control line (CL) such as the line used at the beginning of  
412 selection experiment. First elements brought by such a comparison indicated that DEW/FI  
413 was 31.5% lower in D+ than in CL birds [11], between 21 and 53 d (age at which birds  
414 reached commercial market weight).

415

## 416 **Conclusion**

417 Our genetic results indicate that limiting the environmental impact of chicken production by  
418 selection could be achieved by selecting on AMEn as well as on the CDUDM. According to  
419 the estimated genetic correlations, a decrease in chicken excretion is associated with an  
420 increase in proventriculus and gizzard relative weights, which would be likely to improve  
421 nutrient accessibility in the small intestine and thus the digestibility. Because of the increased  
422 competition between humans and animals for access to food (mainly cereals) and the use of  
423 non-renewable materials (such as inorganic P) in animal nutrition, the adaptation of birds to  
424 alternative diets of lower nutritional quality will become an important issue. This study  
425 highlights that there is wide genetic variability, and this may be used to improve feed  
426 digestibility and thus limit the excretion responsible for environmental pollution. Finally,  
427 even if classical selection criteria as FCR would reduce environmental impact of poultry  
428 production, greater responses could be expected from selection on digestive efficiency.

429

430

## 431 **Competing Interests**

432

433 The authors declare that they have no competing interests

434

435

## 436 **Authors' contributions**

437

438 HdV, AN, ELB and SMG contributed to the experimental design, data analysis, interpretation  
439 of data and manuscript preparation. HC contributed to the data analysis. DB contributed to the

440 use of NIRS in digestibility measurements. NM and SU assisted in the acquisition of data. All  
441 authors read and approved the final manuscript.

442

## 443 **Acknowledgements**

444

445 We thank the PEAT experimental unit (UE 1295 Pôle Expérimental Avicole de Tours, INRA,  
446 Nouzilly, France) and especially K. Gérard for bird management, L. Bonnal (CIRAD,  
447 Montpellier, France) for his help in the NIRS measurements of the excreta and all those who  
448 helped with the data collection.

449

450

## 451 **References**

452

- 453 1. McLeod A, Thieme O, Mack SD: **Structural changes in the poultry sector: will**  
454 **there be smallholder poultry development in 2030?** *Proceedings of the XXIII*  
455 *World's Poultry Congress: Brisbane, Australia; 2008.*
- 456 2. CORPEN: **Estimation des rejets d'azote, de phosphore, de potassium, de calcium,**  
457 **de cuivre et de zinc par les élevages avicoles. Influence de la conduite alimentaire**  
458 **et du mode de logement des animaux sur la nature et la gestion des déjections.** In.,  
459 vol. Rapport, 55 pp.: French Agricultural Minister 2006a.
- 460 3. Dilger RN, Adeola O: **Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous**  
461 **phosphorus loss in growing chickens fed conventional and low-phytate soybean**  
462 **meals.** *Poult Sci* 2006, **85**:661-668.
- 463 4. Nahm KH: **Feed formulations to reduce N excretion and ammonia emission from**  
464 **poultry manure.** *Bioresour Technol* 2007, **98**(12):2282-2300.

- 465 5. Jondreville C, Dourmad JY: **Le phosphore dans la nutrition des porcs**. *INRA Prod*  
466 *Anim* 2005, **18**(3):183-192.
- 467 6. Stewens L: **Protein and amino acid metabolism**. In: *Avian biochemistry and*  
468 *molecular biology*. Edited by Cambridge. Cambridge: Cambridge University Press;  
469 1996: p.65-81.
- 470 7. Namroud NF, Shivazad M, Zaghari M: **Effects of fortifying low crude protein diet**  
471 **with crystalline amino acids on performance, blood ammonia level, and excreta**  
472 **characteristics of broiler chicks**. *Poult Sci* 2008, **87**(11):2250-2258.
- 473 8. Zhang W, Aggrey SE, Pesti GM, Bakalli RI, Edwards HM: **Genetic analysis on the**  
474 **direct response to divergent selection for phytate phosphorus bioavailability in a**  
475 **randombred chicken population**. *Poult Sci* 2005, **84**(3):370-375.
- 476 9. Zhang W, Aggrey SE, Pesti GM, Bakalli RI, Edwards HM: **Correlated responses to**  
477 **divergent selection for phytate phosphorus bioavailability in a randombred**  
478 **chicken population**. *Poult Sci* 2005, **84**:536-542.
- 479 10. Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Peron A, Sellier N, Millet N,  
480 Besnard J, Hallouis JM, Carré B: **Heritability of digestibilities and divergent**  
481 **selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet**. *Poult Sci* 2004,  
482 **83**:860-867.
- 483 11. de Verdal H, Narcy A, Le Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S: **Excretion and**  
484 **gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their**  
485 **capacity of digestion**. In: *XIIIth European Poultry Conference: 23-27 August 2010*,  
486 Tours, France; 2010: 4p.
- 487 12. de Verdal H, Mignon-Grasteau S, Jeulin C, Le Bihan-Duval E, Leconte M, Mallet S,  
488 Martin C, Narcy A: **Digestive tract measurements and histological adaptation in**

- 489 **broiler lines divergently selected for digestive efficiency. *Poult Sci* 2010, **89**:1955-  
490 1961.**
- 491 13. Mignon-Grasteau S, Lafeuille O, Dourmad JY, Hillion S, Bastianelli D, Arnould C,  
492 Phocas F, Carré B: **Consequences of selection for digestibility on feeding activity**  
493 **and excretion.** In: *XIIIth European Poultry Conference: 23-27 August 2010; Tours,*  
494 *France: World's Poultry Science Journal; 2010: 615.*
- 495 14. Skinner-Noble DO, Teeter RG: **Components of feed efficiency in broiler breeding**  
496 **stock: The use of fasted body temperature as an indicator trait for feed**  
497 **conversion in broiler chickens. *Poult Sci* 2004, **83**: 515-520.**
- 498 15. de Verdal H, Narcy A, Bastianelli D, Chapuis H, Mème N, Urvoix S, Le Bihan-Duval  
499 E, Mignon-Grasteau S: **Reducing poultry excretion by selection. 1. Genetic**  
500 **parameters of efficiency and anatomy of digestive tract. *BMC Genetics* 2011,  
501 **12**:59.**
- 502 16. Bourdillon A, Carré B, Conan L, Duperray J, Huyghebaert G, Leclercq B, Lessire M,  
503 McNab J, Wiseman J: **European reference method for the in vivo determination of**  
504 **metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-intake**  
505 **and comparison with individual laboratory methods. *Br Poult Sci* 1990, **31**:557-  
506 565.**
- 507 17. Bastianelli D, Bonnal L, Juin H, Mignon-Grasteau S, Davrieux F, Carré B: **Prediction**  
508 **of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy. *J*  
509 *Near Infra Spe* 2010, **18**:69-77.**
- 510 18. Lessire M: **Valeurs nutritives pour les volailles.** In: *Tables de composition et de*  
511 *valeur nutritives.* Edited by INRA-AFZ ; 2004: 37-41.
- 512 19. Tixier-Boichard M, Boichard D, Groenveld E, Bordas A: **Restricted maximum**  
513 **likelihood estimates of genetic parameters of adult male and female rhode island**

- 514 **red chickens divergently selected for residual feed consumption. *Poult Sci* 1995,  
515 **74:1245-1252.****
- 516 20. Taylor RD, Jones GPD: **The incorporation of whole grain into pelleted broiler**  
517 **chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics.** *Br Poult Sci* 2004,  
518 **45:237-246.**
- 519 21. SAS Institute: **SAS<sup>®</sup> Institute.** In. Edited by edition <sup>1</sup>, Version 6, 4th ed. edn. Cary,  
520 NC., USA: SAS Institute Inc.; 1999: SAS Institute.
- 521 22. Neumaier A, Groeneveld E: **Restricted maximum likelihood of covariances in**  
522 **sparse linear models.** *Genet Sel Evol* 1998, **30:13-26.**
- 523 23. Zhang W, Aggrey SE, Pesti GM, Edwards HM, Bakalli RI: **Genetics of phytate**  
524 **phosphorus bioavailability: Heritability and genetic correlations with growth and**  
525 **feed utilization traits in a randombred chicken population.** *Poult Sci* 2003,  
526 **82(7):1075-1079.**
- 527 24. Ankra-Badu GA, Pesti GM, Aggrey SE: **Genetic interrelationships among**  
528 **phosphorus, nitrogen, calcium, and energy bioavailability in a growing chicken**  
529 **population.** *Poult Sci* 2010, **89(11):2351-2355.**
- 530 25. Mignon-Grasteau S, Juin H, Sellier N, Bastianelli D, Gomez J, Carré B: **Genetic**  
531 **parameters of digestibility of wheat- or corn-based diets in chickens.** In: *9th World*  
532 *Congress on Genetics Applied to Livestock Production: 2-6 August 2010; Leipzig,*  
533 *Germany; 2010: 4p.*
- 534 26. Denbow DM: **Gastrointestinal anatomy and physiology.** In. Edited by Whittow GC,  
535 Fifth edn: Academic Press; 1999: 299-325.
- 536 27. Williams RB: **The ratio of the water and food consumption of chickens and its**  
537 **significance in the chemotherapy of coccidiosis.** *Vet Res Commun* 1996, **20:437-**  
538 **447.**

- 539 28. Ritz CW, Fairchild BD, Lacy MP: **Litter quality and broiler performance**. In.  
540 Edited by service Ce, vol. Bulletin 1267. Georgia: The university of Georgia college  
541 of agricultural and environmental sciences; 2005: 1-7.
- 542 29. Ni JQ, Heber AJ, Hanni SM, Lim TT, Diehl CA: **Characteristics of ammonia and**  
543 **carbon dioxide releases from layer hen manure**. *Br Poult Sci* 2010, **51**:326-334.
- 544 30. Bolan NS, Szogi AA, Chuasavathi T, Seshadri B, Rothrock Jr. MJ, Panneerselvam P:  
545 **Uses and management of poultry litter**. *World's Poult Sci J* 2010, **66**(4):673-698.
- 546 31. Péron A, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Sellier N, Besnard J, Derouet M, Juin H,  
547 Carré B: **Effects of wheat quality on digestion differ between the D+ and D-**  
548 **chicken lines selected for divergent digestion capacity**. *Poult Sci* 2006, **85**:462-469.
- 549 32. Kamisoyama H, K. Honda, Y. Isshiki, S. Hasegawa: **Effects of dietary protein levels**  
550 **on the nutrient digestibility at different sites of chicken intestines**. *J Poult Sci*  
551 2009, **46**:193-197.
- 552 33. Rapp C, Lantzsch HJ, Drochner W: **Hydrolysis of phytic acid by intrinsic plant and**  
553 **supplmented microbial phytase (*Aspergillus niger*) in the stomach and small**  
554 **intestine of minipigs fitted with re-entrant cannulas. 3. Hydrolysis of phytic acid**  
555 **(IP<sub>6</sub>) and occurence of hydrolysis products (IP<sub>5</sub>, IP<sub>4</sub>, IP<sub>3</sub> and IP<sub>2</sub>)**. *Journal of*  
556 *Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)* 2001, **85**:420-430.
- 557 34. Rougière N, Gomez J, Mignon-Grasteau S, Carré B: **Effects of diet particle size on**  
558 **digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent**  
559 **digestion efficiency**. *Poult Sci* 2009, **88**:1206-1215.
- 560 35. Rougière N, Carré B: **Comparison of gastrointestinal transit times between**  
561 **chickens from D+ and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency**.  
562 *Animal* 2010, **4**:1861-1872.



- 563 36. Montminy MP, Jondreville C, Lescoat P, Meschy F, Pomar C, Bernier JF, Sauvant D:  
564 **First step of a model calcium and phosphorus metabolism in growing pigs: fate of**  
565 **ingested phosphorus in the stomach.** *Livest Sci* 2007, **109**:63-65.
- 566 37. Forsberg CW, Phillips JP, Golovan SP, Fan MZ, Meidinger RG, Ajakaiye A, Hilborn  
567 D, Hacker RR: **The enviropig physiology, performance, and contribution to**  
568 **nutrient management advances in a regulated environment: the leading edge of**  
569 **change in the pork industry.** *J Anim Sci* 2003, **81**:E68-E77.
- 570 38. Shirai K, Revah-Moissev S, Garcia-Garibay M, Marshall VM: **Ability of some strains**  
571 **of lactic acid bacteria to degrade phytic acid.** *Lett Appl Microbiol* 1994, **19**:366-  
572 369.
- 573 39. Ritz CW, Fairchild BD, Lacy MP: **Implications of ammonia production and**  
574 **emissions from commercial poultry facilities: A review.** *J Appl Poult Res* 2004,  
575 **13**(4):684-692.
- 576 40. Nancy A, Jondreville C, Letourneau-Montminy MP, Magnin M, Nys Y: **Voies**  
577 **nutritionnelles d'économie de phosphore chez le poulet.** In: *8èmes Journées de la*  
578 *Recherche Avicole: 25-26 march 2009; Saint Malo; 2009*: 115-123.
- 579



**ARTICLE III - Genetic variability of metabolic characteristics  
in chickens selected for their capacity to digest wheat**

**Hugues de Verdal<sup>1</sup>, Agnès Narcy<sup>1</sup>, Denis Bastianelli<sup>2</sup>, Nathalie Même<sup>1</sup>, Séverine Urvoix<sup>1</sup>,  
Elisabeth Le Bihan-Duval<sup>1</sup>, Sandrine Mignon-Grasteau<sup>1§</sup>**

A soumettre dans Genetics Selection Evolution

<sup>1</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>2</sup>CIRAD, UMR SELMET, 34398 Montpellier cedex 5, France.

<sup>§</sup> Corresponding author : [sandrine.grasteau@tours.inra.fr](mailto:sandrine.grasteau@tours.inra.fr)



## 1 **Abstract**

2

3 In order to improve feed efficiency, we selected birds on their aptitude to digest their diet,  
4 assessed by AMEn (Apparent Metabolisable Energy corrected for zero nitrogen). This  
5 selection affected energy digestibility, nitrogen, lipid, and starch digestibility. As it is known  
6 that selection on other feed efficiency traits as FCR (Feed Conversion Ratio) or RFI (Residual  
7 Feed Intake) modified post-digestion metabolism, the aim of this paper was to check whether  
8 it was also the case with AMEn, by comparing lines selected on AMEn for metabolic traits  
9 and by estimating their genetic correlations with AMEn. A total of 630 broiler chickens of the  
10 eight generation of a divergent selection experiment on AMEn were used for this purpose.  
11 Energy consumed is used by the animals to deposit tissues, such as proteins and lipids, here  
12 assessed by breast and abdominal fat yields, or minerals. Regarding minerals, we focused on  
13 bone traits linked to phosphorus metabolism, since we worked on growing birds and  
14 phosphorus retention rate was found to differ between lines. Energy is also dissipated through  
15 heat production, due to basal metabolic rate, physical activity and diet-induced thermogenesis.  
16 We considered that these two latter heat production traits were linked to the postprandial  
17 temperature increase.

18 The heritability estimates for metabolic traits were relatively high, except for the temperature  
19 traits (from 0.08 to 0.12), and ranged from 0.28 and 0.56 for body composition, and from 0.38  
20 to 0.77 for bone characteristics.

21 Finally, AMEn was poorly correlated with almost all metabolic traits, ranging from -0.10 to  
22 0.20, indicating that, at the opposite to FCR and RFI, the capacity of the animal to digest its  
23 diet is lowly genetically dependent from post-digestion metabolic traits.

24

## 25 **Introduction**

26

27 In view to reduce poultry excretion, it had been previously showed that selecting chickens on  
28 AMEn (apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen) or CDUDM (coefficient of  
29 the digestive use of the dry matter) could be efficient [1]. AMEn and CDUDM were highly  
30 genetically correlated with feed efficiency (FCR, feed conversion ratio, and RFI, residual feed  
31 intake, [1]). However, selecting chickens on feed efficiency had been shown to modify  
32 several metabolic traits, such as tissue deposition (proteins, lipids or minerals) or heat  
33 production. For example, Washburn and Pinson [2] reported that modern broilers, selected for  
34 an improved feed efficiency, presented lower body temperature than a 1957 randombred  
35 control population. Similarly, in laying hens, the R+ and R- birds, selected for high and low  
36 RFI, respectively [3], showed large heat production differences [4-7]. Selection of chickens  
37 on feed efficiency has also been shown to modify tissue deposition. Indeed, selection on RFI  
38 led to a lower abdominal fat yield (AFY) and to a higher breast meat yield (BMY) in R+ than  
39 in R- birds [7-9]. This difference is linked to the fact that R+ birds used the dietary glucose as  
40 energetic source while R- birds used dietary glucose for lipogenesis [7]. Conversely, selection  
41 of chickens for an improved FCR led to a decreased AFY and an increased BMY [10-12].  
42 Deposition of minerals can also be affected by selection for feed efficiency, especially for  
43 calcium and phosphorus (P) that have linked metabolic pathways [13], and are of special  
44 interest in the bone for growing broilers and in the egg for laying hens. For example, Swennen  
45 et al [7] showed that R+ hens have a higher bone ash weight than the R- hens, which would be  
46 linked to an increased deposition rates of P and calcium at the bone level [4, 14]. When  
47 comparing broilers selected for a good feed efficiency to unselected controls, McDevitt et al  
48 [15] also found that the unselected birds showed a 68% better P retention rate than selected  
49 birds, whereas both lines retained calcium at the same rate (about 85.5%).

50 Despite the fact that digestibility of wheat-based diet has been found to be heritable [16] and  
51 has led to a successful selection in broilers, very few data is available on the consequences of  
52 differences in digestive ability of animals on post-digestive metabolism. First results obtained  
53 in pigs selected for RFI indicate that both traits are independent [17], which suggests that  
54 relationships between AMEn and metabolism could be rather different than those between  
55 RFI and metabolism.

56 The first aim of this study was therefore to check whether selection on the digestive capacity  
57 of birds modified metabolic traits. Former studies reported that lines selected for either a high  
58 AMEn (D+: good digesters) or a low AMEn (D-: bad digesters) showed no major difference  
59 in physical activity, but differences in feeding activity [18]. Consequently, their postprandial  
60 temperature increment could be affected. Regarding tissue deposition, we evaluated lipid and  
61 protein deposition through body composition measurements. We also searched for possible  
62 difference in P utilization, in particular bone deposition. The second aim of this study was to  
63 go further in the understanding of relationships between the different traits recorded, by  
64 estimating their genetic correlations.

65

66

## 67 **Materials and Methods**

68

### 69 **Birds and housing**

70

71 The experiment was conducted according to the guidelines of the French Ministry of  
72 Agriculture for Animal Research, and included 630 birds (307 males and 323 females) of the  
73 8<sup>th</sup> generation of selection of D+ and D- lines, reared in 3 hatches, each separated by 4 wk.  
74 The pedigree file included animals from all generations (i.e., 4495 birds: 122 and 132 sires for  
75 D+ and D-, respectively, corresponding to 16.5 and 15.5 birds per sire for D+ and D-,

**Table 1 - Composition of the diet distributed during the rearing period.**

Ingredients	Amount (g.kg <sup>-1</sup> )
Corn	60.4
Wheat (Rialto)	525.0
Soybean meal 48	284.0
Corn gluten 60	31.0
Soybean oil	60.0
DL methionine	1.2
L-Lysine 78	2.2
Calcium carbonate	13.4
Dicalcium phosphate	15.8
Sodium chloride	3.0
Mineral and vitamin mix <sup>1</sup>	3.5
Robenidine <sup>2</sup>	0.5
Characteristics <sup>3</sup> (calculated)	
AMEn (kcal. kg <sup>-1</sup> )	2943
Crude proteins (%)	20.5
Lysine (%)	1.16
Methionine + Cystine (%)	0.76
Calcium (%)	1.11
Total phosphorus (%)	0.66
Non-phytate phosphorus (%)	0.42

<sup>1</sup>Supplied 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- $\alpha$  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; <sup>2</sup>Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ; <sup>3</sup>Calculated [52]



75 respectively). They were individually weighed at hatch and placed in groups of 4 or 5 chicks  
76 in metal cages (36 cm long × 22 cm wide × 40 cm high) during 3 d. After 3 d, chicks were  
77 randomly allocated to individual cages, in 3 different rearing rooms. The environmental  
78 conditions were controlled for ventilation, lighting program (24L: 0D from 1 d to 7 d and  
79 23L: 1D from 8 d to 23 d, dark periods beginning at midnight) and temperature (from 33°C at  
80 1 d to 22°C at 23 d). Mortality was recorded daily. The birds had free access to water and  
81 food. They were fed a wheat-based diet similar to the one used during the selection  
82 experiment (Table 1, [16]).

83

#### 84 Performance and excretion measurements

85

86 All birds were individually weighed at 17 and 23 d (BW<sub>23</sub>) of age. Individual total feed  
87 intake (FI) was recorded from 17 to 23 d and feed conversion ratio (FCR) was calculated. The  
88 nitrogen (N) and P concentrations in the diet were measured by calorimetric bomb for the N  
89 and by colorimetric analysis for the P. N and P intake (NI and PI, respectively) was calculated  
90 individually as the product of FI and N and P concentration in the diet. Droppings were  
91 individually collected between 17 and 23 d, using the method of individual total collection of  
92 excreta [19]. Total excreta were dried and weighed (DEW) and the coefficient of the digestive  
93 use of the dry matter ( $CDU-DM = 100 - (DEW: FI \times 100)$ ) was calculated. AMEn and N  
94 excretion weight (NE) were measured for all birds using Near Infrared spectrophotometry  
95 (NIRS, Foss NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD), following the method of Bastianelli et al.  
96 [20]. P excretion weight (PE) was determined by colorimetric analysis. N and P excretion  
97 rates were calculated as the ratio of NE to NI and PE to PI, respectively. The residual feed  
98 intake (RFI) was calculated as the deviation between the recorded feed intake and its estimate  
99 obtained by linear regression on metabolic BW ( $BW^{0.75}$ ) and the weight gain (BWG) between  
100 17 and 23 d.

101 Temperature and body composition measurements

102

103 At 22 d of age, after 12 h fasting, the peripheral temperature (FT) was measured with a  
104 Vet/Ox® G2 Digital™ Monitor (Heska), as an indicator of the basal metabolic rate. After 2 h  
105 of re-feeding, the temperature of fed birds was measured again using the same method. The  
106 difference between temperature of fed and fasted birds corrected for the feed intake during  
107 these 2 h was used as an indicator of the postprandial temperature increment relative to feed  
108 intake ( $\Delta T$ ).

109

110 Body composition and Bone measurements

111

112 At 23 d of age, all remaining chicks were slaughtered by CO<sub>2</sub> inhalation. Breast muscle and  
113 abdominal fat were weighed for each bird and their yields (BMY and AFY, respectively)  
114 were calculated in relation to live body weight.

115 The right tibia was excised and the remaining soft tissue was removed prior the storage of the  
116 bone at -20°C until analyses. The tibia length and diameter were measured. A three-point  
117 loading test using an Instron Universal Testing Instrument (Model 5543, INSTRON SA, Buc,  
118 France) was employed to measure the bone breaking strength (BBS) using the method  
119 described by Letourneau-Montminy [21]. To measure the dry matter of the bone, all the bones  
120 were placed at 105°C during 12 h and weighed. For the determination of tibia ash weight, the  
121 dry tibia were placed in a muffle furnace at 550°C for 12 h, and then weighed. The relative  
122 dry or ash weights were calculated as the ratio of the dry or ash weights to BW23. The tibia  
123 ash concentration was calculated as the ratio of the ash weight to the dry weight.

124

125 Statistical analyses

126

127 In order to determine which fixed effects had to be included in the genetic analyses, all the  
128 data were analyzed according to the General Linear Models (GLM) procedure of SAS [22].

129 For all the data, the following model was used:

130 
$$y_{ijklm} = \mu + L_i + C_j + H_k + S_l + LC_{ij} + LH_{ik} + e_{ijklm} \quad [1]$$

131 where  $y_{ijklm}$  is the performance of the animal  $m$ ,  $\mu$  the general mean,  $L_i$  the fixed effect of line  
132  $i$  ( $i = D+$  or  $D-$ ),  $C_j$  the effect of rearing room  $j$  ( $j = 1$  to  $3$ ),  $H_k$  the fixed effect of hatch  $k$  ( $k =$   
133  $1$  to  $3$ ),  $S_l$  the fixed effect of sex  $l$ ,  $LC_{ij}$  the effect of the interaction between line  $i$  and room  $j$ ,  
134  $LH_{ik}$  the effect of the interaction between line  $i$  and hatch  $k$ , and  $e_{ijklm}$  the residual pertaining  
135 to animal  $m$ . Least square means and standard deviations were calculated for  $D+$  and  $D-$  lines,  
136 for each trait. Differences were considered significant when  $P$ -value was lower than  $0.05$ .

137

138 Estimation of Genetic parameters

139

140 Genetic parameters were estimated by the REML (REstricted Maximum Likelihood)  
141 methodology with the VCE4 software [23]. For all the estimations, the model used was the  
142 model [1] with the addition of the additive genetic effect of animal. Preliminary analyses  
143 indicated the presence of a significant maternal effect for BW23, FCR, AMEn, breast meat  
144 yield, and abdominal fat yield. A maternal permanent environment effect was thus included in  
145 the model for these traits ( $c_m$ ,  $N = 4495$ ). For breast meat yield, even if the likelihood of the  
146 model with maternal permanent environment effect was better than the model without  
147 maternal effect, estimates were surprising compared to the literature, probably due to an  
148 overparametrization of the model. Results presented below for this trait are therefore those  
149 obtained with the simplest model, without the maternal environment effect.

**Table 2 – Basic statistics (LS Means  $\pm$  standard error) for all the analysed traits**

Variable <sup>1</sup>	<i>n</i>	D+	D-	Line effect ( <i>P</i> -value)
BW23 (g)	592	490 $\pm$ 3.62	428 $\pm$ 3.62	<0.001
FI (g)	586	285 $\pm$ 3.19	363 $\pm$ 3.25	< 0.001
AMEn (kcal.kgMS <sup>-1</sup> )	584	3278 $\pm$ 25.6	2460 $\pm$ 25.7	<0.001
FCR (g.g <sup>-1</sup> )	586	1.72 $\pm$ 0.08	2.72 $\pm$ 0.08	<0.001
RFI (g)	586	-33.2 $\pm$ 3.15	34.9 $\pm$ 3.20	<0.001
CDU-DM (%)	584	75.4 $\pm$ 0.56	58.8 $\pm$ 0.56	<0.001
FT (°C)	598	40.2 $\pm$ 0.02	40.2 $\pm$ 0.02	0.724
$\Delta$ T (°C.g <sup>-1</sup> )	574	0.024 $\pm$ 0.001	0.021 $\pm$ 0.001	0.081
Breast meat yield (g.kg <sup>-1</sup> )	587	52.4 $\pm$ 0.25	52.2 $\pm$ 0.25	0.531
Abdominal fat yield (g.kg <sup>-1</sup> )	588	12.5 $\pm$ 0.30	10.8 $\pm$ 0.30	<0.001
Ash content (%)	592	41.1 $\pm$ 0.12	41.0 $\pm$ 0.12	0.597
Relative dry tibia weight (g.kg <sup>-1</sup> )	600	3.25 $\pm$ 0.02	3.05 $\pm$ 0.02	<0.001
Relative ash weight (g.kg <sup>-1</sup> )	591	1.34 $\pm$ 0.01	1.24 $\pm$ 0.01	<0.001
Relative tibia length (mm.kg <sup>-1</sup> )	590	140 $\pm$ 1.06	152 $\pm$ 1.05	<0.001
Relative tibia diameter (mm.kg <sup>-1</sup> )	598	10.2 $\pm$ 0.07	10.6 $\pm$ 0.07	<0.001
BBS (N)	608	116 $\pm$ 1.51	87.9 $\pm$ 1.51	<0.001
PE (gDM)	592	0.81 $\pm$ 0.02	1.28 $\pm$ 0.02	<0.001
PE: WG (g.g <sup>-1</sup> )	590	0.56 $\pm$ 0.04	0.96 $\pm$ 0.04	<0.001
PE: PI (g.g <sup>-1</sup> )	592	0.47 $\pm$ 0.01	0.58 $\pm$ 0.01	<0.001
NE (gDM)	598	3.40 $\pm$ 0.11	6.59 $\pm$ 0.11	<0.001
NE: WG (g.g <sup>-1</sup> )	595	2.37 $\pm$ 0.21	4.94 $\pm$ 0.21	<0.001
NE: NI (g.g <sup>-1</sup> )	591	0.41 $\pm$ 0.01	0.63 $\pm$ 0.01	<0.001

<sup>1</sup>BW23: BW at 23 d of age; FI: Feed intake between 17 and 23 d; AMEn: Apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen; FCR: feed conversion ratio between 17 and 23 d; RFI: residual feed intake; CDU-DM: coefficient of digestive utilization of the dry matter; FT: Basal metabolic temperature;  $\Delta$ T: postprandial temperature increment; BBS: Bone breaking strength; PE: phosphorus excreted between 17 and 23 d; PI: phosphorus intake between 17 and 23 d; PE:PI: ratio of the phosphorus excreted to the phosphorus intake; NE: nitrogen excreted between 17 and 23 d; NI: nitrogen intake between 17 and 23 d; NE:NI: ratio of the nitrogen excreted to the nitrogen intake

149 For BW23, FCR, and AMEn, data of all the generations were included in the analysis, in  
150 order to take into account the effect of selection in our lines. As several traits were strongly  
151 correlated, it was not possible to run a single analysis including all traits, distinct multi-trait  
152 analyses were performed, always including traits used in the selection experiment, i.e. AMEn  
153 and BW23. A total of 135 analyses were realised. When a parameter (heritability or genetic  
154 correlation between two traits) was estimated in several analyses, the parameters estimates  
155 and the standard errors of parameters presented below are the mean of those obtained in  
156 various analyses.

157

158

## 159 **Results**

160

### 161 **Between lines differences**

162

163 Elementary statistics of performance and excretion traits can be found in de Verdal et al [1,  
164 24]. Elementary statistics of metabolic traits are shown in Table 2. Body composition was  
165 affected by selection only through abdominal fatness, as D- birds were 13.6 % leaner than D+  
166 birds. At the opposite, breast yield was not different between D+ and D- birds. No difference  
167 was found between lines neither for FT not for  $\Delta T$ , even if we observed a tendency in  $\Delta T$ ,  
168 slightly higher in D+ than in D- ( $P=0.08$ ).

169 Birds of the D- line were 12.7% lighter than D+ birds. The dry tibia and ash weights were 6.6  
170 and 8.1 % higher in D+ than in D-, respectively. However, D- showed 8.6 % longer and 3.9 %  
171 wider tibias than D+ birds, and bone ash content was not different between the two lines.  
172 Bones of D+ birds were also harder than those of D- birds, as BBS was 32.0 % higher in the  
173 former than in the latter.

**Table 3 – Estimations ( $\pm$  standard error) of heritability (on the diagonal) and genetic correlations (above the diagonal) for temperature, body composition and bone characteristics**

Traits <sup>1</sup>	FT	$\Delta$ T	BRY	AFY	TAC	TW	TAW	TL	TD	BBS
FT	<b>0.12<math>\pm</math>0.04</b>	-0.53 $\pm$ ne	0.33 $\pm$ 0.19	0.06 $\pm$ 0.24	0.06 $\pm$ 0.19	0.44 $\pm$ 0.19	0.42 $\pm$ 0.16	-0.39 $\pm$ 0.19	-0.24 $\pm$ ne	0.37 $\pm$ 0.18
$\Delta$ T		<b>0.13<math>\pm</math>0.05</b>	-0.45 $\pm$ 0.17	-0.11 $\pm$ 0.23	0.03 $\pm$ 0.20	-0.67 $\pm$ 0.16	-0.53 $\pm$ ne	0.62 $\pm$ ne	0.33 $\pm$ ne	-0.79 $\pm$ ne
BRY			<b>0.56<math>\pm</math>0.08</b>	-0.39 $\pm$ 0.19	0.12 $\pm$ 0.14	0.18 $\pm$ 0.14	0.25 $\pm$ 0.12	-0.27 $\pm$ 0.14	-0.08 $\pm$ 0.14	0.12 $\pm$ 0.06
AFY				<b>0.29<math>\pm</math>0.09</b>	-0.37 $\pm$ 0.16	0.09 $\pm$ 0.16	-0.13 $\pm$ 0.17	-0.31 $\pm$ ne	-0.67 $\pm$ 0.14	0.16 $\pm$ 0.15
TAC					<b>0.41<math>\pm</math>0.06</b>	-0.10 $\pm$ 0.14	0.40 $\pm$ 0.11	0.01 $\pm$ 0.15	0.04 $\pm$ 0.14	0.22 $\pm$ 0.11
TW						<b>0.38<math>\pm</math>0.07</b>	0.85 $\pm$ 0.04	-0.26 $\pm$ ne	0.07 $\pm$ ne	0.69 $\pm$ 0.08
TAW							<b>0.52<math>\pm</math>0.07</b>	-0.20 $\pm$ ne	0.06 $\pm$ 0.13	0.67 $\pm$ ne
TL								<b>0.60<math>\pm</math>0.05</b>	0.82 $\pm$ 0.04	-0.70 $\pm$ ne
TD									<b>0.74<math>\pm</math>0.07</b>	-0.40 $\pm$ ne
BBS										<b>0.77<math>\pm</math>0.07</b>

<sup>1</sup>BMT: Basal metabolic temperature;  $\Delta$ T: postprandial temperature increment; BRY: breast yield; AFY: abdominal fat yield; TAC: tibia ash content; TW: relative tibia weight; TAW: relative tibia ash weight; TL: tibia length; TD: tibia diameter; BBS: Bone breaking strength; ne: not estimated

174 Genetic parameters of metabolic traits

175

176 Heritability estimates of BW23, AMEn, FCR, RFI, and of CDU-DM can be found in de  
177 Verdal et al. [1, 24]. The genetic parameters of temperature, body composition and bone  
178 characteristics are presented in Table 3. Heritability of FT and  $\Delta T$  were low but significantly  
179 different from zero. Body composition traits presented higher heritability estimates, ranging  
180 from 0.28 for abdominal fatness to 0.56 for breast meat yield. Abdominal fat yield was also  
181 subjected to a significant maternal permanent environment effect ( $0.06 \pm 0.02$ ). All the bone  
182 characteristics were highly heritable (ranging from 0.38 to 0.77) and were not affected by this  
183 maternal effect.

184 As several traits presented very strong genetic correlations, convergence was more difficult in  
185 some analyses, leading to the impossibility to estimate standard errors of genetic correlations.

186 A strong negative correlation (-0.53) was found between FT and  $\Delta T$ , indicating that birds  
187 with a low basal temperature have a greater increase of temperature when fed than those with  
188 a high FT. Genetic correlations estimates also indicate that birds with higher FT (and lower  
189  $\Delta T$ ) presented an increase in dry weight and BBS at the bone level. They would also tend to  
190 have more protein deposition, as breast yield is moderately correlated to FT and  $\Delta T$ .

191 As usually observed, protein and lipid deposition were opposed, as breast meat yield and  
192 abdominal fat yield were negatively correlated. On average, these two traits were poorly  
193 correlated to bone traits. However, fatter animals will have shorter, thinner, and less  
194 mineralized bones, as genetic correlations between AFY and ash content, tibia length and  
195 diameter were negative (from -0.31 to -0.67).

196 Tibia ash content was weakly correlated with other bone traits, except with relative ash  
197 weight. Apart from tibia ash content, all bone characteristics were strongly correlated with

**Table 4 – Genetic correlations ( $\pm$  standard error) between nitrogen and phosphorus traits and temperature, body composition and bone characteristics**

Traits <sup>1</sup>	PE	PE: WG	PE: PI	NE	NE: WG	NE: NI
FT	0.11 $\pm$ 0.19	-0.28 $\pm$ 0.12	0.00 $\pm$ 0.16	-0.01 $\pm$ 0.16	-0.22 $\pm$ 0.14	-0.16 $\pm$ ne
$\Delta$ T	-0.32 $\pm$ ne	-0.09 $\pm$ 0.10	0.59 $\pm$ 0.22	0.30 $\pm$ ne	-0.02 $\pm$ ne	-0.05 $\pm$ ne
BRY	-0.08 $\pm$ 0.13	-0.26 $\pm$ 0.18	-0.30 $\pm$ 0.12	-0.09 $\pm$ 0.11	-0.24 $\pm$ 0.14	-0.33 $\pm$ 0.10
AFY	0.19 $\pm$ 0.15	0.03 $\pm$ 0.21	0.38 $\pm$ 0.19	0.05 $\pm$ ne	-0.26 $\pm$ 0.16	0.06 $\pm$ 0.11
TAC	-0.46 $\pm$ ne	-0.47 $\pm$ 0.13	-0.78 $\pm$ ne	-0.29 $\pm$ 0.11	-0.22 $\pm$ 0.14	-0.40 $\pm$ 0.09
TW	0.22 $\pm$ 0.13	0.01 $\pm$ 0.17	-0.25 $\pm$ 0.11	0.21 $\pm$ 0.11	0.04 $\pm$ 0.14	-0.11 $\pm$ 0.08
TAW	-0.14 $\pm$ 0.13	-0.29 $\pm$ 0.17	-0.69 $\pm$ 0.07	-0.03 $\pm$ 0.11	-0.11 $\pm$ ne	-0.36 $\pm$ 0.10
TL	-0.33 $\pm$ ne	0.32 $\pm$ ne	-0.02 $\pm$ ne	0.35 $\pm$ 0.07	0.43 $\pm$ ne	-0.07 $\pm$ ne
TD	-0.43 $\pm$ 0.08	-0.19 $\pm$ 0.14	-0.41 $\pm$ ne	-0.16 $\pm$ ne	0.02 $\pm$ ne	-0.15 $\pm$ ne
BBS	0.11 $\pm$ ne	-0.39 $\pm$ 0.15	-0.45 $\pm$ 0.11	0.13 $\pm$ 0.09	-0.28 $\pm$ ne	-0.32 $\pm$ ne

<sup>1</sup>BMT: Basal metabolic temperature;  $\Delta$ T: postprandial temperature increment; BRY : breast yield; AFY: abdominal fat yield; TAC: tibia ash content; TW: relative tibia weight; TAW: relative tibia ash weight; TL: tibia length; TD: tibia diameter; BBS: Bone breaking strength; PE: phosphorus excreted between 17 and 23 d; PI: phosphorus intake between 17 and 23 d; PE:PI: ratio of the phosphorus excreted to the phosphorus intake; NE: nitrogen excreted between 17 and 23 d; NI: nitrogen intake between 17 and 23 d; NE:NI: ratio of the nitrogen excreted to the nitrogen intake; ne: not estimated



198 bone breaking strength (absolute values of genetics correlations ranging from 0.40 to 0.70),  
199 indicating that the most solid bones will be heavy, short, and thin. Finally, the two weight  
200 traits and the two dimension traits of bones were strongly correlated with each other, but  
201 weight and dimension were independent.

202

203 Genetic correlations between metabolic traits and N and P characteristics

204

205 The genetic correlations between metabolic traits (temperature, body composition and bone  
206 characteristics) and N or P intake and excretion are shown in Table 4. FT was not correlated  
207 with the N or P consumption and excretion. At the opposite,  $\Delta T$  was negatively correlated  
208 with NI and PI.

209 As expected, birds depositing more proteins, and therefore presenting heavier breasts have a  
210 better capacity to retain N, genetic correlation between BRY and NE: NI being negative (-  
211 0.33). These birds, as well as leaner birds, are also more efficient in P retention, genetic  
212 correlations between PE: PI and BRY or AFY being respectively estimated at -0.30 and  
213 +0.38.

214

215 As expected, most of the bone characteristics are correlated with the capacity of bird to retain  
216 P, the only trait being uncorrelated with PE: PI being tibia length. Heavier, more mineralized,  
217 thicker and more resistant bones are associated with an improved capacity to retain P.  
218 However, depending on the bone characteristics considered, this association with PE: PI is  
219 more linked to a reduced excretion (e.g. for ash content) or to an increased P intake (e.g. for  
220 BBS or relative tibia weight). Correlations between bone traits and the capacity of retention of  
221 N were weaker and more erratic. Only ash content and relative ash weight were significantly

**Table 5 – Genetic correlations ( $\pm$  standard error) between body weight at 23 d (BW23), apparent metabolisable energy (AMEn), feed conversion ratio (FCR), residual feed intake (RFI) and coefficient of digestive utilization of the dry matter (CDU-DM) and temperature, body composition and bone traits.**

Traits <sup>1</sup>	BW23	AMEn	FCR	RFI	CDU-DM
FT	0.56 $\pm$ 0.23	0.00 $\pm$ 0.09	-0.11 $\pm$ ne	0.43 $\pm$ 0.20	0.06 $\pm$ 0.11
$\Delta$ T	-0.84 $\pm$ 0.08	0.18 $\pm$ 0.08	-0.08 $\pm$ ne	-0.64 $\pm$ 0.14	0.23 $\pm$ ne
BRY	0.29 $\pm$ 0.20	0.05 $\pm$ 0.08	-0.11 $\pm$ 0.09	0.31 $\pm$ 0.16	0.05 $\pm$ 0.11
AFY	0.73 $\pm$ 0.15	0.20 $\pm$ 0.08	-0.20 $\pm$ 0.10	0.03 $\pm$ ne	0.10 $\pm$ 0.11
TAC	-0.23 $\pm$ 0.20	0.08 $\pm$ 0.08	0.07 $\pm$ 0.11	-0.07 $\pm$ 0.13	0.19 $\pm$ 0.10
TW	0.69 $\pm$ 0.16	0.08 $\pm$ 0.08	-0.16 $\pm$ ne	0.47 $\pm$ 0.11	0.03 $\pm$ 0.09
TAW	0.35 $\pm$ 0.20	0.12 $\pm$ 0.08	-0.17 $\pm$ 0.10	0.34 $\pm$ 0.13	0.07 $\pm$ ne
TL	-1.00 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.06	0.23 $\pm$ ne	-0.52 $\pm$ ne	-0.11 $\pm$ ne
TD	-0.96 $\pm$ 0.02	-0.10 $\pm$ 0.06	0.07 $\pm$ ne	-0.37 $\pm$ 0.07	-0.05 $\pm$ ne
BBS	0.93 $\pm$ 0.04	0.16 $\pm$ 0.07	-0.21 $\pm$ ne	0.54 $\pm$ 0.07	0.13 $\pm$ ne

<sup>1</sup>BW23: BW at 23 d of age; AMEn: Apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen; FCR: feed conversion ratio between 17 and 23 d; RFI: residual feed intake; CDU-DM: coefficient of digestive utilization of the dry matter; FT: Basal metabolic temperature;  $\Delta$ T: postprandial temperature increment; BRY: breast yield; AFY: abdominal fat yield; TAC: tibia ash content; TW: relative tibia weight; TAW: relative tibia ash weight; TL: tibia length; TD: tibia diameter; BBS: Bone breaking strength; ne: not estimated

222 correlated with nitrogen retention, the most mineralized bones being associated with an  
223 improved capacity to retain N.

224

225 Genetic correlations between metabolic traits and performance or feed efficiency

226

227 The genetic correlations between metabolic traits and performance or feed efficiency are  
228 shown in Table 5. The genetic correlations between all the metabolic trait and AMEn, CDU-  
229 DM or FCR were very low and in most cases not significant, except between AMEn and DIT,  
230 relative fat weight, relative tibia length, and BBS (genetic correlations ranging from 0.15 to  
231 0.20).

232 BW23 and RFI presented on average a similar pattern of correlations with metabolic traits,  
233 with much stronger correlations than those observed with AMEn, FCR or CUD-DM. Heavier  
234 animals and those which have a greater residual feed intake are associated with an increased  
235 basal temperature, reduced postprandial temperature increment and shorter, heavier, thinner,  
236 and more solid bones. At the opposite, for AFY, correlations were very strong with BW23 but  
237 close to zero with RFI, heavier animals showing a decreased abdominal fatness.

238

239

## 240 **Discussion**

241

242 Selecting chickens on feed efficiency or residual feed intake has been shown to have high  
243 impact on several metabolic traits but low impact on digestibility, as it has been shown in  
244 laying hens and pigs [25, 26]. The aim of our study was to check whether selecting on a trait  
245 specific to digestive process (AMEn) would imply metabolic variations. de Verdal et al [1]  
246 already showed that nitrogen and phosphorus retention rates were modified by selection on  
247 AMEn, since D+ birds excreted significantly less nitrogen and phosphorus compared to D-

248 birds. Understanding the genetic links between AMEn and temperature characteristics (basal  
249 temperature and postprandial temperature increment), tissue deposition (abdominal fat and  
250 breast meat yields), and phosphorus metabolism in the bone (tibia ash content, tibia dry and  
251 ash weights, tibia length and diameter, and bone breaking strength) is of importance.

252

253 Phenotypic and genetic characteristics of metabolic traits

254

### 255 *Temperature*

256 FT is not significantly different between D+ and D- birds, which is consistent with the  
257 absence of genetic correlation between AMEn and this trait. Luiting et al. [26] explained that  
258 a large part of the RFI differences in the R+ and R- laying hens, selected for high and low RFI  
259 values, respectively, could be due to the differences in the energetic requirement for  
260 sustaining body temperature. These authors showed that laying hens with low RFI have lower  
261 basal metabolic rate, which was also found in growing pigs [17]. This lack of difference in the  
262 present study between D+ and D- for the FT could be explained by the fact that the selection  
263 experiment had been performed with a constant BW. Consequently, with the same BW, while  
264 AFY was higher in D+ than in D-, it could be hypothesized that the basal requirements for the  
265 maintenance are nearly similar. It could be expected that the difference between D+ and D-  
266 lines is only activated when the birds are eating and digesting. Consistently,  $\Delta T$  tends to be  
267 higher in D+ than in D- ( $P = 0.08$ ). The low correlation estimate between  $\Delta T$  and AMEn still  
268 indicates that animals with a better capacity to digest would have a slightly higher increase in  
269  $\Delta T$ , which is consistent with the tendency observed for  $\Delta T$  between D+ and D-. It was  
270 expected that the birds digesting more feed have a greater  $\Delta T$ . Indeed, with the same feed  
271 consumed, it could be hypothesized that birds digesting more keep more nutrients and  
272 consequently, their metabolism is more active [27]. Renaudeau et al [27] explained that the  
273 heat production associated to the digestive and metabolism utilization of the feed vary with

274 the consumption, the nutrient content of the feed and the final utilization of these nutrients at  
275 the metabolic level.

276 Heritability estimates of FT and  $\Delta T$  were low and for FT, in the same range as in Washburn &  
277 Pinson [2] and El-Gendy & Washburn [28], i.e. between 0.09 and 0.19. These low heritability  
278 estimates could be due to the fact that body temperature is highly regulated characteristic of  
279 homeostasis [29] and consequently, have a low variability. Moreover, the precision of the  
280 measure of body temperature is probably not sufficient compared to the range of variation of  
281 the trait (0.1 vs 38.8 to 41.2°C for FT minimum and maximum, respectively). Imprecision of  
282 the measure of temperature is increased by the fact that chickens were handled, which could  
283 stress the birds and thus increase body temperature [30, 31].

284 The highly negative genetic correlation between FT and  $\Delta T$  is consistent with previous  
285 phenotypic statements of El-Gendy & Washburn [28] who found that chickens with a high  
286 basal metabolic temperature tended to have lower temperature variations after a heat stress. It  
287 is probable that, as temperature is strongly regulated in homeostatic animals, the temperature  
288 cannot exceed a certain threshold, which leaves less margin of evolution to the animal whose  
289 basal temperature is high. However, this negative link between FT and  $\Delta T$  corrected for feed  
290 intake was not reported in R+ R- lines in laying hens [7], and these authors concluded that  $\Delta T$   
291 had no feedback effect on FI.

292 Body temperature was poorly correlated with body composition, consistently with the results  
293 of Swennen et al. [7] in laying hens. Conversely, a genetic link exists between temperature  
294 and bone characteristics. Indeed, the tibia length relative to BW23 was negatively correlated  
295 with FT, and positively with DIT. This could be explained by the fact that the leg is a heat  
296 exchange surface [4]. Thereby, an increase of the tibia length could allow an increase of the  
297 heat dissipation surface, and consequently, a decrease of FT and an increase of DIT. In the

298 same way, Gabarrou et al. [6] concluded that the increment of the legs (and of other heat  
299 exchange surfaces) are an adaptation of birds to increase of the heat dissipation.

300

301

### 302 ***Body composition***

303 Heritability estimates for the body composition characteristics were consistent with the  
304 literature [10, 32, 33] even though in the lower part of the range for AFY. This discrepancy  
305 for AFY is probably due to the young age of the birds (23 d) whereas most of the literature  
306 deals with older chickens (42 d). Furthermore, a maternal permanent environmental effect  
307 was included in the estimation model, which had likely reduced the heritability estimate.

308 Breast meat yield was not different between D+ and D- birds, consistently with the low  
309 genetic correlation between AMEn and the breast meat yield ( $r_g = 0.05$ ). As nitrogen retention  
310 (digestibility) strongly differed between both lines, it indicates that AMEn only modified the  
311 digestion and not the post-digestion metabolism of nitrogen and proteins. Conversely, D+  
312 showed a 15.7% higher abdominal fat yield than D- birds, in accordance with the genetic  
313 correlation between these two traits, relatively low but positive and significant. Since BMY  
314 was similar between the two lines whereas D+ birds digested more energy than D- birds, it  
315 could be hypothesized that these D+ utilizes this surplus of energy to deposit more fat than D-  
316 birds. Uni et al. [34] showed that chickens with higher digestive capacities seem to deposit  
317 more fat, probably due to a higher capacity of nutrient absorption. This observation was  
318 consistent with results of de Verdal et al. [35] showing that the absorption capacity of D+  
319 birds was higher than of D-.

320 According to our estimates of genetic correlations between the body composition and the  
321 nitrogen and phosphorus traits, protein deposition is more linked to the efficiency of nitrogen  
322 retention, but not specifically neither to intake nor to excretion. Bouvarel et al. [36] showed

323 that a reduction from 20 to 18.5% of body protein fixation involves an increase of 10% of  
324 excretion. In the same way, if birds were deficient in amino acids, which is possible when  
325 their protein retention is low, a decrease of growth performance and BMY would be expected  
326 [37]. Moreover, the significant negative correlation between BMY and PE: PI would be  
327 explained by the high genetic correlation between NE: NI and PE: PI [1] or by the implication  
328 of phosphorus in amino acids absorption. Indeed, it had been previously shown that the  
329 improvement of the phytic phosphorus (PP) hydrolysis by phytase was linked to an increase  
330 of amino acid retention [38]. The negative effect of PP on the amino acids retention could be  
331 explained by the formation of complexes between PP and proteins in the upper part of the  
332 gastrointestinal tract, inhibiting the protein hydrolysis by pepsin [39] and the phosphorus  
333 absorption. Consequently, an improvement of the phosphorus absorption would be linked  
334 with an increase of both the protein retention and the BMY. Furthermore, Martinez-Amezcu  
335 et al [40] suggested that the phosphorus is essential in the activation of the Na/K ATPase  
336 pump, which is involved in the amino acids absorption.

337

### 338 ***Bone characteristics***

339 In the present study, several measurements were performed, and except for TAC, all the bone  
340 characteristics were significantly different between D+ and D- lines. According to Acosta et  
341 al. [41] and Meschy et al. [42], tibia ash content is the best indicator of the phosphorus  
342 bioavailability. For example, improving bioavailability of P by addition of phytase to the diet  
343 increased TAC [43]. These studies are confirmed by our estimation of the strong genetic  
344 correlation between PE: PI and TAC (-0.78).

345 D+ birds have shorter, thinner but denser bones than D- birds, which was consistent with their  
346 better BBS. Moreover, tibia length and BBS were negatively genetically correlated. These  
347 results are consistent with those of Williams et al. [44] showing a reduction of the leverage of

348 the breaking moment for shorter bone. McDevitt et al. [15] showed that BBS was linked with  
349 the inorganic bone component i.e. ash weight, which is an indicator of the hardness of the  
350 bone. In the present results, the tibia ash weight was higher in D+, than in D- birds, involving  
351 a harder bone for the former. Therefore, these authors explained that BBS was also linked  
352 with the organic bone component i.e. dry tibia weight, which give the flexibility. In our case,  
353 the relative dry tibia weight was higher in D+ than in D-. These results are consistent with the  
354 positive genetic correlations estimated between BBS, TW and TAW.

355 Furthermore, Alexander et al. [45] showed a negative link between the bone integrity traits,  
356 like BBS, and the phosphorus deficiency, which in our case could be assimilated to the  
357 phosphorus excretion rate. This negative link was consistent with the present negative  
358 correlation between PE: PI and BBS (-0.45). Furthermore, McDevitt et al. [15] showed that  
359 the reduction of BBS could be due to a decrease of minerals consumption or a decrease in the  
360 minerals utilization. In the present study, the most likely hypothesis will be a reduction of the  
361 minerals utilization, since D- birds showed a lower BBS but a higher feed intake than D+  
362 birds. This hypothesis is reinforced by the study of Williams et al. [46] who did not find any  
363 significant link between intake (NI and PI) and ash content.

364 These differences in bone characteristics between D+ and D- were not explained by the  
365 AMEn divergence between lines, since the genetic correlations between AMEn and bone  
366 traits were low and in most cases not significant. However, at the opposite of TAC, all these  
367 traits presented very strong genetic correlation with BW23, which has been moderately  
368 affected by selection on AMEn. These traits were strongly heritable (ranging from 0.38 to  
369 0.77), consistently with the results of Suchy et al. [47] showing that 70 to 80% of the bone  
370 mass was determined by genetics. Consequently, the BW23 differences could be sufficient to  
371 explain bone characteristics differences between lines.

