



Modélisation des besoins phosphocalciques et stratégies d'amélioration de l'utilisation du phosphore chez le porc en croissance

Marion Lautrou

► To cite this version:

Marion Lautrou. Modélisation des besoins phosphocalciques et stratégies d'amélioration de l'utilisation du phosphore chez le porc en croissance. Alimentation et Nutrition. Université Paris-Saclay; Université Laval (Québec, Canada), 2022. Français. NNT : 2022UPASB011 . tel-03920784

HAL Id: tel-03920784

<https://pastel.hal.science/tel-03920784>

Submitted on 3 Jan 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Modélisation des besoins phosphocalciques et stratégies d'amélioration de l'utilisation du phosphore chez le porc en croissance

*Phosphocalcic requirements modeling and strategies to improve phosphorus
utilization in growing pigs*

**Thèse de doctorat de l'université Paris-Saclay
et de l'université Laval**

École doctorale n°581 : agriculture, alimentation, biologie, environnement et santé
(ABIES)

Spécialité de doctorat : Sciences animales
Graduate School : Biosphera. Référent : AgroParisTech

Thèse préparée dans l'UMR MoSAR (Université Paris-Saclay, INRAE, AgroParisTech) et
l'Université Laval, Faculté des sciences de l'agriculture et de l'alimentation, Département
des sciences animales, sous la direction de **Marie-Pierre LÉTOURNEAU-MONTMINY**,
Professeure agrégée et la co-direction de **Philippe SCHMIDELY**, Professeur.

Thèse soutenue à Québec, le 14 avril 2022, par

Marion LAUTROU

Composition du jury

Édith CHARBONNEAU Professeure titulaire, Université Laval	Présidente
Lucile MONTAGNE Professeure, Institut Agro Rennes-Angers	Rapporteur & Examinatrice
Nathalie QUINIOU Ingénieure de recherche (HDR), IFIP-Institut du porc	Rapporteur & Examinatrice
Frédéric GUAY Professeur agrégé, Université Laval	Examineur
Philippe LESCOAT Professeur, AgroParisTech (Université Paris-Saclay)	Examineur
Marie-Pierre LÉTOURNEAU-MONTMINY Professeure agrégée, Université Laval	Directrice de thèse
Philippe SCHMIDELY Professeur, AgroParisTech (Université Paris-Saclay)	Co-directeur de thèse
Candido POMAR Maître de conférences, Université Laval	Invité

Titre : Modélisation des besoins phosphocalciques et stratégies d'amélioration de l'utilisation du phosphore chez le porc en croissance

Mots clés : Modélisation, Porc, Phosphore, Calcium, Déplétion-réplétion, Phytase

Résumé : L'amélioration de l'utilisation du phosphore est un des enjeux majeurs de durabilité de la filière porcine. Les objectifs de cette thèse de doctorat sont 1) de développer un nouveau modèle mécaniste de prédiction des besoins en phosphore et calcium chez le porc en croissance et 2) de rechercher des stratégies nutritionnelles permettant une utilisation du phosphore plus efficiente. Afin de développer le modèle de prédiction, un essai a d'abord été réalisé pour actualiser les connaissances sur l'évolution dynamique de la composition chimique en phosphore et calcium des tissus mous au cours de la croissance du porc. Dans le modèle proposé, le dépôt de phosphore et de calcium dans les os est considéré comme indépendant du dépôt protéique, ou du dépôt de tissus mous. Son analyse de sensibilité montre que le potentiel de dépôt de calcium dans les os est le facteur qui influe le plus sur la variabilité des besoins en calcium et phosphore, suivi du dépôt protéique pour le besoin en phosphore à 30 et 60 kg de poids vif. Concernant la recherche de stratégies nutritionnelles, un essai a été mis en place pour tester l'effet d'une séquence de

déplétion et de réplétion des apports en phosphore et calcium sur l'efficacité d'utilisation de ces minéraux chez les porcs en croissance. Un second essai a été réalisé pour évaluer l'effet d'une alimentation sans phosphate avec ajout de phytase microbienne. L'efficacité d'utilisation du phosphore a été améliorée avec ces deux stratégies. Néanmoins, les performances zootechniques ont été légèrement diminuées en début de croissance (second essai), ce qui est probablement dû à un excès de calcium soluble. Les stratégies proposées dans cette thèse ouvrent des voies très pertinentes pour réduire les apports et diminuer les rejets en phosphore. Le nouveau modèle introduit dans cette thèse, associé à de nouvelles stratégies d'amélioration de l'utilisation du phosphore, permettrait de diminuer les intrants en phosphate minéral pour l'alimentation des porcs et de réduire les excréments en phosphore sans diminuer les performances de croissance ou la santé osseuse des animaux. Les effets pourraient être encore plus importants lors de l'application de ces solutions avec des systèmes d'alimentation de précision.

Title : Phosphocalcic requirements modeling and strategies to improve phosphorus utilization in growing pigs

Keywords : Modeling, Pig, Phosphorus, Calcium, Depletion-repletion, Phytase

Abstract : Improving phosphorus use is one of the major issues for the sustainability of the swine industry. The objectives of this PhD thesis were 1) to develop a new mechanistic model to predict the phosphorus and calcium requirements in growing pigs, and 2) to investigate nutritional strategies for a more efficient use of phosphorus. In order to develop the prediction model, a trial was first carried out to update the knowledge on the dynamic changes of the chemical composition of soft tissues during pig growth. In the proposed model, phosphorus and calcium deposition in bone is considered to be independent of protein deposition, or soft tissue deposition. Sensitivity analysis of the model shows that the potential for calcium deposition in bone has the greatest influence on the variability of calcium and phosphorus requirements, followed by protein deposition for phosphorus requirement at 30 and 60 kg of body weight. Regarding the research of nutritional strategies, a trial was first set up to test the ef-

fect of a dietary phosphorus and calcium depletion-repletion sequence on the efficiency of use of these minerals in growing pigs. A second trial was carried out to evaluate the effect of a phosphate-free diet with the addition of microbial phytase. Phosphorus utilisation efficiency was improved in both strategies. However, the zootechnical performance decreased slightly at the beginning of growth in the second trial, which is probably due to an excess of soluble calcium. The strategies proposed in this thesis provide very relevant ways to reduce phosphorus supplies and to decrease phosphorus excretion. The new model introduced in this thesis, combined with new strategies to improve phosphorus use, would allow to reduce inorganic phosphate supply to pigs, and to reduce phosphorus excretion without decreasing growth performances or bone health of animals. The effects could be even greater when applied with precision feeding systems.

Résumé

L'amélioration de l'utilisation du phosphore est un des enjeux majeurs de durabilité de la filière porcine. Les objectifs de cette thèse de doctorat sont 1) de développer un nouveau modèle mécaniste de prédiction des besoins en phosphore et calcium chez le porc en croissance et 2) de rechercher des stratégies nutritionnelles permettant une utilisation du phosphore plus efficiente. Afin de développer le modèle de prédiction, un essai a d'abord été réalisé pour actualiser les connaissances sur l'évolution dynamique de la composition chimique en phosphore et calcium des tissus mous au cours de la croissance du porc. Dans le modèle proposé, le dépôt de phosphore et de calcium dans les os est considéré comme indépendant du dépôt protéique, ou du dépôt de tissus mous. Son analyse de sensibilité montre que le potentiel de dépôt de calcium dans les os est le facteur qui influe le plus sur la variabilité des besoins en calcium et phosphore, suivi du dépôt protéique pour le besoin en phosphore à 30 et 60 kg de poids vif. Concernant la recherche de stratégies nutritionnelles, un essai a été mis en place pour tester l'effet d'une séquence de déplétion et de réplétion des apports en phosphore et calcium sur l'efficacité d'utilisation de ces minéraux chez les porcs en croissance. Un second essai a été réalisé pour évaluer l'effet d'une alimentation sans phosphate avec ajout de phytase microbienne. L'efficacité d'utilisation du phosphore a été améliorée avec ces deux stratégies. Néanmoins, les performances zootechniques ont été légèrement diminuées en début de croissance (second essai), ce qui est probablement dû à un excès de calcium soluble. Les stratégies proposées dans cette thèse ouvrent des voies très pertinentes pour réduire les apports et diminuer les rejets en phosphore. Le nouveau modèle introduit dans cette thèse, associé à de nouvelles stratégies d'amélioration de l'utilisation du phosphore, permettrait de diminuer les intrants en phosphate minéral pour l'alimentation des porcs et de réduire les excrétions en phosphore sans diminuer les performances de croissance ou la santé osseuse des animaux. Les effets pourraient être encore plus importants lors de l'application de ces solutions avec des systèmes d'alimentation de précision.

Abstract

Improving phosphorus use is one of the major issues for the sustainability of the swine industry. The objectives of this PhD thesis were 1) to develop a new mechanistic model to predict the phosphorus and calcium requirements in growing pigs, and 2) to investigate nutritional strategies for a more efficient use of phosphorus. In order to develop the prediction model, a trial was first carried out to update the knowledge on the dynamic changes of the chemical composition of soft tissues during pig growth. In the proposed model, phosphorus and calcium deposition in bone is considered to be independent of protein deposition, or soft tissue deposition. Sensitivity analysis of the model shows that the potential for calcium deposition in bone has the greatest influence on the variability of calcium and phosphorus requirements, followed by protein deposition for phosphorus requirement at 30 and 60 kg of body weight. Regarding the research of nutritional strategies, a trial was first set up to test the effect of a dietary phosphorus and calcium depletion-repletion sequence on the efficiency of use of these minerals in growing pigs. A second trial was carried out to evaluate the effect of a phosphate-free diet with the addition of microbial phytase. Phosphorus utilisation efficiency was improved in both strategies. However, the zootechnical performance decreased slightly at the beginning of growth in the second trial, which is probably due to an excess of soluble calcium. The strategies proposed in this thesis provide very relevant ways to reduce phosphorus supplies and to decrease phosphorus excretion. The new model introduced in this thesis, combined with new strategies to improve phosphorus use, would allow to reduce inorganic phosphate supply to pigs, and to reduce phosphorus excretion without decreasing growth performances or bone health of animals. The effects could be even greater when applied with precision feeding systems.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Liste des abréviations	xv
Remerciements	xvii
Avant-propos	xix
Introduction	1
1 Bibliographie	3
1.1 L'absorption, la réabsorption et l'utilisation du calcium et du phosphore	3
1.1.1 Le calcium	4
1.1.2 Le phosphore	4
1.1.3 Le métabolisme phosphocalcique et ses régulations chez le porc en croissance	4
1.2 Estimation des besoins et de l'utilisation du phosphore et du calcium	15
1.2.1 Le phosphore et le calcium dans l'aliment	15
1.2.2 Estimations précises des valeurs en phosphore et en calcium des aliments .	18
1.2.3 Critères de réponse et de suivi	21
1.2.4 Estimer précisément les besoins en phosphore et calcium	25
1.3 Stratégies pour réduire les excrétions de phosphore	30
1.3.1 Modèle mécaniste	30
1.3.2 Vers une dégradation plus efficace du phosphore phytique	30
1.3.3 Stratégie de déplétion réplétion	35
1.3.4 Efficacité des stratégies de mitigation : comparaison et perspectives	39
2 Question de recherche	41
3 Composition anatomique et chimique des porcs en croissance à différents poids vifs	45
3.1 Résumé	46
3.2 Abstract	47
3.3 Introduction	47
3.4 Material and methods	48
3.4.1 Experimental setup	48
3.4.2 Dissections	48
3.4.3 Chemical analyses	49
3.4.4 Calculations	49
3.4.5 Statistical analyses	49
3.5 Results	49
3.5.1 Anatomical composition	49
3.5.2 Chemical composition	51

3.5.3	Partitioning	53
3.6	Discussion	53
3.6.1	Anatomical composition of pigs	55
3.6.2	Chemical composition and partitioning	55
3.7	Conclusion	56
	References	56
4	Besoins en phosphore et en calcium pour la minéralisation osseuse des porcs en croissance prédits par la modélisation mécaniste	59
4.1	Résumé	60
4.2	Abstract	61
4.3	Introduction	61
4.4	Material and methods	62
4.4.1	General background	62
4.4.2	General structure of the model	63
4.4.3	Description of the model proposed for estimating Ca and P requirements for bone mineralisation	63
4.4.4	Model comparison	66
4.4.5	Sensitivity analysis of the model prediction of P and Ca requirements	66
4.5	Results and discussion	67
4.5.1	Body phosphorus retention	67
4.5.2	Phosphorus requirement predictions	67
4.5.3	Total Ca requirement predictions	69
4.5.4	Calcium/phosphorus ratios	72
4.5.5	Sensitivity analysis	73
4.5.6	Influence of Dietary Calcium and Phosphorus on Growth Performance	74
4.6	Conclusion	74
	References	75
5	Effets d'une déplétion-réplétion en phosphore et calcium sur les performances et la minéralisation osseuse des porcs en croissance	79
5.1	Résumé	80
5.2	Abstract	81
5.3	Introduction	81
5.4	Material and methods	82
5.4.1	Experimental diets	82
5.4.2	Growth trial	82
5.4.3	Calculations	84
5.4.4	Chemical analysis	84
5.4.5	Statistical analysis	85
5.5	Results	85
5.5.1	Adaptative and depletion phases	85
5.5.2	Repletion phase	89
5.6	Discussion	89
5.7	Conclusion	91
	References	91
6	L'effet d'une stratégie sans phosphate minéral avec supplémentation en phytase sur les performances de croissance et le statut minéral des porcs en croissance.	95
6.1	Résumé	96
6.2	Abstract	97
6.3	Introduction	97

6.4	Material and methods	98
6.4.1	Experimental diets	98
6.4.2	Growth trial	98
6.4.3	Metabolic trial	98
6.4.4	Calculations	99
6.4.5	Chemical analysis	99
6.4.6	Statistical analysis	99
6.5	Results	102
6.5.1	First feeding phase	102
6.5.2	Second feeding phase	102
6.5.3	Third feeding phase	105
6.6	Discussion	105
6.6.1	Effect of a depletion in calcium and phosphorus	105
6.6.2	Effect of a repletion in calcium and phosphorus	108
6.7	Conclusion	109
	References	109
7	Discussion générale	113
7.1	Rappel des objectifs et de la démarche de la thèse	113
7.2	Développement et utilisation du modèle de prédiction des besoins en phosphore et calcium chez le porc en croissance	113
7.2.1	Développement et structure du modèle	113
7.2.2	Utilisation du modèle en recherche et application en élevage	117
7.3	Stratégies alimentaires d'amélioration de l'efficacité d'utilisation du phosphore	119
7.3.1	Mise en place de séquences de déplétion-réplétion et stratégie sans phosphate	119
7.3.2	Conséquences des travaux réalisés sur la durabilité de l'élevage porcin	123
	Conclusion et perspectives	127
	Références Bibliographiques	129
A	Communication aux <i>Journées de la recherche porcine</i> 2019	145
B	Article de synthèse bibliographique 2021	153

Liste des tableaux

1.1	Estimation des besoins en phosphore et calcium pour les porcs en croissance selon différents modèles	28
1.2	Caractéristiques de quelques phytases microbiennes commerciales	32
1.3	Effet de la stratégie de déplétion-réplétion des apports en phosphore et/ou calcium sur la minéralisation osseuse des porcs en croissance	38
3.1	Live, carcass and empty body weight in castrated male and female pigs of different body weights.	50
3.2	Entrails, blood, bristles, nails and head as a proportion of empty body weight and soft tissue and bone as percentage of head weight in castrated male and female pigs of different body weights.	50
3.3	Muscles, subcutaneous fat, skin, and bone as a proportion of carcass in castrated male and female pigs of different body weights	51
3.4	Percentage of protein, lipid, and ash of viscera, skin, subcutaneous fat, and muscle in castrated male and female pigs of different body weights	52
3.5	Percentage of phosphorus and calcium in the dry matter of viscera, skin, and muscle in castrated male and female pigs of different body weights.	53
3.6	Partitioning of protein, lipid, ash, calcium, and phosphorus in castrated male and female pigs of different body weights	54
4.1	Tested parameters and their levels for the global sensitivity analysis on growing pigs	66
4.2	Sobol indices of the tested parameters that explain part of the total calcium (CaTot) and apparent total tract digestible phosphorus (ATTD-P) requirements for growing pigs at each body weight tested	73
5.1	Ingredients and chemical composition of diets varying in dietary calcium and phosphorus concentration (as-fed basis)	83
5.2	Growth performance and mineral status in pigs feeding phase 1	86
5.3	Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 2	87
5.4	Phosphorus and calcium balance in pigs measured during the second feeding phase	88
5.5	Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 3	89
6.1	Ingredients and chemical composition of diets varying in dietary calcium and phosphorus concentration (as-fed basis)	101
6.2	Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 1	103
6.3	Phosphorus and calcium balance in pigs measured during the first feeding phase .	104
6.4	Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 2	106

6.5	Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 3	107
7.1	Excrétions de phosphore par phase selon le traitement alimentaire, estimées par les données de scan	123
7.2	Coût des aliments des essais de déplétion-réplétion	125

Table des figures

1.1 Mécanismes transcellulaires et paracellulaires d'absorption du calcium et du phosphore à travers l'épithélium intestinal	7
1.2 Structure du rein et des néphrons, adapté de National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health (2020).	8
1.3 Mécanismes transcellulaires et paracellulaires de réabsorption du calcium à travers l'épithélium selon les sections du rein. A-Mécanisme paracellulaire au niveau du tube proximal. B- Mécanisme paracellulaire au niveau de la partie ascendante de l'anse de Henle. C- Mécanisme transcellulaire au niveau du tubule contourné distal	9
1.4 Mécanisme transcellulaires de réabsorption du phosphore à travers l'épithélium rénal du tube proximal	10
1.5 Structure et assemblage des microfibrilles de collagène de type I	12
1.6 Régulations hormonales du métabolisme phosphocalcique	14
1.7 A- Structure de l'acide phytique à pH neutre (Humer <i>et al.</i> , 2015); B- Chelate de phytate avec différents cations (Humer <i>et al.</i> , 2015)	16
1.8 Les différents effets de la force appliquée sur l'os. Le schéma représente les directions de la charge (indiquées par des flèches) et les effets de la force appliquée (indiqués par des tirets) : a- os normal sans force appliquée, b- force de compression, c- résistance à la traction, d- résistance au cisaillement, e- résistance à la torsion, f- résistance à la flexion (Oksztulska-Kolanek <i>et al.</i> , 2016)	22
1.9 En haut : Courbe de contrainte-déformation divisée en région de contrainte élastique et région de contrainte plastique. Le x à l'extrémité de la courbe correspond à la contrainte et à la déformation au moment de la rupture. En bas : Mesure de la résistance à partir de la courbe contrainte-déformation (Turner & Burr, 1993)	23
1.10 Évolution du dépôt protéique et du contenu minéral osseux en fonction du poids vif moyen (Couture <i>et al.</i> , 2018)	29
1.11 Effet du pH sur l'activité phytasique des phytases testées <i>in vitro</i> avec EC1 : Quantum (AB Vista), EC2 : Quantum Blue (AB Vista), EC3 : Phyzyme XP (Danisco), CB : Ronozyme Hiphos (DSM), PL : Ronozyme NP (DSM), AN : Natuphos (BASF), BSP : AxtraPHY (Danisco) (Menezes-Blackburn <i>et al.</i> , 2015)	32
1.12 Activité phytasique résiduelle de la phytase d' <i>Escherichia coli</i> et de <i>Peniophora lycii</i> après hydrolyse par la pepsine ou un extrait brut d'estomac de truite selon le temps d'incubation (0, 60, 120, 180 and 240 min). L'incubation a été réalisée en ajoutant 1 FTU de phytase à une solution de protéase avec 5000 U de pepsine porcine ou d'extrait brut gastrique de poisson, réalisée à pH 2,0 (HCl); 16°C. Les résultats sont représentés sous forme de moyenne $\pm$ SE (triplicatas). Des lettres différentes, pour chaque temps, indiquent des différences significatives ($P < 0.05$) entre les phytases (Morales <i>et al.</i> , 2011)	33
1.13 Relation théorique entre la libération de phosphore à partir du phytate et la valeur de calcium associée montrant un effet extra phosphorique disproportionné avec la destruction initiale des esters supérieurs (Cowieson <i>et al.</i> , 2011)	34

1.14	Contenu minéral osseux de porcs en croissance nourris avec des régimes de déplétion-réplétion (Gonzalo, 2017), C : phase d'alimentation de 28 jours avec l'aliment contrôle, au besoin en phosphore et calcium, L : phase d'alimentation de 28 jours avec l'aliment déplété en phosphore et calcium	36
2.1	Schéma de la démarche de thèse	43
4.1	General layout of the proposed mechanistic model predicting total calcium (Ca) and apparent and standardized digestible phosphorus (ATTD and STTD P) requirements of growing pigs.	63
4.2	Potential Ca deposition in bones (g/d) and protein deposition over body weight in growing pigs.	64
4.3	Body phosphorus retention by pigs (g/d) as function of body weight according to INRA (Jondreville & Dourmad, 2005), NRC (NRC, 2012) and the proposed mechanistic model for 85% or 100% bone	68
4.4	Apparent digestible phosphorus requirements (ATTD, g/kg) for growing pigs according to body weight (BW) for INRA (Jondreville & Dourmad, 2005) and the current model for 100 % of bone mineralisation (Model 100 %)	69
4.5	Standardized digestible phosphorus requirements (STTD, g/kg) for growing pigs according to body weight (BW) for NRC (NRC, 2012) and the current model for 85 % of bone mineralisation (Model 85 %)	70
4.6	Total Ca requirements (g/kg) for growing pigs according to BW for each INRA (Jondreville & Dourmad, 2005) and NRC (NRC, 2012) models, the current model for 85 % (Model 85 %) and for 100 % of bone mineralisation (Model 100 %)	71
5.1	Realized BMC gain (g/d) per phase in each groups and potential BMC gain (g/d) according to Lautrou <i>et al.</i> (2020)	90
6.1	Realized BMC gain (g/d) per phase in each groups and potential BMC gain (g/d) according to Lautrou <i>et al.</i> (2020)	108
7.1	Régulations hormonales du métabolisme phosphocalcique	117
7.2	Gain moyen de contenu minéral osseux moyen réalisé par phase dans chaque groupe et potentiel de gain de contenu minéral osseux journalier selon Lautrou <i>et al.</i> (2020)	118
7.3	Besoins et apports en phosphore digestible prévus et réalisés dans l'essai de déplétion-réplétion (Chapitre 5)	121

Liste des abréviations

ATP	adénosine triphosphate 4–6
ATTD	digestibilité totale apparente 16, 18–20, 26, 28, 33, 41
BAP	alcaline phosphatase 24
CaSr	calcium-sensing receptor 8
CMO	contenu minéral osseux 22, 24, 29, 36, 38, 120, 122, 123
CT	computed tomography 24
CTX	Télopeptide C-terminal du collagène de type I 25
DPD	deoxypyridoline 11, 25
DXA	dual-energy X-ray absorptiometry 24, 35, 36, 38
FAO	organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture 1, 25
FGF	Fibroblast growth factor 13, 14, 116
FTU	unités phytasiques 20, 33, 34, 39
GMQ	gain moyen quotidien 21, 28, 123
MSI	matière sèche ingérée 19, 26, 115
NaPi2	Transporteur de phosphate sodium dépendant de type 2 6, 9, 12, 13
NCX	échangeur calcium/sodium 5, 6, 8, 9, 12, 13
NTX	Télopeptide N-terminal du collagène de type I 25
OC	ostéocalcine 24, 36
OCDE	organisation de coopération et de développement économiques 1
PICP	propeptide carboxy-terminal du procollagène de type I 11, 24
PINP	propeptide aminoterminal du procollagène de type I 11, 24
PiT2	Transporteur de phosphate de type 2 9, 12
PMCA	Pompe calcium ATPase de la membrane plasmique 5, 6, 8, 9, 12, 13
PnP	phosphore non phytique 20, 21
PP	phosphore phytique 20, 21
PTH	parathormone 12–14, 35
PYD	pyridinoline 11, 25
STTD	digestibilité totale standardisée 18, 19, 21, 26, 28, 41
TRPV5	Potentiel récepteur transitoire du vanilloïde de type 5 5, 8, 12, 13

TRPV6	Potentiel récepteur transitoire du vanilloïde de type 6 5, 8, 13
TTTD	digestibilité totale vraie 19
WHO	organisation mondiale de la santé 25

Remerciements

Me voilà arrivée à la fin de ce beau projet qu'a été ma thèse. Il est maintenant temps de remercier toutes les personnes grâce à qui j'ai pu aller au bout de ce projet fou!

Je tiens sincèrement à remercier Marie-Pierre, ma directrice de thèse à l'Université Laval, qui a été à l'initiative de cette thèse. Merci pour ta disponibilité, pour tout le temps accordé malgré ton planning chargé. Merci pour ton écoute et ton soutien en cas de petits ou plus grand tracas (pas toujours facile d'avoir des étudiants étrangers!). Enfin, merci pour ta patience, le chemin fût plus long que prévu mais j'y suis arrivée grâce à toi! Et vivement de prochaines collaborations et congrès pour discuter autour d'une bière!

Je souhaiterais ensuite vivement remercier Philippe, mon directeur de thèse à AgroParisTech. Tu es certainement l'une des personnes qui m'a le plus fait grandir lors de mon parcours à l'Agro et je te suis très reconnaissante d'avoir accepté de continuer à m'encadrer au cours de cette thèse (pas toujours la tâche la plus facile...!). Tu as toujours été très disponible, su me remotiver chaque fois que c'était nécessaire et tu m'as poussée à me reconcentrer sur l'essentiel.

Je remercie aussi Candido pour m'avoir si bien accueillie lors de mon stage de quelques mois à Agriculture Canada à Sherbrooke. Tu as fait en sorte de me transmettre ta culture de la modélisation en sciences animale. Je te remercie pour tous les conseils et ton suivi tout au long de cette thèse.

Je souhaite remercier Nathalie Quiniou et Lucile Montagne d'avoir accepté d'être les rapporteurs de ma thèse, merci également à mes examinateurs Philippe Lescoat et Frédéric Guay, et à Édith Charbonneau d'avoir accepté d'endosser le rôle de présidente. Merci à Jean-Yves Dourmad et Agnès Narcy de m'avoir suivie tout au long de cette thèse, merci pour tous vos conseils et votre bienveillance.

Un immense merci à Annie, Annick, Héloïse, Édith et David sans qui je n'aurais pas pu mener à bien les expérimentations. Je ne vous l'ai sans doute pas assez dit en cours de route mais j'ai vraiment apprécié travailler avec vous. Merci également au personnel de laboratoire, notamment Isabelle et Nancy, qui cherchent toujours à nous aider et nous faciliter la vie!

Merci à Marcel, Sophie, Virginie, Catherine et Cassandra, qui ont permis la réussite du premier essai de ma thèse. C'était un réel plaisir de travailler et apprendre à vos côtés.

Dans un registre plus personnel, je tiens à remercier ma famille. Ma maman, qui ne m'a pas vue arriver jusque là mais qui m'a toujours poussée à travailler et m'accrocher à l'école. Mon papa, pour m'avoir toujours soutenue et encouragée tout au long de mes (longues) études, malgré mes nombreux déménagements et même si j'ai choisie une spécialité quelque peu odorante...! Merci à Isabelle d'être à l'écoute (même si nos discussions sont parfois "cochannes"), d'avoir toujours pensé à mon bien-être et surtout merci pour tous tes encouragements. Je tiens particulièrement à remercier Yannick, qui m'a mise sur la route des productions animales, que je n'ai plus quittée. Merci aussi de m'avoir aidée et guidée tout au long de ces longues années d'études. Il est certain que je n'y serais pas parvenue sans vous tous!

Un grand merci à ma belle famille d'avoir accueilli 2 thésards en perdition pendant la crise. Merci pour vos encouragements, le toit au dessus de notre tête, les bonnes galettes saucisses, l'ambiance et surtout la gestion des colis!

Je remercie toutes les personnes que je ne vois pas souvent mais qui ont fait le déplacement pour ce moment important et solennel qu'était ma soutenance de thèse. Merci à vous Aliette & Jean-Claude, Fiona et Sylvain Caroff, c'est toujours rassurant de voir des visages familiers dans ce genre de moment.

Viennent ensuite les copains! Lisa, Pauline, Clarisse, Antoine et Anne-Sophie, c'est vrai qu'on ne se voit pas souvent mais c'est toujours un plaisir de passer un week-end avec vous entre Paris, Toulouse et la Bretagne. Maintenant que nous sommes tous sur le même continent, j'espère qu'on pourra se voir plus fréquemment!

Merci aux copains du coin, Élodie & Pierre, Philomène & Jérémie, Julien & Lucie, David, Quentin et Pierre, c'est toujours un régal de vous voir! Merci pour les parties de pyramide, mölkky ou de phase 10, et pour votre inventivité qui permet de rendre les soirées toujours plus belles! Vivement les prochains moments passés en votre compagnie!

Un grand merci aussi aux copains rencontrés icitte et ailleurs, René, Daniel, Luca puis Fabien & Lucie, Théophane & Valentine et Léa, pour les pique-niques improvisés avec beaucoup trop de bouffe à chaque fois (merci Lucie!). Pour les grands repas partagés avec notre famille du Québec, parce que oui, tout tourne autour de la nourriture, le gras, il y a que ça de vrai! On vous attend en Suisse maintenant pour vous faire goûter la fondue!

Un merci encore plus particulier à Lucie et Jean-Philippe, toujours là pour nous dans les bons et mauvais moments, loin de nos repères et nos familles. Merci Lucie pour tes encouragements quotidiens et d'avoir cru en moi plus que moi! Merci Jean-Philippe pour tes blagues, tes imitations et ta façon de nous raconter tes histoires. Je vous souhaite d'avoir la vie dont vous rêvez. Tabarnak, vous allez nous manquer en crise!

Je souhaite maintenant remercier Mathias (oui t'es dans mes remerciements même si tu n'as pas assisté à ma soutenance...). On se voit moins souvent qu'avant depuis qu'on a quitté notre région d'origine mais ça fait toujours super plaisir de te voir! Même si tu ne comprends pas tout à ce que je fais t'es toujours là et à l'écoute. J'ai déjà hâte à notre prochain combo ciné - glace (ben and jerry's!!) - bonbons (même si mes hanches ne te remercient pas)!

Et enfin, merci à toi Raphaël, de m'avoir épaulée jusqu'au bout. Quelle chance d'avoir pu vivre cette aventure à deux! Merci d'ailleurs de m'avoir suivie dans cette aventure au Québec puis maintenant en Suisse. Merci de m'avoir encouragée à chaque jour et de me faire rire quotidiennement. Nos jeux de dooble, crapette et phase 10 vont se souvenir eux aussi longtemps de cette thèse (et de toutes les parties que tu as perdues...). Tu vas bientôt pouvoir être récompensé à base de macarons, entremets, éclairs au café et peut-être de fondue en haut de la montagne (de toutes façons je me remets au sport lundi!).

Avant-propos

Cette thèse est présentée sous la forme d'un manuscrit avec insertion d'articles et comprend six chapitres. Le premier chapitre, qui suit l'introduction, est une revue de littérature dont une partie a été publiée dans le journal *Frontiers in Veterinary Science*. Le deuxième chapitre présente la question de recherche et les objectifs de la thèse. Les chapitres 3 à 6 correspondent chacun à des articles scientifiques. Le dernier chapitre est la discussion générale de la thèse, suivie d'une conclusion. L'auteur de ce manuscrit est également l'auteur principale des articles présentés ci-dessous.

La revue bibliographique (Chapitre 1) a été en partie publiée le 24 Novembre 2021 dans un numéro spécial du journal *Frontiers in Veterinary Science*. L'auteur principale a réalisé le travail de revue de littérature et de rédaction. Le travail bibliographique réalisé pour le manuscrit dépassant celui de l'article, ce dernier a été placé en annexe B de la thèse.

Lautrou, M., Narcy, A., Dourmad, J.-Y., Pomar, C., Schmidely, P. & Létourneau Montminy, M.-P. (2021). Dietary Phosphorus and Calcium Utilization in Growing Pigs : Requirements and Improvements. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 1-17. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734365>

Le chapitre 3 de la thèse est un article portant sur la composition anatomique et chimique des porcs en croissance. Cet article est en préparation et sera soumis après le dépôt initial de la thèse.

Lautrou, M., Marcoux, M., Schmidely, P., Pomar, C. & Létourneau-Montminy, M.-P. (2022). Anatomical and chemical composition of growing pigs at different bodyweights.

L'article suivant (chapitre 4) présente le modèle de prédiction des besoins en phosphore et calcium chez le porc en croissance, une comparaison avec les modèles InraPorc® et NRC, ainsi qu'une analyse de sensibilité. Cet article a été publié le 01 Juillet 2020 dans un numéro spécial du journal *Animal*.

Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., Narcy, A., Schmidely, P. & Létourneau-Montminy, M. (2020). Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling. *Animal*, 14(S2), s313-s322.

Le chapitre 5 de la thèse est un article portant sur l'effet d'une séquence de déplétion et de réplétion des apports en phosphore et calcium sur les performances et la minéralisation osseuse du porc en croissance. Cet article est en préparation et sera soumis après le dépôt initial de la thèse.

Lautrou, M., Schmidely, P., Pomar, C. & Létourneau-Montminy, M.-P. (2022). Effects of phosphorus and calcium depletion on performance and bone mineralization in growing pigs.

Le chapitre 6 de la thèse est un article portant sur l'effet d'un aliment sans phosphate minéral, avec une supplémentation en phytase sur les performances et la minéralisation osseuse du porc en croissance. Ce type de stratégie induit une séquence de déplétion et de réplétion des apports en phosphore et calcium. Cet article est en préparation et sera soumis après le dépôt initial de la thèse.

Lautrou, M., Schmidely, P., Pomar, C. & Létourneau-Montminy, M.-P. (2022). The effect of a non-mineral phosphate strategy with phytase supplementation on the growth performances and the mineral status of growing pigs.

Introduction

Ces dernières décennies, le nombre d'élevages de porcs en France et au Québec a diminué, tandis que la production a continué d'augmenter, du fait d'une consommation croissante de viande de porc. Ces évolutions s'accompagnent d'un agrandissement et d'un regroupement des élevages dans certains bassins de production. Ainsi, 58% de la production de viande porcine est assurée par les élevages bretons en France (FranceAgriMer, 2021) et 66% du cheptel québécois se situe autour de Québec et de Montréal (Les Éleveurs de porcs du Québec, 2021). La densité des élevages dans ces zones a entraîné différents problèmes, notamment environnementaux du fait de l'azote et du phosphore présents dans les déjections. En effet, plus de la moitié du phosphore ingéré par les porcs est retrouvé dans leurs déjections (Selle & Ravindran, 2008). La composition de ces déjections est intéressante pour la fertilisation des sols, et leur épandage contribue à la diminution de l'utilisation d'engrais de synthèse et au recyclage de ces éléments coûteux en élevages. Cependant, l'augmentation de la densité des élevages et de leur taille nécessite des surfaces d'épandage de plus en plus importantes qui peuvent finir par manquer dans certaines zones. De plus, lorsque le phosphore est épandu en excès par rapport à la capacité de fixation dans le sol et les plantes, il peut être lessivé ou ruisseler et se retrouver dans des nappes phréatiques ou des eaux de surface. Dans les eaux de surface, si les conditions sont réunies pour l'eutrophisation, le phosphore participera à la croissance et la prolifération d'algues qui peuvent rapidement épuiser les réserves en oxygène et donc dans un premier temps limiter la vie aquatique. Dans un second temps, la décomposition des algues sur les berges et les plages dégage du sulfure d'hydrogène, qui en plus d'être malodorant et d'entraîner des conséquences économiques dans les zones touristiques, présente des risques pour la santé des animaux et des Hommes. Par conséquent, des réglementations qui régissent les excréments de phosphore en élevage porcins ont été instaurées en France (CORPEN) et au Québec (REA).

Entre 60 et 80% du phosphore ingéré par les porcs se présente sous forme d'acide phytique dans les matières premières d'origine végétale (Selle & Ravindran, 2008). L'acide phytique étant très peu digestible chez les porcs, il est nécessaire, afin de couvrir les besoins, d'apporter du phosphore sous forme minérale, ce qui est obtenu par ajout de phosphates à l'aliment. Or, les réserves de phosphates dans le monde sont limitées. L'estimation des réserves est difficile et sujet à controverse. Néanmoins, au vu de la vitesse à laquelle les phosphates sont utilisés, majoritairement pour les engrais de synthèse, et des différentes estimations de réserves, ces dernières devraient être épuisées d'ici 30 à 300 ans (Van Enk *et al.*, 2011 ; Dourmad *et al.*, 2020). Les estimations de durées les plus courtes concernent les réserves dites de bonne qualité, c'est à dire non contaminées par des métaux lourds et qui sont facilement accessibles. La rareté de cette ressource fait et fera augmenter son prix, sa volatilité et la tension sur le marché. De plus, l'exploitation des mines de phosphates est majoritairement concentrée dans quelques pays : Le Maroc, la Chine, les États-Unis et la Russie, qui représentent 72% de la réserve mondiale (Zapata, 2004). Ce monopole associé à la compétition qui existe pour la fabrication d'engrais minéraux entraînent un prix élevé et volatile des phosphates. En effet, le phosphore est le 3^{ème} élément nutritif le plus cher après l'énergie et la protéine, alors même que le coût alimentaire, représente lui-même jusqu'à 70% des coûts de production (IFIP, 2016 ; Les Éleveurs de porcs du Québec, 2016). En parallèle, la consommation humaine de protéines animales et notamment de viande porcine va augmenter dans les décennies à venir. L'organisation de coopération et de développement économiques (OCDE) et l'organisation

des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) (2021) prédisent une augmentation de la production de viande de porc de 13% d'ici 2030. L'utilisation des phosphates est donc appelée à augmenter afin d'assurer cette hausse de production, ce qui accentuera les tensions autour de cette ressource. Pour toutes ces raisons, l'importance d'une meilleure utilisation des phosphates est cruciale.

Pour mieux utiliser cette ressource, une première étape est de connaître précisément les besoins des porcs, afin de mieux ajuster les apports à ces derniers et donc de diminuer la part de phosphore inutilisée. Par ailleurs, le calcium ayant des interactions très fortes avec le phosphore, il doit être explicitement intégré dans la définition des besoins en phosphore. Une fois que les besoins sont quantifiés avec précision, des stratégies alimentaires peuvent être mises en place afin d'améliorer l'utilisation du phosphore chez les animaux. Un premier levier connu est l'utilisation de la phytase, qui permet aux monogastriques d'absorber le phosphore des phytates et donc d'utiliser plus efficacement le phosphore contenu dans les matières premières végétales des aliments (Selle & Ravindran, 2008). La phytase permet aussi de rendre digestible du calcium qui ne l'était pas, puisque chélaté avec l'acide phytique. Des séquences de déplétion et de réplétion dans les apports de phosphore ont aussi récemment été étudiées (Gonzalo, 2017) et semblent prometteuses pour la diminution des intrants en phosphate sans pour autant diminuer les performances des porcs en croissance. Néanmoins, l'application de cette stratégie ne permet pas toujours d'atteindre un niveau de minéralisation osseuse satisfaisant et nécessite donc davantage de recherches. Lors de ce type de stratégie, la déplétion doit aussi s'effectuer sur les apports en calcium, afin de ne pas diminuer la digestibilité du phosphore. Le premier objectif de ce travail de thèse est de proposer une quantification des besoins en phosphore et calcium plus précise que ce qui est possible d'avoir aujourd'hui. Pour cela, nous développerons un nouveau modèle mécaniste suivant une approche factorielle de prédiction des besoins. Une fois cette étape réalisée, différentes stratégies alimentaires (phytase, déplétion-réplétion) seront testées et intégrées dans l'approche globale proposée pour maximiser l'efficacité d'utilisation du phosphore chez les porcs en croissance.

Ce document contient un premier chapitre de revue bibliographique (Chapitre 1), permettant de comprendre le métabolisme phosphocalcique et les méthodes d'estimation actuelles des besoins. Une partie de ce chapitre a fait l'objet d'un article dans un numéro spécial de *Frontiers in Veterinary Science* (Lautrou *et al.*, 2021). Cette partie est suivie de la question de recherche (Chapitre 2). Ensuite, nous présentons les résultats de la recherche avec un essai de détermination de la composition anatomique et chimique de porcs en croissance (Chapitre 3), le développement du modèle de prédiction des besoins en phosphore et calcium (Chapitre 4) et deux essais avec application de séquences de déplétion et de réplétion dans les apports en phosphore et calcium (Chapitre 5 & 6). Ces résultats sont présentés sous forme d'articles. Ce manuscrit se termine sur la discussion et la conclusion générales de la thèse.

Chapitre 1

Bibliographie

Le phosphore est un élément essentiel pour tous les êtres vivants mais qui apporté en excès aux porcs peut avoir des conséquences néfastes pour l'environnement. Cela compromet la durabilité de l'élevage porcin, qui s'est fortement concentré dans certaines régions de plusieurs pays producteurs de porcs. Dans la production porcine, pour éviter un excès de phosphore, le coût du transport du fumier riche en phosphore destiné à être utilisé comme engrais dans les champs de culture peut être élevé et le coût de son traitement peut être prohibitif; une utilisation rationnelle et efficace du phosphore est donc essentielle. L'élément phosphore se trouve chez les animaux sous forme d'orthophosphates. Il s'agit de la forme circulante du phosphore. Des quantités adéquates doivent être fournies dans les régimes alimentaires du bétail pour assurer la croissance et la santé des animaux. L'absorption et l'utilisation métabolique du phosphore sont très fortement liées à ceux du calcium, qui est le minéral le plus abondant dans l'organisme; il est indispensable à la minéralisation des os, à la contraction des muscles et à la propagation de l'influx nerveux.

Dans la première partie de cette synthèse, des explications seront apportées sur le fonctionnement du métabolisme phosphocalcique chez les porcs avec la description des mécanismes d'absorption du phosphore et du calcium, la réabsorption rénale de ces minéraux, leur utilisation et les régulations de ce métabolisme. Ensuite, les formes de calcium et phosphore retrouvées dans l'aliment seront détaillées, ainsi que les types de systèmes (total, biodisponibilité, digestible apparent, digestible standardisé) et la façon d'estimer les besoins aujourd'hui, avec notamment la description de certains critères de réponses aux apports phosphocalciques. Finalement dans la dernière partie, nous reviendrons sur les différentes stratégies connues pour diminuer les excréctions en phosphore avec la modélisation, l'utilisation de la phytase dans l'aliment ou l'apport en phosphore selon des séquences de déplétion-réplétions.

1.1 L'absorption, la réabsorption et l'utilisation du calcium et du phosphore

L'utilisation du phosphore et du calcium, comme pour la plupart des nutriments, est sous contrôle homéorhétique, défini comme le contrôle à long terme qui traduit la composition génétique de l'animal et/ou son potentiel. Il existe aussi un contrôle à court-terme, représentant les mécanismes qui permettent le fonctionnement de l'organisme dans différentes conditions environnementales, appelé homéostasie (Lovatto & Sauvant, 2003). Ce dernier consiste au maintien d'une concentration plasmatique constante en ces minéraux. Dans le cas du métabolisme phosphocalcique, les tissus mous ont la priorité sur les os pour l'utilisation de ces deux minéraux (Feaster *et al.*, 1953; Brautbar *et al.*, 1979).

1.1.1 Le calcium

Le calcium est le minéral le plus abondant dans le corps dont 96 à 99% se retrouve dans les os (Crenshaw, 2001 ; Suttle, 2010). En plus de participer à la minéralisation osseuse, le calcium possède des fonctions non squelettiques. Bien qu'une faible part du calcium soit trouvée en dehors des os, elle participe à des fonctions vitales telles que la contraction des muscles, la conduction nerveuse, la signalisation cellulaire, le déclenchement de réponses immunitaires, ou encore la coagulation du sang (Breves *et al.*, 2010 ; Suttle, 2010). Ce calcium peut être libre, sous forme ionisée, (50 à 60% du calcium plasmatique), ou être lié à des protéines sériques, des acides organiques ou des acides inorganiques (Suttle, 2010). Il permet des changements de conformation des protéines, la stabilisation de leur structure, des membranes cellulaires ou encore de la matrice extracellulaire du squelette (Crenshaw, 2001). La concentration en calcium est 4 fois moins élevée dans les cellules que dans le milieu extracellulaire. Les mitochondries et les microsomes regroupent entre 90 et 99% du calcium intra-cellulaire. Le calcium extra-cellulaire quant à lui se présente sous une forme ionisée (environ 50%), lié à des protéines comme l'albumine (40%), ou sous forme de complexe avec des citrates et des ions phosphates pour environ 10% (Crenshaw, 2001 ; Goodman, 2005). Le calcium ionisé est la forme réactive de ce minéral (Breves *et al.*, 2010).

1.1.2 Le phosphore

Le phosphore est le deuxième minéral le plus abondant dans le corps (Kellems et Church, 1998 cités dans González-Vega & Stein, 2014). Environ 60 à 80% de celui-ci se trouve dans les os et les dents. La variation est due à la quantité dans les tissus mous et non pas à un changement de ratio Ca:P dans l'os qui est connu pour être constant (Crenshaw, 2001 ; Suttle, 2010). Le phosphore se retrouve sous forme de phosphates dans les organismes biologiques (Penido & Alon, 2012) et joue un rôle clé dans plusieurs fonctions vitales dans la fonction et la structure des acides nucléiques, l'initiation de la synthèse des protéines, le transport d'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (ATP), et la structure des phospholipides. Le phosphore possède également un pouvoir tampon, agit comme un ligand au niveau des sites actifs des enzymes et entre aussi dans le maintien de la balance osmotique (Crenshaw, 2001 ; Suttle, 2010).

1.1.3 Le métabolisme phosphocalcique et ses régulations chez le porc en croissance

Le métabolisme intestinal

Absorption du calcium. Entre 30 et 60% du calcium ingéré est absorbé (Crenshaw, 2001). Ce pourcentage est dépendant de la quantité de calcium ingéré, du ratio Ca:P dans l'aliment, de l'âge du porc et de son stade physiologique (Crenshaw, 2001). La plupart du calcium est absorbé au niveau de l'intestin grêle (Liu *et al.*, 2000 ; González-Vega *et al.*, 2014) plus particulièrement dans le quart proximal (Moore & Tyler, 1955). Du calcium peut aussi être absorbé au niveau du gros intestin en cas de carence (Liu *et al.*, 2000). Cependant, seul le calcium sous forme ionisée peut être absorbé. Le calcium doit donc entrer sous cette forme dans l'intestin, lieu d'absorption. Les acides gastriques participent fortement à la libération de Ca^{2+} (González-Vega *et al.*, 2014). Goss *et al.* (2007) ont testé la solubilité de différents sels de calcium (notamment le phosphate de calcium et le carbonate de calcium) pour plusieurs pH allant de 2,0 à 8,5. Plus le pH augmente, plus la solubilité de ces sels diminue. Il y a donc plus de calcium ionisé libéré à pH faible. À pH intestinal, une partie de ce calcium est susceptible de précipiter et n'est donc plus absorbable.

L'absorption de calcium peut se faire selon des mécanismes saturables (transcellulaire) ou insaturables (paracellulaire) (DiMeglio & Imel, 2019). Le transport actif, aussi appelé transcellulaire, est saturable et est plutôt observé dans la partie haute de l'intestin grêle (*duodénum* et dans une

moindre mesure *jéjunum*), bien qu'il soit aussi observé dans des parties plus distales (Bronner, 1987 ; Crenshaw, 2001 ; Christakos, 2012b). Ce type de transport serait amélioré en cas de restriction en calcium (Bronner, 1987 ; Auchère *et al.*, 1998).

Le transport passif, aussi appelé transport paracellulaire, est insaturable (Bronner, 1987 ; Christakos, 2012a). Il est donc indépendant de la quantité de calcium ingéré (Kopic & Geibel, 2013), mais son intensité est liée au gradient de calcium entre la lumière intestinale et le compartiment extracellulaire. Contrairement au transport actif, le transport passif est observé sur toute la longueur de l'intestin (Kopic & Geibel, 2013) entre les cellules de la muqueuse (Christakos, 2012a, 2012b). Le passage des ions Ca^{2+} est possible au niveau des jonctions serrées (Figure 1.1, Fujita *et al.*, 2008 ; Kopic & Geibel, 2013 ; Alexander *et al.*, 2014). Ces dernières sont constituées de claudins, des protéines transmembranaires, dont la structure n'est pas connue et qui jouent sur la perméabilité de l'épithélium intestinal (Alexander *et al.*, 2014). Les claudins citées dans la composition des jonctions serrées responsables du passage des ions Ca^{2+} sont les claudins 2, 12 et 15 (Fujita *et al.*, 2008 ; Alexander *et al.*, 2014 ; DiMeglio & Imel, 2019).

Aujourd'hui plusieurs modèles de transport transcellulaire de Ca^{2+} ont été décrits. Nous décrivons ci-après les deux concernant l'intestin (Figure 1.1). Le premier modèle de transport transcellulaire du Ca^{2+} est celui de la diffusion facilitée, qui s'effectue en 3 étapes :

1. Entrée du calcium dans les entérocytes : principalement possible grâce aux canaux TRPV6 (potentiel récepteur transitoire du vanilloïde de type 6), au niveau de la bordure en brosse de ces cellules (membrane apicale, Peng *et al.*, 2003 ; Breves *et al.*, 2010). Certains auteurs citent aussi les canaux TRPV5 mais le type le plus présent chez le porc est le TRPV6 au niveau intestinal (Brandenburger, 2004 ; Kellett, 2011). Ce dernier est sensible à son environnement puisque le calcium, le magnésium (Mg) et les protons ont un pouvoir d'inhibition sur le canal TRPV6. Il existe ainsi un rétrocontrôle négatif des quantités de calcium présentes dans l'entérocyte et dans la lumière intestinale sur le TRPV6 (Hoenderop *et al.*, 2001 ; Lambers *et al.*, 2004 ; Kopic & Geibel, 2013).
2. Mouvement intracellulaire : chez les mammifères, le calcium est transporté dans les entérocytes grâce à la calbindin-D9k (Breves *et al.*, 2010 ; Christakos, 2012a), qui facilite la diffusion du calcium à travers les entérocytes, à la manière de la myoglobine pour l'oxygène dans le muscle. Cette protéine possède 2 sites de fixation pour le calcium (Christakos, 2012a). La calbindin-D9k est en majorité présente dans les mêmes segments intestinaux que les TRPV6 et comme pour ces canaux, sa présence est plus importante lors d'une faible ingestion de calcium (Peng *et al.*, 2003 ; Song *et al.*, 2003). Ce transporteur pourrait aussi avoir un rôle de régulation de l'activité des TRPV6 et de tampon afin de prévenir une éventuelle toxicité, par accumulation de calcium dans les cellules intestinales (Hoenderop *et al.*, 2005 ; Christakos, 2012a, 2012b). Le rôle exact de la calbindin-D9k est aujourd'hui controversé (Khanal & Nemere, 2008). Chez le poulet, des quantités importantes de calbindin D28K ont été retrouvées dans des vésicules durant le transport de Ca^{2+} (Nemere *et al.*, 1991). Le modèle de "ferry" cytoplasmique est donc remis en cause. La calbindin D28K pourrait plutôt permettre d'éviter la précipitation des ions Ca^{2+} , notamment dans le transport par vésicule (*cf* paragraphe suivant) (Nemere *et al.*, 1991 ; Khanal & Nemere, 2008).
3. Sortie du calcium de l'entérocyte : la concentration en calcium étant plus importante dans le milieu extracellulaire, que dans le milieu intracellulaire, son exocytose nécessite de l'énergie (Christakos, 2012a, 2012b ; Kopic & Geibel, 2013). Quel que soit le mécanisme, la sortie du calcium se fait du côté basal de l'entérocyte. Le calcium peut être libéré dans le milieu extracellulaire de 2 façons, soit 1) *via* des pompes ATP-dépendantes PMCA1b (pompe calcium ATPase de la membrane plasmique) (Sepúlveda & Mata, 2004 ; Christakos, 2012a, 2012b ; Kopic & Geibel, 2013), soit 2) *via* des pompes NCX (échangeur calcium/sodium, Blaustein & Lederer, 1999). Cette seconde voie nécessite l'utilisation de 3 ions sodium pour le transport

d'un ion Ca^{2+} vers le milieu extracellulaire (utilisation de l'énergie due au gradient de Na, Blaustein & Lederer, 1999). Environ 80% du Ca^{2+} sortirait des entérocytes par les pompes PMCA1b, et 20% par les pompes NCX (Kellett, 2011).

Le second mode d'absorption transcellulaire du calcium est celui du modèle vésiculaire. Dans ce cas, le calcium peut entrer par les canaux décrits précédemment et être emprisonné tout de suite dans des vésicules, ou entrer directement par endocytose (Khanal & Nemere, 2008; Kellett, 2011; DiMeglio & Imel, 2019). Les vésicules sont transportées par les microtubules et vont fusionner avec les lysosomes et peut-être aussi les microsomes (Rubinoff & Nellans, 1985; Khanal & Nemere, 2008; Kellett, 2011). Chez le poulet, la présence de calbindin-D28K a aussi été observée dans les vésicules (Nemere *et al.*, 1991; DiMeglio & Imel, 2019). Finalement le Ca^{2+} sort des entérocytes *via* exocytose (Khanal & Nemere, 2008; DiMeglio & Imel, 2019).

Il est difficile de statuer sur l'importance d'une voie d'absorption du calcium par rapport à une autre étant donné que l'absorption du calcium est fortement dépendante de la quantité ingérée et du statut de l'animal. Néanmoins, McCormick (2002) considère que pour un adulte ayant une consommation normale en calcium, 8 à 23% du calcium est absorbé par diffusion passive. Dans les premières semaines de vie, le calcium serait exclusivement absorbé par voie passive. Selon Goodman (2005), 15 à 20% du calcium ingéré est absorbé par voie passive pour un large panel de niveaux d'apports en calcium. Toujours chez l'Homme, en suivant les recommandations standards de calcium ingéré, le transport actif représenterait 60% de l'absorption du calcium dans l'intestin grêle (DiMeglio & Imel, 2019). À l'inverse, selon Bronner *et al.* (2003), le transport actif représenterait 27% de l'absorption.

Absorption du phosphore. Comme pour le calcium, les sites majeurs d'absorption du phosphore se trouvent dans les parties hautes de l'intestin grêle (Liu *et al.*, 2000; Crenshaw, 2001). Du phosphore pourrait toutefois être absorbé dans le gros intestin, notamment en cas de carence (Liu *et al.*, 2000). Deux voies d'absorption sont possibles (Figure 1.1) :

1. Le transport passif, qui est non saturable et est dépendant du gradient de phosphore (Blaine *et al.*, 2015). Le mécanisme est moins bien connu que dans le cas du calcium précédemment décrit. Le passage se ferait au niveau des jonctions serrées, grâce à des protéines, notamment des claudins, qui permettent le passage des ions (Günzel & Yu, 2013; Knöpfel, 2017).
2. Le transport actif et saturable est stimulé par une ration pauvre en phosphore (Hattenhauer *et al.*, 1999; DiMeglio & Imel, 2019). L'entrée du phosphore dans les entérocytes est possible grâce à des transporteurs : NaPi2b, situés au niveau des villi intestinales (Hattenhauer *et al.*, 1999; Penido & Alon, 2012; Blaine *et al.*, 2015). Le gradient de Na^+ dans l'entérocyte est maintenu par des pompes sodium potassium ATP dépendantes (Penido & Alon, 2012). Le mécanisme de transport intracellulaire et de sortie du P de l'entérocyte n'ont pas encore été identifiés.

Le métabolisme rénal

Structure et fonction des reins. Le rein est considéré comme l'organe le plus important dans la régulation du métabolisme phosphocalcique (Penido & Alon, 2012; González-Vega & Stein, 2014; Blaine *et al.*, 2015). Il permet en effet de filtrer le phosphore et le calcium du sang. Ces minéraux peuvent en partie être réabsorbés, ou être excrétés dans les urines. Ceci permet de maintenir une concentration plasmatique constante en phosphore et calcium. Les reins sont constitués de milliers de néphrons (Kriz & Kaissling, 2013). La filtration du sang se déroule au niveau du glomérule. L'ultrafiltrat qui en est issu passe ensuite dans les tubules du néphron, à travers le tube contourné proximal, l'anse de Henle, le tube contourné distal et le tube collecteur (Figure 1.2).

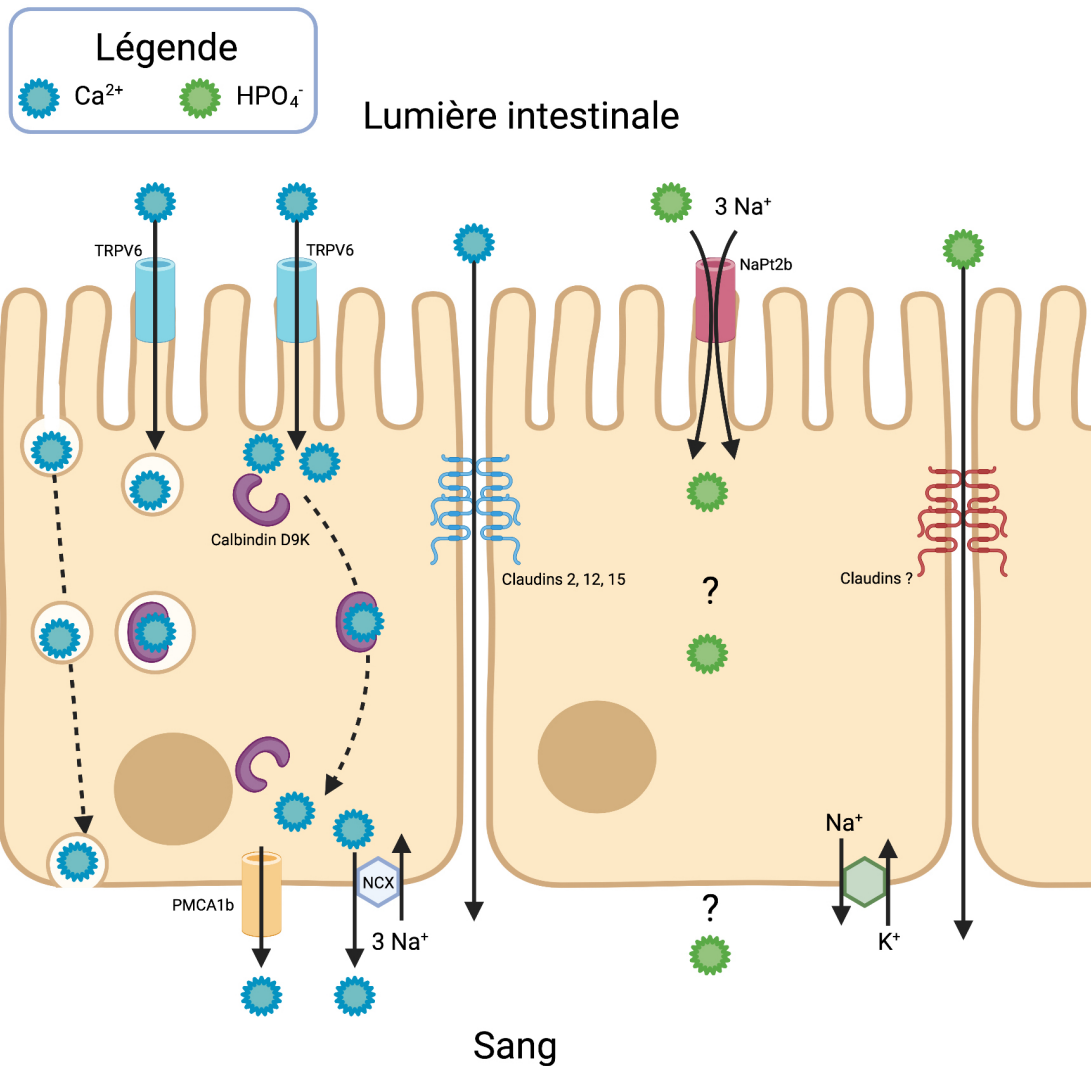


Figure 1.1 – Mécanismes transcellulaires et paracellulaires d'absorption du calcium et du phosphate à travers l'épithélium intestinal

Réabsorption du calcium. Les reins ne peuvent pas filtrer tout le calcium du sang. La partie du calcium liée à de l'albumine ne peut en effet pas être filtrée par le glomérule (Goodman, 2005). Le calcium de l'ultrafiltrat se trouve sous forme ionisée ou complexée à des groupements phosphate ou citrate (Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016). Entre 98 et 99% du calcium filtré est réabsorbé (Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016; DiMeglio & Imel, 2019). Le calcium est en majorité réabsorbé au niveau du tube proximal (60 à 70%), puis dans l'anse de Henle (20 à 25%), environ 10% dans le tubule contourné distal, et enfin 5% dans le tube collecteur (Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016).

Dans le tube proximal, la majorité du calcium réabsorbé l'est par diffusion et par entrainement d'un solvant constitué d'eau et de Na^+ (Figure 1.3, Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016; DiMeglio & Imel, 2019). Une partie du calcium est réabsorbé *via* des jonctions serrées formées par des claudins 2, 10a et 17 (Günzel & Yu, 2013; Hou, 2013). Ce type de transport est dirigé par le gradient en calcium (Moor & Bonny, 2016). Une petite quantité de calcium est transportée par voie active, cependant ce processus n'est pas encore bien défini dans le tube proximal (Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016).

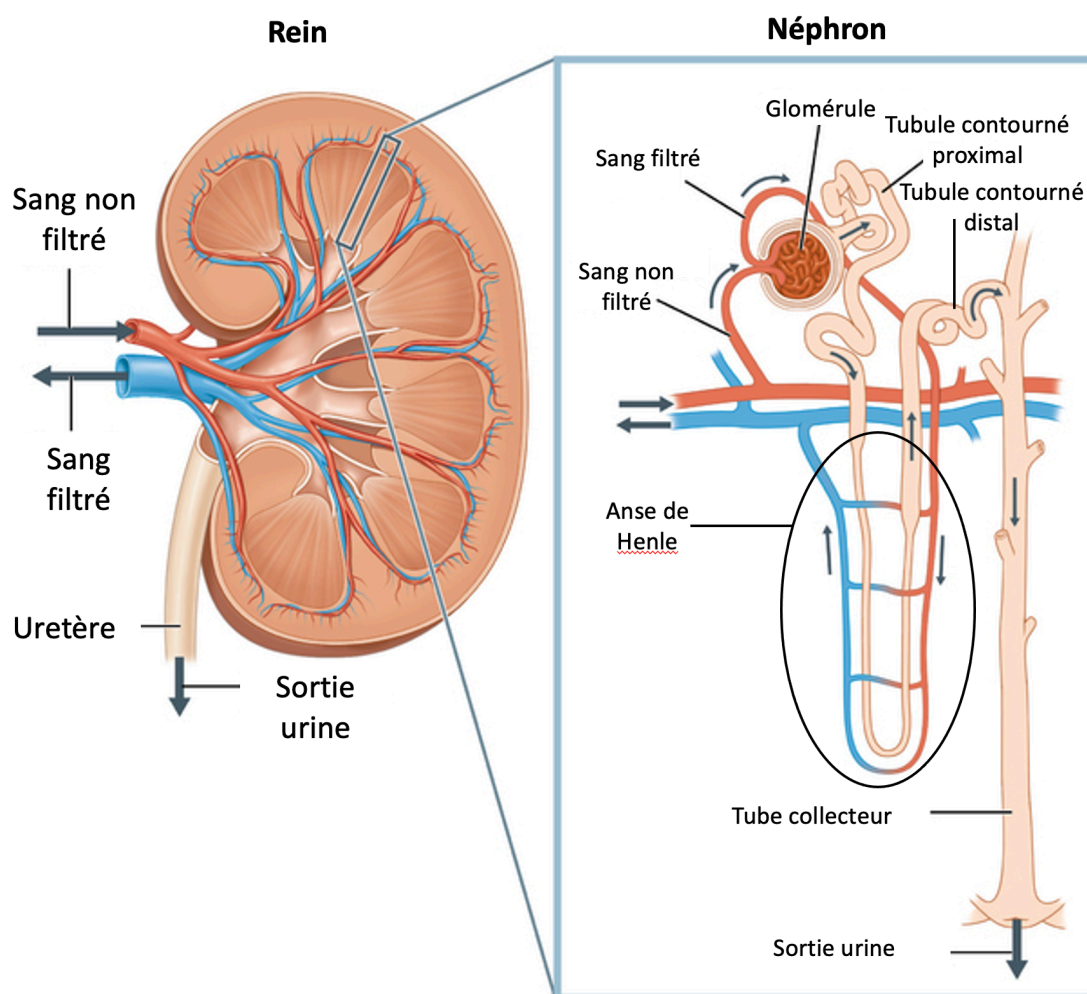


Figure 1.2 – Structure du rein et des néphrons, adapté de National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, National Institutes of Health (2020).

Dans la partie ascendante de l'anse de Henle, le transport est aussi en majorité paracellulaire (Figure 1.3). Ce mécanisme est rendu possible par la différence de potentiel positive entre la lumière du tube et l'interstitium, grâce au transport de Na^+ , K^+ et Cl^- (Riccardi & Brown, 2010; Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016; DiMeglio & Imel, 2019). Le passage du calcium se fait ici grâce aux claudins 14, 16 et 19 (Hou, 2013). Dans cette section du néphron, le transport de calcium est contrôlé par les calcium-sensing receptor (CaSR). Il est situé à la membrane basale des cellules, et lorsqu'il est stimulé, par l'arrivée de Ca^{2+} , il entraîne une inhibition de la réabsorption du calcium *via* une action sur les claudins (Riccardi & Brown, 2010; Alexander *et al.*, 2014; Moor & Bonny, 2016). Un débat existe autour de la présence de transport transcellulaire de calcium dans cette section, notamment du fait de la présence d'échangeurs NCX et de pompes PMCA (Hoenderop *et al.*, 2000a; Hoenderop *et al.*, 2005; Blaine *et al.*, 2015; Zacchia *et al.*, 2018).

Dans le tubule contourné distal, le transport se fait exclusivement par voie active (Figure 1.3, Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016; DiMeglio & Imel, 2019). Ce mécanisme est nécessaire puisque la réabsorption se fait contre les gradients chimique et électrique (Blaine *et al.*, 2015). Le transport est réalisé en 3 étapes :

1. entrée du calcium par la membrane apicale grâce au TRPV5 et éventuellement TRPV6 (Peng *et al.*, 2003; Song *et al.*, 2003; Blaine *et al.*, 2015; Moor & Bonny, 2016).

2. diffusion du calcium à travers le cytosol, grâce à la calbindin-D28k qui le transporte jusqu'à la partie basale de la cellule (Blaine *et al.*, 2015).
3. sortie du calcium grâce aux échangeurs sodium-calcium (NCX1) (sortie d'un ion Ca^{2+} et entrée de Na^+ , Blaustein & Lederer, 1999; Hoenderop *et al.*, 2000b; Blaine *et al.*, 2015) et aux pompes calcium-ATPase PMCA1b (Hoenderop *et al.*, 2000b; Lambers *et al.*, 2006).

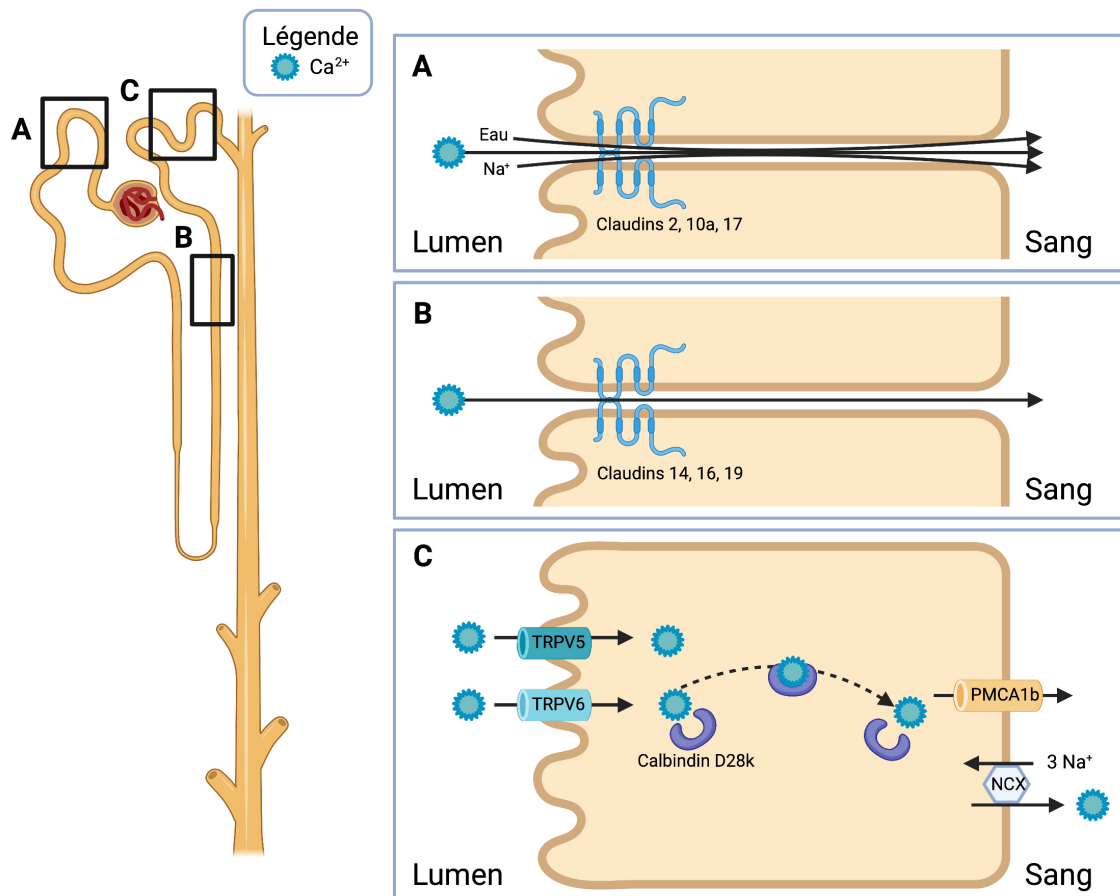


Figure 1.3 – Mécanismes transcellulaires et paracellulaires de réabsorption du calcium à travers l'épithélium selon les sections du rein. A- Mécanisme paracellulaire au niveau du tube proximal. B- Mécanisme paracellulaire au niveau de la partie ascendante de l'anse de Henle. C- Mécanisme transcellulaire au niveau du tubule contourné distal

Réabsorption du phosphore Après filtration du sang par le glomérule, 80 à 90% du phosphore de l'ultrafiltrat est réabsorbé (Blaine *et al.*, 2015). La réabsorption se fait presque exclusivement dans le tube proximal (environ 85% ; Penido & Alon, 2012; Blaine *et al.*, 2015). Les autres sections du néphron jouent un rôle mineur et les processus y sont encore méconnus.

Il n'y a pas de transport passif du phosphore dans les reins, son transport étant énergie-dépendant et nécessitant du sodium (Forster *et al.*, 2006). L'entrée du phosphore par la bordure en brosse de la membrane du tube proximal est permise grâce à 3 transporteurs : les NaPi2a et c , qui transportent des phosphates divalents et les PiT2 , qui transportent des ions phosphates monovalents (Figure 1.4, Biber *et al.*, 1996; Farrow & White, 2010). Le NaPi2a est électrogène, puisqu'il demande 3 ions Na^+ pour le passage d'un HPO_4^{2-} , tandis que le NaPi2c est neutre : il nécessite le passage de 2 ions Na^+ pour le passage d'un HPO_4^{2-} (Forster *et al.*, 2006). Les NaPi2a et c permettent la réabsorption de 80% du phosphate filtré (Penido & Alon, 2012). Les mécanismes de transport du phosphore dans la cellule et de la sortie de la cellule ne sont pas encore connus.

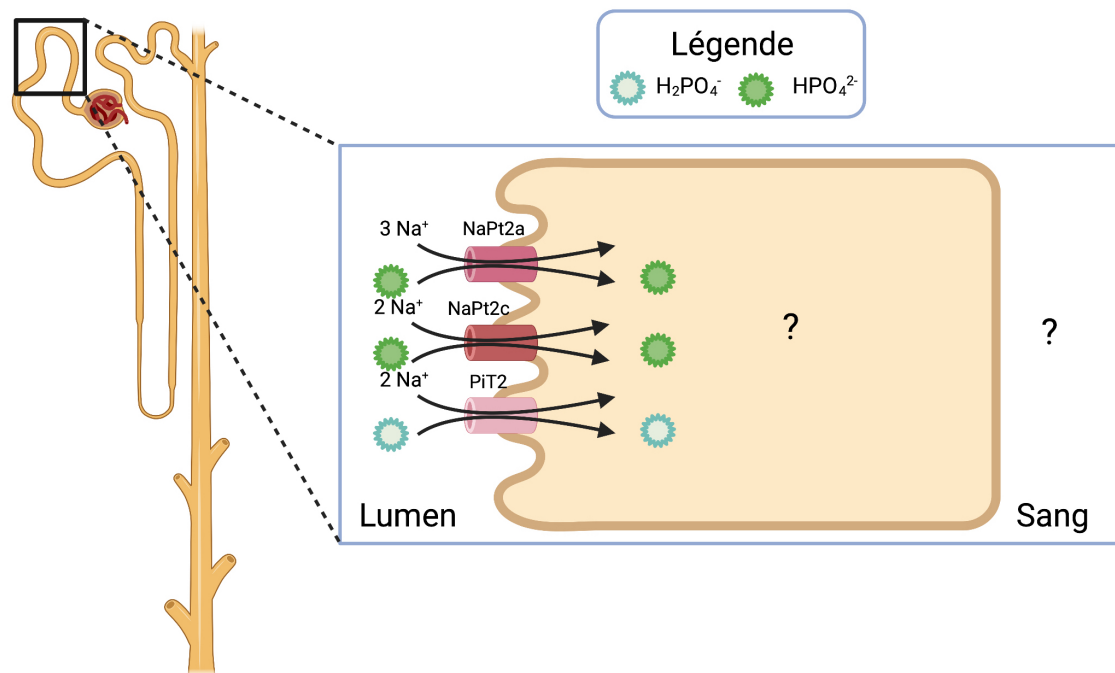


Figure 1.4 – Mécanisme transcellulaires de réabsorption du phosphore à travers l'épithélium rénal du tube proximal

Si l'ingestion de phosphore est élevée, l'abondance des transporteurs est diminuée (Villa-Bel-losta *et al.*, 2009; Farrow & White, 2010; Penido & Alon, 2012). Dans ce cas, il y a une augmentation de l'excrétion de phosphore par les reins. À l'inverse, lorsque l'apport en phosphore diminue, il y a une augmentation de la présence des transporteurs et ils sont retrouvés sur un segment plus long du tube proximal (Penido & Alon, 2012). Cela a pour conséquence une augmentation du recyclage du phosphore.

Le métabolisme osseux

Compositions, fonctions et structure des os. Les os protègent les organes vitaux, apportent de la rigidité et la forme au corps, jouent un rôle de levier (permettant la locomotion par exemple) et forment un lieu de stockage dynamique des minéraux, particulièrement de calcium et de phosphore (Frandsen *et al.*, 2009).

Environ un tiers du poids de l'os est composé de matériel organique qui assure leur résilience et leur résistance (Frandsen *et al.*, 2009). Les deux tiers restants sont composés de sels de calcium et de phosphore dans la trame organique (Frandsen *et al.*, 2009). Environ 80% de ces sels sont sous forme de phosphate de calcium, observés en majorité sous forme de cristaux d'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), accompagnés de carbonate de calcium et de phosphate de magnésium (Crenshaw, 2001; Clarke, 2008; Frandsen *et al.*, 2009). Ces sels confèrent aux os leur rigidité et les rendent résistants au passage des rayons X. Les minéraux étant accumulés en majorité dans l'os sous forme d'hydroxyapatites, le ratio de Ca:P dans les os est considéré comme constant et estimé à 2,2:1 (Crenshaw, 2001). Ce ratio constant sous-entend que la fixation et la mobilisation de calcium et de phosphore sont interdépendantes. La partie organique est constituée en majorité de protéines de collagène de type I (Olszta *et al.*, 2007; Clarke, 2008; Frandsen *et al.*, 2009). Environ 10 à 15% des protéines sont non collagènes et pourraient avoir un rôle de régulation de la minéralisation osseuse (ex : osteocalcin, Clarke, 2008). Les hydroxyapatites sont enchevêtrés dans la

matrice organique (Olszta *et al.*, 2007). Finalement, les os sont composés de 50 à 65% d'une phase minérale, de 20 à 40% d'une phase organique, de 5 à 10% d'eau et de moins de 3% de lipides (Clarke, 2008).

La formation des os se fait en 2 étapes majeures : l'ossification primaire et secondaire (Bonucci, 1992). Dans les os primaires, la minéralisation est rapide et désorganisée avec des fibres de collagène de type I qui ne sont pas encore organisées sous forme de lamelles. Les cristaux d'hydroxyapatite ne sont pas encore associés au collagène (Olszta *et al.*, 2007). À ce stade, le collagène ne semble donc pas jouer un rôle dans l'orientation et la direction de la minéralisation (Bonucci, 1992). L'os secondaire est en fait l'os primaire remodelé en un tissu avec une structure plus optimale : structure en lamelle très hiérarchisée (Weiner & Wagner, 1998). Durant la réorganisation, le positionnement des cristaux est dirigé par les fibrilles de collagène (Bonucci, 1992).

Les fibrilles de collagène. Le collagène de type I représente environ 95% du collagène de l'os et 80% des protéines totales de l'os (Henriksen & Karsdal, 2019). Le procollagène (collagène non mature) est formé de 3 chaînes alpha formant une structure en triple hélice (Figure 1.5, Mouw *et al.*, 2014). Le clivage des extrémités C et N terminales, appelées respectivement les propeptides N et C terminaux (propeptide aminoterminal du procollagène de type I (PINP) et propeptide carboxy-terminal du procollagène de type I (PICP)), par la peptidase procollagène conduit à la formation de collagène mature (Fan *et al.*, 2012; Henriksen & Karsdal, 2019). Les propeptides, PICP et PINP sont des marqueurs de la formation osseuse. Après ce clivage, 2 zones distinctes apparaissent : la zone hélicoïdale au centre et les extrémités N et C terminales appelées télépeptides N et C terminaux (Desoutter *et al.*, 2012). Dans le milieu extracellulaire, les molécules de collagène s'assemblent spontanément sous forme de microfibrilles (Mouw *et al.*, 2014; Henriksen & Karsdal, 2019). Le décalage des molécules de collagène lors de l'assemblage en microfibrilles est responsable de l'aspect strié (Mouw *et al.*, 2014). Le maintien du collagène sous forme de microfibrilles est notamment possible grâce à la formation de pontages aux extrémités N et C terminales, aboutissant à la synthèse de liaisons croisées (« cross links »). Deux types de molécules de pontages existent : la pyridinoline (PYD) et la deoxypyridoline (DPD), aussi regroupées sous le nom de noyau pyridinium (Desoutter *et al.*, 2012). Lors de la résorption du collagène, les PYD et DPD sont considérées comme des marqueurs de la résorption osseuse.

Modelage et remodelage. L'un des rôles majeurs des os est celui de réservoir dynamique de minéraux (constante reconstitution et diminution des stocks, Frandson *et al.*, 2009). L'os est donc en constant remodelage, ce qui correspond au remplacement de parties endommagées ou vieilles de l'os par de l'os nouveau. Le remodelage a un rôle important dans le maintien de la force mécanique de l'os. Il se déroule en 4 phases :

1. La phase d'activation, qui correspond au recrutement des ostéoclastes
2. La phase de résorption, durant laquelle les ostéoclastes entraînent une résorption osseuse
3. La phase d'inversion durant laquelle les ostéoclastes entrent en apoptose et les ostéoblastes sont recrutés
4. La phase de formation durant laquelle les ostéoblastes synthétisent la matrice organique qui est minéralisée par la suite

Dans ce mécanisme, les ostéoblastes sont responsables de la synthèse de la matrice organique de collagène. Ce tissu encore non minéralisé s'appelle l'ostéoïde. Les ostéoblastes possèdent une activité de minéralisation (Long, 2012). Lorsque ces cellules se retrouvent encapsulées dans l'ostéoïde, elles se différencient en ostéocytes (Ruimerman, 2005).

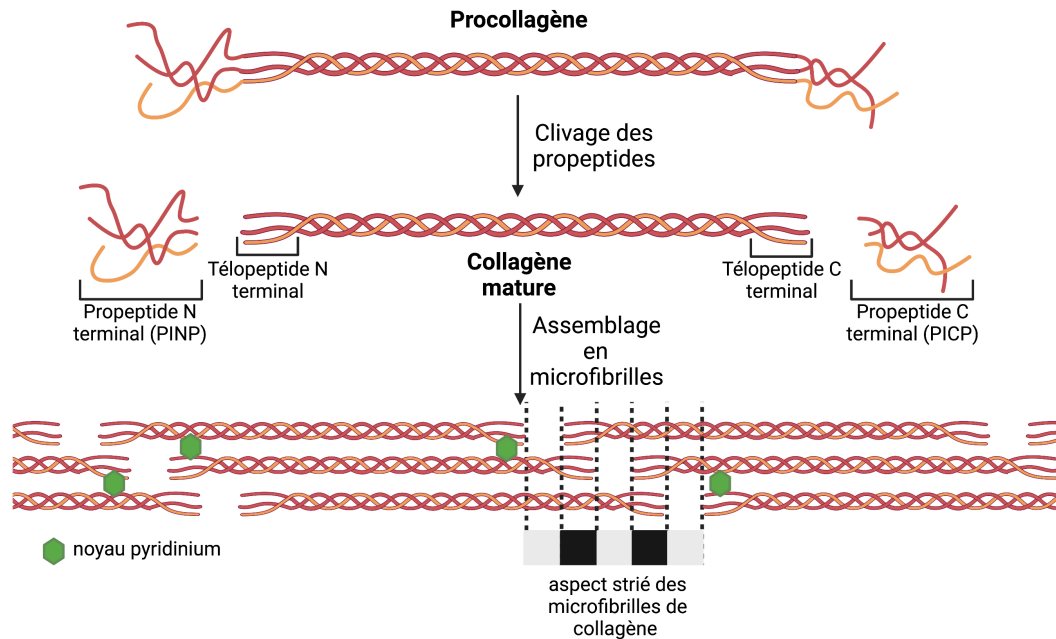


Figure 1.5 – Structure et assemblage des microfibrilles de collagène de type I

Les ostéoclastes s'opposent aux ostéoblastes puisqu'ils sont responsables de la résorption osseuse. Ces cellules solubilisent les hydroxyapatites en sécrétant des acides organiques, qui digèrent la matrice organique (Delaissé *et al.*, 2003; Olszta *et al.*, 2007; Frandson *et al.*, 2009). Des ostéoblastes apparaissent à l'endroit de la résorption osseuse peu de temps après celle-ci (Ruimerman, 2005).

Enfin, les ostéocytes sont des cellules matures dérivées des ostéoblastes (Frandson *et al.*, 2009; Veum, 2010; Bonewald, 2011). Ils forment un vaste réseau et sont capables de communiquer entre eux (Franz-Odenaal *et al.*, 2006; Bonewald, 2011). Ces cellules sont les plus abondantes des os et sont impliquées dans les phénomènes de déposition et de résorption osseuse (Franz-Odenaal *et al.*, 2006).

Régulations du métabolisme phosphocalcique

Parathormone. La parathormone (PTH) est une hormone polypeptidique sécrétée par la glande parathyroïde en réponse à une diminution de la concentration en calcium ionisé dans le plasma (Figure 1.6, González-Vega & Stein, 2014; Blaine *et al.*, 2015). La fonction première de cette hormone est de réguler la concentration plasmatique en calcium (Penido & Alon, 2012).