372



373 Genetic correlations between growth performances, feed efficiency and metabolic traits  
374  
375 The impact of a genetic selection of FCR or RFI on metabolism has been studied in poultry,  
376 cattle and pigs [48-50]. In our study, the genetic correlations between AMEn, FCR, RFI and  
377 the metabolic traits showed that FCR or AMEn were widely less correlated with metabolic  
378 characteristics than RFI. Furthermore, Luiting et al [26] explained that the differences in  
379 digestibility of feed energy did not play an important role in the RFI and FT differences  
380 between the divergent lines selected for RFI. Skinner-Noble et al [51] also showed that the  
381 body temperature was not a good indicator of FCR, consistently with our low genetic  
382 correlation between FT and FCR. In the same way, pigs selected for high and low RFI values  
383 showed fasting heat production differences but no differences was seen in energy and DM  
384 digestibility coefficients [17].

385  
386 Finally, the present results showed an effective independence of the digestibility characters, as  
387 AMEn or CDU-DM, and measured temperature and metabolism characteristics were not  
388 highly genetically correlated. Selecting on digestibility could have a very low impact on the  
389 metabolic characteristics, whatever the considered trait. Consequently, it seems that the  
390 selection experiment based on AMEn modifies the digestion phase but not the post-digestion  
391 phase. Indeed, what the animal do with the nutrients digested do not change highly with a  
392 selection experiment on digestibility characteristics.

393

394

## 395 **Acknowledgements**

396

397 We thank the PEAT experimental unit (UE 1295 Pôle Expérimental Avicole de Tours, INRA,  
398 Nouzilly, France) and especially K. Gérard for bird management, L. Bonnal (CIRAD,

399 Montpellier, France) for his help in the NIRS measures of the excreta and all those who  
400 helped with the data collection.

401

402

## 403 **References**

404

- 405 1. de Verdal H, Narcy A, Chapuis H, Bastianelli D, Mème N, Urvoix S, Le Bihan-Duval  
406 E, Mignon-Grasteau S: **Improving the efficiency of feed utilization in poultry by  
407 selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy  
408 of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency.** *BMC Genet* 2011, **12**:71.
- 409 2. Washburn KW, Pinson ER: **Variation in the three-week body temperature of  
410 broilers and Athens-Canadian randombred chickens.** *Poult Sci* 1990, **69**(3):486-  
411 488.
- 412 3. Bordas A, Merat P: **Genetic variation and phenotypic correlations of food  
413 consumption of laying hens corrected for body weight and production.** *Br Poult  
414 Sci* 1981, **22**:25-32.
- 415 4. Bordas A, Tixier-Boichard M, Mérat P: **Direct and correlated responses to  
416 divergent selection for residual food intake in rhode island red laying hens.** *Br  
417 Poult Sci* 1992, **33**:741-754.
- 418 5. Gabarrou JF: **La thermogénèse alimentaire chez les oiseaux : composantes,  
419 régulations et mécanismes.** Tours: François Rabelais de Tours; 1996.
- 420 6. Gabarrou JF, Géraert PA, Picard M, Bordas A: **Diet-induced thermogenesis in  
421 cockerels is modulated by genetic selection for high or low residual feed intake.** *J  
422 Nutr* 1997, **127**:2371-2376.

- 423 7. Swennen Q, Verhulst P-J, Collin A, Bordas A, Verbeke K, Vansant G, Decuyper E,  
424 Buyse J: **Further investigations on the role of diet-induced thermogenesis in the**  
425 **regulation of feed intake in chickens: comparison of adult cockerels of lines**  
426 **selected for high or low residual feed intake.** *Poult Sci* 2007, **86**:1960-1971.
- 427 8. Alleman F, Bordas A, Caffin J-P, Daval S, Diot C, Douaire M, Fraslin J-M,  
428 Lagarrigue S, Leclercq B: **L'engraissement chez le poulet: aspects métaboliques et**  
429 **génétiques.** *INRA Prod Anim* 1999, **12**(4):257-264.
- 430 9. Gabarrou JF, Geraert PA, François N, Guillaumin S, Picard M, Bordas A: **Energy**  
431 **balance of laying hens selected on residual food consumption.** *Br Poult Sci* 1998,  
432 **39**:79-89.
- 433 10. Gaya LG, Ferraz JBS, Rezende FM, Mourao GB, Mattos EC, Eler JP, Michelon T:  
434 **Heritability and genetic correlation estimates for performance and carcass and**  
435 **body composition traits in a male broiler line.** *Poult Sci* 2006, **85**:837-843.
- 436 11. Jorgensen H, Sorensen P, Eggum BO: **Protein and energy metabolism in broiler**  
437 **chickens selected for either body weight gain or feed efficiency.** *Br Poult Sci* 1990,  
438 **31**:517-524.
- 439 12. Leenstra FR, Pit R: **Fat deposition in a broiler sire strain. 3. Heritability of and**  
440 **genetic correlations among body-weight, abdominal fat, and feed conversion.**  
441 *Poult Sci* 1988, **67**(1):1-9.
- 442 13. Letourneau-Montminy MP, Narcy A, Lescoat P, Bernier JF, Magnin M, Pomar C, Nys  
443 Y, Sauvant D, Jondreville C: **Meta-analysis of phosphorus utilisation by broilers**  
444 **receiving corn-soybean meal diets: influence of dietary calcium and microbial**  
445 **phytase.** *Animal* 2010, **4**:1844-1853.

- 446 14. Bordas A, Minvielle F: **Patterns of growth and feed intake in divergent lines of**  
447 **laying domestic fowl selected for residual feed consumption.** *Poult Sci* 1999,  
448 **78:317-323.**
- 449 15. McDevitt RM, McEntee GM, Rance KA: **Bone breaking strength and apparent**  
450 **metabolisability of calcium and phosphorus in selected and unselected broiler**  
451 **chicken genotypes.** *Br Poult Sci* 2006, **47(5):613-621.**
- 452 16. Mignon-Grasteau S, Muley N, Bastianelli D, Gomez J, Peron A, Sellier N, Millet N,  
453 Besnard J, Hallouis JM, Carré B: **Heritability of digestibilities and divergent**  
454 **selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet.** *Poult Sci* 2004,  
455 **83:860-867.**
- 456 17. Barea R, Dubois S, Gilbert H, Sellier P, van Milgen J, Noblet J: **Energy utilization in**  
457 **pigs selected for high and low residual feed intake.** *J Anim Sci* 2010, **88:2062-2072.**
- 458 18. de Verdal H, Narcy A, Le Bihan-Duval E, Mignon-Grasteau S: **Excretion and**  
459 **gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their**  
460 **capacity of digestion.** In: *XIIIth European Poultry Conference: 23-27 August 2010;*  
461 *Tours, France: World's Poultry Science Journal; 2010: 223.*
- 462 19. Bourdillon A, Carré B, Conan L, Duperray J, Huyghebaert G, Leclercq B, Lessire M,  
463 McNab J, Wiseman J: **European reference method for the in vivo determination of**  
464 **metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-intake**  
465 **and comparison with individual laboratory methods.** *Br Poult Sci* 1990, **31:557-**  
466 **565.**
- 467 20. Bastianelli D, Bonnal L, Juin H, Mignon-Grasteau S, Davrieux F, Carré B: **Prediction**  
468 **of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy.** *J*  
469 *Near Infra Spe* 2010, **18:69-77.**

- 470 21. Letourneau-Montminy MP, Lescoat P, Narcy A, Sauvant D, Bernier JF, Magnin M,  
471 Pomar C, Nys Y, Jondreville C: **Effect of reduced dietary calcium and phytase**  
472 **supplementation on calcium and phosphorus utilisation in broilers with modified**  
473 **mineral status.** . *Br Poult Sci* 2008, **49**(6):705-715.
- 474 22. SAS Institute: **SAS<sup>®</sup> Institute.** In. Edited by edition <sup>t</sup>, Version 6, 4th ed. edn. Cary,  
475 NC., USA: SAS Institute Inc.; 1999: SAS Institute.
- 476 23. Neumaier A, Groeneveld E: **Restricted maximum likelihood of covariances in**  
477 **sparse linear models.** *Genet Sel Evol* 1998, **30**:13-26.
- 478 24. de Verdal H, Narcy A, Bastianelli D, Chapuis H, M<sup>ê</sup>me N, Urvoix S, Le Bihan-Duval  
479 E, Mignon-Grasteau S: **Improving the efficiency of feed utilization in poultry by**  
480 **selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and**  
481 **digestive efficiency.** *BMC Genet* 2011, **12**:59.
- 482 25. de Haer LCM, Luiting P, Aarts HLM: **Relations among individual (residual) feed**  
483 **intake, growth performance and feed intake pattern of growing pigs in group**  
484 **housing.** *Livest Prod Sci* 1993, **36**:233-253.
- 485 26. Luiting P, Urff EM, Verstegen MWA: **Between-animal variation in biological**  
486 **efficiency as related to residual feed consumption.** *Neth J Agric Sci* 1994, **42**(1):59-  
487 67.
- 488 27. Renaudeau D, Mandonnet N, Tixier-Boichard M, Noblet J, Bidanel J-P: **Att<sup>é</sup>nuer les**  
489 **effets de la chaleur sur les performances des porcs: la voie g<sup>é</sup>n<sup>é</sup>tique.** *INRA Prod*  
490 *Anim* 2004, **17**:93-108.
- 491 28. El-Gendy E, Washburn KW: **Genetic-variation in body-temperature and its**  
492 **response to short-term acute heat-stress in broilers.** *Poult Sci* 1995, **74**(2):225-230.

- 493 29. Yahav S, Shinder D, Ruzal M, Giloh M, Piestun Y: **Controlling body temperature -**  
494 **The opportunities for highly productive domestic fowl.** In: *Body temperature*  
495 *regulation*. Edited by Gions ABCaBL: Nova Science; 2009.
- 496 30. Cunnick JE, Kojic LD, Hughes RA: **Stress-induced changes in immune function**  
497 **are associated with increased production of an interleukin-1-like factor in young**  
498 **domestic fowl.** *Brain, Behavior, and Immunity* 1994, **8**:123-136.
- 499 31. Sufka KJ, Hughes RA: **Differential effects of handling on isolation-induced**  
500 **vocalizations, hypoalgesia, and hyperthermia in domestic fowl.** *Physiology &*  
501 *Behaviour* 1991, **50**:129-133.
- 502 32. Le Bihan-Duval E, Berri C, Baeza E, Millet N, Beaumont C: **Estimation of the**  
503 **genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with**  
504 **growth and body composition in an experimental broiler line.** *Poult Sci* 2001,  
505 **80**(7):839-843.
- 506 33. Rance KA, McEntee GM, McDevitt RM: **Genetic and phenotypic relationships**  
507 **between and within support and demand tissues in a single line of broiler**  
508 **chicken.** *Br Poult Sci* 2002, **43**:518-527.
- 509 34. Uni Z, Noy Y, Sklan D: **Development of the small intestine in heavy and light**  
510 **strain chicks before and after hatching.** *Br Poult Sci* 1996, **37**:63-71.
- 511 35. de Verdal H, Mignon-Grasteau S, Jeulin C, Le Bihan-Duval E, Leconte M, Mallet S,  
512 Martin C, Narcy A: **Digestive tract measurements and histological adaptation in**  
513 **broiler lines divergently selected for digestive efficiency.** *Poult Sci* 2010, **89**:1955-  
514 1961.
- 515 36. Bouvarel I, Travel A, Lescoat P, Lessire M, Bastianelli D, Hervouet C, Marichal V,  
516 Chevalier D: **Approche multiple des relations nutrition-rejets chez la volaille.** In.  
517 Edited by OFIVAL-ADAR R; 2006: 54pp.

- 518 37. Smith ER, Pesti GM, Bakalli RI, Ware GO, Menten JFM: **Further studies on the**  
519 **influence of genotype and dietary protein on the performance of broilers.** *Poult*  
520 *Sci* 1998, **77**:1678-1687.
- 521 38. Selle PH, Ravindran V, Pittolo PH, Bryden WL: **Effects of phytase supplementation**  
522 **of diets with two tiers of nutrient specifications on growth performance**  
523 **and protein efficiency ratios of broiler chickens.** *Asian Australasian Journal of*  
524 *Animal Science* 2003, **16**:1158-1164.
- 525 39. Selle PH, Ravindran V, Caldwell RA, Bryden WL: **Phytate and phytase:**  
526 **consequences for protein utilisation.** *Nutr Res Rev* 2000, **13**:255-278.
- 527 40. Martinez-Amezcuca C, Parsons CM, Baker DH: **Effect of microbial phytase and**  
528 **citric acid on phosphorus bioavailability, apparent metabolizable energy, and**  
529 **amino acid digestibility in distillers dried grains with solubles in chicks.** *Poult Sci*  
530 2006, **85**:470-475.
- 531 41. Acosta A, Lon-Who E, Cardenas M, Febles M, Dieppa O, Almeida M:  
532 **Determination of relative bioavailability in phosphorite from the Trinidad de**  
533 **Guedes deposit through tests of growth and bone mineralization in chickens and**  
534 **laying hens.** *Cuban J Agric Sci* 2009, **43**(1):53-57.
- 535 42. Meschy F, Jondreville C, Dourmad JY, Narcy A, Nys Y: **Maîtrise des rejets de**  
536 **phosphore dans les effluents d'élevage.** *INRA Prod Anim* 2008, **21**(1):79-86.
- 537 43. Manangi MK, Sands JS, Coon CN: **Effect of adding phytase to broiler diets**  
538 **containing low and high phytate phosphorus: 1. Performance, phytate P**  
539 **hydrolysis, tibia ash, litter phosphorus and Ca and P digestion and retention.** *Int*  
540 *J Poult Sci* 2009, **8**:919-928.
- 541 44. Williams B, Solomon S, Waddington D, Thorp B, Farquharson C: **Skeletal**  
542 **development in the meat-type chicken.** *Br Poult Sci* 2000, **41**(2):141-149.

- 543 45. Alexander LS, Qu A, Cutler SA, Mahajan A, Rothschild MF, Cai W, Dekkers JC,  
544 Stahl CH: **A calcitonin receptor (CALCR) single nucleotide polymorphism is**  
545 **associated with growth performance and bone integrity in response to dietary**  
546 **phosphorus deficiency.** *J Anim Sci* 2010, **88**(3):1009-1016.
- 547 46. Williams B, Waddington D, Solomon S, Farquharson C: **Dietary effects on bone**  
548 **quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens.** *Res Vet Sci* 2000,  
549 **69**:81-87.
- 550 47. Suchy P, Strakova E, Herzig I, Steinhauser L, Kralik G, Zapletal D: **Chemical**  
551 **composition of bone tissue in broiler chickens intended for slaughter.** *Czech J*  
552 *Anim Sci* 2009, **54**(7):324-330.
- 553 48. Aggrey SE, Karnuah AB, Sebastian B, Anthony NB: **Genetic properties of feed**  
554 **efficiency parameters in meat-type chickens.** *Genet Sel Evol* 2010, **42**:1-5.
- 555 49. Bouquet A, Fouilloux M-N, Renand G, Phocas F: **Genetic parameters for growth,**  
556 **muscularity, feed efficiency and carcass traits of young beef bulls.** *Livest Sci* 2010,  
557 **129**:38-48.
- 558 50. Gilbert H, Bidanel J-P, Gruand J, Caritez J-C, Billon Y, Guillouet P, Lagant H, Noblet  
559 J, Sellier P: **Genetic parameters for residual feed intake in growing pigs, with**  
560 **emphasis on genetic relationships with carcass and meat quality traits.** *J Anim Sci*  
561 2007, **85**:3182-3188.
- 562 51. Skinner-Noble DO, Teeter RG: **Components of feed efficiency in broiler breeding**  
563 **stock: The use of fasted body temperature as an indicator trait for feed**  
564 **conversion in broiler chickens.** *Poult Sci* 2004, **83**(4):515-520.
- 565 52. INRA-AFZ: **Tables de composition et valeur nutritionnelle des matières**  
566 **premières.** In. Edited by INRA. Paris: Association Française de zootechnie; 2004.
- 567



## Principales conclusions et Résultats complémentaires

Lors de cette première étude, nous avons pu montrer que l'efficacité digestive, évaluée par l'EMAn, est un critère pertinent pour réduire les rejets, car d'héritabilité élevée et présentant de fortes corrélations génétiques avec les principales caractéristiques des rejets. D'autre part, ces résultats indiquent que plusieurs caractéristiques des rejets présentent des niveaux d'héritabilité suffisants pour être introduits dans les schémas de sélection, en particulier le CUD de la matière sèche, la capacité de rétention en azote et en phosphore. En revanche, le poids de fientes fraîches ou la teneur en eau des excréta seraient plus difficiles à sélectionner. D'autre part, nous avons pu confirmer grâce aux corrélations génétiques les liens phénotypiques précédemment établis entre efficacité digestive et anatomie du tractus digestif. De fortes valeurs d'EMAn et de CUD de la matière sèche sont en effet associées à une partie supérieure du tractus développée et à une partie inférieure du tractus moins développée. Enfin, EMAn et CUD de la matière sèche sont quasiment indépendants des caractères de métabolisme post-digestif que nous avons mesurés (composition corporelle, caractéristiques osseuses), et des performances ayant un fort impact économique (croissance, qualité de la viande). Leur sélection aurait donc des conséquences limitées à la sphère digestive et n'impacterait pas les performances économiques.

Compte tenu du grand nombre de caractères mesurés dans cette étude, certains n'ont pas pu être introduits dans les articles. C'est le cas par exemple des quantités d'azote et de phosphore excrétées brutes (NE et PE) et de la teneur en phosphore plasmatique (phosphorémie), reflétant le statut minéral de l'animal (Viñuela *et al.* 1991). Les deux premiers caractères sont surtout le reflet des entrées en azote et en phosphore, et sont fortement corrélées avec la consommation alimentaire totale, la consommation d'azote et celle de phosphore (Tableau 15). Les quantités brutes d'azote et de phosphore excrétées sont de 48.4 et 36.7 % inférieurs chez les D+ par rapport aux D- (Tableau 13), respectivement. En revanche, la phosphorémie est un caractère plus complexe et n'est pas significativement différente entre les deux lignées. L'héritabilité de NE et PE (Tableau 14) se situe à un niveau intermédiaire entre celui de la consommation alimentaire et de NE/NI et PE/PI (article 2). NE et PE sont fortement héréditaires et sont génétiquement corrélés principalement avec les densités des segments intestinaux. Ceci est probablement expliqué par le fait que l'excrétion est liée à la capacité d'absorption des nutriments, qui se déroule dans l'intestin. En revanche, la phosphorémie ne semble pas être dépendante de la génétique. Ceci est en accord avec les propos de Hemme *et*

al. (2005) montrant que les niveaux de phosphore plasmatique reflètent la concentration de phosphore disponible dans l'aliment.

**Tableau 13 - Statistiques élémentaires pour l'azote et le phosphore excrétés et pour le taux de phosphore plasmatique chez les deux lignées D+ et D-.**

	D+	D-	Effet lignée
NE <sup>1</sup> (g)	3.40 ± 0.11	6.59 ± 0.11	<0.001
PE (g)	0.81 ± 0.02	1.28 ± 0.02	<0.001
P plasmatique (mg.l <sup>-1</sup> )	66.5 ± 0.78	67.7 ± 0.78	0.11

<sup>1</sup>NE, azote excrété ; PE, phosphore excrété ; P plasmatique, teneur en phosphore plasmatique

**Tableau 14 - Estimations (± erreurs standard) des héritabilités et des corrélations génétiques de NE, PE et P plasmatique avec les caractéristiques morphologiques du tractus gastro-intestinal.**

		P plasmatique	NE	PE
h <sup>2</sup>		0.01 ± 0.01	0.40 ± 0.04	0.32 ± 0.04
r <sub>g</sub>	Jabot	-0.65 ± 0.58	0.01 ± 0.15	0.14 ± 0.17
	Proventricule	0.77 ± 0.27	0.02 ± ne	0.06 ± 0.13
Poids relatifs	Gésier	0.59 ± 0.43	-0.24 ± 0.10	-0.17 ± 0.12
	Foie	-0.66 ± ne <sup>2</sup>	-0.13 ± 0.14	-0.01 ± 0.15
	Duodénum	-0.79 ± 0.36	0.32 ± ne	0.23 ± 0.14
	Jéjunum	-0.79 ± 0.31	0.36 ± 0.11	0.36 ± 0.12
	Iléon	-0.66 ± 0.40	0.33 ± ne	0.32 ± 0.12
Longueur relatives	Duodénum	-0.99 ± ne	-0.12 ± ne	-0.30 ± ne
	Jéjunum	-0.99 ± 0.01	-0.25 ± 0.10	-0.31 ± ne
	Iléon	-0.98 ± 0.02	-0.31 ± 0.10	-0.37 ± 0.12
Densité	Duodénum	0.84 ± 0.11	0.50 ± ne	0.62 ± 0.10
	Jéjunum	0.57 ± 0.18	0.46 ± 0.10	0.57 ± 0.10
	Iléon	0.61 ± ne	0.53 ± ne	0.65 ± ne

<sup>1</sup>P plasmatique, teneur en phosphore plasmatique ; NE, azote excrété ; PE, phosphore excrété

<sup>2</sup>ne, non estimable

**Tableau 15 - Estimation des corrélations génétiques ( $\pm$  erreurs standard) entre P plasmatique, NE, PE et les mesures de performances, d'efficacité et d'excrétion**

	P plasmatique	NE	PE
BW23 <sup>1</sup> (g)	0.85 $\pm$ 0.20	0.34 $\pm$ 0.07	0.49 $\pm$ 0.08
EMAn (kcal.kgMS <sup>-1</sup> )	0.29 $\pm$ 0.25	-0.88 $\pm$ 0.03	-0.77 $\pm$ 0.05
Gain de poids (g)	0.89 $\pm$ ne <sup>2</sup>	0.15 $\pm$ 0.12	0.14 $\pm$ 0.12
Consommation alimentaire (g)	0.68 $\pm$ ne	0.91 $\pm$ ne	0.89 $\pm$ ne
IC (g.g <sup>-1</sup> )	-0.43 $\pm$ 0.43	0.89 $\pm$ ne	0.76 $\pm$ ne
RFI (g)	0.67 $\pm$ 0.14	0.87 $\pm$ 0.02	0.84 $\pm$ ne
CUDMS (%)	-0.09 $\pm$ ne	-0.92 $\pm$ ne	-0.85 $\pm$ ne
Poids fientes fraîches/BW23 (g.g <sup>-1</sup> )	-0.62 $\pm$ 0.19	0.52 $\pm$ 0.16	0.52 $\pm$ ne
Poids fientes sèches/BW23 (g.g <sup>-1</sup> )	0.21 $\pm$ ne	0.85 $\pm$ 0.09	0.80 $\pm$ ne
Poids fientes fraîches/CA (g.g <sup>-1</sup> )	0.20 $\pm$ ne	0.47 $\pm$ ne	0.69 $\pm$ 0.11
Taux d'humidité (%)	-0.21 $\pm$ ne	-0.40 $\pm$ ne	-0.07 $\pm$ 0.17
NI (g)	0.74 $\pm$ ne	0.91 $\pm$ ne	0.88 $\pm$ ne
PI (g)	0.72 $\pm$ ne	0.91 $\pm$ ne	0.87 $\pm$ 0.04
NE (g)	0.46 $\pm$ ne		0.95 $\pm$ 0.02
PE (g)	0.61 $\pm$ ne	0.95 $\pm$ 0.02	
NE/NI (g.g <sup>-1</sup> )	-0.20 $\pm$ ne	0.76 $\pm$ 0.04	0.69 $\pm$ 0.06
PE/PI (g.g <sup>-1</sup> )	0.42 $\pm$ 0.37	0.43 $\pm$ ne	0.60 $\pm$ 0.09
NE/PE (g.g <sup>-1</sup> )	-0.71 $\pm$ 0.36	0.48 $\pm$ 0.13	0.24 $\pm$ ne

<sup>1</sup>BW23, poids vifs à 23 jours ; EMAn, énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul ; CA, consommation alimentaire entre 17 et 23 jours ; IC, indice de consommation ; RFI, consommation alimentaire résiduelle ; CUDMS, coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche ; NI et PI, azote et phosphore ingérés ; NE et PE, azote et phosphore excrétés ; NE/NI et PE/PI, ratios de l'azote et du phosphore excrété sur l'azote et le phosphore consommé ; NE/PE, ratio de l'azote excrété sur le phosphore excrété.

<sup>2</sup>ne, non estimable

Les corrélations génétiques entre P plasmatique, NE, PE et les mesures de performances, d'efficacité et d'excrétion sont montrées dans le Tableau 15. Tout comme les autres mesures d'excrétion, NE et PE sont fortement et négativement corrélées à l'EMAn et au CDUMS et positivement avec l'efficacité alimentaire. Par conséquent, sélectionner des animaux pour une meilleure efficacité digestive ou alimentaire réduirait les quantités d'azote et de phosphore

excrétées. Enfin, comme attendu, ces deux caractères sont génétiquement liés aux quantités totales de rejets, mais pas au taux d'humidité des fientes, ce qui est aussi le cas de NE/NI et PE/PI.

Les corrélations génétiques entre P plasmatique, NE, PE et les mesures métaboliques sont regroupées dans le Tableau 16.

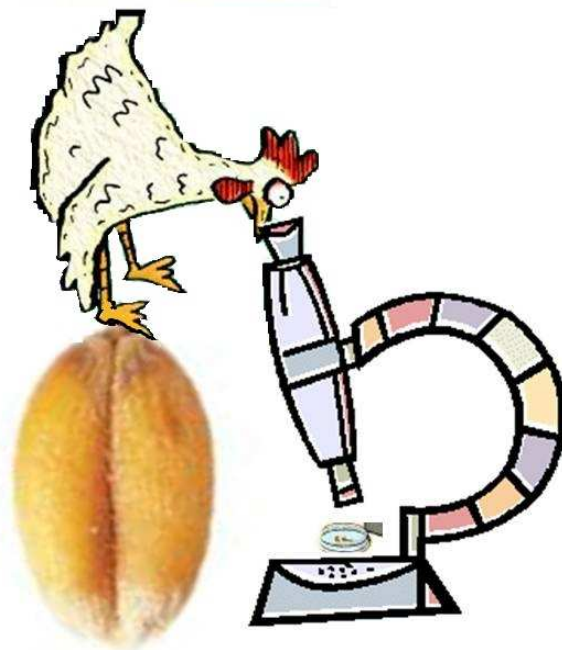
Alors que NE est faiblement corrélé avec les mesures métaboliques, la teneur en phosphore plasmatique et la quantité de phosphore excrété montrent des corrélations génétiques fortes avec plusieurs des caractéristiques osseuses. Ceci est probablement expliqué par le rôle essentiel du phosphore dans la formation osseuse. En effet, il semble que plus le phosphore est absorbé, plus l'accrétion osseuse sera importante. Compte tenu de l'absence d'héritabilité de la phosphorémie, il convient cependant de rester très prudent sur l'interprétation de ces corrélations génétiques.

**Tableau 16 - Estimation des corrélations génétiques ( $\pm$  erreurs standard) entre P plasmatique, NE, PE et les mesures métaboliques.**

	P plasmatique	NE	PE
Température à jeun ( $^{\circ}$ C)	0.57 $\pm$ 0.27	-0.01 $\pm$ 0.16	0.11 $\pm$ 0.19
$\Delta T^1$ ( $^{\circ}$ C.g <sup>-1</sup> d'aliment consommé)	0.14 $\pm$ ne	0.19 $\pm$ 0.18	-0.05 $\pm$ ne
Rendement en muscle (%)	-0.73 $\pm$ 0.33	0.48 $\pm$ ne	-0.06 $\pm$ 0.33
Rendement en gras (%)	0.68 $\pm$ 0.15	0.05 $\pm$ ne	0.19 $\pm$ 0.15
Teneur en cendres (%)	-0.23 $\pm$ 0.26	-0.29 $\pm$ 0.11	-0.46 $\pm$ ne
Poids d'os sec (g. g <sup>-1</sup> BW)	0.93 $\pm$ 0.23	0.21 $\pm$ 0.11	0.22 $\pm$ 0.13
Poids de cendres (g.g <sup>-1</sup> BW)	0.41 $\pm$ 0.21	-0.03 $\pm$ 0.11	-0.14 $\pm$ 0.13
Longueur tibia (mm)	-0.98 $\pm$ ne	0.35 $\pm$ 0.07	-0.33 $\pm$ ne
Diamètre tibia (mm)	-0.94 $\pm$ ne	-0.16 $\pm$ ne	-0.43 $\pm$ 0.08
BBS	0.98 $\pm$ ne	0.13 $\pm$ 0.09	0.11 $\pm$ ne

<sup>1</sup>  $\Delta T$ , augmentation de température postprandial ; BBS, résistance à la rupture de l'os.

CHAPITRE II - Compréhension des  
mécanismes physiologiques impliqués dans les  
différences d'efficacité digestive  
entre D+ et D-





La nécessité de mesurer un grand nombre d'animaux imposait des limitations quant au raffinement des mesures qu'il était possible de réaliser dans notre première expérimentation. Cependant, celle-ci ayant montré que les caractéristiques morphologiques du tractus gastro-intestinal étaient fortement corrélées avec les mesures d'efficacité digestive et d'excrétion, nous avons souhaité approfondir l'étude morphologique du tractus, sur un nombre plus réduit d'animaux, afin de mieux définir les modifications du tractus reliées à la sélection.

Le développement plus important de la partie supérieure du tractus chez les D+ induirait des modifications de la disponibilité des nutriments à l'entrée de l'intestin grêle, et donc une modification de l'environnement digestif, rendant les nutriments plus facilement absorbables dans la partie inférieure du tractus. Chez les D-, l'allongement de l'intestin peut être interprété comme une tentative de compensation de la moindre accessibilité des nutriments par une augmentation de la surface d'absorption. Au delà de cette modification de longueur intestinale, la surface d'échange peut être modifiée par d'autres voies, par exemple en multipliant les villosités intestinales.

Afin de mieux comprendre les différences morphologiques existantes entre les D+ et les D-, nous avons réalisé une étude histologique au niveau intestinal, permettant de mesurer la surface d'échange et les relations entre le digesta et l'épithélium intestinal. Cela nous a permis d'étudier plus finement le développement de la partie inférieure du tractus gastro-intestinal.

Des mesures morphologiques ont aussi été réalisées sur les poulets D+ et D- à l'éclosion, afin de faire la part des différences innées entre les deux souches et de celles induites par l'ingestion alimentaire. Cette étude a fait l'objet d'un article publié dans *Poultry Science* (de Verdal *et al.* 2010a).





ARTICLE IV - Digestive tract measurements and histological  
adaptation in broilers lines divergently selected for digestive  
efficiency

**Hugues de Verdal, Sandrine Mignon-Grasteau, Charlotte Jeulin, Elisabeth Le Bihan-  
Duval, Maryse Leconte, Serge Mallet, Charlotte Martin, Agnès Narcy<sup>§</sup>**

Poultry Science **89** : 1955-1961

INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>§</sup> Corresponding author : [agnes.narcy@tours.inra.fr](mailto:agnes.narcy@tours.inra.fr)



1 **ABSTRACT**

2 Two lines of broilers divergently selected for a high (D+) or a low (D-) AMEn on a wheat-  
3 based diet were studied for morphological and histological characteristics of the digestive  
4 tract. A total of 630 birds of both lines were slaughtered after a 23-d feeding period. Digestive  
5 tract morphology and intestinal histology were investigated on a total of 24 birds to describe  
6 the consequences of divergent selection. Birds of the D+ line had 34% heavier gizzards (P <  
7 0.001) and 22% heavier proventriculi than their D- counterparts. In contrast, intestines were  
8 15 to 40% heavier in D- birds, mainly in the jejunum (P < 0.001) and ileum (P < 0.001).  
9 Intestinal segments were also longer (between 3 and 6%) in the D- birds. Intestinal villi were  
10 larger and longer in D- birds (P < 0.001), mainly in the jejunum (14 to 16%), and crypts were  
11 10 to 15% deeper for the 3 intestinal segments in D- birds (P < 0.001). Muscle layers of the  
12 intestine were 17 to 24% thicker (P < 0.001) and goblet cells were 27 to 34% more numerous  
13 in the jejunum and ileum of D- birds (P = 0.027). This new characterization of the 2 lines  
14 shows that divergent selection based on AMEn modified the morphology of the  
15 proventriculus and gizzard, suggesting greater activity of this compartment in D+ than in D-  
16 birds. Intestinal adaptation revealed by visceral organ weight and length and histological  
17 modifications in D- birds can be viewed as an attempt to compensate for the low  
18 functionality of the gastric area.

19

20 **Key words**

21 digestibility, nitrogen-corrected apparent metabolizable energy , histology , digestive tract ,  
22 selection

23

24

## INTRODUCTION

25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49

Because feed represents a major component in the cost of poultry production, considerable efforts have been made in recent years to select more efficient birds. It therefore appears essential to focus on the genetic determinism of specific traits linked to feed efficiency such as the potential to promote digestive utilization of feed. The digestive efficiency of broilers at 21 d of age as assessed by AMEn was found to be highly heritable with a wheat-based diet, unlike that with a corn-based diet (0.36 to 0.38 and 0.15, respectively, Mignon-Grasteau et al., 2004, 2010b). Two lines were subsequently divergently selected according to these estimates for either high (**D+**) or low (**D-**) ability to digest a wheat-based diet, using AMEn as the selection criterion.

The difference in digestive efficiency between the 2 lines was accompanied by changes in the digestive morphology of the birds. In particular, D+ birds presented a heavier gizzard and a lighter intestine than the D- birds (Peron et al., 2006; Garcia et al., 2007; Rougiere et al., 2009). Although the central role of the gizzard in the digestive processes has been extensively described, the structural changes in the small intestine, which represents the major site of nutrient absorption, remain poorly understood. Intestinal absorption processes may have evolved differently between lines, depending on the segment considered, leading to wide differences in efficient digestion of nutrients. Differential development of the absorptive epithelium may be responsible for changes in absorption capacity of birds. In particular, because they have a significant role in the final stages of nutrient digestion and assimilation, the characteristics of villi and crypts of the absorptive epithelium may be different between the 2 lines (Amerah et al., 2007; Wang and Peng, 2008). In addition, the muscle layer controlling the motility of the gut and progression of a bolus may also affect the absorption processes. The aim of the study presented here was thus to compare the morphological and

50 histological characteristics of the gastrointestinal tract of 2 divergent lines of broilers at both  
51 hatching and at 23 d of age.

52

## 53 **MATERIALS AND METHODS**

54

### 55 ***Birds and Housing***

56 The experiment was conducted according to the guidelines of the French Ministry of  
57 Agriculture for Animal Research and included 630 birds (307 males and 323 females) of the  
58 eighth generation of selection of D+ and D- lines, reared in 3 hatches, each separated by 4  
59 wk. At the origin, D+ and D- lines were created from a commercial male parent broiler line.  
60 They were individually weighed at hatching and placed in groups of 4 or 5 chicks in metal  
61 cages (36 cm long × 22 cm wide × 40 cm high). After 3 d, chicks were randomly allocated to  
62 individual cages, in 3 different rearing cells. The environmental conditions were controlled  
63 for ventilation, lighting program (24L:0D from 1 to 7 d and 23L:1D from 8 to 23 d, dark  
64 periods beginning at midnight or 0000 h), and temperature (from 33°C at 1 d to 22°C at 23 d).  
65 Mortality was recorded daily. The birds had free access to water and food. They were fed a  
66 wheat-based diet as used in the selection experiment (Table 1; Mignon-Grasteau et al., 2004).

67

### 68 ***Growth Traits and Morphology of Digestive Tract***

69 All birds were individually weighed at hatching and at 3 and 23 d. Total individual feed  
70 intake was also recorded from 3 to 23 d and feed conversion ratios (**FCR**) were calculated.  
71 The AMEn was individually measured between 17 and 23 d using a method based on  
72 collection of total excreta, similar to that described by Bourdillon et al. (1990). The AMEn  
73 was measured for all birds using near-infrared spectrophotometry.

**Table 1.** Composition of the experimental pelleted diet (g.kg<sup>-1</sup>, as-fed basis)

Ingredients	Amount
Corn	60.4
Wheat (Rialto)	525.0
Soybean meal 48	284.0
Corn gluten 60	31.0
Soybean oil	60.0
DL methionine	1.2
L-Lysine 78	2.2
Calcium carbonate	13.4
Dicalcium phosphate	15.8
Sodium chloride	3.0
Mineral and vitamin mix <sup>1</sup>	3.5
Robenidine <sup>2</sup>	0.5
Chemical composition <sup>3</sup> (as-fed basis)	
AMEn, kcal. kg <sup>-1</sup>	2943
Crude protein, %	20.5
Met + Cys, %	0.76
Lys, %	1.16
Calcium, %	1.11
Total phosphorus, %	0.66
Non-phytate phosphorus, %	0.42

<sup>1</sup>Supplied 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- $\alpha$  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; <sup>2</sup>Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ; <sup>3</sup>Calculated (INRA-AFZ, 2004)

73 On the first day of the experiment, 10 birds from each line and each hatch were randomly  
74 selected and killed by cervical dislocation. The proventriculus, gizzard, yolk sac, and small  
75 intestine of each bird were excised and weighed. The small intestine (from the end of the  
76 gizzard to 1 cm above the ileocecal junction) was also measured and the weight:length ratio  
77 was determined.

78 At the end of the experiment (23 d), after overnight fasting (8 h), all remaining chicks were  
79 weighed and killed by CO<sub>2</sub> inhalation. The proventriculus and the gizzard were excised and  
80 weighed and the duodenum (pancreatic loop), jejunum (from the pancreatic loop to Meckel's  
81 diverticulum), and ileum (from Meckel's diverticulum to the ileocecal junction) were  
82 measured, cleaned, and weighed. The weight:length ratios of the 3 segments were calculated  
83 as an indicator of intestine density (Taylor and Jones, 2004). All of the data regarding organ  
84 weight and length were expressed per kilogram of BW.

85

### 86 *Histological Sampling*

87 For birds killed at 23 d, sections from the middle of the duodenum, jejunum, and ileum (about  
88 0.5 cm in length) were excised and opened longitudinally at the antimesenteric attachment  
89 and gently flushed with NaCl (9 g · L<sup>-1</sup>). These samples were then fixed in a solution of  
90 formalin buffer (90 mL · L<sup>-1</sup>) for 12 to 24 h at 4°C, then rinsed and stored in 70% ethanol at  
91 4°C until analysis.

92

### 93 *Microdissection Analysis*

94 Only birds of the second hatch were used for microdissection and histological analyses to  
95 avoid a hatch effect, which therefore decreased the number of samples for statistical analyses.  
96 The duodenum, jejunum, and ileum sections of 12 birds from each line were selected

97 representative of the population on the basis of their BW mean and SE. Samples were  
98 rehydrated and stained with Alcian Blue (pH 2.5) and periodic acid- Schiff's reagent (Sigma  
99 Chemical Company, St. Louis, MO). The samples were rinsed in distilled water before  
100 storage in a 45% acetic acid solution until analysis.

101 Villi and crypts were carefully individualized under a dissecting microscope. The preparations  
102 were then mounted between slides and coverslips, with the addition of an aqueous agent for  
103 microscopy (Aquamount improved gun, VWR, West Chester, PA). Ten villi and 10 crypts of  
104 Lieberkuhn from each segment of each bird were measured using an optical microscope  
105 (Eclipse E600, Nikon Corp., Tokyo, Japan), a camera (XC77E, Sony Corp., Tokyo, Japan),  
106 and image analysis software (Visilog 5.2, Noesis, Courtaboeuf, France). The following  
107 variables were measured: villus height and width, crypt depth and width, and the number of  
108 goblet cells per villus in each segment. The surface areas of the villus and crypt were  
109 calculated as the product of the height multiplied by the width. An average value was  
110 calculated for each intestinal segment of each bird. The villus height: crypt depth ratio was  
111 then calculated.

112

### 113 *Histological Analysis*

114 The samples of duodenum, jejunum, and ileum of 12 birds from each line, representative of  
115 the population on the basis of BW, were rehydrated with PBS and stored at 4°C until analysis.  
116 Each sample was then embedded in embedding medium (Cryomatrix, CML, Nemours,  
117 France) in liquid nitrogen, cut at -20°C into 10-µm-thick cross-sections using a cryostat  
118 (CM30505, Leica Microsystems, Wetzlar, Germany), and placed on gelatine-treated glass  
119 slides. Three cross-sections were obtained from each sample for further staining and  
120 observation. A routine staining procedure was carried out using Meyer hemalun and eosin  
121 (Sigma Chemical Company). The preparations were then mounted between slides and



122 coverslips with the addition of an aqueous agent for microscopy (Aquamount improved gun,  
123 VWR). The slides were examined using an optical microscope (Eclipse E600, Nikon Corp.)  
124 fitted with a video camera (XC77E, Sony Corp.) and the images were analyzed using image  
125 analysis software (Visilog 5.2, Noesis). Two images of each section were captured for each  
126 sample with a final magnification of 10×. The thickness of the muscularis layer was measured  
127 on all sections.

128

### 129 *Statistical Analyses*

130 All data were analyzed according to the GLM procedure of SAS (SAS Institute, 1999). For  
131 the morphologic data, the following model was used:

$$132 \quad y_{ijklm} = \mu + L_i + C_j + H_k + S_l + LC_{ij} + LH_{ik} + e_{ijklm}, \quad [1]$$

133 where  $y_{ijklm}$  is the performance of animal  $m$ ,  $\mu$  is the general mean,  $L_i$  is the fixed effect of line  
134  $i$  ( $i = D^+$  or  $D^-$ ),  $C_j$  is the effect of rearing cell  $j$  ( $j = 1$  to  $3$ ),  $H_k$  is the fixed effect of hatch  $k$  ( $k$   
135  $= 1$  to  $3$ ),  $S_l$  is the fixed effect of sex  $l$  ( $l =$  male or female),  $LC_{ij}$  is the effect of the interaction  
136 between line  $i$  and cell  $j$ ,  $LH_{ik}$  is the effect of the interaction between line  $i$  and hatch  $k$ , and  
137  $e_{ijklm}$  is the residual. Effects related to rearing cell were discarded from the morphologic data  
138 at hatching (0 d).

139 The following model was applied for the histological data:

$$140 \quad y_{ijklm} = \mu + L_i + C_j + T_k + S_l + LC_{ij} + LT_{ik} + BW + e_{ijklm}, \quad [2]$$

141 where  $y_{ijklm}$  is the performance of animal  $m$ ,  $L_i$  is the fixed effect of line  $i$  ( $i = D^+$  or  $D^-$ ),  $C_j$  is  
142 the fixed effect of rearing cell  $j$  ( $j = 1$  to  $3$ ),  $T_k$  is the fixed effect of segment  $k$  ( $k =$  duodenum,  
143 jejunum, or ileum),  $S_l$  is the fixed effect of sex  $l$  ( $l =$  male or female),  $LC_{ij}$  is the effect of the  
144 interaction between line  $i$  and cell  $j$ ,  $LT_{ik}$  is the effect of the interaction between line  $i$  and  
145 segment  $k$ ,  $BW$  is the covariate for BW of animal, and  $e_{ijklm}$  is the residual. For traits in which  
146 the interaction between line and segment was not significant, this interaction was excluded

**Table 2.** Least square means of body weight (BW, in g), relative weight (g.kg<sup>-1</sup>) and length (cm.kg<sup>-1</sup>) of the different sections of the digestive tract and weight to length ratio of the small intestine (g.cm<sup>-1</sup>) at hatching in chicks from both divergent lines

Variable	BW	Proventriculus weight	Gizzard weight	Small intestine weight	Yolk sac weight	Small intestine length	Small intestine weight: length ratio
N	60	60	59	60	59	60	60
D+	36.0	8.79	65.7	34.4	55.5	1029	0.034
D-	35.1	10.5	63.7	31.9	61.5	1003	0.032
SEM <sup>1</sup>	3.00	6.36	6.55	5.73	20.6	115	0.005
<i>P</i> -value	0.163	0.290	0.244	0.094	0.269	0.378	0.323

<sup>1</sup>Pooled standard error of mean.

147 from the model. Least squares means were estimated for each trait. Differences were  
148 considered significant when  $P < 0.05$ .

149

150

151

## RESULTS

152

### 153 *Digestive Tract Morphology*

154 Growth and morphology statistics can be found in Table 2 (n = 60) for traits recorded at  
155 hatching (0 d) and in Table 3 for those recorded at 23 d (n = 630). No differences in weight or  
156 length of the different parts of the digestive tract were observed between D+ and D- at  
157 hatching ( $P > 0.05$ ). In contrast, birds of the D+ line were 14.4% heavier than those of the D-  
158 line at 23 d of age ( $P < 0.001$ ), but D- birds consumed 30.0% more feed than the D+ birds ( $P$   
159  $< 0.001$ ), leading to a 58.5% higher FCR in the D- line ( $P < 0.001$ ). The selection criterion,  
160 AMEn, was 33.5% higher in D+ than in D- birds ( $P < 0.001$ ). Most of the characteristics of  
161 the digestive tract varied according to line. The relative weights of the proventriculus and the  
162 gizzard were 21.9% ( $P < 0.001$ ) and 34.2% ( $P < 0.001$ ) higher in D+ birds, respectively, than  
163 in D- birds. In contrast, small intestine segments were heavier ( $P < 0.001$ ) and longer ( $P <$   
164  $0.03$ ) in D- than in D+ birds, with a more marked difference in weight (15.1% for the  
165 duodenum, 36.8% for the jejunum, and 39.8% for the ileum) than in length (3.0, 6.4, and  
166 3.8% for the duodenum, jejunum, and ileum, respectively). The density of the intestine was  
167 thus greater ( $P < 0.001$ ) in the D- line than in the D+ line.

168

### 169 *Intestinal Histology*

170 Except for villus height and number of goblet cells per villus (Table 4), no interaction  
171 between line and segment was observed (Table 5). Villus height in the jejunum was 14.5%

**Table 3.** Least square means of body weight (BW, in g), feed intake (kg), feed conversion ratio (kg.kg<sup>-1</sup>), AMEn (kcal.kgMS<sup>-1</sup>), relative weight (g.kg<sup>-1</sup>), relative length (cm.kg<sup>-1</sup>), and weight to length ratio (g.cm<sup>-1</sup>) of the different sections of the digestive tract in 23 d old chicks from both divergent lines

Variable	N	D+	D-	SEM <sup>1</sup>	P-value
BW	592	489.6	428.0	62.10	< 0.001
Feed Intake	593	0.7242	0.9408	0.1253	< 0.001
FCR	592	1.715	2.718	0.789	< 0.001
AMEn	592	3,278	2,455	411.4	< 0.001
Proventriculus weight	579	8.189	6.718	1.981	< 0.001
Gizzard weight	591	25.96	19.35	4.347	< 0.001
Duodenum weight	582	12.69	14.60	2.230	< 0.001
Jejunum weight	587	17.20	23.53	3.233	< 0.001
Ileum weight	582	12.77	17.85	2.592	< 0.001
Duodenum length	590	49.66	51.13	8.199	0.030
Jejunum length	598	87.72	93.33	18.12	<0.001
Ileum length	592	84.20	87.41	15.83	0.019
Duodenum weight to length	591	0.2567	0.2871	0.0023	< 0.001
Jejunum weight to length	598	0.2015	0.2568	0.0024	< 0.001
Ileum weight to length	592	0.1556	0.2075	0.0019	< 0.001

<sup>1</sup>Pooled standard error of mean.

172 higher in D– compared with D+ birds, whereas no differences were observed between lines in  
173 the duodenum and ileum ( $P > 0.05$ ). The number of goblet cells per villus was higher in D–  
174 than in D+ birds ( $P < 0.001$ ) only for the jejunum and ileum (30.5 and 34.4%, respectively),  
175 whereas the difference was smaller (6.3%,  $P > 0.05$ ) for the duodenum.  
176 Except for crypt width and the villus height:crypt depth ratio, all traits varied according to the  
177 line. Values were greater in D– chicks than D+ chicks for all traits, differences ranging from  
178 11.7% for crypt depth ( $P < 0.001$ ) to 24.0% for the villus area ( $P < 0.001$ ). The segment effect  
179 was significant for all traits ( $P < 0.002$ ) except for crypt width ( $P > 0.05$ ). The values  
180 observed in the duodenum were higher than those recorded in the jejunum and the ileum.  
181 Villus area decreased by 64.0% between the duodenum and the jejunum and by 71.1%  
182 between the jejunum and the ileum.

183

184

185

## DISCUSSION

186

187 As previously observed in 23-d-old chicks, feed consumption was 30% higher in ( $P < 0.001$ )  
188 D– than in D+ birds, probably illustrating an adaptation to meet energy requirements  
189 (Rougiere et al., 2009). This adaptation of feed consumption in D– birds can be viewed as an  
190 attempt to compensate for their low digestive ability. However, the difference in feed  
191 consumption was much lower than the difference in FCR (58% higher in D–,  $P < 0.001$ ).  
192 Because the growth for the D– birds was 14% slower than for the D+ birds ( $P < 0.001$ ), it is  
193 logical to expect other changes in the digestive tract in D– birds (e.g., morphological and  
194 structural modifications).  
195 Because digestive morphological traits did not show any significant difference between the 2  
196 lines at hatching but were very different at 23 d, especially for the proventriculus ( $P < 0.001$ )

**Table 4.** Least square means of histological characteristics of the different segments of the digestive tract of chicks, with the interaction between line and segment at 23 d from both divergent lines

Variable	Villus height ( $\mu\text{m}$ )	Goblet cells per villus
N	720	720
Duodenum		
D+	1,367.0 <sup>a</sup>	6,657 <sup>a</sup>
D-	1,429.6 <sup>a</sup>	7,077 <sup>a</sup>
Jejunum		
D+	939.5 <sup>c</sup>	4,888 <sup>b</sup>
D-	1,075.7 <sup>b</sup>	6,378 <sup>a</sup>
Ileum		
D+	678.8 <sup>d</sup>	3,592 <sup>c</sup>
D-	727.0 <sup>d</sup>	4,828 <sup>b</sup>
SEM <sup>1</sup>	189.7	2,313
Source of variation		
Line	< 0.001	< 0.001
Segment	< 0.001	< 0.001
Line x Segment	0.019	0.027

<sup>1</sup>Pooled standard error of mean.

<sup>a-d</sup>Means within a line with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

197 and gizzard ( $P < 0.001$ ), differences between D+ and D- birds may have been due to a  
198 different underlying sensitivity to feed characteristics, consistent with previous results in these  
199 lines showing that the difference was greater when feeding wheat- than corn-based diets  
200 (Peron et al., 2006; Garcia et al., 2007; Rougiere et al., 2009). The present results showed that  
201 all segments of the small intestine were lighter in D+ than in D- birds ( $P < 0.001$ ). This was  
202 partly explained not only by lower relative length but also by lower density of the intestinal  
203 segments in D+ birds, especially in the distal portions (-10.6, -21.5, and -25.0% in the  
204 duodenum, jejunum, and ileum, respectively). Taylor and Jones (2004) reported a link  
205 between enlargement of the gizzard and decline in the relative weight of the small intestine.  
206 According to these authors, this could represent an adaptation of the lower portions of the  
207 digestive tract to greater nutrient availability, likely involving hormonal regulation processes  
208 (Mata et al., 1994; Lopez et al., 1996). They also showed that the proventricular dilatation  
209 caused marked differences in digesta characteristics such as viscosity that appeared negatively  
210 correlated with intestinal density. The lower intestinal density in D+ birds could thus have  
211 been related to the greater development of the gizzard and the proventriculus.

212 In addition to the morphological differences between D- and D+ birds, our histological  
213 results showed wide differences in the structure of the intestinal wall, particularly the  
214 absorptive epithelium and the muscular layer. Villi characteristics followed a proximodistal  
215 decreasing gradient from the duodenum to the ileum in both lines, in accordance with  
216 previous studies (Denbow, 1999; Yasar and Forbes, 1999). Denbow (1999) showed that the  
217 height of the intestinal villi decreased from 1.5 mm in the duodenum to 0.4 to 0.6 mm in the  
218 ileum in chickens. Villus width and surface area were higher in D- than in D+ birds in the  
219 whole intestine ( $P < 0.001$ ). In addition, villus height was higher for D- compared with D+ in  
220 the jejunum. Such an adaptive process has already been described in chickens with a resected  
221 jejunum, which showed increased villus height in the ileum. Yamauchi (2002) hypothesized

**Table 5.** Least square means of histological characteristics of the different segments of the digestive tract of chicks at 23 d from both divergent lines without the interaction between line and segment

Variable	Villus		Crypt			Villus height: crypt depth ratio	<i>Tunica muscularis</i> thickness
	Width	Area	Depth	Width	Area	( $\mu\text{m}\cdot\mu\text{m}^{-1}$ )	( $\mu\text{m}$ )
	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}^2$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}$ )	( $\mu\text{m}^2$ )		
N	720	720	720	720	720	720	432
Line							
D+	523.9	0.556	161.8	52.6	0.0087	6.37	0.291
D-	609.1	0.690	180.8	58.4	0.0100	6.31	0.348
SEM <sup>1</sup>	9.980	0.016	2.258	3.03	0.0003	0.241	0.004
Segment							
Duodenum	668.8 <sup>a</sup>	0.951 <sup>a</sup>	187.6 <sup>a</sup>	52.7	0.0099 <sup>a</sup>	7.73 <sup>a</sup>	0.343 <sup>a</sup>
Jejunum	562.5 <sup>b</sup>	0.579 <sup>b</sup>	166.3 <sup>b</sup>	59.5	0.0095 <sup>ab</sup>	6.35 <sup>b</sup>	0.284 <sup>c</sup>
Ileum	468.2 <sup>c</sup>	0.339 <sup>c</sup>	159.9 <sup>b</sup>	54.3	0.0087 <sup>b</sup>	4.94 <sup>c</sup>	0.330 <sup>b</sup>
SEM <sup>1</sup>	9.840	0.016	2.23	2.99	0.0003	0.238	0.004
Source of variation							
Line	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.251	0.003	0.870	< 0.001
Segment	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.231	0.002	< 0.001	< 0.001

<sup>1</sup>Pooled standard error of mean.

<sup>a-c</sup>Means within a line with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).



222 that stimulation of the ileal absorptive function results in an adaptive compensatory  
223 enlargement of the ileum villi. The differences in villus area between D- and D+ birds  
224 seemed to be greater in the lower parts of the small intestine (+11.6, +34.3, and +39.6% in the  
225 duodenum, jejunum, and ileum, respectively). Some studies have already shown that the  
226 ileum was the most reactive site in which villus area changed significantly with nutritional  
227 changes or with an increase in nutrient content in the intestinal lumen (Yamauchi, 2002;  
228 Khambualai et al., 2009).