Dans le métabolisme phosphocalcique, la PTH agit directement au niveau des os et des reins et indirectement au niveau des intestins (Figure 1.6). Cette hormone stimule la résorption osseuse en augmentant l'activité des ostéoclastes et en inhibant celle des ostéoblastes (Frandson *et al.*, 2009; Penido & Alon, 2012; González-Vega & Stein, 2014) entraînant ainsi une libération de calcium et de phosphore dans les fluides extracellulaires. La PTH favorise le transport actif du calcium à travers le mécanisme de réabsorption dans les reins par la stimulation de l'expression des canaux TRPV5, de la calbindin-D28k, des pompes PMCA1 et des échangeurs NCX1 (Moor & Bonny, 2016; DiMeglio & Imel, 2019). En revanche, elle inhibe la réabsorption du phosphore au niveau rénal en diminuant l'abondance des NaPi2a, NaPi2c et PiT2 de la bordure en brosse du tube proximal (Farrow & White, 2010; Blaine *et al.*, 2015). La suppression des NaPi2a, en réponse à la PTH, est rapide, en quelques minutes, la diminution est plus longue pour les autres transporteurs, de l'ordre de l'heure (Bacic *et al.*, 2006; Blaine *et al.*, 2015). Enfin, la PTH augmente la production de calcitriol, entraînant une

augmentation de l'absorption de calcium au niveau intestinal (Farrow & White, 2010). La PTH est en effet un des stimulateurs les plus forts pour la production de calcitriol, qui lui inhibe l'activité de la PTH (Penido & Alon, 2012).

Finalement, la production de PTH est stimulée par une faible concentration plasmatique en calcium mais joue aussi un rôle important dans la régulation de la concentration plasmatique en phosphore.

Calcitonine. La calcitonine est une hormone peptidique produite par les cellules C de la glande thyroïde et est sécrétée lors d'une augmentation de la concentration en calcium plasmatique (Figure 1.6, Mundy & Guise, 1999; Frandson *et al.*, 2009; González-Vega & Stein, 2014). Cette hormone possède 2 actions. Elle inhibe d'abord l'activité des ostéoclastes, réduisant ainsi la libération de calcium (et par conséquent de phosphore) des os (Mundy & Guise, 1999). Elle inhibe ensuite la réabsorption du calcium par les reins (Crenshaw, 2001). Cette hormone a finalement un rôle antagoniste à celui de la PTH.

Calcitriol. Le calcitriol est un stéroïde liposoluble, qui est issu de la transformation de la vitamine D en sa forme la plus active ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$), au niveau des reins, grâce à la 1α -hydroxylase (Blaine *et al.*, 2015). L'activité de la 1α -hydroxylase est stimulée par la PTH, la calcitonine, et un faible niveau de calcium plasmatique. Son activité est inhibée par les FGF-23 (Fibroblast growth factor), une concentration élevée en calcium dans le plasma et le calcitriol (Figure 1.6, Murayama *et al.*, 1999; Moor & Bonny, 2016). Le calcitriol régule donc sa propre homéostasie (Blaine *et al.*, 2015). Le calcitriol joue des rôles au niveau des intestins, des reins et des os. Au niveau intestinal, il favorise l'absorption de calcium et de phosphore (Christakos, 2012a, 2012b; Penido & Alon, 2012; Blaine *et al.*, 2015). Le calcitriol favoriserait l'entrée du calcium dans les entérocytes, notamment par la stimulation de l'expression des TRPV6 et TRPV5 (Khanal & Nemere, 2008; DiMeglio & Imel, 2019). De plus, le calcitriol augmenterait la synthèse des calbindin, qui permettent le mouvement du calcium dans l'entérocyte (Christakos *et al.*, 1989; Blaine *et al.*, 2015; Christakos *et al.*, 2018). L'effet du calcitriol sur l'activité des PMCA et NCX1 n'est pas pleinement identifié (Khanal & Nemere, 2008) mais il semblerait que l'expression des échangeurs NCX1 soit stimulée par la vitamine D (DiMeglio & Imel, 2019). Certains auteurs ont montré le rôle du calcitriol sur l'expression des claudins 2 et 12 et donc sur la régulation du transport paracellulaire de calcium, chez la souris et le poulet (Wasserman & Kallfelz, 1962; Fujita *et al.*, 2008; DiMeglio & Imel, 2019). Ces mêmes claudins ont été retrouvées chez les poules pondeuses (Gloux *et al.*, 2019). L'absorption du phosphore est augmentée, grâce à la stimulation des canaux NaPi2b (Hattenhauer *et al.*, 1999; Farrow & White, 2010). Au niveau des reins, le calcitriol améliore la réabsorption du calcium et du phosphore (Hoenderop *et al.*, 2000b; Penido & Alon, 2012). Comme pour l'absorption du calcium, il stimule l'expression des TRPV5 (Moor & Bonny, 2016; DiMeglio & Imel, 2019) et éventuellement des échangeurs NCX1 (DiMeglio & Imel, 2019). L'effet de la stimulation du recyclage du phosphore est indirect : il est dû à la diminution du niveau de PTH induite par le calcitriol (Penido & Alon, 2012). Enfin, le calcitriol stimule le renouvellement osseux. En effet, il favoriserait autant la synthèse et la minéralisation du tissu osseux (Penido & Alon, 2012), que la résorption des parties anciennes de l'os par l'action des ostéoclastes (Blaine *et al.*, 2015).

Facteurs de croissance. La FGF-23 (Fibroblast growth factor-23) est une glycoprotéine définie comme une hormone en charge de maintenir la balance en phosphore (Penido & Alon, 2012). Elle est produite dans les ostéocytes et ostéoblastes en réponse à une augmentation de la concentration plasmatique en phosphore (Figure 1.6, Penido & Alon, 2012; Blaine *et al.*, 2015). La FGF-23 agit principalement au niveau des reins et des intestins de façon directe et indirecte. Son action directe au niveau des reins réduit l'expression et l'activité des NaPi2a et c dans le tube proximal (Penido & Alon, 2012; Blaine *et al.*, 2015), favorisant ainsi l'excrétion de phosphore par les reins. La FGF-23 augmente aussi l'abondance des TRPV5 (Moor & Bonny, 2016) permettant alors une

stimulation de la réabsorption de calcium. Cette hormone réduit l'activité des cotransporteurs sodium/phosphate au niveau de l'intestin, entraînant alors une réduction de l'absorption de phosphore (Blaine *et al.*, 2015). Elle a aussi une action indirecte, puisqu'elle inhibe l'expression de la 1α -hydroxylase nécessaire à la production de calcitriol, et favorise l'action de la 24-hydroxylase, participant à la dégradation du calcitriol. De ce fait, le niveau de calcitriol est réduit (Hasegawa *et al.*, 2010; Penido & Alon, 2012; Blaine *et al.*, 2015), et son action sur l'absorption et le recyclage du calcium et du phosphore est diminuée. La FGF-23 inhibe également la synthèse de PTH (le principal régulateur de la PTH reste néanmoins le calcium ionisé plasmatique, Silver & Naveh-Many, 2010; Alon, 2011). De plus, le calcitriol possède un rétrocontrôle sur la FGF-23 : le calcitriol stimule la production de l'hormone de croissance, qui inhibe la synthèse de calcitriol (Alon, 2011). Quelle que soit l'action de la FGF-23, la présence du cofacteur obligatoire klotho est nécessaire. Il permet à la FGF-23 d'interagir avec ses récepteurs (Penido & Alon, 2012). Finalement, le calcitriol stimule la production de FGF-23 et supprime la synthèse de PTH. Cette dernière augmente la production de calcitriol alors que la FGF-23 l'inhibe. La capacité de la FGF-23 à supprimer l'activité de la PTH contribue aussi à la diminution de la synthèse de calcitriol. L'effet de la PTH sur le recyclage rénal du phosphore est immédiat alors que la FGF-23 agit en quelques heures.

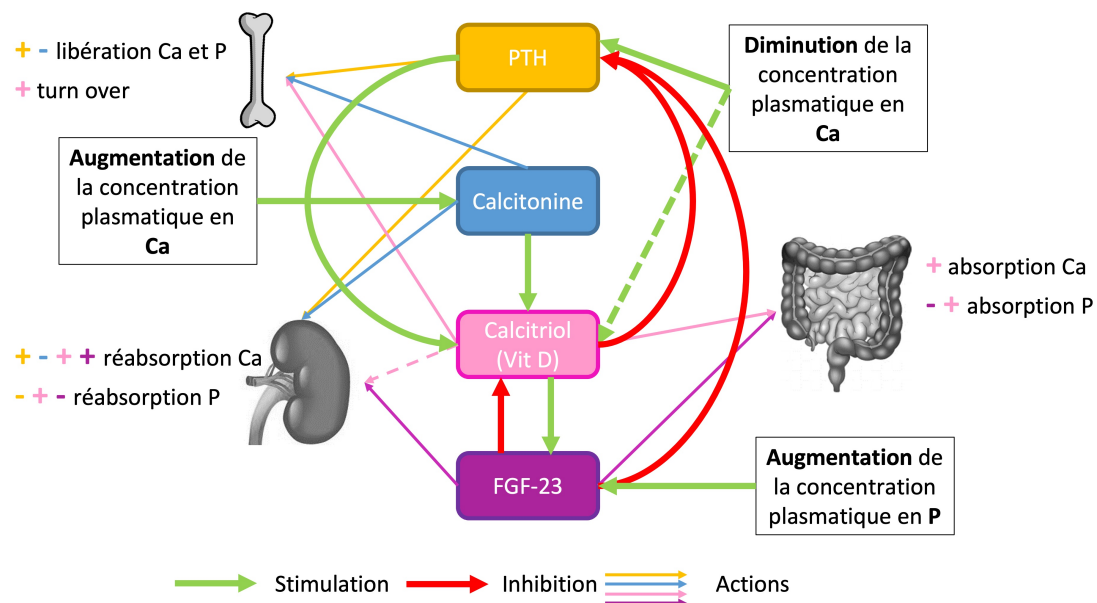


Figure 1.6 – Régulations hormonales du métabolisme phosphocalcique

Éléments clés

Les organes primordiaux du métabolisme phosphocalcique sont l'intestin, où a lieu l'absorption du phosphore et du calcium, le rein, où a lieu leur réabsorption et les os, où ils sont stockés. L'absorption et la réabsorption de ces minéraux peuvent être augmentées ou diminuées au gré de régulations hormonales. Le calcium et le phosphore peuvent aussi être libérés par les os en cas de besoin, afin de maintenir leur concentration sanguine constante. Ces deux minéraux sont déposés prioritairement dans les tissus mous, puis dans les os. Dans les os, le dépôt est effectué selon un ratio fixe entre calcium et phosphore.

1.2 Estimation des besoins et de l'utilisation du phosphore et du calcium

1.2.1 Le phosphore et le calcium dans l'aliment

Phosphore et calcium d'origine végétale

L'acide phytique est synthétisé dans les plantes en phosphorylant l'inositol à chaque positions possibles. Il peut donc porter 6 groupes phosphates (IP_6) comme le montre la figure 1.7, ou un plus petit nombre (IP_5 - IP_1). La principale forme présente dans les ingrédients d'origine végétale est l' IP_6 (Pointillart, 1994; Pontoppidan *et al.*, 2007). L'acide phytique joue un rôle clé dans le métabolisme des plantes en constituant une réserve de phosphore et en chélatant d'autres minéraux, tandis que l'inositol est utilisé dans la formation de la paroi cellulaire (Feil, 2001). Il est donc présent dans tous les ingrédients d'origine végétale (Selle & Ravindran, 2008). Il y représente 50 à 80% de la teneur en phosphore (Sauvant *et al.*, 2004; NRC, 2012) et se trouve presque entièrement sous forme de sels appelés phytates, principalement avec d'autres minéraux (Ca, Fe, Zn, Mg, K et Mn ; Figure 1.7). Les phytates sont solubilisés au pH gastrique, alors que le pH plus élevé de l'intestin grêle est propice à leur reformation ou complexation *de novo* diminuant ainsi l'absorption des minéraux et oligo-éléments (Wise, 1983; Angel *et al.*, 2002). *In vitro*, l'acide phytique forme ses sels les plus stables avec le cuivre, le zinc, le nickel, le cobalt, le manganèse, le fer puis le calcium (Vohra *et al.*, 1965; Vasca *et al.*, 2002).

Le calcium représente rarement plus de 1% de la matière sèche des plantes (NRC, 2012) et son absorption est diminuée par la formation de phytates. Ce phénomène peut être plus ou moins contré par l'utilisation de phytases (cf section 1.3.2), qui dégradent les phytates en solution (Taylor, 1965; O'Dell & De Boland, 1976; Greiner & Konietzny, 2012). La capacité de l'acide phytique à se lier aux cations diminue à mesure que les groupes phosphates sont éliminés (Wise, 1983). Les phytates forment également des complexes insolubles avec les protéines, les acides aminés et l'amidon et diminuent ainsi la digestibilité dans l'intestin grêle et l'utilisation de ces nutriments (Selle & Ravindran, 2008).

Phosphore et calcium d'origine minérale

Le phosphore est ajouté à l'aliment des porcs généralement sous forme de phosphate dicalcique, monocalcique ou monodicalcique (Bleukx, 2005). Les phosphates de magnésium, de calcium-magnésium, d'ammonium et de sodium sont également disponibles pour l'alimentation des animaux d'élevage (Viljoen, 2001; De Groote *et al.*, 2002; Bleukx, 2005). En raison des préoccupations liées à la pollution, les phosphates les plus digestibles sont préférés, bien que le prix soit également pris en compte. Le premier et principal critère est le respect de spécifications techniques strictes en termes de composition et de stabilité physico-chimique. Les phosphates peuvent être classés en fonction de leur solubilité dans une solution d'acide citrique à 2%. Ce test n'indique pas la digestibilité réelle mais permet de classer les différents produits (Viljoen, 2001). Un phosphate de qualité alimentaire doit être soluble à au moins 95% dans l'acide citrique à 2% et dans le citrate d'ammonium alcalin (Bleukx, 2005; IFP, 2021). Pour les phosphates monocalciques, la solubilité dans l'eau doit être supérieure à 80%, et pour le phosphate monodicalcique, supérieure à 50% (Bleukx, 2005). Le phosphate monocalcique a une meilleure digestibilité que le phosphate monodicalcique, qui a lui-même une digestibilité plus élevée que le phosphate dicalcique (Viljoen, 2001; Bleukx, 2005). Le phosphate dicalcique dihydraté a une digestibilité plus élevée que la forme anhydre. Le critère final pour juger de la qualité d'un phosphate est sa teneur en substances indésirables telles que l'arsenic, le cadmium, le plomb, le fluor ou le mercure, ainsi que les dioxines.

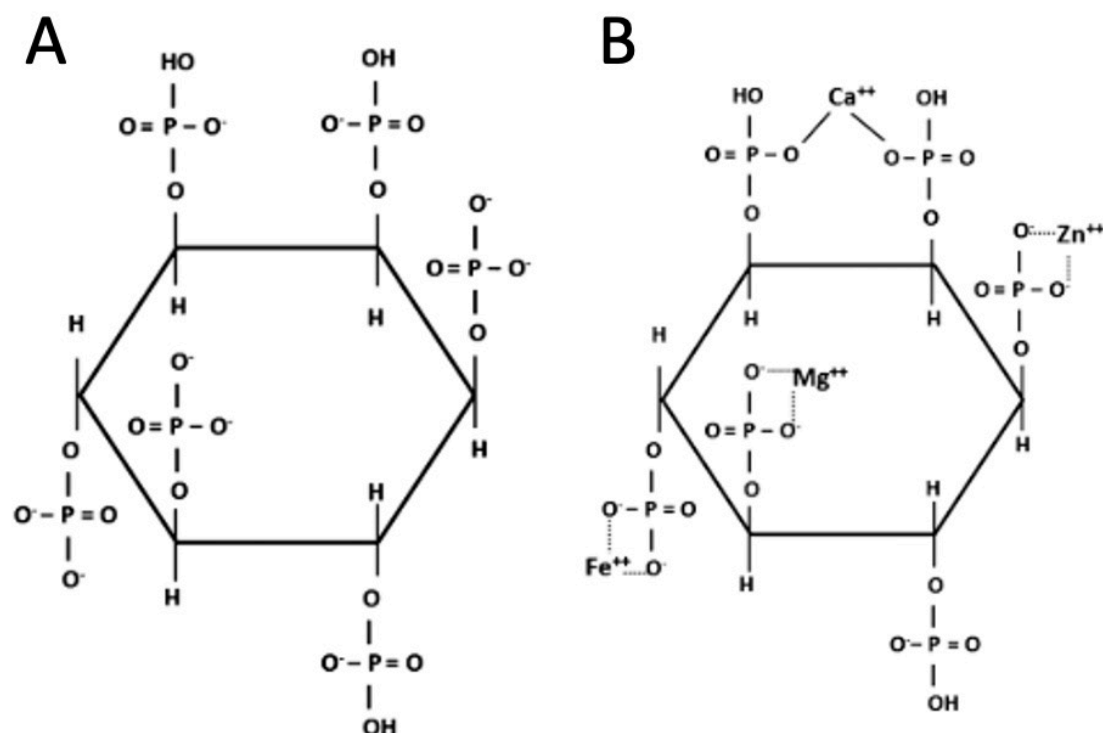


Figure 1.7 – A- Structure de l'acide phytique à pH neutre (Humer *et al.*, 2015) ; B- Chelate de phytate avec différents cations (Humer *et al.*, 2015)

Les compléments calciques inorganiques les plus utilisés en élevage porcin sont les phosphates de calcium (González-Vega & Stein, 2014) et les carbonates sous forme de pierre à chaux, un minéral qui contient du carbonate de calcium et de la dolomite dont la teneur en calcium varie (35-38% calcium ; Sauvart *et al.*, 2004). La biodisponibilité du calcium dans ces sources se situe entre 90 à 100% de celle du carbonate de calcium (CaCO_3) utilisé comme référence (De Groote *et al.*, 2002; Sauvart *et al.*, 2004; NRC, 2012). Contrairement à la volaille, la taille des particules de carbonate ne semble pas avoir d'effet significatif sur la digestibilité apparente ou standardisée du calcium chez les porcs en croissance, d'après des essais réalisés sur des animaux dont le poids vif se situe entre 10 et 20 kg (Ross *et al.*, 1984; Merriman & Stein, 2016). Les algues rouges calcifiées (CeltiCal) ont été étudiées en raison de leur solubilité au pH gastrique. Ce calcium est 32% plus soluble que du calcium calcaire à pH 6,7, et 34% plus soluble à pH 3,0 (Walk *et al.*, 2012). La pierre à chaux est composée à 100% de calcite alors que le CeltiCal (Celtic Sea Minerals) est composé à 65% de calcite, 23% d'aragonite et 12% de valterite (polymorphes de la calcite). Sa plus grande solubilité ne rend pas le produit CeltiCal plus digestible que le carbonate de calcium. En effet, sa digestibilité chez le porc est au mieux équivalente à celle du carbonate de calcium (digestibilité totale apparente (ATTD) du calcium de 46,7% et 51,2% pour le carbonate de calcium et le CeltiCal respectivement (Schlegel & Gutzwiller, 2017), 64% pour les deux sources (González-Vega *et al.*, 2015b)) et peut être inférieure (46,9% du calcium ATTD et 30,5% pour le carbonate de calcium et le Celtical (González-Vega *et al.*, 2014)). Le calcium marin est peu absorbé dans les parties supérieures de l'intestin (González-Vega *et al.*, 2014) car sa concentration plus élevée en cation dissous le fait précipiter davantage avec le phosphate ou les acides phytiques, diminue la digestibilité du phosphore, diminue la minéralisation osseuse, et diminue la croissance des animaux (Walk *et al.*, 2012; Schlegel & Gutzwiller, 2017). Un rapport Ca:P solubles élevé rend la précipitation plus probable. Néanmoins, l'ajout de calcium marin en plus petite quantité et l'utilisation de phytase permettent un bon équilibre du rapport Ca:P solubles, des performances de croissance équi-

valentes au groupe témoin, ainsi qu'une minéralisation osseuse quantitativement supérieure, du moins dans les études sur le poulet de chair (Walk *et al.*, 2012). Ces résultats montrent surtout que le calcium et le phosphore interagissent fortement dans le système digestif, et combien des études complémentaires, notamment sur le rapport Ca:P solubles, sont nécessaires pour optimiser leur utilisation.

Phosphore et calcium d'origine animale

Outre les phosphates inorganiques, les farines de viande et d'os sont également utilisées comme source de phosphore et de calcium. Sauf en Europe où elles sont autorisées dans l'alimentation des poissons mais interdites dans l'alimentation du bétail, ces sous-produits sont couramment inclus en grande quantité dans les régimes alimentaires des volailles. Ces farines peuvent être composées d'os et de tissus mous, mais sont exemptes de sang, de poils, de sabots, de corne, de peau/cuir, de contenu stomacal et ruminal et d'excréments. La plupart des farines de viande et d'os en Amérique du Nord sont un mélange de sous-produits de bovins, de porcs et de volailles. Elle doit contenir au moins 4,0% de phosphore et le rapport Ca:P ne doit pas dépasser 2,2 (AAFCO 2011, cité dans Sulabo & Stein, 2013). Les farines de viande et d'os sont une source de calcium et de phosphore hautement disponible (Perez *et al.*, 2002; Traylor *et al.*, 2005) mais en quantité variable et de qualité hétérogène, en raison des différences de matières premières et de procédés (Garcia *et al.*, 2006). Selon la source, les teneurs en phosphore et calcium peuvent varier de 2 à 4 fois plus que la teneur en protéines, les coefficients de variabilité étant respectivement de 20%, 22% et 6,2% (Sulabo & Stein, 2013). Une corrélation négative existe entre la concentration en protéines et la concentration en phosphore et calcium, en raison des variations des proportions de tissus mous et d'os (Sulabo & Stein, 2013). Les sources les plus importantes de variation de la composition des farines de viande et d'os sont donc l'origine des sous-produits utilisés et le rapport entre les tissus mous et les os. Lorsque la farine de viande et d'os est donnée aux porcs, elle fournit une grande partie du calcium et du phosphore de l'alimentation. Il est donc nécessaire d'avoir un fournisseur qui utilise des procédés contrôlés et qui peut garantir la teneur en calcium et phosphore. La digestibilité standardisée du phosphore dans la farine de viande et d'os varie de 55 à 84% et s'élève en moyenne à 70% (NRC, 2012; Sulabo & Stein, 2013), ce qui se situe entre les valeurs du phosphore inorganique et des matières d'origine végétale. La digestibilité standardisée du calcium dans la farine de viande et d'os est estimée à 77% mais peut atteindre 82% pour la farine de volaille (Merriman *et al.*, 2016). La digestibilité apparente du calcium varie de 53% à 81% (Sulabo & Stein, 2013). La digestibilité du phosphore et du calcium dans la farine de viande et d'os peut donc varier, notamment en raison de la concentration en phosphore : plus la concentration en phosphore est élevée, plus la digestibilité du calcium et du phosphore est faible. Comme la concentration en phosphore dépend principalement de la proportion d'os dans la farine, il peut être supposé que plus le rapport os/viande est élevé, plus la digestibilité du calcium et du phosphore est faible. En effet, la digestibilité apparente du phosphore dans la farine d'os est d'environ 68%, contre 80% dans la farine de viande et d'os et 85% dans la farine de viande (Jongbloed & Kemme, 1990). L'hydroxyapatite semble donc être une forme moins digestible de phosphore et de calcium. Ceci a été validé pour le phosphore en comparant des régimes contenant différentes formes de farine d'os. La digestibilité précécale du phosphore chez les poulets est plus faible lorsqu'il est encore sous forme d'hydroxyapatite que lorsqu'il a été préalablement dissous (Van Harn *et al.*, 2017). Bien que sa composition puisse varier considérablement, la farine de viande et d'os offre une possibilité de recyclage, en fournissant suffisamment de phosphore aux animaux sans ajouter de phosphore inorganique provenant de sources non renouvelables. Au moins une étude suggère que le traitement thermique et sous pression de la farine d'os et l'élimination de la gélatine peuvent améliorer la digestibilité du phosphore (Van Harn *et al.*, 2017).

1.2.2 Estimations précises des valeurs en phosphore et en calcium des aliments

Valeur totale analysable

Les teneurs totales en calcium et en phosphore des ingrédients sont couramment mesurées par analyse chimique. Cependant, ces chiffres n'indiquent pas quelles fractions sont digérées, retenues, ou excrétées par les animaux. Bien que cette méthode présente des inconvénients, elle reste la méthode privilégiée pour le calcium, principalement en raison du manque de connaissances sur la biodisponibilité du calcium. Des travaux récents et en cours devraient permettre d'obtenir une évaluation plus précise de la biodisponibilité du calcium (Lee *et al.*, 2019). Le système pour le phosphore est plus précis avec différents modes d'expression qui seront décrits dans les sections suivantes.

Biodisponibilité

La biodisponibilité, également appelée disponibilité, a été ajoutée dans la neuvième édition du NRC (1998). La disponibilité, est un indicateur de l'utilisation d'un nutriment basé sur un critère prédéfini. Par exemple, dans le cas du phosphore et du calcium, ce critère peut être la minéralisation osseuse mesurée en terme de teneur en minéraux (cendres) ou une propriété biomécanique telle que la résistance à la rupture (Petersen *et al.*, 2011 ; She *et al.*, 2017). La valeur est obtenue par comparaison avec une référence considérée comme biodisponible à 100%, généralement le phosphate monocalcique. La biodisponibilité relative d'un nutriment dans un ingrédient est généralement exprimée par le rapport de pente, obtenu à partir de régressions linéaires du critère choisi par rapport à la quantité de nutriment ingéré (Petersen *et al.*, 2011). Le principal inconvénient de cette méthode est qu'elle n'est pas standardisée et que, par conséquent, l'os et les paramètres mesurés tels que la teneur en cendres ou la résistance à la rupture, peuvent différer d'une étude à l'autre, ce qui rend difficile toute comparaison (Lee *et al.*, 2019).

Digestibilité

Le concept de digestibilité a d'abord été utilisé pour évaluer la valeur en phosphore des aliments aux Pays-Bas (CVB Centraal Veevoederbureau, 2000) puis en France (Sauvant *et al.*, 2004) sous la forme de la digestibilité totale apparente (ATTD). En 2012, le NRC a proposé une méthode de digestibilité totale standardisée (STTD), analogue à celle utilisée pour les acides aminés et qui devrait être plus précise. La digestibilité désigne la quantité de nutriment qui ne se retrouve pas dans les fèces et qui est donc digérée ou a disparu du tube digestif, une définition qui doit être nuancée selon que les pertes endogènes sont considérées ou non. Contrairement à d'autres nutriments, la digestibilité du phosphore, et du calcium dans une moindre mesure, est estimée sur l'ensemble du tube digestif sous le nom de digestibilité fécale. Deux hypothèses justifient cette méthode :

1. le phosphore et le calcium sont en partie absorbés respectivement dans le cæcum et le côlon (Liu *et al.*, 2000), qui jouent un rôle homéostatique en maintenant le phosphore et le calcium sériques dans des conditions de faible apport
2. pour le phosphore et le calcium de la plupart des apports alimentaires, il n'y a pas de différences entre la digestibilité fécale et iléale pour la digestibilité réelle du phosphore (Dilger & Adeola, 2006), la digestibilité apparente (Bohlke *et al.*, 2005), ou la digestibilité apparente et standardisée du calcium (González-Vega *et al.*, 2014) et il n'y a donc aucun intérêt à estimer la digestibilité iléale, qui est beaucoup plus difficile et coûteuse que la mesure de la digestibilité fécale (NRC, 2012).

La digestibilité totale apparente (ATTD) d'un nutriment dans un aliment est la différence entre l'apport total du nutriment en question et la quantité retrouvée dans les fèces (Stein *et al.*, 2007; Almeida & Stein, 2010) :

$$ATTD_{Ca} (\%) = [(Ca_{ingéré} - Ca_{fécal}) / Ca_{ingéré}] \times 100 \quad (1.1)$$

$$ATTD_P (\%) = [(P_{ingéré} - P_{fécal}) / P_{ingéré}] \times 100 \quad (1.2)$$

Les méthodes les plus utilisées pour déterminer la digestibilité apparente sont la collecte totale des fèces ou la collecte partielle avec un marqueur indigestible. La digestibilité apparente du phosphore est encore largement utilisée, mais elle présente l'inconvénient de ne pas être additive dans les aliments composés de plusieurs ingrédients (Fan & Sauer, 2002; Almeida & Stein, 2010).

La digestibilité standardisée (STTD) prend en compte les pertes endogènes basales, qui représentent la perte minimale d'un nutriment, indépendante de la composition de l'aliment mais influencée par la consommation de matière sèche (Stein *et al.*, 2007; She *et al.*, 2017). Ces pertes ont d'abord été estimées par régression avec extrapolation à une ingestion nulle du minéral étudié (Fan *et al.*, 2001). Elles sont maintenant mesurées par analyse des fèces d'animaux nourris avec un régime sans phosphore ou calcium (Petersen & Stein, 2006; González-Vega *et al.*, 2015a, 2015b; Merriman & Stein, 2016; Liu *et al.*, 2018). Selon Anwar *et al.* (2016), cette méthode conduirait à une sous-estimation des pertes endogènes basales, car le métabolisme du calcium est régulé par l'absorption et donc la réabsorption des pertes endogènes. De même, un déséquilibre en phosphore dû à un aliment sans phosphore mais contenant du calcium affecterait probablement les pertes endogènes en phosphore (Mutucumarana & Ravindran, 2016). D'autres essais sont nécessaires pour déterminer si les pertes endogènes en phosphore doivent être mesurées avec un régime sans phosphore et sans calcium ou avec une faible quantité de calcium pour minimiser l'interférence de la régulation. Les pertes endogènes basales de phosphore et de calcium se situent respectivement dans les fourchettes de 139 à 252 mg et 123 à 670 mg/kg de matière sèche ingérée (MSI) (González-Vega *et al.*, 2014; González-Vega *et al.*, 2015b; Merriman, 2016; Zhang & Adeola, 2017). Les pertes endogènes basales en phosphore chez les porcs ont été estimées à 190 mg/kg de MSI par le NRC (2012) et à 6 mg/kg de poids vif par Bikker et Blok (2017). La digestibilité standardisée peut alors être calculée à l'aide des équations suivantes (Almeida & Stein, 2010) :

$$STTD_{Ca} (\%) = [(Ca_{ingéré} - (Ca_{fécal} - \text{Pertes endogènes basales})) / Ca_{ingéré}] \times 100 \quad (1.3)$$

$$STTD_P (\%) = [(P_{ingéré} - (P_{fécal} - \text{Pertes endogènes basales})) / P_{ingéré}] \times 100 \quad (1.4)$$

Les valeurs de digestibilité standardisée sont considérées comme additives dans les aliments composés de plusieurs matières premières (NRC, 2012; Lee *et al.*, 2019). Selon cette équation et l'utilisation d'une perte constante de phosphore basal de 190 mg/kg de MSI, il est assez facile de convertir les valeurs de digestibilité ATTD en valeurs STTD.

La digestibilité totale vraie (TTD) tient compte des pertes endogènes totales, qui comprennent les pertes endogènes basales et spécifiques. Ces dernières représentent les pertes supérieures aux pertes endogènes basales, dues aux caractéristiques spécifiques de l'aliment, telles que le niveau de facteurs anti-nutritionnels ou la teneur en fibres (Stein *et al.*, 2007). Il n'existe aucune méthode de mesure directe de la digestibilité réelle, à l'exception de l'utilisation de radio-isotopes qui sont maintenant interdits dans de nombreux pays. Elle est donc déterminée par régression, en utilisant la digestibilité apparente et la quantité ingérée du nutriment (She *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2019) :

$$Ca_{absorbé} = (TTD \times Ca_{ingéré}) - \text{Pertes endogènes totales} \quad (1.5)$$

$$P_{absorbé} = (TTD \times P_{ingéré}) - \text{Pertes endogènes totales} \quad (1.6)$$

L'ordonnée à l'origine négative correspond aux pertes endogènes totales, tandis que la pente de la régression représente la digestibilité réelle. Dilger et Adeola (2006), González-Vega *et al.* (2013), Liu *et al.* (2016) soulignent cependant que, pour le phosphore et calcium, les estimations

sont très variables, dépendent des individus, et que souvent, l'ordonnée à l'origine n'est pas différente de 0. Les estimations sont aussi influencées par la quantité ingérée, ce qui va à l'encontre de l'hypothèse de base sur laquelle repose la méthode de régression (González-Vega *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2016).

Bien que plusieurs études aient été réalisées (Bohlke *et al.*, 2005; Stein *et al.*, 2011; González-Vega *et al.*, 2013; Sulabo & Stein, 2013; González-Vega *et al.*, 2015a, 2015b; Merriman & Stein, 2016), le besoin en calcium continue d'être généralement exprimé en besoin total (NRC, 2012; Lee *et al.*, 2019) en raison du manque de données sur la digestibilité. Pour surmonter la non-additivité de la digestibilité apparente dans un aliment mixte, la plupart des études récentes se sont concentrées sur la digestibilité standardisée (González-Vega *et al.*, 2015a). Cependant, les pertes endogènes basales en calcium mesurées jusqu'à présent sont très variables et semblent dépendre de la composition de l'aliment (González-Vega *et al.*, 2015a). De plus, des composants tels que les fibres peuvent avoir un effet positif direct et proportionnel sur la digestibilité standardisée du calcium (González-Vega *et al.*, 2015a), comme cela a été montré dans des études chez le rat (Younes *et al.*, 1996). Ces dernières considérations montrent l'intérêt d'évaluer la digestibilité du calcium des matières premières dans les conditions spécifiques dans lesquelles elles seront utilisées, comme cela est recommandé chez le poulet pour le phosphore (Rodehutsord, 2013).

Approche modèle mécaniste et méta-analyse

Toutes les méthodes décrites précédemment donnent une valeur unique de phosphore et de calcium pour chaque aliment, indépendamment des interactions avec les autres composants du régime. Dans le but d'estimer précisément la digestibilité du phosphore alimentaire dans un régime complet, deux approches ont été utilisées par Létourneau-Montminy *et al.* (2011) et Létourneau-Montminy *et al.* (2012) sur la base de la littérature disponible. Tout d'abord, un modèle mathématique de recherche mécaniste qui simule le devenir des formes de phosphore alimentaire, le phosphore phytique (PP) et le phosphore non phytique (PnP) d'origine végétale, minérale et animale, dans le tractus gastro-intestinal a été développé et évalué (Létourneau-Montminy *et al.*, 2011). Le modèle proposé intègre et prédit l'effet des processus physiologiques les plus pertinents impliqués dans la digestion et l'absorption du phosphore, y compris les formes alimentaires du phosphore, la présence de phytase exogène et la concentration alimentaire en calcium. Il prédit également l'effet du temps de transit et du pH des différentes sections du régime alimentaire. Le modèle donne en sortie le phosphore et le calcium apparent absorbés. Il peut être utilisé comme un outil prospectif pour étudier la digestibilité du phosphore pour différents aliments et stratégies d'alimentation, ainsi que l'effet de processus digestifs spécifiques sur l'utilisation du phosphore par voie digestive. Deuxièmement, étant donné le grand nombre de publications sur la digestibilité du phosphore chez les porcs, la méta-analyse, une méthode statistique pertinente pour résumer et quantifier les connaissances acquises par le biais de recherches précédemment publiées (Sauvant *et al.*, 2008; Sauvant *et al.*, 2020), a été choisie pour prédire la digestibilité du phosphore en tenant compte des formes de phosphore alimentaire, du calcium et des phytases exogènes. Les formes alimentaires sont le PP et le PnP d'origine végétale, minérale et animale (Létourneau-Montminy *et al.*, 2012). Cette étude a fourni une loi de réponse du phosphore ATTD (g/kg) aux variations de PP, PnP et phytase. Les résultats ont montré une relation linéaire entre le PnP et le phosphore digestible. Les PnP minéraux-animaux et les PnP végétaux sont tous deux hautement digestibles, respectivement à 78% et 73%. Un coefficient de digestibilité de 21% a également été trouvé pour le PP, ce qui montre qu'une partie du PP est disponible pour l'absorption sans apport de phytase exogène (Jongbloed *et al.*, 1992; Rapp *et al.*, 2001; Kemme *et al.*, 2006). Ensuite, l'amélioration de la digestibilité du phosphore par la phytase microbienne a été simulée par l'équation enzymatique classique de Michaelis-Menten. La réponse à la phytase dépend de la quantité de PP, qui est son substrat. L'ajout de 500 unités phytasiques (FTU) de phytase microbienne par kg d'aliment à un aliment contenant 2 g de PP/kg a augmenté la quantité de phosphore digestible de 0,60 g/kg. Avec 3 g de PP/kg, la quantité de phosphore digestible a augmenté

de 0,67 g/kg. Il est intéressant de noter que la quantité de PP varie peu dans les ingrédients des porcs. Enfin, le calcium alimentaire diminue linéairement la digestibilité du phosphore indépendamment de l'apport en phytase, comme cela a été montré précédemment en testant différentes concentrations de calcium alimentaire croisées avec différents niveaux de phytase (Adeola *et al.*, 2006; Létourneau-Montminy *et al.*, 2010; Narcy *et al.*, 2010). Cette méthode simple permet de prédire la digestibilité réelle du phosphore à partir de l'analyse chimique du régime alimentaire en phosphore total, PP, calcium et phytase microbienne, tandis que le PnP est la différence entre le phosphore total et le PP tel qu'utilisé chez les poulets de chair (NRC, 1994).

1.2.3 Critères de réponse et de suivi

Il est nécessaire d'ajuster l'apport en phosphore aux besoins du porc afin de diminuer l'excrétion de phosphore. Néanmoins, l'apport ne doit pas être trop faible afin d'éviter une éventuelle diminution des performances de croissance ou engendrer des douleurs ou des blessures à l'animal. Plusieurs critères plus ou moins invasifs sont disponibles afin d'évaluer les besoins des animaux.

Performances de croissance

Le suivi le plus facilement réalisable est celui du suivi des performances de croissance (*i.e.*, consommation journalière, gain moyen quotidien (GMQ), efficacité alimentaire). Les cendres ne représentent pas plus de 4% du poids vif, dont environ 18% sont composées de phosphore (Mahan & Shields, 1998; Mitchell *et al.*, 2001b; De Lange *et al.*, 2003). Ce minéral n'est donc pas quantitativement important dans le gain de poids de l'animal. Néanmoins, une carence en phosphore peut entraîner une baisse d'appétit (Suttle, 2010), conduisant à une diminution de l'ingestion de protéines et d'énergie, lesquelles entraînent une diminution des performances de croissance. Cet effet a été mis en évidence par Vier *et al.* (2019b), qui ont montré qu'une carence en phosphore mais aussi qu'un excès de phosphore pouvait entraîner une diminution du GMQ et de l'efficacité alimentaire. Selon ces auteurs, un apport en phosphore entre 116 et 127% du NRC maximise le GMQ et l'efficacité alimentaire. Néanmoins, l'effet de la carence en phosphore est aussi à mettre en lien avec le ratio Ca:P, plus élevé qu'attendu. Afin de palier la diminution des performances, Vier *et al.* (2019a) proposent de ne pas dépasser le ratio STTD Ca:P STTD de 1,75 lors d'apport de phytase et de 1,82 sans phytase. À l'inverse, certains auteurs (Pomar *et al.*, 2006; Gonzalo *et al.*, 2018) n'ont pas montré de différence de performance avec différents apports de phosphore et calcium.

Cendres osseuses

Les niveaux d'apport en calcium et phosphore ont un effet direct sur la minéralisation et la santé osseuse, c'est pourquoi ce sont des indicateurs de choix de l'adéquation entre les apports en phosphore et calcium et les besoins du porc. La minéralisation et la santé osseuse peuvent être mesurées de façon invasive (cendres osseuses, caractéristiques biomécaniques) ou non invasive (imagerie). Le principal avantage des méthodes non invasives est qu'elles permettent le suivi d'un même animal tout au long de sa croissance.

La quantité de cendres osseuses est très sensible aux apports de calcium et phosphore. Elle est aussi dépendante de l'âge de l'animal et du type d'os étudié (Crenshaw, 2014; Sørensen *et al.*, 2019). En revanche, la proportion de calcium et phosphore dans les cendres osseuses reste constante avec 38 à 40% de calcium et 17 à 19% de phosphore, principalement sous forme d'hydroxyapatite. Néanmoins, le ratio Ca:P peut augmenter lors de carence en phosphore (Sørensen *et al.*, 2019). Aussi les conséquences d'une carence ou d'un excès de phosphore ne sont pas les mêmes dépendamment de l'os étudié. Par exemple, Sørensen *et al.* (2019) ont montré qu'un aliment carencé en phosphore (66% en dessous du besoin) entraînait une diminution de la minéralisation de l'humérus et du fémur mais le fémur a été plus affecté, avec une diminution de 23%

de cendres osseuses contre 81% pour l'humérus. Un apport de phosphore à 144% du besoin, n'a pas permis d'augmenter les cendres osseuses par rapport au groupe témoin. Ces différences de sensibilité pourraient être liées au type de tissus osseux : le tissu trabéculaire est plus affecté par une carence en phosphore que le tissu cortical. Ainsi, selon leur fonction, leur localisation et leur histologie, certains os seraient plus métaboliquement actifs que d'autres. De plus, la minéralisation osseuse est différente selon l'âge des animaux : de 3 à 30 kg de poids le dépôt de minéraux est plus rapide dans le tronc tandis que de 30 à 138 kg de poids vif le dépôt est plus rapide dans les jambes (Mitchell *et al.*, 2001a). Le choix de l'os étudié est donc important puisqu'il peut entraîner des conclusions différentes. Crenshaw *et al.* (2009) ont par exemple montré que les cendres du fémur étaient mieux corrélées au contenu minéral osseux (CMO) du corps total que le péroné.

Biomécanique

Cette méthode a longtemps été considérée comme le standard pour évaluer la qualité des os. Bien que cette méthode soit simple et peu coûteuse (Oksztulska-Kolanek *et al.*, 2016), elle reste invasive. Contrairement à la quantification des cendres osseuses ou des scans, cette méthode présente directement le risque de fracture, qui est une donnée importante dans le cas de la production porcine (perte d'animaux, déclassification à l'abattoir...). Les résultats de ces analyses ne vont pas forcément dans le même sens que les autres, surtout en cas de pathologie (Cannata-Andía *et al.*, 2013) et ne permettent pas de connaître le dépôt de minéraux dans les os. Les tests biomécaniques sont classés selon le sens de la force imposée à l'os étudié (Oksztulska-Kolanek *et al.*, 2016) et sont sensés représenter ce que peut subir l'os *in vivo* (Nordin & Frankel, 2021). Les os peuvent donc subir des compressions, des tensions, des forces de cisaillement, de flexion ou de torsion (Figure 1.8, Oksztulska-Kolanek *et al.*, 2016).

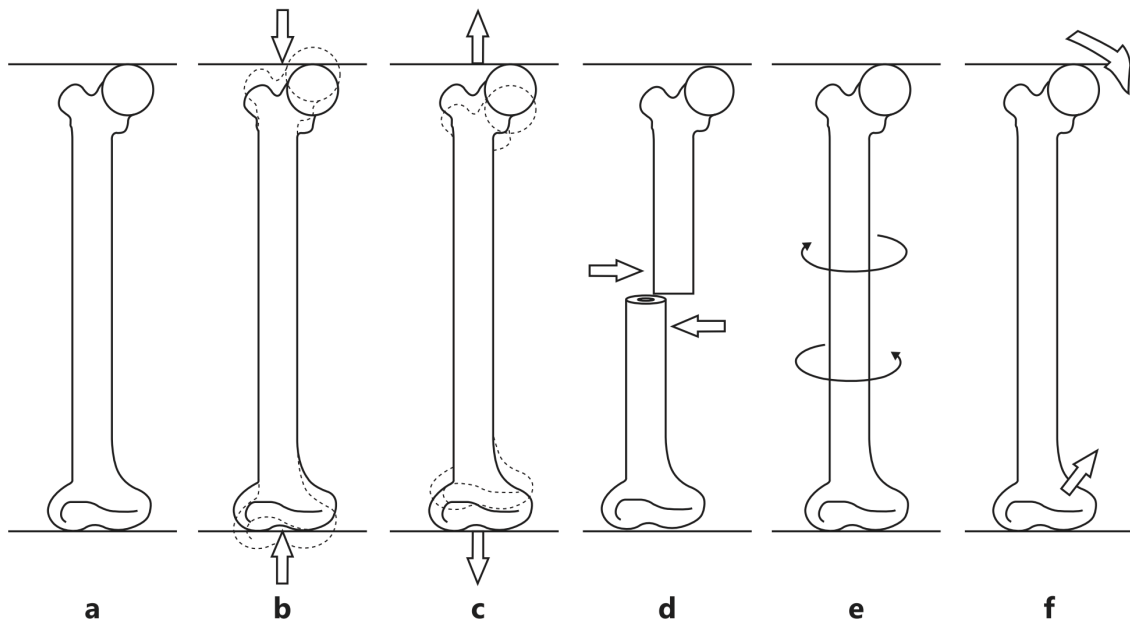


Figure 1.8 – Les différents effets de la force appliquée sur l'os. Le schéma représente les directions de la charge (indiquées par des flèches) et les effets de la force appliquée (indiqués par des tirets) : a- os normal sans force appliquée, b- force de compression, c- résistance à la traction, d- résistance au cisaillement, e- résistance à la torsion, f- résistance à la flexion (Oksztulska-Kolanek *et al.*, 2016)

La charge appliquée à l'os et sa réponse, sont transformées respectivement en contrainte et en déformation, permettant d'établir une courbe de contrainte-déformation (Figure 1.9, Turner & Burr, 1993). Il existe deux zones dans cette courbe, séparées par le point de résistance. La première zone, avant ce point est celle de déformation élastique. Dans cette région, l'os est assimilé

à un ressort : la déformation augmente linéairement avec la force appliquée mais lorsque l'os est relâché il revient dans sa forme initiale. Après le point de résistance, dans la zone de déformation plastique, l'os subit des dommages irréversibles (déformation de la structure de l'os, microfractures...), jusqu'à atteindre le point de rupture.

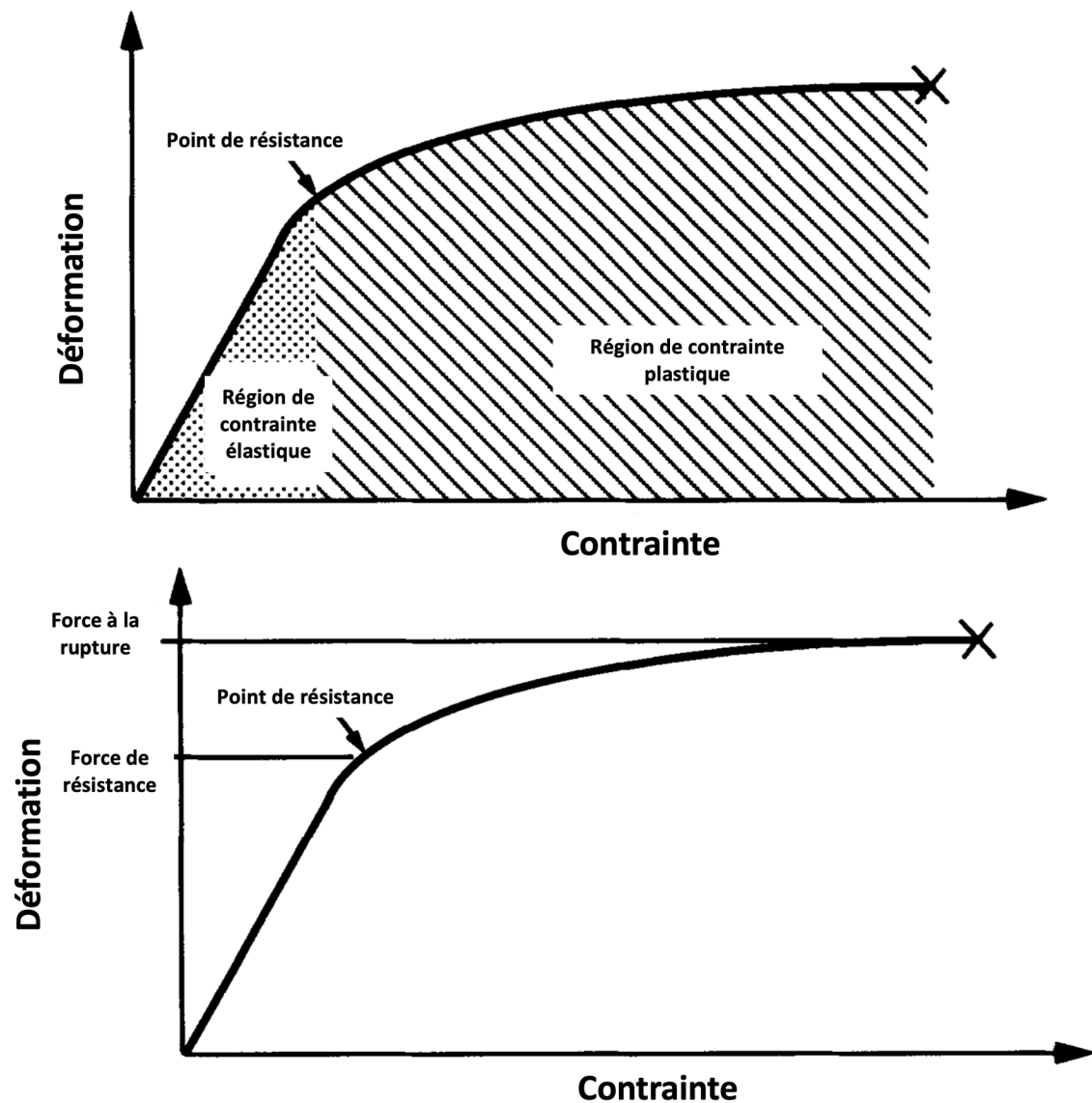


Figure 1.9 – En haut : Courbe de contrainte-déformation divisée en région de contrainte élastique et région de contrainte plastique. Le x à l'extrémité de la courbe correspond à la contrainte et à la déformation au moment de la rupture. En bas : Mesure de la résistance à partir de la courbe contrainte-déformation (Turner & Burr, 1993)

Les propriétés mécaniques des os sont sujettes à des effets des apports en calcium et phosphore, de l'âge de l'animal, et de son sexe (Crenshaw *et al.*, 1981). Les résultats sont aussi différents selon l'os choisi en corrélation avec l'âge du porc (Crenshaw *et al.*, 1981), par exemple chez des animaux de 2 mois, les paramètres biomécaniques du fémur sont différents selon le niveau de calcium et phosphore ingéré, ce qui n'est plus le cas à 8 mois. Il est donc nécessaire de bien choisir quel os étudier, selon les objectifs de l'étude.

Imagerie

Les deux intérêts majeurs des méthodes par imagerie sont de pouvoir suivre le même animal tout au long d'un essai sans avoir à l'abattre et d'avoir la possibilité d'obtenir le CMO du corps total, mais aussi d'isoler des régions, voire des os sur le même animal (Mitchell *et al.*, 2001a; Létourneau-Montminy *et al.*, 2010; Gonzalo *et al.*, 2018). Avec le CMO du corps total, il est possible de s'affranchir de l'effet des os qui ne réagissent pas de la même façon aux apports de calcium et de phosphore tel que discuté plus tôt (Crenshaw *et al.*, 1981). Néanmoins, le CMO est peu corrélé aux propriétés mécaniques des os (Crenshaw, 1986). Ainsi un CMO élevé n'est pas synonyme de force ou d'intégrité de l'os. Deux méthodes d'imagerie sont principalement utilisées lors de suivi de croissance des porcs : le dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) et le computed tomography (CT). Ces méthodes permettent de connaître la composition corporelle des porcs avec le CMO, la quantité de tissus gras et de tissus maigres. Le DXA présente les avantages d'être plus rapide et d'envoyer des radiations moins fortes que le CT scan (Tewari *et al.*, 2018). Néanmoins, le CT scan permet d'obtenir des images 3D et d'analyser les volumes (Scholz *et al.*, 2015). Aussi, il serait meilleur à la différenciation des tissus mous, et avec ces images, il est possible de différencier l'os trabéculaire de l'os cortical (Bredella *et al.*, 2010; Kinsella *et al.*, 2015).

Marqueurs osseux

Les marqueurs osseux peuvent aussi être mis en relation avec les besoins en calcium et phosphore des animaux en permettant d'évaluer le statut de l'animal. En effet, ces marqueurs sont des indicateurs de résorption ou d'accrétion osseuses. Le niveau peut aussi changer en fonction de l'âge chez les enfants et jeunes adultes (de 1 à 18 ans, Rauchenzauner *et al.*, 2007). Aucune référence n'existe pour le porc en croissance, ces marqueurs ne sont donc pas utilisés directement de façon quantitative mais plutôt en comparaison avec un groupe témoin, permettant ainsi de repérer des différences de statut entre les animaux. Or, l'intensité de ces deux phénomènes, en particulier la résorption, est contrôlée par les hormones impliquées dans le métabolisme phosphocalcique.

Formation. L'ostéocalcine (OC) est considérée comme un marqueur sensible et spécifique de l'activité des ostéoblastes (Delmas *et al.*, 2000; Szulc *et al.*, 2000) et son niveau est corrélé au taux de formation osseuse. Le niveau d'OC dans le sang est plus précisément très corrélé au renouvellement osseux : plus le renouvellement est important, plus il y aura d'OC (Szulc *et al.*, 2000). La teneur en OC peut être mesurée dans le plasma, le sérum et même l'urine. La molécule est par contre assez instable, l'échantillon doit donc être rapidement traité et congelé. Il est aussi conseillé de faire les prises de sangs au même moment de la journée, car l'OC est sensible au rythme circadien (Cormier *et al.*, 1993; Szulc *et al.*, 2000). Le taux d'OC serait plus élevé chez les femelles que chez les mâles (Cormier *et al.*, 1993). La méthode la plus courante pour analyser l'OC est celle de l'ELISA.

L'alkaline phosphatase (BAP) est aussi un marqueur de formation osseuse, elle ne permet cependant pas de prédire le dépôt de minéraux (Szulc *et al.*, 2000). L'alkaline phosphatase est libérée par la membrane cellulaire de différents tissus du corps : foie, os, intestin. La mesure de l'alkaline phosphatase totale est donc difficile à interpréter, bien que la BAP soit prédominante chez les animaux en croissance, du fait d'un renouvellement osseux important (Allen, 2003). La BAP est fiable et très spécifique aux os (Delmas *et al.*, 2000; Szulc *et al.*, 2000). Elle peut être analysée dans le plasma ou le sérum. La méthode la plus utilisée est celle du test ELISA.

Les propeptides du procollagène de type I (PICP et PINP) sont des morceaux de collagène de type I clivés avant la formation de fibrilles (Szulc *et al.*, 2000; Allen, 2003). Le collagène représente environ 90% de la structure protéique de la matrice osseuse. Les PICP et PINP sont considérés comme des mesures quantitatives des collagènes de type I nouvellement formés (Delmas *et al.*,

2000). Les propeptides retrouvés dans les urines ne sont que moyennement sensibles à la formation osseuse et sont peu spécifiques aux os (Szulc *et al.*, 2000). En revanche les propeptides plasmatiques sont bien corrélés avec les indices histomorphométriques de la formation osseuse (Cormier *et al.*, 1993). Pour ces molécules aussi, les ELISA ou les méthodes d'immunoessais sont privilégiées.

Résorption. Des molécules de DPD et PYD sont des agents de pontage du collagène, libérés lors de la dégradation du collagène mature. Le DPD est considéré comme le plus spécifique aux os, puisqu'il n'est pas présent dans les collagènes de type I de la peau et très peu dans les tissus connectifs comme les tendons ou les ligaments (Szulc *et al.*, 2000; Allen, 2003). Les DPD et PYD libres excrétés lors des phases de résorption ne sont jamais réutilisés dans la synthèse de collagène, ni absorbés, ni métabolisés avant leur excrétion urinaire. Ils peuvent donc être mesurés de façon fiable dans les urines (Szulc *et al.*, 2000). Le DPD ne peut d'ailleurs qu'être mesuré dans l'urine tandis que le PYD peut être mesuré dans l'urine et le sérum (Allen, 2003).

Lors de la résorption osseuse, les télopeptides du tropocollagène, liés au noyau pyridinium sont libérés et appelés CTX pour la partie terminale C, et NTX pour la partie terminale N (Allen, 2003). Ils peuvent être mesurés dans l'urine ou le sérum (si la mesure est réalisée dans l'urine, elle doit être corrigée du niveau de créatinine) mais contrairement aux DPD et PYD, une partie des CTX et NTX est métabolisée par le foie et les reins. Les CTX et NTX sont considérés comme les meilleurs marqueurs de la résorption osseuse (Nishizawa *et al.*, 2005). La méthode ELISA est la plus courante pour ces analyses.

La dégradation des collagènes matures libère aussi de l'hydroxyproline. Il n'est pas réutilisé pour la synthèse de collagène et peut donc être considéré comme un marqueur de la résorption osseuse (Szulc *et al.*, 2000). Cependant, ce marqueur est peu spécifique aux os et son niveau urinaire ne reflète pas la résorption de collagène puisqu'une partie de l'hydroxyproline est métabolisée par le foie (Cormier *et al.*, 1993).

1.2.4 Estimer précisément les besoins en phosphore et calcium

Selon la FAO et organisation mondiale de la santé (WHO) 2001, un besoin en nutriments est un niveau d'apport qui répond de façon adéquate à des critères spécifiques pertinents sans risque de déficit ou d'excès. Ces critères comprennent un ensemble d'effets biologiques associés à l'élément nutritif. En production animale, un besoin est défini comme la quantité nécessaire pour maximiser un facteur de production tel que la croissance corporelle ou la minéralisation osseuse. En pratique, la croissance seule est souvent un mauvais indicateur du statut minéral. Les analyses de tissus doivent toujours accompagner les données de croissance et d'apport alimentaire lors de l'évaluation de l'adéquation en minéraux (Baker, 1986). La minéralisation osseuse a longtemps été la norme, mais les questions environnementales ont conduit plusieurs pays à la revoir, donnant lieu à la notion de performance de croissance (NRC, 2012). Dans le cas du calcium et du phosphore, le besoin peut être défini comme la croissance selon le potentiel génétique tout en assurant une minéralisation osseuse optimale et en maintenant les risques environnementaux au minimum. En d'autres termes, une approche multicritère de la fixation des besoins en nutriments est nécessaire. Pour répondre à ces différents objectifs, les approches globales et factorielles, et de plus en plus les modèles mécanistes, prennent en compte simultanément les variables les plus importantes, notamment la génétique, le poids vif et le sexe.

Approche globale

Cette méthode consiste à mesurer différents critères de performance (taux de croissance, indice de consommation...) dans des troupeaux qui ont été nourris avec des niveaux croissants du nutriment testé. Si tous les critères ne sont pas satisfaits simultanément, l'apport adéquat est considéré comme celui qui optimise le critère le plus important (Sauveur, 1989). À cette époque,

la digestibilité des nutriments n'était pas prise en compte. Cette approche présente deux inconvénients majeurs. Le premier est qu'il est difficile de comparer l'estimation des besoins en nutriments par cette approche avec la disponibilité ou la digestibilité de la matière première. Le second est que, comme la disponibilité des nutriments, l'approche ne tient pas compte des portions de phosphore et de calcium effectivement utilisées et ne permet pas de différencier les portions libérées dans les fèces et dans l'urine. Les approches globales ont été remplacées par les approches factorielles dans les années 1990.

Approche factorielle

Une méthode plus avancée est l'approche factorielle, qui consiste à quantifier et à additionner les besoins pour chaque fonction physiologique, par exemple, pour l'entretien et la croissance. Avec l'émergence de cette méthode est apparue la prise en compte de l'absorption intestinale des minéraux. Plusieurs méthodes factorielles d'estimation des besoins en phosphore et en calcium ont été proposées comme Jondreville et Dourmad (2006), NRC (2012) et Bikker et Blok (2017). La première de ces méthodes est basée en partie sur des études menées il y a plusieurs années en France (Guéguen & Perez, 1981; Sauveur & Perez, 1989) et aux Pays-Bas (Jongbloed *et al.*, 1999), et est largement appliquée en France et en Europe. La deuxième est populaire en Amérique du Nord. La troisième est en fait une mise à jour de la méthode de Jongbloed *et al.* (1999) basée sur les données publiées depuis. Les besoins en phosphore estimés par ces méthodes sont présentés dans le tableau 1.1.

Dans le modèle de Jondreville et Dourmad (2006), l'estimation des besoins en phosphore et calcium vise une minéralisation osseuse de 100%. Le besoin d'entretien correspond aux pertes urinaires obligatoires, car les besoins en phosphore étant exprimés sur une base ATTD, les pertes fécales endogènes sont déjà considérées. Les besoins d'entretien en phosphore sont estimés à 10 mg/kg de poids corporel (Guéguen & Perez, 1981). Les besoins pour la croissance sont évalués sur la base du gain moyen quotidien. Enfin, le besoin total en calcium est estimé selon un rapport fixe de 2,9 avec le besoin en phosphore ATTD.

Le NRC (2012) considère que la rétention de phosphore et d'azote est fortement corrélée, et que cette corrélation est peu affectée par la génétique animale ou le sexe. Selon leur modèle, la rétention maximale de phosphore chez les porcs en croissance dépend des protéines corporelles. Les pertes basales endogènes dans le tractus gastro-intestinal sont estimées à 190 mg par kg de MSI, pour exprimer les besoins en phosphore STTD, et la perte urinaire minimale à 7 mg/kg de poids vif. Enfin, les performances de croissance sont maximisées en considérant que le besoin en phosphore STTD correspond à 85% du niveau qui maximise la rétention de phosphore. Le besoin total en calcium est fixé à 2,15 fois le besoin en phosphore STTD.

Dans le modèle de Bikker et Blok (2017), les besoins en calcium et en phosphore sont estimés indépendamment et visent une minéralisation osseuse de 100%. Le besoin est la somme de la rétention de calcium ou de phosphore et du besoin d'entretien. Une relation allométrique lie la rétention de calcium et de phosphore dans l'organisme au gain de poids vif vide de l'animal. Le besoin d'entretien comprend la perte urinaire obligatoire et la perte endogène minimale. Les pertes endogènes fécales basales de phosphore et de calcium sont fixées respectivement à 6 mg et 8 mg par kg de poids corporel et les pertes urinaires obligatoires sont estimées à 1 mg et 2 mg par kg de poids corporel. Dans des conditions de faible apport en phosphore ou en calcium, ces pertes inévitables sont faibles mais deviennent plus importantes quand l'apport augmente. L'efficacité d'utilisation du phosphore et du calcium absorbés est donc fixée à 98%. Les besoins en calcium et phosphore sont d'abord estimés en STTD avant d'appliquer un coefficient de digestibilité de 58% au besoin en calcium pour l'exprimer en calcium total. Dans ce modèle, comme dans celui de Sauveur (1989) le besoin en calcium est estimé selon une approche factorielle basée sur le calcium digestible, et l'expression en calcium total en supposant une digestibilité de 45-50% du calcium.

Ceci permet d'adapter le besoin en Ca:P digestible en fonction du poids et des performances des animaux. La même approche a été récemment utilisée pour les truies par Gauthier *et al.* (2019) et Gaillard *et al.* (2019).

Table 1.1 – Estimation des besoins en phosphore et calcium pour les porcs en croissance selon différents modèles

Poids vif	30 kg			50 kg			70 kg			100 kg		
GMQ		0,96 kg			1,11 kg			1,17 kg			1,12 kg	
Consommation		1,36 kg			2,14 kg			2,71 kg			3,22 kg	
Protéine corporelle		4,68 kg			7,08 kg			11,09 kg			15,03 kg	
Modèle	INRAe ^a	NRC ^b	CVB ^c	INRAe ^a	NRC ^b	CVB ^c	INRAe ^a	NRC ^b	CVB ^c	INRAe ^a	NRC ^b	CVB ^c
STTD P (g/kg)	-	4,20	3,77	-	3,07	2,83	-	2,45	2,39	-	1,83	2,01
ATTD P (g/kg)	4,00	-	-	2,98	-	-	2,50	-	-	2,10	-	-
Ca total (g/kg)	11,61	9,03	9,96	8,65	6,60	7,53	7,26	5,27	6,38	6,09	3,93	5,40
Ca total:STTD P ^d	-	2,15	2,64	-	2,15	2,66	-	2,15	2,67	-	2,15	2,69
Ca total:ATTD P ^e	2,90	-	-	2,90	-	-	2,90	-	-	2,90	-	-

^a calculé selon Jondreville et Dourmad (2005)

^b calculé selon NRC (2012)

^c calculé selon Bikker et Blok (2017)

^d NRC : ratio fixe permettant le calcul du besoin en Ca total

^e INRAe : ratio fixe permettant le calcul du besoin en Ca total

Dans tous ces modèles, le dépôt de cendres est fortement corrélé au gain de tissus mous. Cependant, de récents essais d'alimentation ont montré que ce n'est pas le cas chez les porcs en croissance (Figure 1.10, Couture *et al.*, 2018).

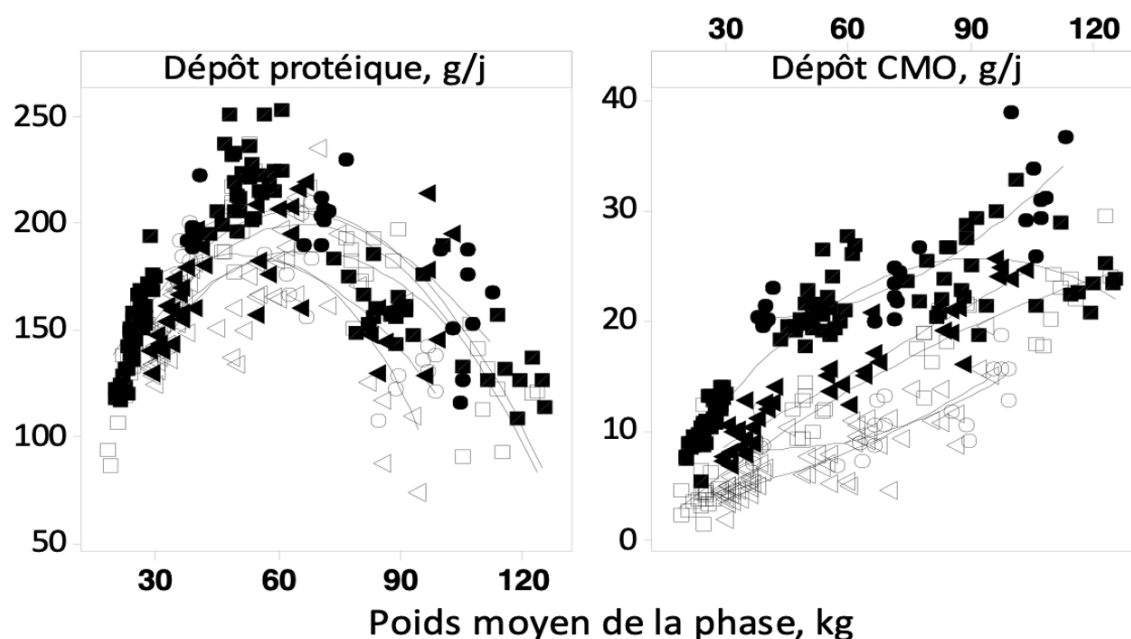


Figure 1.10 – Évolution du dépôt protéique et du CMO en fonction du poids vif (Couture *et al.*, 2018)

Le dépôt de protéines augmente linéairement jusqu'à un poids corporel d'environ 60 kg, puis diminue, tandis que le dépôt de contenu minéral osseux augmente jusqu'à ce que les porcs atteignent le poids d'abattage (120 kg). Ces deux variables sont donc des mesures de processus physiologiques différents. Dans les modèles de Jondreville et Dourmad (2006) et NRC (2012), le besoin en calcium et le besoin en phosphore digestible forment un rapport fixe tout au long de la vie du porc. Or, comme nous l'avons vu précédemment, la croissance des os et celle des tissus mous sont dissociées, ce qui entraîne logiquement un rapport entre le besoin en calcium et le besoin en phosphore qui n'est pas le même tout au long de la vie de l'animal.

Éléments clés

Le phosphore et le calcium peuvent être distribués selon différentes formes aux porcs. Ces différentes formes possèdent leur propre digestibilité. La valeur en phosphore des aliments est décrite sur la base digestible, contrairement au calcium, exprimée sur une base totale. De récentes méthodes telles que la modélisation mécaniste ou la méta-analyse sont pertinentes afin de déterminer la valeur en phosphore digestible d'un aliment en considérant l'effet de différents facteurs alimentaires (ex: forme, quantité de phosphore ou de calcium). Aujourd'hui les besoins des porcs en croissance sont déterminés par une approche factorielle, permettant de considérer séparément les besoins de production et d'entretien.

1.3 Stratégies pour réduire les excréments de phosphore

1.3.1 Modèle mécaniste

L'approche factorielle peut être utilisée dans un modèle mécaniste. Les modèles mécanistes visent à représenter les mécanismes d'un système. En fait, ils rassemblent les mécanismes sous-jacents qui contrôlent le fonctionnement d'un système. Ainsi, la notion classique de besoins (homéorhèse, réponse à long terme) peut être complétée par la réponse des animaux aux entrées (homéostasie, court terme, Sauvante, 1992). Plus récemment, dans le modèle de Létourneau-Montminy *et al.* (2015), le dépôt potentiel de calcium et de phosphore était dépendant du dépôt potentiel de protéines. Mais comme vu précédemment, les dépôts de protéines et de cendres osseuses ne sont pas corrélés (Couture *et al.*, 2018). Par conséquent, l'évaluation des besoins en calcium et phosphore doit tenir compte du fait que les changements dans le tissu squelettique ne sont pas directement proportionnels à la croissance maigre. Cela apparaît clairement lorsque l'on observe la capacité des porcs dépourvus de phosphore et de calcium à remplacer rapidement la masse osseuse par une minéralisation osseuse compensatrice (voir section 1.3.3).

1.3.2 Vers une dégradation plus efficace du phosphore phytique

L'enzyme : phytase

Les phytases, myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolases, sont des enzymes qui hydrolysent les acides phytiques et en libèrent les groupements phosphates (Almeida & Stein, 2010). Chez les porcs en croissance, il existe 4 sources de phytase : 1) la muqueuse de l'intestin grêle, 2) les micro-organismes du gros intestin, 3) la matière végétale ingérée et 4) la phytase exogène ajoutée à l'alimentation. Une unité d'activité phytasique est définie comme la libération de 1 μ mol de phosphore inorganique par minute dans une solution contenant 5,1 mmol de phytate de sodium par litre à pH 5,5 et 37°C (Dersjant-Li *et al.*, 2015). Une faible activité phytasique endogène est observée dans la partie proximale de l'intestin du porc, mais environ 20% du phosphore phytique serait néanmoins potentiellement absorbable (Rapp *et al.*, 2001 ; Kemme *et al.*, 2006 ; Létourneau-Montminy *et al.*, 2012). Certaines matières premières végétales possèdent leur propre activité phytasique. Celle-ci est plus ou moins importante selon l'ingrédient et la partie utilisée (Jondreville & Dourmad, 2006 ; Humer *et al.*, 2015). L'activité phytasique est plus élevée dans certaines céréales comme le seigle, le triticale, le blé ou l'orge que dans les céréales plus riches en protéines (Sauvante *et al.*, 2004). La phytase végétale est sensible à la chaleur (plus que les phytases microbiennes), puisque son activité est partiellement ou totalement inactivée après des traitements à haute température (plus de 70°C) tels que ceux destinés à la granulation (Greiner & Konietzny, 2006 ; Jondreville & Dourmad, 2006 ; Selle & Ravindran, 2008). C'est pourquoi dans les tables d'alimentation INRA-AFZ (Sauvante *et al.*, 2004) deux valeurs sont données pour la digestibilité du phosphore, une qui tient compte de l'effet de la phytase endogène à utiliser lorsque l'aliment est donné sous forme de farine, et une seconde sans tenir compte de l'effet de la phytase endogène à utiliser lorsque l'aliment est granulé. Par conséquent, la source de phytase la plus prometteuse reste la phytase exogène.

Nouvelles générations de phytases

La première phytase exogène a été commercialisée en 1991 aux Pays-Bas, premier pays à avoir mis en place une réglementation stricte visant à limiter les rejets de phosphore issus de l'élevage de porcs et de volailles. L'utilisation des phytases s'est ensuite accélérée suite à l'introduction de législations similaires dans d'autres pays et à l'interdiction de l'utilisation de sous-produits animaux en Europe (Selle & Ravindran, 2008). Ces enzymes ont d'abord été isolées à partir de champignons (Tableau 1.2), puis de nouvelles techniques ont permis la production de phytases par des bactéries et des levures, conduisant à la deuxième génération de phytases. Les phytases commerciales

courantes sont obtenues à partir de cultures de *Aspergillus niger*, *Peniophora lycii* (champignons, 3-phytase) et *Escherichia coli* (bactéries, 6-phytase). Chez le porc, la phytase bactérienne s'est avérée plus efficace que la phytase fongique (Augspurger *et al.*, 2003; Adeola *et al.*, 2006). C'est pourquoi, les phytases fongiques ont été supplantées au début des années 2000 par les 6-phytases produites par *Escherichia coli*. D'autres phytases de seconde génération obtenues à partir de cultures de *Citrobacter braakii*, *Buttiauxella sp.* et même des formes hybrides ont rapidement suivi. Les phytases de troisième génération comportant jusqu'à 8 substitutions d'acides aminés dans l'enzyme d'*Escherichia coli* présentent une meilleure thermostabilité (Vasudevan *et al.*, 2017). La présence de phytase végétale réduit la réponse à l'ajout de phytase exogène (Selle & Ravindran, 2008). Les phytases de nouvelle génération développées par génie génétique libèrent davantage de phosphore (van Dijck *et al.*, 2003). Les phytases exogènes augmentent également la disponibilité du calcium (González-Vega & Stein, 2014) mais le mécanisme sous-jacent reste à déterminer. La digestion du phosphore et du calcium chez le porc a été modélisée en intégrant les interactions, les différentes formes chimiques et l'effet de la phytase (Létourneau-Montminy *et al.*, 2011). La dissociation des phytates de calcium au pH gastrique est présumée dans ce modèle comme montrée *in vitro* (Maenz *et al.*, 1999). En augmentant la proportion de phytate dégradée par la phytase dans le tube digestif supérieur, moins de complexes calcium-acide phytique devraient être formés dans l'intestin grêle où le pH y est favorable. En conséquence, plus de calcium devrait rester disponible pour l'absorption. Cependant, nous n'avons pas vu de validation de cette hypothèse *in vivo* et le mode d'action exact de la phytase sur le calcium reste peu clair. Les phytases libèrent de préférence les phosphates en position 5 et 6 plutôt que de déphosphoryler complètement le phytate (Adeola & Cowieson, 2011). Or, ce sont les IP₅ et IP₆ qui ont la plus grande affinité pour les cations tels que le calcium. En conséquence, les doses de phytase couramment utilisées augmenteraient la disponibilité du calcium plus que celle du phosphore, dans un rapport d'environ 2, tandis que les doses élevées maintiendraient la libération du phosphore alors que la libération du calcium atteindrait une asymptote (Adeola & Cowieson, 2011).

Facteurs influençant l'efficacité de la phytase

Pour une action optimale, l'acide phytique doit être hydrolysé en amont des sites d'absorption du phosphore et d'autres minéraux tels que le calcium, le zinc et le fer. Le phosphore est principalement absorbé dans la partie supérieure de l'intestin grêle (Liu *et al.*, 2000; Crenshaw, 2001). L'hydrolyse dans l'estomac est donc idéale, ce qui signifie que l'enzyme doit être suffisamment active au pH stomacal (3,5 chez les jeunes porcs et plus bas chez les animaux plus âgés, Lei & Porres, 2003). La phytase de *Aspergillus niger* fonctionne bien à un pH de 2 ou 5-5,5, mais mal au pH gastrique du porc. La gamme de pH optimale des phytases de nouvelle génération a été abaissée et dans certains cas élargie (Figure 1.11, Morales *et al.*, 2011; Menezes-Blackburn *et al.*, 2015; Christensen *et al.*, 2019, Tableau 1.2).

Pour limiter les pertes d'activité, les phytases doivent être rendues résistantes aux protéases digestives. Les phytases de deuxième génération se sont révélées meilleures dans ce sens (*Peniophora lycii* vs *Escherichia coli*, Figure 1.12, Morales *et al.*, 2011). Après 2 heures de contact avec la pepsine, les phytases d'*Escherichia coli* ont conservé 77% de leur activité initiale contre 31% pour une phytase d'*Aspergillus niger* (Dersjant-Li *et al.*, 2015).

La température idéale d'activation de la phytase se situe entre 50 et 60°C. Par contre, les traitements à haute température (> 70°C) diminuent l'activité phytasique de l'aliment (Eeckhout & De Paepe, 1994; Kornegay, 2001; De Jong *et al.*, 2017). Les phytases de deuxième génération de *Escherichia coli* ont perdu leur thermostabilité par rapport aux phytases fongiques (Lei *et al.*, 2013), à l'exception d'une phytase de troisième génération de *Escherichia coli* (Phy9X), qui est résistante à des températures plus élevées, jusqu'à 75°C (Garrett *et al.*, 2004; De Jong *et al.*, 2017). Néanmoins, l'augmentation de la température de résistance des phytases peut conduire à une température optimale plus élevée et donc potentiellement diminuer leur efficacité à la température du corps du porc (environ 39°C) (Outchkourov & Petkov, 2013).

Table 1.2 – Caractéristiques de quelques phytases microbiennes commerciales^a

Produit	Origine	Expression	Type ^b	pH optimal	Dégradation IP ₆ ^c	Année ^d
Natuphos®	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	3	2 ; 5-5,5	503	1990
Allzyme® SSF	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	3	6		
Finase® P/L	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	3	2,5		
Ronozyme® P	<i>Peniophora lycii</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	6	4-4,5	480	2002
Phyzyme® XP	<i>Escherichia coli</i>	<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (ATCC 5233)	6	4,5	140	2003
OptiPhos®	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pichia pastoris</i>	6	3,4; 5,0		2006
Quantum™	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pichia pastoris</i>	6	4,5	148	2007
Ronozyme® Hiphos	<i>Citrobacter braakii</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	6	4-5	269	2010
Quantum® Blue	<i>Escherichia coli</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	6	4-5	211	2012
Axtra® PHY	<i>Buttiauxella sp.</i>	<i>Trichoderma reesei</i>	6	3,5-4,5	129	2013
Natuphos® E	Hybrid phytase (<i>Hafnia sp.</i> , <i>Yersinia sp.</i> et <i>Buttiauxella sp.</i>)	<i>Aspergillus niger</i>	6	4-5		2016

^a Cette table n'est pas une liste exhaustive et représente seulement quelques phytases disponibles sur le marché, adapté de Dersjant-Li *et al.* (2015), Dersjant-Li *et al.* (2019) et Lei *et al.* (2013)

^b 3- ou 6- phytase

^c Activité phytasique nécessaire à la réduction de 50% des IP₆, avec un volume élevé de tampon

^d Année de sortie commerciale

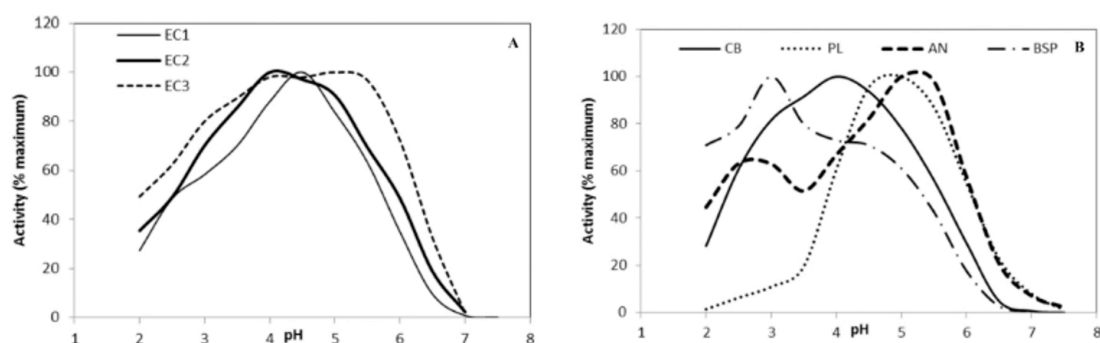


Figure 1.11 – Effet du pH sur l'activité phytasique des phytases testées *in vitro* avec EC1 : Quantum (AB Vista), EC2 : Quantum Blue (AB Vista), EC3 : Phyzyme XP (Danisco), CB : Ronozyme Hiphos (DSM), PL : Ronozyme NP (DSM), AN : Natuphos (BASF), BSP : AxtraPHY (Danisco) (Menezes-Blackburn *et al.*, 2015)

Pour être les plus utiles, les phytases doivent dégrader préférentiellement les phytates IP₆ et IP₅ le plus rapidement possible. Elles doivent donc avoir une grande affinité pour ces substrats. Les phytases de deuxième génération ont été améliorées dans ce sens (Outchkourov & Petkov, 2013), du moins en terme de vitesse de réaction initiale ($V_{\max}$) *in vitro* avec les substrats IP₆ et IP₅ (Menezes-Blackburn *et al.*, 2015).

Malgré l'amélioration des phytases, il est important de comprendre qu'elles agissent sur les phytates solubles. Par conséquent, les facteurs qui influencent la solubilité des phytates doivent être contrôlés. Certains minéraux interfèrent avec les phytates. Les cations ont un pouvoir inhibiteur lié à leurs affinités pour l'acide phytique mais aussi à l'insolubilité des complexes qu'ils forment. Ce pouvoir est mesurable par la quantité de minéral qui fait chuter l'hydrolyse des phy-

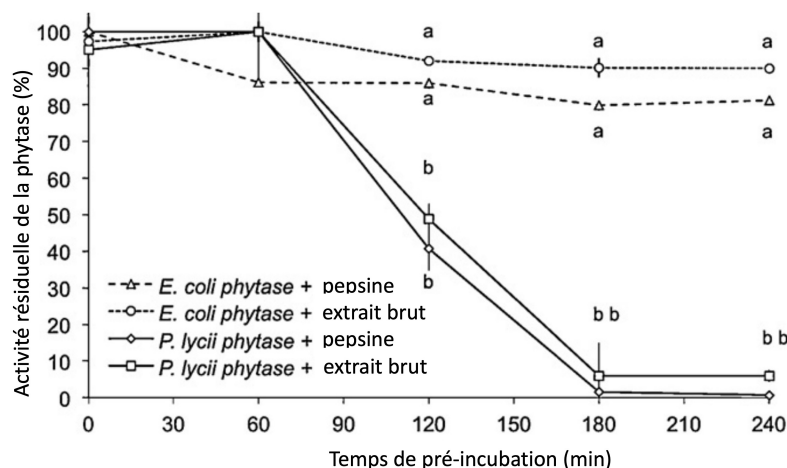


Figure 1.12 – Activité phytasique résiduelle de la phytase d'*Escherichia coli* et de *Peniophora lyclii* après hydrolyse par la pepsine ou un extrait brut d'estomac de truite selon le temps d'incubation (0, 60, 120, 180 and 240 min). L'incubation a été réalisée en ajoutant 1 FTU de phytase à une solution de protéase avec 5000 U de pepsine porcine ou d'extrait brut gastrique de poisson, réalisée à pH 2,0 (HCl) ; 16°C. Les résultats sont représentés sous forme de moyenne $\pm$ SE (triplicatas). Des lettres différentes, pour chaque temps, indiquent des différences significatives ($P < 0.05$) entre les phytases (Morales *et al.*, 2011)

tates de 50% à un pH donné (Maenz *et al.*, 1999). Plus la quantité est faible, plus l'inhibition est importante. Sur cette base, le classement suivant a été établi (Maenz *et al.*, 1999) : à pH 6 : $\text{Fe}^{2+} > \text{Zn}^{2+} = \text{Fe}^{3+} > \text{Mn}^{2+} \gg \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ à pH 5 : $\text{Fe}^{3+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Zn}^{2+} \gg \text{Mn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} \gg \text{Mg}^{2+}$, représentatifs du pH intestinal chez le porc. Ce pouvoir inhibiteur représente les affinités des minéraux pour l'acide phytique mais aussi l'insolubilité des complexes formés. La réduction du pH à 4, qui correspond au pH stomacal, réduit fortement le pouvoir de tous les minéraux testés.