229 From a morphological point of view, it could have been expected that longer villi in the  
230 present study in D- birds resulted in an increased surface area that allowed greater absorption  
231 of available nutrients, especially in the distal intestinal segment (Caspary, 1992). Longer villi  
232 might consequently promote growth (Yamauchi et al., 2006; Marković et al., 2009).  
233 Nevertheless, although the D- birds presented a higher absorption potential than the D+ birds  
234 at 23 d, they grew slower than D+ birds. As mentioned above, nutrient availability in digesta  
235 may be lower in D- birds than in D+ birds, explaining in part that nutrient absorption could  
236 have been compromised. It can also be hypothesized that intestinal morphological changes in  
237 the 2 lines may have been too recent to allow complete recovery of growth in D- birds at 23 d  
238 of age. This suggests that further studies are necessary to explore the co-evolution of growth  
239 performance and intestinal morphology throughout life in birds. As for the villus area, the  
240 crypt area was characterized by a decreasing gradient from the duodenum to the ileum.  
241 Longer villi are generally the result of activated cell mitosis (Samanya and Yamauchi, 2002),  
242 which occurs in the crypts, an area where stem cells divide to permit re- newal of the villi, a  
243 larger crypt area indicating more intense cell production (Yason et al., 1987; Goodlad et al.,  
244 1991; Xia et al., 2004). This explains why the larger villi of the duodenum have larger crypts  
245 to ensure their renewal. In our study, as for the villus area, the crypt area was significantly  
246 greater in D- than in D+ birds (+11.7, +18.4, and +12.2% in the duodenum, jejunum, and

247 ileum, respectively,  $P = 0.003$ ), indicating greater cell proliferation in D– birds, especially in  
248 the jejunum that represents an active site of absorption (Denbow, 1999; Iji and Tivey, 2001).  
249 Moreover, several studies in chickens have reported that epithelial cell turnover and nutrient  
250 absorption were found to be correlated with the villus height:crypt depth ratio (Fan et al.,  
251 1997; Wu et al., 2004; Wang et al., 2007). In the present study, this ratio decreased gradually  
252 from the duodenum to the ileum (7.73 vs. 4.94  $\mu\text{m}:\mu\text{m}$ ), indicating a higher rate of epithelium  
253 turnover in the proximal part of the small intestine. Nevertheless, the ratio was not  
254 significantly different between the 2 divergent lines because both villus height and crypt  
255 depth were significantly greater for D– birds. Both lines thus present an equivalent ability for  
256 epithelium turnover. Nevertheless, D– birds have to maintain a greater absorptive surface  
257 compared with D+ birds, underlying a higher nutrient requirement for maintenance that may  
258 contribute to lowering the digestive efficiency of the bird (Xu et al., 2003; Shakouri et al.,  
259 2009). Our results also suggest that intestinal motility could have been indirectly modified by  
260 selection on AMEn. Indeed, the tunica muscularis was thicker in all intestinal segments in D–  
261 birds, which may improve the contact between the mucosa and the intestinal content. As  
262 suggested above, the spatial congestion of the intestine may be greater in D– birds compared  
263 with D+ birds, in relation to the size of the proventriculus and the gizzard. Nevertheless,  
264 despite the characteristics of the bolus in D– birds, the adaptive reinforcement of the  
265 structures involved in intestinal motility seems to ensure a comparable intestinal passage rate  
266 in both lines (Rougiere and Carre, 2010). Moreover, the number of goblet cells per villus was  
267 significantly higher for the D– birds than for the D+ birds in the jejunum and ileum, where the  
268 digesta becomes more viscous and dense (Choct et al., 1999). Although the number of goblet  
269 cells does not directly imply that more mucine is secreted, it can be hypothesized that more  
270 mucus may be produced, thus favoring movement of the digesta (Forstner et al., 1995) in D–  
271 birds, especially in the distal parts of the small intestine. Furthermore, the layer of mucus acts

272 as a medium in which digestion and absorption processes occur close to the brush-border  
273 membrane. Thus, any changes in the thickness of the adherent layer of mucus would be  
274 expected to influence nutrient digestibility processes (Smirnov et al., 2004).

275 Although from a structural point of view D- birds had a greater intestinal absorptive capacity  
276 at 23 d than D+ birds, the ability to digest starch, protein, and lipids was shown to be reduced  
277 in the D- compared with D+ line (-35, -8, and -17%, respectively, Carre et al., 2007). Our  
278 results thus strongly suggest that nutrient accessibility in D- birds may represent a major  
279 limiting step in intestinal absorption processes. Nevertheless, the origin of the differences in  
280 absorption capacity between the 2 lines may be caused by many factors and may be mediated  
281 by complex hormonal and mechanical phenomena dictated by the different elements of the  
282 gastrointestinal system.

283 In conclusion, we confirmed that selection of chicks on AMEn modified the morphology of  
284 the upper part of the digestive tract, namely the gizzard and the proventriculus. Our results  
285 also suggest changes in the morphology and histology of the small intestine in response to the  
286 development of the proventriculus and gizzard, leading to modification of the nutrient  
287 absorption surface. Nevertheless, despite this adaptive process at the level of the absorption  
288 sites, the assumed lower accessibility of nutrients in the gut of D- birds compared with D+  
289 birds may lead to their lower ability to digest the diet.

290

291

## 292 **ACKNOWLEDGMENTS**

293

294 We thank K. Gerard (UE 1295 Pole Experimental Avicole de Tours, INRA, Nouzilly, France)  
295 for bird management, T. Bordeau (UR83 Recherches Avicoles, INRA) for advice regarding

296 histology, B. Carre (UR83 Recherches Avicoles, INRA) for his contribution to the creation of  
297 the lines, and all those who helped with the data collection.

298

299 **REFERENCES**

300

301 Amerah, A. M., V. Ravindran, R. G. Lentle, and D. G. Thomas. 2007. Influence of feed particle  
302 size and feed form on the performance, energy utilization, digestive tract development, and  
303 digesta parameters of broiler starters. *Poult. Sci.* 86:2615–2623.

304 Bourdillon, A., B. Carre, L. Conan, J. Duperray, G. Huyghebaert, B. Leclercq, M. Lessire, J.  
305 McNab, and J. Wiseman. 1990. European reference method for the in vivo determination of  
306 metabolisable energy with adult cockerels—Reproducibility, effect of food-intake and  
307 comparison with individual laboratory methods. *Br. Poult. Sci.* 31:557–565.

308 Carre, B., S. Mignon-Grasteau, A. Peron, H. Juin, and D. Bastianelli. 2007. The wheat value:  
309 Improvements by feed technology, plant breeding and animal genetics. *World's Poult. Sci. J.*  
310 63:585–596.

311 Caspary, W. F. 1992. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *Am. J. Clin.*  
312 *Nutr.* 55:299S–308S.

313 Choct, M., R. J. Hughes, and M. R. Bedford. 1999. Effects of a xylanase on individual bird  
314 variation, starch digestion throughout the intestine, and ileal and caecal volatile fatty acid  
315 production in chickens fed wheat. *Br. Poult. Sci.* 40:419–422.

316 Denbow, D. M. 1999. Gastrointestinal anatomy and physiology. Pages 299–321 in *Sturkie's*  
317 *Avian Physiology*. 5th ed. G.C. Whittow, ed. Academic Press, London, UK.

318 Fan, Y., J. Croom, V. Christensen, B. Black, A. Bird, L. Daniel, B. McBride, and E. Eisen.  
319 1997. Jejunal glucose uptake and oxygen consumption in turkey poult selected for rapid  
320 growth. *Poult. Sci.* 76:1738–1745.

321 Forstner, J. F., M. G. Oliver, and F. A. Sylvester. 1995. Production, structure and biologic  
322 relevance of gastrointestinal mucins. Pages 71–88 in *Infections of the Gastrointestinal Tract*. R.  
323 L. Guerrant, ed. Raven Press, New York, NY.

324 Garcia, V., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, N. Sellier, and B. Carre. 2007. Effects of xylanase  
325 and antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks  
326 from genetic D+ and D– lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 1:1435–1442.

327 Goodlad, R. A., S. Levi, C. Y. Lee, N. Mandir, H. Hodgson, and N. A. Wright. 1991.  
328 Morphometry and cell-proliferation in endoscopic biopsies—Evaluation of a technique.  
329 *Gastroenterology* 101:1235–1241.

330 Iji, P. A., and D. R. Tivey. 2001. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial  
331 starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *Br. Poult. Sci.* 42:505–513.

332 INRA-AFZ. 2004. *Tables of Composition and Nutritional Value of Feed Materials*. Institut  
333 National de la Recherche Agronomique, Association Francaise de Zootechnie, Paris, France.

334 Khambualai, O., K. Yamauchi, S. Tangtaweewipat, and B. Cheva-Isarakul. 2009. Growth  
335 performance and intestinal histology in broiler chickens fed with dietary chitosan. *Br. Poult.*  
336 *Sci.* 50:592–597.

337 Lopez, J. D., I. A. G. Desegura, J. Guiral, P. Vasquez, J. Diaz, J. Codesal, C. Vaquero, and E.  
338 Demiguel. 1996. Effect of neurotensine on the development of suckling rats with intestinal  
339 resection. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 88:107–110.

340 Marković, R., D. Šefer, M. Krstić, and B. Petrujkić. 2009. Effect of different growth promoters  
341 on broiler performance and gut morphology. *Arch. Med. Vet.* 41:163–169.

342 Mata, A., I. A. G. Desegura, S. Candelas, J. Codesal, and E. Demiguel. 1994. Intestinal trophic  
343 effect of neurotensin after colectomy. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 85:15–18.

344 Mignon-Grasteau, S., H. Juin, N. Sellier, D. Bastianelli, J. Gomez, and B. Carre. 2010b. Genetic  
345 parameters of digestibility of wheat or corn-based diets in chickens. Proc. 9th World Congr.  
346 Anim. Genet. Appl. Livest., Leipzig, Germany.

347 Mignon-Grasteau, S., N. Muley, D. Bastianelli, J. Gomez, A. Peron, N. Sellier, N. Millet, J.  
348 Besnard, J. M. Hallouis, and B. Carre. 2004. Heritability of digestibilities and divergent  
349 selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. Poult. Sci. 83:860–867.

350 Peron, A., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, N. Sellier, J. Besnard, M. Derouet, H. Juin, and B.  
351 Carre. 2006. Effects of wheat quality on digestion differ between the D+ and D– chicken lines  
352 selected for divergent digestion capacity. Poult. Sci. 85:462–469.

353 Rougiere, N., and B. Carre. 2010. Gastric retention is a key determinant for differences between  
354 chickens from D+ and D– genetic lines selected for divergent digestion efficiency. Animal  
355 4:1227–1239.

356 Rougiere, N., J. Gomez, S. Mignon-Grasteau, and B. Carre. 2009. Effects of diet particle size on  
357 digestive parameters in D+ and D– genetic chicken lines selected for divergent digestion  
358 efficiency. Poult. Sci. 88:1206–1215.

359 Samanya, M., and K. Yamauchi. 2002. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed  
360 dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 133:95–104.

361 SAS Institute. 1999. SAS/STAT User’s Guide. Version 6. 4th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC.

362 Shakouri, M. D., P. A. Iji, L. L. Mikkelsen, and A. J. Cowieson. 2009. Intestinal function and  
363 gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme  
364 supplementation. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl.) 93:647–658.

365 Smirnov, A., D. Sklan, and Z. Uni. 2004. Mucin dynamics in the chick small intestine are  
366 altered by starvation. J. Nutr. 134:736–742.

367 Taylor, R. D., and G. P. D. Jones. 2004. The incorporation of whole grain into pelleted broiler  
368 chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics. Br. Poult. Sci. 45:237–246.

369 Wang, H., Y. Guo, and J. C. H. Shih. 2007. Effects of dietary supplementation of keratinase on  
370 growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets  
371 with soybean and cottonseed meals. *Anim. Feed Sci. Technol.* 104:376–384.

372 Wang, J. X., and K. M. Peng. 2008. Developmental morphology of the small intestine of  
373 African ostrich chicks. *Poult. Sci.* 87:2629–2635.

374 Wu, Y. B., V. Ravindran, D. G. Thomas, M. J. Birtles, and W. H. Hendriks. 2004. Influence of  
375 method of whole wheat inclusion and xylanase supplementation on the performance, apparent  
376 metabolisable energy, digestive tract measurements and gut morphology of broilers. *Br. Poult.*  
377 *Sci.* 45:385–394.

378 Xia, M. S., C. H. Hu, and Z. R. Xu. 2004. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth  
379 performance, digestive enzyme activities, and intestine microflora and morphology of male  
380 broilers. *Poult. Sci.* 83:1868–1875.

381 Xu, Z. R., C. H. Hu, M. S. Xia, X. A. Zhan, and M. Q. Wang. 2003. Effects of dietary  
382 fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of  
383 male broilers. *Poult. Sci.* 82:1030–1036.

384 Yamauchi, K. 2002. Review on chicken intestinal villus histological alterations related with  
385 intestinal functions. *Jpn. Poult. Sci.* 39:229–242.

386 Yamauchi, K., M. Samanya, K. Seki, N. Ijiri, and N. Thongwittaya. 2006. Influence of dietary  
387 sesame meal level on histological alterations of the intestinal mucosa and growth performance  
388 of chickens. *J. Appl. Poult. Res.* 15:266–273.

389 Yasar, S., and J. M. Forbes. 1999. Performance and gastro-intestinal response of broiler  
390 chickens fed on cereal grain-based foods soaked in water. *Br. Poult. Sci.* 40:65–76.

391 Yason, C. V., B. A. Summers, and K. A. Schat. 1987. Pathogenesis of rotavirus infection in  
392 various age groups of chickens and turkeys—Pathology. *Am. J. Vet. Res.* 48:927–938.





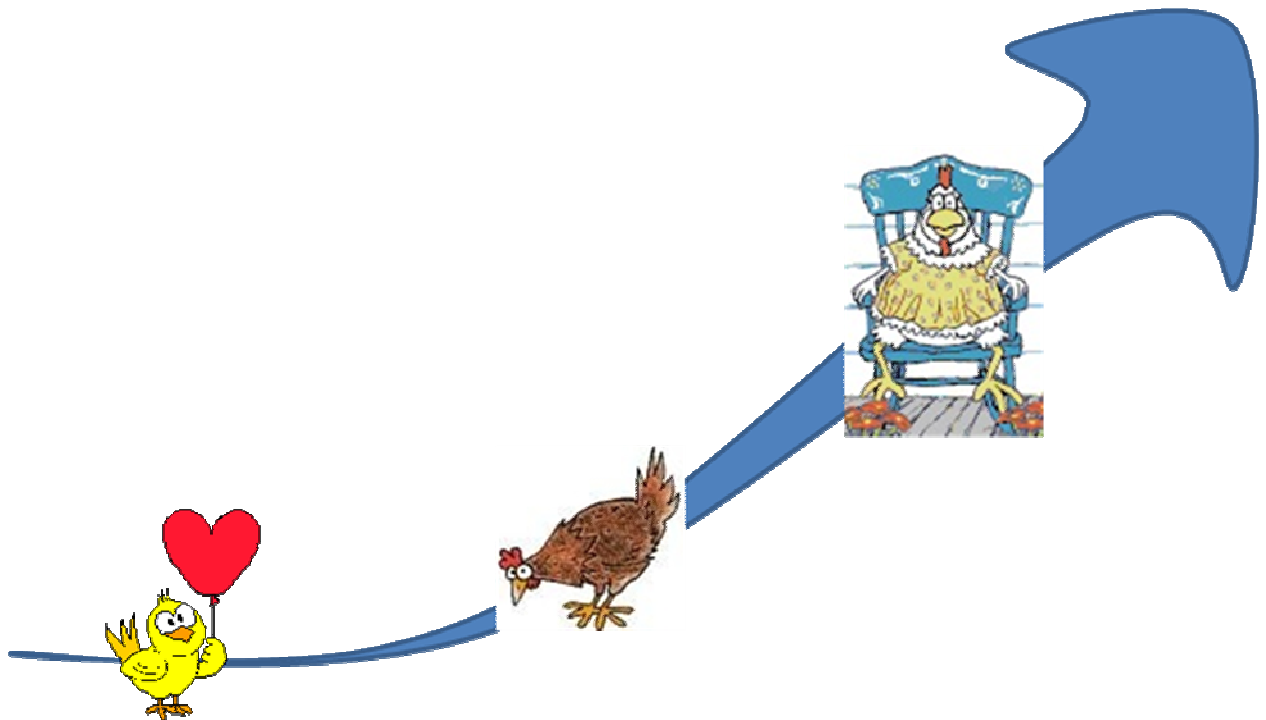
## Principaux résultats et conclusions

Cette seconde étude nous a permis de montrer des différences morphologiques à 23 jours d'âge entre les D+ et les D-, non visibles à l'éclosion. Ceci est probablement lié à une différence de sensibilité aux caractéristiques de l'aliment à base de blé difficilement digestible (blé Rialto).

De plus, nous avons pu mettre en évidence des modifications histologiques de la partie inférieure du tractus face au développement du proventricule et du gésier en réponse à la sélection divergente. Les différences de développement de la partie supérieure du tractus digestif induisent des changements de l'environnement digestif (avec des nutriments plus facilement absorbables à l'entrée de l'intestin grêle chez les D+ par rapport aux D-). Les différences de morphologie de l'intestin observées entre D+ et D- peuvent donc être interprétées comme une adaptation de la structure intestinale, pour augmenter la surface d'absorption des nutriments chez les poulets de la lignée D-. En effet, quel que soit le segment considéré, la surface des villosités intestinales est plus grande chez les D- que chez les D+.



# CHAPITRE III – Etude cinétique des caractéristiques d'efficacité, d'excrétion et de morphologie du tractus





Les résultats présentés dans les chapitres I et II ont souligné l'impact de la génétique sur l'EMAn et ses relations avec les capacités d'excrétion, l'anatomie du tractus gastro-intestinal et les caractéristiques anatomiques. Nous avons également pu mettre en évidence les réponses associées à la sélection sur l'EMAn sur les processus d'adaptation du tractus gastro-intestinal. Cependant, la sélection étant réalisée à 3 semaines, nos conclusions ne sont valides qu'à ce seul âge.

En production, les poulets ne sont abattus que plus tardivement vers 5 semaines pour les poulets à croissance rapide et jusqu'à 12 semaines pour les poulets à croissance lente de type label. Le génotype utilisé pour nos études correspond à un type intermédiaire de poulets, destiné à la production de poulets certifiés, qui sont abattus vers 7 semaines. Il était donc nécessaire de prolonger les études jusqu'à cet âge, pour avoir une évaluation des possibilités de réduction des rejets sur l'ensemble du cycle de production.

Il a été précédemment démontré que la morphologie des organes du tractus évoluait avec l'âge. En effet, les poids des organes du tractus relatifs au poids vif diminuent avec le temps. Par exemple, chez les D+, le poids relatif du gésier passe de 22.1 à 14.4 g.kg<sup>-1</sup> entre 29 et 63 jours, et le poids relatif de l'intestin grêle passe de 35.3 à 20.1 g.kg<sup>-1</sup> dans le même intervalle de temps (Rougière & Carré 2010). Il est donc probable, aux vues des relations entre les mesures de rejets et les caractéristiques morphologiques du tractus, que ces caractères d'excrétion évoluent fortement en fonction de l'âge, tout comme les caractéristiques morphologiques.

Nous avons donc réalisé une étude cinétique, de l'éclosion jusqu'à l'âge d'abattage commercial des poulets, sur les caractéristiques de rejets, mais aussi de morphologie du tractus. En plus de ces caractères, des mesures d'importance économique pour l'industrie avicole ont été introduites, tels que les mesures de composition corporelle (rendement en muscle et en gras) ou encore de qualité de la viande.

Outre les variations entre D+ et D-, la lignée commerciale utilisée à l'origine de la sélection divergente a été incluse dans cette dernière expérience, afin d'évaluer si les D+ présentaient un réel avantage sur la lignée commerciale.

Ce travail fait l'objet d'un article que nous allons soumettre dans *Agriculture, Ecosystems and Environment*.



ARTICLE V - Impact of a genetic selection on digestibility on excretion, gastro-intestinal tract morphology and economic traits in broilers from hatch to slaughter age

**Hugues de Verdal<sup>1</sup>, Sandrine Mignon-Grasteau<sup>1</sup>, Denis Bastianelli<sup>2</sup>, Nathalie Mème<sup>1</sup>, Elisabeth Le Bihan-Duval<sup>1</sup>, Agnès Narcy<sup>1§</sup>**

A soumettre dans *Agriculture, Ecosystems & Environment*

<sup>1</sup>INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France.

<sup>2</sup>CIRAD, UMR SELMET, 34398 Montpellier cedex 5, France

<sup>§</sup>Corresponding author at: INRA, UR83 Recherches Avicoles, F-37380, Nouzilly, France

Tel: 0033 (0)247427280; Fax: 0033 (0)247427778





## 1 **Abstract**

2 Improving sustainability of poultry production implies to limit its environmental impacts  
3 while maintaining performances. It has recently been shown that genetic selection on the  
4 ability of chickens to digest wheat at 23 days of age could decrease chicken excretion without  
5 decreasing body weight (BW) at this age. The aim of this study was to check whether  
6 selection on digestibility modified excretion and production on the whole production cycle.  
7 The two divergent lines selected for high (D+) and low (D-) AMEn (apparent metabolisable  
8 energy corrected for zero nitrogen balance) values were compared with the commercial line  
9 used at the beginning of the selection experiment (CL), to evaluate the possible gains that  
10 could be expected from using AMEn selection as tool to reduce excretion. These 3 lines were  
11 thus compared for growth and excretion (raw and relative to feed intake fresh and dry excreta  
12 weights, and moisture content of excreta) from 4 to 53 d. Between 4 and 7 d, 17 and 21 d and  
13 between 49 and 53 d, AMEn, nitrogen and phosphorus excretion rates were also compared  
14 between the 3 lines. Furthermore, body composition (breast meat and abdominal fat yields),  
15 bone breaking strength and meat quality traits (lightness, redness, yellowness and ultimate  
16 pH) were compared between lines at 53 d.

17 For the whole rearing period, D+ birds excreted significantly 56 and 61% less fresh and dry  
18 excreta than D-, and 6 and 26% less than CL birds. Similarly, nitrogen and phosphorus  
19 excretion rates of D+ birds were 13 to 30% lower than those of D- birds and 12 to 19% lower  
20 than CL birds, depending on age. These excretion differences could be related to the  
21 differential development of the gastro-intestinal tract. Differences between lines were already  
22 present at 7 d for gizzard weight relative to BW and the ratio of the weight of the upper to the  
23 lower part of the gastro-intestinal tract. Anatomic differences were maximum at 23 d for all  
24 traits except duodenum relative weight. At slaughter age, BW, breast and fat yields, and meat

25 colour did not differ between D+ and CL birds, but D- birds were fatter than D+ and CL birds.  
26 Finally, meat ultimate pH was 1 to 2% higher in CL birds than in D+ and D- lines.  
27 In conclusion, this study showed that selection of chickens on AMEn is a possible way to  
28 reduce the environmental impact of production for the whole rearing period without leading  
29 to negative impact on growth, body composition and meat quality.

30

## 31 **1. Introduction**

32

33 The environmental issue is of crucial importance for poultry industry. Spreading of chicken  
34 manure on fields causes environmental problems when brought in excess in regions with a  
35 very dense production, as Brittany in France or in the Netherlands (Nahm, 2007; Bolan *et al.*,  
36 2010; Mignon-Grasteau *et al.*, 2010a). Indeed, leaching or runoff of nitrogen and phosphorus  
37 lead to algal blooms and water eutrophication (Schindler, 1977; Carpenter *et al.*, 1998).  
38 Equilibrium of nitrogen and phosphorus in manure is also important to be in adequacy with  
39 European regulations. Indeed the Nitrate directive (91/676/EEC) limits nitrogen spreading on  
40 fields to 170 kg.ha<sup>-1</sup>.year<sup>-1</sup> and limits for phosphorus tend to appear around 100 kg.ha<sup>-1</sup>.year<sup>-1</sup>  
41 (Mignon-Grasteau *et al.*, 2010a). Apart from these environmental problems, an excess of  
42 water in excreta causes humid litters, which is problematic for animal welfare and increase  
43 ammonia release in the air (Miles *et al.*, 2011). Finally, pH of the excreta will impact on  
44 bacterial development in manure and consequently, on gaseous losses of nitrogen as ammonia  
45 in the air, and will cause of respiratory diseases for humans and animals (Charles and Payne,  
46 1966; Reece *et al.*, 1981). In consequence, reducing poultry excretion and controlling its  
47 composition (especially in terms of nitrogen and phosphorus) and its physico-chemical  
48 properties is a major goal. The most common ways used to control poultry excretion until  
49 now relied on post treatment of manure or on nutritional adaptations of diets to needs of

50 chickens. The contribution of genetic selection has until now been limited to selection of more  
51 efficient birds, with lower feed conversion ratio (FCR) but the impact of selection on excretion  
52 has not been evaluated . Selecting birds with a better capacity to digest feed has never been  
53 envisaged, as digestibility was supposed not to be controlled by genetics (Pym, 1990). Recently, it  
54 has been shown that selecting chicken on their ability to digest wheat, based on the apparent  
55 metabolisable energy corrected for zero nitrogen retention (AMEn) reduced their excreta quantity  
56 and modified their composition, i.e. nitrogen and phosphorus excretion rates, without modifying  
57 body weight (BW, Mignon-Grasteau *et al.*, 2010b; de Verdal *et al.*, 2011b). Indeed, the D+ birds  
58 (selected for high values of AMEn) excreted 48.4 and 36.7 % less nitrogen and phosphorus,  
59 respectively than the D- birds (selected for low values of AMEn). These differences in excretion  
60 rates could be explained by modifications of the gastro-intestinal tract morphology, since de  
61 Verdal *et al* (2011b) showed negative genetic correlations between the gizzard and proventriculus  
62 weights relative to body weight (BW) and the excretion characteristics, and at the opposite,  
63 positive genetic correlations between the intestinal relative weight and density and these excretion  
64 traits. However, studies on these two divergent lines have been done on 3 week-old chickens,  
65 which was age at selection. In order to be able to evaluate the real impact of such a selection for  
66 poultry producers, it is necessary to check whether differences of excretion observed at 3 weeks  
67 are present on the whole production cycle. Furthermore, including new criteria in selection  
68 schemes implies that their impacts on economic traits have been checked. As an increasing  
69 proportion of poultry meat is consumed as cut parts and further processed products, body  
70 composition and meat quality traits are key factors for economic assessment of products. Genetic  
71 correlations between AMEn and breast meat and abdominal fat yields were low in D+ and D-  
72 birds at 23 days of age, but no data of body composition was available at commercial slaughter  
73 age (de Verdal *et al.*, 2011c). Finally, as we were working on growing animals and that we  
74 wanted to have a look on phosphorus excretion, bone quality should also be considered.

**Table 1 – Diet composition (g.kg<sup>-1</sup>)**

Ingredients	Starter	Grower
Corn	60.4	60.2
Wheat (Rialto)	525.0	600.0
Soybean meal 48	284.0	224.5
Corn gluten 60	31.0	19.0
Soybean oil	60.0	60.0
DL methionine	1.2	0.8
L-Lysine 78	2.2	2.1
Calcium carbonate	13.4	13.0
Dicalcium phosphate	15.8	13.4
Sodium chloride	3.0	3.0
Mineral and vitamin mix <sup>1</sup>	3.5	3.5
Robenidine <sup>2</sup>	0.5	0.5
Chemical composition <sup>3</sup> (as-fed basis)		
AMEn, kcal.kg <sup>-1</sup>	2943	3002
CP, %	20.5	18.4
Ca, %	1.11	0.94
tP, %	0.66	0.60
NPP, %	0.42	0.37

<sup>1</sup>Supplied 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- $\alpha$  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. <sup>2</sup>Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ. <sup>3</sup>Calculated (INRA-AFZ 2004)

76 The aim of the present study was thus to evaluate the impact of selection on AMEn on  
77 excretion traits, especially nitrogen and phosphorus excretion, until birds reach a commercial  
78 weight, and to estimated its indirect impact on economically important traits as growth, body  
79 composition, meat quality and bone solidity. Evolution of gastro-intestinal tract morphology  
80 with age had also been studied to understand mechanisms implied in differences between  
81 lines. The commercial line used at the beginning of the selection experiment to create the D+  
82 and D- lines was also included in the comparison, to evaluate the potential practical  
83 improvement that can be expected from selection on digestibility.

84

## 85 **2. Materials and Methods**

### 86 *2.1. Birds and Housing*

87 The experiment was carried out on 144 birds (males and females), 48 birds for each line  
88 issued either from the 9<sup>th</sup> generation of divergent selection experiment (8 generations of  
89 selection and 1 generation of maintenance) selected for the high and low values of AMEn or  
90 from the commercial pure line used at the beginning of the selection experiment to create the  
91 D+ and D- lines, and which has not been selected on AMEn in the meanwhile. The latter was  
92 thus considered as a control line (CL). At hatch, chicks were reared in cages of 4 or 5 birds.  
93 After 4 d, chicks were randomly allocated to individual cages in two rearing rooms. At 21 d,  
94 the 16 remaining birds of each line were allocated in an other rearing room, with cages  
95 adapted to their weight. Environmental conditions were controlled for ventilation, lighting  
96 program (24L:0D from 1 d to 6 d and 18L:6D from 7 d to 53 d) and temperature (from 33°C  
97 at 1 d to 20°C at 53 d). Birds had free access to water and feed. Mortality was recorded daily.  
98 They were fed a starter and a grower wheat-based diet respectively from hatch to 21 d and  
99 from 22 to 53 d (Table I).

100

101

## 102 2.2. Recorded traits

103 Animals were weighed at 4, 7, 18, 21, 49 and 53 d ( $BW_x$ , where  $x$  is the age). Parameters of  
104 the growth curve were estimated with the Gompertz equation, according to Laird et al (Laird  
105 *et al.*, 1965):

$$106 \quad BW_x = BW_0 \times \exp \left( (L / K) \times (1 - \exp (-Kx)) \right) \quad [1]$$

107 where  $BW_x$  is the recorded body weight at the age  $x$ ,  $BW_0$  the weight at hatching,  $L$  the initial  
108 specific growth rate ( $(1/BW_x) \times (dBW_x/dx)$  when  $x \rightarrow 0$ ) and  $K$  the maturation rate or the  
109 exponential factor of decay of the specific growth rate.

110 These parameters were estimated by non-linear regression with the NLIN procedure of SAS  
111 (SAS Institute, 1999) taking into account all available weights from hatch to slaughter.

112 Age of inflexion ( $T_i$ ), at which growth rate is maximal, was calculated as follows:

$$113 \quad T_i = (1 / K) \ln (L / K) \quad [2]$$

114 Individual feed intake (FI) was recorded weekly, and the cumulated FI for the whole rearing  
115 period was calculated. The nitrogen (NI) and phosphorus (PI) consumed by each bird were  
116 calculated as the product of FI by nitrogen and phosphorus concentration in the diet.

117 Droppings were individually collected twice a week for the whole rearing period (between 4  
118 and 53 days of age) using the method of individual total collection of excreta (Bourdillon *et al.*,  
119 1990). Total excreta were weighed and dried to obtain both fresh excreta weight (FEW)  
120 and dry excreta weight (DEW) for the whole rearing period. The ratio of DEW to FI was  
121 calculated for the whole rearing period. Freeze-drying was used as it has been found to  
122 minimize N conversions and  $NH_3$  losses during processing (Mahimairaja *et al.*, 1990). The  
123 water excreta content (WEC), was measured as the difference of FEW and DEW, divided by  
124 FEW. Three balance trials were performed between 4 and 7 d, 18 and 21 d and 49 and 53 d to  
125 measure digestibility and N and P excretion. WG and FCR were calculated for each balance

126 trials. AMEn and nitrogen excretion (NE) were measured for all birds using Near Infrared  
127 spectrophotometry (NIRS, Foss NIRSystems, Inc., Silver Spring, MD), following the method  
128 of Bastianelli et al. (Bastianelli *et al.*, 2010). Phosphorus excretion (PE) was measured by  
129 colorimetric analysis. The ratio of NE to PE, NE to NI, PE to PI, NE to WG and PE to WG  
130 were calculated for each balance trial.

131 At 7, 21 and 53 d, 16 birds of each line were slaughtered by intracardiac injection of  
132 1.5 ml.kg<sup>-1</sup> BW of pentobarbital (Sanofi, Marne la Coquette, France). The proventriculus and  
133 gizzard were excised, cleaned and weighed (PRW and GZW, respectively). The small  
134 intestine was cut off into three parts: duodenum (from pylorus to pancreatic loop), jejunum  
135 (from the pancreatic loop to Meckel's diverticulum), and ileum (from Meckel's diverticulum  
136 to the ileo-caecal junction). Segments lengths were measured. Segments were then cleaned  
137 and weighed (DW, JW, and IW, respectively). The weight to length ratio of each segment  
138 (DD, JD, and ID, respectively) was also calculated as an indicator of intestine density (Taylor  
139 and Jones, 2004). The ratio of proventriculus and gizzard weights to small intestine weight  
140 (PVG/INT) was calculated, as an efficient parameter for predicting AMEn variations (Garcia  
141 *et al.*, 2007). All the data regarding organ weight were expressed per kg of BW in order to  
142 make not confusion between the GIT weight traits differences and the potential BW  
143 differences between lines. Bolus of the gizzard and ileum were collected and its pH measured  
144 with a portable pH-meter (Model 506, Crison Instruments, SA, Spain) equipped with a  
145 xerolyte electrode. The right tibia was removed and cleaned of muscle and then stored at -  
146 20°C until the measurement. After bone defrosting, a three-point loading test using an Instron  
147 Universal Testing Instrument was employed to measure the bone breaking strength (BBS).

**Table 2 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Error) for BW53, growth curve parameters, FI, FCR and excretion characteristics for the whole rearing period for each line (N ranging from 42 to 47).**

Variable <sup>1</sup>	D+	D-	CL	Line effect <sup>2</sup>		
				D+ vs D-	D+ vs CL	D- vs CL
BW53 (g)	1974 $\pm$ 71.5	1893 $\pm$ 70.3	1989 $\pm$ 76.5	NS <sup>3</sup>	NS	NS
L (1.d <sup>-1</sup> )	0.180 $\pm$ 0.004	0.175 $\pm$ 0.004	0.187 $\pm$ 0.005	NS	NS	NS
K (1.d <sup>-1</sup> )	0.038 $\pm$ 0.001	0.038 $\pm$ 0.001	0.041 $\pm$ 0.001	NS	NS	NS
Ti (d)	41.6 $\pm$ 1.90	40.9 $\pm$ 1.84	39.2 $\pm$ 2.03	NS	NS	NS
FI (g)	4544 $\pm$ 249	6150 $\pm$ 242	5032 $\pm$ 276	*	*	*
FCR (g.g <sup>-1</sup> )	2.00 $\pm$ 0.14	2.93 $\pm$ 0.14	2.26 $\pm$ 0.16	*	*	*
FEW (g)	3103 $\pm$ 668	7085 $\pm$ 668	3309 $\pm$ 718	*	NS	*
DEW (g)	897 $\pm$ 183	2309 $\pm$ 178	1217 $\pm$ 211	*	*	*
FEW.FI <sup>-1</sup> (g.g <sup>-1</sup> )	0.67 $\pm$ 0.06	1.07 $\pm$ 0.06	0.64 $\pm$ 0.07	*	NS	*
DEW.FI <sup>-1</sup> (g.g <sup>-1</sup> )	0.24 $\pm$ 0.02	0.43 $\pm$ 0.02	0.29 $\pm$ 0.02	*	*	*
WC (%)	68.9 $\pm$ 1.17	66.4 $\pm$ 1.17	62.7 $\pm$ 1.31	NS	*	NS

<sup>1</sup>BW53, body weight at 53 d; L, initial specific growth rate; K, maturation rate; Ti, age of inflection; FI, feed intake; FCR, feed conversion ratio; FEW and DEW, fresh and dry excreta weight; FEW.FI<sup>-1</sup> and DEW.FI<sup>-1</sup>, fresh and dry excreta weight relative to feed intake; WC, water excreta content

<sup>2</sup>The effect of the line between D- and the other lines results from the global analysis while the comparison between D+ and CL line comes from the analysis between only D+ and CL.

<sup>3</sup>NS,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$



147 At 24 h post mortem, the breast meat (*Pectoralis major* and *P. minor*) and abdominal fat were  
148 excised and weighed for each bird. The breast meat (BMY) and abdominal fat (AFY) yields  
149 were calculated. The ultimate pH of the meat (pHu) was recorded by direct insertion of the  
150 xerolyte electrode in the muscle. Breast meat color was measured at 24 h post-slaughter using  
151 a Miniscan Spectrocolorimeter with the CIE L\* a\* b\* system, where L\* represents the  
152 lightness, a\* the redness and b\* the yellowness of the meat. Higher L\*, a\* and b\* values  
153 correspond to paler, redder and yellower meat, respectively.

154

### 155 2.3. Statistical Analyses

156 All data were analyzed according to the General Linear Models (GLM) procedure of SAS  
157 (SAS Institute, 1999), including a line effect, all other effects being non significant. For BW,  
158 sex effect was significant and thus included in the model. Weekly measures were analysed  
159 separately including D-, D+ and CL birds. However, homogeneity of variances was not  
160 respected between groups, due to a higher variance of D- birds. Comparisons between D+ and  
161 CL birds were thus obtained by a second analysis of variance including only D+ and CL  
162 birds. Differences were considered significant when *P*-value was lower than 0.05.

163

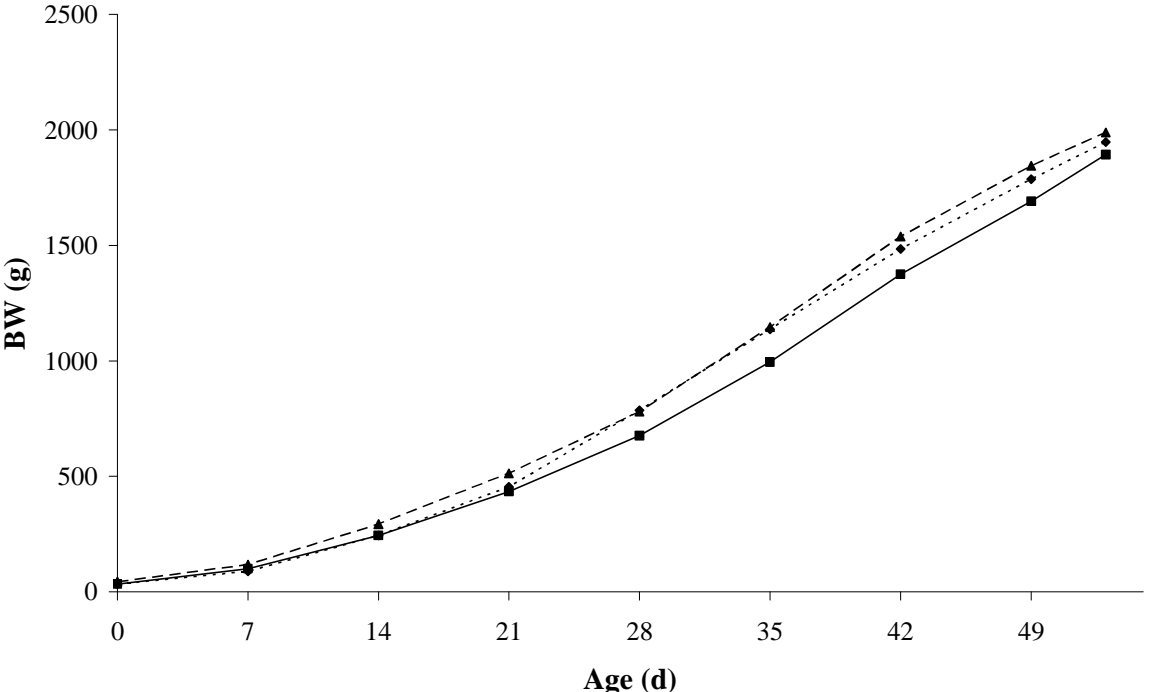
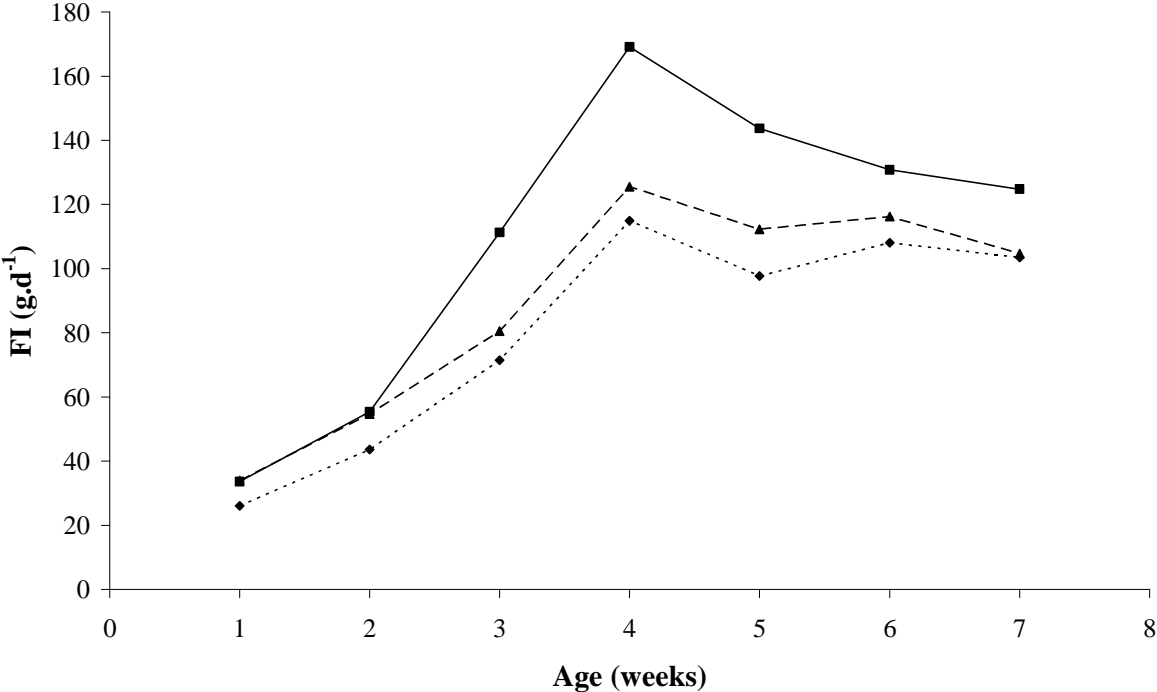
164

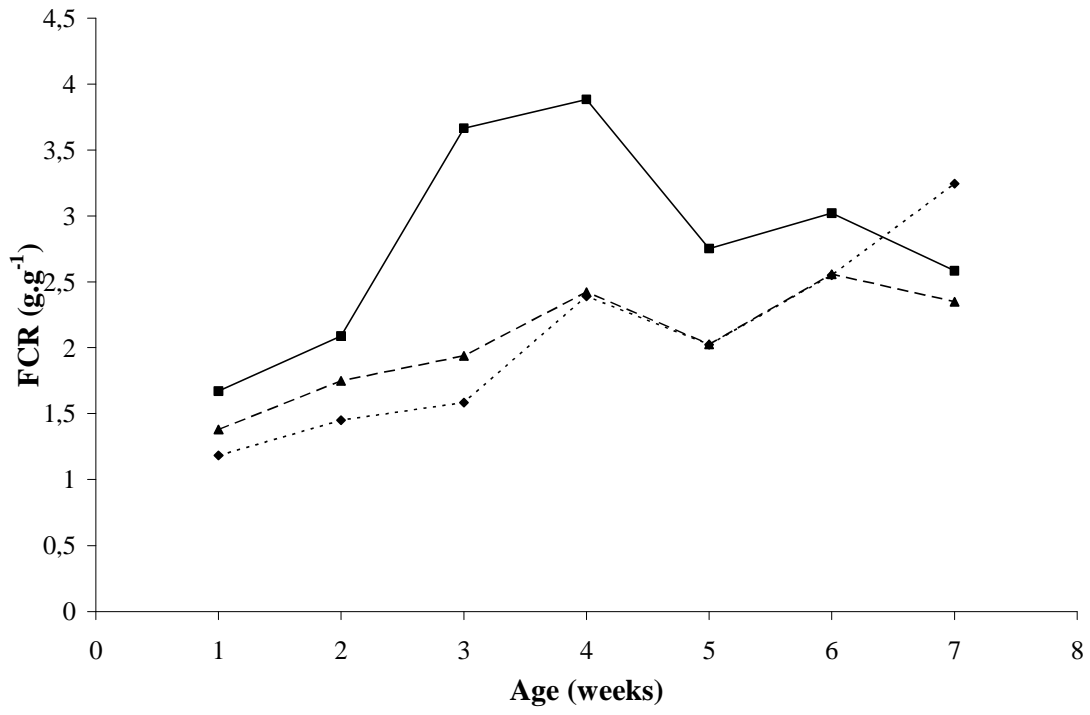
## 165 3. Results

166 The elementary statistics for growth curve parameters, cumulated feed consumption, feed  
167 efficiency and cumulated excretion characteristics for the whole rearing period (from hatch to  
168 53 d of age) for both divergent lines (D+ and D-) and the commercial line (CL) are reported in  
169 Table 2. Weekly analyses are reported in Figure 1, Figure 2 and Table 3.

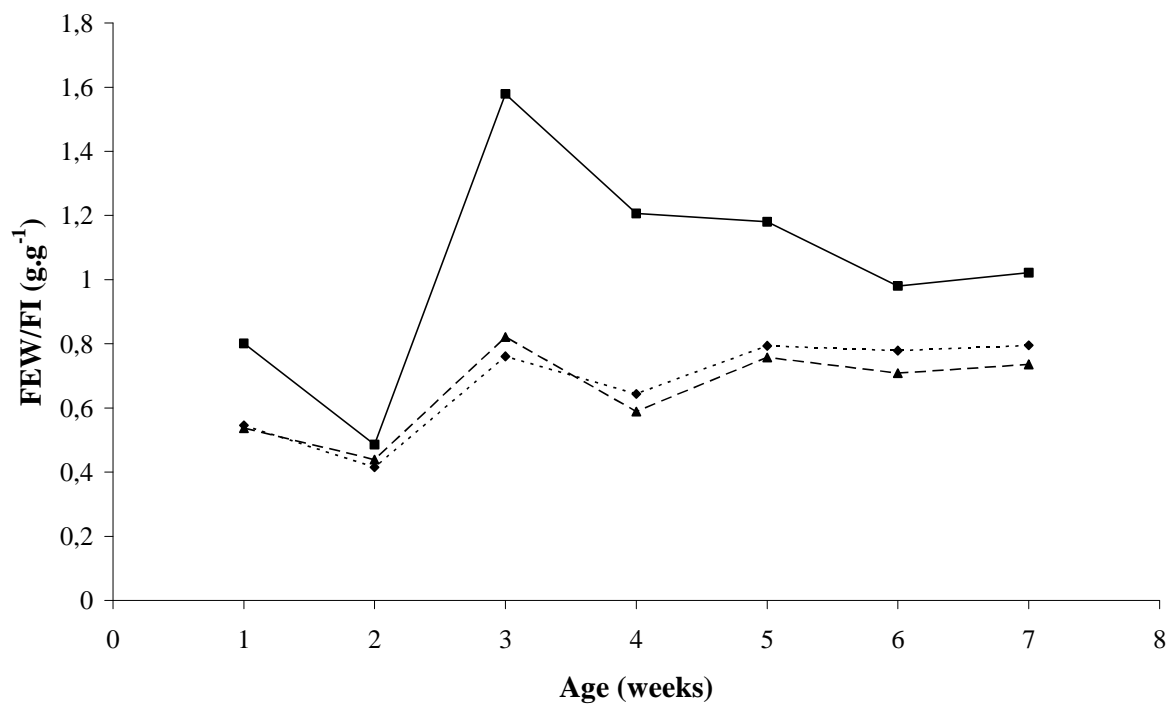
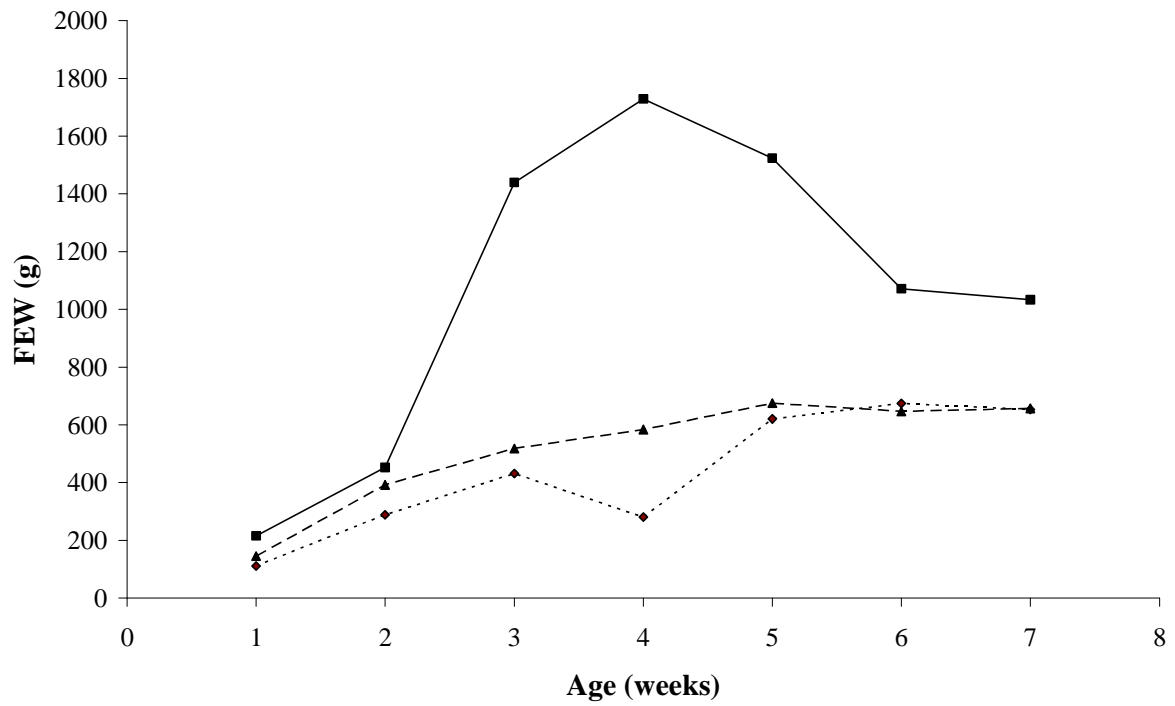
170 The selection criterion, AMEn, was always 4.6 to 25.0% higher in D+ than in D- whatever the  
171 considered age, difference being at maximum at 3 weeks, i.e. age at selection experiment. The

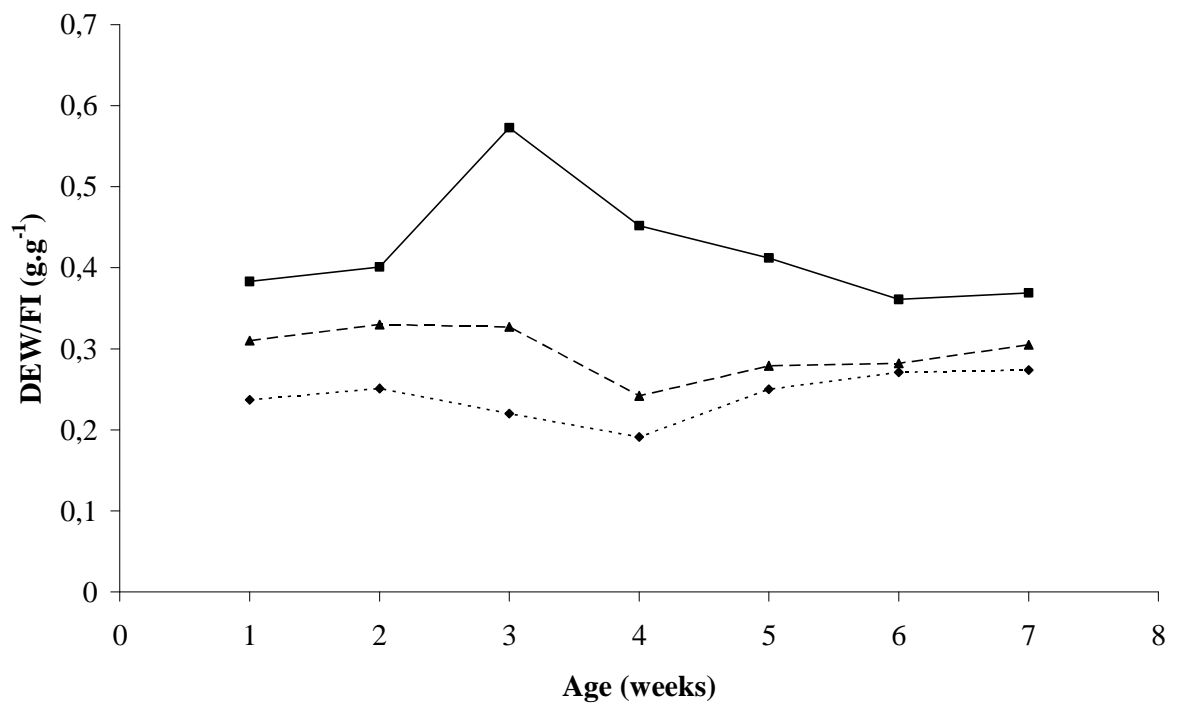
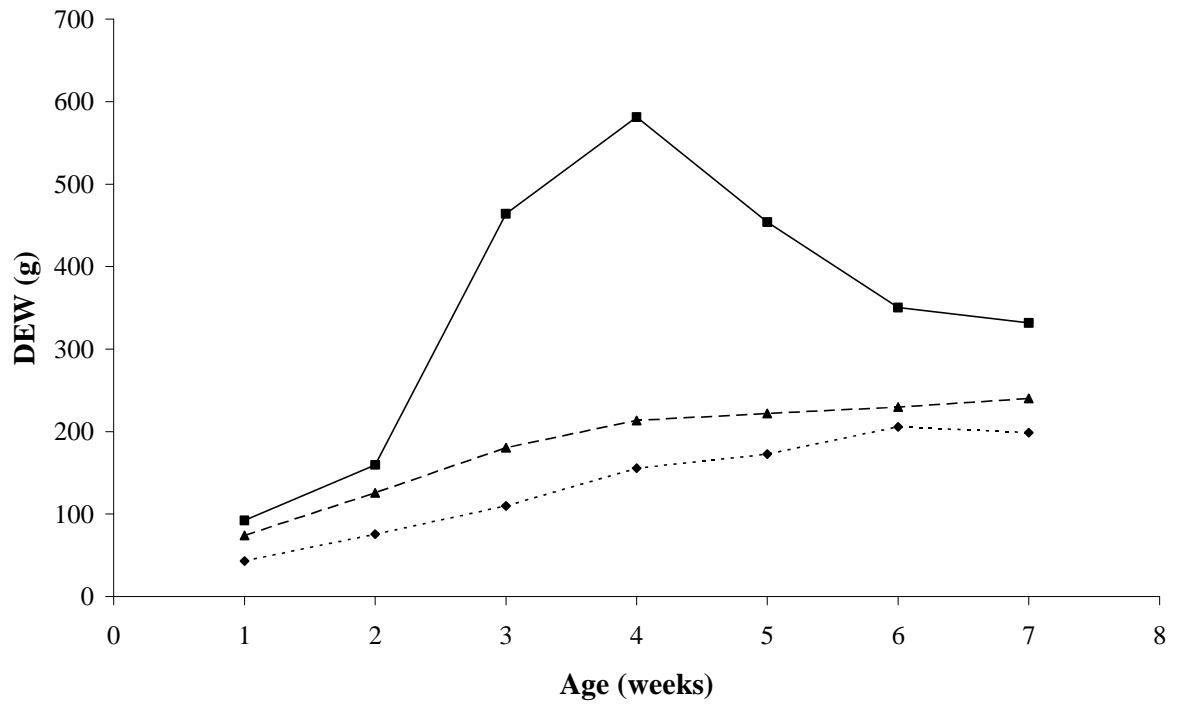
**Figure 1 - Effect of divergent line (D+, in dotted line, and D-, in full line) and commercial line (CL, in dashed line) on a) FI, b) BW, c) FCR for each rearing week.**

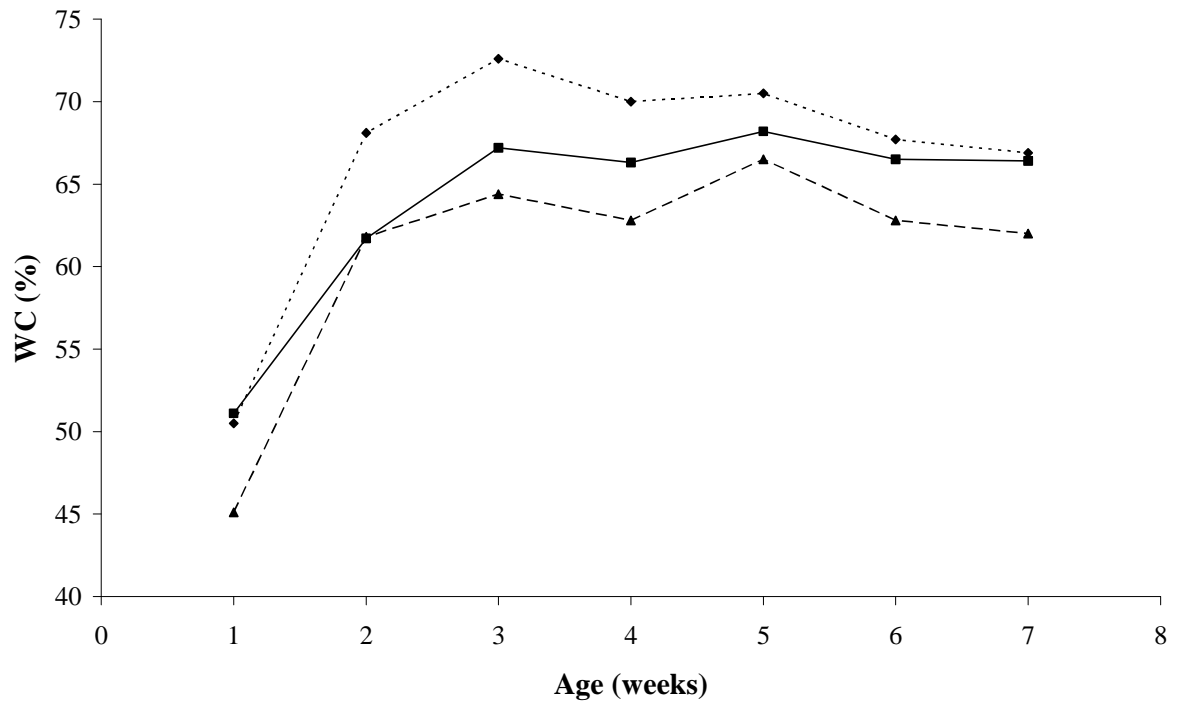




**Figure 2 - Effect of divergent line (D+, in dotted line, and D-, in full line) and commercial line (CL, in dashed line) on a) FEW, b) FEW/FI, c) DEW, d) DEW/FI, e) WC, for each rearing week.**







172 control line was intermediate, closer to D+ than D-, differences being significant at 1 and 3  
173 weeks but not at 7 weeks ( $P = 0.07$ ).

174 Whatever the age, D- birds consumed 20.6 to 55.9% more feed than D+ birds. When  
175 compared to the CL line, D- birds still have a 12.6 to 38.2% increased FI, but only from 21 to  
176 53 d. Furthermore, FI was higher in CL than in D+ birds between 7 and 42 d, the former  
177 consuming 9.2 to 30.4% more than the latter.

178 BW was higher in CL birds than in D+ and D- birds until 42 d, but the difference did not  
179 persist after this age, the 3 lines reaching similar BW at 53 d. Moreover, the line effect was  
180 not significant for the growth curve parameters. As a result of FI and growth differences, D-  
181 birds showed 21.2 and 131.2% higher FCR than CL and D+, respectively, between 17 and 42  
182 d of age. FCR of D+ was also 14.3 to 22.3% significantly lower than in CL line between 7  
183 and 28 d. After 42 d, FCR did not differ between the 3 lines. As a result, FCR on the whole  
184 rearing period was the lowest in D+ (2.00) than in CL (2.26) and D- (2.93) lines, all  
185 differences between the 3 lines being significant.

186 Regarding manure characteristics, D+ birds excreted less fresh and dry excreta than D- birds,  
187 whatever the age, from 36.2 to 83.8% for fresh and from 40.0 to 76.3% for dry excreta  
188 weight, difference being higher between 21 and 35 d. CL birds were intermediate, but  
189 produced also 13.2 to 66.2% less fresh and 19.7 to 63.2 less dry excreta than D- birds. For all  
190 the measurements, the largest differences were observed between 21 and 35 d, i.e. around the  
191 selection age. Furthermore, except between 42 and 49 d, D+ birds produced 17.2 to 41.6 less  
192 dry excreta than CL birds, and the differences decreased with the age. The differences  
193 between D+ and CL birds were not significant for the fresh excreta weight.

194 For the whole rearing period, the cumulated fresh excreta weight was reduced by 56.2% in  
195 D+ and by 53.3% in CL birds compared to D- birds. The dry excreta total production was in  
196 turn reduced in D+ birds by 26.3% compared to CL birds and by 61.2% compared to D- birds.

**Table 3 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Error) for AMEn, and excretion composition, NE/NI, NE/WG, PE/PI, PE/WG and NE/PE performed at each balance trial for each line**

Age	Line	AMEn <sup>1</sup>	NE/NI	NE/WG	PE/PI	PE/WG	NE/PE
B1	D+	3502 $\pm$ 31	0.28 $\pm$ 0.01	15.2 $\pm$ 0.42	0.26 $\pm$ 0.01	2.19 $\pm$ 0.06	7.04 $\pm$ 0.15
	D-	3347 $\pm$ 31	0.32 $\pm$ 0.01	17.3 $\pm$ 0.42	0.31 $\pm$ 0.01	2.69 $\pm$ 0.06	6.51 $\pm$ 0.15
	CL	3397 $\pm$ 32	0.33 $\pm$ 0.01	16.1 $\pm$ 0.44	0.32 $\pm$ 0.01	2.45 $\pm$ 0.07	6.61 $\pm$ 0.15
	D+ vs D- <sup>2</sup>	*	NS ( $P=0.11$ )	*	*	*	*
	D+ vs CL	*	*	NS	*	*	NS ( $P=0.07$ )
	D- vs CL	NS	NS	NS	NS	*	NS
B2	D+	3229 $\pm$ 53	0.42 $\pm$ 0.02	19.7 $\pm$ 1.63	0.47 $\pm$ 0.02	3.60 $\pm$ 0.26	5.49 $\pm$ 0.12
	D-	2583 $\pm$ 54	0.60 $\pm$ 0.02	40.5 $\pm$ 1.63	0.63 $\pm$ 0.02	6.40 $\pm$ 0.26	6.38 $\pm$ 0.12
	CL	3038 $\pm$ 56	0.51 $\pm$ 0.02	29.4 $\pm$ 1.65	0.57 $\pm$ 0.02	5.04 $\pm$ 0.27	5.86 $\pm$ 0.12
	D+ vs D-	* <sup>3</sup>	*	*	*	*	*
	D+ vs CL	*	*	*	*	*	*
	D- vs CL	*	*	*	NS	*	*
B3	D+	3073 $\pm$ 45	0.58 $\pm$ 0.03	59.6 $\pm$ 9.10	0.59 $\pm$ 0.03	9.24 $\pm$ 0.81	5.03 $\pm$ 0.22
	D-	2730 $\pm$ 45	0.73 $\pm$ 0.03	58.1 $\pm$ 8.90	0.68 $\pm$ 0.03	10.6 $\pm$ 0.73	5.54 $\pm$ 0.20
	CL	2966 $\pm$ 50	0.66 $\pm$ 0.03	46.3 $\pm$ 11.0	0.66 $\pm$ 0.03	9.14 $\pm$ 0.84	5.12 $\pm$ 0.23
	D+ vs D-	*	*	NS	NS ( $P=0.08$ )	NS	NS
	D+ vs CL	NS ( $P=0.07$ )	*	NS	NS ( $P=0.06$ )	NS	NS
	D- vs CL	*	*	NS	NS	NS	NS

<sup>1</sup>AMEn, apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen retention (kcal.kgMS<sup>-1</sup>); NE/NI and PE/PI, nitrogen and phosphorus excreted relative to nitrogen and phosphorus intake (g.g<sup>-1</sup>); NE/WG and PE/WG, nitrogen and phosphorus excreted relative to body weight gain (g.kg<sup>-1</sup>); NE/PE, nitrogen excreted relative to phosphorus excreted (g.g<sup>-1</sup>)

<sup>2</sup>The effect of the line between D- and the other lines results from the global analysis while the comparison between D+ and CL line comes from the analysis between only D+ and CL.

<sup>3</sup>NS,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$



197 This discrepancy between results on fresh and dry excreta can be related to a significant  
198 different water content of excreta between lines. D+ showed a higher WC than D-, differences  
199 being significant around the age at selection, i.e. between 14 and 28 d. CL birds had the  
200 lowest WC, and differed significantly from D+ birds from 14 to 49 d.

201 When excretion weights were corrected by feed intake, in view to take into account the FI  
202 differences between lines, the results were similar, D- birds excreting significantly more than  
203 CL and D+ for fresh excreta and the 3 genotypes being significantly different from each other  
204 for the dry excreta weight relative to FI.

205 For excretion traits, NE/NI was 15.1% lower in D+ than in CL line in B1, but CL did not  
206 differ from D-. Similarly, during B1, D+ birds had a 15.7 and 18.4 % lower P excretion rate  
207 than D- and CL, respectively, the two latter being not different. During B2, NE/NI and PE/PI  
208 were 17.5 to 30.0% lower in D+ than in D- and CL birds. In B3, the same trends were  
209 observed, CL showing intermediate NE/NI and PE/PI values, not significantly different of D-  
210 birds and higher than D+ birds ( $P = 0.06$  for PE/PI). As for AMEn, the maximum differences  
211 between lines were observed at 3 weeks. Finally, NE/PE was 7.5% lower in D- than in D+  
212 birds in B1 but 16.2% higher in B2. CL birds NE/PE ratio did not differ from D- and D+ in  
213 B1, even if the difference with D+ was nearly significant ( $P = 0.07$ ). During B2, CL birds  
214 differed significantly from both D+ and D- birds, their NE/PE ratio being 6.7% higher than in  
215 D+ and 8.2% lower than in D- birds. During B3, the ranking was the same but differences  
216 between lines were not significant. Excretion of N and P relative to WG significantly differed  
217 between the 3 lines at age of selection, D+ excreting 28.6% less P and 33.0% less N per gram  
218 of WG than CL birds, and 43.7 and 51.4% less P and N than D- birds. Differences between  
219 lines were already present at 1 week on PE/WG, D+ showing a reduced excretion compared  
220 to the two other lines (-10.5 and -18.4% when compared to CL and D-, respectively). At this

**Table 4 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Error) for all the measures of the gastro-intestinal tract morphology for each line**

Age	Line	PRW <sup>1</sup>	GZW	DW	JW	IW	PVG/INT	DD	JD	ID	pH gizzard	pH ileum
	D+	11.5 $\pm$ 0.36	46.3 $\pm$ 1.26	18.8 $\pm$ 0.66	23.1 $\pm$ 0.90	16.0 $\pm$ 0.59	1.00 $\pm$ 0.03	0.11 $\pm$ 0.004	0.07 $\pm$ 0.003	0.05 $\pm$ 0.004	3.55 $\pm$ 0.13	7.46 $\pm$ 0.07
	D-	10.7 $\pm$ 0.36	40.3 $\pm$ 1.26	14.8 $\pm$ 0.66	25.1 $\pm$ 0.90	17.8 $\pm$ 0.59	0.89 $\pm$ 0.03	0.12 $\pm$ 0.04	0.09 $\pm$ 0.003	0.07 $\pm$ 0.004	3.46 $\pm$ 0.13	7.39 $\pm$ 0.07
	CL	10.1 $\pm$ 0.36	36.0 $\pm$ 1.26	15.9 $\pm$ 0.66	24.2 $\pm$ 0.90	15.2 $\pm$ 0.59	0.85 $\pm$ 0.03	0.13 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.003	0.07 $\pm$ 0.04	3.34 $\pm$ 0.13	7.69 $\pm$ 0.07
	D+ vs D- <sup>2</sup>	NS <sup>3</sup>	*	*	NS	NS (P=0.10)	*	NS	*	*	NS	NS
	D+ vs CL	*	*	*	NS	NS	*	*	*	*	NS	*
7	D- vs CL	NS	*	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	*
	D+	10.0 $\pm$ 0.69	26.2 $\pm$ 0.90	12.5 $\pm$ 0.46	18.1 $\pm$ 0.64	12.6 $\pm$ 0.53	0.84 $\pm$ 0.03	0.25 $\pm$ 0.01	0.19 $\pm$ 0.01	0.15 $\pm$ 0.01	3.46 $\pm$ 0.12	7.51 $\pm$ 0.09
	D-	6.86 $\pm$ 0.72	17.9 $\pm$ 0.92	14.2 $\pm$ 0.47	24.9 $\pm$ 0.66	18.2 $\pm$ 0.55	0.43 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.01	0.25 $\pm$ 0.01	0.20 $\pm$ 0.01	3.92 $\pm$ 0.13	6.91 $\pm$ 0.09
	CL	5.84 $\pm$ 0.72	15.9 $\pm$ 0.92	13.3 $\pm$ 0.47	23.6 $\pm$ 0.66	16.4 $\pm$ 0.55	0.41 $\pm$ 0.03	0.30 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.01	0.21 $\pm$ 0.01	3.97 $\pm$ 0.12	7.18 $\pm$ 0.09
	D+ vs D-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
	D+ vs CL	*	*	NS	*	*	*	*	*	*	*	*
21	D- vs CL	NS	NS	NS	NS	NS (P=0.08)	NS	NS	*	NS	NS	NS (P=0.10)
	D+	3.37 $\pm$ 0.30	12.2 $\pm$ 0.48	5.61 $\pm$ 0.29	10.3 $\pm$ 0.44	8.19 $\pm$ 0.40	0.66 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.02	0.32 $\pm$ 0.02	0.26 $\pm$ 0.01	4.85 $\pm$ 0.15	7.51 $\pm$ 0.06
	D-	2.94 $\pm$ 0.29	10.7 $\pm$ 0.46	7.08 $\pm$ 0.27	13.1 $\pm$ 0.43	11.4 $\pm$ 0.39	0.44 $\pm$ 0.03	0.47 $\pm$ 0.02	0.40 $\pm$ 0.02	0.34 $\pm$ 0.01	5.00 $\pm$ 0.15	7.28 $\pm$ 0.05
	CL	2.74 $\pm$ 0.33	9.71 $\pm$ 0.53	5.64 $\pm$ 0.31	11.2 $\pm$ 0.49	8.99 $\pm$ 0.44	0.49 $\pm$ 0.03	0.44 $\pm$ 0.02	0.38 $\pm$ 0.02	0.31 $\pm$ 0.02	5.24 $\pm$ 0.16	7.46 $\pm$ 0.06
	D+ vs D-	NS	NS (P=0.07)	*	*	*	*	*	*	*	NS	*
	D+ vs CL	NS	*	NS	NS	NS	*	*	*	*	*	NS
53	D- vs CL	NS	NS	*	*	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS (P=0.07)

<sup>1</sup>PRW, proventriculus weight relative to BW (g.kg-1); GZW, gizzard weight relative to BW (g.kg-1); DW, JW and IW; duodenum, jejunum and ileum weights relative to BW (g.kg-1); PVG/INT, proventriculus and gizzard weight relative to small intestine weight (g.g-1); DD, JD and ID, duodenum, jejunum and ileum density (g.cm-1); pH gizzard and pH ileum, pH measurements of the content of the gizzard and ileum compartments. <sup>2</sup>The effect of the line between D- and the other lines results from the global analysis while the comparison between D+ and CL line comes from the analysis between only D+ and CL. <sup>3</sup>NS,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$

221 age, D+ also excreted 12.1% less N per gram of WG than D- birds. At 7 weeks, no difference  
222 was significant between lines anymore for NE/WG and PE/WG.

223

224 Gastro-intestinal tract morphology was shown in Table 4. Relative proventriculus weight was  
225 13.9 and 71.2% higher in D+ birds than in CL birds at 7 and 21 d, respectively, but difference  
226 did not persist at 53 d. D- birds presented intermediate values at all ages. At all ages, relative  
227 gizzard weight was higher in D+ birds than in CL, and at 7 and 21 d between D+ and D- ( $P =$   
228  $0.07$  at 53 d), difference between CL and D- were significant only at 7 d of age. Relative  
229 intestinal segment weights were similar in D+ and CL birds at 7 and 53 d, except for DW at 7  
230 d, but D+ had 23.3 and 23.2% lighter jejunum and ileum, respectively, than CL birds at 21 d.  
231 Furthermore, D+ birds showed less dense intestine than CL birds whatever the age,  
232 differences ranging from 15.9 to 34.5%. D+ also showed 12.0 to 30.8% lighter and 16.7 to  
233 25.0% less dense intestine than D- birds at 21 and 53 d. Finally, D- and CL birds did not  
234 differ from each other for intestinal weights at 7 and 21 d, and for densities at all ages, except  
235 for IW at 7 d and for JD at 21 d. At 53 d, weights of intestinal segments were higher in D-  
236 than in CL birds. The differences in the development of the upper and lower parts of the GIT  
237 resulted in higher values of the ratio PVG/INT in D+ birds than in CL and D- birds at all ages,  
238 differences being not significant between D- and CL birds. Differences were maximal at 21 d,  
239 values of D+ birds being twice as high as for CL and D- at this age. Finally, pH of gizzard  
240 content was lower in D+ than in D- and CL birds at 21 d, and also than CL birds at 53 d. The  
241 pH of ileum content was higher in D+ birds than in D- birds at 21 and 53 d, but lower than in  
242 CL birds at 7 d.

243

244 The body composition (breast meat and abdominal fat yields) and the bone breaking strength  
245 at 7, 21 and 53 d were shown in Figure 5. Ranking of lines for BMY and AFY changed with

**Table 5 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Error) for BMY, AFY and BBS for each line and age of slaughter.**

Age	Line	BMY <sup>1</sup>	AFY	BBS
7	D+	2.49 $\pm$ 0.10	0.28 $\pm$ 0.03	18.8 $\pm$ 0.88
	D-	3.05 $\pm$ 0.10	0.31 $\pm$ 0.03	18.3 $\pm$ 0.88
	CL	3.21 $\pm$ 0.10	0.40 $\pm$ 0.03	22.0 $\pm$ 0.88
	D+ vs D- <sup>2</sup>	* <sup>3</sup>	NS	NS
	D+ vs CL	*	*	*
	D- vs CL	NS	NS	*
	21	D+	5.15 $\pm$ 0.12	1.11 $\pm$ 0.12
D-		5.16 $\pm$ 0.13	1.06 $\pm$ 0.12	79.2 $\pm$ 5.78
CL		5.09 $\pm$ 0.13	1.85 $\pm$ 0.12	108 $\pm$ 5.78
D+ vs D-		NS	NS	NS
D+ vs CL		NS	*	*
D- vs CL		NS	*	*
53		D+	6.25 $\pm$ 0.15	3.94 $\pm$ 0.15
	D-	5.77 $\pm$ 0.14	4.61 $\pm$ 0.14	206 $\pm$ 14.4
	CL	6.38 $\pm$ 0.16	3.87 $\pm$ 0.16	222 $\pm$ 16.5
	D+ vs D-	NS (P=0.06)	*	NS
	D+ vs CL	NS	NS	NS
	D- vs CL	*	*	NS

<sup>1</sup>BMY, breast meat yield (%); AFY, abdominal fat yield (%); BBS, bone breaking strength (N)

<sup>2</sup>The effect of the line between D- and the other lines results from the global analysis while the comparison between D+ and CL line comes from the analysis between only D+ and CL.

<sup>3</sup>NS,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$

246 age, D+ birds having 18.4 and 22.4% lower BMY than D- and CL birds, respectively, at 7d,  
247 but similar BMY at 21 and 53 d. At 53 d, AFY was lower in CL and D+ birds than in D-  
248 birds, but CL were fatter than D+ and D- birds at 21 d.

249 Meat color characteristics ( $L^*$ ,  $a^*$  and  $b^*$ ) at 53 d were shown in Table 6. The ultimate pH of  
250 the meat was 1.06 and 1.60% higher in CL than in D+ and D-, respectively. Meat coloration  
251 was not significantly different between the 3 lines.

252 BBS was higher in CL than in D+ and D- birds at 7 and 21 d, but the difference was not found  
253 again at 53 d.

254

255

#### 256 **4. Discussion**

257

258 Poultry manure is considered as the most valuable animal manure for crop fertilization, due to  
259 the relative low moisture and high nutrient contents (Moore Jr. *et al.*, 1995). However, intense  
260 manure application on fields can increase soil nutrients above plant requirements. Moreover,  
261 poultry manure presents an excess of phosphorus compared to nitrogen, implying that using  
262 this manure in the limits of regulation for nitrogen leads to bring phosphorus in excess.  
263 Evaluation of environmental impact of poultry production thus implies to consider their  
264 quantity but also their composition. Previously, using D+ and D- lines, de Verdal et al (de  
265 Verdal *et al.*, 2011b) showed that selection on AMEn modified excretion traits at 23 d,  
266 consistently with the genetic correlations between AMEn and FEW/FI, NE/NI and PE/PI  
267 (-0.66, -0.99 and -0.64, respectively). However, these estimations were performed on birds  
268 between 17 and 23 d old. Consequently, estimation of the impact of an AMEn selection on the  
269 excretion traits for the whole rearing period and the economic consequences of such selection  
270 were needed.

**Table 6 - Basic statistics (LS Means  $\pm$  Standard Error) for breast meat and bone quality traits for each line at 53 d of age.**

Trait <sup>1</sup>	D+	D-	CL	Line effect <sup>2</sup>		
				D+ vs D-	D+ vs CL <sup>2</sup>	D- vs CL
L*	48.3 $\pm$ 0.81	50.5 $\pm$ 0.81	47.7 $\pm$ 1.08	NS <sup>3</sup>	NS	NS
a*	-0.93 $\pm$ 0.14	-1.22 $\pm$ 0.14	-0.99 $\pm$ 0.18	NS	NS	NS
b*	10.8 $\pm$ 0.34	9.79 $\pm$ 0.34	10.2 $\pm$ 0.46	NS	NS	NS
pHu	5.65 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	5.62 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>	5.71 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	NS	*	*

<sup>1</sup> L\*, lightness; a\*, redness; b\*, yellowness; pHu, ultimate pH of the breast; BBS, bone breaking strength

<sup>2</sup>The effect of the line between D- and the other lines results from the global analysis while the comparison between D+ and CL line comes from the analysis between only D+ and CL.

<sup>3</sup>NS,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$

271 As expected, D+ birds showed significantly higher AMEn values for the three balance trials  
272 than D- birds, consistently with previous studies at 23 d of age (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004;  
273 de Verdal *et al.*, 2011b). They had also higher AMEn than CL birds at 7 and 21 d ( $P=0.07$  at  
274 53 d). Divergent selection on AMEn thus did not only reduce AMEn in D- but also improved  
275 it in D+. Difference was maximum at 3 weeks for most traits, which could be expected as it  
276 was age of selection. Difference could probably be increased more by selecting also on  
277 AMEn at older, even if the additional progress that could be expected would probably be  
278 lower. Indeed, AMEn is probably strongly linked to the development of the GIT, which is  
279 maximum at 3 weeks. This assumption was consistent with the high genetic correlations  
280 between AMEn and gizzard and intestine weights (de Verdal *et al.*, 2011a). Secreting and  
281 grinding activities of the proventriculus and gizzard increase with their weights (Svihus,  
282 2011), which improves nutrient availability in the small intestine, and thus, digestibility (Wu  
283 and Ravindran, 2004). Our results indicated that the development of the upper part of the GIT  
284 at 7 d of D+ birds was more precocious than in D- and CL birds, which could be explained by  
285 a higher sensitivity of the D+ to wheat-based diet in the former.

286 At the opposite of the upper part of the GIT, between line differences for the lower part  
287 appeared latter (at 21 and 53 d) with was consistent with the hypothesis that the development  
288 of intestine occurs in reaction to the development of the gizzard and proventriculus. These  
289 differences resulted in higher PVG/INT ratio in D+ than in D- and CL birds at all ages,  
290 consistently with former results (Rougière *et al.*, 2009) who used this ratio as a predictor of  
291 digestion efficiencies in broilers.

292 At 3 weeks, Mignon-Grasteau et al (Mignon-Grasteau *et al.*, 2010b) and de Verdal et al (de  
293 Verdal *et al.*, 2011b) showed that D- birds excreted 70.2 and 117.6% more FEW and DEW,  
294 respectively, than D+ birds. In the present study, during B2, D- birds excreted 73.4 and 98.7%  
295 more FEW and DEW than D+ birds, which was consistent with previous results. These

296 differences were intensified if we considered the whole rearing period, with 128.3 and  
297 157.4% higher FEW and DEW for D- than for D+ birds. These high differences between lines  
298 were probably, but not completely linked to variations in feed intake between genotypes.  
299 Indeed, when correcting excreta weight by feed intake, D+ birds excreted 44.2 and 17.4% less  
300 dry excreta relative to FI than D- and CL birds. The fact that differences between D+ and CL  
301 birds were significant for dry excreta but not for fresh excreta weights could be explained by  
302 the 9.9% higher water content in the excreta of D+ than in those of CL birds for the whole  
303 rearing period. This higher WC of D+ birds had already been found at 3 weeks (de Verdal *et*  
304 *al.*, 2011b) and implies that litters from D+ birds would be wetter than litters from D- or CL  
305 birds, thus increasing the risks of ammonia emissions (Miles *et al.*, 2011). The excreta also  
306 differed in their composition, since N and P excretion rates were significantly different  
307 between the 3 lines. For the same weight gain, the D+ birds excreted significantly less N and  
308 P in B1 and B2 than D- and CL birds, which implies that D+ birds have a higher potential N  
309 and P deposition than D- and CL birds. For the whole rearing period, D+, D- and CL birds  
310 excreted 53.7, 111.1 and 64.4 g of N and 9.77, 18.8 and 11.4 g of P, respectively.  
311 Consequently, for a poultry house of 20 000 chickens, rearing D+ birds instead of CL birds  
312 would induce a reduction of 215.2 and 31.9kg of NE and PE, i.e. -968.4 and -143.6kg of N  
313 and P by year, considering 4.5 hatches by year, which is the usual number of hatches for this  
314 type of chicken. Taking into account regulations for N and P spreading ( $170\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$  of  
315 N and  $80\text{kg}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{year}^{-1}$  for  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) and the fact that around 50% of N is lost between excretion  
316 and spreading, 14.2, 29.4 and 17.1 ha should be necessary to spread N and 25.2, 48.5 and 29.3  
317 ha to spread P for D+, D- and CL chicken farms.

318 Poultry manure had an average ratio N/P of 2 (Gilbertson *et al.*, 1979; Sharpley, 1999)  
319 whereas the N/P requirement of most of the crops is almost 8 (White and Collins, 1982;  
320 Moore Jr. *et al.*, 1995). However, most of the fields present an excess N and P in soil, mainly



321 due to the repeated manure application for many years. According to the French and European  
322 regulations, the ideal ratio of N/P when manure was spread on fields should be 2.13, which is  
323 far below the crop requirements. Considering the litter and the water part of the manure  
324 spread (Anonymous, 2001) but also the volatilization of  $\text{NH}_3$ , the  $\text{N}/\text{P}_2\text{O}_5$  ratio found in the  
325 manure in the present study ranged from 1.04 to 1.50. These manures were thus too  
326 concentrated on  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Nitrogen losses should be limited to improve equilibrium between N  
327 and P in manure. This could be reached by decreasing manure pH or WC which could limit  
328 volatilization of N during rearing and storage (Lefcourt and Meisinger, 2001). Excreta pH  
329 was not measured in this experiment. However, pH of gizzard content was positively  
330 genetically correlated with the excreta pH (Mignon-Grasteau, pers. comm.). Since the gizzard  
331 content pH of the D+ birds was 11.7 and 12.9% lower than in D- and CL at 21 d, and 7.5%  
332 lower than in CL at 53 d, it can be hypothesized that the pH of excreta of D+ birds should be  
333 lower than those of D- and CL. Consequently, the loss of N by volatilization should be lower  
334 for excreta of D+ birds. As at the opposite, the higher WC of excreta of D+ birds should  
335 enhance N volatilization, N losses should be directly recorded to draw definitive conclusions.  
336 The selection experiment based on AMEn modified nutrient retention rates and could thus  
337 impact body composition, and perhaps also the meat and bone quality. For example, Han et al  
338 (Han *et al.*, 2009) showed that the supplementation of  $1\alpha$ -hydroxicholecalciferol to improve P  
339 retention increased lightness ( $L^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ) of the breast meat.  
340 Until 42 d of age, D+ and D- birds presented a lower BW than CL birds, but these differences  
341 were not maintained at 53 d of age. This BW at 53 d was achieved by D- birds with 35.3 and  
342 22.2% higher FI than D+ and CL birds, respectively. For the same BW at 53 d, D+ birds thus  
343 consumed 488g less feed than CL birds. Consequently, for a poultry farm of 20 000 chickens,  
344 rearing D+ birds rather than CL birds correspond to a gain of 9.76 tons of feed for each hatch.

345 In the present study, BMY was lower in D+ than in D- and CL at 7 d. It is consistent with a  
346 more intense development of the GIT during the firsts days of life in D+ than in D- and CL  
347 birds, which implies that D+ birds have proportionally less energy to invest in muscle  
348 development. Differences in BMY were not significant at 3 weeks of age, consistently with  
349 phenotypic results at 23 d of age and with the low genetic correlation estimated between  
350 AMEn and BMY ( $r_g=0.05$ , (de Verdal *et al.*, 2011c). The higher BMY and lower AFY for D+  
351 and CL birds compared to D- birds at 53 d could be explained by the differences in feed  
352 consumption and their metabolic consequences. Indeed, an increase of insulin secretion by  
353 pancreas in response to a higher feed consumption is known to increase fat deposition and  
354 conversely, to decrease muscle protein deposition (Tomas *et al.*, 1998; Buyse *et al.*, 1999).  
355 Future works should also examine the gastro-intestinal hormones secretion levels, which  
356 could explain the body composition differences between D- and CL birds. Furthermore,  
357 Tomas et al (Tomas *et al.*, 1998) showed that the improvement of the efficiency of feed  
358 utilization is negatively linked to the proteolysis activity and increases BMY and reduces AFY  
359 (Huyghebaert and Pack, 1996). Since D+ and CL birds retained more nitrogen than D- birds,  
360 the former line should show a reduced proteolysis and an increased breast meat mass.  
361 Consequently, by a reduction of NE/WG, selection on high AMEn values improves BMY and  
362 AFY, as compared to D- birds, and did not deteriorate these traits compared to CL birds.

363

364 In the present study, CL birds showed 1.06 and 1.60% higher pHu than D+ and D- birds,  
365 respectively, but the meat coloration traits ( $L^*$ ,  $a^*$ , and  $b^*$ ) were not significantly different  
366 between the 3 lines. The differences in pHu between lines seems too small to induce  
367 noticeable changes in the meat quality, and consequently, selection on AMEn should thus not  
368 affect breast meat quality. However, according to Le Bihan-Duval *et al* and Duclos *et al* (Le

369 Bihan-Duval *et al.*, 2001; Duclos *et al.*, 2007), the breast meat of these three lines were rather  
370 acid (pHu < 5.7), which could induce impairments of the technological processing ability.

371 Bone solidity is important for economic and welfare reasons, and can be assessed by the bone  
372 breaking strength. As selection on AMEn modified retention rates of P which is mainly stored  
373 in bones, it could be asked whether selection modified bone strength. While CL birds showed  
374 17.0 to 36.4% higher BBS than D+ and D- at 7 and 21 d, at slaughter age, chickens of the  
375 three studied lines did not show differences in BBS. This was consistent with the very high  
376 genetic correlation between BBS and BW at 23 d (0.93, (de Verdal *et al.*, 2011c) and with the  
377 fact that CL birds were heavier than D+ and D- at 7 and 21 d but not at 53 d. These results  
378 imply that selection did not modify the risk of fracture at slaughter age.

379

380

## 381 **5. Conclusion**

382 The present study clearly showed that selecting chicken on high AMEn values could improve  
383 the dry matter utilisation and the retention capacity of N and P and reduce the environmental  
384 impact of the chicken excretion at 3 weeks of age, but also for the whole chicken rearing  
385 period. Furthermore, such selection would not affect body composition and meat and bone  
386 quality traits at slaughter age compared to commercial genotype. This could be explained by  
387 the differential development of the GIT between the lines. Comparing the hormonal pathways  
388 of the 3 lines could help to understand the mechanisms underlying the changes in digestibility  
389 but also the differences of excretion, GIT morphology and body composition observed in the  
390 present study.

391

392

393

394 **ACKNOWLEDGEMENTS**

395 The authors would like to thank the Animal Genetic department of INRA for financial  
396 support. We thank the PEAT experimental unit (UE 1295 Pôle Expérimental Avicole de  
397 Tours, INRA, Nouzilly, France) and especially K. Gérard for bird management, L. Bonnal  
398 (CIRAD, Montpellier, France) for his help in the NIRS measurements of the excreta and all  
399 those who helped with the data collection.

400

401

402 **REFERENCES**

- 403 Anonymous, 2001. Les déjections avicoles. *Sci. Tech. Avic. HS*, 27-33.
- 404 Bastianelli, D., Bonnal, L., Juin, H., Mignon-Grasteau, S., Davrieux, F., Carré, B., 2010.  
405 Prediction of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy. *J.*  
406 *Near Infra. Spe.* 18, 69-77.
- 407 Bolan, N.S., Szogi, A.A., Chuasavathi, T., Seshadri, B., Rothrock Jr., M.J., Panneerselvam,  
408 P., 2010. Uses and management of poultry litter. *World's Poult. Sci. J.* 66, 673-698.
- 409 Bourdillon, A., Carré, B., Conan, L., Duperray, J., Huyghebaert, G., Leclercq, B., Lessire, M.,  
410 McNab, J., Wiseman, J., 1990. European reference method for the in vivo determination of  
411 metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-intake and  
412 comparison with individual laboratory methods. *Br. Poult. Sci.* 31, 557-565.
- 413 Buyse, J., Leenstra, F.R., Zeman, M., Rahimi, G., Decuyper, E., 1999. A comparative study  
414 of different selection strategies to breed leaner meat-type poultry. *Poultry Avian Biol. Rev.*  
415 10, 121-142.
- 416 Carpenter, S.R., Caraco, N.F., Correll, D.L., Howarth, R.W., Sharpley, A.N., Smith, V.H.,  
417 1998. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecol. Appl.* 8, 559-  
418 568.

419 Charles, D.R., Payne, C.G., 1966. The influence of graded levels of atmospheric ammonia on  
420 chickens. I. Effects on respiration and on the performance of broilers and replacement  
421 growing stock. *Br. Poult. Sci.* 7, 177-187.

422 de Verdal, H., Narcy, A., Bastianelli, D., Chapuis, H., Mème, N., Urvoix, S., Le Bihan-Duval,  
423 E., Mignon-Grasteau, S., 2011a. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by  
424 selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive  
425 efficiency. *BMC Genet.* 12, 59.

426 de Verdal, H., Narcy, A., Chapuis, H., Bastianelli, D., Mème, N., Urvoix, S., Le Bihan-Duval,  
427 E., Mignon-Grasteau, S., 2011b. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by  
428 selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the  
429 gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genet.* 12, 71.

430 de Verdal, H., Narcy, A., Bastianelli, D., Chapuis, H., Mème, N., Urvoix, S., Le Bihan-Duval,  
431 E., Mignon-Grasteau, S., 2011c. Genetic variability of metabolic characteristics in chickens  
432 selected for their capacity to digest wheat. In prep.

433 Duclos, M., Berri, C., Le Bihan-Duval, E., 2007. Muscle growth and meat quality. *J. Appl.*  
434 *Poult. Res.* 16, 107-112.

435 Garcia, V., Gomez, J., Mignon-Grasteau, S., Sellier, N., Carre, B., 2007. Effects of xylanase  
436 and antibiotic supplementations on the nutritional utilisation of a wheat diet in growing chicks  
437 from genetic D+ and D- lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal* 1, 1435-  
438 1442.

439 Gilbertson, C.B., Norstadt, F.A., Mathers, A.C., Holt, R.F., Barnett, A.P., McCalla, T.M.,  
440 Onstad, C.A., Young, R.A., 1979. Animal waste utilization on cropland and pastureland - A  
441 manual for evaluating agronomic and environmental effects. Govt. Printing Off., Washington,  
442 DC.

443 Han, J.C., Yang, X.D., Zhang, T., Li, H., Li, W.L., Zhang, Z.Y., Yao, J.H., 2009. Effects of  
444  $1\alpha$ -hydroxicholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat  
445 quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one- to twenty-one-  
446 day-old broilers. *Poult. Sci.* 88, 323-329.

447 Huyghebaert, G., Pack, M., 1996. Effects of dietary protein content, addition of nonessential  
448 amino acids and dietary methionine to cysteine balance on responses to dietary sulphur-  
449 containing amino-acids in broilers. *Br. Poult. Sci.* 37, 623-639.

450 INRA-AFZ, 2004. Tables de composition et valeur nutritionnelle des matières premières. In:  
451 INRA (Ed.). Association Française de zootechnie, Paris.

452 Laird, A.K., Tyler, S.A., Barton, A.D., 1965. Dynamics of normal growth. *Growth* 29, 233-  
453 248.

454 Le Bihan-Duval, E., Berri, C., Baeza, E., Millet, N., Beaumont, C., 2001. Estimation of the  
455 genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and  
456 body composition in an experimental broiler line. *Poult. Sci.* 80, 839-843.

457 Lefcourt, A.M., Meisinger, J.J., 2001. Effect of adding alum or zeolite to dairy slurry on  
458 ammonia volatilization and chemical composition. *J. Dairy Sci.* 84, 1814-1821.

459 Mahimairaja, S., Bolan, N.S., Hedley, M.J., MacGregor, A.N., 1990. Evaluation of methods  
460 of measurement of nitrogen in poultry and animal manures. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* 24, 141-  
461 148.

462 Mignon-Grasteau, S., Bourblanc, M., Carré, B., Dourmad, J.Y., Gilbert, H., Juin, H., Noblet,  
463 J., Phocas, F., 2010a. La réduction des rejets avicoles et porcins par la sélection. *INRA Prod.*  
464 *Anim.*

465 Mignon-Grasteau, S., Lafeuille, O., Dourmad, J.Y., Hillion, S., Bastianelli, D., Arnould, C.,  
466 Phocas, F., Carré, B., 2010b. Consequences of selection for digestibility on feeding activity

467 and excretion. In: Duclos, M., Nys, Y. (Eds.), XIIIth European Poultry Conference. World's  
468 Poultry Science Journal, Tours, France, p. 615.

469 Mignon-Grasteau, S., Muley, N., Bastianelli, D., Gomez, J., Peron, A., Sellier, N., Millet, N.,  
470 Besnard, J., Hallouis, J.M., Carré, B., 2004. Heritability of digestibilities and divergent  
471 selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poult. Sci.* 83, 860-867.

472 Miles, D.M., Rowe, D.E., Cathcart, T.C., 2011. Litter ammonia generation: Moisture content  
473 and organic versus inorganic bedding materials. *Poult. Sci.* 90, 1162-1169.

474 Moore Jr., P.A., Daniel, T.C., Wood, C.W., Sharpley, A.N., 1995. Poultry manure  
475 management: environmentally sound options. *Journal of Soil and Water Conservation* 50,  
476 321-327.

477 Nahm, K.H., 2007. Feed formulations to reduce N excretion and ammonia emission from  
478 poultry manure. *Bioresour. Technol.* 98, 2282-2300.

479 Pym, R.A.E., 1990. Nutritional Genetics. In: Crawford, R.D. (Ed.), *Poult. Breed. Sci.*,  
480 Amsterdam, The Netherlands, pp. 847-876.

481 Reece, F.N., Lott, B.D., Deaton, J.W., 1981. Low concentrations of ammonia during brooding  
482 decrease broiler weight. *Poult. Sci.* 60, 937-940.

483 Rougrière, N., Gomez, J., Mignon-Grasteau, S., Carré, B., 2009. Effects of diet particle size on  
484 digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent digestion  
485 efficiency. *Poult. Sci.* 88, 1206-1215.

486 SAS Institute, 1999. SAS<sup>®</sup> Institute. In: edition, <sup>t</sup> (Ed.). SAS Institute Inc., Cary, NC., USA,  
487 p. SAS Institute.

488 Schindler, D.W., 1977. The evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science* 195, 260-  
489 262.

490 Sharpley, A.N., 1999. Agricultural phosphorus, water quality, and poultry production: are  
491 they compatible? *Poult. Sci.* 78, 660-673.

492 Svihus, B., 2011. The gizzard: function, influence of diet structure and effects on nutrient  
493 availability. *World's Poult. Sci. J.* 67, 207-223.

494 Taylor, R.D., Jones, G.P.D., 2004. The incorporation of whole grain into pelleted broiler  
495 chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics. *Br. Poult. Sci.* 45, 237-246.

496 Tomas, F.M., Pym, R.A.E., McMurtry, J.P., Francis, G.L., 1998. Insulin-like growth factor  
497 (IGF)-I but not IGF-II promotes lean growth and feed efficiency in broiler chickens. *Gen.*  
498 *Comp. Endocrinol.* 110, 262-275.

499 White, W.C., Collins, D.N., 1982. *The fertilizer handbook.* The Fertilizer Institute,  
500 Washington, DC.

501 Wu, Y.B., Ravindran, V., 2004. Influence of whole wheat inclusion and xylanase  
502 supplementation on the performance, digestive tract measurements and carcass characteristics  
503 of broiler chickens. *Anim. Feed Sci. Technol.* 116, 129-139.



## Principales conclusions et Résultats complémentaires

Cette dernière étude a confirmé l'intérêt d'une sélection sur l'efficacité digestive pour réduire les rejets non seulement à 3 semaines, mais également sur l'ensemble du cycle de production. Elle a également permis de montrer que les D+ présentaient un réel avantage sur le plan environnemental par rapport à la lignée commerciale, sans que les performances économiques (croissance, consommation alimentaire, composition corporelle, qualité de la viande) soient dégradées.

Comme pour l'étude de paramètres génétiques, les caractères mesurés étant très nombreux, certains caractères n'ont pas été intégrés à l'article. Concernant les caractéristiques osseuses, seuls les résultats de la résistance à la rupture de l'os (BBS) ont été intégrés. Plusieurs autres mesures au niveau osseux ont été réalisées, tels que la longueur et le diamètre du tibia, le taux de cendres, le poids de tibia sec et le poids de cendres. Les résultats concernant ces caractères sont présentés dans le Tableau 17.

Alors qu'au niveau de la longueur du tibia, des différences sont visibles à 7 et 21 jours d'âge, avec des os plus courts chez les D+ que chez les CL à 7 et 21 jours et plus courts chez les D+ que les D- à 7 jours, ces différences ne sont pas observées à 53 jours d'âge. Lorsque ces longueurs sont rapportées au poids vif, les différences ne sont plus les mêmes, puisque les D+ montrent des os plus longs à 7 et 21 jours que les CL, et plus longs que les D- à 7 jours. Ceci est probablement dû à la différence de poids vif des animaux à ces âges, dans le sens où à 7 jours, les D+ sont 11.6 et 24.9 % plus légers que les D- et les CL, respectivement, et à 21 jours, les D+ sont 11.5 % plus légers que les CL, alors qu'à 53 jours, les poids vifs des animaux des trois lignées ne sont pas significativement différents.

Le diamètre du tibia est quant à lui plus large en valeur brute chez les CL à 7 et 21 jours d'âge, alors qu'à 53 jours, les D+ ont un diamètre de tibia 12.9 et 13 % plus large que les D- et les CL, respectivement. Lorsque ces résultats sont rapportés au poids vif, on observe que les D+ ont toujours des tibias plus larges que les CL, ce qui pourrait provenir d'une différence de rétention de phosphore et de calcium, les deux principaux constituants de l'os, entre les deux lignées.

Au niveau des caractéristiques de composition osseuse, il n'y a que très peu de différence entre les trois lignées. Ces différences se manifestent principalement sur la longueur et le diamètre de l'os jusqu'à 3 semaines, les CL tendant à avoir des os proportionnellement plus

**Tableau 17 - Statistiques élémentaires (moyennes ± erreurs standard) pour les mesures de caractéristiques osseuses pour chaque lignée et chaque âge de mesure.**

Age	Line	Lg os <sup>1</sup>	Lg os relatif	Diam os	Diam os relatif	Pds os sec	Pds os sec relatif	Pds cendres	Pds cendres relatif	Taux cendres
7	D+	38.3±0.32	449±7.85	2.23±0.04	26.0±0.47	0.21±0.01	2.37±0.08	0.07±0.003	0.81±0.02	34.2±1.03
	D-	39.8±0.35	406±7.74	2.22±0.04	22.7±0.53	0.23±0.01	2.38±0.10	0.09±0.007	0.94±0.08	37.7±1.46
	CL	40.9±0.33	356±8.10	2.41±0.04	20.9±0.47	0.25±0.01	2.19±0.07	0.09±0.003	0.80±0.02	36.9±1.03
	D+ vs D- <sup>2</sup>	* <sup>2</sup>	*	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
	D+ vs CL	*	*	*	*	*	NS (P=0.08)	NS	NS	NS (P=0.07)
	D- vs CL	NS (P=0.07)	*	*	*	NS	NS	NS (P=0.08)	NS	NS
21	D+	62.8±0.58	144±2.53	4.48±0.10	10.2±0.15	1.33±0.05	3.02±0.05	0.54±0.02	1.23±0.02	40.6±0.39
	D-	63.5±0.71	149±3.51	4.38±0.11	10.2±0.19	1.29±0.06	2.95±0.05	0.51±0.03	1.16±0.02	39.5±0.49
	CL	67.3±0.58	125±2.53	4.76±0.10	8.77±0.15	1.62±0.05	2.96±0.05	0.65±0.02	1.19±0.02	40.2±0.41
	D+ vs D-	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
	D+ vs CL	*	*	NS (P=0.06)	*	*	NS	*	NS	NS
	D- vs CL	*	*	*	*	*	NS	*	NS	NS
53	D+	114.5±1.20	59.0±1.40	9.49±0.23	4.88±0.15	9.04±0.33	4.60±0.10	3.03±0.13	1.54±0.05	33.6±0.92
	D-	109.9±1.59	60.2±1.58	8.41±0.24	4.57±0.14	7.80±0.34	4.19±0.10	2.77±0.13	1.49±0.05	35.6±0.85
	CL	113.2±1.34	57.6±1.56	8.40±0.25	4.06±0.16	8.12±0.37	3.90±0.11	2.87±0.15	1.38±0.05	35.4±1.02
	D+ vs D-	NS	NS	*	NS	*	*	NS	NS	NS
	D+ vs CL	NS	NS	*	*	NS	*	NS	*	NS
	D- vs CL	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS

<sup>1</sup>Lg os et lg os relatif, longueur du tibia en valeur brute et relative au poids vif (mm et mm.kg<sup>-1</sup>) ; Diam os et diam os relatif, diamètre du tibia en valeur brute et relative au poids vif (mm et mm.kg<sup>-1</sup>) ; Pds os sec et Pds os sec relatif, poids du tibia sec en valeur brute et relative au poids vif (g et g.kg<sup>-1</sup>) ; Pds cendres et Pds cendres relatif, poids de cendres tibiales en valeur brute et relative au poids vif (g et g.kg<sup>-1</sup>), Taux cendres (%)

<sup>2</sup>NS, P>0.05 ; \*, P<0.05

courts et moins larges que les D- et les D+. Ces différences sont encore une fois potentiellement dues aux différences de poids des lignées, les CL étant 13.0 et 18.4 % plus lourds à cet âge que les D+ et les D-, respectivement. Enfin, à 53 jours, seuls persistent un diamètre relatif proportionnellement plus faible chez les CL et un poids d'os sec proportionnellement plus élevé chez les D+. Néanmoins, il semble que la biodisponibilité du phosphore ne soit pas modifiée par la sélection génétique sur l'EMAn dans le sens où la teneur en cendres tibiales, principal indicateur de biodisponibilité du phosphore, n'est pas significativement différente entre les trois lignées, quel que soit l'âge considéré.

Enfin, le pH des contenus digestifs avait été mesuré dans différents compartiments du tractus à la fois comme indicateur du fonctionnement du tube digestif, mais également comme prédicteur potentiel du pH des excréta, ce dernier critère étant un prédicteur des pertes gazeuses d'azote sous forme d'ammoniac. Ces résultats n'ont cependant pas été intégrés dans l'article V, à cause du faible effectif sur certains compartiments. En effet, malgré la réalimentation des animaux pendant 2h30 avant l'abattage, de nombreux animaux avaient par exemple un duodénum quasiment vide. Les valeurs de pH des contenus du digesta au niveau du jabot, du duodénum et du jéjunum sont présentées à titre indicatif dans le Tableau 18. Le pH du digesta diffère en fonction des compartiments étudiés et est déterminé par le déversement des sécrétions digestives tout au long du tractus. Par conséquent, puisque le pH des contenus digestifs du duodénum et du jéjunum ne varie pas en fonction de la lignée, il est probable que les enzymes digestives (principalement pancréatiques) soient sécrétées de la même façon chez les trois lignées.

**Tableau 18 - Statistiques élémentaires (moyennes  $\pm$  erreurs standard) pour les mesures de pH des contenus digestifs pour chaque lignée et chaque âge de mesure.**

Age	Line	pH jabot	pH duodénum	pH jéjunum
7	D+	6.06 $\pm$ 0.12	6.37 $\pm$ 0.07	6.45 $\pm$ 0.04
	D-	6.03 $\pm$ 0.10	6.27 $\pm$ 0.05	6.52 $\pm$ 0.06
	CL	5.92 $\pm$ 0.12	6.40 $\pm$ 0.08	6.35 $\pm$ 0.04
	D+ vs D <sup>-2</sup>	NS <sup>1</sup>	NS	NS
	D+ vs CL	NS	NS	NS (P=0.08)
	D- vs CL	NS	NS	NS
21	D+	5.99 $\pm$ 0.02		6.10 $\pm$ 0.13
	D-	5.93 $\pm$ 0.04		6.16 $\pm$ 0.12
	CL	5.98 $\pm$ 0.02	Pas assez de	6.21 $\pm$ 0.14
	D+ vs D-	NS	données	NS
	D+ vs CL	NS		NS
	D- vs CL	NS		NS
53	D+	6.99 $\pm$ 0.06	5.96 $\pm$ 0.06	7.10 $\pm$ 0.06
	D-	6.93 $\pm$ 0.07	5.93 $\pm$ 0.05	7.16 $\pm$ 0.05
	CL	6.98 $\pm$ 0.07	5.96 $\pm$ 0.06	7.21 $\pm$ 0.07
	D+ vs D-	NS	NS	NS
	D+ vs CL	NS	NS	NS
	D- vs CL	NS	NS	NS

<sup>1</sup>NS,  $P > 0.05$

Troisième partie :

Discussion



L'objectif du présent travail était de mettre en évidence les possibilités de sélection génétique dans le but de maîtriser les rejets chez les poulets de chair, de caractériser les principaux déterminants physiologiques et d'estimer l'impact que pourrait avoir une telle sélection sur les caractéristiques d'intérêt de la filière avicole.