Le fer présente le plus fort potentiel d'inhibition, mais à notre connaissance, aucune étude de son effet sur l'efficacité de la phytase en alimentation animale n'a été publiée. En ce qui concerne le zinc et le cuivre, leur apport peut être élevé chez les porcelets avec des niveaux dits pharmacologiques (2500 ppm) lorsqu'ils sont utilisés comme facteur de croissance pour réduire la diarrhée. Le zinc a un fort pouvoir complexant, un seul cation zinc étant capable de se lier à deux molécules d'acide phytique (Champagne & Fisher, 1990). L'effet du zinc sur l'efficacité de la phytase a été étudié chez des porcs sevrés (6-20 kg). Avec 1000 et 3000 FTU dans l'alimentation, l'oxyde de zinc à 3000 mg/kg a diminué l'ATTD du calcium de respectivement 6% et 9% et l'ATTD du phosphore de 10% et 16% chez des porcs pesant 15-20 kg (Blavi *et al.*, 2017). Chez les jeunes porcs pesant de 7 à 13 kg, la libération de phosphore par la phytase était réduite de 30% lorsque la teneur en zinc de l'alimentation était de 1500 mg/kg (Augsburger *et al.*, 2004). L'effet du cuivre sur la phytase est moins clair. Les phytates de cuivre semblent être solubles à pH neutre (Champagne & Fisher, 1990), ce qui suggère l'absence d'effet. Une étude *in vitro* du cuivre à 62,5 mg/kg et à pH 5,5 suggère que la libération de phosphore par la phytase peut diminuer de 2 à 30% selon la source du cuivre (Pang & Applegate, 2006). À 500 mg/kg, les diminutions variaient de 5 à 75%. À pH 6,5, les diminutions étaient encore plus marquées, mais elles étaient presque inexistantes à pH 2,5. L'explication la plus probable à ces observations serait la formation de complexes acide phytique-cuivre insolubles à un pH plus élevé, ce qui est préoccupant compte tenu du pH de l'intestin du porc (Pang & Applegate, 2006; Ren *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2021). Chez les porcs pesant de 6 à 22 kg, la digestibilité du phosphore était plus grande avec le cuivre chélaté par la méthionine qu'avec le sulfate de cuivre (Ren *et al.*, 2021). Le cuivre chélaté serait plus stable dans le tractus gastro-intestinal supérieur et moins disponible pour former des complexes avec l'acide phytique et permettrait ainsi une meilleure libération du phosphate absorbable (Pang & Applegate, 2006;

Richards *et al.*, 2010). Des tests de l'effet de la forme et de la concentration de zinc et de cuivre sur la digestibilité de calcium et de phosphore chez des porcs de 6 à 22 kg ont montré que la forme de cuivre n'avait aucun effet, alors que la forme de zinc en avait (Ren *et al.*, 2020).

Le calcium est classé comme moins inhibiteur mais il est incorporé dans les aliments à des concentrations beaucoup plus élevées que le zinc, le cuivre ou le fer. Par conséquent, le calcium forme une proportion importante de phytates insolubles, fréquemment avec le zinc (Cheryan & Rackis, 1980). Les phytases récentes ayant une plus grande affinité pour les IP₆ et IP₅, qui ont des affinités plus élevées pour le calcium, le rapport Ca:P libéré par les phytases de deuxième et troisième génération est d'environ 2 à 500 FTU/kg (Figure 1.13) et diminue à mesure que l'activité phytasique augmente (Adeola & Cowieson, 2011 ; Cowieson *et al.*, 2011 ; Walk, 2016).

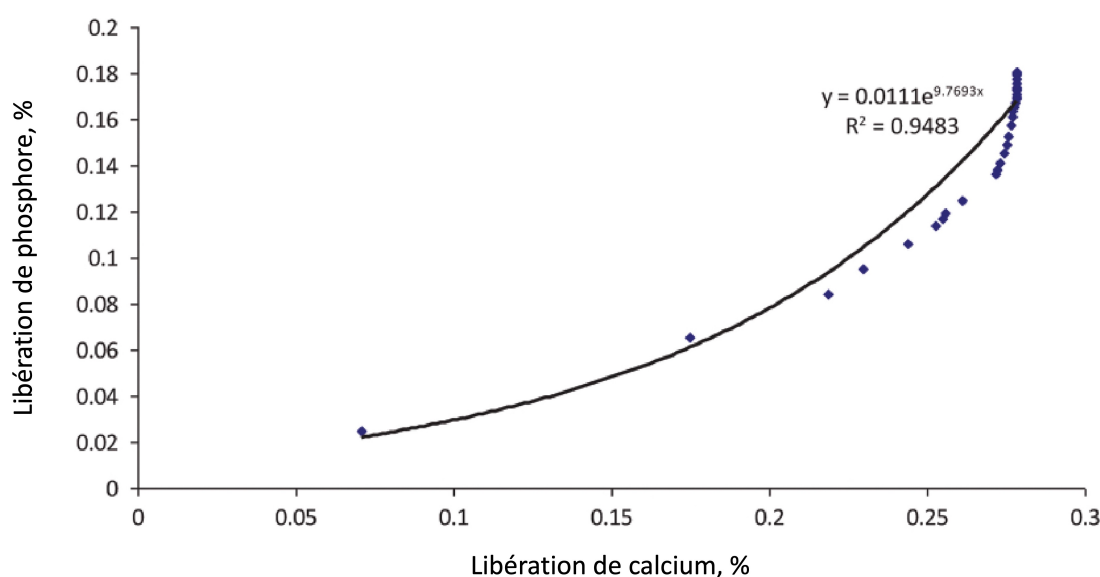


Figure 1.13 – Relation théorique entre la libération de phosphore à partir du phytate et la valeur de calcium associée montrant un effet extra phosphorique disproportionné avec la destruction initiale des esters supérieurs (Cowieson *et al.*, 2011)

Les niveaux de phytase pratiqués en élevage peuvent donc conduire à une augmentation du rapport Ca:P digestible. Des essais ont montré que l'efficacité de la phytase diminue lorsque le rapport Ca:P augmente dans l'alimentation (Lei *et al.*, 1994 ; Qian *et al.*, 1996 ; Liu *et al.*, 1998), mais sans comparaison avec des régimes sans phytase, ce qui ne permet pas de savoir si le calcium a un effet sur la phytase ou sur l'absorption du phosphore (Driver *et al.*, 2005). Lorsque le rapport entre le calcium et le phosphore total passe de 1,2 à 1,8, la croissance des porcs a été plus lente, indépendamment de la présence de phytase, ce qui suggère un effet spécifique dû au calcium plutôt qu'une influence sur l'efficacité de la phytase à libérer le phosphore (Adeola *et al.*, 2006). Dans des essais menés avec du phosphore au besoin, la digestibilité du phosphore a légèrement diminué lorsque le rapport Ca:P augmentait de 1,2 à 1,9 mais était indifférente à la phytase (Létourneau-Montminy *et al.*, 2010). De plus, l'excrétion urinaire de phosphore était 5 fois plus élevée à un ratio Ca:P de 1,2, en raison du manque de calcium pour le dépôt de phosphore dans les os. Aussi, aucun effet du calcium sur l'efficacité de la phytase n'a été constaté lorsque les animaux étaient nourris au-delà des besoins en phosphore (Wu *et al.*, 2018). Un ratio Ca:P élevé ne semble donc pas avoir d'effet direct sur l'efficacité de la phytase à libérer le phosphore mais plutôt sur l'absorption et la rétention du phosphore, pouvant aller jusqu'à provoquer une carence en phosphore et finalement une moins bonne croissance indépendamment de la présence de phytase (Selle & Ravindran, 2008 ; Létourneau-Montminy *et al.*, 2010).

1.3.3 Stratégie de déplétion réplétion

Les animaux peuvent surmonter certaines carences minérales en améliorant l'absorption et l'efficacité de l'utilisation de ces minéraux (Underwood & Mertz, 1987). Chez plusieurs espèces, la restriction alimentaire en calcium et en phosphore entraîne une augmentation de l'absorption intestinale, de la réabsorption rénale, ainsi que du dépôt et de la mobilisation dans le tissu osseux (Suttle, 2010). Les effets de la restriction alimentaire en calcium et des processus de récupération sur le métabolisme osseux ont été étudiés il y a plusieurs décennies chez le rat (Stauffer *et al.*, 1972, 1973; Drivdahl *et al.*, 1984) et chez l'homme (Åkesson *et al.*, 1998). Les résultats suggèrent que l'os a des moyens de reconstituer les pertes dues à l'utilisation des réserves minérales, et que la PTH et la vitamine D jouent un rôle dans ces mécanismes. L'accrétion osseuse, l'absorption intestinale et la réabsorption rénale des minéraux sont sous régulation hormonale.

La stratégie de déplétion-réplétion des apports en calcium est déjà utilisée pour préparer les vaches laitières à une forte demande en calcium en début de lactation (Goff, 2006) et prévenir la fièvre du lait. En donnant une ration carencée en calcium pendant quelques semaines avant le début de la lactation, les mécanismes régulateurs qui maintiennent les niveaux de calcium dans le sang (augmentation de l'absorption intestinale et de la réabsorption rénale) sont activés (Friggens *et al.*, 2004; Goff, 2006). Quelques jours avant le vêlage, lorsque la demande en calcium devient très élevée, les vaches reçoivent alors plus de calcium (Friggens *et al.*, 2004), et le déficit entre le besoin et le calcium absorbé est plus faible grâce à l'effet du priming sur la PTH. L'animal est également mieux préparé à puiser dans le calcium osseux en cas de besoin pour maintenir les niveaux de calcium sanguin et prévenir ainsi la fièvre vitulaire. Des mécanismes de régulation assez similaires permettent de maintenir les niveaux de phosphore, et ceux-ci peuvent être exploités pour augmenter l'utilisation du phosphore alimentaire chez les animaux en croissance et donc la durabilité des exploitations d'élevage du point de vue environnemental. L'idée sous-jacente à la stratégie de déplétion-réplétion est donc de déclencher des mécanismes de régulation pendant la phase de déplétion afin d'induire une augmentation de l'efficacité de l'utilisation du phosphore sans affecter les performances de croissance (Suttle, 2010). Dans le cas du phosphore et du calcium, le contenu minéral du corps ou d'un os spécifique est surveillé par absorptiométrie à rayons X (DXA, Kasper *et al.*, 2020). Pendant la déplétion chez les porcs en croissance, la quantité minérale osseuse du corps continue d'augmenter, mais l'accrétion osseuse est réduite par rapport aux porcs témoins, ce qui entraîne une réduction de la teneur minérale osseuse.

Lorsque l'apport en phosphore est intentionnellement inférieur aux besoins estimés des animaux, le niveau de calcium est généralement diminué en même temps afin d'éviter les effets délétères d'un rapport Ca:P digestible élevé sur l'absorption du phosphore. Lorsque les animaux ainsi préparés sont nourris avec le régime de réplétion, qui fournit du phosphore au moins au niveau des besoins, le déficit est comblé. Cela permet une réduction globale de l'apport en phosphore alimentaire pendant la phase d'élevage. Des études de déplétion-réplétion chez des animaux en croissance comme les porcs (Varley *et al.*, 2011; Létourneau-Montminy *et al.*, 2014; Gonzalo *et al.*, 2018) et les poulets (Yan *et al.*, 2005; Ashwell & Angel, 2010; Rousseau *et al.*, 2016; Valable *et al.*, 2018; Valable *et al.*, 2020) ont permis d'augmenter efficacement l'utilisation du phosphore et de limiter son excrétion sans compromettre le bien-être et les performances des animaux. Certains auteurs (Aiyangar *et al.*, 2010; Ryan *et al.*, 2011) ont mis l'accent sur l'amélioration de la santé osseuse et ont permis de mieux comprendre les effets délétères d'un court déficit en calcium alimentaire pendant la croissance sur la minéralisation osseuse à long terme. Les principaux essais réalisés chez le porc sont résumés dans le tableau 1.3.

Dans des conditions de carence, la régulation du calcium fait appel à la PTH, qui est une hormone hypercalcémique qui augmente l'utilisation du calcium alimentaire, mais avec un effet hypophosphorémique concomitant dû à l'excrétion rénale du phosphore (Nussey & Whitehead, 2001). La carence en calcium doit donc être évitée. Chez les porcs en croissance, la PTH réduit l'expression des gènes liés à la réabsorption du phosphore dans le rein, favorisant l'excrétion du phosphore dans l'urine (Gonzalo, 2017). Une déplétion en phosphore de l'ordre de 30 à 40% et légèrement

inférieure pour le calcium induit une déminéralisation du même ordre dans le corps entier et les vertèbres, mesurée par DXA (Tableau 1.3). L'essai de Aiyangar *et al.* (2010) montre une déminéralisation plus importante avec une carence en calcium plus élevée. Le métacarpe semble moins déminéraliser (5-10%) que le corps entier ou les vertèbres (Varley *et al.*, 2011) alors que le fémur réagit comme le corps entier. L'appauvrissement des réserves osseuses mesuré dépend donc principalement du degré d'appauvrissement alimentaire et de la région osseuse étudiée.

Plusieurs études ont montré que cette stratégie fonctionne et augmente les gains de CMO et l'utilisation du phosphore digestible lorsque les animaux sont nourris avec un régime de réplétion (au niveau des besoins ou plus). Le gain de CMO dans les vertèbres L2 à L4 chez les animaux déplétés a dépassé celui des porcs témoins non déplétés de 56% au cours d'une première phase de réplétion de 28 jours et de 15% au cours d'une seconde réplétion de même durée (Létourneau-Montminy *et al.*, 2014) et de 29% après une réplétion de 28 jours et de 11% après une réplétion de 56 jours dans une autre étude (Figure 1.14, Gonzalo *et al.*, 2018). Les augmentations correspondantes de l'utilisation du phosphore digestible calculée comme le dépôt par rapport à l'apport étaient de 20-50% avec une récupération du déficit osseux en 28 à 56 jours pour le corps entier et en 28 jours pour les vertèbres. Le délai plus court pour les vertèbres pourrait être dû à leur pourcentage élevé de tissu trabéculaire, qui est plus sensible que le tissu cortical aux carences minérales (Schanler *et al.*, 1991). De plus, chez le porc, la minéralisation osseuse est plus rapide dans le tronc de 3 à 30 kg de poids vif que dans les autres parties du squelette (Mitchell *et al.*, 2001a). En revanche, le régime de réplétion n'a pas permis de restaurer la minéralisation osseuse dans au moins deux études porcines (Aiyangar *et al.*, 2010; Ryan *et al.*, 2011).

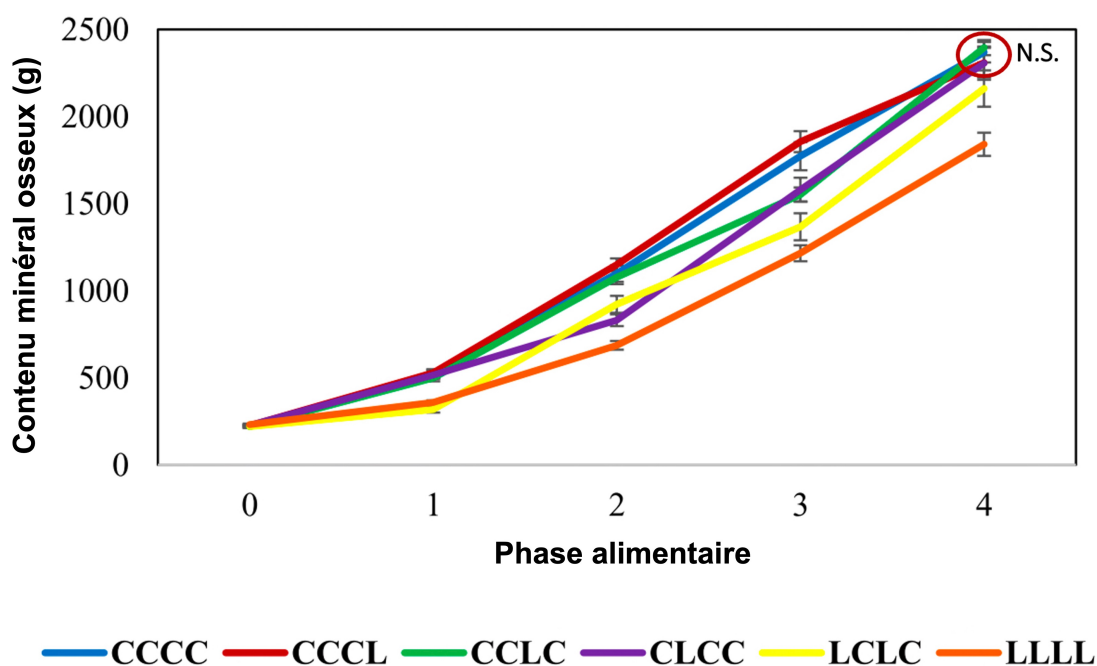


Figure 1.14 – Contenu minéral osseux de porcs en croissance nourris avec des régimes de déplétion-réplétion (Gonzalo, 2017), C : phase d'alimentation de 28 jours avec l'aliment contrôle, au besoin en phosphore et calcium, L : phase d'alimentation de 28 jours avec l'aliment déplété en phosphore et calcium

Des régulations phosphocalciques se produisent dans l'intestin, les reins et les os (Schröder *et al.*, 1996; González-Vega & Stein, 2014). L'absorption de calcium peut augmenter de 27% lors d'une réplétion, par rapport à des animaux témoins (Létourneau-Montminy *et al.*, 2014). L'OC, dérivée de l'os nouvellement synthétisé et donc un indicateur de l'activité ostéoblastique et d'une accréation osseuse accrue (Allen, 2003), augmente pendant la phase de réplétion (Varley *et al.*, 2011). Les

mécanismes physiologiques sous-jacents, qui stimulent les réponses des animaux à la stratégie de déplétion-replétion restent mal compris. Il semble néanmoins qu'il soit possible d'obtenir une minéralisation osseuse et des performances de croissance adéquates en diminuant l'apport et l'excrétion de phosphore grâce à une meilleure efficacité d'utilisation de ce dernier.

Table 1.3 – Effet de la stratégie de déplétion-réplétion des apports en phosphore et/ou calcium sur la minéralisation osseuse des porcs en croissance

Article ^a	Mesure	Phase	Période de déplétion										Période de réplétion									
			Séquence ^b	PV, kg	p-value ^c	Jours ^d	P, % ^e	Ca, % ^e	Os ^f	p-value ^c	Accrétion osseuse ^g	p-value ^c	Séquence ^b	Jours ^d	PV, kg	p-value ^c	Os ^f	p-value ^c	Accrétion osseuse ^g	p-value ^c		
1	CMO corps entier (DXA)	1	L	34	ns	28	-31	-39	-34	<0,001	-62	<0,001	LC	28	64	0,03	-17	<0,001	+2	ns		
		2	CL	67		28	-42	-22	-25		-48											
			LL	66	ns	56	-42	-22	-25	<0,001	-45	<0,001	CLC	28	100	ns	-13	0,006	+8	ns		
		3	CCL	102	ns	28	-34	-13	-14	0,002	-31	<0,001										
2	CMO des vertèbres L2 à L4		LLL	100		84	-34	-13	-33		-23		CLCC	56	129		-3		+11	<0,001		
		4										28		134	ns	+1	ns	+29	<0,001			
		1	Low	46	ns	28	-40	-30	-29	<0,001	-53	<0,001	Low-Con	28	70	<0,01	-9	0,007	+17	0,005		
		2	Con-Low	72		28	-40	-46	-24		-36	<0,001										
3	Cendres des 3 ^{ème} et 4 ^{ème} métacarpes		Low-Low	77	ns	56	-40	-46	-30	<0,001	-18		Low-Con-Con	56	99		-1		+15	<0,001		
		3	Con-Con-Low	104		28	-40	-33	-2		+1			28	103	ns	-7	ns	+56	<0,001		
			Con-Low-Low	101		56	-40	-33	-16		0		LH	72	99	ns	-1	ns				
		1	Low-Low-Low	106	ns	84	-40	-33	-18	<0,001												
4	CMO corps entier (DXA)	1	L	48	<0,001	59	-47	-29	-9	<0,05	-60	<0,01	DD- HCaPhyt+	25	21		1					
		2	LL	91	<0,05	131	-45	-30	-7	<0,05	-59	<0,01										
			HL	100	ns	72	-45	-30	-1	ns			LH	72	99	ns	-1	ns				
		1	L			28		-54	-66	<0,01												
5	Cendres du fémur	2	LL			71		-54	-62	<0,01	-60	<0,01	DD- HCaPhyt+	25	21		1					
			HL			43		-54	-62	<0,01	-59	<0,01										
		1	DD-	12	ns	10	-60	-53	-19	<0,01			DD- HCaPhyt+	25	21		1					
		2	DD+ HCaPhyt-	21		25	-32	0	-10													

^a Article 1 : Gonzalo *et al.* (2018), article 2 : Létourneau-Montminy *et al.* (2014), article 3 : Varley *et al.* (2011), article 4 : Aiyangar *et al.* (2010), article 5 : Létourneau-Montminy *et al.* (2010) ^b Séquences de déplétion et réplétion, nommées comme dans les articles ^c p-value de l'analyse statistique pour la variable de la colonne précédente entre le groupe témoin et le groupe étudié ^d Durée de la déplétion ou de la réplétion ^e Déplétion en phosphore ou calcium ^f Différence de l'état de l'os (selon la mesure de l'étude) à la fin de la phase entre le groupe témoin et le groupe étudié ^g Différence de l'accrétion osseuse entre le groupe témoin et le groupe étudié

1.3.4 Efficacité des stratégies de mitigation : comparaison et perspectives

L'atténuation de l'empreinte environnementale du phosphore dans la production porcine se réfère à la fois à l'optimisation de l'utilisation des phosphates, qui sont une ressource non renouvelable, qui doit être extraite et transportée, et à la minimisation de son excrétion, en particulier dans les régions à forte densité de production. Certaines stratégies d'atténuation ont été proposées dans les sections précédentes.

Le potentiel de diminution de l'excrétion de phosphore avec la phytase est bien connu (Selle & Ravindran, 2008). En fait, son potentiel dépend principalement d'une matrice nutritionnelle précise. Tout d'abord, une estimation et une utilisation précises de la matrice phosphore sont cruciales. La matrice calcium a récemment été montrée comme étant d'une grande importance car d'une part, un excès de calcium soluble peut diminuer la digestibilité du phosphore (Adeola *et al.*, 2006) et d'autre part, en cas de carence en calcium, le phosphore n'est pas retenu et est excrété dans l'urine (Létourneau-Montminy *et al.*, 2010). Un essai récent avec des phytases microbiennes (500 FTU), Lagos *et al.* (2021) a montré une baisse de 37% de l'excrétion totale de phosphore, et une réduction de 6,1 g/kg de l'apport en phosphate monocalcique, pour des porcs de 60 kg de poids vif. Par ailleurs, Almeida et Stein (2010) ont montré que l'excrétion totale de phosphore diminue jusqu'à 51% avec 685 FTU à 15 kg de poids vif, et que l'apport de phosphate monocalcique est réduit jusqu'à 8 g/kg.

La stratégie de déplétion-réplétion a également conduit à une diminution de l'apport de phosphate et de l'excrétion de phosphore. Dans l'essai de Gonzalo *et al.* (2018), une période de déplétion de 28 jours entraîne une diminution de l'apport en phosphore de 8 à 12%, et 2 périodes de déplétion distinctes de 28 jours (LCLC, C étant une phase de 28 jours d'alimentation avec l'aliment contrôle) entraînent une réduction de 12% de l'apport en phosphore. L'excrétion de phosphore dans les groupes CLCC, CCLC et LCLC a diminué respectivement de 15, 13 et 16%, par rapport au témoin. La diminution de l'excrétion de phosphore était plus importante que la diminution de l'apport en phosphore grâce à une meilleure utilisation du phosphore pendant les périodes de déplétion et de réplétion. Avec une collecte totale de phosphore dans les fèces et les urines, Létourneau-Montminy *et al.* (2014), ont montré qu'une déplétion de 56 jours peut conduire à une diminution de l'excrétion de phosphore de 19% avec une diminution de l'apport de phosphore de 23%. Comme vu précédemment, peu d'auteurs ont testé des stratégies de déplétion-réplétion sur des porcs en croissance et les résultats sont contrastés en termes de compensation de la minéralisation osseuse (Gonzalo, 2017). Il manque encore des données pour définir précisément une stratégie idéale de déplétion-réplétion (durée, âge, intensité de la déplétion). L'étude des mécanismes sous-jacents, comme les régulations hormonales, aidera certainement à atteindre cet objectif et à pouvoir appliquer cette stratégie en ferme. Néanmoins, une réduction de 15 à 20% de l'utilisation du phosphate et de l'excrétion de phosphore peut être obtenue avec la stratégie de déplétion-réplétion.

Dans une simulation, Pomar *et al.* (2009) ont montré que l'alimentation de précision, une stratégie en cours de développement, qui permet de nourrir les porcs avec des régimes adaptés quotidiennement à leurs besoins individuels en nutriments, pourrait réduire de 38% l'excrétion de phosphore. Une étude récente a comparé l'excrétion de phosphore chez les porcs sous alimentation conventionnelle ou de précision (Andretta *et al.*, 2014). Le système d'alimentation individuelle et quotidienne (basé sur l'estimation des besoins en lysine) a conduit à une diminution de 27% de l'excrétion de phosphore par rapport au système d'alimentation en phase de groupe. Dans cet essai, la phytase a été utilisée mais n'a pas été comparée à un contrôle sans phytase. La combinaison d'une alimentation de précision avec phytase et d'une stratégie de déplétion-réplétion n'a pas encore été testée. La combinaison de ces 3 méthodes semble être une stratégie prometteuse qui pourrait conduire à une plus grande réduction de l'excrétion de phosphore.

Éléments clés

L'ajout de phytase est une méthode déjà très utilisée pour réduire les excréments de phosphore en élevage de porcs. La stratégie de déplétion-réplétion, consiste à apporter du phosphore et éventuellement du calcium en dessous le besoin lors d'une phase de déplétion, puis d'apporter ces minéraux au besoin lors de la réplétion. Cette stratégie induit des régulations du métabolisme phosphocalcique et semble très prometteuse mais n'est pas encore bien maîtrisée. L'alimentation de précision, déjà reconnue pour réduire les excréments d'azote, pourrait aussi jouer un rôle dans les excréments de phosphore.

Chapitre 2

Question de recherche

Dans les matières premières utilisées pour l'alimentation des porcs, le phosphore se présente le plus souvent sous forme phytique et est très peu disponible pour les porcs. Des phosphates minéraux sont donc utilisés pour couvrir leurs besoins. Inversement, l'excès de phosphore apporté aux porcs par leur alimentation engendre une augmentation des coûts de production à travers l'achat de ces phosphates et le traitement des effluents d'élevage dans certains contextes. Le phosphore peut ainsi causer des problèmes environnementaux tels que l'eutrophisation dans les cours d'eau et l'apparition d'algues vertes dans certaines régions à forte densité animale (Gourmelen & Rieu, 2006; Dourmad *et al.*, 2020). À l'inverse, une carence en phosphore peut induire une diminution de la minéralisation osseuse et entraîner un risque de fractures plus élevé, particulièrement chez les porcs à forte croissance (Gutzwiller *et al.*, 2007; Teixeira *et al.*, 2016). Par ailleurs, du fait de l'étroite relation entre les métabolismes du phosphore et du calcium, leurs apports alimentaires doivent être établis simultanément. Ainsi, un apport alimentaire trop élevé en calcium par rapport à celui en phosphore est responsable de la formation de complexes Ca-P indigestibles qui sont ensuite excrétés dans les fèces. En revanche, lorsque l'apport alimentaire en calcium est trop faible par rapport à celui en phosphore, ce dernier n'est pas déposé dans les os et est finalement excrété par voie urinaire (Létourneau-Montminy *et al.*, 2010). Dans les deux cas, l'efficacité d'utilisation du phosphore est diminuée, conduisant à une réduction de la minéralisation osseuse et une augmentation des rejets de phosphore. Il est donc nécessaire de définir les facteurs alimentaires conditionnant l'utilisation du phosphore et du calcium, et de déterminer de façon précise les variations des besoins nutritionnels de ces deux éléments chez le porc en croissance.

Chez le porc en croissance, les besoins en phosphore et calcium sont aujourd'hui estimés en fonction de la croissance des tissus mous, c'est à dire selon le gain moyen quotidien (Jondreville & Dourmad, 2005), le dépôt de protéine corporelle (NRC, 2012) ou selon le gain de poids vif vide (Bikker & Blok, 2017). De récents résultats de recherche ont montré que le dépôt de protéines corporelles augmente jusqu'à environ 60 kg de poids vif puis diminue au-delà, tandis que le dépôt de minéraux dans les os augmente linéairement de 25 à 120 kg de poids vif (Couture *et al.*, 2018). Ainsi, environ 70% du dépôt total de phosphore et 99% de celui en calcium sont indépendants du dépôt de protéines corporelles, puisqu'ils sont fixés dans les os selon une cinétique différente de celle suivie par le dépôt protéique (Crenshaw, 2001; Couture *et al.*, 2018). Afin d'améliorer les prédictions des besoins en phosphore et calcium chez le porc en croissance il serait donc pertinent de séparer le besoin pour l'os de celui pour les tissus mous. De plus, dans la majorité des approches citées précédemment, le besoin en calcium est obtenu en utilisant un ratio fixe avec le besoin en phosphore digestible (ratio Ca:P) allant de 2,15 (phosphore STTD, NRC, 2012) à 2,9 (phosphore ATTD, Jondreville & Dourmad, 2005). Dans les modèles cités, ce ratio reste constant pour toute la période de croissance des animaux, c'est à dire jusqu'à 140 kg de poids vif. Le ratio de dépôt de calcium et phosphore dans les os est en effet constant, car ils sont principalement déposés sous forme d'hydroxyapatite ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$). Cependant, la répartition du dépôt en calcium et du dépôt en phosphore sont différentes et la vitesse de dépôt de minéraux dans les os et

celle du dépôt de tissus mous n'est pas la même. Ces différences dans la répartition corporelle du phosphore et du calcium et dans la cinétique des dépôts protéiques et minéraux, suggèrent que les besoins en phosphore et calcium évoluent de façons différentes pendant la croissance de l'animal. De récents travaux de recherche en modélisation ont par ailleurs émis l'hypothèse que les apports alimentaires en calcium et phosphore devraient être formulés de manière indépendante au cours de la croissance des porcs (Létourneau-Montminy *et al.*, 2015; Bikker & Blok, 2017).

Selon les objectifs de production, les besoins en phosphore et en calcium sont calculés afin de prioriser la minéralisation osseuse, les performances de croissance (gain moyen quotidien et indice de consommation), ou la minimisation de l'excrétion de phosphore. Différents facteurs tels que la race, le sexe ou la vitesse de croissance peuvent également influencer les besoins nutritionnels des animaux en ces minéraux. La prédiction des besoins en phosphore et en calcium chez le porc en croissance nécessite donc à la fois une approche multicritère afin de répondre à plusieurs objectifs de production, et une approche multifactorielle pour considérer plusieurs facteurs ayant un effet sur les besoins en phosphore et calcium. Face à la dualité de ces approches, une analyse systémique peut permettre de maîtriser la complexité entre les différentes composantes du système étudié (interactions animal-aliment). Compte tenu des connaissances scientifiques actuelles, la modélisation mathématique mécaniste constitue un outil adapté pour mieux comprendre les processus mis en jeu dans le métabolisme phosphocalcique.

Nous avons choisi de développer un modèle mécaniste qui considère de manière indépendante le dépôt de minéraux dans les os et le dépôt de protéines ou de tissus mous. La construction d'un modèle mécaniste vise à représenter les tissus dans lesquels le phosphore et le calcium peuvent être déposés. La construction d'un tel modèle suppose de connaître la dynamique d'allométrie de croissance des tissus mous et de l'os. Ensuite, il est également nécessaire de connaître la composition chimique, notamment en phosphore et en calcium de chaque tissu (Figure 2.1). Si les croissances protéique et lipidique à l'échelle de l'animal sont bien connues, la composition en protéines et lipides tissu par tissu l'est moins. Les données sont encore plus rares pour le calcium et le phosphore. À notre connaissance, le dernier essai présentant une composition minérale tissu par tissu a été réalisé par Nielsen en 1973, chez des porcs de 90 kg de poids vif. Or, la sélection génétique a depuis modifié la composition chimique des porcs, mais ces modifications n'ont pas été étudiées tissu par tissu. Une ré-évaluation de la composition chimique des porcs actuels apparaît donc essentielle et sera proposée dans cette thèse pour développer notre modèle mécaniste.

Le modèle visera à estimer les besoins en phosphore et en calcium du porc lorsqu'il exprime pleinement son potentiel de minéralisation osseuse (Figure 2.1). Ceci permet d'éviter tout problème de boiteries ou fractures qui serait lié à l'alimentation en phosphore et calcium. Dans certains cas, les apports en phosphore permettant la maximisation de la minéralisation osseuse ont cependant un effet délétère sur les performances de croissance (Vier *et al.*, 2019b). Néanmoins, Langlois *et al.* (2016b) ont testé des apports en phosphore allant jusqu'à 140% du besoin NRC (2012) et Pomar *et al.* (2006) des apports allant jusqu'à 160% du besoin NRC (1998) et aucun effet sur les performances de croissance n'a été perçu. Il y aurait donc la possibilité de construire un modèle optimisant la minéralisation osseuse et les performances de croissance. Concernant les rejets, plus les apports en phosphore sont importants, plus les rejets le sont, il faudra donc s'intéresser ici à des solutions nutritionnelles pour augmenter l'efficacité d'utilisation du phosphore. L'estimation des besoins en calcium a aussi son importance, puisse qu'il faut suffisamment de calcium pour déposer un maximum de phosphore dans les os et ainsi limiter les excrétions en phosphore. Pour développer un tel modèle, la force motrice sera constituée par le dépôt de minéraux dans os. Cette force motrice sera représentée par une équation « charpente » du dépôt de minéraux, construite sur la base de données expérimentales obtenues sur des génotypes porcins récents.

Plusieurs solutions nutritionnelles permettent d'augmenter l'efficacité d'utilisation du phosphore chez les porcs en croissance. La plus connue est celle de l'utilisation des phytases, largement répandue sur le terrain (Selle & Ravindran, 2008). Par ailleurs, des stratégies de déplétion-réplétion

ont également été étudiées récemment (Gonzalo *et al.*, 2018). Les séquences de déplétion-réplétion consistent en un apport de phosphore et éventuellement de calcium en dessous du besoin estimé de l'animal lors d'une période définie, suivie d'une phase de réplétion, durant laquelle l'animal est nourri au niveau de son besoin. Cette stratégie devrait initier des régulations hormonales chez les porcs pouvant favoriser l'efficacité d'utilisation du phosphore. L'utilisation du phosphore est ainsi améliorée au moment de la phase de déplétion mais aussi lors de celle de réplétion. Cependant, la déplétion-réplétion, bien que prometteuse, n'est pas une stratégie qui a fonctionné à chaque fois qu'elle a été testée (Gonzalo, 2017). Il est nécessaire de comprendre dans quelles situations cette stratégie réussit (Figure 2.1). De plus, les phytases de dernières générations encore peu étudiées, n'ont jamais été utilisées dans le cadre de telles séquences. Le modèle précédemment construit sera testé sur le terrain et challengé avec notamment des stratégies de déplétion-réplétion ou sans phosphate (avec phytase). Les réponses des animaux pourront être comparées avec les prédictions du modèle et être utilisées pour une validation externe du modèle.

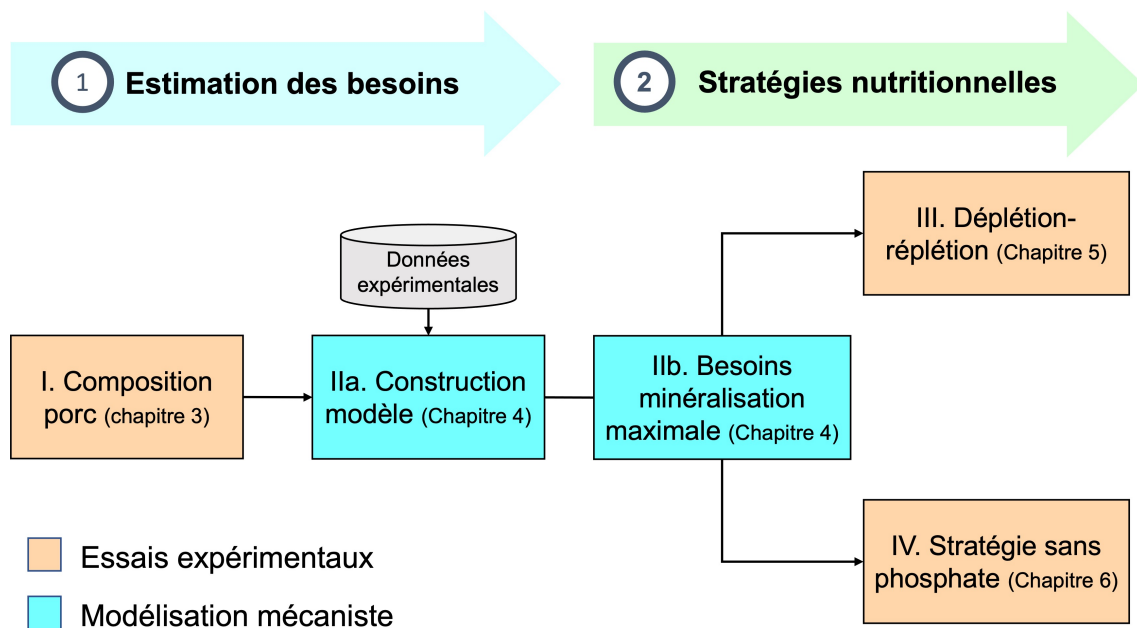


Figure 2.1 – Schéma de la démarche de thèse

Chapitre 3

Composition anatomique et chimique des porcs en croissance à différents poids vifs

Anatomical and chemical composition of growings pigs at different bodyweights

M. Lautrou^{1,2,3}, M. Marcoux², P. Schmidely³, C. Pomar², M.P. Létourneau-Montminy¹

¹Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC, G1V 0A6
Canada

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

³UMR Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA, AgroParis-Tech, Université Paris-Saclay, 75005 Paris, France

3.1 Résumé

Une mise à jour de la composition des tissus des porcs en calcium et phosphore était nécessaire afin de modéliser leurs besoins (Chapitre 4). En effet, les dernières données datent des années 70 et ont été récoltées uniquement chez des porcs de 90 kg. Or, il est possible que la sélection génétique ait modifié la composition chimique des porcs et il est également envisageable qu'elle change selon le poids vif de l'animal. La composition chimique de certains tissus a effectivement fortement changé, les muscles contiennent par exemple plus de protéine qu'avant et la composition des tissus en phosphore évolue selon le poids vif. La concentration en phosphore dans les muscles diminue avec le poids vif. Grâce à ces nouvelles informations, nous avons été en mesure d'affiner les besoins en nutriments des porcs en croissance actuels, en tenant compte des différences de composition chimique en fonction du poids vif.

3.2 Abstract

The last complete dissection trial with chemical composition of pigs was conducted in 70's. Since then, the genetic selection changes the pig growth and potentially his anatomical and chemical composition. Moreover, the last trial, presenting calcium (Ca) and phosphorus (P) concentrations in pig tissues was conducted in pigs at 90 kg of bodyweight, without assuming that composition could change with age or bodyweight. A dissection trial was thus conducted to determine the body composition of 30 pigs at 3 different bodyweights (24, 65 and 117 kg). The diet was supposed to satisfy or exceed all nutrients requirements. Pigs were slaughtered, scalded and de-haired and then divided into skin, nails and bristles, blood and viscera, fat, muscle and bones. Each fraction was analyzed for dry matter, protein, lipid, Ca and P. Data were analyzed using the OLS procedure of the Statsmodels package under Python 3, with the group and the sex and the interaction as fixed effects. Anatomical composition of pigs evolves with bodyweight and can be different among sexes. In fact, the parts of viscera and blood decrease with bodyweight, while the nails and bristles percentages increase. The percentage of subcutaneous fat on the carcass increases with bodyweight, the muscles part stays unchanged and the skin and bones parts decrease with bodyweight. The carcass of modern pigs are leaner than previously. Most of the soft tissues P and ashes are located in muscle. Moreover the muscle chemical composition evolved with bodyweight: the P concentration decreased with bodyweight. The proteins part decreased in viscera and subcutaneous fat as bodyweight increases ($P < 0.01$), increased in the skin and was fixed in muscles. The P concentration in dry matter of viscera was fixed with bodyweight, while it decreased in skin and muscles ($P < 0.05$). The composition also changed compared to previous trials. With this new information, we are able to refine the nutrient requirements of current growing pigs, considering differences in chemical composition according to bodyweight.

3.3 Introduction

The efficient use of phosphorus (P) remains a sustainability issue for the swine industry with the associated environmental risks and the limited resource of P in mineral form. The P excretions are a threat for the environment, because of the eutrophication. Therefore, it is necessary to adjust the P level in the diet of growing pigs to their requirements to limit the P excretions. For that, some models estimate the P requirements by pig but to ensure to have the most accurate estimate possible, it is crucial to know the chemical composition of pigs. The composition of pigs in lean and fat tissues, their kinetic of growth and their chemical composition in protein and lipid are well known, since it is the more valuable tissues in pigs. The mineral composition of pigs has not been studied as much.