L'élevage, qui jusqu'à présent n'avait été abordé presque exclusivement que sous l'angle de la productivité des animaux, doit aujourd'hui intégrer de nouveaux enjeux en matière de durabilité. Ce travail s'inscrit donc dans une problématique plus globale de développement de systèmes d'élevage avicoles durables au regard des trois piliers de la durabilité : « environnement », « économie » et « société ». Une telle sélection offre en effet des possibilités de maîtrise des impacts sur l'environnement en privilégiant notamment les équilibres de fertilisation pour éviter les dérives en termes de pollution. La contribution de la génétique via le développement de lignées à hautes performances environnementales apparaît donc majeure pour la pérennité de la filière avicole. Sur le volet économique, l'alimentation demeure le premier poste de dépense en élevage, le développement de lignées plus efficaces permettrait de réduire substantiellement les coûts. Les évolutions actuelles impliquent de réfléchir à la possibilité de valoriser des matières premières moins optimales que celles utilisées à l'heure actuelle. C'est par exemple le cas des coproduits pour limiter la compétition avec l'alimentation humaine pour les ressources nobles ou des ressources locales pour diminuer le transport. Dans ce contexte, la sélection de lignées de poulets plus adaptables à des régimes variables et moins optimaux devient un point clé d'un système d'élevage durable.

Afin d'atteindre ces objectifs, nous avons utilisé des animaux issus de la 8<sup>ème</sup> génération (pour les études sur les paramètres génétiques ainsi que pour l'étude d'histologie) et de la 9<sup>ème</sup> génération (8 générations de sélection et une génération de maintien pour l'étude de cinétique) de sélection sur la capacité à digérer le blé, basée sur le critère de l'EMAn (Mignon-Grasteau *et al.* 2004). Les différences d'EMAn étaient de 33.5 % à 23 jours et de 25.0 % à 21 jours pour les générations 8 et 9, respectivement.

**Tableau 19 - Réponse attendue à la sélection directe ou indirecte sur les caractères de rejets par génération de sélection. Les réponses sont exprimées en unité de caractère et en pourcentage de la moyenne.**

	Caractère de réponse								
	Poids fientes fraîches / Poids vif	Poids fientes sèches / Poids vif	Poids fientes fraîches / CA	CUDMS	NE / NI	PE / PI	NE / PE	Taux d'humidité	
Caractère sélectionné	Poids fientes fraîches / Poids vif	<b>0.028<sup>1</sup></b> ( <b>8.42 %</b> )	0.006 (5.42 %)	0.019 (7.43 %)	0.013 (4.50 %)	0.021 (4.07 %)	0.009 (1.52 %)	0.130 (2.23 %)	-0.343 (-0.53 %)
	Poids fientes sèches / Poids vif	0.043 (12.6 %)	<b>0.009</b> ( <b>8.08 %</b> )	0.019 (7.44 %)	0.016 (5.42 %)	0.029 (5.62 %)	0.011 (1.89 %)	0.171 (2.93 %)	-0.861 (-1.33 %)
	Poids fientes fraîches / CA <sup>1</sup>	0.030 (8.79 %)	0.004 (3.80 %)	<b>0.034</b> ( <b>7.44 %</b> )	0.012 (4.21 %)	0.023 (4.57 %)	0.024 (4.22 %)	-0.012 (-0.20 %)	1.158 (1.79 %)
	CUDMS	-0.049 (-14.4 %)	-0.010 (-9.20 %)	-0.029 (-11.4 %)	<b>-0.025</b> ( <b>-8.73 %</b> )	-0.046 (-9.06 %)	-0.025 (-4.38 %)	-0.272 (-4.65 %)	1.111 (1.72 %)
	NE / NI	0.042 (12.4 %)	0.008 (7.40 %)	0.030 (11.8 %)	0.025 (8.59 %)	<b>0.045</b> ( <b>8.91 %</b> )	0.027 (4.68 %)	0.179 (3.05 %)	-0.953 (-1.47 %)
	PE / PI	0.019 (5.66 %)	0.003 (3.05 %)	0.034 (13.3 %)	0.015 (5.09 %)	0.029 (5.74 %)	<b>0.031</b> ( <b>5.51 %</b> )	-0.029 (-0.50 %)	0.805 (1.25 %)
	NE / PE	0.031 (9.05 %)	0.006 (5.14 %)	-0.002 (-0.69 %)	0.017 (5.89 %)	0.021 (4.07 %)	-0.003 (-0.55 %)	<b>0.243</b> ( <b>4.14 %</b> )	-1.656 (-2.56 %)
	Taux d'humidité	-0.008 (-2.23 %)	-0.003 (-2.41 %)	0.016 (6.35 %)	-0.006 (-2.24 %)	-0.010 (-2.03 %)	0.008 (1.40 %)	-0.155 (-2.64 %)	<b>1.876</b> ( <b>2.90 %</b> )

<sup>1</sup>CA, consommation alimentaire ; CUDMS, coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche ; NE / NI, azote excrété rapporté à l'azote consommé ; PE / PI, phosphore excrété rapporté au phosphore consommé ; NE / PE, azote excrété rapporté au phosphore excrété.

En gras, la réponse attendue à la sélection directe



# 1. Sélection génétique et maîtrise des rejets

L'objectif premier de l'expérience de sélection des lignées D+ et D- était d'améliorer la capacité des animaux à digérer un aliment difficile. Néanmoins, lors du projet ANR COSADD (Critères et Objectifs de Sélection Animal pour un Développement Durable), il avait été montré que du fait de la sélection, ces lignées excrétaient de façon différente, tant sur le plan quantitatif que qualitatif. En effet, les D+ montrent un coefficient d'utilisation digestive (CUD) des protéines de 8.9 % supérieur aux D-, et les premiers excrètent 35.2 et 30.4 % moins de fientes sèches et de phosphore que les seconds (Lafeuille 2007). Cela en faisait un matériel pertinent pour l'étude des relations entre rejets et génétique.

L'originalité de ce travail, par rapport aux études précédentes, était d'aller au-delà des études phénotypiques et d'estimer les paramètres génétiques des caractères de rejets. A l'opposé des précédentes études reposant sur l'efficacité alimentaire (IC ou RFI), l'impact environnemental n'était donc pas ici un « sous-produit » de l'efficacité alimentaire mais l'objectif central.

Les caractères de rejets étudiés allaient au-delà d'un aspect purement quantitatif. Ainsi, les quantités d'azote et de phosphore dans les fientes ont été mesurées ainsi que le rapport entre azote et phosphore, essentiel pour évaluer les conséquences pratiques de la sélection pour respecter la réglementation sur l'épandage. De même, le taux d'humidité des fientes joue un rôle sur la qualité des litières et sur le bien-être animal (dégagement d'ammoniac, pododermatites, Reece *et al.* 1980; Comité scientifique sur la santé et le bien-être animal 2000).

L'étude de paramètres génétiques des caractéristiques des rejets a permis de montrer que certaines de ces caractéristiques présentaient une héritabilité suffisante pour être introduites dans un schéma de sélection ( $h^2$  comprises entre 0.18 et 0.30).

Pour estimer les conséquences pratiques qu'aurait la sélection sur ces caractères des rejets, nous avons calculé l'impact qu'aurait cette sélection sur les caractéristiques d'excrétion (Tableau 19) en utilisant l'équation suivante :

$$CR_{(Y.X)} = i_X \times \sqrt{(h^2_X \times h^2_Y)} \times r_{gXY} \times \sigma_{pY}$$

où  $CR_{(Y,X)}$  correspond à la réponse attendue sur le caractère Y si l'on sélectionne sur X ;  $i_X$  l'intensité de sélection sur X ;  $h^2_X$  et  $h^2_Y$  les estimations des héritabilités pour X et Y, respectivement ;  $r_{g_{XY}}$  la corrélation génétique estimée entre X et Y ; et  $\sigma_{p_Y}$  l'écart type phénotypique du caractère Y. Nous avons considéré une valeur d'intensité de sélection de 1.95, correspondant à la moyenne des intensités de sélection des mâles et des femelles chez les volailles (Minvielle 1990). Nous avons utilisé les moyennes et écart-types de la lignée commerciale comme référence pour  $\sigma_{p_Y}$ .

La sélection directe des caractéristiques des rejets induirait une forte modification des caractères, avec des améliorations allant de 2.9 à 8.9 % par génération. Cependant, sélectionner les animaux sur le CUD de la matière sèche (CUDMS) aurait un impact plus fort que la sélection directe sur la plupart des autres caractéristiques des rejets. En effet, excepté PE / PI et le taux d'humidité des fientes, où la réponse à la sélection indirecte sur le CUDMS est inférieure de 20.6 et de 40.8 % à celle attendue d'une sélection directe, la réponse attendue à la sélection indirecte sur le CUDMS est 1.71 à 71.6 % plus élevée que la sélection directe sur les caractéristiques des rejets. Par conséquent, parmi ces caractères de rejets, le CUDMS est le plus pertinent à utiliser comme critère de sélection, puisque cette mesure a un bon niveau d'héritabilité ( $h^2 = 0.30$ ) et est fortement corrélée avec les mesures d'excrétion.

**Tableau 20 - Réponse attendue à la sélection indirecte sur l'EMAn ou l'efficacité alimentaire (IC et RFI) sur les caractères de rejets. Les réponses sont exprimées en unité de caractère et en pourcentage de la moyenne.**

	Poids fientes fraîches / Poids vif	Poids fientes sèches / Poids vif	Poids fientes fraîches / CA	CUDMS	NE / NI	PE / PI	NE / PE	Taux d'humidité
EMAn <sup>1</sup>	-0.051 (-14.9 %)	-0.010 (-9.11 %)	-0.03 (-11.8%)	-0.025 (-8.65 %)	-0.046 (-8.97 %)	-0.023 (-4.12 %)	-0.263 (-4.49 %)	1.311 (2.03 %)
IC	0.044 (12.7 %)	0.008 (7.62 %)	0.029 (11.4 %)	0.021 (7.16 %)	0.037 (7.20 %)	0.020 (3.56 %)	0.231 (3.94 %)	-0.644 (-1.00 %)
RFI	0.059 (17.3 %)	0.012 (10.8 %)	0.021 (8.40 %)	0.020 (6.92 %)	0.021 (4.15 %)	0.004 (0.64 %)	0.116 (1.99 %)	1.341 (2.08 %)

<sup>1</sup>EMAn, énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul ; IC, indice de consommation ; RFI, consommation alimentaire résiduelle.

De la même manière, on peut également comparer les gains à attendre d'une sélection sur les critères d'efficacité alimentaire ou digestive (Tableau 20).

Il apparaît que la sélection indirecte sur l'EMAn donne des réponses similaires en termes de maîtrise des rejets à la sélection indirecte sur le CUDMS, comme on pouvait s'y attendre compte tenu de la forte corrélation génétique entre les deux caractères. Pour le poids de fientes fraîches ou sèches rapporté au poids vif et pour le taux d'humidité des fientes, une sélection sur l'EMAn apporterait une réponse légèrement inférieure à une sélection sur RFI. Ainsi, sélectionner sur les fortes valeurs d'EMAn ou de CUDMS permettrait de réduire de façon relativement rapide les quantités de rejets excrétées, mais aussi de maîtriser la composition de ces rejets, puisque les taux d'excrétion d'azote et de phosphore seraient aussi réduits par une telle sélection. De plus, une telle sélection aurait un impact positif sur les flux d'azote et de phosphore, puisque NE et PE, très héritables ( $h^2 = 0.40$  et  $0.33$ , respectivement), sont fortement corrélés avec l'EMAn et le CUDMS ( $r_g$  compris entre  $-0.77$  et  $-0.92$ ).

L'inclusion de toutes les données de l'expérience de sélection, en particulier pour les critères utilisés comme critères de sélection garantit en théorie l'absence de biais dans l'estimation des paramètres génétiques, qui sont estimés pour la population de base. Cependant, Mignon-Grasteau *et al.* (2010c) ont montré qu'il existait des différences de corrélations phénotypiques entre lignées. En effet, les corrélations phénotypiques sont importantes et homogènes entre EMAn et le CUD des protéines chez les D+ ( $\rho$  compris entre  $0.80$  et  $0.89$ ) et plus faibles et hétérogènes chez les D- ( $\rho$  compris entre  $0.63$  et  $0.97$ ). De plus, ces auteurs ont mis en évidence que chez les D+, l'excrétion de phosphore était corrélée avec l'EMAn lorsque les animaux étaient nourris *ad libitum* ( $\rho$  compris entre  $-0.47$  et  $-0.68$ ) mais pas lorsque la nourriture était donnée par repas ( $\rho$  compris entre  $-0.06$  et  $-0.33$ ,  $P > 0.05$ ), alors que chez les D-, les corrélations phénotypiques sont fortes que l'aliment à base de blé soit donné *ad libitum* ou par repas ( $\rho$  compris entre  $-0.43$  et  $-0.71$ ). Il est donc probable que la sélection n'ait pas affecté les mêmes mécanismes physiologiques ou voies de régulation métaboliques dans les deux lignées. L'estimation des paramètres génétiques par lignée pour ces caractères aurait pu permettre d'affiner la compréhension d'un tel différentiel. Cependant, l'effectif de notre étude était insuffisant pour obtenir de telles estimations. A titre indicatif, ces estimations ont néanmoins été calculées pour quelques caractéristiques de rejets (Tableau 21), et d'importantes différences entre lignées ont été observées pour certains paramètres : l'héritabilité du taux de phosphore excrété par exemple est plus de 4 fois plus forte chez les D+ que chez les D- ( $0.69$  et  $0.16$ , respectivement), alors que l'héritabilité de l'EMAn ne varie

**Tableau 21 - Estimation des paramètres génétiques chez les D+ (en bleu) et les D- (en rouge). Les héritabilités ont sur la diagonale et les corrélations génétiques au dessus de la diagonale.**

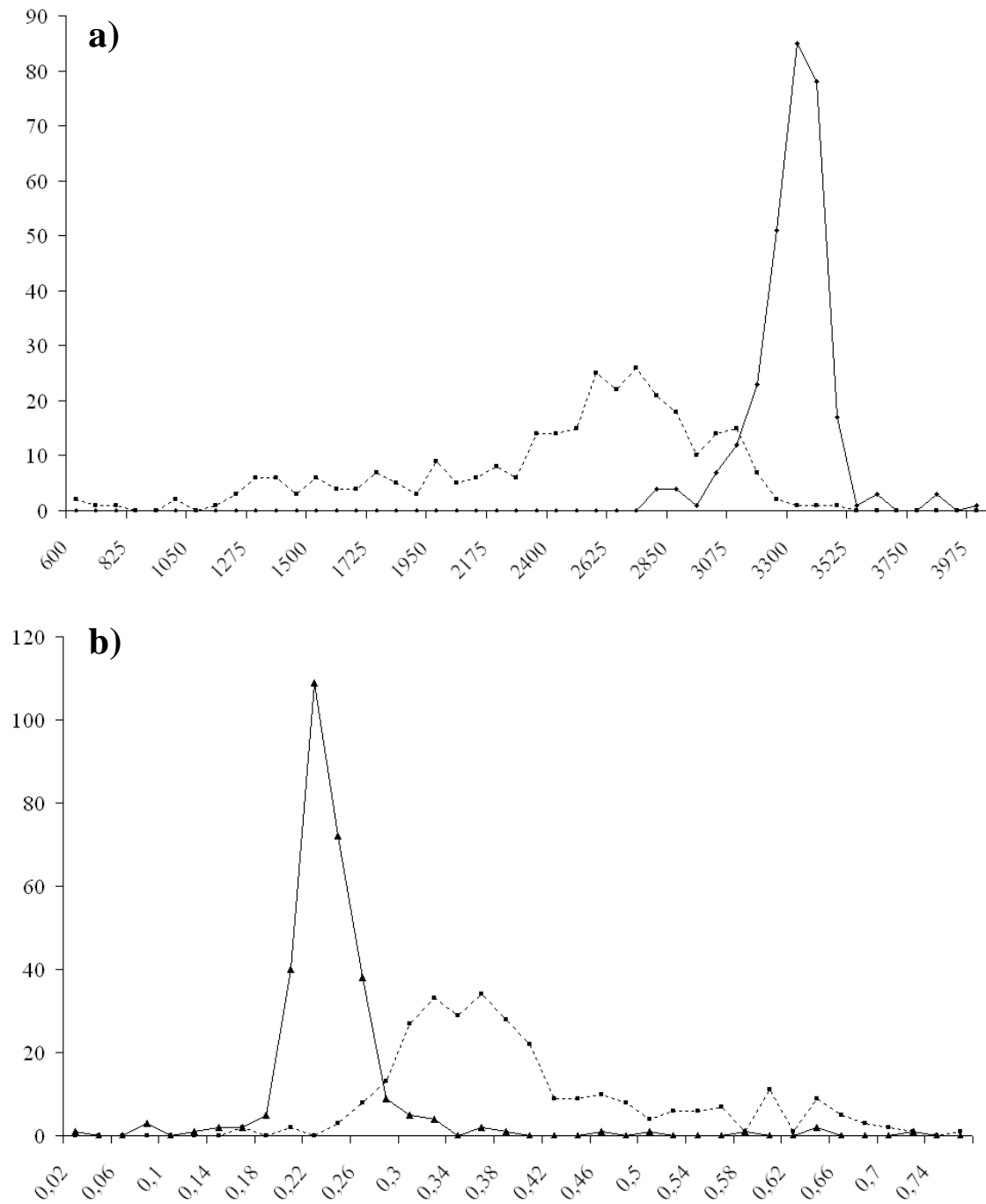
	EMAn	Poids fientes fraîches / CA	CUDMS	NE / NI	PE / PI	NE / PE
EMAn <sup>1</sup>	<b>0.418 ± 0.044</b>	-0.785 ± 0.218	0.994 ± 0.002	-0.917 ± 0.036	-0.908 ± 0.065	0.693 ± 0.388
	<b>0.397 ± 0.032</b>	-0.939 ± 0.041	0.995 ± 0.001	-0.902 ± 0.038	-0.695 ± 0.120	-0.995 ± 0.014
Poids fientes fraîches / CA		<b>0.480 ± 0.196</b>	-0.932 ± ne	0.643 ± 0.297	0.811 ± 0.166	-0.959 ± 0.060
		<b>0.177 ± 0.039</b>	-0.929 ± ne	0.899 ± 0.069	0.826 ± 0.136	0.968 ± 0.035
CUDMS			<b>0.382 ± 0.038</b>	-0.889 ± 0.053	-0.757 ± 0.168	0.795 ± 0.401
			<b>0.390 ± 0.032</b>	-0.904 ± 0.038	-0.585 ± 0.157	-0.961 ± ne
NE / NI				<b>0.433 ± 0.115</b>	0.925 ± 0.048	-0.035 ± 0.614
				<b>0.313 ± 0.061</b>	0.964 ± 0.055	0.904 ± ne
PE / PI					<b>0.692 ± 0.142</b>	-0.765 ± 0.318
					<b>0.157 ± 0.051</b>	0.709 ± ne
NE / PE						<b>0.315 ± 0.119</b>
						<b>0.142 ± 0.034</b>

<sup>1</sup>EMAn, énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul ; CA, consommation alimentaire ; CUDMS, coefficient d'utilisation digestive de la matière sèche ; NE / NI et PE / PI, taux d'excrétion d'azote et de phosphore ; NE / PE, ratio entre l'azote et le phosphore excrétés.

pas entre les deux lignées de façon significative.

La sélection des lignées D+ et D- a été réalisée à 3 semaines d'âge, âge auquel le développement du tractus gastro-intestinal est particulièrement intense. C'est pour cette raison que les études des paramètres génétiques ont également été réalisées à 3 semaines. Cependant, cette souche de poulet atteint le poids commercial de 2 kg autour de 7 semaines. Pour conclure quant à l'utilisation pratique de l'EMAn comme critère potentiel de réduction des rejets et d'amélioration de l'efficacité digestive, il était donc nécessaire de comparer ces lignées jusqu'à l'âge d'abattage. Lors de l'étude cinétique, il a pu être démontré que malgré une sélection sur des animaux de 3 semaines d'âge, les lignées D+ et D- sont fortement différenciées en termes de quantité et de composition des rejets jusqu'à l'âge d'abattage commercial. En effet, sur la période globale d'élevage (jusqu'à 53 jours d'âge), comparé aux D-, les D+ excrètent 56.2 et 61.2 % moins de fientes fraîches et sèches. Au-delà des différences de moyennes, des différences de variabilité sont également présentes entre les D+ et les D-, les premiers étant plus homogènes que les seconds, ce qui est un critère de qualité pour l'élevage avicole. La Figure 22 illustre les distributions de l'EMAn et du poids de fientes sèches rapporté à la consommation alimentaire pour les deux lignées.

Comme cela est habituel dans les expériences de sélection divergente, la réponse des deux lignées est asymétrique, et la dégradation des caractères chez les D- est plus importante que l'amélioration chez les D+. Cependant, pour conclure quant à l'utilité pratique de la sélection, il était également important d'évaluer si les D+ présentaient de meilleures valeurs que les souches commerciales. En comparant les D+ avec des poulets de chair à croissance rapide de type standard, Carré *et al.* (2007) ont montré une amélioration de 8.5 et de 4.3 % des digestibilités de l'amidon et des lipides chez les premiers. Dans notre étude, les D+ excrètent 39.1 à 41.6 % moins de fientes sèches que les poulets de la lignée commerciale utilisée pour la sélection (CL, souche à croissance semi-lente de type certifié) de 7 à 28 jours, c'est-à-dire autour de l'âge auquel la sélection a été réalisée. Cet écart est plus faible au fur et à mesure que l'âge augmente, mais reste significatif jusqu'à l'abattage, les D+ excrétant 17.2 % moins de fientes sèches que les CL entre 49 et 53 jours. Cet écart d'excrétion est en partie dû à une consommation plus élevée chez les CL. Cependant, même en corrigeant pour les différences de consommation alimentaire entre lignées, les D+ excrètent toujours significativement de 10.2 à 32.7 % moins de fientes sèches que les CL (sauf entre 42 et 49 jours où les différences



**Figure 22 - Distribution de l'EMAN (a) et du poids de fientes sèches rapporté à la consommation alimentaire (b) chez les D+ (en trait plein) et les D- (en hachuré).**

ne sont pas significatives). La quantité fraîche de fientes suit la même tendance, mais de façon moins marquée (de 13.6 à 23.8 % de 7 à 28 jours à 6.2 % entre 49 et 53 jours) et non significative, sauf entre 7 et 21 jours ( $P = 0.052$  et  $0.057$ ). Cet écart entre l'excrétion en poids frais et en poids sec est en partie à relier à une teneur en eau des fientes plus élevée de 6.0 à 12.7 % chez les D+ que chez les CL, la différence étant significative entre 14 et 49 jours. Si l'on considère que la litière est composée de fientes et de 8 kg de paille.m<sup>-2</sup> et que la densité de poulets de type certifié (proche de nos génotypes) est de 17 animaux.m<sup>-2</sup>, on obtiendrait une litière 5 à 6 % plus humide chez les D+ et D-, respectivement, que chez les CL. En se référant aux études de liens entre humidité de la litière et dégagement d'ammoniac, cela induirait des dégagements d'NH<sub>3</sub> de 13 à 17 % plus importants chez les D+ et D-, respectivement, que chez les CL (Miles *et al.* 2011). Ce défaut pourrait néanmoins être corrigé par un apport plus important de substrat de litière (Reece *et al.* 1980; Miles *et al.* 2011).

Les rétentions d'azote et de phosphore des D+ sont respectivement de 13.6 à 22.4 % et de 10.6 à 22.6 % plus élevées que celles des CL. En se fiant à la quantité totale de fientes produites par chacune des trois lignées, et à la teneur moyenne en azote et en phosphore des fientes sur les trois périodes de bilans réalisés lors de l'expérience de cinétique, chaque animal excréterait 54, 111 et 64 g d'azote et 10, 19 et 11 g de phosphore pour les D+, D- et CL, respectivement. Pour un poulailler de 20 000 animaux dans lequel on élève 4.5 bandes d'animaux par an, cela représente une quantité totale à épandre de 2.41, 5.00 et 2.91 tonnes d'azote et de 2.01, 3.88 et 2.34 tonnes de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> pour les D+, D- et CL, respectivement. De ce fait, pour respecter les législations sur l'azote, précisant que l'on peut épandre jusqu'à 170 kg.ha<sup>-1</sup> d'azote sur les terres agricoles, il faudrait 14.2 ha pour les D+, 29.4 ha pour les D- et 17.1 ha pour les CL. Ces surfaces sont plus élevées si on se place dans le respect des limites sur le phosphore (qui sont autour de 80 kg.ha<sup>-1</sup> épandables) avec des surfaces de 25.2 ha pour les D+, 48.5 ha pour les D- et 29.3 ha pour les CL.

Le ratio NE / PE dans les fientes est plus élevé à 7 jours de 6.5 %, mais plus faible de 6.3 % à 21 jours et non significativement différent à 53 jours chez les D+ comparé aux CL. Cependant, compte tenu des corrélations génétiques entre EMAN et le ratio NE / PE, la sélection sur l'EMAN tend à réduire ce ratio. Ceci est problématique car les fientes de volailles sont déjà fortement concentrées en phosphore par rapport à la concentration en azote. Si on considère qu'habituellement environ 50 % de l'azote est perdu entre l'excrétion par l'animal et l'épandage par volatilisation, en 5 générations de sélection, on passerait d'un ratio

N / P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> moyen de 1.27 (trouvé chez les CL en moyenne des 3 périodes de bilans) à un ratio de 0.99 (en considérant une perte de 4.49 % par génération). Il faudrait alors limiter les pertes d'azote par volatilisation à 14 % au lieu de 33 % (ce qu'il faudrait réduire à l'heure actuelle) pour respecter l'équilibre de 1.7 dans les fumiers épandus.

Dans notre étude, l'utilisation d'un régime à base de blé Rialto a permis de mettre en évidence les différences de capacité à digérer l'aliment. En effet, cette variété de blé présente une très forte viscosité, ce qui induit, par rapport à l'utilisation d'autres variétés de blés, une faible digestibilité des lipides et des protéines chez les poulets, ainsi qu'une plus forte quantité de fientes sèches rapporté à la consommation alimentaire (Carré *et al.* 2002).

Les travaux précédents sur les relations entre génétique et rejets avaient été réalisés sur des animaux ayant reçu un aliment à base de maïs-soja, beaucoup plus facilement digestible que l'aliment utilisé au cours du présent travail, ce qui a pu masquer les variations entre les animaux. Même si ces études utilisaient aussi un génotype différent, l'héritabilité de la biodisponibilité de l'azote et du phosphore phytique y était faible, à 0.16 et 0.09, respectivement (Zhang *et al.* 2003; Ankra-Badu *et al.* 2010). De ce fait, après 3 générations de sélection sur la biodisponibilité du phosphore phytique, Zhang *et al.* (2005b) n'ont obtenu qu'une différence de 8 à 11 % selon le sexe entre les deux lignées divergentes. Mignon-Grasteau *et al.* (2010b) ont confirmé cet impact de l'aliment sur les estimations de paramètres génétiques de la capacité à digérer chez les D+ et D- nourris avec soit un aliment à base de maïs, soit un aliment à base de blé. Hormis pour la digestibilité de l'amidon qui présente les mêmes niveaux d'héritabilités avec les deux aliments ( $h^2 = 0.25$ ), l'héritabilité de l'EMAN, de la digestibilité des lipides et des protéines est plus faible avec le régime maïs ( $h^2 = 0.15, 0.04$  et  $0.09$ , respectivement) qu'avec le régime blé ( $h^2 = 0.32, 0.25$  et  $0.29$ , respectivement). Cependant, les corrélations génétiques des digestibilités avec aliment maïs et blé sont fortes et positives ( $r_g = 0.73, 0.63, 0.84$  et  $0.88$  pour l'EMAN, le CUD de l'amidon, des lipides et des protéines, respectivement). Cela implique que sélectionner pour améliorer l'efficacité digestive sur blé améliorerait aussi les performances sur maïs. A l'heure actuelle, l'augmentation de la population humaine accroît les besoins en céréales. La compétition homme / animal pour l'accès aux ressources alimentaires devient donc problématique, en particulier pour les volailles qui consomment beaucoup de céréales et plus encore pour les génotypes à croissance rapide qui demandent des matières premières de haute qualité. Le rapport Livestock Long Shadow (2006) souligne que 80 % de la surface cultivée est utilisée



pour fournir de l'aliment aux animaux d'élevages, et seulement 20 % pour l'homme. Dans ce contexte, améliorer par la voie génétique les capacités des animaux à digérer des matières premières moins en concurrence avec l'alimentation humaine pourrait contribuer à limiter la pression de l'élevage sur les terres et les matières premières.

Une telle sélection sur l'EMAn ou le CUDMS n'aurait que très peu d'impact sur les performances de croissance des animaux (faible corrélation positive avec le poids vif à 23 jours et le gain de poids entre 17 et 23 jours). Enfin, aux vues des fortes corrélations génétiques, sélectionner les poulets sur les fortes valeurs d'EMAn ou de CUDMS serait aussi à relier avec une amélioration de l'efficacité alimentaire ( $r_g$  comprises entre -0.64 et -0.98 entre EMAn, CUDMS et IC et RFI).

Sur l'ensemble de la période de production, les D+ auront donc produit 26.3 % de fientes sèches en moins que les CL, en consommant 489 g d'aliment en moins, pour un poids vif équivalent. Ceci induirait un très fort gain économique sur les coûts de l'alimentation des poulets. En effet, sur un élevage de 20 000 poulets, il y aurait une économie de 5.32 et de 4.45 tonnes d'aliment pendant les périodes de démarrage et de croissance, respectivement. Avec un coût de l'aliment estimé à 285.34 € la tonne (ITAVI2011), cela induirait une économie de 2 789 € par lot de poulets, soit 12 550 € par an. Néanmoins, puisque l'aliment de démarrage, plus riche en nutriments, est plus cher à l'achat que l'aliment croissance, cette estimation est vraisemblablement inférieure à la réalité, puisque nous avons considéré un prix de l'aliment global, alors que c'est pendant la période de démarrage que les différences de consommation alimentaire sont les plus élevées entre D+ et CL.

La consommation de produits avicoles est de plus en plus orientée vers des produits découpés ou transformés, d'où l'importance d'évaluer un critère de sélection potentiel pour les rendements en muscle et en gras, ainsi que pour les critères de qualité de viande (pH, couleur). A 53 jours d'âge, le rendement en filet n'est pas significativement différent entre les D+ et les CL, en accord avec la corrélation génétique très faible et non significative entre ce rendement et l'EMAn, bien que la différence entre D+ et D- soit presque significative ( $P = 0.06$ ). Le rendement en gras abdominal est 17.0 et 19.1 % plus élevé chez les D- que chez les D+ et les CL, respectivement, à 53 jours. Sélectionner pour améliorer l'EMAn ou le CUDMS ne modifierait donc pas de façon négative le rendement en filet. Ainsi, alors que la sélection sur l'EMAn a fortement modifié la rétention en azote (constituant majeur des protéines), les

caractéristiques relevant de l'utilisation métabolique ne sont pas significativement modifiées. En revanche, la dégradation de l'EMAn tendrait à augmenter le rendement en gras abdominal par rapport aux bons digesteurs. Ces différences de rendements entre lignées pourraient être dues à des différences au niveau du système endocrinien. En effet, plusieurs études ont montré qu'une augmentation des sécrétions d'insuline par le pancréas en réponse à une augmentation de la consommation alimentaire entraînerait une réduction des dépôts protéiques et à l'inverse, une augmentation des dépôts lipidiques (Tomas *et al.* 1998; Buyse *et al.* 1999).

Au niveau qualitatif, il apparaît que la sélection sur l'EMAn n'a pas de fort impact sur la couleur de la viande à 53 jours, les valeurs de L\*, a\* et b\* n'étant pas significativement différentes entre les trois lignées (L\* allant de 47.7 à 50.5, a\* allant de -1.22 à -0.93 et b\* étant compris entre 9.79 et 10.8). De plus, bien que les D+ et les D- montrent un pH ultime (pH mesuré 24 h post-mortem) significativement plus faible que les CL, les différences ne semblent pas assez élevées pour induire une modification de la qualité de la viande (-1.1 et -1.6 % chez les D+ et les D-, respectivement, par rapport aux CL).

Enfin, la qualité de la minéralisation osseuse, en lien avec l'utilisation de phosphore, est également un critère à considérer, notamment pour ses répercussions à la fois économiques et en matière de bien-être. En effet, la fragilisation du tissu osseux peut entraîner des problèmes de boiteries et de fractures en élevage (locomotion réduite) pouvant impacter directement sur la productivité et être une cause de déclassement des carcasses en abattoir (Knowles & Wilkins 1998). L'étude des paramètres génétiques a indiqué que la qualité de l'os variait entre les deux lignées avec des os plus lourds, mais moins longs et moins larges chez les D+ que chez les D-, cette morphologie leur conférant une résistance à la rupture plus élevée avec une probable réduction des risques de fracture (Bishop *et al.* 2000; Narcy *et al.* 2009). Cette croissance différentielle du tissu osseux pourrait être le reflet de la mise en jeu de différentes voies métaboliques pouvant impliquer la vitamine D (Edwards Jr. 2002; Onyango *et al.* 2003), la somatotropine (GH, Thorp & Goddard 1994) ou la somatomédine (IGF-I, Oviedo-Rondon *et al.* 2006). Cependant, ces résultats ne se sont pas confirmés lors de l'étude cinétique, puisqu'à 21 jours, les D+ et les D- ne montrent aucune différence significative au niveau des caractéristiques osseuses. De plus, en considérant la période globale d'élevage, on constate qu'au poids d'abattage commercial, ces deux lignées sont équivalentes entre elles en termes de résistance de l'os, mais également équivalentes à la lignée commerciale CL. Ces

résultats sont cohérents avec les fortes corrélations génétiques entre le poids vif des animaux et les caractéristiques osseuses ( $r_g$  comprises entre 0.69 et 1.00, en valeur absolue). En effet, à 23 jours d'âge où les D+ sont significativement plus lourds que les D-, il est possible d'observer des différences de qualité d'os, alors qu'à 53 jours, où les D+ et D- ne montrent pas de différence significative de poids vif par rapport aux CL, la résistance de l'os est équivalente entre ces trois lignées. Par conséquent, il semblerait que les variations de poids vif puissent être suffisantes pour expliquer les différences observées en termes de caractéristiques osseuses entre les lignées. Ces résultats sont concordants avec les faibles corrélations génétiques estimées entre EMAn, CDUMS et les caractéristiques osseuses. Il faut toutefois noter que plusieurs caractéristiques osseuses sont négativement corrélées avec le taux d'excrétion de phosphore. A 53 jours d'âge, le poids d'os sec relatif est 9.5 et 17.9 % plus important chez les D+ que chez les D- et CL, respectivement. Cette relation entre rétention de phosphore et caractéristiques osseuses est en accord avec la littérature, puisqu'environ 75 % du phosphore de l'organisme est stocké au niveau osseux (Narcy *et al.* 2009). Compte tenu des différents résultats obtenus dans ce travail, il est possible de conclure que sélectionner des animaux dans le but de maîtriser les rejets ne modifierait pas de façon négative les caractéristiques osseuses.

## 2. Comment expliquer ces différences de rejets ?

Comme nous l'avons montré dans la synthèse bibliographique et les résultats expérimentaux, l'utilisation digestive des nutriments chez le poulet est multifactorielle et résulte d'un ensemble de phénomènes complexes à l'interface entre environnement digestif, paroi du tractus et activité des glandes annexes. La disponibilité en nutriments potentiellement absorbables dans les digesta est notamment dépendante de la nature de l'aliment, des conditions physico-chimiques (ex : pH), des temps de transit dans les différents compartiments digestifs ainsi que des activités enzymatiques endogènes. Ces différents facteurs, pour certains liés à l'aliment et d'autres à l'animal, représentent donc des leviers potentiels pour contrôler la mise à disposition des nutriments pour les processus d'absorption. Par ailleurs, la qualité de la surface d'échange au niveau des sites majeurs d'absorption va conditionner la digestibilité des nutriments.

Dans ce contexte, de par leurs caractéristiques morphologiques et fonctionnelles divergentes au niveau du tractus digestif, les deux lignées D+ et D- présentent probablement des conditions digestives relativement contrastées responsables d'un différentiel de disponibilité des nutriments.

Sélectionner les animaux sur l'EMAn ou les caractéristiques d'excrétion induirait des modifications importantes en termes de morphologie du TGI (avec des évolutions allant de 3.0 à 7.5 % par génération si les animaux étaient sélectionnés sur l'EMAn ou le CUDMS).

Les résultats du présent travail ont confirmé les différences morphologiques entre les deux lignées avec un développement plus important chez les D+ de la partie supérieure du TGI à 23 jours, âge de la sélection (Garcia *et al.* 2007; Rougière *et al.* 2009; Rougière & Carré 2010). Ce développement plus important du proventricule et du gésier chez les D+ est en accord avec les corrélations génétiques positives retrouvées entre ces deux compartiments et l'EMAn (0.59 et 0.43, respectivement).

Ainsi, chez les D+, une augmentation de la taille des organes supérieurs du TGI pourrait induire une augmentation du volume des sécrétions (principalement d'acide chlorhydrique et de pepsine) par le proventricule et un broyage plus intense des aliments par le gésier. De plus, Rougière & Carré (2010) ont pu mettre en évidence que le temps de rétention du digesta dans ces compartiments était plus long et que les reflux du digesta du duodénum vers le gésier étaient

plus nombreux chez les D+ que chez les D-. Chez les D+, il est donc probable que l'accessibilité des nutriments aux enzymes digestives dans l'intestin soit augmentée, mettant à disposition davantage de substrats pour les processus d'absorption. Il a d'ailleurs été montré qu'un gésier très développé induisait une augmentation de la digestibilité des protéines et de l'amidon et qu'à l'inverse, un gésier peu développé induisait des faibles niveaux de digestibilité (Péron *et al.* 2006; Gonzalez-Alvarado *et al.* 2008).

Par ailleurs, ces modifications de l'environnement digestif pourraient avoir des répercussions sur le microbiote digestif pouvant expliquer au moins en partie le différentiel de digestibilité entre les deux lignées. D'après de récents travaux (Gabriel *et al.* 2011), la population de Lactobacilles (bactéries connues pour leur rôle dans la digestion des lipides via l'hydrolyse des sels biliaires) au niveau de la muqueuse iléale et caecale serait plus importante chez les D- que chez les D+. Les nutriments non absorbés par l'animal peuvent en effet servir de substrats pour les microorganismes de l'écosystème digestif. La présence de certains microorganismes tels que les bactéries protéolytiques (*Clostridium*, *Lactobacillus*..., Fonty & Chaucheyras-Durand 2007) pourrait jouer un rôle dans les processus de digestion des protéines (Kadim *et al.* 2002; Gabriel *et al.* 2005; Fonty & Chaucheyras-Durand 2007; Amerah *et al.* 2011a), ce qui pourrait modifier les caractéristiques de composition des rejets.

Chez les D-, de plus grandes quantités de nutriments non digérés dans l'intestin par rapport aux D+ pourraient entraîner une plus forte prolifération microbienne (Gabriel *et al.* 2006). Ceci est en accord avec le fait que l'addition d'antibiotiques dans l'aliment, réduisant la quantité de microorganismes dans l'intestin, améliore significativement plus la digestibilité des lipides chez les D- que chez les D+ (de 10 et 5 %, respectivement, Garcia *et al.* 2007). De plus, les quantités de composants antimicrobiens tels que les enzymes digestives et les acides biliaires pourraient aussi avoir un rôle dans ces différences de microbiote, puisqu'elles contribuent à la réduction du nombre de certains groupes bactériens.

L'ensemble des phénomènes avérés chez les D+ pourrait être particulièrement intéressant à valoriser dans le contexte actuel du marché des matières premières. En effet, le développement de la filière « agrocarburants » entraîne la mise à disposition de co-produits (drêches, tourteaux) à valoriser en alimentation animale. Cependant, leur richesse en polysaccharides non amylacés (PNA) freine en partie leur usage à grande échelle. De tels composés exerceraient un effet d'encapsulation de l'amidon et des protéines de l'endosperme et seraient responsables d'une viscosité élevée du digesta limitant par ce biais la digestibilité des nutriments. Une

augmentation de la viscosité du digesta est en effet susceptible de gêner la diffusion et l'activité des enzymes digestives (Bedford *et al.* 1998; Hew *et al.* 1998; Ravindran *et al.* 1999). Les caractéristiques digestives des D+ pourraient donc permettre en partie de contrecarrer l'effet délétère de composés tels que les PNA présents notamment dans le blé, base du régime de sélection. Le développement d'une lignée capable de digérer et d'assimiler de façon performante de telles matières premières contribuerait à une meilleure valorisation de celles-ci dans les formules sans impacter négativement les performances de croissance. Cette démarche contribuerait de surcroît à limiter la compétition homme/animal pour les ressources.

Par ailleurs, face aux contraintes environnementales et économiques liées au phosphore, le développement de nouvelles stratégies d'optimisation de l'utilisation de cet élément apparaît crucial pour assurer la durabilité de la production. Ainsi, d'après les résultats présentés dans l'article II, il apparaît que contrairement au ratio NE / NI, le ratio PE / PI est positivement corrélé avec le poids relatif du proventricule, indiquant une contribution majeure de ce compartiment sur l'utilisation du phosphore. La baisse de pH au niveau de ce compartiment apparaît particulièrement favorable à l'utilisation des différentes formes de phosphore. Elle faciliterait la solubilisation des phosphates (formes absorbables du phosphore) en réduisant la formation de complexes insolubles entre le phosphore et le calcium et améliorerait donc leur absorption au niveau du duodénum proximal (zone d'absorption intense, Letourneau-Montminy *et al.* 2011). Par ailleurs, elle faciliterait la solubilisation de phosphore phytique de même que son hydrolyse par les résidus de phytase endogène présents dans le régime de sélection à base de blé (Rapp *et al.* 2001). Les résultats de ce travail de thèse confirment donc clairement le rôle clé de l'étape gastrique dans l'utilisation du phosphore et ouvrent de nouvelles pistes en termes de stratégies nutritionnelles et plus largement en d'élevage.

Il est également probable qu'en plus des modifications morphologiques observées chez les lignées, la sélection sur l'EMAn ait entraîné des modifications en termes de fonctionnalité affectant notamment les mécanismes de sécrétion de certaines hormones.

Divers médiateurs métaboliques pourraient être impliqués et agir de concert. En effet, plusieurs hormones ont un impact sur la consommation alimentaire, sur les sécrétions d'enzymes digestives ou encore sur les temps de rétention du digesta dans le proventricule et le gésier. La gastrine et la cholecystokinine stimulent les sécrétions gastriques améliorant les phénomènes de digestion au niveau du proventricule et du gésier (Furuse & Dockray 1995). De plus, ces deux hormones, principalement stimulées par l'apport alimentaire de protéines et d'acides aminés (Furuse 1999), sont connues pour avoir un effet satiétogène chez les oiseaux (Denbow & Myers

1982; Rodriguez-Sinovas *et al.* 1997), mais aussi une action sur les temps de rétention du digesta dans la partie supérieure du TGI, par l'inhibition de la motilité gastro-intestinale, ce qui réduit l'ouverture du pylore et donc la vidange gastrique (Savory *et al.* 1981).

Rappelons que les travaux présentés dans cette thèse ont montré une corrélation négative significative entre les poids du proventricule et du gésier et les poids, densités et longueurs des différents segments intestinaux. Les corrélations génétiques négatives entre l'EMAn et les poids relatifs des segments intestinaux (compris entre -0.30 et -0.52, avec un gradient proximo-distal du duodénum à l'iléon) sont concordantes avec les différences phénotypiques entre lignées. Il existerait donc un phénomène de compensation exerçant un rôle trophique sur l'intestin. Ce processus adaptatif est illustré par une augmentation de la surface d'échange chez les D- avec notamment un intestin plus long, une augmentation de la surface des villosités, des cryptes et de l'épaisseur de la musculature. De plus, les résultats de l'article V ont permis de préciser l'évolution dans le temps des différents segments du TGI entre 0 et 53 jours. Il a été montré que les différences entre D+ et D- étaient plus précoces au niveau du proventricule et du gésier (différences significatives à 7 et 21 jours) qu'au niveau intestinal (différences significatives à 21 et 53 jours). Les mécanismes physiologiques responsables de ce phénomène adaptatif impliqueraient donc des régulations de long terme probablement d'origine endocrinienne. La neurotensine, hormone stimulée essentiellement par l'apport alimentaire de lipides et sécrétée principalement au niveau pylorique et dans une moindre mesure au niveau intestinal (Atoji *et al.* 1994) pourrait exercer un rôle trophique sur l'épithélium intestinal de rats colectomisés (Mata *et al.* 1994; Lopez *et al.* 1996) et diminuer la motilité du gésier et les niveaux des sécrétions proventriculaires (comme la pepsine, DeGolier *et al.* 1997).

Notons par ailleurs que le ratio NE / NI est positivement et significativement corrélé avec le poids et la densité de l'intestin grêle, alors que ce ratio l'est nettement moins avec la partie supérieure du TGI. Ceci suggère une forte contribution de l'intestin comparé à la partie supérieure du TGI dans les processus de digestion de l'azote. L'hydrolyse des chaînes polypeptidiques par les sécrétions pancréatiques (trypsine et chymotrypsine), stimulées par la consommation alimentaire de lipides et de protéines, représenterait alors une étape clé dans les processus de digestion des protéines. Ces résultats peuvent traduire d'une part l'importance de l'accessibilité des protéines au niveau intestinal mais aussi le fait que la sélection ait pu entraîner des modifications de la sécrétion de ces enzymes probablement sous contrôle hormonal.

En comparant les deux lignées divergentes D+ et D- avec la lignée commerciale utilisée à l'origine de la sélection, on observe que le développement du TGI est similaire chez les D- et les CL alors que les D+ se différencient largement des deux autres lignées. Cependant, les D- excrètent significativement plus que les CL suggérant que les caractéristiques anatomiques des organes du TGI mesurées dans ce travail n'expliquent pas entièrement les différences d'excrétion. En effet, des différences en termes de fonctionnalité pourraient aussi être impliquées. Les différences de temps de rétention de l'aliment dans le compartiment supérieur du TGI entre D+ et D- suggèrent des différences de régulation de l'évacuation gastrique, le pylore jouant un rôle de filtre en termes de taille particulaire : les particules grossières sont retenues dans le gésier et sont broyées jusqu'à atteindre une taille critique (de l'ordre de 0.5 à 1.5 mm) pour pouvoir être évacuées par le pylore vers le duodénum (Ferrando *et al.* 1987; Vergara *et al.* 1989). Il est donc probable que chez les D-, le pylore soit moins fonctionnel que chez les D+, impliquant un temps de rétention des aliments moins long au niveau gastrique (Rougière & Carré 2010), et par conséquent, une moins bonne accessibilité des nutriments à l'entrée de l'intestin grêle. Ceci pourrait être expliqué par un développement insuffisant du gésier, puisque chez les volailles, contrairement aux mammifères, le pylore n'est pas un sphincter mais fonctionne en coordination avec les muscles du gésier. Cette zone pylorique revêt donc un intérêt physiologique clé en matière de fonctionnalité et mériterait une attention toute particulière.

Au-delà des possibilités de sélection proposées par ce travail, rechercher et identifier les QTL et les gènes contrôlant la capacité à digérer le blé, permettrait de fournir un outil complémentaire de sélection pour améliorer l'efficacité des fonctions de digestion et maîtriser les quantités et la composition des rejets produits. La divergence très rapide obtenue lors de l'expérience de sélection sur l'EMAn peut suggérer l'existence d'un ou de plusieurs QTL à effet fort. Ce travail fait actuellement l'objet du projet ANR CHIEF débuté en 2010. En parallèle de cette étude, l'identification des principaux mécanismes sous-jacents par des approches de transcriptomique pourrait permettre d'appréhender les leviers moléculaires clés impliqués dans le déterminisme des caractéristiques des rejets.

Il serait aussi intéressant d'évaluer dans quelle mesure les polymorphismes identifiés au cours de ce projet affectent spécifiquement la capacité à digérer le blé ou s'ils sont également « actifs » sur d'autres régimes, soit plus favorables, soit incluant des matières premières alternatives.



## Conclusion



Le présent travail s'inscrit dans une optique de durabilité, et prend en compte les trois piliers du développement durable que sont les aspects environnementaux, économiques et sociétaux. Au niveau environnemental, nous avons pu mettre en évidence que la sélection génétique pouvait être un moyen de réduire et de maîtriser les rejets avicoles. Cette approche novatrice permettrait de diminuer de façon significative l'impact de la production avicole sur l'environnement, que ce soit au niveau des sols, de l'eau comme de l'air.

Développer des systèmes de production avicoles durables est actuellement d'une grande importance. Ces programmes peuvent être construits dans une approche de biologie intégrative (évaluation multicritères des systèmes d'élevage) allant de l'animal dans son environnement jusqu'aux gènes et aux mécanismes de régulation sous jacents. Dans ce sens, il paraît pertinent de prendre en compte les animaux, mais aussi l'aliment dont ils se nourrissent. Selon les types d'aliments, les animaux ne digèrent pas de la même façon et par voie de conséquence, excrètent différemment. Par exemple, la source d'amidon dans l'aliment peut avoir un fort impact sur les rejets : la capacité des poulets de chair à digérer différentes céréales est variable, elle est forte pour le maïs mais faible pour le blé (Carré *et al.* 2002). Il serait intéressant d'étudier l'impact de la supplémentation d'enzymes telles que des phytases ou des xylanases dans l'aliment chez les D+ et les D-, qui pourrait être cumulatif de l'effet de la lignée. En effet, l'augmentation du poids du proventricule et du gésier chez les D+ par rapport aux D- pourrait améliorer l'efficacité d'action des phytases puisque cette dernière agit principalement à pH faibles (Kerr *et al.* 2000). De plus, avec le développement de céréales valorisant mieux les nutriments, telles que les légumineuses qui ne nécessitent pas d'engrais azoté, cumuler l'utilisation de ces matières premières demandant moins d'intrants avec des animaux excréant moins serait un bon moyen de réduire d'autant plus l'impact environnemental de l'agriculture.

La réduction des rejets avicoles permet aussi de nombreux bénéfices économiques. Par exemple, pour le seul département des Côtes d'Armor, les quantités d'azote venant de la production avicole excèdent de 4 500 tonnes le potentiel d'épandage des rejets défini par la réglementation Nitrates (Djaout *et al.* 2008). Traiter ces excédants par compostage suivi par un transport vers des zones ayant des besoins de fertilisant azotés coûterait entre 3.8 et 6.9 millions d'euros par an, et l'incinération de la même quantité de rejets coûterait plus de 11 millions d'euros par an (Djaout *et al.* 2008). De plus, l'aliment représentant entre 60 et 70 %

du coût de production, améliorer l'utilisation digestive des aliments par les volailles permettrait de diminuer le coût de production des poulets. Dans le même sens, utiliser des animaux capables de digérer des matières premières de moins bonne qualité permettrait de limiter les coûts des aliments pour la production avicole. Par exemple, réduire la part de soja dans l'aliment en le remplaçant par des matières premières produites localement pourrait réduire l'apport des matières premières issues de la production étrangère, qui suit les cours fluctuants des marchés financiers (par exemple, le cours du tourteau de soja a varié de l'ordre de 26 % en un an, passant de 200 à 271 € la tonne). Enfin, utiliser des animaux sélectionnés pour produire moins de rejets n'implique pas que ces animaux soient moins productifs en termes de rendements en muscle et qualité de la viande, ce qui est crucial au niveau économique pour la production avicole.

Enfin, la combinaison entre amélioration des performances et protection de l'environnement est l'illustration de l'agriculture conservatrice définie en Février 2009 par les experts de la FAO (Food and Agriculture Organization), permettant de produire assez de nourriture pour subvenir aux besoins de 9 milliards d'humains en 2050. En effet, la population mondiale ne cessant d'augmenter, les besoins alimentaires humains augmentent considérablement à la fois en céréales et en viande. Dans ce contexte, améliorer les capacités des animaux à digérer un aliment difficilement digestible par la voie génétique permettrait de réduire la compétition entre homme et animal pour l'utilisation des céréales en permettant d'introduire dans les régimes des coproduits de céréales ou des matières premières non utilisées pour l'alimentation humaine.

Enfin, améliorer la durabilité implique aussi la prise en compte de critères relevant du pilier social, telle que la qualité des produits ou le bien-être animal. D'après les résultats de ce travail, la qualité des produits, importante aux yeux des consommateurs, ne serait pas affectée par la sélection génétique pour la réduction des rejets. De plus, une bonne efficacité digestive devrait aussi améliorer la qualité des litières et prévenir ainsi l'apparition de lésions comme les pododermatites, indicatrices de souffrance animale ou les dégagements d'ammoniac qui peuvent générer des troubles respiratoires.

En conclusion, produire des animaux plus « respectueux » de l'environnement peut être réalisé par la voie génétique, tout en préservant la disponibilité des matières premières pour l'homme sans avoir d'impact négatif sur l'économie ou le bien-être animal. Enfin, coupler des animaux sélectionnés génétiquement sur la réduction des rejets avec des caractéristiques alimentaires particulières (supplémentation d'enzymes par exemple) permettrait probablement de réduire davantage les rejets des animaux, induisant une réduction d'autant plus forte de l'impact environnemental de la production avicole.



## Références bibliographiques





- Acosta A., Lon-Who E., Cardenas M., Febles M., Dieppa O. & Almeida M. Determination of relative bioavailability in phosphorite from the Trinidad de Guedes deposit through tests of growth and bone mineralization in chickens and laying hens. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 2009. **43**: 53-57.
- Adams C., Raboy V., Krebs N., Westcott J., Lei S. & Hambidge M. The effect of low-phytic acid corn mutants on zinc absorption. *FASEB Journal*. 2000. **14**: A359.311.
- ADEME. Protoxyde d'azote. <http://www2.ademe.fr/servlet/KBaseShow?sort=-1&cid=96&m=3&catid=16003> (28-07-2011).
- Aggrey S.E., Karnuah A.B., Sebastian B. & Anthony N.B. Genetic properties of feed efficiency parameters in meat-type chickens. *Genetics Selection Evolution*. 2010. **42**: 1-5.
- Alexander L.S., Qu A., Cutler S.A., Mahajan A., Rothschild M.F., Cai W., Dekkers J.C. & Stahl C.H. A calcitonin receptor (CALCR) single nucleotide polymorphism is associated with growth performance and bone integrity in response to dietary phosphorus deficiency. *Journal of Animal Science*. 2010. **88**: 1009-1016.
- Allain E. & Aubert C. Réorganiser l'azote dès le bâtiment par un complexe de microorganismes pour réduire fortement les pertes d'ammoniac en bâtiment et au champ et les pertes par lessivage de nitrates au champ, en abtenant sans retournement un compost norme, au bénéfice des animaux, de l'économie et de l'environnement. *8èmes Journées de la Recherche Avicole*. 2009: 105-109. Saint Malo, France.
- Alleman F., Bordas A., Caffin J.-P., Daval S., Diot C., Douaire M., Fraslin J.-M., Lagarrigue S. & Leclercq B. L'engraissement chez le poulet: aspects métaboliques et génétiques. *INRA Productions Animales*. 1999. **12**: 257-264.
- Allen A. & Flemstrom G. Gastroduodenal mucus bicarbonate barrier: protection against acid and pepsin. *American Journal of Physiology (Cell Physiology)*. 2005. **288**: C1-C19.
- Almirall M. & Esteve-Garcia E. Rate of passage of barley diets with chromium oxide: influence of age and poultry strain and effect of  $\beta$ -glucanase supplementation. *Poultry Science*. 1994. **73**: 1433-1440.
- Amerah A.M., Ravindran V., Lentle R.G. & Thomas D.G. Influence of feed particle size and feed form on the performance, energy utilization, digestive tract development, and digesta parameters of broiler starters. *Poultry Science*. 2007. **86**: 2615-2623.
- Amerah A.M., Ravindran V., Lentle R.G. & Thomas D.G. Influence of particle size and xylanase supplementation on the performance, energy utilisation, digestive tract

- parameters and digesta viscosity of broiler starters. *British Poultry Science*. 2008. **49**: 455-462.
- Amerah A.M., Péron A., Zaefarian F. & Ravindran V. Influence of whole wheat inclusion and a blend of essential oils on the performance, nutrient utilisation, digestive tract development and ileal profile of croiler chickens. *British Poultry Science*. 2011a. **52**: 124-132.
- Amerah A.M., Gilbert C., Simmins P.H. & Ravindran V. Influence of feed processing on the efficacy of exogenous enzymes in broiler diets. *World's Poultry Science Journal*. 2011b. **67**: 29-46.
- Angel C.R., Powers W.J., Applegate T.J., Tamim N.M. & Christeman M.C. Influence of phytase on water-soluble phosphorus in poultry and swine manure. *Journal of Environmental Quality*. 2005. **34**: 563-571.
- Angel R. (1999) Feeding poultry to minimize manure phosphorus. Department of Animal and Avian Species, University of Maryland, College Park, 20742.
- Angel R., Applegate T.J. & Christeman M. Effect of dietary non phytate phosphorus (nPP) on performance and bone measurements in broilers fed on four-phase feeding system. *Poultry Science*. 2000. **79 (Suppl 1)**: 21-22.
- Angkanaporn K., Choct M., Bryden W.L., Annison E.F. & Annison G. Effects of wheat pentosans on endogenous amino acid losses in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1994. **66**: 399-404.
- Ankra-Badu G.A., Pesti G.M. & Aggrey S.E. Genetic interrelationships among phosphorus, nitrogen, calcium, and energy bioavailability in a growing chicken population. *Poultry Science*. 2010. **89**: 2351-2355.
- Annison G. & Choct M. Anti-nutritive activities of cereal non-starch polysaccharides in broiler diets and strategies minimizing their effects. *World's Poultry Science Journal*. 1991. **47**: 232-242.
- Anonyme. Les déjections avicoles. *Sciences et techniques avicoles*. 2001. **HS**: 27-33.
- Apple R.O., Skeeles J.K., Houghten G.E., Beasley J.N. & Kim K.S. Investigation of a chronic feed-passage problem on a broiler farm in northwest Arkansas. *Avian Disease*. 1991. **35**: 422-425.
- Asman W.A.H., Jonker P.J., Slanina J. & Baard J.H. Neutralization of acid in precipitation and some results of sequential samplig. In: *Deposition of atmospheric pollutants* (eds. by Georgii HW & Pankrath J), 1982. pp. 115-123.

- Atapattu N.S.B.M. & Nelligaswatta C.J. Effects of citric acid on the performance and the utilization of phosphorus and crude protein in broiler chickens fed rice by-products based diets. *Journal of Poultry Science*. 2005. **4**: 990-993.
- Atoji Y., Watanabe H., Nimamoto N., Sugiyama M., Yamamoto Y. & Suzuki Y. Neurotensin-immunoreactive cells in the gastrointestinal epithelium of the chicken, pigeon and japanese-quail. *European Journal of Histochemistry*. 1994. **38**: 65-72.
- Aubert C., Rousset N., Allain E. & Ponchant P. utilisation d'un complexe de microorganismes pour réduire les émissions d'ammoniac en élevage de poulets. *9èmes Journées de Recherche Avicole*. 2011: 116-120. Tours, France.
- Barea R., Dubois S., Gilbert H., Sellier P., van Milgen J. & Noblet J. Energy utilization in pigs selected for high and low residual feed intake. *Journal of Animal Science*. 2010. **88**: 2062-2072.
- Barnett G.M. Phosphorus forms in animal manure. *Bioresource Technology*. 1994. **19**: 139-147.
- Barrier-Guillot B., Casado P., Maupetit P., Jondreville C. & Gatel F. Wheat phosphorus availability. 1. In vivo study; Factors affecting endogenous phytase activity and phytic phosphorus content. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1996. **70**: 62-68.
- Bastianelli D., Bonnal L., Juin H., Mignon-Grasteau S., Davrieux F. & Carré B. Prediction of the chemical composition of poultry excreta by near infrared spectroscopy. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. 2010. **18**: 69-77.
- Bauchart-Thevret C., Stoll B., Chacko S., Chang X., Cui L. & Burrin D. Importance du métabolisme des acides aminés soufrés dans la croissance de la muqueuse intestinale et le renouvellement des cellules épithéliales chez le porcelet nouveau-né. *Nutrition Clinique et Métabolisme*. 2008. **22**: 65-66.
- Beck D.W. Molecular sieves structure. In: *Chemistry and use* (ed. by Sons JW), 1974.
- Bedford M.R., Classen H.L. & Campbell G.L. The effect of pelleting, salt, and pentosanase on the viscosity of intestinal contents and the performance of broilers fed rye. *Poultry Science*. 1991. **70**: 1571-1577.
- Bedford M.R. & Morgan A.J. The use of enzymes in poultry diets. *World's Poultry Science Journal*. 1996. **52**: 61-68.
- Bedford M.R. & Schulze H. Exogenous enzymes for pigs and poultry. *Nutrition Research Reviews*. 1998. **11**: 91-114.

- Bedford M.R., Scott T.A., Silversides F.G., Classen H.L., Swift M.L. & Pack M. The effect of wheat cultivar, growing environment, and enzyme supplementation on digestibility of amino acids by broilers. *Canadian Journal of Animal Science*. 1998. **78**: 335-342.
- Berg W. & Hornig G. Emission reduction by acidification of slurry - Investigations and assessment. *Proceeding of the International Symposium of Ammonia and Odour Emissions from Animal Production*. 1997: 459-466. Vinkeloord, The Netherlands.
- Berger K., Petersen B. & Buning-Pfaue H. Persistence of drugs occurring in liquid manure in the food chain. *Archiv für Lebensmittelhygiene*. 1986. **37**: 99-102.
- Bernal M.P. & Lopez-Real J.H. Natural zeolites and sepiolite as ammonium and ammonia adsorbent materials. *Bioresource Technology*. 1993. **43**: 27-33.
- Beveridge A. & Pickering W.F. Influence of surfactants on the determination of Cu, Pb and Cd by ASV. *Water Research*. 1984. **18**: 1119-1123.
- Biehl R.R. & Baker D.H. Utilization of phytate and nonphytate phosphorus in chicks as affected by source and amount of vitamin D<sub>3</sub>. *Journal of Animal Science*. 1997. **75**: 2986-2993.
- Biehl R.R., Baker D.H. & de Luca H.F. 1  $\alpha$ -hydroxylated cholecalciferol compounds act additively with microbial phytase to improve phosphorus, zinc and manganese utilization in chicks fed soy-based diets. *Journal of Nutrition*. 1995. **125**: 2407-2416.
- Bishop S.C., Fleming R.H., McCormack H.A., Flock D.K. & Whitehead C.C. Inheritance of bone characteristics affecting osteoporosis in laying hens. *British Poultry Science*. 2000. **41**: 33-40.
- Boggess W., Johns G. & Melin C. Economic impacts of water quality programs in the Lake Okeechobee watershed of Florida. *Journal of Dairy Science*. 1997. **80**: 2682-2691.
- Bolan N.S. & Adriano D.C. Distribution and bioavailability of trace elements in livestock and poultry manure byproducts. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 2004. **34**: 291-338.
- Bolan N.S., Szogi A.A., Chuasavathi T., Seshadri B., Rothrock Jr. M.J. & Panneerselvam P. Uses and management of poultry litter. *World's Poultry Science Journal*. 2010. **66**: 673-698.
- Boling S.D., Webel D.M., Marromichalis I., Parsons C.M. & Baker D.H. The effects of citric acid on phytate-phosphorus utilization in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science*. 2000. **78**: 682-689.

- Boling-Frankenbach S.D., Snow J.L., Parsons C.M. & Baker D.H. The effect of citric acid on the calcium and phosphorus requirements of chicks fed corn-soybean meal diets. *Poultry Science*. 2001. **80**: 783-788.
- Bomke A.A. & Lowe L.E. Trace-element uptake by two British Columbia forages as affected by poultry manure application. *Canadian Journal of Soil Science*. 1991. **71**: 305-312.
- Bordas A. & Merat P. Genetic variation and phenotypic correlations of food consumption of laying hens corrected for body weight and production. *British Poultry Science*. 1981. **22**: 25-32.
- Bordas A. & Mérat P. Correlated responses in a selection experiment on residual feed-intake of adult Rhode-Island Red cocks and hens. *Annales Agriculturae Fenniae*. 1984. **23**: 233-237.
- Bordas A. & Minvielle F. Patterns of growth and feed intake in divergent lines of laying domestic fowl selected for residual feed consumption. *Poultry Science*. 1999. **78**: 317-323.
- Bordas A., Tixier-Boichard M. & Mérat P. Direct and correlated responses to divergent selection for residual food intake in rhode island red laying hens. *British Poultry Science*. 1992. **33**: 741-754.
- Bouquet A., Fouilloux M.-N., Renand G. & Phocas F. Genetic parameters for growth, muscularity, feed efficiency and carcass traits of young beef bulls. *Livestock Science*. 2010. **129**: 38-48.
- Bourdillon A., Carré B., Conan L., Duperray J., Huyghebaert G., Leclercq B., Lessire M., McNab J. & Wiseman J. European reference method for the in vivo determination of metabolizable energy with adult cockerels - Reproducibility, effect of food-intake and comparison with individual laboratory methods. *British Poultry Science*. 1990. **31**: 557-565.
- Bouvarel I., Dourmad J.Y. & Gac A. Les stratégies d'alimentation des animaux au sein de l'exploitation et du territoire et leurs incidences environnementales. In: *Elevages et environnement* (ed. by Sick I), 2010. pp. 66-118.
- Bouvarel I., Travel A., Lescoat P., Lessire M., Bastianelli D., Hervouet C., Marichal V. & Chevalier D. (2006) Approche multiple des relations nutrition-rejets chez la volaille. *Rapport OFIVAL-ADAR*, 54pp.
- Boxall A.B.A., Blackwell P., VCavallo R., Kay P. & Tolls J. The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems. *Toxicology Letters*. 2002. **131**: 19-28.

- Brenes A., Viveros A., Arija I., Centeno C., Pizarro M. & Braro C. The effect of citric acid and microbial phytase on mineral utilization in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*. 2003. **110**: 201-219.
- Buijsman E., Mass H.F.M. & Asman W.A.H. Anthropogenic NH<sub>3</sub> emissions in Europe. *Atmospheric Environment*. 1987. **21**: 1009-1022.
- Burkholder J.A. & Glasgow H.B., Jr. *Pfiesteria piscicida* and other *pfiesteria-dinoflagellates* behaviors, impacts, and environmental controls. *Limnology and Oceanography*. 1997. **42**: 1052-1075.
- Buyse J., Leenstra F.R., Zeman M., Rahimi G. & Decuypere E. A comparative study of different selection strategies to breed leaner meat-type poultry. *Poultry and Avian Biology Reviews*. 1999. **10**: 121-142.
- Buyse J., Michels H., Vloeberghs J., Saevels P., Aerts J.M., Ducro B., Berckmans D. & Decuypere E. 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*. 1998. **39**: 264-272.
- Caldwell R.A. Effect of calcium and phytic acid on the activation of trypsinogen and the stability of trypsin. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1992. **40**: 43-46.
- Calvet S., Cambra-López M., Estellés F. & Torres A.G. Characterization of gas emissions from a Mediterranean broiler farm. *Poultry Science*. 2011. **90**: 534-542.
- Camargo J.A. & Alonso A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*. 2006. **32**: 831-849.
- Campbell G.L., Classen H.L. & Goldsmith K.A. Effect of fat retention on the rachitogenic effect of rye fed to broiler chicks. *Poultry Science*. 1983. **62**: 2218-2223.
- Camus M.C. & Laporte J.C. Inhibition de la protéolyse pepsique in vitro par le blé. Rôle de l'acide phytique des issues *Annales de Biologie Animale de Biochimie et de Biophysique*. 1976. **16**: 719-729.
- Caper S.G., Tanner J.T., Friedman M.H. & Boyer K.W. Multielement analysis of animal feed, animal wastes, and sewage sludge. *Environmental Science and Technology*. 1978. **12**: 785-790.
- Carpenter S.R., Caraco N.F., Correll D.L., Howarth R.W., Sharpley A.N. & Smith V.H. Nonpoint pollution of surface waters with phosphorus and nitrogen. *Ecological Applications*. 1998. **8**: 559-568.

- Carré B. Effets de la taille des particules alimentaires sur les processus digestifs chez les oiseaux d'élevage. *INRA Productions Animales*. 2000. **13**: 131-136.
- Carré B., Idi A., Maisonnier S., Melcion J.P., Oury F.X., Gomez J. & Pluchard P. Relationship 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*. 2002. **43**: 404-415.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Svihus B., Péron A., Bastianelli D., Gomez J., Besnard J. & Sellier N. Nutritional effects of feed form, and wheat compared to maize, in the D+ and D- chicken lines selected for divergent digestion capacity. *Proceedings of the 15th European Symposium of Poultry Nutrition*. 2005: 42-44. Balatonfüred, Hungary.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Peron A., Juin H. & Bastianelli D. The wheat value: improvements by feed technology, plant breeding and animal genetics. *World's Poultry Science Journal*. 2007. **63**: 585-596.
- Carré B., Mignon-Grasteau S., Besnard J., Rougière N., Juin H. & Bastianelli D. The D+ and D- "Digestion" chicken lines selected for divergent digestion efficiency on a wheat-based diet. *World Poultry Congress*. 2008a 210. Brisbane, Australia.
- Carré B., Mignon-Grasteau S. & Juin H. Breeding for feed efficiency and adaptation to feed. *World's Poultry Science Journal*. 2008b. **64**: 377-390.
- Caspary W.F. Physiology and pathophysiology of intestinal absorption. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1992. **55**: 299S-308S.
- Castanon J.I.R. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*. 2007. **86**: 2466-2471.
- Caverzasio J., Montessuit C. & Bonjour J.P. Stimulatory effect of insulin-like growth factor-1 on renal Pi transport and plasma 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Endocrinology*. 1990. **127**: 453-459.
- Chapoutot P. & Pressenda F. Conséquences des nouveaux "systèmes d'unités phosphore" sur la formulation des régimes. *INRA Productions Animales*. 2005. **18**: 209-228.
- Chapuis-Lardy L., Wrage N., Metay A., Chotte J.L. & Bernoux M. Soils, a sink for N<sub>2</sub>O? A review. *Global Change Biology*. 2007. **13**: 1-17.
- Charles D.R. & Payne C.G. The influence of graded levels of atmospheric ammonia on chickens. I. Effects on respiration and on the performance of broilers and replacement growing stock. *British Poultry Science*. 1966. **7**: 177-187.

- Cheryan M. Phytic acid interactions in food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1980. **13**: 297-335.
- Choct M. & Annison G. Anti-nutritive activity of wheat pentosans in poultry diets. *British Poultry Science*. 1990. **31**: 809-819.
- Choct M. & Annison G. The inhibition of nutrient digestion by wheat-pentosans. *British Journal of Nutrition*. 1992. **67**: 123-132.
- Choct M., Hughes R.J. & Bedford M.R. 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*. 1999. **40**: 419-422.
- Choct M., Hughes R.J., Wang J., Bedford M.R., Morgan A.J. & Annison G. Increased small intestinal fermentation is partly responsible for the anti-nutritive activity of non-starch polysaccharides in chickens. *British Poultry Science*. 1996. **37**: 609-621.
- CITEPA (Centre Interprofessionnel Technique d'Etudes de la Pollution Atmosphérique). Emissions dans l'air en France. <http://www.citepa.org/emissions/index.htm> (11/05/11).
- Classen H.L. & Bedford M.R. The use of enzymes to improve the nutritive value of poultry feeds. In: *Recent advances in animal nutrition* (eds. by Haresign W & Cole DJA), 1991. pp. 95-115.
- Classen H.L., Campbell G.L., Rossnagel B.G., Bhatti R.S. & Reichert R.D. Studies on the use of hullless barley in chicks diets: deleterious effects and methods of alleviation. *Canadian Journal of Animal Science*. 1985. **65**: 725-733.
- Coma J., Zimmermann D.R. & Carrion D. Relationship of rate of lean tissue growth and other factors to concentration of urea in plasma of pigs. *Journal of Animal Science*. 1995. **73**: 3649-3656.
- Comité scientifique sur la santé et le bien-être animal. The welfare of chickens. Kept for meat production (broilers). *European commission Health and Consumer protection Directorate – General* 2000.
- Commissariat général au développement durable. Le phosphore dans les sols, nécessité agronomique, préoccupation environnementale. *Le point sur...* 2009 **14**.
- Cooke G.D., Welch E.B., Peterson S.A. & Newroth P.R. *Lake and reservoir restoration* 1986.
- CORPEN. Estimation des rejets d'azote, phosphore, potassium, cuivre et zinc des porcs. 2003.
- CORPEN. Estimation des rejets d'azote, de phosphore, de potassium, de calcium, de cuivre et de zinc par les élevages avicoles. Influence de la conduite alimentaire et du mode de logement des animaux sur la nature et la gestion des déjections. *Ministère de*



- l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire*. 2006a. **55 p.**
- CORPEN. Les émissions d'ammoniac et de gaz azotés à effet de serre en agriculture. *Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire*. 2006b. 99 p.
- Costa M. All together now: from pacemakers to gastric peristalsis. *Journal of Physiology*. 2006. **571**: 1.
- Council for Agricultural Science and Technology. Animal diet modification to decrease the potential for nitrogen and phosphorus pollution. In: *CAST*. 2002. (Issue paper n°21), Ames, IA, USA.
- Court M.N., Stephen R.C. & Waid J.S. Toxicity as a cause of the inefficiency of urea as a fertilizre. *Journal of Soil Science*. 1964. **15**: 42-48.
- Cowieson A.J., Acamovic T. & Bedford M.R. The effects of phytase and phytate on endogenous losses from broiler chickens. *British Poultry Science*. 2004. **45**: 101-108.
- Cowieson A.J., Bedford M.R., Selle P.H. & Ravindran V. Phytate and microbial phytase: implications for endogenous nitrogen losses and nutrient availability. *World's Poultry Science Journal*. 2009. **65**: 401-417.
- Creveu-Gabriel I. Digestion des protéines végétales chez les monogastriques. Exemple des protéines de pois. *INRA Productions Animales*. 1999. **12**: 147-161.
- Cromwell G.L. Metabolism and role of phosphorus, calcium, and vitamin D3 in swine nutrition. In: *Phytase in animal nutrition and waste management* (eds. by Coelho MB & Kornegay ET), 1996. pp. 101-110.
- Crutzen J. Atmospheric interactions - Homogeneous gas reactions of C, N and S containing compounds. In: *The major biochemical cycles and their interactions* (eds. by Bolin B & Cook RB), 1983. pp. 67-114.
- Cunnick J.E., Kojic L.D. & Hughes R.A. Stress-induced changes in immune function are associated with increased production of an interleukin-1-like factor in young domestic fowl. *Brain, Behavior, and Immunity*. 1994. **8**: 123-136.
- da Silva A.P., Kay B.D. & Perfect E. Characterization of the least limiting water range of soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1994. **58**: 1775-1781.
- Danicke S., Simon O., Jeroch H. & Bedford M.R. Effect of fat source and xylanase supplementation on the performance and intestinal viscosity in rye fed birds. *2nd*

- European Symposium on Feed Enzymes*. 1995 102-106. Noordwijkerhout, The Netherlands.
- Danicke S., Simon O., Jeroch H., Keller K., Glaser K., Kluge H. & Bedford M.R. Effects of dietary fat type, pentosan level and xylanase supplementation on digestibility of nutrients and metabolizability of energy in male broilers. *Archives of Animal Nutrition*. 1999. **52**: 245-261.
- Dao T.H. Coamendments to modify phosphorus extractability and nitrogen/phosphorus ratio in feedlot manure and composted manure. *Journal of Environmental Quality*. 1999. **28**: 1114-1121.
- de Verdal H., Mignon-Grasteau S., Jeulin C., Le Bihan-Duval E., Leconte M., Mallet S., Martin C. & Narcy A. Digestive tract measurements and histological adaptation in broiler lines divergently selected for digestive efficiency. *Poultry Science*. 2010a. **89**: 1955-1961.
- de Verdal H., Narcy A., Le Bihan-Duval E. & Mignon-Grasteau S. Excretion and gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their capacity of digestion. *XIIIth European Poultry Conference*. 2010b. **66**: 223. Tours, France.
- de Verdal H., Narcy A., Bastianelli D., Chapuis H., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E. & Mignon-Grasteau S. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 1. Genetic parameters of anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics*. 2011a. **12**: 59.
- de Verdal H., Narcy A., Chapuis H., Bastianelli D., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E. & Mignon-Grasteau S. Improving the efficiency of feed utilization in poultry by selection. 2. Genetic parameters of excretion traits and correlations with anatomy of the gastro-intestinal tract and digestive efficiency. *BMC Genetics*. 2011b. **12**:71.
- de Verdal H., Narcy A., Bastianelli D., Chapuis H., Mème N., Urvoix S., Le Bihan-Duval E. & Mignon-Grasteau S. Genetic variability of metabolic characteristics in chickens selected for their capacity to digest wheat. 2011c. **In prep**.
- Deeb N. & Cahaner A. Genotype-by-environment interaction with broiler genotypes differing in growth rate. 3. Growth rate and water consumption of broiler progeny from weight-selected versus nonselected parents under normal and high ambient temperatures. *Poultry Science*. 2002. **81**: 293-301.
- Deepa C., Jeyanthi G.P. & Chandrasekaran D. Effect of phytase and citric acid supplementation on the growth performance, phosphorus, calcium and nitrogen

- retention on broiler chicks fed with low level of available phosphorus. *Asian Journal of Poultry Science*. 2011. **5**: 28-34.
- DeGolier T.F., Place A.R., Duke G.E. & Carraway R.E. Neurotensin decreases pepsin output and gastrointestinal motility in chickens. *Poultry Science*. 1997. **76**: 1435-1439.
- DeLaune P.B., Moore P.A., Jr., Daniel T.C. & Lemunyon J.L. Effect of chemical and microbial amendments on ammonia volatilization from composting poultry litter. *Journal of Environmental Quality*. 2004. **33**: 728-734.
- DeLuca H.F. Vitamin D, calcium, and metabolic bone disease. In: *Nutrition and the Origins of Disease* (ed. by DeLuca HF), 1989. 109 p.
- Denbow D.M. Gastrointestinal anatomy and physiology. In: *Sturkie's Avian Physiology* (ed. by Whittow GC), 1999. pp. 299-325.
- Denbow D.M. & Myers R.D. Eating, drinking and temperature responses to intracerebroventricular cholecystokinin in the chick. *Peptides*. 1982. **3**: 739-743.
- Deshpande S.S. & Cheryan M. Effects of phytic acid, divalent cations, and their interactions on  $\alpha$ -amylase activity. *Journal of Food Science*. 1984. **49**: 516-519.
- Dilger R.N. & Adeola O. Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing chickens fed conventional and low-phytate soybean meals. *Poultry Science*. 2006. **85**: 661-668.
- Directive de la Commission n°98/15/CE du 27 février 1998 portant modification de la directive du Conseil n°91/271/CEE en ce qui concerne certaines prescriptions fixées à son annexe I.
- Directive du Conseil n°91/271/CEE du 21 mai 1991 relative aux traitements des eaux urbaines résiduaires. JOCE, L 135/40, 30 mai 1991.
- Directive du Conseil n°91/676/CEE du 12 décembre 1991 concernant la protection des eaux contre la pollution par les nitrates à partir de sources agricoles. JOCE, L 375, 31 décembre 1991.
- Directive du Parlement et du Conseil n°1831/2003 du 22 septembre 2003 relative à l'utilisation d'additifs pour la nutrition animale. JOCE, L 268/29, 18 octobre 2003.
- Djaout F., Le Goff P. & Tauber M. Comment appliquer la directive nitrates et à quel coût ? Une modélisation spatiale du marché de l'épandage. *Working Paper SMART-LERECO*. 2008. **08-02**: 40 p.
- Dolliver H. & Gupta S. Antibiotic losses in leaching and surface runoff from manure-amended agricultural land *Journal of Environmental Quality*. 2008. **37**: 1227-1237.

- Dourmad J.Y. & Jondreville C. Impact of nutrition on nitrogen, phosphorus, Cu and Zn in pig manure, and on emissions of ammonia and odours. *Livestock Science*. 2007. **112**: 192-198.
- Duclos M., Berri C. & Le Bihan-Duval E. Muscle growth and meat quality. *Journal of Applied Poultry Research*. 2007. **16**: 107-112.
- Duke G.E. Alimentary canal: secretions and digestion, special digestion functions and absorption. In: *Avian Physiology* (ed. by Sturkie PD), 1986. pp. 289-302.
- Dullen F.A.L. *Porous media: fluid transport and pore structure*. Academic Press. 1979.
- Duthie C., Simm G., Doeschl-Wilson A., Kalm E., Knap P.W. & Roehe R. Quantitative trait loci for chemical body composition traits in pigs and their positional associations with body tissues, growth and feed intake. *Animal Genetics*. 2008. **39**: 130-140.
- Eck H.V. & Stewart B.A. Manure. In: *Environmental aspects of soil amendments* (ed. by Rehg JE), 1995.
- Edwards Jr. H.M. Dietary 1,25-dihydroxycholecalciferol supplementation increase natural phytate phosphorus utilization in chicken. *Journal of Nutrition*. 1993. **123**: 567-577.
- Edwards Jr. H.M. Studies on the efficacy of cholecalciferol and derivatives for stimulating phytate utilization in broilers. *Poultry Science*. 2002. **81**: 1026-1031.
- El-Gendy E. & Washburn K.W. Genetic-variation in body-temperature and its response to short-term acute heat-stress in broilers. *Poultry Science*. 1995. **74**: 225-230.
- Elliott H.A. & Collins N.E. Factors affecting ammonia release in broiler houses. *Transactions of the ASAE*. 1982. **25**: 413-418.
- Elliott H.A. & Collins N.E. Chemical methods for controlling ammonia release from poultry manure. *ASAE paper*. 1983. **83-4521**: 17.
- Emmert J.L. & Baker D.H. Use of the ideal protein concept for precision formulation of amino acid levels in broiler diets. *Journal of Applied Poultry Research*. 1997. **6**.
- Eneji E.A., Yamamoto S., Honna T. & Ishiguro A. Physico-chemical changes in livestock feces during composting. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2001. **24**: 477-489.
- ENFEMA. Bioavailability of major and trace minerals. (eds. by Jongbloed AW, Kemme PA, de Groote G, Lippens M & Meschy F). *International Association of the European Manufacturers of Major, Trace and Specific Feed Mineral Materials*. 2002.

- Engberg R.M., Hedemann M.S. & Jensen B.B. The influence of grinding and pelleting of feed on the microbial composition and activity in the digestive tract of broiler chickens. *British Poultry Science*. 2002. **43**: 569-579.
- Engberg R.M., Hedemann M.S., Steinfeldt S. & Jensen B.B. Influence of whole wheat and xylanase on broiler performance and microbial composition and activity in the digestive tract. *Poultry Science*. 2004. **87**: 940-948.
- Fadel J.G., Newman C.W., Newman R.K. & Graham H. Effects of extrusion cooking of barley on ileal and total tract apparent digestibility of dietary components of pigs. *Canadian Journal of Animal Science*. 1988. **68**: 891-897.
- Fan Y., Croom J., Christensen V., Black B., Bird A., Daniel L., McBride B. & Eisen E. Jejunal glucose uptake and oxygen consumption in turkey poult selected for rapid growth. *Poultry Science*. 1997. **76**: 1738-1745.
- Fengler A.I. & Marquardt R.R. Water soluble pentosans from rye. I. Isolation, partial purification and characterization. *Cereal Chemistry*. 1988. **65**: 291-297.
- Ferguson N.S., Gates R.S., Taraba J.L., Cantor A.H., Pescatore A.J., Straw M.L., Ford M.J. & Burnham D.J. The effect of dietary crude protein on growth, ammonia concentration, and litter composition in broilers. *Poultry Science*. 1998. **77**: 1481-1487.
- Ferket P.R., van Heugten E., van Kempen T.A.T.G. & Angel R. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from nonruminants. *Journal of Animal Science*. 2002. **80 (E. Suppl. 2)**: E168-E182.
- Fernandez J.A. Calcium and phosphorus metabolism in growing pigs. 1. absorption and balance studies. *Livestock Production Science*. 1995. **41**: 233-241.
- Ferrando C., Vergara P., Jimenez M. & Gonalons E. Study of the rates of passage of food with chromium-mordanted plant cells in chickens (*Gallus gallus*). *Quarterly Journal of Experimental Physiology*. 1987. **72**: 251-259.
- Fisher C. Protein deposition in poultry. In: *Protein deposition in animals* (eds. by Buttery PJ & Lindsay DB), 1980. pp. 251-270.
- Flaten D., Snelgrove K., Halket I., Buckley K., Penn G., Akinremi W., Wiebe B. & Tyrchniewicz E. *Acceptable phosphorus concentrations in soils and impact on the risk of phosphorus transfer from manure amended soils to surface waters*. 2003. 235 p.
- Fonty G. & Chaucheyras-Durand F. *Les écosystèmes digestifs*. 2007. 300 p.
- Forsberg C.W., Phillips J.P., Golovan S.P., Fan M.Z., Meidinger R.G., Ajakaiye A., Hilborn D. & Hacker R.R. The enviropig physiology, performance, and contribution to

- nutrient management advances in a regulated environment: the leading edge of change in the pork industry. *Journal of Animal Science*. 2003. **81**: E68-E77.
- Forstner J.F., Oliver M.G. & Sylvester F.A. Production, structure and biologic relevance of gastrointestinal mucins. In: *Infections of the Gastrointestinal Tract* (ed. by Press R), 1995. pp. 71-88.
- Fowler D., Sutton M., Flechard C. & Pitcairn C. Ammonia sources, land-atmosphere exchange and effects: a European perspective. *Proceedings of the Workshop on Atmospheric Nitrogen Compounds: Emissions, Transport, Transformation, Deposition and Assessment*. 1997: 36-46. Raleigh, USA.
- Frapin D. Valorisation du phosphore phytique végétal chez l'oiseau: intérêts et mode d'action des phytases végétales et microbiennes. *Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, Rennes*. 1996.
- Fritts C. & Waldroup P.W. Modified phosphorus program for reducing excreta phosphorus levels based on commercial feeding intervals for broilers. *Poultry Science*. 2003. **82** (Suppl 1): 35.
- Fuller R. Probiotic in man and animal. *Journal of Applied Bacteriology*. 1989. **66**: 365-378.
- Furuse M. Release and endogenous actions of the gastrin/cholecystokinin (CCK) family in the chicken. *Journal of Experimental Zoology*. 1999. **282**: 448-454.
- Furuse M. & Dockray G.J. The regulation of gastrin secretion in the chicken. *Regulatory Peptides*. 1995. **55**: 253-259.
- Gabarrou J.F. *La thermogénèse alimentaire chez les oiseaux : composantes, régulations et mécanismes*. Université des Sciences et Techniques François Rabelais de Tours. 1996.
- Gabarrou J.F., Geraert P.A., François N., Guillaumin S., Picard M. & Bordas A. Energy balance of laying hens selected on residual food consumption. *British Poultry Science*. 1998. **39**: 79-89.
- Gabarrou J.F., Géraert P.A., Picard M. & Bordas A. Diet-induced thermogenesis in cockerels is modulated by genetic selection for high or low residual feed intake. *Journal of Nutrition*. 1997. **127**: 2371-2376.
- Gabriel I., Guardia S., Konsak B., Leconte M., Rideaud P., Moreau-Vauzelle C., CDupont C. & Mignon-Grasteau S. (2011) Comparaison du microbiote bactérien digestif de poulets sélectionnés sur leur énergie métabolisable. In: *Neuvièmes Journées de Recherches Avicoles*, p. 154, Tours, France.

- Gabriel I., Lessire M., Mallet S. & Guillot J.F. Microflora of the digestive tract: critical factors and consequences for poultry. *World's Poultry Science Journal*. 2006. **62**: 499-511.
- Gabriel I., Mallet S. & Sibille P. La microflore digestive des volailles: facteurs de variation et conséquences pour l'animal. *INRA Productions Animales*. 2005. **18**: 309-322.
- Gadoud R., Joseph M.M., Jussiau R., Lisberney M.J., Mangeol B., Montmeas L. & Tarrit A. *Nutrition et alimentation des animaux d'élevages* 1992. 286.
- Garcia V., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Sellier N. & Carre B. 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*. 2007. **1**: 1435-1442.
- Garrido M.N., Skjervheim M.O., H. & Sorum H. Acidified litter benefits the intestinal flora balance of broiler chickens. *Applied and Environmental Microbiology*. 2004. **70**: 5208-5213.
- Gaya L.G., Ferraz J.B.S., Rezende F.M., Mourao G.B., Mattos E.C., Eler J.P. & Michelon T. Heritability and genetic correlation estimates for performance and carcass and body composition traits in a male broiler line. *Poultry Science*. 2006. **85**: 837-843.
- Geraert P.A., MacLeod M.G., Larbier M. & Leclercq B. Nitrogen metabolism in genetically fat and lean chickens. *Poultry Science*. 1990. **69**: 1911-1921.
- Geyra A., Uni Z. & Sklan D. The effect of fasting at different ages on growth and tissue dynamics in the small intestine of the young chick. *British Journal of Nutrition*. 2001. **86**: 53-61.
- Gilbert H., Bidanel J.-P., Gruand J., Caritez J.-C., Billon Y., Guillouet P., Lagant H., Noblet J. & Sellier P. Genetic parameters for residual feed intake in growing pigs, with emphasis on genetic relationships with carcass and meat quality traits. *Journal of Animal Science*. 2007. **85**: 3182-3188.
- Gilbert H., Riquet J., Gruand J., Billon Y., Fève K., Sellier P., Noblet J. & Bidanel J.-P. Detecting QTL for feed intake traits and other performance traits in growing pigs in a Pietrain-Latge White backcross. *Animal*. 2010. **4**: 1308-1318.
- Gilbertson C.B., Norstadt F.A., Mathers A.C., Holt R.F., Barnett A.P., McCalla T.M., Onstad C.A. & Young R.A. *Animal waste utilization on cropland and pastureland - A manual for evaluating agronomic and environmental effects*. 1979.

- Giroux M. & Royer R. Effets à long terme des applications de phosphore sur les rendements, l'évolution des teneurs, de la saturation et de la solubilité du P dans deux sols très riches. *Agrosolutions*. 2007. **18**: 17-24.
- Glynn I.M. All hands to the sodium pump. *Journal of Physiology*. 1993. **462**: 1-30.
- Goldstein D.L. & Skadhauge E. Renal and extrarenal regulation of body fluid composition. In: *Avian Physiology* (ed. by Whittow GC), 2000. pp. 265-297.
- Golovan S.P., Meidinger R.G., Ajakaiye A., Cottrill M., Wiederkehr M.Z., Barney D.J., Plante C., Pollard J.W., Fan M.Z., Hayes M.A., Laursen J., Hjorth J.P., Hacker R.R., Phillips J.P. & Forsberg C.W. Pigs expressing salivary phytase produce low-phosphorus manure. *Nature Biotechnology*. 2001. **19**: 741-745.
- Gonzalez-Alvarado J.M., Jimenez-Moreno E., Valencia D.G., Lazaro R. & Mateos G.G. 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*. 2008. **87**: 1779-1795.
- Goodlad R.A., Levi S., Lee C.Y., Mandir N., Hodgson H. & Wright N.A. Morphometry and cell-proliferation in endoscopic biopsies - Evaluation of a technique. *Gastroenterology*. 1991. **101**: 1235-1241.
- Goopy J.P. & Hegarty R.S. Repeatability of methane production in cattle fed concentrates and forage diets. *Journal of Animal Feed Science*. 2004. **13**: 75-78.
- Gourley G. & Zimmermann D.R. Relationship of plasma urea nitrogen to carcass measurements and estimates of rate of lean growth in pigs of four strains. *Journal of Animal Science*. 1993. **71 (Suppl 1)**: 168 (Abstract).
- Grifford-Steffen S.R. & Clydesdale F.M. Effect of varying concentrations of phytate, calcium, and zinc on the solubility of protein, calcium, zinc, and phytate in soy protein concentrate. *Journal of Food Protection*. 1993. **56**: 42-46.
- Gronostajski R.M., Pardee A.B. & Goldberg A.L. The ATP dependence of the degradation of short- and long-lived proteins in growing fibroblasts. *The Journal of Biological Chemistry*. 1985. **260**: 3344-3349.
- Groot Koerkamp P.W.G. Review on emissions of ammonia from housing systems for laying hens in relation to sources, processes, building design and manure handling. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 1994. **59**: 73-87.



- Guenther G.G., Hylle L.M., Stahl C.M., Koutsos E.A. & Peterson D.G. Development of methods for the production of transgenic quail expressing an E. coli phytase gene. *Transgenic Research*. 2006. **15**: 128.
- Gutierrez del Alamo A., Verstegen M.W.A., Den Hartog L.A., Perez de Ayala P. & Villamide M.J. Effect of wheat cultivar and enzyme addition to broiler chicken diets on nutrient digestibility, performance, and apparent metabolizable energy content. *Poultry Science*. 2008. **87**: 759-767.
- Haer L.C.M.d., Luiting P. & Aarts H.L.M. Relations among individual (residual) feed intake, growth performance and feed intake pattern of growing pigs in group housing. *Livestock Production Science*. 1993. **36**: 233-253.
- Hahn J.D. & Baker D.H. Ideal digestible lysine levels for early and late-finishing swine. *Journal of Animal Science*. 1994. **72 (Suppl 2)**: 68 (Abstract).
- Haller M.Y., Muller S.R., McArdell C.S., Alder A.C. & Suter M. Quantification of veterinary antibiotics (sulphonamids and trimethoprim) in animal manure by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2001. **952**: 111-120.
- Halling-Sorensen B. Inhibition of aerobic growth and nitrification of bacteria in sewage sludge by antibacterial agents. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 2001. **40**: 451-460.
- Han I.K., Lee J.H., Piao X.S. & Defa L. Feeding and management system to reduce environmental pollution in swine production. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 2001. **14**: 432-444.
- Han J.C., Yang X.D., Zhang T., Li H., Li W.L., Zhang Z.Y. & Yao J.H. Effects of 1 $\alpha$ -hydroxicholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one- to twenty-one-day-old broilers. *Poultry Science*. 2009. **88**: 323-329.
- Harper A.F., Kornegay E.T. & Schell T.C. Phytase supplementation of low-phosphorus growing-finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. *Journal of Animal Science*. 1997. **75**: 3174-3186.
- Hartung J. & Phillips V.R. Control of gaseous emissions from livestock buildings and manure stores. *Journal of Agricultural Engineering Research*. 1994. **57**: 173-189.

- Hemme A., Spark M., Wolf P., Paschertz H. & Kamphues J. Effects of different phosphorus sources in the diet on bone composition and stability (breaking strength) in broilers. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2005. **89**: 129-133.
- Herd R.M. & Arthur P.F. Physiological basis for residual feed intake. *Journal of Animal Science*. 2009. **87(E. Suppl.)**: E64-E71.
- Herd R.M., Speck P.A. & Wynn P.C. Feed requirements for maintenance and growth of 1 yr old Angus steers selected for either fast or slow yearling growth rate. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 1991. **31**: 591-595.
- Hershko A. & Ciechanover A. Mechanisms of intracellular protein breakdown. *Annual Review of Biochemistry*. 1982. **51**: 335-364.
- Hetland H. & Svihus B. Effect of oat hulls on performance, gut capacity and feed passage time in broiler chickens. *British Poultry Science*. 2001. **42**: 415-422.
- Hetland H., Svihus B. & Krogdahl A. Effects of oat hulls and wood shavings on digestin in broilers and layers fed diets based on whole or ground wheat. *British Poultry Science*. 2003. **44**: 275-282.
- Hetland H., Svihus B. & Olaisen V. Effect of feeding whole cereals on performance, starch digestibility and duodenal particle size distribution in broiler chickens. *British Poultry Science*. 2002. **43**: 416-423.
- Hew L.I., Ravindran V., Mollah Y. & Bryden W.L. Influence of exogenous xylanase supplementation on apparent metabolisable energy and amino acid digestibility in wheat for broiler chickens. *Animal Feed Science and Technology*. 1998. **75**: 83-92.
- Hilfiker H., Hattenhauer O., Traebert M., Forster I., Murer H. & Biber J. Characterization of a murine type II sodiumphosphate cotransporter expressed in mammalian intestine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998. **95**: 14564-14569.
- Hill R.A. & Azain M. Growth and development symposium: The molecular basis for feed efficiency. *Journal of Animal Science*. 2009. **87 (E-suppl)**: E39-E40.
- Hittmeier L.J., Grapes L., Lensing R.L., Rothschild M.F. & Stahl C.H. Genetic background influences metabolic response to dietary phosphorus restriction. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2006. **17**: 385-395.
- Hjorth M., Nielsen A.M., Nyord T., Hansen M.N., Niessen P. & Sommer S.G. Nutrient value, odour emission and energy production of manure as influenced by anaerobic digestion and separation. *Agronomy for Sustainable Development*. 2009. **29**: 329-338.

- Htoo J.K., Sauer W.C., Yanez J.L., Cervantes M., Zhang Y., Helm J.H. & Zijlstra R.T. Effect of low-phytate barley or phytase supplementation to a barley-soybean meal diet on phosphorus retention and excretion by grower pigs. *Journal of Animal Science*. 2007. **85**: 2941-2948.
- Hurwitz S. & Bar A. Calcium and phosphorus interrelationships in the intestine of the fowl. *Journal of Nutrition*. 1971. **101**: 677-686.
- Husted S., Jensen L.S. & Jorgensen S.S. Reducing ammonia loss from cattle slurry by the use of acidifying additives: The role of the buffer system. *Journal of the Science Food and Agriculture*. 1991. **57**: 335-349.
- Huyghebaert G., de Groote G. & Geerse C. Influence d'une phytase microbienne sur l'utilisation du phosphore par les poulets de chair. *Revue de l'Agriculture*. 1992. **45**: 217-227.
- Huyghebaert G. & Pack M. Effects of dietary protein content, addition of nonessential amino acids and dietary methionine to cysteine balance on responses to dietary sulphur-containing amino-acids in broilers. *British Poultry Science*. 1996. **37**: 623-639.
- Ihnat M. & Fernandes L. Trace elemental characterization of composted poultry manure. *Bioresource Technology*. 1996. **57**: 143-156.
- Iji P.A., D.R. Tivey. Body and intestinal growth of broiler chicks on a commercial starter diet. 1. Intestinal weight and mucosal development. *British Poultry Science*. 2001. **42**: 505-513.
- Inboor J. & Bedford M.R. Stability of feed enzymes to steam pelleting during feed processing. *Animal Feed Science and Technology*. 1994. **46**: 179-196.
- INDTE (1994) Impacts of nitrogen deposition in terrestrial ecosystems. In: *Report of the United Kingdom Review Group on Impacts of Atmospheric Nitrogen*. Departement of the Environment, London, UK.
- INRA-AFZ. *L'alimentation des animaux monogastriques*. 1989.
- INRA-AFZ. Tables de composition et valeur nutritionnelle des matières premières. *Association Française de zootechnie*. 2004.
- Ishibashi T. & Ohta Y. Recent advances in amino acid nutrition for efficient poultry production - review. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 1999. **12**: 1298-1309.
- ITAVI. <http://www.itavi.asso.fr/economie/conjoncture/volailles.php> (08-08-2011).

- Jackson B.P. & Miller W.P. Soil solution chemistry of a fly ash-, poultry litter-, and sewage sludge-amended soil. *Journal of Environmental Quality*. 2000. **29**: 430-436.
- Jarvis S., Hutchings N., Brentrup F., Olesen J.E. & van de Hoek K.W. Nitrogen flows in farming systems across Europe. In: *The European Nitrogen Assessment* (eds. by Sutton MA, Howard CM, Erisman JW, Billen G, Bleeker A, Grennfelt P, Grinsven Hv & Grizzetti B), 2011. pp. 211-228.
- Jiménez-Moreno E., Gonzalez-Alvarado J.M., de Coca-Sinova A., Lazaro R. & Mateos G.C. Effects of source of fibre on the development and pH of the gastrointestinal tract of broilers. *Animal Feed Science and Technology*. 2009. **154**: 93-101.
- Jondreville C. & Dourmad J.Y. Le phosphore dans la nutrition des porcs. *INRA Productions Animales*. 2005. **18**: 183-192.
- Jondreville C., Révy P.S. & Dourmad J.Y. Dietary means to better control the environmental impact of copper and zinc by pigs from weaning to slaughter. *Livestock Production Science*. 2003. **84**: 147-156.
- Jones K. & D'Souza G. Trading poultry litter at the watershed level: a goal focusing application. *Agricultural & Resource Economics Review*. 2001. **30**: 56-65.
- Jongbloed A.W. & Jongbloed R. (1996) The effect of organic acids in diets for growing pigs on enhancement of microbial phytase efficacy. Institute for Animal Science and Health, Lelystad, The Netherlands.
- Jongbloed A.W., Mroz Z., van der Weij-Jongbloed R. & Kemme P.A. The effects of microbial phytase, organic acids and their interactions in diets for growing pigs. *Livestock Production Science*. 2000. **67**: 113-122.
- Jorgensen H., Sorensen P. & Eggum B.O. Protein and energy metabolism in broiler chickens selected for either body weight gain or feed efficiency. *British Poultry Science*. 1990. **31**: 517-524.
- Jung J.Y., Chung Y.C., Shin H.S. & Son D.H. Enhanced ammonia nitrogen removal using consistent biological regeneration and ammonium exchange of zeolite in modified SBR process. *Water Research*. 2004. **38**: 347-354.
- Kadam M.M., Mandal A.B., Bhanja S.K. & Kaur S. Reducing protein through supplementation of limiting amino acids in maize or sorghum based diets for growth and immuno-competence of broiler chickens. *Indian Journal of Animal Science*. 2007. **77**: 912-917.

- Kadhim K.K., Zuki A.B.Z., Noordin M.M., Babjee S.A. & Khamas W. Growth Evaluation of Selected Digestive Organs from Day One to Four Months Post-Hatch in Two Breeds of Chicken Known to Differ Greatly in Growth Rate. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010. **9**: 995-1004.
- Kadim I.T., Moughan P.J. & Ravindran V. Ileal amino acid digestibility assay for the growing meat chicken-comparison of ileal and excreta amino acid digestibility in the chicken. *British Poultry Science*. 2002. **43**: 588-597.
- Kamisoyama H., Honda K., Isshiki Y. & Hasegawa S. Effects of dietary protein levels on the nutrient digestibility at different sites of chicken intestines. *Journal of Poultry Science*. 2009. **46**: 193-197.
- Kasim A.B. & Edwards Jr. H.M. Effect of source of maize and maize particle sizes on the utilization of phytate phosphorus in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*. 2000. **86**: 15-26.
- Katai K., Miyamoto K., Kishida S., Segawa H., Nii T., Tanaka H., Tani Y., Arai H., Tatsumi S., Morita K., Taketani Y. & Takeda E. Regulation of intestinal Na-dependent phosphate cotransporters by a low-phosphate diet and 1,25-dehydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Biochemical Journal*. 1999. **343**: 705-712.
- Kelleher B.P., Leahy J.J., Henihan A.M., O'Dwyer T.F., Sutton D. & Leahy M.J. Advances in poultry litter disposal technology - a review. *Bioresource Technology*. 2002. **83**: 27-36.
- Kemme P.A., Jongbloed A.W., Mroz Z. & Mäkinen M. Apparent ileal amino acid digestibility in pigs as affected by phytate, microbial phytase, and lactic acid. *Journal of Animal Science*. 1995. **73 (Suppl 1)**: 173.
- Kemper N. Veterinary antibiotics in the aquatic and terrestrial environment. *Ecological Indicators*. 2008. **8**: 1-13.
- Kerr M.J., Classen H.L. & Newkirk R.W. The effects of gastrointestinal tract micro-flora and dietary phytase on inositol hexaphosphate hydrolysis in the chicken. *Poultry Science*. 2000. **79 (Suppl 1)**: 11 (Abstract).
- Keshavarz K. Nonphytate phosphorus requirement of laying hens with and without phytase on a phase feeding program. *Poultry Science*. 2000. **79**: 748-763.
- Khambualai O., Yamauchi K., Tangtaweewipat S. & Cheva-Isarakul B. Growth performance and intestinal histology in broiler chickens fed with dietary chitosan. *British Poultry Science*. 2009. **50**: 592-597.

- Kidd M.T., Gerard P.D., Heger J., Kerr B.J., Rowe D., Sistani K.R. & Burnham D.J. Threonine and crude protein responses in broiler chicks. *Animal Feed Science and Technology*. 2001. **94**: 57-64.
- Kies A.K. *Phytase studies in pigs and poultry. Effect on protein digestion and energy utilisation*. Wageningen Institute of Animal Science. Wageningen University. 2005.
- Kim J.C., Mullan B.P. & Pluske J.R. A comparison of waxy versus non-waxy wheat in diets for weaner pigs: effects of particule size, enzume supplementation, and collection day on total tract apparent digestibility and pig performance. *Animal Feed Science and Technology*. 2005. **120**: 51-65.
- Kim W.K., Froelich C.A., Patterson P.H. & Ricke S.C. The potential to reduce poultry nitrogen emissions with dietary methionine or methionine analogues supplementation. *World's Poultry Science Journal*. 2006. **62**: 338-353.
- Kingery W.L., Wood C.W., Delaney D.P., Williams J.C. & Mullins C. Impact of long-term land application of broiler litter on environmentally related soil properties. *Journal of Environmental Quality*. 1994. **23**: 139-147.
- Kita K., Muramatsu T. & Okumura J. Influence of excess protein intake on whole-body protein synthesis in chicks. *Nutrition Reports International*. 1989. **39**: 1091-1097.
- Knowles T.G. & Wilkins L.J. The problem of broken bones during the handling of laying hens - A review. *Poultry Science*. 1998. **77**: 1798-1802.
- Knowlton K.F., Radcliffe J.S., Novak C.L. & Emmerson D.A. Animal management to reduce phosphorus losses to the environment. *Journal of Animal Science*. 2004. **82**: E173-E195.
- Kornegay E.T. & Qian H. Replacement of inorganic phosphorus by microbial phytase for young pigs fed on a maize-soyabean meal diet. *British Journal of Nutrition*. 1996. **76**: 563-578.
- Kotak B.G., Kenefick S.L., Fritz D.L., Rousseaux C.G., Prepas E.E. & Hrudey S.E. Occurrence and toxicological evaluation of cyanobacterial toxins in Alberta lakes and farm dugouts. *Water Research*. 1993. **27**: 495-506.
- Kristensen H.H. & Wathes C.M. Ammonia and poultry welfare: a review. *World's Poultry Science Journal*. 2000. **56**: 235-245.
- Kroodsma W. & Ogink N.W.M. Volatile emissions from cow cubicle houses and its reduction by immersion of the slats with acidified slurry. *Proceedings of the International*

- Symposium on Ammonia and Odour Emissions from Animal production*. 1997: 475-483. Vinkeloord, The Netherlands.
- Kumar K., Gupta S.C., Chander Y. & Singh A.K. Antibiotic use in agriculture and its impact on the terrestrial environment. *Advances in Agronomy*. 2005. **87**: 1-54.
- Lafeuille O. (2007) Etude de l'influence de la sélection sur l'aptitude à digérer le blé sur le comportement alimentaire chez les poulets de chair.
- Laird A.K., Tyler S.A. & Barton A.D. Dynamics of normal growth. *Growth*. 1965. **29**: 233-248.
- Lanyon L.E. & Thompson P.B. Changing emphasis of farm production. In: *Animal agriculture and the environment: nutrients, pathogens, and community relations* (eds. by Salis M & Popow J), 1996. pp. 15-23.
- Larbier M. & Leclercq B. *Nutrition et alimentation des volailles* 1992. 361 p.
- Laroche M. & Boyer J.F. Phosphate diabetes, tubular phosphate reabsorption and phosphatonins. *Joint Bone Spine*. 2005. **72**: 376-381.
- Larson S.R., Young K.A., Cook A., Blake T.K. & Raboy V. Linkage mapping two mutations that reduce phytic acid content of barley grain. *Theoretical and Applied Genetics*. 1998. **97**: 141-146.
- Latimier P. & Pointillart A. Influence de l'apport de phosphore (0.4-0.5-0.6) sur les performances, les rejets de phosphore et la minéralisation osseuse chez le porc charcutier. *Journée de Recherche Porcine*. 1993. **25**: 277-286.
- Latshaw J.D. & Zhao L. Dietary protein effects on hen performance and nitrogen excretion. *Poultry Science*. 2011. **90**: 99-106.
- Le Bihan-Duval E., Berri C., Baeza E., Millet N. & Beaumont C. Estimation of the genetic parameters of meat characteristics and of their genetic correlations with growth and body composition in an experimental broiler line. *Poultry Science*. 2001. **80**: 839-843.
- Leclercq B. Les rejets azotés issus de l'aviiculture: importance et progrès envisageables. *INRA Productions Animales*. 1996. **9**: 91-101.
- Ledur M.C., Melo C.M.R., Nones K., Zanella E.L., Ninov K., Bonassi C.A., Jaenisch F.R.F., Moura A.S.A.M.T., Coutinho L.L. & Schmidt G.S. Genetic and phenotypic parameters for organs, body and carcass weights, and haematocrit value, in a broiler x layer cross resource population. *8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. 2006. Belo Horizonte, MG, Brazil.