To our knowledge, the last trial to studied the anatomical composition of growing pigs and the chemical composition of each tissues, was conducted by Nielsen (1973). In this trial the P and calcium (Ca) were quantify in each pig tissues but only at 90 kg of bodyweight. It is therefore impossible to know if the Ca and P compositions change with bodyweight. Moreover, the genetic selection towards lean carcasses have change the chemical composition of muscles in pigs (Brocks *et al.*, 2000). Therefore, it is necessarily to update regularly the anatomical and chemical composition of pigs, including minerals as P or Ca. Lately, Ruiz-Ascacibar *et al.* (2019b) presented the chemical composition of the empty body of females, castrated and entire males at different bodyweights (9, 20, 40, 60, 80, 100, 120 and 140 kg). They measured the mineral composition of pig carcasses but not for each tissues. In order to precisely define the P requirements by growing pigs, it was necessarily to know the mineral composition of each tissues by growing pigs. Thus, the objectives of this trial were to quantify and compare the anatomical and chemical composition of growing pigs at 25, 65 and 120 kg of bodyweight.

3.4 Material and methods

3.4.1 Experimental setup

A dissection trial was conducted at Sherbrooke Research and Development Centre of Agriculture and Agri-Food Canada and at Laval University. The pigs had free access to feed and fresh water and were cared for in accordance with the recommended code of practice (Agriculture and Agri-Food Canada, 2012) and the guidelines of the Canadian Council of Animal Care (2009). The body composition of 30 pigs ((Large White x Landrace)x Pietrain ; Fertilis 25 × G-Performer 8.0 ; Aliment Breton, St-Bernard, Quebec, Canada) from a commercial farm at 3 different bodyweights, namely 24, 65 and 117 kg of bodyweight in average was determined. Two sexes, female and males castrate, were represented in each group. The diet satisfied or exceed all nutrients requirements (NRC, 2012).

3.4.2 Dissections

The animals were slaughtered on a commercial slaughterhouse (Patrice Desmarais, Weedon, Quebec, Canada). The blood was collected immediately after slaughter for each pig separately, weighted and stored in closed buckets at -20°C. The carcasses passed in a scalding and dehairing machine in order to gather bristles and nails for each group of 10 pigs of the same weight. The bristles and nails were dried in open air during 48h, weighted, put in vacuum packages (one for bristles and one for the nails, for each group) before storage at -20°C. Then, the entrails were collected (heart, pancreas, lungs, liver, spleen, kidneys, reproductive and digestive tracts, glands, bladder) emptied from digestives contents or urine (stomach, intestines, bladder), cleaned with water, then, wiped to remove the water surplus, weighted and stored in closed buckets at -20°C. The hot carcasses weight (after evisceration and exsanguination) were noted. After the carcass was chilled for 24h at 4°C, the total carcasses of the 24 kg pigs, and the half-carcasses of the others and the head of each pigs were taken to Agriculture and Agrifood Canada for dissection. Before dissections, the carcasses and half carcasses were weighted to evaluate the water losses. The carcasses and half carcasses were standardized, that means that any entrails leftover were removed, weighted, put in vacuum packages at -20°C and add to the entrails. During the dissections, four tissues were totally separated and weighted: the meat (muscle and fat were not separated), the bones, the skin and the soft tissue of head (including the skin, ears, nose, eyes, brain, glands and meat). The soft tissues of head were stored in vacuum package at -20°C and added to the viscera pool for chemical analysis. Samples of meat were taken for further analysis. Samples of subcutaneous fat and muscles of different parts of the carcasses were also collected in order to determine the part of these components in the meat of the carcass (procedure detailed below). The skin of the carcasses (cut in small squares) were put in vacuum packages and stored at -20°C. The carcass and head bones were also stored in separate vacuum packages at -20°C. The loss of material due to the dissection is on average 523, 304 and 193 g or 0.5, 0.6 and 1.1%, in group of 24, 65 and 117 kg pigs, respectively.

The meat, subcutaneous fat and muscle were separately minced 3 times and mixed to homogenized all samples. A first analyses of dry matter, protein and lipid were performed on fresh tissue on fat, muscle and meat and then, a sample were stored in closed containers at -20°C. The skin was defrosting during a half hour, minced 3 times, hand mixed and a sample was stored in closed containers at -20°C. The blood, entrails and soft tissues of head were sawed frozen, minced together 3 times and hand mixed. A sample was stored in closed containers at -20°C. This sample was named viscera. The first stage of dissection lead to the following anatomical parts: blood, entrails, nails, bristles, carcass, head. The different stages of dissection lead to the following samples: meat, muscle, fat, viscera, bone.

3.4.3 Chemical analyses

The dry matter, protein and lipid content of the meat, muscle and fat tissue were analysed by near-infrared transmittance, on fresh minced material (FOSS FoodScan near-infrared spectrophotometer, AOAC 2007.04). The dry matter of skin and viscera were analyzed. The lipid and protein content of the skin and viscera were determined by soxhelt (AOAC 960.39) and kjeltec extraction (AOAC 990.03), respectively. For ash content samples were dried at 110 °C for 24h. Samples were then weighed, ashed in a muffle furnace 24h at 600 °C, and weighed again after ashing. The ashes were used to measure the Ca and P content by inductively-coupled plasma spectrometry.

3.4.4 Calculations

The dissection and measurements were performed on the half carcasses of the pigs of 117 and 65 kg groups and on the entire carcasses in the 24 kg group. The anatomical results will therefore be presented on relative basis (%) to make the comparison between group possible.

The subcutaneous fat and muscles were not separated. Nevertheless, the protein and lipid were analyzed in a subcutaneous fat, muscle and meat samples. These datas are sufficient to determine the part of subcutaneous fat and muscle in the meat according to Masoumi *et al.* (2021) method.

3.4.5 Statistical analyses

Data were analyzed using the OLS procedure of the Statsmodels package under Python 3, using the individual pig as the experimental unit. The anatomical and chemical datas were analyzed with the group and the sex as fixed effects and their interaction. Differences were considered significant when $P \leq 0.05$ and as a trend when $0.05 < P \leq 0.10$.

3.5 Results

3.5.1 Anatomical composition

There was no difference between sexes on the live, empty body and warm carcass weights (Table 3.1). The dressing percents were also the same for castrated males and females, but increased with bodyweight ($P < 0.001$) from 75.4% at 24 kg to 81.1% at 117 kg.

The interaction group per sex was not significant for any fraction of the carcass (Table 3.2). The proportion of entrails and blood decreases with bodyweight ($P < 0.01$) while the bristles and nails proportions increased with bodyweight ($P < 0.001$). The blood and entrails percentage in the EBW were higher in females ($P < 0.05$). The head represented a lesser proportion of the EBW with bodyweight increase ($P < 0.001$) with 5.5% at 24 kg and 4.4% at 117 kg. The proportion of soft tissues and bones did not change with bodyweight or sex.

The bodyweight did not affect the muscle proportion of the carcass (Table 3.3). The females had a greater proportion of muscle than the males ($P < 0.001$) with 65.1 and 61.9% of muscle, respectively. The proportion of subcutaneous fat increased with bodyweight passing from 13.8% at 24 kg to 20.6% at 117 kg ($P < 0.001$). The males have greater proportion of subcutaneous fat than females ($P < 0.001$). The difference between sex in subcutaneous fat proportion was higher at slaughter bodyweight ($P < 0.01$), with a difference of 6.2 percentage points between males and females at 117 kg in comparison to 1.0 and 2.4 at 65 and 24 kg of bodyweight, respectively. There was no difference between sexes for the skin and bones percentages. The proportion of skin and bones decreased with bodyweight (respectively +1.9 and +5.1 percentage points at 24 vs 117 kg ; $P < 0.001$).

Table 3.1 – Live, carcass and empty body weight in castrated male and female pigs of different body weights.

	24 kg		65 kg		117 kg		Statistics ^b			
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	SEM ^a	Group	Sex	Group x Sex
Live weight ^c , kg	24.3	23.6	65.8	63.3	116.5	118.3	2.47	***	0.33	0.28
EBW ^d , kg	23.1	22.4	62.5	60.2	110.7	112.4	2.34	***	0.33	0.28
Warm carcass ^e , kg	18.2	17.9	52.1	50.3	94.4	96.0	1.92	***	0.33	0.38
Dressing, %	74.9	75.9	79.1	79.5	81.0	81.2	0.55	***	0.80	0.49

^a SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

^b Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of Group, Sex and the interaction. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^c Calculated according to Quiniou and Noblet (1995).

^d EBW, empty body weight, without digestive tract fill.

^e Weight of the hot carcass, with the head.

Table 3.2 – Entrails, blood, bristles, nails and head as a proportion of empty body weight and soft tissue and bone as percentage of head weight in castrated male and female pigs of different body weights.

	24 kg		65 kg		117 kg		Statistics ^b			
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	SEM ^a	Group	Sex	Group x Sex
EBW ^c , kg	23.1	22.4	62.5	60.2	110.7	112.4	2.34	***	0.33	0.28
Entrails, %	16.9	15.6	13.3	12.8	12.1	11.2	0.39	***	*	0.46
Blood, %	4.3	4.3	3.3	3.3	2.5	3.2	0.36	**	*	0.29
Bristles, %	0.11	0.12	0.16	0.17	0.19	0.19	0.005	***	0.57	0.41
Nails, %	0.11	0.11	0.12	0.13	0.11	0.11	0.005	***	0.70	0.50
Head, %	5.7	5.2	4.7	4.5	4.4	4.3	0.15	***	0.59	0.19
Soft tissues ^d , %	61.9	59.8	61.9	61.7	63.2	61.6	2.77	0.54	0.36	0.77
Bones ^d , %	36.2	37.9	36.5	36.5	35.6	37.4	2.44	0.80	0.31	0.75

^a SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

^b Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of Group, Sex and the interaction. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^c EBW : empty body weight.

^d Percentage of the head.

Table 3.3 – Muscles, subcutaneous fat, skin, and bone as a proportion of carcass in castrated male and female pigs of different body weights

	24 kg		65 kg		117 kg		Statistics ^b			
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	SEM ^a	Group	Sex	Group x Sex
Carcass ^c , kg	16.3	16.1	48.4	47.9	86.1	88.0	1.77	***	0.23	0.51
Muscle, %	62.0	65.1	62.2	64.1	61.5	66.1	1.02	0.25	***	0.20
Subcutaneous fat, %	15.0	12.6	19.8	18.8	23.7	17.5	0.90	***	***	**
Skin, %	6.1	5.6	4.7	4.5	3.9	4.0	0.22	***	0.63	0.15
Bones, %	16.1	15.5	12.7	12.1	10.4	11.0	0.38	***	0.22	0.14

^a SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

^b Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of Group, Sex and the interaction. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^c Carcass weight for the 24 kg group, twice of the half carcass for the 65 and 117 kg groups.

3.5.2 Chemical composition

The dry matter of viscera increased with bodyweight ($P < 0.001$) and was greater in males ($P < 0.001$) and the difference with females increased with bodyweight ($P < 0.01$; Table 3.4) with 0.1, 1.1 and 5.5 percentage points at 24, 65 and 117 kg, respectively. The protein percentage (in dry matter) decreased with bodyweight ($P < 0.001$) and was greater in females ($P < 0.001$). The difference between males and females increases with bodyweight ($P < 0.01$) passing from 1.6 percentage point at 24 kg to 10.1 percentage points at 117 kg. The lipid percentage was greater in males ($P < 0.001$), increased with bodyweight ($P < 0.001$) and as for the protein, the difference between sexes increased with bodyweight (from 1.7 to 13.6 percentage points at 24 and 117 kg, respectively; $P < 0.01$). The percentage of ash in the dry matter of viscera decreased with bodyweight ($P < 0.001$) and was higher in females ($P < 0.01$).

The sex had no effect on chemical composition of the skin. The dry matter of the skin increased with bodyweight with 44.2% at 24 kg, 48.7% at 65 kg and 53.0% at 117 kg ($P < 0.01$). The percentage of protein in dry matter increased with bodyweight from 56.7% at 25 kg to 68.1% at 120 kg ($P < 0.001$). The lipid and ash percentages decreased with bodyweight ($P < 0.01$). The lipid percentage in dry matter decreased from 46.6% at 25 kg to 37.7% at 120 kg, while the ash percentage decreased from 1.4% to 0.8%.

The dry matter content in subcutaneous fat increased with bodyweight ($P < 0.001$) and was higher in males ($P < 0.05$). The sex had no effect on the protein percentage in dry matter of subcutaneous fat. This percentage decreased with bodyweight ($P < 0.001$) with 11.5% at 24 kg, 5.0% at 65 kg and 3.9% at 117 kg regardless of sex. The lipid percentage in dry matter also increased with bodyweight ($P < 0.001$), but was higher in females ($P < 0.05$).

The dry matter concentration in the muscle increased with bodyweight ($P < 0.001$) from 23.4% at 24 kg to 26.3% at 117 kg. The sex had no effect. The protein percentage in dry matter of muscles was greater in females than in males ($P < 0.05$) with 88.2% vs 86.2%, respectively. On the contrary, the lipid concentration was greater in males than females ($P < 0.01$) with 8.3 vs 6.3%, respectively. The bodyweight had no effect on both lipid and protein concentration in muscle dry matter. The sex had no effect on the ash percentage that decreased from 5.2 to 4.5% from 24 to 117 kg ($P < 0.001$).

Table 3.4 – Percentage of protein, lipid, and ash of viscera, skin, subcutaneous fat, and muscle in castrated male and female pigs of different body weights

	24 kg		65 kg		117 kg		Statistics ^b			
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	SEM ^a	Group	Sex	Group x Sex
Viscera										
Dry matter, %	24.5	24.4	31.4	30.3	38.5	33.0	0.87	***	***	**
Protein ^c , %	60.3	61.9	46.3	48.4	34.2	44.3	1.68	***	***	**
Lipid ^c , %	30.8	29.1	48.5	45.8	61.8	48.2	2.64	***	***	**
Ash ^c , %	3.9	4.0	2.6	2.6	1.9	2.4	0.20	***	**	0.11
Skin										
Dry matter, %	42.8	45.5	48.6	48.8	53.3	52.7	1.70	**	0.75	0.43
Protein ^c , %	57.6	55.7	59.2	57.7	66.2	69.9	3.31	***	0.25	0.39
Lipid ^c , %	46.1	47.0	46.0	46.3	39.6	35.7	3.13	**	0.26	0.57
Ash ^c , %	1.4	1.3	1.0	1.0	0.8	0.8	0.08	***	0.96	0.18
Subcutaneous fat										
Dry matter, %	70.9	70.7	82.9	82.9	86.3	82.6	1.50	***	*	0.15
Protein ^c , %	11.7	11.2	5.0	4.9	3.4	4.3	0.81	***	0.16	0.31
Lipid ^c , %	85.7	86.1	92.8	93.2	96.4	94.2	0.91	***	*	0.11
Muscle										
Dry matter, %	23.3	23.5	25.0	25.2	26.5	26.1	0.21	***	0.07	0.10
Protein ^c , %	87.7	89.1	86.3	88.2	84.6	87.2	1.11	0.23	*	0.71
Lipid ^c , %	6.4	5.5	8.2	6.1	10.4	7.4	0.94	0.15	**	0.29
Ash ^c , %	5.2	5.2	4.6	4.4	4.5	4.4	0.20	***	0.64	0.71

^a SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

^b Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of Group, Sex and the interaction. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^c In dry matter.

Table 3.5 – Percentage of phosphorus and calcium in the dry matter of viscera, skin, and muscle in castrated male and female pigs of different body weights.

	24 kg		65 kg		117 kg		Statistics ^b			
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	SEM ^a	Group	Sex	Group x Sex
Viscera										
Phosphorus, %	0.497	0.406	0.266	0.439	0.261	0.287	0.1310	0.52	0.83	0.35
Calcium, %	0.055	0.037	0.039	0.057	0.040	0.047	0.0157	0.53	0.63	0.27
Skin										
Phosphorus, %	0.181	0.294	0.219	0.136	0.146	0.111	0.0609	*	0.56	0.08
Calcium, %	0.032	0.022	0.029	0.033	0.027	0.033	0.0061	0.06	0.21	0.06
Muscle										
Phosphorus, %	0.932	0.954	0.844	0.829	0.777	0.802	0.0307	***	0.42	0.61
Calcium, %	0.022	0.020	0.021	0.020	0.017	0.017	0.0023	0.56	0.77	0.74

^a SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

^b Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of Group, Sex and the interaction. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

The bodyweight and the sex had no effect on the percentage of P and Ca in dry matter of viscera and were around 0.359 and 0.046%, respectively (Table 3.5). Sex and bodyweight had also no effect on Ca concentration of the skin (0.029%) and muscle (0.020%). The P concentration in dry matter of skin and muscle decreased with bodyweight ($P < 0.05$), but the sex had no effect.

3.5.3 Partitioning

Sex had no effect on the partitioning of the chemical components in the anatomical fractions (Table 3.6). The protein partitioning in the different tissues changed with bodyweight, except in skin (7.0%). The protein located in the viscera decreased with bodyweight ($P < 0.001$) from 24.3 at 24 kg to 15.7 at 117 kg. The muscles contained 61.5 to 74.1% of the body protein from 24 to 117 kg ($P < 0.001$), while the subcutaneous fat contained 6.0 to 3.0% of the body protein from 24 to 117 kg ($P < 0.001$).

The viscera contained 18.4% of the body lipid. The part of lipid located in the skin decreased with bodyweight ($P < 0.001$) from 9.4% at 24 kg to 3.6% at 117 kg. The part of lipid located in muscles was also stable (6.2%). The subcutaneous fat contained 63.9 to 71.5% in 25 and 120 kg bodyweight pig respectively ($P < 0.001$).

The ash located in viscera and skin decreased with bodyweight from 29.6 to 17.2% in the viscera and from 3.4 to 1.8% in the skin for 24 and 117 kg respectively ($P < 0.01$), while the part in the muscles increased from 67.0 to 80.3% with bodyweight ($P < 0.001$). The distribution of Ca in each tissue was not influenced by bodyweight. The skin contained a decreasing percentage of body P from 3.4% at 24 kg to 1.7% at 117 kg ($P < 0.05$). The partitioning of P in other tissues was constant.

3.6 Discussion

This study was performed mainly to update P and Ca body composition. Indeed, to our knowledge only one study (Nielsen, 1973) have measured the chemical composition in these mineral of each pig tissues. This study was performed on pigs only at 90 kg of bodyweight meaning that

Table 3.6 – Partitioning of protein, lipid, ash, calcium, and phosphorus in castrated male and female pigs of different body weights

	24 kg		65 kg		117 kg		Statistics ^b			
	Male	Female	Male	Female	Male	Female	SEM ^a	Group	Sex	Group x Sex
Protein										
Viscera, %	25.1	23.4	19.0	17.6	15.7	15.7	0.70	***	0.98	0.14
Skin, %	7.4	6.7	7.1	6.4	7.2	7.2	0.26	0.09	0.99	0.23
Muscles, %	61.5	65.2	69.8	72.1	73.4	74.1	1.14	***	0.52	0.12
Subcutaneous fat, %	6.0	4.8	4.2	3.9	3.7	3.0	0.64	***	0.08	0.20
Lipid										
Viscera, %	19.0	19.1	17.9	16.6	19.3	18.2	0.92	0.13	0.28	0.60
Skin, %	8.7	10.0	5.1	5.1	3.1	4.0	0.91	***	0.27	0.59
Muscles, %	6.6	7.0	6.0	4.9	6.1	6.7	0.69	0.08	0.49	0.33
Subcutaneous fat, %	65.7	63.9	71.0	73.3	71.5	71.1	1.55	***	0.85	0.30
Ash										
Viscera, %	29.6	27.5	21.9	20.4	17.8	18.2	1.57	***	0.78	0.41
Skin, %	3.4	2.8	2.4	2.4	1.9	1.8	0.32	**	0.79	0.10
Muscles, %	67.0	69.7	75.7	77.2	80.3	80.0	1.70	***	0.83	0.35
Calcium										
Viscera, %	52.4	42.1	39.6	50.8	49.2	43.6	9.44	0.78	0.62	0.41
Skin, %	10.2	8.6	10.7	9.3	8.8	10.5	2.28	0.78	0.52	0.62
Muscles, %	37.4	49.3	49.7	39.9	42.0	45.8	8.05	0.68	0.68	0.30
Phosphorus										
Viscera, %	22.6	16.4	11.8	18.8	14.8	12.5	5.07	0.57	0.66	0.23
Skin, %	2.6	4.1	3.1	1.8	2.0	1.4	1.01	*	0.53	0.09
Muscles, %	74.8	79.4	85.1	79.4	83.2	86.1	4.33	0.39	0.57	0.35

^a SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

^b Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of Group, Sex and the interaction. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

the author was not able to distinguish bodyweight effect on the anatomical and chemical composition of growing pigs. Moreover, this study was performed in 1973, but the genetic selection since that time changed the anatomical and chemical composition of animals (Brocks *et al.*, 2000; Ruiz-Ascacibar *et al.*, 2019a). The potential evolution of the mineral composition of each tissues was not studied, therefore there was a need to update these data. These data are important for the prediction of chemical element deposition in different tissues of growing pigs and improving growth model robustness. In fact these data are usefull to estimate the P and Ca requirements for the deposition in muscle and subcutaneous fat as in the model of Lautrou *et al.* (2020).

3.6.1 Anatomical composition of pigs

The bodyweight affected mainly the EBW and carcass composition, more than sexe. The percentage of entrails in EBW decreased with bodyweight and are close to the one found in the literature, from 11 to 17% depending on bodyweight (Nielsen, 1973; Jørgensen *et al.*, 1985; Quiniou & Noblet, 1995). As previously observed, the proportion of entrails decreases with bodyweight (Coudenys, 1998). The blood proportion decreased with bodyweight passing from 4.3 to 2.5 for males and 3.2 for females. The blood EBW proportion was higher in Nielsen (1973) (4.8 at 90 kg) and Jørgensen *et al.* (1985) (4.6 at 20 and 90 kg) than in the actual study and we have no explanation for this.

In the studies that have measured EBW muscle percentage, the pig carcasses had a percentage of muscle up to 15 percentage points lower than in our study at every bodyweight in older studies (Nielsen, 1973; Jørgensen *et al.*, 1985; Gu *et al.*, 1992; Bikker, 1994; Quiniou & Noblet, 1995) while in a recent study, the lean percentage of carcass was about 60-61% as in our study (Ruiz-Ascacibar *et al.*, 2019a). Besides, the fat percentage was higher in Jørgensen *et al.* (1985), Gu *et al.* (1992) and Bikker (1994) than in our study. The genetic selection to have leaner carcasses could probably be at the origin of these differences (Ruiz-Ascacibar *et al.*, 2019a). The bodyweight had no effect on the lean tissue proportion of the carcass as observed by Coudenys (1998), while the fat part increased with bodyweight. Gu *et al.* (1992) observed an increase of lean proportion and decrease of fat proportion in the carcass but it was relatively constant from 70 kg of bodyweight to slaughter. As expected, the carcasses of females have a greater proportion of lean tissues and a lesser proportion of subcutaneous fat than those of castrated males (Nielsen, 1973; Jørgensen *et al.*, 1985; Quiniou & Noblet, 1995). The percentage of bone in the carcass is in agreement with Gu *et al.* (1992) (from 11 to 16%, decreasing with bodyweight) and Quiniou and Noblet (1995) (10% at 56 kg of EBW). As previously observed, the bone percentage decreases with bodyweight (Jørgensen *et al.*, 1985; Gu *et al.*, 1992) and bone mass is the same in tested sexes (Quiniou & Noblet, 1995). The skin percentage in the carcass was in accordance with Quiniou and Noblet (1995) and Gu *et al.* (1992), slightly decreased with bodyweight as in Gu *et al.* (1992) and there was no difference between sexes (Quiniou & Noblet, 1995). Therefore, modern pigs are leaner compared to previous genetics and presents less subcutaneous fat. Moreover, the muscle proportion is constant and the subcutaneous fat proportion increases with bodyweight, while the bone percentage in EBW decreases. It could mean that with bodyweight increase, the pigs are more at risk for legs problems.

3.6.2 Chemical composition and partitioning

The chemical composition of the differents tissues and the partitioning of the chemical elements (dry matter, protein, lipid, ash) changes with bodyweight, but the sex has little effect. To our knowledge, the differences of chemical composition in soft tissues according to the bodyweight were never explored.

Most of the ashes and particularly of the P in soft tissues is located in the muscles (up to 86%), partly because the highest concentration of ashes and P is found in the muscles. The protein and P repartition in the different tissues are very close, certainly because most of the P is retained

in proteins. The dry matter in muscle found in this study is in accordance with Bee *et al.* (2008). The percentage of P in dry matter of muscle decreased from 0.943% at 24 kg to 0.790% at 117 kg, it was lower in the study of Nielsen (1973) with 0.586%. That means that the P concentration in dry matter of muscles increased from 35 to 61%, certainly because of the protein concentration increase up to 50% in modern pigs (Nielsen, 1973; Jørgensen *et al.*, 1985; Bikker, 1994; Lonergan *et al.*, 2001). The protein concentration in dry matter of muscles is in agreement with Bee *et al.* (2008). The genetic selection for rapid production of lean meat modified the histological and chemical composition of pigs muscles (Brocks *et al.*, 2000; Lonergan *et al.*, 2001). The muscle of pigs selected for lean growth (decrease backfat thickness) tends to contain more water, so less dry matter (Lonergan *et al.*, 2001). The protein concentration in dry matter of muscle is higher in selected pigs than others (+3 percentage points). In the present trial, the protein concentration was fixed with bodyweight but superior in females than castrated males as in Jørgensen *et al.* (1985). Surprisingly, the protein in dry matter of muscle is fixed but the P concentration decreases with bodyweight. The fiber composition of muscle changes with bodyweight by pigs (Choi & Oh, 2016) and the protein and phospholipids profile of the different muscular fiber are different (Listrat *et al.*, 2015; Murgia *et al.*, 2021). That can potentially conduct to different amount of P in each muscular fiber types as demonstrated in murine fibers (Kushmerick *et al.*, 1992).

Then, the second tissue containing most of the body P is the viscera. Because of methodological differences, the chemical composition of viscera is not comparable with other studies. But this comparison is not so crucial given that only 1% of the Ca is found in the soft tissues of pigs (Nielsen, 1973; Crenshaw, 2001; Suttle, 2010). For the P, 30 to 40% is found in soft tissues (Nielsen, 1973; Crenshaw, 2001) and about 16% of the soft tissue P is located in viscera. That means that only about 6% of the body P is found in viscera.

The skin contains 1.7 to 3.4% of the soft tissues P and the concentration of chemical element in the dry matter of skin (protein, lipides, ash, Ca and P) were very similar to the results in Nielsen *et al.* (2007).

Finally, there is few ashes in subcutaneous fat (0.3% in dry matter Nielsen, 1973), that is why it is difficult to analyse it. The dry matter in the subcutaneous fat was in agreement with Nielsen (1973) and (Bee *et al.*, 2008). The protein and lipid concentration in dry matter of the subcutaneous fat in our study is close to the results in Nielsen (1973). In our study, as observed in Jørgensen *et al.* (1985) the protein concentration in the subcutaneous fat decreases with bodyweight, while the lipid concentration increases. Nielsen (1973) observed a very low level of ashes in the subcutaneous fat.

3.7 Conclusion

This study provide rare data about the composition in Ca and P of different tissues in pig. It lead to the validation of the chemical composition of some tissues but also to point out some differences with older pigs genetics. Actually, the carcass of modern pigs are leaner and the chemical composition of dry matter of muscles is more concentrate in protein and P. These updated data can be used to modelling the physical and chemical composition of pigs (De Lange *et al.*, 2003) or used as parameters in mechanistic models to determine their requirements. With this new information, we are able to refine the nutrient requirements of current growing pigs, considering differences in chemical composition according to bodyweight.

References

- Bee, G., Jacot, S., Guex, G., & Biolley, C. (2008). Effects of two supplementation levels of linseed combined with CLA or tallow on meat quality traits and fatty acid profile of adipose and different muscle tissues in slaughter pigs. *Animal*, 2(5), 800–811. <https://doi.org/10.1017/S175173110800181X> (cit. on p. 56)

- Bikker, P. (1994). *Protein and lipid accretion in body components of growing pigs: Effects of body weight and nutrient intake* (Doctoral dissertation). (Cit. on pp. 55, 56).
- Brocks, L., Klont, R. E., Buist, W., De Greef, K., Tieman, M., & Engel, B. (2000). The effects of selection of pigs on growth rate vs leanness on histochemical characteristics of different muscles. *Journal of Animal Science*, 78(5), 1247–1254. <https://doi.org/10.2527/2000.7851247x> (cit. on pp. 47, 55, 56)
- Choi, Y. M., & Oh, H. K. (2016). Carcass performance, muscle fiber, meat quality, and sensory quality characteristics of crossbred pigs with different live weights. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36(3), 389–396. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.3.389> (cit. on p. 56)
- Coudenys, K. T. (1998). *The effect of body weight and energy intake on the physical and chemical body composition in growing-finishing pigs* (Doctoral dissertation). University of Guelph. (Cit. on p. 55).
- Crenshaw, T. D. (2001). Calcium, Phosphorus, Vitamin D, and Vitamin K in Swine Nutrition. In A. J. Lewis & L. L. Southern (Eds.), *Swine Nutrition, Second Edition* (CRC Press, pp. 187–212). New York. (Cit. on p. 56).
- De Lange, C., Morel, P., & Birkett, S. (2003). Modeling chemical and physical body composition of the growing pig. *Journal of Animal Science*, 81(14_suppl_2), E159–E165. https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E159x (cit. on p. 56)
- Gu, Y., Schinckel, A. P., & Martin, T. G. (1992). Growth, development, and carcass composition in five genotypes of swine. *Journal of animal science*, 70(6), 1719–1729. <https://doi.org/10.2527/1992.7061719x> (cit. on p. 55)
- Jørgensen, J. N., Fernández, J. A., Jørgensen, H. H., & Just, A. (1985). Anatomical and chemical composition of female pigs and barrows of Danish Landrace related to nutrition. *Zeitschrift für Tierphysiologie Tierernährung und Futtermittelkunde*, 54(1-5), 253–263. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1985.tb01539.x> (cit. on pp. 55, 56)
- Kushmerick, M. J., Moerland, T. S., & Wiseman, R. W. (1992). Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP, and Pi. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(16), 7521–7525. <https://doi.org/10.1073/pnas.89.16.7521> (cit. on p. 56)
- Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., Narcy, A., Schmidely, P., & Létourneau-Montminy, M. (2020). Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling. *Animal*, 14(S2), s313–s322. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001627> (cit. on p. 55)
- Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L., & Bugeon, J. (2015). Comment la structure et la composition du muscle déterminent la qualité des viandes ou chairs. *Productions Animales*, 28(2), 125–136. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2015.28.2.3020> (cit. on p. 56)
- Lonergan, S. M., Huff-Lonergan, E., Rowe, L. J., Kuhlers, D. L., & Jungst, S. B. (2001). Selection for lean growth efficiency in Duroc pigs influences pork quality. *Journal of Animal Science*, 79(8), 2075–2085. <https://doi.org/10.2527/2001.7982075x> (cit. on p. 56)
- Masoumi, M., Marcoux, M., Maignel, L., & Pomar, C. (2021). Weight prediction of pork cuts and tissue composition using spectral graph wavelet. *Journal of Food Engineering*, 299(January), 110501. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2021.110501> (cit. on p. 49)
- Murgia, M., Nogara, L., Baraldo, M., Reggiani, C., Mann, M., & Schiaffino, S. (2021). Protein profile of fiber types in human skeletal muscle: a single-fiber proteomics study. *Skeletal Muscle*, 11(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13395-021-00279-0> (cit. on p. 56)
- Nielsen, A. J. (1973). Anatomical and Chemical Composition of Danish Landrace Pigs Slaughtered at 90 Kilograms Live Weight in Relation to Litter, Sex and Feed Composition. *Journal of Animal Science*, 36(3), 476–483. <https://doi.org/10.2527/jas1973.363476x> (cit. on pp. 47, 53, 55, 56)
- Nielsen, D. H., McEvoy, F. J., Madsen, M. T., Jensen, J. B., & Svalastoga, E. (2007). Relationship between bone strength and dual-energy X-ray absorptiometry measurements in pigs. *Journal of Animal Science*, 85(3), 667–672. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-025> (cit. on p. 56)
- NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine. 11th rev.* Washington, DC, National Academies Press. (Cit. on p. 48).

- Quiniou, N., & Noblet, J. (1995). Prediction of tissular body composition from protein and lipid deposition in growing pigs¹. *Journal of Animal Science*, 73(6), 1567–1575. <https://doi.org/10.2527/1995.7361567x> (cit. on pp. 50, 55)
- Ruiz-Ascacibar, I., Stoll, P., & Bee, G. (2019a). Effects of dietary CP and amino acid restriction on the growth dynamics of organs and body components in entire male, castrated and female pigs. *Animal*, 13(10), 2223–2231. <https://doi.org/10.1017/S1751731119000132> (cit. on p. 55)
- Ruiz-Ascacibar, I., Stoll, P., Bee, G., & Schlegel, P. (2019b). Dynamics of the mineral composition and deposition rates in the empty body of entire males, castrates and female pigs. *Animal*, 13(5), 950–958. <https://doi.org/10.1017/S1751731118002495> (cit. on p. 47)
- Suttle, N. F. (2010). *Mineral nutrition of livestock, 4th Edition* (N. Suttle, Ed.). Wallingford, CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845934729.0000>. (Cit. on p. 56)

Chapitre 4

Besoins en phosphore et en calcium pour la minéralisation osseuse des porcs en croissance prédits par la modélisation mécaniste

Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling

M. Lautrou^{1,2,3}, C. Pomar², J.Y. Dourmad⁴, A. Narcy⁵, P. Schmidely³, M.P. Létourneau-Montminy¹,

¹Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC, G1V 0A6 Canada

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

³UMR Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA, AgroParis-Tech, Université Paris-Saclay, 75005 Paris, France

⁴PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, 35590, Saint-Gilles, France

⁵UMR Biologie des oiseaux et aviculture, INRA, 37380 Nouzilly, France

4.1 Résumé

Un modèle mécaniste a été développé pour prédire les besoins en phosphore digestible et en calcium chez les porcs en croissance. Le besoin en minéraux pour le dépôt osseux y est indépendant de la croissance des tissus mous. Le besoin en calcium du modèle proposé n'est pas fixe par rapport au phosphore. Le modèle prédit un besoin en phosphore digestible inférieur à ceux de l'INRA et du NRC de 29 à 100 kg, mais au-dessus pour des poids plus faibles et plus élevés. L'INRA présente des besoins en calcium plus élevés en tout temps. Comparé au NRC, les besoins en calcium prédit par le modèle sont plus faibles de 25 à 82 kg et plus élevés ensuite. Le dépôt potentiel de calcium dans les os est le paramètre le plus sensible pour la prédiction des besoins en phosphore digestible et en calcium à 30, 60 et 120 kg.

4.2 Abstract

Phosphorus (P) is an essential nutrient in livestock feed but can pollute waterways. In order for pig production to become less of a threat to the environment, excreta must contain as little phosphorus as possible or being efficiently used by plants. This must be achieved without decreasing livestock performance. Phosphorus and calcium (Ca) deposition in the bones of growing pigs must be optimized without affecting muscle gain. This requires precision feeding based on cutting-edge techniques of diet formulation throughout the animal growth phase. Modelling and data mining have become important tools in this quest. In this study, a mechanistic model taking into account the distribution of phosphorus between bone and soft tissues was compared to established factorial models (INRA and NRC) that predict phosphorus (apparent total tract digestible, ATTD-P; or standardized total tract digestible, STTD-P) and calcium (total and STTD) requirements as a function of body weight (BW) and protein deposition. The requirements for different bone mineralisation scenarios, namely 100% and 85% of the genetic potential, were compared with these two models. Sobol indices were used to estimate the relative impact of growth-related parameters on mineral requirements at 30, 60 and 120 kg of BW. INRA showed highest value of ATTD-P requirement between 29 and 103 kg of BW (6%) and lower for lighter and higher BW. Similarly, the model for 85% bone mineralisation showed lower STTD-P requirement than NRC between 29 and 93 kg of BW (7%) and higher for lighter and higher BW. Contrary to other models, the Ca requirement of the proposed model is not fixed in relation to P. It increases from 95 kg of BW while the others decrease. INRA showed the highest Ca requirements. The model Ca requirements for 100% bone mineralisation are higher than NRC from 20 to 38 kg of BW similar until 70 kg of BW and then higher again. For 85% objective the model showed lower Ca requirements from 25 to 82 kg of BW and higher for lighter and higher BW. The potential Ca deposition in bones is the most sensitive parameter (84 to 100% of the variance) of both ATTD-P and Ca at 30, 60 and 120 kg. The second most sensitive parameter is the protein deposition, explaining 1 to 15 % of the ATTD-P variance. Studies such as this one will help to usher in a new era of sustainable and eco-friendly livestock production.

Implications

Using mechanistic models to assess nutrient requirements, resource utilisation by the livestock sector may be fine-tuned. If animal protein production is to become universally accessible, affordable and safe, basic research, data mining and process modelling must be applied. This paper describes a mechanistic approach developed to predict dietary Ca and P requirements for bone mineralisation of growing pigs based on multiple criteria. The livestock sector must take advantage of the power of data mining in order to remain competitive, intensify and achieve sustainability.

4.3 Introduction

As a key component of DNA and all known metabolic energy systems, phosphorus (P) is an essential nutrient for all life forms. It is a non-renewable resource with no substitute (U.S. Geological Survey, 2019). The sustainability of animal production and of agriculture in general depends largely on its judicious use. In the bodies of vertebrates, about 60% of the phosphorus occurs in bone at a fixed ratio with calcium (Ca), while the remaining portion is found mainly in muscle (Nielsen, 1973). An adequate supply of phosphorus is therefore essential for animal growth, health and wellbeing, and this must be provided using efficient and sustainable means that minimize the phosphorus footprint of livestock production. This implies precise estimation of the phosphorus content of feed ingredients, which has been the subject of many publications and recent methodological standardization (NRC, 2012; Bikker & Blok, 2017). This has brought to light important

factors determining phosphorus availability, namely chemical form, calcium supply and the use of phytase (Létourneau-Montminy *et al.*, 2012). Efficient utilisation of potentially absorbable phosphorus requires equally precise knowledge of actual requirements for animal growth.

The two factorial methods currently used to predict phosphorus and calcium requirements of growing pigs are proposed by Jondreville and Dourmad (2005) and NRC (2012). The first one predicts P retention for maximal bone mineralization based on an allometric relationship between body P and body weight (BW), with the total Ca requirement corresponding to a fixed ratio of 2.9 for total Ca to apparent total tract digestible P (ATTD-P). The NRC predicts whole body P retention based on protein deposition. The requirement is set at 85% of the maximal retention according to the proposed model, which uses a fixed ratio of 2.15 for total Ca to standardised total tract digestible P (STTD-P). In both models, it is assumed that changes in skeletal tissue are directly proportional to lean growth, which has been shown not to be true (Pomar *et al.*, 2006; Couture *et al.*, 2018). In addition, both predict requirements only and not responses to transient deficiency or compensatory retention that occur in practice (Gonzalo *et al.*, 2018). The right amount of P to be provided in the diet depends on interacting and sometimes conflicting production goals (e.g. profitability, animal wellbeing, environmental protection) and multiple response criteria (e.g. growth performance, bone mineralization, excretion). However, multi-objective models are difficult to implement, and the single-value requirement remains the most applied approach.

To meet the challenge of optimizing multiple livestock responses to dietary P and Ca (e.g., performance, health) and balancing them with the environmental impact, social acceptability and profitability of production, mechanistic models have been found effective. At least one such model of dietary P and Ca fate has been developed (Létourneau-Montminy *et al.*, 2015; Lautrou *et al.*, 2019b) from the principles of InraPorc (van Milgen *et al.*, 2008) simulating the growth of total body main chemical constituents which are total body protein, lipid, ash and water (Whittemore & Fawcett, 1976). This model integrates multiple biological processes in pigs, with protein-deposition-non-dependent ash deposition predicting the impact of Ca and P deficiencies and imbalances as well as compensatory retention after periods of deficiency.

Therefore, the objective of this paper is to use inversion modelling principles (Doeschl-Wilson *et al.*, 2006) of the model developed by Létourneau-Montminy *et al.* (2015) and improve by Lautrou *et al.* (2019b) to estimate digestible P and digestible and total Ca requirements for specific bone mineralisation objectives, compare these estimates with those proposed by conventional models, and identify the most influential factors modulating P and Ca utilization. Preliminary results were already published in an abstract for the 9th Workshop on Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals (MODNUT) (Lautrou *et al.*, 2019a).

4.4 Material and methods

4.4.1 General background

Following few modifications of the Létourneau-Montminy *et al.* (2015) model, Lautrou *et al.* (2019b) model has been validated using data of whole-body bone mineral content of pigs receiving contrasted Ca and P dietary supply generated for that purpose (Pomar *et al.*, 2006; Langlois *et al.*, 2016a, 2016b; Gonzalo *et al.*, 2018). It was showed that the predictions of total body P and Ca content had a relative mean square error of about 5% in the case of pigs fed adequate amounts of these minerals, while challenges remained in predicting the response to deficient diets. Indeed, because of a lack of knowledge for a mechanistic representation, regulations of Ca and P metabolisms and its impact on Ca and P intake, gain and efficiency are not included yet. Based on these findings, the mechanistic model was considered accurate enough to predict P and Ca requirements for bone mineralisation of growing pigs.