- Leenstra F.R. & Cahaner A. Genotype by environment interactions using fast-growing, lean or fat broiler chickens, originating from The Netherlands and Israel, raised at normal or low temperature. *Poultry Science*. 1991. **70**: 2028-2039.
- Leenstra F.R. & Pit R. Fat deposition in a broiler sire strain. 3. Heritability of and genetic correlations among body-weight, abdominal fat, and feed conversion. *Poultry Science*. 1988. **67**: 1-9.
- Lefcourt A.M. & Meisinger J.J. Effect of adding alum or zeolite to dairy slurry on ammonia volatilization and chemical composition. *Journal of Dairy Science*. 2001. **84**: 1814-1821.
- Leip A., Achermann B., Billen G., Bleeker A., Bouwman A.F., de Vries W., Dragosits U., Döring U., Fernall D., Geupel M., Herolstab J., Johnes P., Le Gall A.C., Monni S., Nevececal R., Orlandini L., Prud'homme M., Reuter H.I., Simpson D., Seufert G., Spranger T., Sutton A.L., van Aardenne J., Voß M. & Viniwarter W. Integrating nitrogen fluxes at the European scale. In: *The European Nitrogen Assessment* (eds. by M.A. Sutton, C.M. Howard, J.W. Erisman, G. Billen, A. Bleeker, P. Grennflet, Grinsven Hv & Grizzetti B), 2011. pp. 345-376.
- Lentle R.G. The macrobiophysics of digesta: implications for the poultry industry. *Proceedings of the Australian Poultry Science Symposium*. 2005. **17**: 163-170.
- Lescoat P., Travel A. & Nys Y. Lois de réponse des volailles de chair à l'apport de phosphore. *INRA Productions Animales*. 2005. **18**: 193-201.
- Lessire M. Valeurs nutritives pour les volailles. In: *Tables de composition et de valeur nutritives* (ed. by INRA-AFZ), 2004. pp. 37-41.
- Letourneau-Montminy M.P. *Modélisation du métabolisme phosphocalcique chez le porc et le poulet en croissance*. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement - Université de Laval. AgroParisTech. 2009.
- Letourneau-Montminy M.P., Lescoat P., Narcy A., Sauvant D., Bernier J.F., Magnin M., Pomar C., Nys Y. & Jondreville C. Effect of reduced dietary calcium and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilisation in broilers with modified mineral status. *British Poultry Science*. 2008. **49**: 705-715.
- Letourneau-Montminy M.P., Narcy A., Lescoat P., Bernier J.F., Magnin M., Pomar C., Nys Y., Sauvant D. & Jondreville C. Meta-analysis of phosphorus utilisation by broilers receiving corn-soybean meal diets: influence of dietary calcium and microbial phytase. *Animal*. 2010. **4**: 1844-1853.



- Letourneau-Montminy M.P., Narcy A., Lescoat P., Magnin M., Bernier J.F., Sauvant D., Jondreville C. & Pomar C. Modeling the fate of dietary phosphorus in the digestive tract of growing pigs. *Journal of Animal Science*. 2011. **In press**.
- Levy S.B. *The antibiotic paradox. How miracle drugs are destroying the miracle*. 1992.
- Li D., Che X., Wang Y., Hong C. & Thacker P.A. Effect of microbial phytase, vitamin D<sub>3</sub>, and citric acid on growth performance and phosphorus, nitrogen and calcium digestibility in growing swine. *Animal Feed Science and Technology*. 1998. **73**: 173-186.
- Li Y.C., Ledoux D.R., Veum T.L., Raboy V. & Ertl D.S. Effects of low phytic acid corn on phosphorus utilization, performance, and bone mineralization in broiler chicks. *Poultry Science*. 2000. **79**: 1444-1450.
- Lien K.A., Sauer W.C. & He J.M. Dietary influences on the secretion into and degradation of mucin in the digestive tract of monogastric animals and humans. *Journal of Animal and Feed Science*. 2001. **10**: 223-245.
- Linares L.B., J.N. B., Guaiume E.A., Ledoux D.R., Veum T.L. & Raboy V. Effects of low phytate barley (*Hordeum vulgare* L.) on zinc utilization in young broiler chicks. *Poultry Science*. 2007. **86**: 229-308.
- Ling B., Angel C.R., Applegate T.J., Zimmermann N.G. & Dhanhu A.S. The non-phytate requirement of broilers in a four phase feeding program. *Poultry Science*. 2000. **79 (Suppl 1)**: 11.
- Liu J., Bollinger D.W., Ledoux D.R. & Veum T.L. Effects of dietary calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in the small intestine, cecum, and colon of pigs. *Journal of Animal Science*. 2000. **78**: 106-109.
- Liu Z.F., Wang L.J., Beasley D. & Oviedo E. Effect of moisture content on ammonia emissions from broiler litter: A laboratory study. *Journal of Atmospheric Chemistry*. 2007. **58**: 41-53.
- Lopez J.D., deSegura I.A.G., Guiral J., Vazquez P., Diaz J., Codesal J., Vaquero C. & deMiguel E. Effect of neurotensin on the development of suckling rats with intestinal resection. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*. 1996. **88**: 107-110.
- Lu J.J., Huang C.W. & Chou R.G.R. The effects of DL-methionine and DL-methionine hydroxy analogue on growth performance, contents of serum amino-acids and activities of digestive proteases in broilers. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 2003. **16**: 714-718.

- Luiting P., Urff E.M. & Verstegen M.W.A. Between-animal variation in biological efficiency as related to residual feed consumption. *Netherlands Journal of Agricultural Science*. 1994. **42**: 59-67.
- MacLeod A., Thieme O. & Mack S.D. Structural changes in the poultry sector: will there be smallholder poultry development in 2030? *Proceedings of the XXIII World's Poultry Congress*. 2008. Brisbane, Australia.
- MacLeod M.G., Whitehead C.C., Griffin H.D. & Jewitt T.R. Energy and nitrogen retention and loss in broiler chickens genetically selected for leanness and fatness. *British Poultry Science*. 1988. **29**: 285-292.
- Maguire R.O., Dou Z., Sims J.T., Brake J. & Joern B.C. Dietary strategies for reduced phosphorus excretion and improved water quality. *Journal of Environmental Quality*. 2005. **34**: 2093-2103.
- Maguire R.O., Plumstead P.W. & Brake J. Impact of diet, moisture, location, and storage on soluble phosphorus in broiler breeder manure. *Journal of Environmental Quality*. 2006. **35**: 858-865.
- Mahimairaja S., Bolan N.S., Hedley M.J. & MacGregor A.N. Evaluation of methods of measurement of nitrogen in poultry and animal manures. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 1990. **24**: 141-148.
- Manangi M.K., Sands J.S. & Coon C.N. Effect of adding phytase to broiler diets containing low and high phytate phosphorus: 1. Performance, phytate P hydrolysis, tibia ash, litter phosphorus and Ca and P digestion and retention. *International Journal Of Poultry Science*. 2009. **8**: 919-928.
- Marieb E.N. Anatomie et physiologie humaine. *Benjamin-Cummings Pub Co*. 1999.
- Marković R., Šefer D., Krstić M. & Petrujkić B. Effect of different growth promoters on broiler performance and gut morphology. *Archivos de medicina veterinaria*. 2009. **41**: 163-169.
- Martinez-Amezcuca C., Parsons C.M. & Baker D.H. Effect of microbial phytase and citric acid on phosphorus bioavailability, apparent metabolizable energy, and amino acid digestibility in distillers dried grains with solubles in chicks. *Poultry Science*. 2006. **85**: 470-475.
- Mata A., Desegura I.A.G., Candelas S., Codesal J. & Demiguel E. Intestinal trophic effect of neurotensin after colectomy. *Revista Espanola de Enfermedades Digestivas*. 1994. **85**: 15-18.

- Matthews D.M. Intestinal absorption of peptides. *Physiological Reviews*. 1975. **55**: 537-608.
- Matur E., Ulker C., Arslan M., Elif E., Akyazi I. & Evren E. The effects of *Enterococcus faecium* NCIMB10415 on the development of pancreas and small intestine and on activity of pancreatic digestive enzymes in broiler chickens. *Archiv fur Geflugelkunde*. 2007. **71**: 162-168.
- Mayer E.A. The physiology of gastric storage and emptying. In: *Physiology of the gastrointestinal tract* (eds. by Johnson LR, Alpers DH, Christensen J & Jacobsen E), 1994. pp. 929-976.
- McCollum R.E. Buildup and decline in soil phosphorus: 30-year trends on a Typic Umprabuult. *Agronomic Journal*. 1991. **83**: 77-85.
- McCrary D.F. & Hobbs P.J. Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock wastes: a review. *Journal of Environmental Quality*. 2001. **30**: 345-355.
- McCubbin D.R., Apelberg B.J., Roe S. & Divita F. Livestock ammonia management and particulate-related health benefits. *Environmental Science & Technology*. 2002. **36**: 1141-1146.
- McDevitt R.M., McEntee G.M. & Rance K.A. Bone breaking strength and apparent metabolisability of calcium and phosphorus in selected and unselected broiler chicken genotypes. *British Poultry Science*. 2006. **47**: 613-621.
- McEntee G.M., Rance K.A. & McDevitt R.M. Form and function in the broiler chicken: the relationship between gastrointestinal morphological parameters and digestive functional physiology. *British Poultry Science*. 2003. **44**: S35-S36.
- McGrath J.M., Sims J.T., Maguire R.O., Saylor W.W., Angel C.R. & Turner B.V. Broiler diet modification and litter storage: Impacts on broiler litter phosphorus. *Journal of Environmental Quality*. 2005. **34**: 1896-1909.
- McGrath S.P., Chaudri A.M. & Giller K.E. Long term effects of metals in sewage sludge on soils, microorganisms and plants. *Journal of Industrial Microbiology*. 1995. **14**: 94-104.
- Mehlich A. Determination of P, Ca, Mg, K, Na, NH<sub>4</sub> by the North Carolina soil testing laboratory. *North Carolina State University*. 1953. Raleigh, USA.
- Mellef J., Dridi A., El Bahri L. & Belhaj O. Revue des effets de l'ajout de phytase microbienne sur la biodisponibilité du phosphore et les performances des volailles. *Revue de médecine Vétérinaire*. 2010. **161**: 342-352.

- Meluzzi A. & Sirri F. Welfare of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science*. 2009. **8**: 161-173.
- Mendoza C., Viteri F.E., Lönnerdal B., Young K.A., Raboy V. & Brown K.H. Effect of genetically modified, low-phytic acid maize on absorption of iron from tortillas. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1998. **68**: 1123-1128.
- Meschy F., Jondreville C., Dourmad J.Y., Narcy A. & Nys Y. Maîtrise des rejets de phosphore dans les effluents d'élevage. *INRA Productions Animales*. 2008. **21**: 79-86.
- Mignon-Grasteau S., Bourblanc M., Carré B., Dourmad J.Y., Gilbert H., Juin H., Noblet J. & Phocas F. La réduction des rejets avicoles et porcins par la sélection. *INRA Productions Animales*. 2010a. **23**:415-426.
- Mignon-Grasteau S., Juin H., Sellier N., Bastianelli D., Gomez J. & Carré B. Genetic parameters of digestibility of wheat- or corn-based diets in chickens. *9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*. 2010b 4p. Leipzig, Germany.
- Mignon-Grasteau S., Lafeuille O., Dourmad J.Y., Hillion S., Bastianelli D., Arnould C., Phocas F. & Carré B. Consequences of selection for digestibility on feeding activity and excretion. *XIIIth European Poultry Conference*. 2010c. **66**: 615. Tours, France.
- Mignon-Grasteau S., Muley N., Bastianelli D., Gomez J., Peron A., Sellier N., Millet N., Besnard J., Hallouis J.M. & Carré B. Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat diet. *Poultry Science*. 2004. **83**: 860-867.
- Miles D.M., Branton S.L. & Lott B.D. Atmospheric ammonia is detrimental to the performance of modern commercial broilers. *Poultry Science*. 2004. **83**: 1650-1654.
- Miles D.M., Rowe D.E. & Cathcart T.C. Litter ammonia generation: Moisture content and organic versus inorganic bedding materials. *Poultry Science*. 2011. **90**: 1162-1169.
- Miner J.R., Raja S.N. & McGregor W. Finely ground zeolite as an odour control additive immediately prior to sprinkler application of liquid dairy manure. *Proceedings of the International Symposium on Ammonia and Odour Emissions from Animal Production*. 1997: 717-720. Vinkeloord, The Netherlands.
- Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire. Les nitrates. <http://agriculture.gouv.fr/les-nitrates> (24-06-2011).
- Minvielle F. *Principes d'amélioration génétique des animaux domestiques* 1990. 211 p.

- Miquel G. La qualité de l'eau et de l'assainissement en France. *Office parlementaire d'évaluation des choix scientifiques et technologiques (Sénat)*. **Rapport n° 215, tome 1**. 2003.
- Mitchell M.A. & Smith M.W. The effects of genetic selection for increased growth rate on mucosal and muscle weights in the different regions of the small intestine of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A Comparative Physiology*. 1991. **99**: 251-258.
- Mobley H.L.T., Island M.D. & Hausinger R.P. Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews*. 1995. **59**: 451-480.
- Mohammed A., Gibney M. & Taylor T.G. The effect of dietary levels of inorganic phosphorus, calcium and cholecalciferol on the digestibility of phytate-P by the chick. *British Journal of Nutrition*. 1991. **66**: 251-259.
- Mohanna C. & Nys Y. Effect of dietary zinc content and sources on the growth, body zinc deposition and retention, zinc excretion and immune response in chickens. *British Poultry Science*. 1999. **46**: 108-114.
- Monteiro D.O., Carvalho Pinheiro V.M., Medeiros Mourão J.L. & Machado Rodrigues M.A. Strategies for mitigation of nitrogen environmental impact from swine production. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2010. **39**: 317-325.
- Montminy M.P., Jondreville C., Lescoat P., Meschy F., Pomar C., Bernier J.F. & Sauvant D. First step of a model calcium and phosphorus metabolism in growing pigs: fate of ingested phosphorus in the stomach. *Livestock Science*. 2007. **109**: 63-65.
- Moore Jr. P.A., Daniel T.C. & Edwards D.R. Reducing phosphorus runoff and inhibiting ammonia loss from poultry manure with aluminum sulfate. *Journal of Environmental Quality*. 2000. **29**: 37-49.
- Moore Jr. P.A., Daniel T.C., Gilmour J.T., Shreve B.R., Edwards D.R. & Wood B.H. Decreasing metal runoff from poultry litter with aluminium sulfate. *Journal of Environmental Quality*. 1998. **27**: 92-99.
- Moore Jr. P.A., Daniel T.C., Wood C.W. & Sharpley A.N. Poultry manure management: environmentally sound options. *Journal of Soil and Water Conservation*. 1995. **50**: 321-327.
- Moore Jr. P.A. & Miller D.M. Decreasing phosphorus solubility in poultry litter with aluminum, calcium and iron amendments. *Journal of Environmental Quality*. 1994. **23**: 325-330.

- Moran E.T., Jr. Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development. *The Journal of Nutrition*. 1985. **115**: 665-674.
- Morel P.C.H. & Wood G.R. Optimisation of nutrient use to maximise profitability and minimise nitrogen excretion in pig meat production systems. *IIIrd international symposium on applications of modelling as an innovative technology in the agri-food chain*. 2005. Leuven, Belgium.
- Mosenthin R., Sauer W.C., Ahrens F., de Lange C.F.M. & Bornholdt U. Effect of dietary supplements of propionic acid, siliceous earth or a combination of these on the energy, protein and amino acid digestibilities and concentrations of microbial metabolites in the digestive tract of growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 1992. **37**: 245-255.
- Mroz Z., Jongbloed A.W., Partanen K., Van Diepen J.T.M., Kemme P.A. & Kogut J. Apparent digestibility of amino acids and balance of nitrogen and minerals as influenced by buffering capacity and organic acids in diets for growing swine. *Journal of Animal Science*. 1997. **75 (Suppl 1)**: 185 (Abstract).
- Mukhtar S., Ullman J.L., Carey J.B. & Lacey R.E. A review of literature concerning odors, ammonia, and dust from broiler production facilities: 3. Land application, processing, and storage of broiler litter. *Journal of Applied Poultry Research*. 2004. **13**: 514-520.
- Nagaraj M., Wilson C.A.P., Saenmahayak B., Hess J.B. & Bilgili S.F. Efficacy of a litter amendment to reduce pododermatitis in broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*. 2007. **16**: 255-261.
- Nahm K.H. Current pollution and odor control technologies for poultry production. *Avian and Poultry Biology Reviews*. 2003a. **14**: 151-174.
- Nahm K.H. Evaluation of the nitrogen content in poultry manure. *World's Poultry Science Journal*. 2003b. **59**: 77-88.
- Nahm K.H. Feed formulations to reduce N excretion and ammonia emission from poultry manure. *Bioresource Technology*. 2007. **98**: 2282-2300.
- Namroud N.F., Shivazad M. & Zaghari M. Effects of fortifying low crude protein diet with crystalline amino acids on performance, blood ammonia level, and excreta characteristics of broiler chicks. *Poultry Science*. 2008. **87**: 2250-2258.
- Namroud N.F., Shivazad M. & Zaghari M. Impact of dietary crude protein and amino acids status on performance and some excreta characteristics of broiler chicks during 10-28 days of age. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2010. **94**: 280-286.

- Nandi S., Maurer J., Hofacre C. & Summers A.O. Gram-positive bacteria are a major reservoir of class 1 antibiotic resistance integrons in poultry litter. *Proceedings of the National Academy of Science*. 2004. **101**: 7118-7122.
- Narcy A., Jondreville C., Letourneau-Montminy M.P., Magnin M. & Nys Y. Voies nutritionnelles d'économie de phosphore chez le poulet. *8èmes Journées de la Recherche Avicole*. 2009: 115-123. Saint Malo, France.
- Negahban G., Kiker K., Campbell K., Jones J., Boggess W., Fonyo C. & Flaig E. GIS-based hydrologic modeling for dairy runoff phosphorous management. In: *Integrated Resource Management and Landscape modification for environmental protection* (ed. by ASAE), 1993. pp. 330-339.
- Nelson T.S. The utilization of phytate phosphorus by poultry: a review. *Poultry Science*. 1967. **46**: 862-871.
- Neumaier A. & Groeneveld E. Restricted maximum likelihood of covariances in sparse linear models. *Genetics Selection Evolution*. 1998. **30**: 13-26.
- Ni J.Q., Heber A.J., Hanni S.M., Lim T.T. & Diehl C.A. Characteristics of ammonia and carbon dioxide releases from layer hen manure. *British Poultry Science*. 2010. **51**: 326-334.
- Nicholson F.A., Chambers B.J., Williams J.R. & Unwin R.J. Heavy metal contents of livestock feeds and animal manures in England and Wales. *Bioresource Technology*. 1999. **23**: 23-31.
- Nir I., Hillel R., Shefet G. & Nitsan Z. Effect of grain particle size on performance. 2. Grain texture interactions. *Poultry Science*. 1994. **73**: 781-791.
- Nordskog A.W., French H.L., C.R. A. & Casey D.W. Breeding for efficiency of egg production. *World's Poultry Science Journal*. 1972. **29**: 175-188.
- NRC. Committee on odors from stationary and mobile sources. *National Research Council, National Academy of Science, Washington, DC, USA*. 1979.
- NRC. Nutrient requirements of poultry. *9th rev. Ed National Academy Press, Washington, DC, USA*. 1994.
- Nyachoti C.M., de Lange C.F.M., McBride B.W., Leeson S. & Gabert V.M. Endogenous gut nitrogen losses in growing pigs are not caused by increased protein synthesis rates in the small intestine. *Journal of Nutrition*. 2000. **130**: 566-572.
- Nys Y. Oligo-éléments, croissance et santé du poulet de chair. *INRA Productions Animales*. 2001. **14**: 171-180.

- Nys Y., Révy P.S. & Jondreville C. Zinc, cuivre et manganèse en aviculture : rôle, disponibilité et risque pour l'environnement. *3èmes Journées de la Recherche Avicole* 2003. Tours, France.
- Oddy V.H., Herd R.M., McDonagh M.B., Woodgate R., Quin C.A. & Zirkler K. Effect of divergent selection for yearling growth rate on protein metabolism in hind-limb muscle and whole body of Angus cattle. *Livestock Production Science*. 1998. **56**: 225-231.
- O'Dell B.L., Newberne P.M. & Savage J.E. An abnormality of the proventriculus caused by feed texture. *Poultry Science*. 1959. **38**: 296-301.
- Oenema O., Bleeker A., Breethen N.A., Budnakova M., Bull K., Cermak P., Geupel M., Hicks K., Hoft R., Kozlova N., Leip A., Spranger T., Valli L., Velthof G. & Winiwarter W. Nitrogen in current European policies. In: *The European Nitrogen Assessment* (eds. by Sutton MA, Howard CM, Erisman JW, Billen G, Bleeker A, Grennflet P, Grinsven Hv & Grizzetti B), 2011. pp. 62-81.
- Officer D.I. & Batterham E.S. Enzyme supplementation of Linola<sup>TM</sup> meal for growing pigs. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 1992. **9**: 288-296.
- Onyango E.M., Hester P.Y., Stroshine R. & Adeola O. Bone densitometry as an indicator of percentage tibia ash in broiler chicks fed varying dietary calcium and phosphorus levels. *Poultry Science*. 2003. **82**: 1787-1791.
- Oviedo-Rondon E.O., Ferket P.R. & Havenstein G.B. Understanding long bone development in broilers and turkeys. *Avian and Poultry Biology Reviews*. 2006. **17**: 77-88.
- Pain B.F., Thompson R.B., Rees Y.J. & Skinner J.H. Reducing gaseous losses of nitrogen from cattle slurry applied to grassland by the use of additives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1990. **45**: 141-153.
- Pain B.F., Van der Weeden T.J., Chambers B.J., Phillips V.T. & Jarvis S.C. A new inventory for ammonia emissions from U.K. agriculture. *Atmospheric Environment*. 1998. **32**: 309-313.
- Panda A.K., Raju M.V.L.N., Rao S.V.R., Sunder G.S. & Reddy M.R. Effect of graded levels of formic acid on gut microflora count, serum biochemical parameters, performance and carcass yield of broiler chickens. *Indian Journal of Animal Sciences*. 2009. **79**: 1165-1168.
- Parry R. Agricultural phosphorus and water quality; A US Environmental Protection Agency perspective. *Journal of Environmental Quality*. 1998. **27**: 258-261.



- Parsons C.M. Nutrient utilization and methods of assessment - An environmental perspective. *Deagussa Technical Symposium*. 1995. 1-5. Indianapolis, IN. USA.
- Partanen K. & Mroz Z. Organic acids as an alternative for prophylactic medication of pig diets. *Nutrition Research Review*. 1999. **12**: 117-145.
- Peng Y.L., Guo Y.M. & Yuam J.M. Effects of phytase replacing partial inorganic phosphorus supplementation and xylanase on the growth performance and nutrient digestibility in broilers fed wheat-based diets. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 2003. **16**: 239-247.
- Péron A., Gomez J., Mignon-Grasteau S., Sellier N., Besnard J., Derouet M., Juin H. & Carré B. Effects of wheat quality on digestion differ between the D+ and D- chicken lines selected for divergent digestion capacity. *Poultry Science*. 2006. **85**: 462-469.
- Pickford J.R. Effects of processing on the stability of heat labile nutrients in animal feed. In: *Recent advances in animal nutrition* (eds. by Garnsworthy PC, Haresign W & Cole DJA), 1992. pp. 177-192.
- Pinares-Patino C.S., Ulyatt M.J., Lassey K.R., Barry T.N. & Holmes C.W. Persistence of differences between sheep in methane emission under generous grazing conditions. *Journal of Agricultural Science*. 2003. **140**: 227-233.
- Plumstead P.W., Romero-Sanchez H., Maguire R.O., Gernat A.G. & Brake J. Effects of phosphorus level and phytase in broiler breeder rearing and laying diets on live performance and phosphorus excretion. *Poultry Science*. 2007. **86**: 225-231.
- Pointillart A. Phytates, phytases : leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRA Productions Animales*. 1994. **1**:29-39.
- Pope T., Loupe L.N., Pillai P.B. & Emmert J.L. Growth performance and nitrogen excretion of broilers using a phase-feeding approach from twenty-one to sixty-three days of age. *Poultry Science*. 2004. **83**: 676-682.
- Portejoie S., J. Martinez, G. Landmann. L'ammoniac d'origine agricole : impacts sur la santé humaine et animale et sur le milieu naturel. *INRA Productions Animales*. 2002. **15**: 151-160.
- Pym R.A.E. Nutritional Genetics. In: *Poultry Breeding and Genetics* (ed. by Crawford RD), 1990. pp. 847-876.
- Pym R.A.E. & Solvyns A.J. Selection for food conversion in broilers: body composition of birds selected for increased body-weight gain, food consumption and food conversion ratio. *British Poultry Science*. 1979. **20**: 87-89.

- Qian H., Kornegay E.T. & Conner D.E. Adverse effects of wide calcium: phosphorus and calcium as influenced by microbial phytase, cholecalciferol and the calcium: total phosphorus ratio in broiler diets. *Poultry Science*. 1996. **76**: 37-46.
- Quideau P. Les effluents d'élevage, les co-produits de traitement et leurs incidences environnementales. In: *Elevages et environnement* (ed. by Sick I), 2010. pp. 120-185.
- Raboy V. Progress in breeding low phytate crops. *Journal of Nutrition*. 2002. **132**.
- Raboy V., Gerbasi P.F., Young K.A., Stoneberg S.D., Pickett S.G., Bauman A.T., Murthy P.P.N., Sheridan W.F. & Ertl D.S. Origin and seed phenotypic of maize low phytic acid 1-1 and low phytic acid 2-1. *Plant physiology*. 2000. **124**: 355-368.
- Raboy V., Young K.A., Dorsch J.A. & Cook A. Genetics and breeding of seed phosphorus and phytic acid. *Journal of Plant Physiology*. 2001. **158**: 489-497.
- Rama Rao S.V., Raju M.V.L.N., Panda A.K., Shyam Sunder G. & Sharma R.P. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization, and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. *Journal of Applied Poultry Research*. 2006. **15**: 493-501.
- Rance K.A., McEntee G.M. & McDevitt R.M. Genetic and phenotypic relationships between and within support and demand tissues in a single line of broiler chicken. *British Poultry Science*. 2002. **43**: 518-527.
- Rapp C., Lantzsch H.J. & Drochner W. Hydrolysis of phytic acid by intrinsic plant and supplemented microbial phytase (*Aspergillus niger*) in the stomach and small intestine of minipigs fitted with re-entrant cannulas. 3. Hydrolysis of phytic acid (IP<sub>6</sub>) and occurrence of hydrolysis products (IP<sub>5</sub>, IP<sub>4</sub>, IP<sub>3</sub> and IP<sub>2</sub>). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)*. 2001. **85**: 420-430.
- Rasmussen S.K. & Hartzack F. Identification of two-phytate barley (*Hordeum vulgare* L.) grain mutants by TLC and genetic analysis. *Hereditas*. 1998. **129**: 107-112.
- Ravindran V., Selle P.H. & Bryden W.L. Effects of phytase supplementation, individually and in combination, with glycanase, on the nutritive value of wheat and barley. *Poultry Science*. 1999. **78**: 1588-1595.
- Ravindran V., Morel P.C.H., Patridge I.G., Hruby M. & Sands J.S. Influence of an *E. coli*-derived phytase on nutrient utilization in broiler starters fed diets containing varying concentrations of phytic acid. *Poultry Science*. 2006a. **85**: 82-89.

- Ravindran V., Wu Y.B., Thomas D.G. & Morel P.C.H. Influence of whole wheat feeding on the development of gastrointestinal tract and performance of broiler chickens. *Australian Journal of Agricultural Research*. 2006b. **57**: 21-26.
- Ravindran V. & Amerah A.M. Improving the nutritive value of feedstuffs using new technologies. *Proceedings of the 23th Worlds Poultry Science Congress*. 2008. 108. Brisbane, Australia.
- Reece F.N., Lott B.D. & Deaton J.W. Ammonia in the atmosphere during brooding affects performance of broiler chickens. *Poultry Science*. 1980. **59**: 486-488.
- Reece F.N., Lott B.D. & Deaton J.W. Low concentrations of ammonia during brooding decrease broiler weight. *Poultry Science*. 1981. **60**: 937-940.
- Réglement de la Commission n°1334/2003/CE du 25 Juillet 2003 modifiant les conditions d'autorisation de plusieurs additifs appartenant au groupe des oligo-éléments dans les aliments pour animaux. JOCE, L 187/11, 26 Juillet 2003.
- Renard J.J., Calidonna S.C. & Henley M.V. Fate of ammonia in the atmosphere - A review for applicability to hazardous release. *Journal of Hazardous Materials*. 2004. **108**: 29-60.
- Renaudeau D., Mandonnet N., Tixier-Boichard M., Noblet J. & Bidanel J.-P. Atténuer les effets de la chaleur sur les performances des porcs: la voie génétique. *INRA Productions Animales*. 2004. **17**: 93-108.
- Ritz C.W., Fairchild B.D. & Lacy M.P. Implications of ammonia production and emissions from commercial poultry facilities: A review. *Journal of Applied Poultry Research*. 2004. **13**: 684-692.
- Ritz C.W., Fairchild B.D. & Lacy M.P. Litter quality and broiler performance. *The university of Georgia college of agricultural and environmental sciences Bulletin* **1267**. 2005.
- Roche M. & Ruckebusch Y. A basic relationship between gastric and duodenal motilities in chickens. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism and Gastrointestinal Physiology*. 1978. **4**: E670-E677.
- Rodriguez-Sinovas A., Fernandez E., Manteca X., Fernandez G. & Gonalons E. CCK is involved in both peripheral and central mechanisms controlling food intake in chickens. *American Journal of Physiology*. 1997. **272**: R334-R340.
- Rom H.B. Ammonia emission from livestock buildings in Denmark. *Fourth International Symposium of Livestock Environment*. 1993: 1161-1168. University of Warwick, Coventry, England.

- Rotz C.A. Management to reduce nitrogen losses in animal production. *Journal of Animal Science*. 2004. **82**: E119-E137.
- Rougière N. & Carré B. Comparison of gastrointestinal transit times between chickens from D+ and D- genetic lines selected for divergent digestion efficiency. *Animal*. 2010. **4**: 1861-1872.
- Rougière N., Gomez J., Mignon-Grasteau S. & Carré B. Effects of diet particle size on digestive parameters in D+ and D- genetic chicken lines selected for divergent digestion efficiency. *Poultry Science*. 2009. **88**: 1206-1215.
- Saastamoinen M. Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on the phytic acid content of oats. *Cereal Research Communications*. 1987. **15**: 57-63.
- Safley L.M., Nelson D.W. & Westerman P.W. Conserving manurial nitrogen. *Transactions of the ASAE*. 1983. **26**: 1166-1170.
- Samanya M. & Yamauchi K. Histological alterations of intestinal villi in chickens fed dried *Bacillus subtilis* var. *natto*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology*. 2002. **133**: 95-104.
- Sands J.S., Ragland G.J., Baxter C., Joern B.C., Sauber T.E. & Adeola O. Phosphorus bioavailability, growth performance and nutrient balance in pigs fed high available phosphorus corn and phytase. *Journal of Animal Science*. 2001. **79**: 2134-2142.
- Sanz-Cobena A., Misselbrook T., Camp V. & Vallejo A. Effect of water addition and the urease inhibitor NBPT on the abatement of ammonia emission from surface applied urea. *Atmospheric Environment*. 2011. **45**: 1517-1524.
- SAS Institute (1999) SAS<sup>®</sup> Institute. (ed. by edition <sup>1</sup>), p. SAS Institute. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA.
- Sauer W.C., Dugan M., de Lange K., Imbeah M. & Mogenthin R. Considerations in methodology for the determination of amino acid digestibilities in feedstuffs for pigs. In: *Absorption and Utilization of Amino Acids* (ed. by Friedman M), 1989. pp. 217-230.
- Saunders R.M.  $\alpha$ -amylase inhibitors in wheat and others cereals. *Cereal Foods World*. 1975. **20**: 282-285.
- Savory C.J., Duke G.E. & Bertoy R.W. Influence of intravenous injections of cholecystokinin on gastrointestinal motility in turkeys and domestic fowls. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A*. 1981. **70**: 179-189.

- Sawyer C.N. Fertilization of lakes by agricultural and urban drainage. *Journal of the New England Water Works Association*. 1947. **61**: 109-127.
- Schindler D.W. The evolution of phosphorus limitation in lakes. *Science*. 1977. **195**: 260-262.
- Schröder B., Breves G. & Rodehutschord M. Mechanisms of intestinal phosphorus absorption and availability of dietary phosphorus in pigs. *Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 1996. **103**: 209-214.
- Schulte D.D. Critical parameters for emissions. *Proceedings Ammonia and Odor Emissions from Animal Production Facilities*. 1997: 23-24. Rosmalen, The Netherland.
- Sebastian S., Touchburn S.P. & Chavez E.R. Implications of phytic acid and supplemental microbial phytase in poultry nutrition: a review. *World's Poultry Science Journal*. 1998. **54**: 27-47.
- Selle P.H., Ravindran V., Caldwell R.A. & Bryden W.L. Phytate and phytase: consequences for protein utilisation. *Nutrition Research Reviews*. 2000. **13**: 255-278.
- Selle P.H., Ravindran V., Ravindran G., Pittolo P.H. & Bryden W.L. Influence of phytase and xylanase supplementation on growth performance and nutrient utilisation of broilers offered wheat-based diets. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 2003a. **16**: 394-402.
- Selle P.H., Ravindran V., Pittolo P.H. & Bryden W.L. Effects of phytase supplementation of diets with two tiers of nutrient specifications on growth performance and protein efficiency ratios of broiler chickens. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 2003b. **16**: 1158-1164.
- Selle P.H., Ravindran V. & Partridge G.G. Beneficial affects of xylanase and/or phytase inclusions on ileal amino acid digestibility, energy utilisation, mineral retention and growth performance in wheat-based broiler diets. *Animal Feed Science and Technology*. 2009. **153**: 303-313.
- Sellier P., Billon Y., Riquet J., Lagant H., Calderon J.A., Guillouet P., Bidanel J.-P., Noblet J. & Gilbert H. Six générations de sélection divergente pour la consommation journalière résiduelle chez le porc en croissance: réponses corrélatives sur les caractères de reproduction des truies et synthèse des réponses sur les caractéristiques de production. *42<sup>nd</sup> Journées de la Recherche Porcine*. 2010: 167. Paris, France.
- Sethi P.K., McMurtry J.P., Pesti G.M., Edwards Jr. H.M. & Aggrey S.E. Physiological responses to divergent selection for phytate phosphorus bioavailability in a randombred chicken population. *Poultry Science*. 2008. **87**: 2512-2516.

- Shafey T.M., McDonald M.W. & Dingle J.G. Effects of dietary calcium and available phosphorus concentration on digesta pH and on the availability of calcium, iron, magnesium and zinc from the intestinal contents of meat chickens. *British Poultry Science*. 1991. **32**: 185-194.
- Shakouri M.D., Iji P.A., Mikkelsen L.L. & Cowieson A.J. Intestinal function and gut microflora of broiler chickens as influenced by cereal grains and microbial enzyme supplementation. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. 2009. **93**: 647-658.
- Sharpley A.N., Chapra S.C., Wedepohl R., Sims J.T., Daniel T.C. & Reddy K.R. Managing agricultural phosphorus for protection of surface waters: issues and options. *Journal of Environmental Quality*. 1994. **23**: 437-451.
- Sharpley A.N. Availability of residual phosphorus in manured soils. *Soil Science Society of America Journal*. 1996. **60**: 1459-1466.
- Sharpley A.N. Agricultural phosphorus, water quality, and poultry production: are they compatible? *Poultry Science*. 1999. **78**: 660-673.
- Shirai K., Revah-Moissev S., Garcia-Garibay M. & Marshall V.M. Ability of some strains of lactic acid bacteria to degrade phytic acid. *Letters in Applied Microbiology*. 1994. **19**: 366-369.
- Shirley R.B. & Edwards Jr H.M. Graded levels of phytase past industry standards improves broiler performance. *Poultry Science*. 2003. **82**: 671-680.
- Shreve B.R., Moore Jr. P.A., Daniel T.C. & Edwards D.R. Reductions of phosphorus in runoff from field-applied poultry litter using chemical amendments. *Journal of Environmental Quality*. 1995. **24**: 106-111.
- Silversides F.G. & Bedford M.R. Effect of pelleting temperature on the recovery and efficacy of a xylanase enzyme in wheat-based diets. *Poultry Science*. 1999. **78**: 1184-1190.
- Sims J.T. & Wolf D.C. Poultry manure management: Agricultural and environmental issues. In: *Advances in Agronomy* (ed. by Sparks DL), 1994. pp. 1-72.
- Singh M. & Krikorian A.D. Inhibition of trypsin activity in vitro by phytate. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 1982. **30**: 799-800.
- Singh P.K., Khatta V.K., Thakur R.S., Dey S. & Sangwan M.L. Effects of phytase supplementation on the performance of broiler chickens fed maize and wheat based diets with different levels of non-phytate phosphorus. *Asian Australasian Journal of Animal Science*. 2003. **16**: 1642-1649.

- Skinner-Noble D.O. & Teeter R.G. Components of feed efficiency in broiler breeding stock: The use of fasted body temperature as an indicator trait for feed conversion in broiler chickens. *Poultry Science*. 2004. **83**: 515-520.
- Smirnov A., Sklan D. & Uni Z. Mucin dynamics in the chick small intestine are altered by starvation. *Journal of Nutrition*. 2004. **134**: 736-742.
- Smith E.R., Pesti G.M., Bakalli R.I., Ware G.O. & Menten J.F.M. Further studies on the influence of genotype and dietary protein on the performance of broilers. *Poultry Science*. 1998. **77**: 1678-1687.
- Sommer S.G. & Hutchings N.J. Ammonia emission from field applied manure and its reduction - invited paper. *European Journal of Agronomy*. 2001. **15**: 1-15.
- Sonneveld M.P.W. & Bouma J. Methodological consideration for nitrogen policies in the Netherlands including a new role for research. *Environmental Science & Policy*. 2003. **6**: 501-511.
- Souffrant W.B., Rerat A., Laplace J.B., Darcy B.V., Kohler R., Corring T. & Gebhardt G. Exogenous and endogenous contributions to nitrogen fluxes in the digestive tract of pigs fed a casein diet. III. Refluxing of endogenous nitrogen. *Reproduction Nutrition and Development*. 1993. **33**: 373-382.
- Spencer J.D., Allee G.L. & Sauber T.E. Phosphorus bioavailability and digestibility of normal and genetically modified low-phytate corn for pigs. *Journal of Animal Science*. 2000. **78**: 675-681.
- Steenfeldt S. The dietary effect of different wheat cultivars for broiler chickens. *British Poultry Science*. 2001. **42**: 595-609.
- Stevens L. Avian nutrition. In: *Avian biochemistry and molecular biology* (ed. by Cambridge), 1996a. pp. p.9-28.
- Stevens L. Protein and amino acid metabolism. In: *Avian biochemistry and molecular biology* (ed. by Cambridge), 1996b. pp. p.65-81.
- Suchy P., Strakova E., Herzig I., Steinhäuser L., Kralik G. & Zapletal D. Chemical composition of bone tissue in broiler chickens intended for slaughter. *Czech Journal of Animal Science*. 2009. **54**: 324-330.
- Sufka K.J. & Hughes R.A. Differential effects of handling on isolation-induced vocalizations, hypoalgesia, and hyperthermia in domestic fowl. *Physiology & Behaviour*. 1991. **50**: 129-133.

- Sugiura S.H., Raboy V., Young K.A., Dong F.M. & Hardy R.W. Availability of phosphorus and trace elements in low-phytate varieties of barley and corn for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*. 1999. **170**: 285-296.
- Summers J.D. Reduced dietary phosphorus levels for layers. *Poultry Science*. 1995. **74**: 1977-1983.
- Sutton M.A., Howard C.M., Erisman J.W., Billen G., Bleeker A., Grennfelt P., van Grinsven H. & Grizzetti B. *The European Nitrogen Assessment*. 2011. 612 p.
- Svihus B. The gizzard: function, influence of diet structure and effects on nutrient availability. *World's Poultry Science Journal*. 2011. **67**: 207-223.
- Sweeten J.M. Composting manure and sludge. *Proceedings of the National Poultry Waste Management Symposium*. 1988: 38-44. Columbus, OH, USA.
- Swennen Q., Verhulst P.-J., Collin A., Bordas A., Verbeke K., Vansant G., Decuypere E. & Buyse J. Further investigations on the role of diet-induced thermogenesis in the regulation of feed intake in chickens: comparison of adult cockerels of lines selected for high or low residual feed intake. *Poultry Science*. 2007. **86**: 1960-1971.
- Swick R.W. Growth and protein turnover in animals. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 1982. **16**: 117-126.
- Szurszewski J.H. A 100-year perspective on gastrointestinal motility. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. 1998. **274**: 447-453.
- Taylor T.G. The availability of the calcium and phosphorus of plant materials by animals. *proceedings of Nutrition Society*. 1965. **24**: 105-110.
- Taylor R.D. & Jones G.P.D. The incorporation of whole grain into pelleted broiler chicken diets. II. Gastrointestinal and digesta characteristics. *British Poultry Science*. 2004. **45**: 237-246.
- Tesseraud S. Métabolisme protéique chez le poulet en croissance. Effet des protéines alimentaires. *INRA Productions Animales*. 1995. **8**: 197-212.
- Thacker P.A., Rossnagel B.G. & Raboy V. The effects of phytase supplementation on nutrient digestibility, plasma parameters, performance and carcass traits of pigs fed diets based on low-phytate barley without inorganic phosphorus. *Canadian Journal of Animal Science*. 2006. **86**: 245-254.
- Thacker P.A., Haq I., Willing B.P. & Leytem A.B. The effects of phytase supplementation on performance and phosphorus excretion from broiler chickens fed low phosphorus-



- containing diets based on normal or low-phytic acid barley. *Asian-Australasian journal of Animal Science*. 2009. **22**: 404-409.
- Thorp B.H. & Goddard C. Plasma-concentrations of growth-hormone and insulin-like growth-factor-I in chickens developing tibial dyschondroplasia. *Research in Veterinary Science*. 1994. **57**: 100-105.
- Tiquia S.M. & Tam N.F.Y. Fate of nitrogen during composting of chicken litter. *Environmental Pollution*. 2000. **110**: 535-541.
- Tixier-Boichard M., Boichard D., Groenveld E. & Bordas A. Restricted maximum likelihood estimates of genetic parameters of adult male and female rhode island red chickens divergently selected for residual feed consumption. *Poultry Science*. 1995. **74**: 1245-1252.
- Tomas F.M., Pym R.A.E. & Johnson R.J. Muscle protein turnover in chickens selected for increased growth rate, food consumption or efficiency of food utilisation; effects of genotype and relationship to plasma IGF-I and growth hormone. *British Poultry Science*. 1991. **32**: 363-376.
- Tomas F.M., Pym R.A.E., McMurtry J.P. & Francis G.L. Insulin-like growth factor (IGF)-I but not IGF-II promotes lean growth and feed efficiency in broiler chickens. *General and Comparative Endocrinology*. 1998. **110**: 262-275.
- Tran G. & Skiba F. Variabilité inter et intra matière première de la teneur en phosphore total et phytique et de l'activité phytasique. *INRA Productions Animales*. 2005. **18**: 159-168.
- UE. Phosphates and alternative detergent builders - Final report. *Union européenne. Rapport n° UC 4011*. 2002.
- UNEP (United Nations Environment Programme). <http://www.unep.or.jp/ietc/publications/insight/fal-94/2.asp> (24-06-2011).
- Uni Z., Noy Y. & Sklan D. Development of the small intestine in heavy and light strain chicks before and after hatching. *British Poultry Science*. 1996. **37**: 63-71.
- Urdaneta-Rincon M. & Leeson S. Muscle (Pectoralis major) protein turnover in young broiler chickens fed graded levels of lysine and crude protein. *Poultry Science*. 2004. **83**: 1897-1903.
- USEPA. Environmental indicators of water quality in the United States. **Rep. 841-R-96-002**. 1996.

- Valentine H. A study of the effect of different ventilation rates on the ammonia concentrations in the atmosphere of broiler houses. *British Poultry Science*. 1964. **5**: 149-159.
- Van Cauwenberghe S. & Burnham D.J. New developments in amino acid and protein nutrition of poultry as related to optimal performance and reduced nitrogen excretion. *13th European Symposium of Poultry Nutrition*. 2001: 1-12.
- Van der Klis J.D., van Voorst A. & van Cruyningen C. Effect of a soluble polysaccharide (carboxy methyl cellulose) on the physico-chemical conditions in the gastrointestinal tract of broilers. *British Poultry Science*. 1993. **34**: 971-983.
- Vandeplass S., Dubois Dauphin R., Thonart P., Théwis A. & Beckers Y. Effect of the bacterial or fungal origin of exogenous xylanases supplemented to a wheat-based diet on performance of broiler chickens and nutrient digestibility of the diet. *Canadian Journal of Animal Science*. 2010. **90**: 221-228.
- Varel V.H., Nienaber J.A. & Freetly H.C. Conservation of nitrogen in cattle feedlot waste with urease inhibitors. *Journal of Animal Science*. 1999. **77**: 1162-1168.
- Velthof G., Barot S., Bloem J., Butterbach-Bahl K., de Vries W., Kros J., Lavelle P., Olesen J.E. & Oenema O. Nitrogen as a threat to European soil quality. In: *The European Nitrogen Assessment* (eds. by Sutton MA, Howard CM, Erisman JW, Billen G, Bleeker A, Grennfelt P, Grinsven Hv & Grizzetti B), 2011. pp. 495-510.
- Vergara P., Ferrando C., Jimenez M., Fernandez E. & Gonalons E. Factors determining gastrointestinal transit time of several markers in the domestic fowl. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*. 1989. **74**: 867-874.
- Verschoor C., Walters S., Forsberg C.W., Phillips J.P. & Golovan S.P. Differential expression of proteins in the parotid gland of the Enviropigs<sup>TM</sup>. *Transgenic Research*. 2006. **15**: 128 (abstract).
- Veum T.L., Ledoux D.R., Raboy V. & Ertl D.S. Low-phytic acid corn improves nutrient utilization for growing pigs. *Journal of Animal Science*. 2001. **79**: 2873-2880.
- Viñuela J., Ferrer M. & Recio F. Age-related variations in plasma levels of alkaline phosphatase, calcium and inorganic phosphorus in chick of two species of raptors. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A*. 1991. **99**: 49-54.
- Vlaming J.B., Lopez-Villalobos N., Brookes I.M., Hoskin S.O. & Clark H. Within- and between-animal variance in methane emissions in non-lactating dairy cows. *Australian Journal of Experimental Agriculture*. 2008. **48**: 124-127.

- Vogels G.D. & van der Drift C. Degradation of purines and pyrimidines by microorganisms. *Bacteriological Reviews*. 1976. **40**: 403-468.
- Wang H., Guo Y. & Shih J.C.H. Effects of dietary supplementation of keratinase on growth performance, nitrogen retention and intestinal morphology of broiler chickens fed diets with soybean and cottonseed meals. *Animal Feed Science and Technology*. 2007. **140**: 376-384.
- Wang J.X. & Peng K.M. Developmental morphology of the small intestine of african ostrich chicks. *Poultry Science*. 2008. **87**: 2629-2635.
- Wang X., Bai S.Y., Lu X.G., Li Q.F., Zhang X.L. & Yu L. Ecological risk assessment of eutrophication in Songhua lake, China. *Stochastic Environmental Research and Risk Assessment*. 2008. **22**: 477-486.
- Wang Y.M., Meng Q.P., Guo Y.M., Wang Y.Z., Wang Z., Yao Z.L. & Shan T.Z. Effect of atmospheric ammonia on growth performance and immunological response of broiler chickens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 2010. **9**: 2802-2806.
- Washburn K.W. & Pinson E.R. Variation in the three-week body temperature of broilers and Athens-Canadian randombred chickens. *Poultry Science*. 1990. **69**: 486-488.
- Wasserman R.H. & Taylor A.N. Intestinal absorption of phosphate in the chick: effect of vitamin D3 and other parameters. *Journal of Nutrition*. 1973. **103**: 586-599.
- White W.B., Bird H.R., Sunde M.L., Prentice N.A., Burger W.C. & Marlett J.A. The viscosity interaction of barley  $\beta$ -glucan with *Trichoderma viride* cellulase in the chick intestine. *Poultry Science*. 1981. **60**: 1043-1048.
- White W.C. & Collins D.N. *The fertilizer handbook*. 1982.
- White W.B., Bird H.R., Sunde M.L., Marlett J.A., Prentice N.A. & Burger W.C. Viscosity of  $\beta$ -glucan as a factor in the enzymatic improvement of barley for chicks. *Poultry Science*. 1983. **62**: 853-862.
- Wicker D.L. Phosphorus reduction techniques examined. *Feedstuffs*. 1999. **August 2**: 12-14.
- Wideman J.R.F. Renal regulation of avian calcium and phosphorus metabolism. *Journal of Nutrition*. 1987. **117**: 808-815.
- Wiegand B.R., Hartung J. & Hinz T. (1994) Bacteria and endotoxins in the air of a naturally ventilated broiler barn. In: *Animal Waste Management, REUR Technical Series*, pp. 283-287. FAO Regional Office for Europe.

- Wierup M. The swedish experience of the 1986 year ban of antimicrobial growth promoters, with special reference to animal health, disease prevention, productivity, and usage of antimicrobials. *Microbial Drug Resistance*. 2001. **7**: 183-190.
- Williams R.B. The ratio of the water and food consumption of chickens and its significance in the chemotherapy of coccidiosis. *Veterinary Research Communications*. 1996. **20**: 437-447.
- Williams B., Solomon S., Waddington D., Thorp B. & Farquharson C. Skeletal development in the meat-type chicken. *British Poultry Science*. 2000. **41**: 141-149.
- Williams B., Waddington D., Solomon S. & Farquharson C. Dietary effects on bone quality and turnover, and Ca and P metabolism in chickens. *Research in Veterinary Science*. 2000. **69**: 81-87.
- Wiseman J., Al-Marzooqi W., Hedley C., Wang T.L., Welham T. & Domoney C. The effects of genetic variation at r, rb and Tri loci in *pisum sativum* L. on apparent ileal digestibility of amino acids in young broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2006. **86**: 436-444.
- Witter E. Use of CaCl<sub>2</sub> to decrease ammonia volatilization after application of fresh and anaerobic chicken slurry to soil. *Journal of Soil Science*. 1991. **42**: 369-380.
- Wood B.H., Wood C.W., Yoo K.H., Yoon K.S. & Delaney D.P. Nutrient accumulation and nitrate leaching under broiler litter amended corn fields. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 1996. **27**: 2875-1894.
- Wu Y.B. & Ravindran V. 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*. 2004. **116**: 129-139.
- Wu Y.B., Ravindran V., Thomas D.G., Birtles M.J. & Hendriks W.H. 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*. 2004. **45**: 385-394.
- Xi P.B., Yi G.F., Lin Y.C., Zheng C.T., Jiang Z.Y., Vasquez-Añon M., Song G.L. & Knight C.D. Effect of methionine source and dietary crude protein level on growth performance, carcass traits and nutrient retention in chinese color-feathered chicks. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 2007. **20**: 962-970.