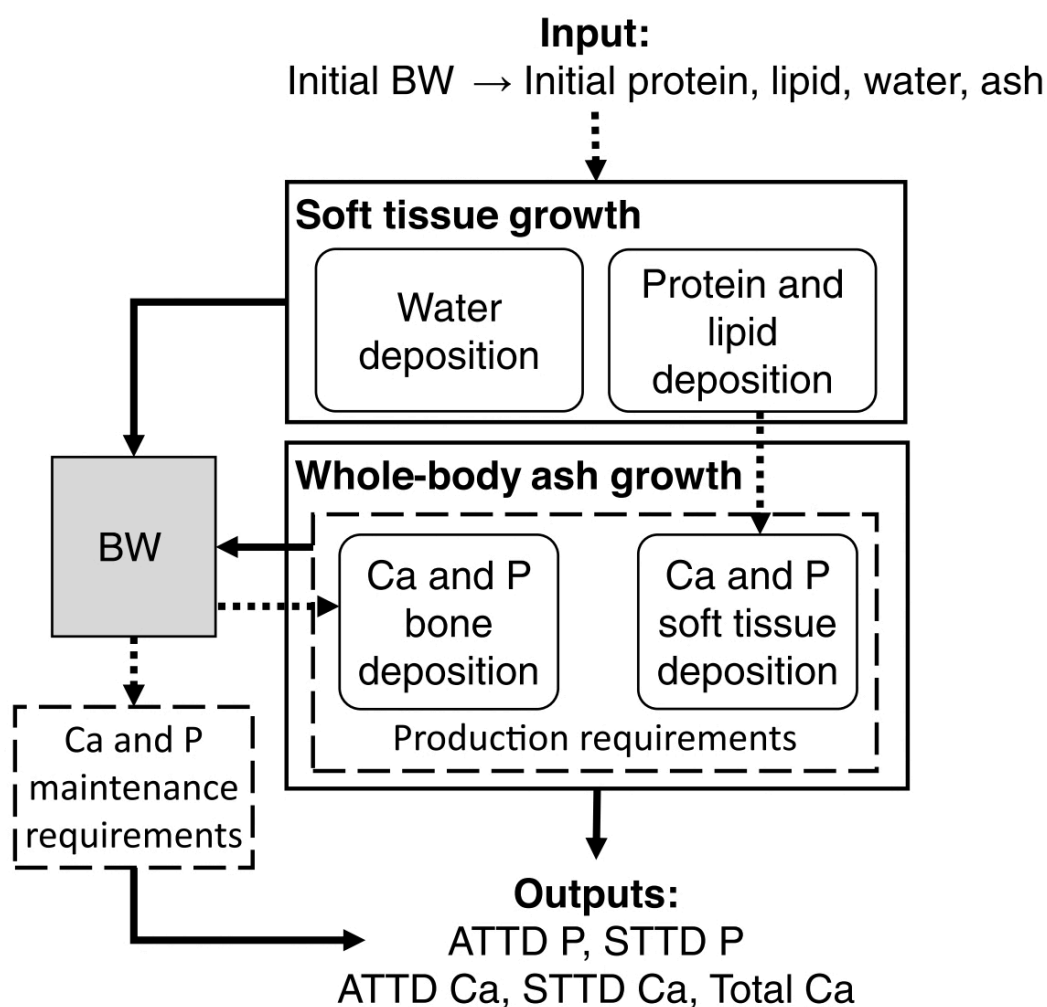


Figure 4.1 – General layout of the proposed mechanistic model predicting total calcium (Ca) and apparent and standardized digestible phosphorus (ATTD and STTD P) requirements of growing pigs.

4.4.2 General structure of the model

The proposed mathematical model has 2 modules, namely soft tissue and ash (Figure 4.1). Based on recent studies, bone mineral deposition in growing pigs no longer depends only on body protein in terms of potential and actual deposition (Couture *et al.*, 2018). The equation defining potential Ca deposition during growth clearly differs from that of protein. Concentrations of P and Ca in muscle and adipose tissues have been generated for modern genotypes at BW of 25, 75 and 125 kg (Lautrou *et al.*, unpublished). The model outputs, which are the requirements for a certain objective of bone mineralisation, are the amounts of Ca and P to be absorbed in order to reach the mineral deposition target.

4.4.3 Description of the model proposed for estimating Ca and P requirements for bone mineralisation

The proposed model predicts ash and soft tissue mineral compositions separately (Figure 4.1) using a factorial approach to predict Ca and P requirements for maintenance and growth of soft tissues. It was written with Model Maker version 3.0 (Cherwell Scientific Ltd, 2000) using Euler inte-

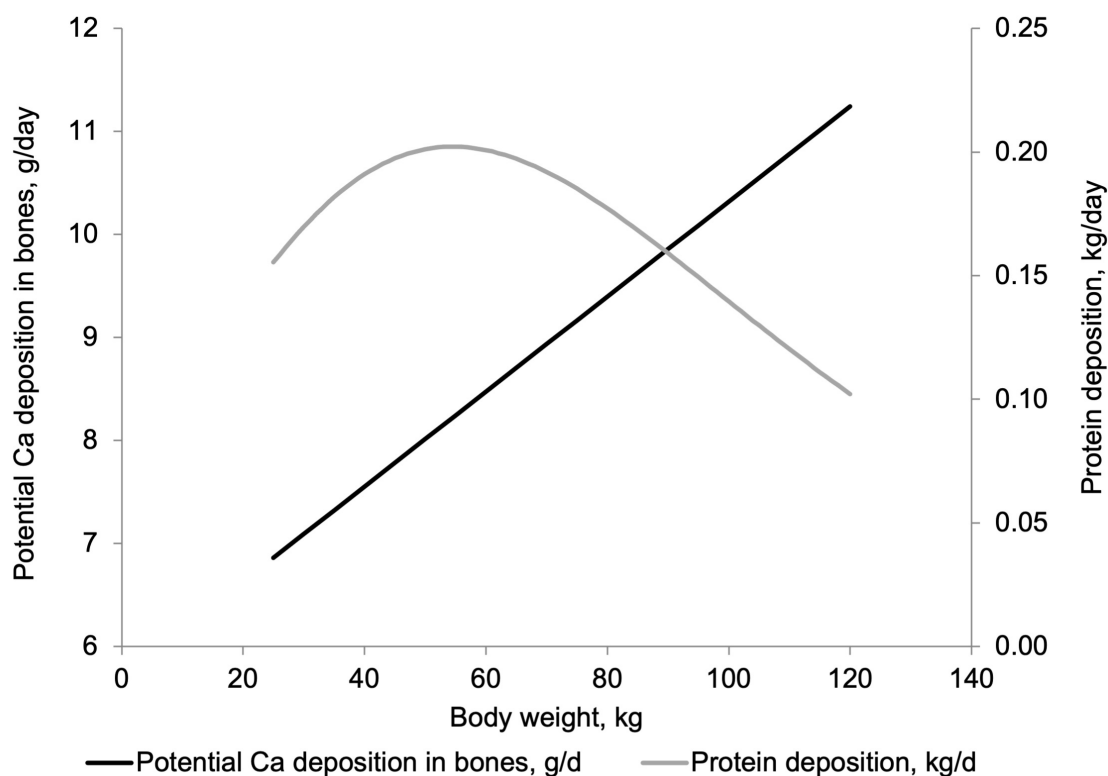


Figure 4.2 – Potential Ca deposition in bones (g/d) and protein deposition over body weight in growing pigs.

gration method for BW of 20 to 120 kg. Unless otherwise specified, rate variables are expressed in grams per day (g/d) and state variables in grams. The proposed mathematical model first predicts the growth of tissues that then determine Ca and P requirements.

Simulation of soft tissues growth.

Using Inraporc principles (van Milgen *et al.*, 2008), based on initial BW, it calculates the chemical composition in terms of protein, lipid, and water at the start of the simulation. It should be noted that other models to predict soft tissue growth (e.g. NRC, 2012) or user data can be easily incorporated. As recommended by van Milgen *et al.* (2008), model parameters related to feed intake and growth potential are adjusted by the model user and feed intake, protein and lipid deposition are thereafter calculated daily. The daily feed intake is controlled by the net energy of the diet and the net energy intake desired was calibrated with previous studies (Pomar *et al.*, 2006; Langlois *et al.*, 2016a, 2016b; Gonzalo *et al.*, 2018). Potential protein deposition is described by a Gompertz function, that can be changed by user, and actual deposition is determined as the lesser among the potential and the allowable deposition based on energy and amino acid supplies. The difference between the potential and achieved depositions represents a deficit that cannot be compensated. The energy not used for protein is deposited as lipid still following Inraporc principles.

Simulation of bone growth and bone ash.

In comparison to classic pig growth models (van Milgen *et al.*, 2008; NRC, 2012) bone mineral deposition in growing pigs no longer depends only on body protein being dependent on body-weight in terms of potential and actual deposition based on recent studies (Couture *et al.*, 2018). The equation defining potential Ca deposition during growth clearly differs from that of protein (Figure 4.2).

The driving force of bone mineral deposition is calcium deposition, which depends on BW (Equation 4.1, Figure 4.2). It was built using data from pigs fed P and Ca in amounts exceeding NRC requirements (2012) by about 135% (Pomar *et al.*, 2006; Langlois *et al.*, 2016a, 2016b) with both terminal and hybrid F1 lines that don't differ in body bone mineral content. Therefore, this equation represents the potential Ca deposition into bone of growing pigs. Again, the user may change this curve with its own data. Deposition of P in bone is assumed to be on a fixed Ca:P ratio of 2.16 with other minerals representing 43% of the bone ash (Crenshaw, 2001). The potential ash depositions are calculated from BW in kg and is the sum of the following equations:

$$\text{PotentialBoneCaDeposition(g)} = 5.701 + 0.0461 \times \text{BW} \quad (4.1)$$

$$\text{PotentialBonePDeposition(g)} = \text{PotentialBoneCaDeposition}/2.16 \quad (4.2)$$

$$\text{PotentialBoneMiscDeposition(g)} = 0.43 \times ((\text{PotentialBoneCaDeposition} + \text{PotentialBonePDeposition})/0.57) \quad (4.3)$$

Simulation of soft tissue ash.

The ash composition of soft tissue is not well known as only Nielsen (1973) have measured it. Therefore, concentrations of protein, lipid, P and Ca in different tissues have been generated for modern genotypes at BW of 25, 75 and 125 kg (Lautrou *et al.*, unpublished). Being the anatomical compartment that contains the most protein (85-90%), the muscle was used as the reference tissue to calculate the amount of P, Ca, and other minerals deposited with protein (Equations 4.4 to 4.6). In the same way, the sub cutaneous fat was used to calculate the amount of P, Ca and other minerals deposited with lipid (Equations 4.7 to 4.9). The ratio of protein, P, Ca, and Misc to muscle, as well as Lipid to subcutaneous fat (respectively, **Protein:Musc**, **P:Musc**, **Ca:Musc**, **Misc:Musc** and **Lip:SubFat**) depend on BW (Equations 4.10 to 4.14). Mineral analysis of subcutaneous adipose tissue from dissections (Nielsen, 1973) suggested 0.045% P (**P:SubFat**), 0.005% Ca (**Ca:SubFat**) and 0.26% other minerals (**Misc:SubFat**).

$$\text{ProteinCaDeposition (g)} = (\text{PD}/(\text{Protein : Musc}/100)) \times (\text{Ca_Musc}/100) * 1000 \quad (4.4)$$

$$\text{ProteinPDeposition (g)} = (\text{PD}/(\text{Protein : Musc}/100)) \times (\text{P : Musc}/100) * 1000 \quad (4.5)$$

$$\text{ProteinMiscDeposition (g)} = (\text{PD}/(\text{Protein : Musc}/100)) \times (\text{Misc : Musc}/100) * 1000 \quad (4.6)$$

$$\text{LipidCaDeposition (g)} = (\text{LD}/(\text{Lip : SubFat}/100)) \times (\text{Ca : SubFat}/100) * 1000 \quad (4.7)$$

$$\text{LipidPDeposition (g)} = (\text{LD}/(\text{Lip : SubFat}/100)) \times (\text{P : SubFat}/100) * 1000 \quad (4.8)$$

$$\text{LipidMiscDeposition (g)} = (\text{LD}/(\text{Lip : SubFat}/100)) \times (\text{Misc : SubFat}/100) * 1000 \quad (4.9)$$

where

$$\text{Protein : Musc (\%)} = 89.010 - 0.03117 \times \text{BW} \quad (4.10)$$

$$\text{Ca : Musc (\%)} = 0.02202 - 4.746 \times 10^{-5} \times \text{BW} \quad (4.11)$$

$$\text{P : Musc (\%)} = 1.029 - 0.004198 \times \text{BW} + 1.817 \times 10^{-5} \times \text{BW}^2 \quad (4.12)$$

$$\text{Misc : Musc (\%)} = 4.184 - 0.005023 \times \text{BW} \quad (4.13)$$

$$\text{Lip : SubFat (\%)} = 79.536 + 0.3122 \times \text{BW} - 0.001517 \times \text{BW}^2 \quad (4.14)$$

Factorial method to determine Ca and P requirements for bone mineralisation.

Phosphorus and calcium requirements are the sum of the maintenance requirement and the amount that should be absorbed to reach soft tissue ash and bone ash potential. It can therefore be expressed on the basis of apparent total-tract digestibility (ATTD) or standardised total tract digestibility (STTD) in g per kg of diet.

Table 4.1 – Tested parameters and their levels for the global sensitivity analysis on growing pigs

Body weight	30 kg		60 kg		120 kg	
	-1.5 SD	+1.5 SD	-1.5 SD	+1.5 SD	-1.5 SD	+1.5 SD
Protein deposition (%)	87	113	84	116	68	132
Lipid deposition (%)	53	147	51	149	78	122
Ca:P Bn ¹ (%)	93		93		93	
CaBn ² (%)	86	114	74	126	60	140

¹ Ca:P Bn = Ca:P ratio in bone ² CaBn = Potential Ca deposition in bone

Mineral maintenance requirements.

To obtain ATTD requirement, given that the model simulate requirement for tissue growth with the assumption that there is no excess, deficit or imbalance of Ca or P, only the unavoidable urinary loss is taken into account. In the model, these losses are estimated at 0.5 mg of P and 2 mg of Ca per kg of BW (Bikker & Blok, 2017). To obtain STTD requirement the basal endogenous sloughing from the digestive tract into faeces are also considered. In the model, the losses are estimated at 190 mg/kg BW (NRC, 2012) for P and at 300 mg/kg BW for Ca (Stein, personal communication).

Tissue growth requirements.

The requirement in Ca and P for tissue growth are the sum of Ca and P deposited into bone (respectively, Eq. 4.1, 4.2), protein (respectively, Eq. 4.8, 4.9), and lipid (respectively, Eq. 4.12, 4.13).

4.4.4 Model comparison

The ATTD-P, STTD-P and total Ca requirements estimated by the proposed model were compared to those of the previous models of Jondreville and Dourmad (2005), hereinafter called INRA, and by NRC (2012), hereinafter called NRC.

As NRC proposes P requirements in terms of STTD, the ATTD requirement obtained with the current model can be also provides in terms of STTD by correcting ATTD values for basal endogenous losses. Using a simulated default pig generated by InraPorc (van Milgen *et al.*, 2008) for protein and lipid deposition and feed intake, ATTD-P and STTD-P were calculated from the INRA and NRC factorial model equations respectively. In both models, the Ca requirement is expressed as total Ca determined as a fixed ratio to STTD-P for NRC and to ATTD-P for INRA. Since INRA recommendations are based on reaching 100% of the potential bone mineralisation whereas the NRC model targets 85% of it, both cases were simulated. Given that Ca requirements are express in total Ca a STTD-Ca digestibility of 70% was assumed for a corn/soybean meal-based diet (González-Vega *et al.*, 2015b; Stein *et al.*, 2016) to calculate total Ca. Also, given that urinary losses of P considered in the factorial method of INRA and NRC are higher than the unavoidable values use in our model these values have been considered for comparison. Models were compared based on comparison of the body P retention (g/d), ATTD and STTD-P growth requirement (g/kg), and total Ca requirements.

4.4.5 Sensitivity analysis of the model prediction of P and Ca requirements

In order to verify the accuracy of the proposed model, it was tested for global sensitivity with all of the parameters in a full factorial design with all the possible interactions tested. This analysis is useful for identifying the factors (including interactions) that contribute the most to the variability of the recommendations. It consists of testing the model over the full range of possible values of the parameters. The parameters and their ranges were chosen to simulate field variability.

The tested parameters were: protein and lipid deposition between -1.5 and +1.5 times (Table 4.1) their previously reported standard deviations (Andretta *et al.*, 2014; Andretta *et al.*, 2016; Remus *et al.*, 2020) and bone Ca:P ratios of 2.00, 2.08 and 2.16 with 2.16 being the default value (Nielsen, 1973; Crenshaw, 2001). For bone Ca potential deposition, variation was based on the difference between the default equation (Equation 4.1) and the individual animal with the highest bone mineralisation in the database (Pomar *et al.*, 2006; Langlois *et al.*, 2016a, 2016b; Gonzalo *et al.*, 2018). All parameters were tested under 3 scenarios, namely at BW of 30, 60 and 120 kg. Sobol indices (Sobol, 1993) were calculated to quantify the influence of each tested parameter on the outputs of the model. An objective of 100% bone mineralisation was used for the simulations. This method measures the contribution of each parameter variance to the variance of the outputs. The Sobol indices are defined as:

$$S_{i1, \dots, is}(Y) = \text{Var}_{i1, \dots, is}(Y) / \text{Var}(Y) \quad (4.15)$$

The first-order indices represent the effect of each parameter on the outputs Y. The total contribution of each parameter and their interactions to the outputs are expressed as total order indices.

4.5 Results and discussion

The current model has been compared to two factorial methods proposed to estimate Ca and P requirements, namely NRC and INRA. Next step will be to validate in the field knowing that it will be impossible to validate under all conditions (e.g. different shape of protein deposition).

4.5.1 Body phosphorus retention

The current model evolves more linearly with BW than NRC and INRA models and ended with higher P retention for heavier pigs (Figure 4.3). This is due to the linear increases of Ca deposition in bones with BW while the other model are driven by PD or BW gain that follows a Gompertz function. As expected, the INRA model predicted a greater P retention than did the NRC model, since the bone mineralisation criteria were respectively 100% and 85%. This difference widens for heavier pigs (10% for 20 kg vs 26% for 120 kg BW), since protein deposition, the driver of P deposition in the NRC model, follows a Gompertz function whereas average daily gain, which is more linear, is the main determinant of P retention in the INRA model. Besides, the current model is closer to INRA for an objective of 100% bone mineralization and closer to NRC for 85% bone mineralisation. However, the current model showed lower retention than INRA (-4% in average for 100% bone mineralization) and NRC (-5% in average for 85% bone mineralization) from 30 to 100 kg BW.

4.5.2 Phosphorus requirement predictions

The comparison of ATTD-P requirement for 100% bone mineralization and ATTD-P from INRA showed estimated requirements that are really close (Figure 4.4). However, the relationship between BW and the P requirement is more quadratic with the proposed model with P requirements that decrease more rapidly until 60 kg BW where protein deposition reach its maximum and then begin to decrease while Ca, and consequently bone P deposition, continue to increase linearly as BW increases. This model recommended more P than did INRA to meet the 100% bone mineralisation goal from 20 to 30 kg BW (4%) and from 100 to 120 kg (4%). For the comparison of STTD-P obtained by the model for an objective of 85% bone mineralisation, the proposed model recommended lower P requirement (7% in average; Figure 4.5) than NRC except from 20 to 27 kg (10% at 20 kg) and from 97 to 120 kg (21% at 120 kg) where it estimated higher values. This is consistent with studies of (Vier *et al.*, 2019a; Vier *et al.*, 2019b) that have showed greater P requirement

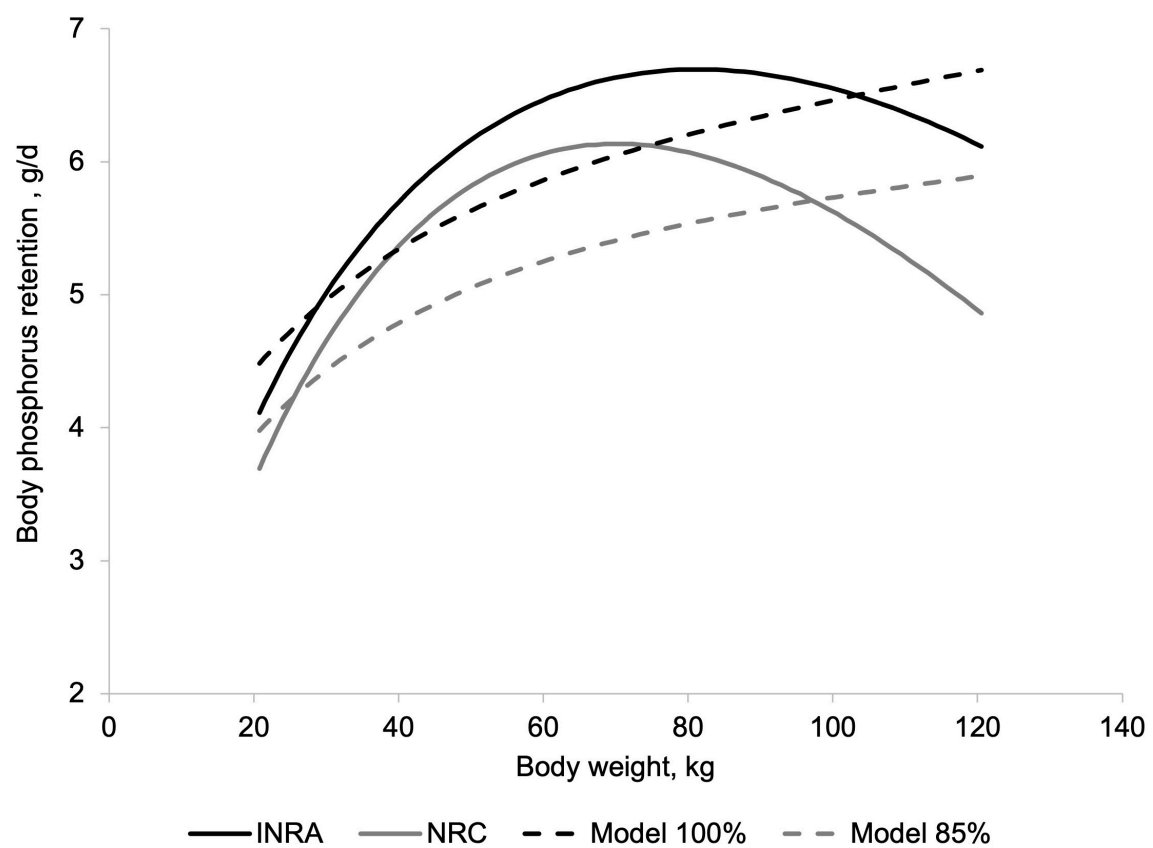


Figure 4.3 - Body phosphorus retention by pigs (g/d) as function of body weight according to INRA (Jondreville & Dourmad, 2005), NRC (NRC, 2012) and the proposed mechanistic model for 85% or 100% bone

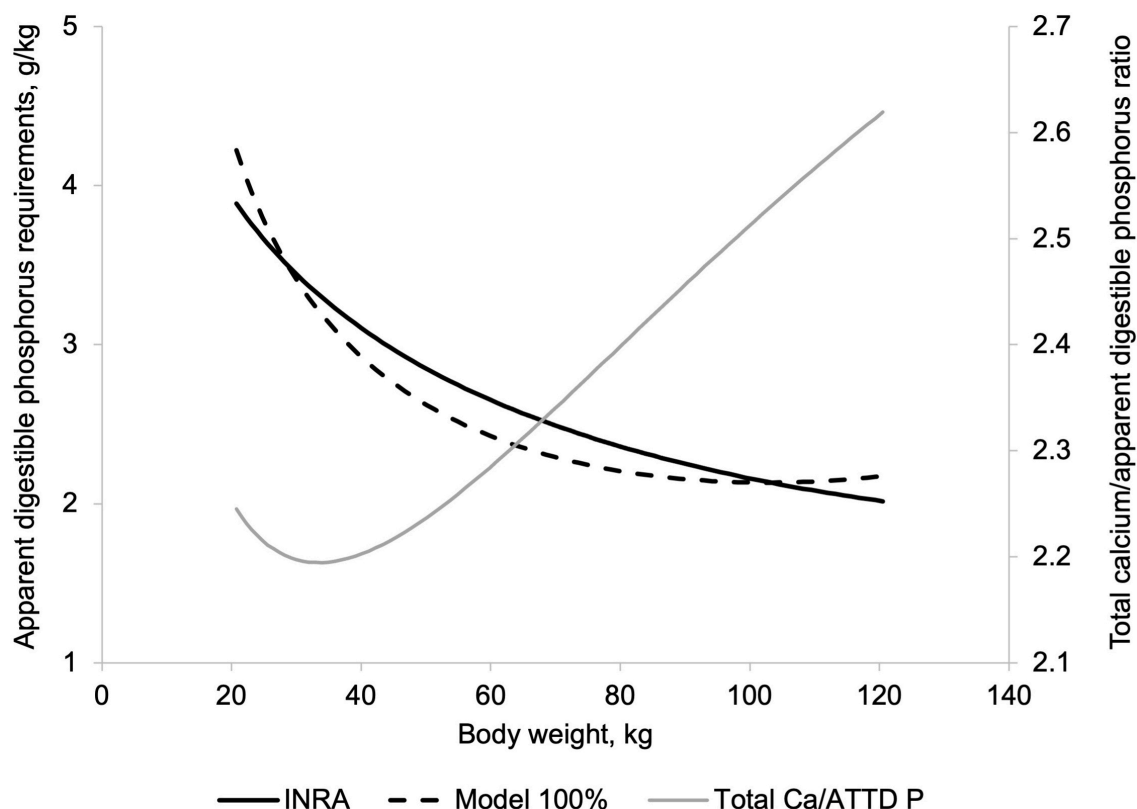


Figure 4.4 – Apparent digestible phosphorus requirements (ATTD, g/kg) for growing pigs according to body weight (BW) for INRA (Jondreville & Dourmad, 2005) and the current model for 100 % of bone mineralisation (Model 100 %)

than NRC (2012) for both nursery and growing-finishing pigs based on growth performance and maximal bone mineralization. For growing pigs, these results have been obtained based on a fixed total Ca:total P ratio therefore with a Ca:STTD-P ratio which decreases with the increase of STTD-P. This means that Ca was higher in diet where P was below NRC recommendation and lower when P was above NRC recommendations, which may have influenced pig response to STTD-P.

4.5.3 Total Ca requirement predictions

The NRC and INRA models showed a nearly linear relationship between Ca requirement and BW, since Ca was expressed in terms of a fixed ratio to ATTD-P (Figure 4.6) which in turn was assumed to be linear with BW. In contrast, the current model takes into consideration the deposition of 40% of the absorbed phosphorus within protein pool independently of calcium in comparison to about 60% of P deposited into bone in a fixed ratio with 99% Ca.

With the ATTD-Ca-based model output expressed on a total Ca basis, the average digestibility coefficient for a corn/soybean-meal-based diet considered and Ca endogenous losses (González-Vega *et al.*, 2015b; Stein *et al.*, 2016), this model indicated an increase in the total requirement for animals heavier than 80 kg, reflecting reduced P deposition in body protein as BW increased while the proportion deposited in bone increased (Figure 4.6). It also set a lower requirement than the INRA level for 100% bone mineralisation at all BW except for 120 kg BW where they are really close. For 85% mineralisation, the proposed model showed results that are more similar to NRC with lower Ca requirement than NRC from 30 to 85 kg BW (9%) but higher from 85 to 120 kg BW to reach a difference of 38% at 120 kg.

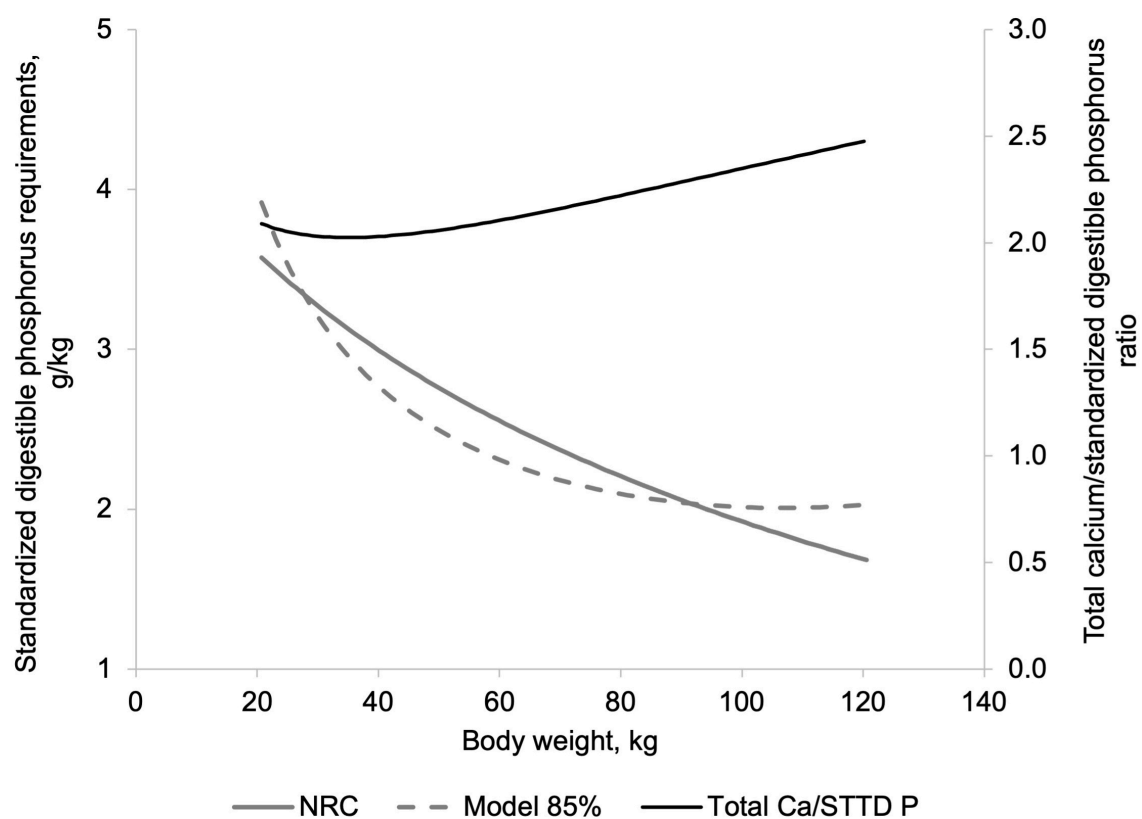


Figure 4.5 – Standardized digestible phosphorus requirements (STTD, g/kg) for growing pigs according to body weight (BW) for NRC (NRC, 2012) and the current model for 85 % of bone mineralisation (Model 85 %)

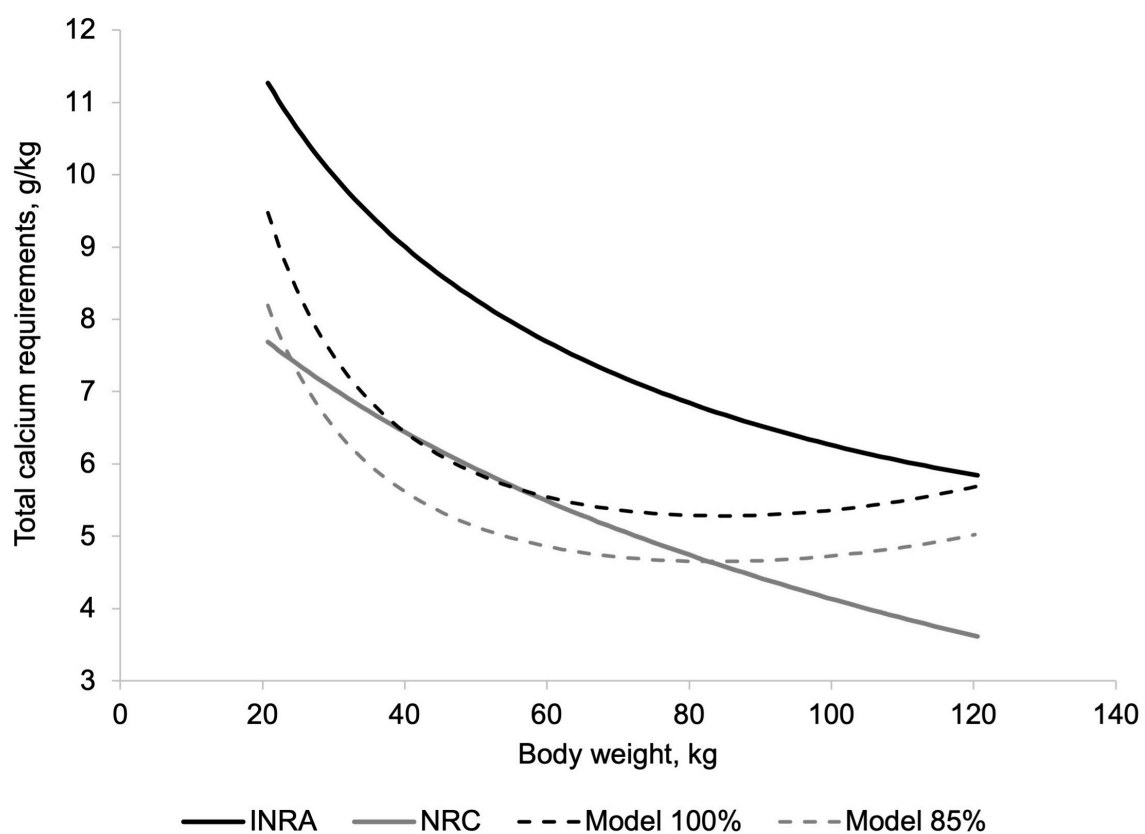


Figure 4.6 – Total Ca requirements (g/kg) for growing pigs according to BW for each INRA (Jondreville & Dourmad, 2005) and NRC (NRC, 2012) models, the current model for 85 % (Model 85 %) and for 100 % of bone mineralisation (Model 100 %)

As previously indicated, INRA and NRC used fixed ratio between Ca and P to determine Ca requirements. As well discussed by Bikker and Blok (2017), the value adopted as digestibility of dietary Ca has a major impact on the recalculation of digestible to total Ca requirement. For the current simulations we have used 70% based on Stein et al. results (personal communication) which is similar to German GfE (2008). Jongbloed *et al.* (2003) adopted a digestibility value of 50 to 60% without and with phytase, resulting in a mean Ca:dP ratio of 2.8 for weaned pigs and of 3.0 for growing-finishing pigs. Besides, due to a lack of information in (2012), the NRC pragmatically adopted a ratio between total Ca and standardised digestible P of 2.15, assuming a high availability of most inorganic Ca sources. Therefore, better prediction of Ca digestibility considering both feed (e.g. Ca sources, phytase, level of P) and animal (e.g. mineral status) are still necessary to better define its requirement.

4.5.4 Calcium/phosphorus ratios

For 100% bone mineralisation, the current model yielded ratios of total Ca to ATTD-P requirements that increased linearly from 2.2 up to almost 2.6 as the pigs reached their maximum weight (Figure 4.4). The total Ca to STTD-P ratio, for 85% bone mineralisation also increases linearly from 2.0 to almost 2.5 (Figure 4.5). As stated previously, Ca ratio is fixed for INRA and NRC and is respectively of 2.9 based of ATTD-P for INRA and 2.15 based on STTD-P for NRC. The variation of this ratio can be explained in terms of the increasing proportion of deposition in association with Ca (bone vs protein allometry), as BW increased.

A high Ca:P ratio in a low-P diet is known to decrease P utilisation (Reinhart & Mahan, 1986; Jondreville & Dourmad, 2005; González-Vega *et al.*, 2016a). Although the ratio predicted by the current model is lower than INRA and NRC, it should be used only with the recommended P predicted by the model; in other words, there is no fixed ratio to implement, the ratio will depend on the production goal and pig BW, which determines P requirement. For example, if the goal is less than the full bone mineralisation, the ratio will decrease since less Ca is needed to retain P, given that a higher proportion of the P will be retained in soft tissue independently of Ca. It is noteworthy that according to the model, using a total Ca to ATTD-P ratio dependent on BW and for a given goal (e.g. % rather than potential bone mineralisation) could be advantageous since bone, muscle and fat contribute differently to tissue allometric growth.

In view of on-going work on determining digestible Ca ingredient values and requirements (González-Vega *et al.*, 2014; González-Vega *et al.*, 2015a, 2015b; Merriman & Stein, 2016) the STTD-Ca:STTD-P ratio should be examined. This ratio for 100% bone mineralisation shows the same type of relationship as total Ca:STTD-P with a plateau followed by a linear increase but with lower values: 1.54 at 20 kg and 1.77 at 120 kg. The predicted increase ratio with BW is in agreement with recent maximized bone mineralisation results (González-Vega *et al.*, 2016b; Merriman *et al.*, 2017; Lagos *et al.*, 2019), but values although comparable at 20 kg are lower for heavier BW pigs with 1.7 for the proposed model vs 2.3 suggested by these authors. The recent study of Vier *et al.* (2019a) when giving 122% of STTD-P recommended by NRC and increasing STTD-Ca:STTD-P, have showed that the ratio to maximize bone is higher than the one maximizing growth performance. They recommended a ratio of 1.75 to 1.82 in growing-finishing pigs to optimize growth performance and bone mineralisation. Lautrou *et al.* (2019b) showed good accuracy in predicting finishing pig whole-body ash with this model indicating that this disconnection is important to consider. Lee *et al.* (2019) also showed a STTD-Ca:STTD-P ratio that have to increase with age to maximise bone mineralisation which is again consistent with the results of the current model.

It is worthy to note that this ratio is influenced by basal fecal endogenous losses of Ca used to determine STTD-Ca; i.e. higher losses increased the ratio. In the current model, fecal endogenous losses was set to 300 mg/kg DMI, but they are very variable between trials (from 123 to 670 mg/kg DMI; González-Vega *et al.*, 2014; González-Vega *et al.*, 2015a, 2015b; Merriman & Stein, 2016) for unknown reasons (Stein, personal communication). Moreover, in the current model, the impact of Ca and P deficiencies on feed intake and growth performance are not yet included in the proposed

Table 4.2 – Sobol indices¹ of the tested parameters that explain part of the total calcium (CaTot) and apparent total tract digestible phosphorus (ATTD-P) requirements for growing pigs at each body weight tested

Body weight	30 kg		60 kg		120 kg	
	CaTot ²	ATTD-P ³	CaTot	ATTD-P	CaTot	ATTD-P
CaBn ⁴	100.00	84.20	100.00	91.33	100.00	98.09
Protein deposition	0.00	15.28	0.00	5.94	0.00	0.83
Lipid deposition	0.00	0.53	0.00	0.64	0.00	0.07
Ca:P Bn ⁵	0.00	0.00	0.00	2.00	0.00	0.91

¹ Sobol (1993) (Values are percentages of the total variance)

² CaTot = Total Ca requirement

³ ATTD-P = apparent total tract digestibility P requirement ⁴ CaBn = Ca deposition into bone, ⁵ Ca:P Bn = Ca to P ratio in bone

model since the mechanisms involved in the animal responses to deficiencies in these minerals are not well known, and have never been quantified throughout the growth phase. It is therefore not possible to obtain the ratio that maximizes growth efficiency with the present mechanistic model. Nevertheless, these recent works showed that although P is provided in sufficient amounts, Ca will have a detrimental effect on growth performance except in large excess in P (González-Vega *et al.*, 2016b; Lagos *et al.*, 2019). Therefore, the low ratio predicted by the current model to maximize bone mineralisation should not interfere with growth performance.

4.5.5 Sensitivity analysis

For all outputs at three BW (30, 60 and 120 kg), the potential Ca deposition was by far the most influencing factor on total Ca requirements accounting for more than 99% of the observed variance (Table 4.2). The high sensitivity of the requirements to Ca deposition seems logical considering that 96-99% of body Ca and 60-80% of body P is found in bones (Crenshaw, 2001; Suttle, 2010). This explains the high effect of the potential deposition to ATTD-P (more than 80%) variance. The influence of the potential calcium deposition in bones on ATTD-P requirements increases with the pig weight and it is the contrary for protein deposition. In fact, young pigs incorporate a greatest proportion of P into soft tissue, explaining the lower sensitivity of Ca deposition in bone. The potential Ca deposition in bone thus plays a major role in establishing the total Ca and ATTD-P requirements. These results show the importance of precise evaluation of the genetic potential for mineral deposition in bones.

Since 99% of body Ca is in bone, protein deposition has almost no influence on the variance of total Ca. However, it does influence ATTD-P variance, 15% for pigs at 30 kg, 6% at 60 kg and 1% at 120 kg based on protein deposition variation in previous trials. The decrease in the influence of protein deposition on P with bodyweight increase coincides with the linear increase in bone deposition. Moreover, the ATTD-P variance associated with protein deposition at 30 kg shows that animal growth will have a major impact on dietary P recommendations. Indeed, if protein deposition is decreased because of any nutrient deficiency, the P requirement will also decrease. This means that P requirement is linked to amino acid and energy intake. As expected, lipid deposition has little impact on total Ca and ATTD-P requirements, since Ca and P deposition in lipids is negligible. Less than 1% of body Ca and P is found in lipids (Nielsen, 1973; Crenshaw, 2001).

The Ca:P ratio in bone had no influence on total Ca requirement. This is to be expected since Ca drives bone ash deposition, so the Ca:P ratio cannot change the Ca requirement. The result is the same for ATTD-P. The Ca:P ratio of hydroxyapatite (most of the mineral in bone) has been estimated at 2.16 (Crenshaw, 2001), which corresponds to 39% Ca and 18% P, the values used

in the present model. A Ca:P ratio of 2.00 has been measured using the total bone mass of pigs weighing 90 kg (Nielsen, 1973). The sensitivity analysis nevertheless shows that bone Ca:P did not have a strong impact on the recommendations obtained from the model. Finally, interactions between parameters contributed very little to the total variance of these two outputs.