- Xia M.S., C.H. Hu, Z.R. Xu. Effects of copper-bearing montmorillonite on growth performance, digestive enzyme activities, and intestine microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*. 2004. **83**: 1868-1875.
- Xu Z.R., Hu C.H., XIA M.S., Zhan X.A. & Wang M.Q. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers. *Poultry Science*. 2003. **82**: 1030-1036.
- Yahav S., Shinder D., Ruzal M., Giloh M. & Piestun Y. Controlling body temperature - The opportunities for highly productive domestic fowl. In: *Body temperature regulation* (ed. by Gions ABCaBL), 2009.
- Yamauchi K. Review on chicken intestinal villus histological alterations related with intestinal functions. *Journal of Poultry Science*. 2002. **39**: 229-242.
- Yamauchi K., M. Samanya, K. Seki, N. Ijiri, N. Thongwittaya. Influence of dietary sesame meal level on histological alterations of the intestinal mucosa and growth performance of chickens. *Journal of Applied Poultry Research*. 2006. **15**: 266-273.
- Yan F., Kersey J.H., Fritts C.A., Waldroup P.W., Stilborn H.L., Crum Jr. R.C., Rice D.W. & Raboy V. Evaluation of normal yellow dent corn and high available phosphorus corn in combination with reduced dietary phosphorus and phytase supplementation for broilers grown to market weights in litter pens. *Poultry Science*. 2000. **79**: 1282-1289.
- Yang X.M., Drury C.F., Zhang T.Q., Ajakaiye A., Forsberg C.W., Fan M.Z. & Philip J.P. Inorganic N dynamics from soils amended with low-P manure from genetically modified pigs (Enviropig<sup>TM</sup>). *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 2006. **75**: 297-304.
- Yasar S. & Forbes J.M. Performance and gastro-intestinal response of broiler chickens fed on cereal grain-based foods soaked in water. *British Poultry Science*. 1999. **40**: 65-76.
- Yason C.V., Summers B.A. & Schat K.A. Pathogenesis of rotavirus infection in various age-groups of chickens and turkeys - Pathology. *American Journal of Veterinary Research*. 1987. **48**: 927-938.
- Yi Z. & Kornegay E.T. Sites of phytase activity in the gastrointestinal tract of young pigs. *Animal Feed Science and Technology*. 1996. **61**: 361-368.
- Yi Z., Kornegay E.T. & Denbow D.M. Effect of microbial phytase on nitrogen and amino acid digestibility and nitrogen retention of turkey poults fed corn-soybean meal diets. *Poultry Science*. 1996. **75**: 979-990.

- Youssef I.M.I., Beineke A., Rohn K. & Kamphues J. Effects of litter quality (moisture, ammonia, uric acid) on development and severity of foot pad dermatitis in growing turkeys. *Avian Diseases*. 2011. **55**: 51-58.
- Zhang W. & Aggrey S.E. Genetic variation on feed utilization efficiency of meat-type chickens. *World's Poultry Science Journal*. 2003. **59**: 328-339.
- Zhang W., Aggrey S.E., Pesti G.M., Edwards H.M. & Bakalli R.I. Genetics of phytate phosphorus bioavailability: Heritability and genetic correlations with growth and feed utilization traits in a randombred chicken population. *Poultry Science*. 2003. **82**: 1075-1079.
- Zhang W., Aggrey S.E., Pesti G.M., Bakalli R.I. & Edwards H.M. Correlated responses to divergent selection for phytate phosphorus bioavailability in a randombred chicken population. *Poultry Science*. 2005a. **84**: 536-542.
- Zhang W., Aggrey S.E., Pesti G.M., Bakalli R.I. & Edwards H.M. Genetic analysis on the direct response to divergent selection for phytate phosphorus bioavailability in a randombred chicken population. *Poultry Science*. 2005b. **84**: 370-375.
- Zimmermann B., Lantzsch H.J., Mosenthin R., Biesalski H.K. & Drochner W. Additivity of the effect of cereal and microbial phytases on apparent phosphorus absorption in growing pigs fed diets with marginal P supply. *Animal Feed Science and Technology*. 2003. **104**: 143-152.

# Annexes





# Annexe 1 - Selection for excretion traits in chickens

H. de Verdal\*, A. Narcy\*, E. Le Bihan-Duval\*, H. Chapuis†, D. Bastianelli‡, N. Mème\*, and S. Mignon-Grasteau\*

## 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (1<sup>er</sup> - 6 Août 2010, Leipzig, Allemagne)

\* UR83 Recherches Avicoles, INRA 37380 Nouzilly, France

† SYSAAF 37380 Nouzilly, France

‡ CIRAD, Systèmes d'élevage, 34398 Montpellier cedex 05, France

### Introduction

Poultry production has been criticized for its negative impact on environment, mainly due to the high concentration of poultry farms in several regions of intensive production such as Brittany in France. French meat poultry production was estimated at 2.00 10<sup>6</sup>t in 2005, therefore generating a quantity of faeces estimated at 2.97 10<sup>6</sup>t for manure and 6.02 10<sup>6</sup>t for excreta and liquid manure (CORPEN, 2006). This problem has led to the definition of national and European rules, as the nitrogen directive (91/676/CEE) limiting the nitrogen quantities that can be spread on fields to 170 kg.ha<sup>-1</sup>. Norms are even lower for phosphorus, with a limit of 100 kg.ha<sup>-1</sup>. Some reduction of wastes can be achieved through optimization of feed formulation, but decreasing manure quantity produced by animals through the genetic way would be a complementary novel approach. Until now, selection has mainly been performed on global criteria such as rapid growth or lower FCR. However, the possibility to reduce manure by selecting animals that have a better capacity to digest their feed has hardly been investigated. Indeed, it has long been commonly admitted that ability of animal to digest its feed was not controlled by genetics (Pym 1990), even if several studies quoted that an important individual variability existed on these traits (Maisonnier *et al.* 2001). Wheat-based diets given to growing chicken were observed to result in low digestibilities compared with corn-based diets (Steenfeldt 2001). Therefore, using a wheat-based diet (55% of the diet), Mignon-Grasteau, *et al.* (2004) showed that digestibility of energy, lipids, proteins, and starch were highly heritable (0.36, 0.47, 0.33, and 0.37, respectively). From this, a divergent selection experiment has been undertaken, using the apparent metabolisable energy corrected to zero nitrogen retention (AMEn) as selection criterion. After 6 generations of divergent selection, AMEn is 42.4% higher in the high digestibility line (D+) compared to the low one (D-, Carré *et al.* 2005). Starch, protein, and lipid digestibility is also improved in D+ compared to D- line (+35%, +8%, and +17% respectively, Carré *et al.* 2007).

The aim of the present study was to estimate the genetic parameters of excretion traits in the two divergent lines D+ and D-, in order to assess the usefulness of selecting on AMEn to reduce manure production.

### Material and methods

**Birds and housing.** The experiment was conducted under the guidelines of the French Ministry of Agriculture for Animal Research. It was carried out on 630 birds of the 9th generation of selection of D+ and D- birds, reared in 3 hatches. At hatching, they were individually weighed and placed in metal cages of 4 to 5 chicks. After 3 d, chicks were

randomly allocated to individual cages distributed in 3 rearing cells, and in each cell, evenly assigned to one of the 3 rows of cages. Environmental conditions were controlled for ventilation, lighting program (24L: 0D from 1 d to 7 d and 23L: 1D after) and temperature (from 33°C at 1 d to 22°C at 23 d). The birds had free access to water and food. They were fed a wheat-based diet similar to the one used in the selection experiment (55% wheat, Mignon-Grasteau *et al.* 2004).

**Measures.** All birds were individually weighted at 23 d (BW23) of age. Individual total feed intake (FI) was recorded from 17 to 22 d and feed conversion ratio (FCR) was calculated. AMEn, nitrogen and phosphorus excreted (NE and PE) were individually measured between 17 and 22 d, using the method of total collection of excreta (Bourdillon *et al.* 1990). The ratio NE to PE was calculated. Total excreta was collected, dried, and weighed (EW). AMEn and nitrogen concentration of individual freeze-dried excreta were measured for all birds using Near Infrared (NIR) spectrophotometry. Phosphorus concentration was measured by colorimetric analysis. The ratios of EW to FI, NE to FI and PE to FI were calculated. The excreta humidity rate (EH) was calculated as the difference of the fresh to dry excreta reported to the fresh excreta weight.

**Statistical analyses.** The PROC GLM (SAS Institute, 1999) was used to estimate line and to test which fixed effects (sex, hatch group, cage row, and rearing cell) had to be included in the model for genetic analyses. Genetic parameters were estimated by the Restricted Maximum Likelihood method using the WOMBAT software (Meyer, 2007) and an animal model.

## Results and discussion

Elementary statistics on recorded traits are shown in Table 1. Whatever the considered trait, the two divergent lines were significantly different. The selection criterion, AMEn, was 33.5 % higher in D+ than in D- birds in accordance with previous results of Carré *et al.* (2007). D+ birds were 14.4 % heavier than D- birds whereas their feed intake (FI) was 21.0 % lower. Consequently, the FCR was 58.1 % greater in D+ birds than in D-. Furthermore, D- produced 115 % more excreta than D+ birds. Even when correcting for the difference in feed intake, D- still excreted 67.4 % more than D+ birds. This excess was more marked for nitrogen (+53.4 % in D-) than for phosphorus (+21.3 %). This imbalance between nitrogen and phosphorus excretion led to a lower difference in NE: PE (+25.5 % in D-) than for NE: FI. This ratio is important to calculate quantities that can be spread on fields, to take into account the different limits for nitrogen and phosphorus spreading. Considering the fact that about 50 % of nitrogen is lost before spreading, the ratio of 3.46 for D+ birds is close to the optimum. For D-, accounting for a similar loss of 50 % of nitrogen, respecting spreading rules for phosphorus would lead to spread nitrogen in excess by 22 %. Finally, D+ excreta had 7.6 % more humidity than those of D-, which can modify the evolution of excreta in building before spreading, e.g. for gaseous nitrogen losses and also have an important impact on the litter quality.

Genetic parameters are presented in Table 2. The BW, FCR, and AMEn showed moderate to high heritability estimates, consistent with previous results on these lines (0.55 to 0.59 for BW, 0.27 to 0.32 for FCR, and 0.36 for AMEn, Mignon-Grasteau *et al.*, 2004).

**Table 1: Elementary statistics on recorded traits for the two divergent lines (Least Square means  $\pm$  SE)**

Traits <sup>1</sup>	n	D+	D-	Line effect <sup>2</sup>
BW23 (g)	592	490 $\pm$ 3.62	428 $\pm$ 3.62	< 0.01
FI (g)	585	286 $\pm$ 3.09	362 $\pm$ 3.15	< 0.01
FCR (g:g)	592	1.72 $\pm$ 0.08	2.72 $\pm$ 0.08	< 0.01
AMEn (kcal/kgMS)	592	3 278 $\pm$ 25.6	2 460 $\pm$ 25.7	< 0.01
EW (g)	596	62.4 $\pm$ 2.68	134.1 $\pm$ 2.69	< 0.01
EH (%)	488	70.9 $\pm$ 0.52	65.9 $\pm$ 0.53	< 0.01
NE:PE (mg:mg)	589	3.46 $\pm$ 0.04	4.34 $\pm$ 0.04	< 0.01
EW:FI (g:g)	575	0.22 $\pm$ 0.01	0.37 $\pm$ 0.01	< 0.01
NE:FI (g:g)	576	11.8 $\pm$ 0.16	18.1 $\pm$ 0.17	< 0.01
PE:FI (g:g)	572	3.45 $\pm$ 0.04	4.19 $\pm$ 0.04	< 0.01

<sup>1</sup> BW23 = BW at 23 d; FI = feed intake between 17 and 22 d; FCR = feed conversion ratio between 17 and 22 d; AMEn = apparent metabolisable energy values corrected to zero nitrogen retention; EW = dry excreta weight; EH = excreta humidity rate; NE: PE = ratio of nitrogen excretion to phosphorus excretion; EW: FI = ratio of dried excreta to feed intake; NE: FI = ratio of nitrogen excretion to feed intake; PE: FI = ratio of phosphorus excretion to feed intake. <sup>2</sup>P-value.

**Table 2: Estimates of genetic parameters<sup>1</sup> for BW, FCR, AMEn and excretion traits.**

Variables <sup>2</sup>	BW23	FCR	AMEn	EW	EH	NE:PE	EW:FI	NE:FI	PE:FI
BW23	0.65	-0.41	0.21	-0.07	0.29	-0.50	-0.20	-0.30	0.07
FCR		0.21	-0.86	0.91	-0.51	0.73	0.88	0.83	0.24
AMEn			0.33	-0.94	0.11	-0.45	-0.99	-0.87	-0.49
EW				0.46	-0.35	0.53	0.95	0.80	0.35
EH					0.26	-0.55	-0.17	-0.22	0.26
NE:PE						0.19	0.45	0.42	-0.37
EW:FI							0.31	0.90	0.51
NE:FI								0.25	0.67
PE:FI									0.24

<sup>1</sup>Heritabilities are on the diagonal, and genetic correlations are above the diagonal. <sup>2</sup> BW23 = BW at 23 d; FCR = feed conversion ratio between 17 and 22 d; AMEn = apparent metabolisable energy values corrected to zero nitrogen retention; EW = dry excreta weight; EH = excreta humidity rate; NE: PE = ratio nitrogen excreta: phosphorus excreta; EW: FI = ratio dry excreta: feed intake; NE: FI = ratio nitrogen excreta: feed intake; PE: FI = ratio phosphorus excreta: feed intake.

To our knowledge, no heritability estimate of excretion criteria has been previously reported. Heritability estimates were high for EW and EW: FI, moderate for EH, NE: PE, NE: FI, and PE: FI, i.e. compatible with selection. EW and EW: FI were positively correlated with NE: FI and PE: FI, but the correlation was stronger with nitrogen than with phosphorus, consistently with the fact that the difference between lines was higher for NE than for PE.

AMEn was highly correlated with EW, EW: FI, and NE: FI, and, to a lesser extent, with PE: FI, showing that selecting on AMEn would reduce manure quantities produced by animals.

Such a selection would also modify NE: PE by modifying nitrogen excretion more than phosphorus excretion. Finally, selecting on AMEn would not much affect EH. Even if the evolution of the AMEn was asymmetrical as classically observed in divergent selection experiment, de Verdal *et al.* (2010) showed that the consequences of selection in terms of excretion was more symmetrical when comparing D+, D-, and the control line.

It can be useful to compare potential results of selecting either on FCR as usually practiced to reduce manure in broilers and selection on AMEn. Both reduction on FCR or increase in AMEn would reduce nitrogen and phosphorus excretion. However, from our estimates, selecting on AMEn would lead to a 31% higher response for nitrogen and 156% higher response for phosphorus. Selecting on FCR would reduce NE: PE 29% more than selecting on AMEn, but as 50% of nitrogen can be lost before spreading, such a reduction may not be sought. Finally, selecting on both criteria would increase water content of excreta, which is detrimental to animal welfare by the impact on the litter quality, but this increase would be much higher by selecting on FCR than on AMEn. However, an alternative easier to organize for breeders would be to select directly on EW, which is more heritable than FCR or AMEn and has similar correlations with excretion traits than AMEn. Thus, selecting on EW rather than AMEn would give a 9% higher response to selection on NE: FI and 16% lower response on PE: FI.

## Conclusion

The correlations between AMEn and excreta traits, with a wheat-based diet, indicated that selection on this trait would improve manure quantity produced by chickens, without much change in body weight. Selecting on AMEn or on FCR would give results in the same direction, but responses are expected to be greater with AMEn. A combination of selection on FCR and EW would also be an interesting solution.

## References

- Bourdillon, A., Carré, B., Conan, L., *et al.* (1990). *Br. Poult. Sci.*, 31:557-565.
- Carré, B., Muley, N., Gomez, J., *et al.* (2005). *Br. Poult. Sci.*, 46:66-74.
- Carré, B., Mignon-Grasteau, S., Péron, A., *et al.* (2007) *World's Poult. Sci. J.*, 63:585-596.
- CORPEN (2006). *French Agric. Minister.*
- De Verdal, H., Narcy, A., Le Bihan-Duval, E., *et al.* (2010) *13th Eur. Poult. Conf.*
- Maisonnier, S., Gomez, J., and Carré, B. (2001). *Br. Poult. Sci.*, 42:102-110.
- Meyer, K. (2007). *J. Zhejiang Univ – Sci. B.*, 8: 815-821.
- Mignon-Grasteau, S., Muley, N., Bastianelli, D., *et al.* (2004). *Poult. Sci.*, 83:860-867.
- Pym, R.A.E. (1990). *Poultry Breeding and Genetics*, p.847-876.
- SAS Institute (1999). Version 6, 4th ed. SAS Institute Inc. Cary, NC.
- Steenfeldt, S. (2001). *Br. Poult. Sci.*, 42:595-609.

# Annexe 2 – Excretion and gastro-intestinal tract development in chickens divergently selected on their capacity of digestion

H. de Verdal, A. Narcy, E. Le Bihan-Duval, S. Mignon-Grasteau

**13th European Poultry Conferences (23 – 27 Août 2010) ; Tours, France**

*INRA, UR83, Recherches Avicoles, Nouzilly, France*

## ABSTRACT

Two lines divergently selected for high (D+) or low (D-) efficiency to digest a wheat-based diet (AMEn) were followed from hatch to commercial weight to evaluate the impact of selection on excretion and gastro-intestinal tract development. The commercial line (CL) used to undertake the selection was included as a control. Total feed intake (FI) was recorded and excreta were fully collected, dried, and weighed (EW). At 0, 7, 21, and 53 d, 16 animals per line were slaughtered and their relative proventriculus-gizzard weight (PV-G) and intestinal density (ID) were determined.

Although the selection was realized at 21 d, differences were obvious in the long term. Indeed, from hatch to commercial weight, the feed conversion ratio was lower in D+ than in D- and CL (-44.7 and -11.1 %, respectively). Moreover, difference in excretion was also present, the ratio of EW to FI being 69.9 and 23.9 % lower in D+ than in D- and CL, respectively. It may be associated with anatomic differences, PV-G being higher in D+ than in D- and CL at 7 and at 21 d, what may have improved nutrient availability in the intestine in D+ line. At the opposite, D+ had a lower ID than D- and CL at 21 d (-29.6 and -40.0 %, respectively) and 53 d (-26.3 and -17.6 % respectively).

As the development of the digestive tract is similar in D- and CL birds, but excretion much higher in D- birds, selection probably affected functionality of digestive tract in D- line.

**Table 1. Diet composition (g.kg<sup>-1</sup>)**

Ingredients	Starter	Grower
Corn	60.4	60.2
Wheat (Rialto)	525.0	600.0
Soybean meal 48	284.0	224.5
Corn gluten 60	31.0	19.0
Soybean oil	60.0	60.0
DL methionine	1.2	0.8
L-Lysine 78	2.2	2.1
Calcium carbonate	13.4	13.0
Dicalcium phosphate	15.8	13.4
Sodium chloride	3.0	3.0
Mineral and vitamin mix <sup>1</sup>	3.5	3.5
Robenidine <sup>2</sup>	0.5	0.5
Chemical composition <sup>3</sup> (as-fed basis)		
AMEn, kcal. kg <sup>-1</sup>	2943	3002
CP, %	20.5	18.4
Ca, %	1.11	0.94
tP, %	0.66	0.60
NPP, %	0.42	0.37

<sup>1</sup>Supplied 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- $\alpha$  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; <sup>2</sup>Robenz, Alpharma Animal Health, Bridgewater, NJ; <sup>3</sup>Calculated (INRA-AFZ, 2004)

## INTRODUCTION

Poultry production has been largely criticized for its negative impact on environment, mainly due to its high concentration in several regions such as Brittany in France. With a meat poultry production estimated at  $2.00 \cdot 10^6$  t in 2005, French broilers generated  $2.97 \cdot 10^6$  t of manure and  $6.02 \cdot 10^6$  t of excreta and liquid manure. Solutions proposed nowadays to solve the problem are related to manure treatment or improvement of feed efficiency, either through feed composition or by animal genetics.

However, the possibility to reduce excretion by selecting birds based on improved nutrient digestibility has until now not been envisaged. In this aim, we divergently selected birds either for high (D+) or low (D-) capacity to digest a wheat-based diet, assessed by AMEn (Mignon-Grasteau *et al.*, 2004). Recent results showed that excretion of D+ birds was much lower than the one of D-birds (Mignon-

Grasteau *et al.*, 2010). However, this study was conducted in 21-d old birds, age at which the selection experiment was carried out. The aim of our study was thus to confirm whether differences observed at 3 weeks persist until animals reach commercial weight. As previous results have shown a probable relation between anatomy of the gastro-intestinal tract (GIT) and digestibility in these lines, GIT evolution with age was also observed.

## MATERIALS AND METHODS

### *Birds and Housing*

The experiment was carried out on 192 birds (males and females): 64 D+ and 64 D- of the 9<sup>th</sup> generation of selection and 64 animals of the base line used at the beginning of the selection experiment to create the D+ and D- lines. The latter line was considered as a control (CL). At hatch, chicks were reared in cages of 4 to 5 birds. After 4 d, chicks were randomly allocated to individual cages. Environmental conditions were controlled for ventilation, lighting program (24L: 0D from 1 d to 6 d and 18L: 6D from 7 d to 53 d) and temperature (from 33°C at 1 d to 20°C at 53 d). Birds had free access to water and feed. They were fed a starter and a grower wheat based-diet respectively from hatch to 21 d and from 22 to 53 d (Table I).

### *Recorded Traits*

Animals were weighed at hatch (BW0), 7 d (BW7), 21 d (BW21), and 53 d (BW53). Individual total feed intake (FI) and fresh excreta weight (FEW) were recorded from 4 to 7 d, from 7 to 21 d and from 21 to 53 d and feed conversion ratio (FCR) was calculated for each period. Fresh excreta were then dried and weighed again (DEW). The ratio of DEW to FI was calculated.

At hatch, 7, 21 and 53 d, 16 birds of each line were slaughtered by intracardiac injection of  $1.5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ BW}$  of pentobarbital (Sanofi, Marne la Coquette, France). The crop, liver and proventriculus-gizzard were excised and their relative weight to BW calculated (CW, LW, and PVGW, respectively). The small intestine was measured (IL) and weighed (IW), and the ratio of weight to length was calculated as an indicator of the small intestine density (ID).

### Statistical Analyses

All data were analyzed using the GLM procedure of SAS (SAS Institute, 1999), including the fixed effects of the rearing cell (N=2), the sex (N=2), the age (N=3 or 4) and the line (N=2).

**Table 2.** Least square means of body weight, feed intake, feed conversion ratio, relative weight of organs of the digestive tract, and relative length and density of small intestine.

Age	Line	BW <sup>1</sup>	FI	FCR	CW	LW	PVGW	IW	IL	ID
0	D+	34.1 <sup>b</sup>	.	.	.	26.5	76.6	34.9	110.2 <sup>a</sup>	0.03
	D-	34.1 <sup>b</sup>	.	.	.	25.9	74.3	34.4	103.7 <sup>a</sup>	0.03
	CL	44.0 <sup>a</sup>	.	.	.	29.6	70.6	31.3	86.2 <sup>b</sup>	0.04
7	D+	88.8 <sup>c</sup>	56.7 <sup>c</sup>	1.78 <sup>a</sup>	13.2	44.9 <sup>b</sup>	57.8 <sup>a</sup>	57.9	79.6 <sup>a</sup>	0.07
	D-	100.2 <sup>b</sup>	68.6 <sup>b</sup>	1.78 <sup>a</sup>	11.5	47.3 <sup>ab</sup>	51.0 <sup>b</sup>	57.6	64.9 <sup>b</sup>	0.09
	CL	118.1 <sup>a</sup>	73.3 <sup>a</sup>	1.59 <sup>b</sup>	11.6	50.6 <sup>a</sup>	46.0 <sup>b</sup>	55.3	59.7 <sup>b</sup>	0.09
21	D+	454.4 <sup>b</sup>	535.9 <sup>b</sup>	1.47 <sup>c</sup>	5.68	36.4	36.3 <sup>a</sup>	43.1 <sup>b</sup>	23.2	0.19 <sup>b</sup>
	D-	433.9 <sup>b</sup>	684.3 <sup>a</sup>	2.09 <sup>a</sup>	5.72	36.6	24.8 <sup>b</sup>	57.3 <sup>a</sup>	23.9	0.24 <sup>a</sup>
	CL	514.1 <sup>a</sup>	681.4 <sup>a</sup>	1.75 <sup>b</sup>	5.41	36.7	21.8 <sup>b</sup>	53.3 <sup>a</sup>	20.5	0.26 <sup>a</sup>
53	D+	1943	3535 <sup>b</sup>	2.39 <sup>b</sup>	3.12	21.8	15.6	24.3 <sup>b</sup>	7.90	0.31 <sup>b</sup>
	D-	1903	4904 <sup>a</sup>	3.50 <sup>a</sup>	3.19	22.7	13.7	31.6 <sup>a</sup>	8.31	0.39 <sup>a</sup>
	CL	2078	3788 <sup>b</sup>	2.73 <sup>b</sup>	2.92	23.8	12.5	26.0 <sup>ab</sup>	7.26	0.36 <sup>a</sup>

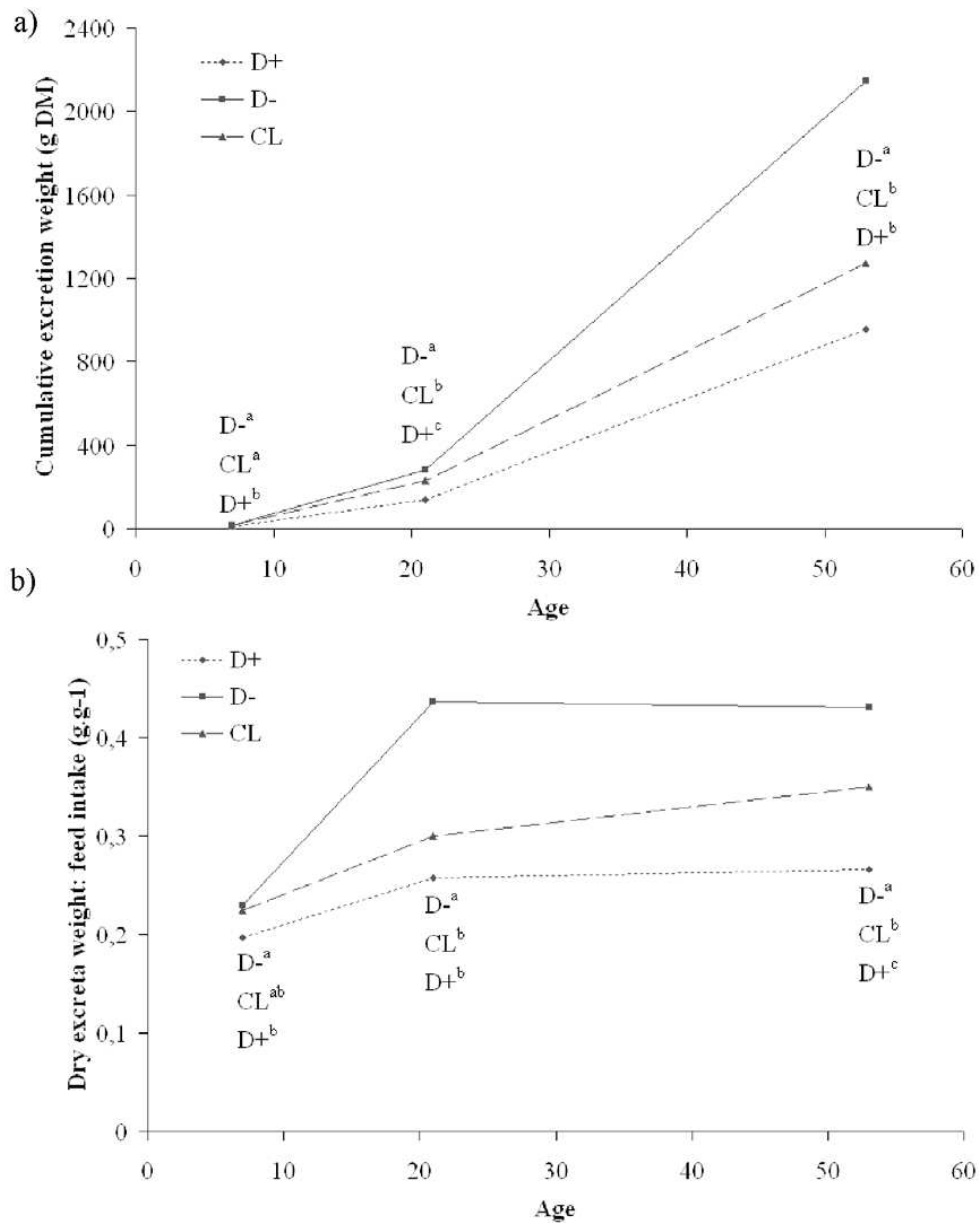
<sup>1</sup>BW: body weight (g); FI: feed intake (g); FCR: feed conversion ratio (g:g); CW, LW, PVGW: relative crop, liver, and proventriculus-gizzard weights (g:g); IW: relative small intestine weight (g:g); IL: small intestine length relative to BW (cm:kg); ID: small intestine density (g:cm). <sup>a-c</sup>Means within an age with different superscripts are significantly different ( $P<0,05$ )

## RESULTS AND DISCUSSION

Elementary statistics on growth performance and gastro-intestinal tract characteristics are shown in Table 2.

From hatch to 21 d of age, D+ and D- birds presented a lower BW than CL birds whereas at 53 d no significant difference was observed between lines. This BW recovery was achieved with a lower (7d: -22.6% and 21d: -21.3%) or equivalent (53d) feed intake in D+ compared to CL birds. Thus, at 21 d, D+ birds presented a significant improvement of FCR (1.47 vs 1.75 for CL birds) that was not maintained at 53 d.

During the 21-53d period, BW recovery in D- birds was achieved with a 29.5 and 38.7% higher feed intake compared to CL and D+ birds respectively, leading to higher FCR (D- vs CL: 28.2% and D- vs D+: 46.4%). On the whole period, CL and D+ birds had a very close FCR (2.35 and 2.21, respectively), much lower than in D- birds (3.17).



**Figure 1.** Effect of genetic origin (divergent lines D+ and D- and commercial line) on a) cumulative excretion (g DM) and b) ratio of dry excreta weight to feed intake from 4 to 7 d, 7 to 21 d and 21 to 53 d.



As shown in Figure 1, the ratio of dry excreta weight to feed intake was lower for D+ than CL birds from 21 to 53 d, showing an improvement in digestive efficiency by comparison to CL. The D- birds presented a lower digestive efficiency than CL and D+ birds as soon as 7 d. Indeed, the ratio of dry excreta weight to feed intake was 45.3 and 23.1% higher in D- than in CL birds between 7 and 21 d and between 21 and 53 d, respectively.

From a quantitative point of view, these results showed a significant lesser excretion in D+ birds compared to CL until 21 d. For D- birds, even if their digestive efficiency remained stable from 7 to 53 d, they presented a large increase in dry excreta weight. On the whole period, to achieve the same final BW, D+ birds excreted 21.5 and 129.3% lesser manure than CL and D- birds respectively.

The selection experiment affected not only excretion traits but also the development of the digestive tract on the whole life of animals. According to the morphological results, except for the crop weight, we observed differences between lines in the relative weights of the different segments of the GIT. LW was greater in CL birds than in D+ only at 7 d. D+ birds showed a weight of the upper part of the GIT (proventriculus and gizzard) 25.7 and 66.5% higher than CL birds and 13.3 and 46.4% higher than D- birds at 7 and 21 d respectively. At 53 d, the gizzard and proventriculus weights were 24.8 and 13.9% greater in D+ birds than in D- and CL birds, respectively, but these differences were not significant, due to the high variability of this trait at this age. D+ birds seem to be more sensitive to the wheat-based diet by developing their proventriculus and gizzard compared to D- and CL birds. This may have improved nutrient accessibility in the small intestine, and in consequence, their digestibility (Wu *et al.*, 2004). At 7 and 21 d, IL was higher in D+ birds. Nevertheless, at 21 and 53 d, D+ had lower IW and ID than D- (-25.6 to -32.9%) and CL birds (-7.0% to -36.8%). It was hypothesized that the differential development of the upper part of the GIT between lines over time results in an adaptation of the small intestine (de Verdal *et al.*, 2010). However, as the development of the digestive tract was similar in D- and CL birds, but excretion much higher in D- birds, selection probably affected functionalities of the digestive tract in D- line.

As a conclusion, this comparative study showed that D+ birds developed the proventriculus and gizzard more quickly than D- and CL birds under a wheat-based diet. During this meanwhile, nutrient availability at the intestinal level may be higher in the D+ line resulting in a lesser excretion capacity and excreta production than in D- and CL birds. The reduction of the production of manure with maintenance of animal performance thanks to selection was evidenced, which is of special interest from an environmental point of view.

## REFERENCES

- Mignon-Grasteau, S., Muley, N., Bastianelli, D., Gomez, J., Peron, A., Sellier, N., Millet, N., Besnard, J., Hallouis, J.M., and Carré, B. (2004) Heritability of digestibilities and divergent selection for digestion ability in growing chicks fed a wheat based diet. *Poultry Science* **83**: 860-867.
- Mignon-Grasteau, S., Lafeuille, O., Dourmad, J.Y., Hillion, S., Bastianelli, D., Arnould, C., Phocas, F., and Carré, B. (2010) Consequences of selection for digestibility on feeding activity and excretion. *Proceeding of the 13th European Poultry Conference*, Tours.
- de Verdal, H., Mignon-Grasteau, S., Jeulin, C., Le Bihan-Duval, E., Leconte, M., Mallet, S., Martin, C., and Narcy, A. (2010) Morphological and histological digestive adaptation in broiler lines divergently selected for digestive efficiency. *Submitted*.
- Wu, Y.B., 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.

# Annexe 3 – Possibilités de diminution des rejets chez les poulets par la sélection génétique

de Verdal Hugues<sup>1</sup>, Narcy Agnès<sup>1</sup>, Chapuis Hervé<sup>2</sup>, Bastianelli Denis<sup>3</sup>, Mème Nathalie<sup>1</sup>, Le Bihan-Duval Elisabeth<sup>1</sup>, Mignon-Grasteau Sandrine<sup>1</sup>

**9èmes Journées de Recherches Avicoles, (29 et 30 Mars 2011)**

*<sup>1</sup>INRA UR83 Recherches Avicoles – 37380 NOUZILLY, <sup>2</sup>SYSAF - 37380 NOUZILLY, <sup>3</sup>CIRAD, Systèmes d'élevage - 34398 MONTPELLIER Cedex 05*

## **RÉSUMÉ**

La production avicole est critiquée pour son impact négatif sur l'environnement, dû aux fortes concentrations d'élevages dans certaines régions très ciblées comme la Bretagne. Il est donc important de trouver les moyens de diminuer les quantités de rejets excrétés par les poulets par l'amélioration des pratiques d'élevage, mais aussi par la voie génétique. Dans ce but, les paramètres génétiques de caractères liés aux rejets et aux performances ont été estimés chez 2 lignées de poulets sélectionnés de façon divergente sur le critère d'EMAn (Energie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul). Au total, 630 poulets ont été élevés pendant 23 jours, et des mesures d'indice de consommation (IC), d'EMAn, de poids total de fientes sèches brut (PFS) ou rapporté à la consommation alimentaire (PFS:CA), de teneur en humidité des fientes (HUM), de quantité d'azote et de phosphore excrétés rapportée à la consommation alimentaire (NE:CA, PE:CA) ainsi que le ratio de l'azote excrété sur le phosphore excrété (NE:PE) ont été réalisées. Les héritabilités estimées sont toutes modérées à fortes, de 0.19 pour NE:PE, 0.24 à 0.26 pour HUM, NE:CA et PE:CA, 0.31 pour PFS:CA et 0.46 pour PFS. Les corrélations génétiques entre les caractères liés à l'excrétion et EMAn, PFS:CA ou IC sont très proches (avec des variations comprises entre 0.03 et 0.11), excepté pour HUM (-0.51 avec IC, 0.11 avec EMAn, -0.17 avec PFS:CA), NE:PE (0.73 avec IC, -0.45 avec EMAn, 0.45 avec PFS:CA), et PE:CA (0.24 avec IC et -0.49 avec EMAn, 0.51 avec PFS:CA). Ces résultats montrent que sélectionner sur IC, EMAn ou PFS:CA pourrait améliorer les quantités et la qualité des fientes excrétées par les poulets. De plus, pour EMAn et PFS:CA, cela n'affecterait pas les performances de croissance. Sélectionner sur EMAn ou PFS:CA apporterait une réponse attendue à la sélection sur les critères d'excrétion de 30 à 156% plus élevée qu'une sélection sur IC.

## **ABSTRACT**

### **Genetic selection in view of limiting excretion in chickens**

Poultry production has been widely criticized for its negative impact on the environment, mainly due to the high concentration of poultry farms in several regions as Brittany. It is therefore important to find ways to decrease chicken's excretion, through improvement of rearing conditions or through genetics. To determine which selection criterion would improve excretion traits, genetic parameters of performance and excretion traits have been estimated in 2 lines divergently selected on the EMAn criterion (Apparent metabolisable energy corrected for zero nitrogen). A total of 630 chickens were reared for 23 days and measured for their feed conversion ratio (IC), EMAn, dry excreta weight (PFS) or dry excreta weight relative to feed intake (PFS:CA), excreta water content (HUM), phosphorus and nitrogen excretion content relative to feed intake (PE:CA and NE:CA), and ratio of nitrogen to phosphorus content of excreta (NE:PE). Estimated heritabilities were moderate to high for excretion traits (i.e., 0.19 for NE:PE, 0.24 to 0.26 for HUM, NE:CA, and PE:CA, 0.31 for PFS:CA and 0.46 for PFS). Genetic correlations between excretion traits and EMAn, PFS:CA or IC were rather close (with variations ranging from 0.03 to 0.11), except for the HUM (-0.51 with IC, 0.11 with EMAn, -0.17 with PFS:CA), the NE:PE (0.73 with IC, -0.45 with EMAn, 0.45 with PFS:CA) and PE:CA (0.24 with IC, -0.49 with EMAn, 0.51 with PFS:CA). These results showed that select on the EMAn, IC or PFS:CA would improve the quantity and the quality of excreta of chickens. Moreover, for EMAn and PFS:CA, this will not affect the growth performances. Furthermore, selecting on EMAn or PFS:CA would lead to a 30 to 156 % greater expected response to selection on excretion traits than selecting on IC.

## INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, la production avicole est critiquée pour son impact négatif sur l'environnement, principalement dû à la forte concentration d'élevages dans certaines régions comme la Bretagne. La production de viande de poulet estimée en France en 2005 à 2.00 millions de tonnes, génère une quantité de fèces estimée à 2.97 millions de tonnes de fumier et 6.02 millions de tonnes d'excréta et de lisier (CORPEN, 2006). Ce problème a conduit à la définition de normes françaises et européennes, comme la directive azote (91/676/CEE) limitant la quantité d'azote que l'on peut épandre sur les terres agricoles à 170 kg. ha<sup>-1</sup>. Les limites qui tendent à se mettre en place sont encore plus drastiques pour le phosphore (100 kg. ha<sup>-1</sup>). Si l'optimisation des formulations des aliments peut être un moyen possible pour limiter les rejets, une voie complémentaire pourrait être l'approche génétique. La diminution des rejets et l'amélioration de l'efficacité digestive semblent par ailleurs étroitement liées. Il a longtemps été admis que la capacité des poulets à digérer leur aliment n'était pas contrôlée par la génétique (Pym, 1990), même si plusieurs études ont noté une forte variabilité individuelle sur ces caractères (Maisonier et al., 2001). En utilisant un aliment à base de blé (55% de l'aliment), Mignon-Grasteau et al. (2004) ont montré que la digestibilité de l'énergie, des lipides, des protéines et de l'amidon était fortement héritable (0.36, 0.47, 0.33 et 0.37, respectivement). A partir de ces résultats, une expérience de sélection divergente utilisant comme critère de sélection l'énergie métabolique apparente corrigée pour un bilan azoté nul (EMAn) a été mise en place. Après 6 générations de sélection divergente, l'EMAn était 42.2% supérieure pour la lignée à forte digestibilité (lignée

D+) comparée à celle à faible digestibilité (lignée D-, Carré et al., 2005). La digestibilité de l'amidon, des protéines et des lipides a également été améliorée chez les D+ par rapport aux D- (+35%, +8% et +17%, respectivement, Carré et al., 2007). Plus récemment, de Verdal et al. (2010) ont montré que les animaux D+ produisaient significativement plus de deux fois moins de rejets que les D- sur la durée totale de l'élevage.

L'intérêt de cette étude était de compléter ces données phénotypiques par une estimation des paramètres génétiques des caractères liés aux rejets dans ces 2 lignées. Le but était de trouver un critère de sélection pertinent sur les rejets en vue de réduire l'impact environnemental de la production avicole.

## 1. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1.1. Animaux

Un total de 630 poulets D+ et D- issus de 46 pères et 128 mères de la 9<sup>ème</sup> génération de sélection ont été élevés en 3 séries différentes. A l'éclosion, les animaux ont été placés en cages par 4 ou 5. Après 3 jours, les poulets ont été répartis aléatoirement dans des cages individuelles situées dans 3 cellules d'élevage différentes. Les conditions environnementales telles que la ventilation, le programme lumineux (24L : 0D de 1 à 7 jours puis 23L : 1D de 8 à 23 jours) et la température (de 33°C à 1 jour à 22°C à 23 jours) ont été contrôlées. Les animaux avaient libre accès à l'aliment et à l'eau, et étaient nourris avec un régime à base de blé similaire à celui utilisé lors de la sélection (55% de blé Rialto, Mignon-Grasteau *et al.*, 2004).

### 1.2. Mesures

Tous les animaux ont été pesés individuellement à 17 et 23 jours (BW23) d'âge. La consommation alimentaire (CA) a été mesurée entre 17 et 23 jours, et l'indice de consommation (IC) a été calculé. La totalité des fientes a été collectée entre 17 et 23 jours en utilisant la méthode de collecte totale d'excréta (Bourdillon et al., 1990), lyophilisée, séchée puis pesée (PFS). L'EMAn ainsi que l'excrétion d'azote et de phosphore (NE et PE) ont été mesurées individuellement entre 17 et 23 jours et le ratio NE sur PE a été calculé. L'EMAn et la concentration d'azote des fientes sèches ont été mesurées chez tous les animaux par spectrophotométrie à infrarouge (SPIR, Bastianelli et al., 2010). La concentration de phosphore dans les fientes a été mesurée par analyse colorimétrique. Les ratios PFS:CA, NE:CA et PE:CA ont été calculés. Le taux d'humidité des fientes (HUM) a été calculé comme la différence entre le poids frais et le poids sec des fientes, rapporté au poids frais des fientes.

### 1.3. Analyses statistiques

La procédure GLM (SAS Institute, 1999) a été utilisée pour estimer les effets de la lignée et identifier les effets fixes (sexe, série, cellule et rangée) significatifs à inclure pour les analyses génétiques. Les paramètres génétiques ont été estimés par la méthode du maximum de vraisemblance en utilisant le logiciel WOMBAT (Meyer, 2007).

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les statistiques élémentaires sont présentées dans le tableau 1. Quel que soit le caractère considéré, les deux lignées divergentes sont significativement différentes. Le critère de sélection, EMAn, est 33,5% plus élevé chez les D+ que chez les D-, alors que leur

consommation alimentaire (CA) est 21% plus faible. Par conséquent, IC est 58,1% plus faible chez les D+ que chez les D-. Les D- produisent plus du double de rejets que les D+ en quantité brute, et près de 1,7 fois plus lorsque l'on corrige pour la consommation alimentaire. La différence entre lignées est plus marquée pour NE:CA (+53,4% chez les D-) que pour PE:CA (+21,3% chez les D-). Ce déséquilibre entre l'excrétion d'azote et de phosphore induit une différence plus faible pour le ratio NE:PE (+25,5% chez les D-) que pour le ratio NE:CA. Ce ratio NE:PE est important à prendre en compte pour calculer les quantités d'azote et de phosphore que l'on peut épandre sur les terres agricoles. En considérant le fait que 50% de l'azote est perdu sous forme gazeuse avant l'épandage, le ratio de 3,46 pour les D+ devient alors très proche de la norme réglementaire, alors que chez les D-, le ratio correspond à un épandage de 22% d'azote en excès par rapport au phosphore. Finalement, le taux d'humidité des fientes est 7,6% plus élevé chez les D+ que chez les D-, bien que les D- excrètent 54% plus d'eau en quantité brute que les D+, en raison de leur consommation alimentaire plus élevée. Cette différence d'excrétion d'eau pourrait modifier l'évolution des rejets avant épandage mais aussi avoir un impact sur la qualité des litières, et par conséquent, sur le bien-être des animaux.

Les estimations des paramètres génétiques sont présentées dans le tableau 2. BW23, IC et EMAn sont modérément à fortement héritables (de 0,21 à 0,65), ce qui est en accord avec les résultats des études précédentes sur ces deux lignées (0,55 à 0,59 pour BW23, 0,27 à 0,32 pour IC et 0,36 pour EMAn, Mignon-Grasteau et al., 2004).

A notre connaissance, aucune étude n'a encore estimé les paramètres génétiques des caractères liés aux rejets. Les estimations d'héritabilités sont fortes pour PFS et PFS:CA (0,46 et 0,31, respectivement) et modérées pour HUM, NE:PE, NE:CA et PE:CA (comprises entre 0,19 et 0,26). Les écarts types des

héritabilités varient entre 0.07 et 0.16, ceux des corrélations génétiques entre 0.01 et 0.29. Ces écart-types sont relativement élevés, en partie à cause de l'effectif d'animaux de notre expérience, mais également à cause du logiciel utilisé, WOMBAT, qui contrairement à d'autres logiciels tels que VCE, fournit des écart-types non asymptotiques. Les estimations de paramètres génétiques obtenues avec ces deux logiciels sont néanmoins très proches.

Si PFS et PFS:CA sont positivement corrélés avec NE:CA et PE:CA, la corrélation est plus forte pour l'azote que pour le phosphore. Ceci est cohérent avec les différences entre D+ et D-, plus importantes pour NE que pour PE.

EMAn est fortement corrélée avec PFS, PFS:CA et NE:CA, et dans une moindre mesure avec PE:CA. Selon ces estimations, sélectionner sur le critère d'EMAn pourrait réduire les quantités de rejets produits par les poulets. Une telle sélection pourrait aussi modifier le ratio NE:PE en diminuant plus fortement l'excrétion d'azote que celle de phosphore.

Nos résultats permettent de comparer les réponses attendues à la sélection sur IC, sur EMAn et sur les caractères de rejets. Les excréments d'azote et de phosphore pourraient être diminués par la réduction d'IC aussi bien que par l'augmentation d'EMAn.

Cependant, la sélection sur EMAn conduirait à une réponse plus importante que la sélection sur IC, de 31% pour l'excrétion d'azote et de 156% pour l'excrétion de phosphore. Cela dit, la sélection sur EMAn conduirait à une réponse moins favorable pour

le ratio NE:PE que la sélection sur IC et ainsi à un moins bon équilibre entre les excréments d'azote et de phosphore.

Contrairement à la sélection sur EMAn, la sélection sur IC pourrait augmenter la teneur en eau des fientes, au détriment du bien-être animal par l'impact sur la qualité des litières. Cela dit, il serait intéressant d'estimer les corrélations avec les quantités brutes d'eau excrétée, qui sont plus directement liées à la qualité des litières que la teneur en eau des fientes.

Enfin, PFS:CA est aussi héritable que EMAn et présente des corrélations très similaires avec les caractères d'excrétion. Ainsi, sélectionner sur EMAn ou sur PFS:CA donnerait les mêmes réponses au niveau de la réduction des rejets et pourrait être une alternative intéressante à mettre en œuvre par les sélectionneurs.

## CONCLUSION

Avec un régime à base de blé, les corrélations génétiques entre EMAn et les caractères liés aux rejets indiquent que sélectionner sur EMAn pourrait réduire les quantités de rejets produites par les poulets, sans altérer le poids des animaux. Dans nos conditions d'étude, sélectionner sur l'EMAn ou sur PFS:CA semble équivalent quant à l'impact environnemental de la production avicole.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bastianelli, D., Bonnal, L., Juin, H., Mignon-Grasteau, S., Davrieux, F., Carré, B., 2010. *J. Near Infra. Spe.*, (18), 69-77
- Bourdillon, A., Carré, B., Conan, L., Duperray, J., Huyghebaert, G., Leclercq, B., Lessire, M., McNab, J., Wiseman, J., 1990. *Br. Poult. Sci.*, (31), 557-565

Carré, B., Muley, N., Gomez, J., Oury, F.X., Laffitte, E., Guillou, D., Signoret, C., 2005. *Br. Poult. Sci.*, (46), 66-74

Carré B., Mignon-Grasteau, S., Péron, A., Juin, H., Bastianelli, D., 2007. *World's Poult. Sci. J.*, (63), 585-596

COPREN, 2006. Ministère de l'agriculture.

de Verdal, H., Narcy, A., Le Bihan-Duval, E., Mignon-Grasteau, S., 2010. 13th Eur. Poult. Conf., pp223

Maisonnier, S., Gomez, J., Carré, B., 2001. *Br. Poult. Sci.*, (42), 102-110

Meyer, K., 2007. *J. Zhejiang Univ. – Sci. B*, (8), 815-821

Mignon-Grasteau, S., Muley, N., Bastianelli, D., Gomez, J., Péron, A., Sellier, N., Millet, N., Besnard, J., Hallouis, J.M., Carré, B., 2004. *Poult. Sci.*, (83), 860-867

Pym, R.A.E., 1990. *In Poultry Breeding and Genetics*. Ed R.D. Crawford, Amsterdam, pp847-876

SAS Institute, 1999. Version 6, 4th ed. SAS Institute Inc. Cary, NC

**Tableau 1.** Moyenne des moindres carrés ( $\pm$  erreur standard) des variables mesurées sur les deux lignées divergentes

Trait <sup>1</sup>	n	D+	D-	Effect lignée <sup>2</sup>
BW23 (g)	592	490 $\pm$ 3,62	428 $\pm$ 3,62	< 0.01
CA (g)	585	286 $\pm$ 3,09	362 $\pm$ 3,15	< 0.01
IC (g:g)	592	1,72 $\pm$ 0,08	2,72 $\pm$ 0,08	< 0.01
EMAn (kcal/kg MS)	592	3 278 $\pm$ 25,6	2 460 $\pm$ 25,7	< 0.01
PFS (g)	596	62,4 $\pm$ 2,68	134,1 $\pm$ 2,69	< 0.01
HUM (%)	488	70,9 $\pm$ 0,52	65,9 $\pm$ 0,53	< 0.01
NE : PE (mg: mg)	589	3,46 $\pm$ 0,04	4,34 $\pm$ 0,04	< 0.01
PFS : CA (g:g)	575	0,22 $\pm$ 0,01	0,37 $\pm$ 0,01	< 0.01
NE : CA (mg:g)	576	11,8 $\pm$ 0,16	18,1 $\pm$ 0,17	< 0.01
PE : CA (mg:g)	572	3,45 $\pm$ 0,04	4,19 $\pm$ 0,04	< 0.01

<sup>1</sup> BW23 = BW à 23 jours ; CA = consommation alimentaire entre 17 et 23 jours ; IC = indice de consommation entre 17 et 23 jours ; EMAn = énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul ; PFS = poids d'excréta sec ; HUM = taux d'humidité des fientes ; NE:PE = ratio de l'azote sur le phosphore excrétés ; PFS:CA = ratio du poids d'excréta sec sur la consommation alimentaire ; NE:CA = ratio de l'azote excrété sur la consommation alimentaire ; PE:CA = ratio du phosphore excrété sur la consommation alimentaire.

<sup>2</sup>P-value.



**Tableau 2.** Estimations des paramètres génétiques<sup>1</sup> pour BW23, IC, EMAn, et les caractères liés à l'excrétion

Variable <sup>2</sup>	BW23	IC	EMAn	PFS	HUM	NE: PE	PFS: CA	NE: CA	PE: CA
BW23	<b>0,65</b>	-0,41	0,21	-0,07	0,29	-0,50	-0,20	-0,30	0,07
IC		<b>0,21</b>	-0,86	0,91	-0,51	0,73	0,88	0,83	0,24
EMAn			<b>0,33</b>	-0,94	0,11	-0,45	-0,99	-0,87	-0,49
PFS				<b>0,46</b>	-0,35	0,53	0,95	0,80	0,35
HUM					<b>0,26</b>	-0,55	-0,17	-0,22	0,26
NE: PE						<b>0,19</b>	0,45	0,42	-0,37
PFS: CA							<b>0,31</b>	0,90	0,51
NE: CA								<b>0,25</b>	0,67
PE: CA									<b>0,24</b>

<sup>1</sup>Les héritabilités sont sur la diagonale et les corrélations génétiques au dessus de la diagonale.

<sup>2</sup> BW23 = BW à 23 jours ; CA = consommation alimentaire entre 17 et 23 jours ; IC = indice de consommation entre 17 et 23 jours ; EMAn = énergie métabolisable apparente corrigée pour un bilan azoté nul ; PES = poids d'excréta sec ; HUM = taux d'humidité des fientes ; NE:PE = ratio de l'azote sur le phosphore excrétés ; PES:CA = ratio du poids d'excréta sec sur la consommation alimentaire ; NE:CA = ratio de l'azote excrété sur la consommation alimentaire ; PE:CA = ratio du phosphore excrété sur la consommation alimentaire.



# Hugues de Verdal

## Possibilités de réduction des rejets chez le poulet par la sélection génétique



### Résumé

Dans un contexte de développement durable, trouver des moyens de réduire l'impact environnemental de la production avicole est d'une grande importance. L'estimation des paramètres génétiques de nombreux caractères de rejets chez les lignées divergentes D+ et D- nous a permis de définir plusieurs critères pertinents à prendre en compte dans les schémas de sélection pour maîtriser l'excrétion des poulets. Nous avons également montré que l'utilisation de ces critères n'aurait pas de conséquences négatives sur les caractéristiques d'importance économique pour l'industrie avicole. Enfin, nous avons pu montrer que la morphologie du tractus gastro-intestinal était très fortement impliquée dans les variations d'excrétion des poulets. En effet, un important développement du proventricule et du gésier et une réduction du développement de l'intestin grêle sont associés aux animaux produisant moins de rejets et présentant une meilleure efficacité digestive.

Mots-clés : poulet, rejets, génétique, digestion, durabilité, environnement

### Résumé en anglais

The reduction of the environmental impact of poultry production is crucial to ensure its sustainability. The estimation of genetic parameters of several excretion characteristics in D+ and D- divergent lines allowed us to define pertinent criteria that could be included in selection schemes in view to reduce chicken excretion. We also showed that using these criteria would not have negative consequences on the traits of economic importance for poultry industry. Finally, we showed that the gastro-intestinal tract morphology is highly implied in the variations of excretion between chickens. Indeed, an important development of the proventriculus and gizzard and a reduction of the small intestine development were associated with birds producing less excreta and showing a higher digestive efficiency.

Keywords: chicken, excretion, genetics, digestion, sustainability, environment