4.5.6 Influence of Dietary Calcium and Phosphorus on Growth Performance

Modification of growth through a loss of appetite in case of P deficiency is well known (Suttle, 2010). As whole-body ashes represent about 3% of BW, this is not due to P deposition itself. Pigs fed with low-P diets frequently have low feed intake, growth rate, and sometime feed efficiency. The reduction of feed intake thus reduces protein and energy consumption that can then interfere with growth and feed efficiency. In fact, increasing available P in these low-P diets increases both feed intake and growth rates, but feed intake reaches normal values before growth rate (Reinhart & Mahan, 1986; Létourneau-Montminy & Narcy, 2013). This suggests that different mechanisms are implicated in these animal responses to dietary P deprivation (Suttle, 2010). To make things more complex, high dietary Ca is known to aggravate symptoms of P deficiency (Létourneau-Montminy *et al.*, 2012; Létourneau-Montminy & Narcy, 2013; Lagos *et al.*, 2019) through a reduced absorption due to the formation of insoluble Ca-P complexes (Narcy *et al.*, 2012). That's why, besides the Ca and P levels, the ratio between these minerals is very important. Moreover, a Ca deficiency (Vier *et al.*, 2019a) could also modify growth performance. Besides, overfeeding these minerals also reduced growth performance. Vier *et al.* (2019a) showed that over 130% NRC STTD-P (ratio calcium:phosphorus of 1.15) growth performance was reduced while bone is still maximised. It is worthy to note that our model recommendations never exceed this level.

4.6 Conclusion

This study proposes the use of a novel mechanistic model for predicting calcium and phosphorus requirements for growing pigs with flexible livestock performance goals. The genetic potential for Ca deposition in bone and the deposition of protein in body tissues specified as input parameters are considered to be intrinsic drivers of P requirements. This is the only model that predicts bone growth independently of protein growth, thus allowing allometric growth differentiation of these tissues. This is all the more important since modern pig body composition and genetic data used for the model parameterization show that protein and bone growth are independent and evolve very differently as live weight increases. About 70% of P is retained with Ca in bone independently of protein, further reinforcing the relevance of this approach. In fact, this new approach changes the way to estimate Ca and P requirements by growing pigs, and even more for replacement gilts particularly at the end of growth, where the requirements for bone does not plateau as those of protein. Integration of the effect of Ca and P on feed intake and feed efficiency will allow the prediction of requirement that maximize growth performance. However, it needs further studies to understand the underlying mechanisms to mechanistically simulate them in the model. A future study will also be run in order to validate the described model.

Due to technological advancement, farming operations have changed vastly over the past few decades. To profit from the precision afforded by these advanced devices and improve the efficiency, safety and sustainability of agriculture and lessen its negative impact on the environment, the power of data must be harnessed. By allowing the estimation of P and Ca requirements for different bone mineralisation objectives for the moment and in a further version for growth performance, the proposed model offers a more robust approach than existing models. It also contributes to the science underlying precision feeding (Pomar *et al.*, 2015), a potentially transformative technology and promising tool for ensuring the sustainability of animal protein production by feeding livestock exactly what they need, thereby reducing feed costs and environmental impact.

Acknowledgments

The authors are grateful for useful advice and suggestions from Dr. Hans Stein.

Declaration of interest

None.

Ethics statement

Not applicable.

Software and data repository resources

None of the data or the model were deposited in an official repository.

References

- Andretta, I., Pomar, C., Rivest, J., Pomar, J., Lovatto, P. A., & Radünz Neto, J. (2014). The impact of feeding growing–finishing pigs with daily tailored diets using precision feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and carcass composition¹. *Journal of Animal Science*, 92(9), 3925–3936. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7643> (cit. on p. 67)
- Andretta, I., Pomar, C., Rivest, J., Pomar, J., & Radünz, J. (2016). Precision feeding can significantly reduce lysine intake and nitrogen excretion without compromising the performance of growing pigs. *Animal*, 10(7), 1137–1147. <https://doi.org/10.1017/S1751731115003067> (cit. on p. 67)
- Bikker, P., & Blok, M. (2017). *Phosphorus and calcium requirements of growing pigs and sows* (tech. rep. No. 59). <https://doi.org/10.18174/424780>. (Cit. on pp. 61, 66, 72)
- Couture, C., Chiasson, R., Pomar, C., & Letourneau, M.-P. (2018). Évolution de la teneur en protéine corporelle et du contenu minéral osseux des porcs charcutiers nourris avec différents niveaux de phosphore et calcium alimentaires. *Journées Recherche Porcine*, 50(1), 167–168 (cit. on pp. 62–64).
- Crenshaw, T. D. (2001). Calcium, Phosphorus, Vitamin D, and Vitamin K in Swine Nutrition. In A. J. Lewis & L. L. Southern (Eds.), *Swine Nutrition, Second Edition* (CRC Press, pp. 187–212). New York. (Cit. on pp. 65, 67, 73).
- Doeschl-Wilson, A. B., Knap, P. W., & Kinghorn, B. P. (2006). Evaluating animal genotypes through model inversion. In R. Gous, T. Morris, & C. Fischer (Eds.), *Mechanistic Modelling in Pig and Poultry Production* (pp. 162–187). Trowbridge, UK, CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845930707.0163>. (Cit. on p. 62)
- GfE. (2008). *Recommendations for the supply of energy and nutrients to pigs*. Frankfurt am Main, Germany, DLG Verlag. (Cit. on p. 72).
- González-Vega, J. C., Liu, Y., McCann, J. C., Walk, C. L., Looor, J. J., & Stein, H. H. (2016a). Requirement for digestible calcium by eleven- to twenty-five-kilogram pigs as determined by growth performance, bone ash concentration, calcium and phosphorus balances, and expression of genes involved in transport of calcium in intestinal and kidney cell. *Journal of Animal Science*, 94(8), 3321. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0444> (cit. on p. 72)
- González-Vega, J. C., Walk, C. L., Murphy, M. R., & Stein, H. H. (2016b). Requirement for digestible calcium by 25 to 50 kg pigs at different dietary concentrations of phosphorus as indicated by growth performance, bone ash concentration, and calcium and phosphorus balances. *Journal of Animal Science*, 94(12), 5272–5285. <https://doi.org/10.2527/jas.2016-0751> (cit. on pp. 72, 73)

- González-Vega, J. C., Walk, C. L., & Stein, H. H. (2015a). Effect of phytate, microbial phytase, fiber, and soybean oil on calculated values for apparent and standardized total tract digestibility of calcium and apparent total tract digestibility of phosphorus in fish meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 93(10), 4808. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-8992> (cit. on p. 72)
- González-Vega, J. C., Walk, C. L., & Stein, H. H. (2015b). Effects of microbial phytase on apparent and standardized total tract digestibility of calcium in calcium supplements fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 93(5), 2255–2264. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8215> (cit. on pp. 66, 69, 72)
- González-Vega, J. C., Walk, C. L., Liu, Y., & Stein, H. H. (2014). The site of net absorption of Ca from the intestinal tract of growing pigs and effect of phytic acid, Ca level and Ca source on Ca digestibility. *Archives of Animal Nutrition*, 68(2), 126–142. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2014.892249> (cit. on p. 72)
- Gonzalo, E., Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Bernier, J. F., & Pomar, C. (2018). Consequences of dietary calcium and phosphorus depletion and repletion feeding sequences on growth performance and body composition of growing pigs. *animal*, 12(6), 1165–1173. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002567> (cit. on pp. 62, 64, 67)
- Jondreville, C., & Dourmad, J. Y. (2005). Le phosphore dans la nutrition des porcs. *Productions Animales*, 18(3), 183–192 (cit. on pp. 62, 66, 68, 69, 71, 72).
- Jongbloed, A., van Diepen, J., & Kemme, P. (2003). Fosfornormen voor varkens: herziening 2003. *CVB-documentatierapport nr 30*, (30) (cit. on p. 72).
- Lagos, L. V., Walk, C. L., Murphy, M. R., & Stein, H. H. (2019). Effects of dietary digestible calcium on growth performance and bone ash concentration in 50- to 85-kg growing pigs fed diets with different concentrations of digestible phosphorus. *Animal Feed Science and Technology*, 247, 262–272. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.11.019> (cit. on pp. 72–74)
- Langlois, J., Pomar, C., & Létourneau-Montminy, M.-P. (2016a). Estimation des besoins de phosphore et de calcium chez le porc de 25 à 50 kilogrammes de poids vif. *Journées Recherche Porcine*, 48(2), 163–164 (cit. on pp. 62, 64, 65, 67).
- Langlois, J., Pomar, C., & Létourneau-Montminy, M.-P. (2016b). Impact de déséquilibres phosphocalciques sur les performances zootechniques et la minéralisation osseuse chez le porc en finition. *Journées Recherche Porcine*, 48(2), 109–114 (cit. on pp. 62, 64, 65, 67).
- Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., & Létourneau-Montminy, M.-P. (2019a). Mechanistic model of metabolic use of dietary phosphorus and calcium and dynamics of body ash deposition in growing pigs: version 2.0., In *Proceedings of the 9th Workshop on Modelling Nutrient Digestion and Utilization in Farm Animals (MODNUT)*. (Cit. on p. 62).
- Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., & Létourneau-Montminy, M.-P. (2019b). Modèle mécaniste de l'utilisation métabolique du phosphore et du calcium alimentaires et de la dynamique de dépôt des cendres corporelles : version 2. 0. *Journées Recherche Porcine*, 51(2), 135–140 (cit. on pp. 62, 72).
- Lee, S. A., Lagos, V. L., & Stein, H. H. (2019). Growfinish diet formulation. (Cit. on p. 72).
- Létourneau-Montminy, M. P., Jondreville, C., Sauvante, D., & Narcy, A. (2012). Meta-analysis of phosphorus utilization by growing pigs: effect of dietary phosphorus, calcium and exogenous phytase. *Animal*, 6(10), 1590–1600. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000560> (cit. on pp. 62, 74)
- Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Dourmad, J. Y., Crenshaw, T. D., & Pomar, C. (2015). Modeling the metabolic fate of dietary phosphorus and calcium and the dynamics of body ash content in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 93(3), 1200–1217. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8519> (cit. on p. 62)
- Létourneau-Montminy, M.-P., & Narcy, A. (2013). Meta-analysis of the impact of dietary phosphorus, calcium, and microbial phytase on growth performance in pigs., In *Poster Presented at the Annual Meeting of Midwest ASAS ADSAS, 10–13 March 2013, Des Moines, USA, P100*. (Cit. on p. 74).
- Merriman, L. A., & Stein, H. H. (2016). Particle size of calcium carbonate does not affect apparent and standardized total tract digestibility of calcium, retention of calcium, or growth performance of growing pigs. *Journal of Animal Science*, 94(9), 3844–3850. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-0252> (cit. on p. 72)

- Merriman, L. A., Walk, C. L., Murphy, M. R., Parsons, C. M., & Stein, H. H. (2017). Inclusion of excess dietary calcium in diets for 100- to 130-kg growing pigs reduces feed intake and daily gain if dietary phosphorus is at or below the requirement. *Journal of Animal Science*, 95(12), 5439–5446. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1995> (cit. on p. 72)
- Narcy, A., Létourneau-Montminy, M.-p., Bouzouagh, E., Même, N., Magnin, M., & Dourmad, J.-Y. (2012). Modulation de l'utilisation digestive du phosphore chez le porcelet sevré : influence de l'apport de calcium et de phytase sur le pH et la solubilité des minéraux au niveau gastro-intestinal. *Journées de la Recherche Porcine*, 44, 159–164 (cit. on p. 74).
- Nielsen, A. J. (1973). Anatomical and Chemical Composition of Danish Landrace Pigs Slaughtered at 90 Kilograms Live Weight in Relation to Litter, Sex and Feed Composition. *Journal of Animal Science*, 36(3), 476–483. <https://doi.org/10.2527/jas1973.363476x> (cit. on pp. 61, 65, 67, 73, 74)
- NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine. 11th rev.* Washington, DC, National Academies Press. (Cit. on pp. 61, 62, 64–66, 68–72).
- Pomar, C., Jondreville, C., Dourmad, J.-y., & Bernier, J. (2006). Influence du niveau de phosphore des aliments sur les performances zootechniques et la rétention corporelle de calcium , phosphore , potassium , sodium , magnésium , fer et zinc chez le porc de 20 à 100 kg de poids vif. *Journées Recherche Porcine de recherche porcine*, 38, 209–216 (cit. on pp. 62, 64, 65, 67).
- Pomar, C., Pomar, J., Rivest, J., Cloutier, L., Létourneau-Montminy, M.-P., Andretta, I., & Hauschild, L. (2015). Estimating Real-time Individual Amino Acid Requirements in Growing-finishing Pigs: Towards a New Definition of Nutrient Requirements in Growing-finishing Pigs? In N. Sakomura, R. Gous, I. Kyriazakis, & L. Hauschild (Eds.), *Nutritional modelling for pigs and poultry* (pp. 157–174). Wallingford, UK, CAB International. (Cit. on p. 74).
- Reinhart, G. A., & Mahan, D. C. (1986). Effect of Various Calcium:Phosphorus Ratios at Low and High Dietary Phosphorus for Starter, Grower and Finishing Swine. *Journal of Animal Science*, 63(2), 457–466. <https://doi.org/10.2527/jas1986.632457x> (cit. on pp. 72, 74)
- Remus, A., Hauschild, L., Methot, S., & Pomar, C. (2020). Precision livestock farming: real-time estimation of daily protein deposition in growing–finishing pigs. *Animal*, 14, s360–s370. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001469> (cit. on p. 67)
- Sobol, I. M. (1993). Sensitivity analysis for nonlinear mathematical models. *Mathematical Modelling Computational Experiments*, 1(4)arXiv arXiv:1305.4373v1, 407–414. <https://doi.org/10.18287/0134-2452-2015-39-4-459-461>. (cit. on pp. 67, 73)
- Stein, H. H., Merriman, L. A., & González-Vega, J. C. (2016). Establishing a digestible calcium requirement for pigs. In *Phytate Destruction - Consequences for Precision Animal Nutrition* (pp. 207–216). The Netherlands, Wageningen Academic Publishers. https://doi.org/10.3920/978-90-8686-836-0_13. (Cit. on pp. 66, 69)
- Suttle, N. F. (2010). *Mineral nutrition of livestock, 4th Edition* (N. Suttle, Ed.). Wallingford, CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845934729.0000>. (Cit. on pp. 73, 74)
- U.S. Geological Survey. (2019). *Mineral Commodity Summaries* (tech. rep.). <https://doi.org/10.3133/70202434>. (Cit. on p. 61)
- van Milgen, J., Valancogne, A., Dubois, S., Dourmad, J.-Y., Sève, B., & Noblet, J. (2008). InraPorc: A model and decision support tool for the nutrition of growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 143(1-4), 387–405. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.020> (cit. on pp. 62, 64, 66)
- Vier, C. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Gonçalves, M. A. D., Orlando, U. A. D., Bergstrom, J. R., & Woodworth, J. C. (2019a). Calcium to phosphorus ratio requirement of 26- to 127- kg pigs fed diets with or without phytase. *Journal of Animal Science*, 1–19. <https://doi.org/10.1093/jas/skz257> (cit. on pp. 67, 72, 74)
- Vier, C. M., Dritz, S. S., Wu, F., Tokach, M. D., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Gonçalves, M. A. D., Orlando, U. A. D., Chitakasempornkul, K., & Woodworth, J. C. (2019b). Standardized total tract digestible phosphorus requirement of 24- to 130-kg pigs. *Journal of Animal Science*, 97(10), 4023–4031. <https://doi.org/10.1093/jas/skz256> (cit. on p. 67)
- Whittemore, C. T., & Fawcett, R. H. (1976). Theoretical aspects of a flexible model to stimulate protein and lipid growth in pigs. *Animal Science*, 22(1), 87–96. <https://doi.org/10.1017/S0003356100035455> (cit. on p. 62)

Chapitre 5

Effets d'une déplétion-réplétion en phosphore et calcium sur les performances et la minéralisation osseuse des porcs en croissance

Effects of phosphorus and calcium depletion on performances and bone mineralization in growing pigs

M. Lautrou^{1,2}, C. Pomar³, P. Schmidely², M.P. Létourneau-Montminy¹,

¹Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC, G1V 0A6 Canada

²UMR Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA, AgroParis-Tech, Université Paris-Saclay, 75005 Paris, France

³Agriculture et Agroalimentaire Canada, Sherbrooke, QC, J1M 1Z3 Canada

5.1 Résumé

Une séquence de déplétion-réplétion en apports de phosphore et de calcium a été testée afin d'améliorer l'utilisation de ces minéraux chez les porcs en croissance. L'apport en phosphore et calcium lors de la phase de déplétion était soit équilibré (ratio Ca:P digestible à 2,7) soit déséquilibré (ratio à 3,1). Bien que la période de déplétion n'ait pas été aussi longue que prévue (moins de 28 jours), elle a permis d'augmenter l'utilisation du phosphore avec les deux traitements testés. De plus, en phase de réplétion, le gain de contenu minéral osseux était numériquement plus élevé dans un des traitements de déplétion que dans le groupe contrôle. Finalement, cette stratégie a permis de diminuer l'apport en phosphore et d'en augmenter son utilisation sans diminuer les performances de croissance ou la minéralisation osseuse.

5.2 Abstract

The use of phosphorus (P) nowadays raises environmental (eutrophication) and sustainability (limited resource) issues for the pig industry. Initial trials have shown that it is possible to obtain similar growth performances between pigs fed on a requirement basis and pigs fed on a P depletion-repletion strategy. In order to optimize the use of dietary P by pigs, 3 feeding strategies, according to a 3-phases feeding plan, were studied 1) C-C-C providing 100% of the P and calcium (Ca) requirement, 2) C-N-C, providing 100% of the P and Ca requirement in phases 1 and 3, depletion in phase 2 with 60% of the P requirement and 65% of the Ca requirement, and 3) C-H-C, providing 100% of the P and Ca requirements in phases 1 and 3, depletion in phase 2 with 60% of the P requirement and 80% of the Ca requirement. Bone mineral content (BMC) and body weight were measured at the beginning and end of each phase. BMC gain, average daily gain (ADG), daily feed intake (ADFI) and feed efficiency were calculated per phase. In phase 1, all pigs received the same diet: pigs grew up more than expected. At the end of phase 2, the C-N and C-H groups had similar BMC to the C-C group. At the end of phase 3, the BMC gain was the same in all groups, despite a very higher BMC gain in the C-N-C group than other groups (25.5 g/d vs 18.1 g/d on average in the C-H-C and C-C-C groups). Although depletion did not cause a decrease in BMC in the C-N-C and C-H-C groups (versus C-C-C), it did result in better P use during repletion. These results demonstrate the value of a depletion-repletion strategy to reduce P intake and excretion without affecting final performance.

5.3 Introduction

The decrease in pig farms number and the increase in pig meat consumption led to an intensification of livestock production in some regions. The density of pig farms in these areas has led to various problems, particularly environmental problems due to phosphorus (P) in the manure. Moreover, the P is mainly found as phytates in cereal-based diets. This form is poorly available for pigs, leading to an excretion of more than half of the ingested P (Jondreville & Dourmad, 2006; Selle & Ravindran, 2008). For this reason, pig receives a mineral form of phosphate that is a limited resource (Van Enk *et al.*, 2011). Therefore, the efficient use of P remains a sustainability issue for the swine industry. Pigs receiving a deficient P diet can increase its utilization by digestive and metabolic adaptations (Breves & Schröder, 1991). This restriction can reduce mineral P supply, feed cost and environmental consequences. When a depletion period using deficient diet is followed by a repletion (diet that satisfy phosphorus requirements), the increased P utilization is maintained (Aiyangar *et al.*, 2010; Létourneau-Montminy *et al.*, 2014; Gonzalo *et al.*, 2018). Previous trials with sequences of depletion and repletion in the P and calcium (Ca) intake have shown that it is possible to achieve the same final level of bone mineralization in pigs fed on a requirement basis, while maintaining growth performance at a similar level (Varley *et al.*, 2011; Létourneau-Montminy *et al.*, 2014; Gonzalo *et al.*, 2018). However, this strategy does not always achieve the same level of bone mineral content (BMC) as the control, securing skeletal quality (Aiyangar *et al.*, 2010; Gonzalo, 2017). Moreover, the bone mineral deposition increase linearly with bodyweight, while the protein deposition reaches a plateau or a maximum at 60 kg (Couture *et al.*, 2018; Lautrou *et al.*, 2020). The period before 60 kg with a high protein deposition in soft tissues and the limited potential of bone mineral deposition seems unsafe for bone health. Therefore more researches are needed to identify the levers to maximize the P and Ca efficiencies through depletion-repletion protocols. The objective of this study was to determine if the use of a Ca and P depletion-repletion protocol would increase Ca and P utilization of this mineral by pigs, without affecting growth performance and slaughtered bone mineralization level.

5.4 Material and methods

Animals were housed and treated in accordance with the guidelines established by the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009). The protocol for this experiment was reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee at the Laval University Québec, QC, Canada.

5.4.1 Experimental diets

The pigs were fed according to a three phases feeding program. The phases lasted 39, 27 and 28 days (expected 25 to 55 kg, 55 to 90 kg and 90 to 125 kg). In this trial, feed met all of the pig's nutritional requirements (NRC, 2012) except for P and Ca. A first group (**C-C-C**) was fed a diet covering 100% of the total Ca and digestible P requirements for maximum bone mineralization during the three feeding phases (Lautrou *et al.*, 2020) (Tables 5.1). A depletion-repletion strategy was applied in the **C-N-C** and **C-H-C** groups with 100% of the requirement covered in phases 1 and 3, and in phase 2 60% of the digestible P requirement and 65% or 80% of the Ca requirement for maximal bone mineralization. In phase 2, the Ca:digestible P ratio was normal in the N-feed (2.6) and high in the H-feed (3.2). The optimal digestible P concentration to maximize bone mineralization were estimated at 4.3, 2.6 and 2.2 g/kg with a total Ca to digestible P ratio at 2.3, 2.4 and 2.7 for phase 1, 2 and 3 respectively. During the first phase, the diet was in meal while during the second and third phases it was steam-pelleted. During the first phase, no pigs received a depleted diet in P or Ca, because it is the period with an increase in protein deposition (before 60 kg of bodyweight) and a low bone mineral deposition. That is why, to avoid any risks of fractures or lameness, all animals received a control diet maximizing bone mineral content deposition. This also allowing to ensure the level of Ca and P brought before the depletion, since the pigs were not raised on the farm before the beginning of the trial.

5.4.2 Growth trial

The experimental diet distribution started when the mean body weight of pigs was about 30 kg. One hundred and forty four castrated pigs (276 or 275 Fast female x PIC 800 Duroc) were randomly assigned to treatments and housed in pens of six pigs 4 days before starting the trial. Individual body weight was recorded at the beginning and the end of each phase. The delivered feed was weighted daily per pen and the refusal at the end of phases. The body composition of 8 animals per treatments (one animal per pen) was measured at the beginning and the end of each phase with dual-energy X-ray absorptiometry (DXA, Hologic Discovery W, Hologic Inc., Waltham, MA) to quantify the bone mineral content (BMC), bone mineral density (BMD), and mass of lean and fat tissues. The animals received an injection of azaperone (2.2 mg/kg BW; Stresnil; Jansen-Cilag, Neuss, Germany) to be calmed and then were anesthetized by mask inhalation of sevoflurane (Sevorane; Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) at an oxygen concentration of 7% until sleepiness. Sevoflurane was then replaced by isoflurane (IsoFlo; Abbott Laboratories) at an oxygen concentration of 5% in order to keep the pigs anesthetized during scans. The animals were scanned in prone position with the front legs along the sides of the body using whole-body mode. At the end of phase 3, the animals were too heavy to be scanned, and only their heads recovered from the slaughterhouse were scanned.

At beginning and end of phases 1 and 2 blood samples were collected on all scanned animals (d-1; d37-38; d66-68). The blood samples were collected in dry and sodium heparinized vacutainer tubes (Becton Dickson, Franklin Lakes, NJ), to obtain serum and plasma after a 20 min at 2000 g centrifugation. The plasma and serum samples were frozen at -80°C until analyzes.

Table 5.1 – Ingredients and chemical composition of diets varying in dietary calcium and phosphorus concentration (as-fed basis)

Treatments ¹	Phase 1	Phase 2		Phase 3	
	C	C	N	H	C
Ingredients ² , g/kg					
Corn	713.1	575	575	575	575
Wheat		245.1	260.6	257.4	233.4
Soybean meal 47%	222.6	144.5	141.8	142	158.5
Soy oil	15.8	4.9	1	1.6	6.7
Limestone	14.1	9.4	6.5	8.9	9.6
Monocalcic phosphate	18.7	8.5	2.6	2.6	6.3
Salt	5.4	4.9	4.9	4.9	7.1
L-Lysine	4.4	3.73	3.79	3.78	1.57
DL-Methionine	1.29	0.54	0.52	0.52	
L-Threonine	1.47	1.13	1.14	1.13	0.22
L-Tryptophan	0.56	0.29	0.29	0.29	
L-Valine	0.51				
Vitamin-mineral premix	2	2	2	2	1.6
Chemical composition ³					
Dry matter (%)	89.1	86.1	85.9	87.2	89.1
Total calcium (g/kg)	10.0	6.3	4.1	4.6	5.8
Total phosphorus (g/kg)	7.1	5.1	4.0	4.0	4.7
Digestible phosphorus (g/kg)	4.3	2.6	1.5	1.5	2.2
Total Ca/digestible P	2.3	2.4	2.7	3.1	2.2

¹ C: Control diet at 100% of the total Ca and digestible P requirements for a maximal bone mineralization; N: diet at 60% of the digestible P requirements and 65% of the total Ca requirements; H: diet at 60% of the digestible P requirements and 80% of the total Ca requirements.

² During the first phase, the diet was in mash while during the second and third phases it was in pelleted form.

³ Dry matter, total P and Ca were analyzed, digestible P and ratio were calculated from Sauvant *et al.* (2004).

Metabolic trial

Total collects of feces and urine were organized during phase 2. On the day 58 (phase 2) of the experiment, at about 100 kg, 6 animals of the C-C, C-N and C-H groups were placed in metabolic cages for 5 days with one day of adaptation. For each pig, total feces and 20% of urine were daily collected separately during 4 consecutive days and then frozen at -20°C. Thawed feces were homogenized with water, then samples were frozen at -20°C and freeze-dried before analyses. Thawed urines were filtrated (Ashless, grade 42, Whatman), then samples were frozen at -20°C before analyses.

5.4.3 Calculations

Average daily feed intake (ADFI) was estimated per pen and phase, with intake per pen divided by the number of days in the phase and the number of pigs in the phase. The average daily gain (ADG) was estimated per pen as the mean of the difference between the weight of each pig of the pen at the end of the phase and the beginning divided by the number of days for the phase. Gain to feed (G:F) represents the average ADG of the pen per kg of feed intake (ADG/ADFI), by phase and pen. At phase 3, whole-body BMC was estimated according to Létourneau-Montminy *et al.* (2017) based on bone mineral density of the head. However, the amount of lean and fatty tissues were not available. To be able to compare the results of the end and the beginning of phase 3, the same BMC calculations were realized based on the BMC head region of the beginning of phase 3. The daily BMC gain was calculated per pig, as the difference of BMC between the end and beginning of phase, divided by the number of days of the phase. Body lean and fat content were used to determine whole body protein and lipid contents as proposed by Pomar and Rivest (1996). Whole body Ca and P contents were calculated as the sum of Ca and P contained in bone, muscle, and fat. The percentage of Ca and P in bone represents approximately 39% and 18%, respectively, of the whole body BMC (Crenshaw, 2001). P and Ca concentrations in protein and lipid were estimated as those associated with lean and adipose tissue, respectively, as in Lautrou *et al.* (2020). The retention efficiency coefficients of total Ca and digestible P considering phytase matrices were calculated by dividing the daily body gains in P and Ca by the daily ingested quantities estimated by phase, in phases 1 and 2.

5.4.4 Chemical analysis

Feed samples were taken at the beginning of the phase to analyze Ca and P concentrations and phytase activity level. Dry matter was analyzed in feed samples thereafter using Association of Official Analytical Chemists (1990) standard methods for dry matter (Method 950.46). The Ca, P in the feed were analyzed according to inductively-coupled plasma spectrometry (ICP-ES Perkin-Elmer Optima 3000; PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Phytase activity was also measured. The Ca, P and magnesium (Mg) in the plasma were analyzed according to inductively-coupled plasma spectrometry (ICP-ES Perkin-Elmer Optima 3000; PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Procollagen I C-terminal Propeptide (PICP) and Cross Linked C-telopeptide of Type I Collagen (CTX) concentrations in serum were measured using ELISA kits (Porcine PICP, Elabscience, Houston, TX, USA, and Porcine CTX-1 Elisa, Novus biologicals, Toronto, Canada). The serum osteocalcin (OC) concentration was analyzed using ELISA kit (Porcine OC/BGP (Osteocalcin/Bone Gla Protein), Elabscience, Houston, TX, USA). The calcitriol precursor (25(OH)-vitamin D₃, called calcidiol) was measured in serum using an ELISA kit (25 Hydroxy Vitamin D3 (25OHVD3), ELISA Kit, MyBioSource, San Diego, CA, USA). Feces samples were freeze-dried at 85°C. Ca and P in feces and urine were analyzed according to inductively-coupled plasma spectrometry.

5.4.5 Statistical analysis

Given the large number of animals, the measurements (scan, weighing and refusal of feed) could not all be performed on the same day. Corrections were applied by linear regression to bring the data back to the same phase duration, the feeding phase. The results were analyzed using the OLS procedure of the Statsmodels package under Python 3. The experimental unit was the pen for body weight, ADG, ADFI and G:F and was the pig for BMC, protein, lipid and blood samples. The effects of dietary treatments were evaluated separately for each feeding phase. In phase 1 the treatments were the same in each group. In phases 2 and 3, the differences were considered significant when $P \leq 0.05$ and a value of $P \leq 0.10$ denotes a statistical trend. When differences were significant, means were separated using Tukey's Highly Significant Difference test.

5.5 Results

The analyzed values of Ca and P were consistent with what was expected. During the adaptive phase, 3 animals died of unknown reasons.

5.5.1 Adaptative and depletion phases

During the first phase, all pigs received the same diet aiming to maximize the bone mineral content. The trial started when pigs weighted about 30 kg and the first period ended 39 days after with pigs at 73.1 kg (Table 5.2). Thanks to these long adaptative period, the initial conditions (body weight, body protein, lipid, P and Ca, BMC, mineral blood status) of the pigs were the same at the beginning of the depletion period.

During the second phase, two groups received a depletion diet. The bodyweight, body protein and lipid, and growth performances (ADG, ADFI, gain to feed) were the same in the three groups (Table 5.3). The BMC, body P and Ca were also the same, because of similar BMC, P and Ca gain. The plasma P level were higher in the C-N group compared to the C-C group ($P < 0.05$). The plasma Ca level tended to be higher in C-N group than others ($P = 0.07$), while Mg level was not different. The Ca:P was the same in all groups. The pigs of all groups had the same CTX, PICP and OC levels in plasma. The vitamin D₃ concentration tended to be lower in the C-C and C-N groups than the C-H (16.73, 17.93 and 25.00 ng/mL, respectively ; $P = 0.06$).

The P intake during the balance trial were higher in the C-C than the depletions groups ($P < 0.01$; table 5.4). However, the fecal P excretion were the same in the C-C and C-N groups and lower than in the C-H group ($P < 0.01$). The quantity of P absorbed was limited in the depletions groups compared to the C-C one : 12.12, 5.73 and 5.35 g/d in the C-C, C-N and C-H groups respectively ($P < 0.001$). Therefore the absorption efficiency of P was reduced in the C-H group, intermediate in the C-N group and the higher in the C-C group ($P < 0.001$). Urine P excretion was the same in the three groups, leading to a higher quantity of P retained in C-C group than the the depletions groups ($P < 0.001$). The P retention efficiency was lower in the C-N pigs than others ($P < 0.05$). The Ca intake was higher in the C-C group (18.89 g/d), than the C-N and C-H group (9.93 g/d and 13.59 g/d, respectively ; $P < 0.001$). Fecal Ca excretion was the lowest in the C-N group (but not different from the fecal excretion of the C-H group) and the same in the C-C and C-H groups (7.15 versus 3.92 g/d ; $P < 0.01$). Urine Ca concentration was undetectable in all groups. The quantity of Ca absorbed was higher in the C-C group (11.70 g/d) than in the C-H and C-N groups (6.49 g/d and 6.01 g/d, respectively ; $P < 0.01$). Finally, Ca absorption efficiency was not different between the groups.

Table 5.2 – Growth performance and mineral status in pigs feeding phase 1

	C	SEM ²
Initial conditions		
Body weight, kg	30.3	0.23
Bone mineral content, g	524	11.9
Protein, g	4102	128.0
Lipid, g	7405	191.9
Phosphorus, g	141	3.3
Calcium, g	206	4.7
Final conditions		
Body weight, kg	73.1	0.47
Bone mineral content, g	1374	29.9
Protein, g	11408	227.2
Lipid, g	15006	422.6
Phosphorus, g	362	7.1
Calcium, g	539	11.7
Performances ¹		
ADG, kg/d	1.10	0.009
ADFI, kg/d	2.51	0.023
Gain to feed, kg	0.438	0.0037
BMC gain, g/d	21.8	0.58
P gain, g/d	5.7	0.12
Ca gain, g/d	8.6	0.23
digP efficiency, %	53.2	1.19
Ca efficiency, %	34.0	0.90

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; BMC: bone mineral content; digP: digestible phosphorus.

² SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

Table 5.3 – Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 2

	Treatment			SEM ²	p-values ³
	C-C	C-N	C-H		
Initials conditions					
Body weight, kg	72.7	73.1	73.6	1.09	0.76
Bone mineral content, g	1319	1394	1410	56.7	0.44
Protein, g	11251	11291	11683	482.8	0.71
Lipid, g	14565	14641	15812	950.8	0.42
Phosphorus, g	351	365	371	12.9	0.51
Calcium, g	518	547	553	22.2	0.44
Ca plasma, mg/dL	11.68	11.00	10.86	0.519	0.29
P plasma, mg/dL	8.53	8.11	8.20	0.453	0.76
Mg plasma, mg/dL	1.80	1.66	1.77	0.094	0.38
Ca:P	1.37	1.30	1.33	0.040	0.33
CTX, ng/mL	6.56	3.18	3.39	1.673	0.07
PICP, pg/mL	145.88	194.94	208.48	70.102	0.74
OC, ng/mL	6.37	4.87	8.25	1.725	0.26
Vitamin D ₃ , ng/mL	13.83	12.49	14.48	1.334	0.31
Final conditions					
Body weight, kg	108.9	110.2	109.6	1.41	0.76
Bone mineral content, g	1835	1817	1850	105.8	0.96
Protein, g	15400	15336	15197	561.3	0.96
Lipid, g	28442	31283	31294	2513.9	0.49
Phosphorus, g	482	483	488	21.5	0.97
Calcium, g	720	713	726	41.4	0.96
Ca plasma, mg/dL	11.55	12.78	11.47	0.474	0.07
P plasma, mg/dL	8.17 ^a	10.20 ^b	8.65 ^{ab}	0.627	*
Mg plasma, mg/dL	1.57	1.63	1.58	0.058	0.68
Ca:P	1.41	1.26	1.36	0.069	0.12
CTX, ng/mL	4.52	3.23	3.17	1.293	0.45
PICP, pg/mL	12.41	113.18	128.73	42.565	0.11
OC, ng/mL	3.57	3.66	3.99	0.669	0.88
Vitamin D ₃ , ng/mL	16.73	17.93	25.00	3.712	0.06
Performances ¹					
ADG, kg/d	1.31	1.35	1.32	0.039	0.71
ADFI, kg/d	3.51	3.65	3.64	0.089	0.43
Gain to feed, kg	0.375	0.370	0.363	0.0063	0.35
BMC gain, g/d	18.4	15.9	16.3	2.76	0.70
P gain, g/d	4.7	4.4	4.3	0.56	0.79
Ca gain, g/d	7.2	6.3	6.4	1.08	0.70
digP efficiency, %	52.6 ^a	77.9 ^b	76.3 ^b	5.80	*
Ca efficiency, %	32.8	40.8	37.9	4.95	0.43

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; BMC: bone mineral content; digP: digestible phosphorus.

² SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

³ Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^{a, b, c} Values with different superscript letters differ ($P < 0.05$) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

Table 5.4 – Phosphorus and calcium balance in pigs measured during the second feeding phase

	Treatments			SEM ¹	p-values ²
	C-C	C-N	C-H		
Phosphorus					
Intake, g/d	15.14 ^a	9.55 ^b	11.59 ^b	1.043	**
Feces, g/d	3.02 ^a	3.83 ^a	6.24 ^b	0.708	**
Urine, g/d	0.82	0.90	0.38	0.201	0.21
Absorbed, g/d	12.12 ^a	5.73 ^b	5.35 ^b	1.020	***
Retained, g/d	11.58 ^a	4.98 ^b	5.16 ^b	0.972	***
Absorption, % intake	79.98 ^a	59.78 ^b	46.70 ^c	4.156	***
Retention, % absorbed	95.54	84.29	96.53	5.556	*
Calcium					
Intake, g/d	18.89 ^a	9.93 ^b	13.59 ^b	1.301	***
Feces, g/d	7.19 ^a	3.92 ^b	7.10 ^{ab}	1.265	*
Urine, g/d	Undetectable ³				
Absorbed, g/d	11.70 ^a	6.01 ^b	6.49 ^b	1.584	**
Retained, g/d	11.66 ^a	5.94 ^b	6.49 ^b	1.588	**
Absorption, % intake	61.90	60.21	47.86	6.722	0.12
Retention, % absorbed		100			

¹ SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

² Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

³ Urine calcium concentration was under the detection limit (<0.01%)

^{a, b, c} Values with different superscript letters differ ($P < 0.05$) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

Table 5.5 – Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 3

	Treatment			SEM ²	p-values ³
	C-C-C	C-N-C	C-H-C		
Initial conditions ¹					
Body weight, kg	108.9	110.2	109.6	1.41	0.76
Bone mineral content, g	1957	1865	1979	109.4	0.67
Final conditions ¹					
Body weight, kg	131.6	135.2	134.6	1.45	0.13
Bone mineral content, g	2342	2558	2509	96.9	0.23
Performances					
ADG, kg/d	1.11	1.22	1.20	0.059	0.32
ADFI, kg/d	3.88	4.04	4.06	0.097	0.25
Gain to feed, kg	0.286	0.302	0.296	0.0161	0.68
BMC gain, g/d	18.7	25.5	17.5	3.77	0.14

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; BMC: bone mineral content.

² SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

³ Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^{a, b, c} Values with different superscript letters differ ($P < 0.05$) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

5.5.2 Repletion phase

At the end of the repletion phase, the pigs reached the same body weight and BMC in the three groups and the growth performances (ADG, ADFI, gain to feed and BMC gain) were the same (Table 5.5).

5.6 Discussion

During the adaptative phase, animals had a higher feed intake than expected based on in-field growth performance. Given that energy level was as expected, it's possible that the experimental conditions allowed better performance. This ADFI increased lead to heavier pigs than expected : about 70 kg at the end of the phase instead of 55 kg. The BMC gain for animals at this weight was a little more than estimated by Lautrou *et al.* (2020) (20.0 versus 21.8 g/d, Figure 5.1). Therefore we suppose that pigs reached their maximal BMC gain potential.

The depletion in digestible P and Ca intake had no effect on the growth performances in agreement with Pomar *et al.* (2006) and Létourneau-Montminy *et al.* (2014), which despite P deficiencies, have not seen a decrease in pig performance. Nevertheless, in the current study we expected that the growth performances may be reduced by the C-H diet, which was supposed to induce a higher P deficiency with the low P combined with high Ca:P ratio (Reinhart & Mahan, 1986). It is well known that a phosphocalcic imbalance with an excess of Ca in the gut can lead to the formation of insoluble Ca-P complexes (Heaney & Nordin, 2002; Létourneau-Montminy *et al.*, 2012) that exacerbate the P deficiency and could decrease the ADFI and then the growth performances (Suttle, 2010).

The depletion did not affected BMC which is not in accordance with Létourneau-Montminy *et al.* (2014) and Gonzalo *et al.* (2018). This suggests that Ca and P levels were not enough low to induce bone mineralization deficit, whereas a decrease of 42% of digestible P and from 17% to 25% of Ca, in H and N diets, respectively in comparison to C diet. The Ca was undetectable in urines,

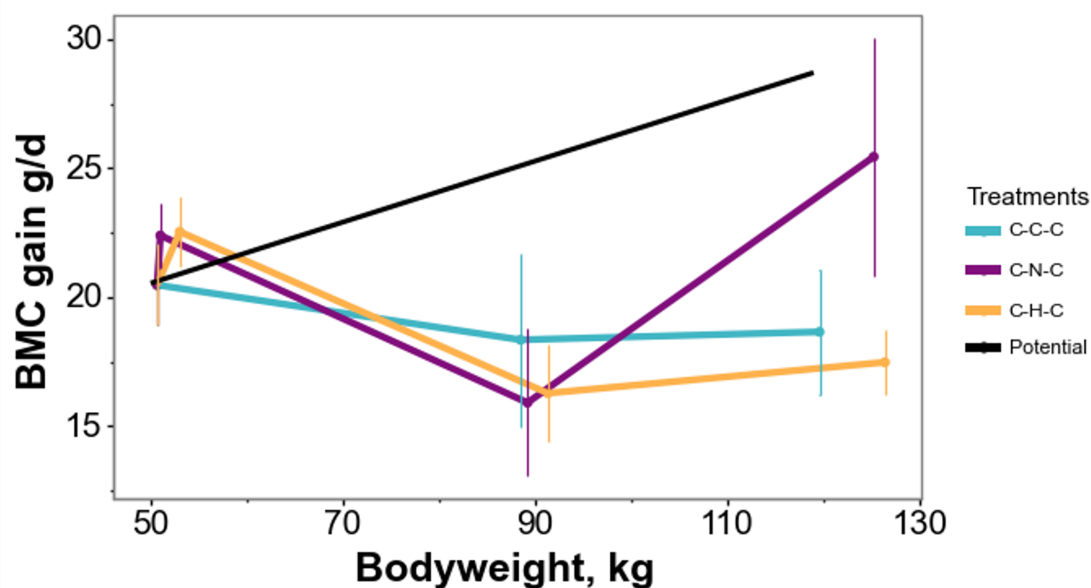


Figure 5.1 – Realized BMC gain (g/d) per phase in each groups and potential BMC gain (g/d) according to Lautrou *et al.* (2020)

and the absorption efficiency of Ca was the same in the C-C and C-N groups and numerically higher than in the C-H one, suggesting that the Ca was limiting for bone retention in all diets, even the C-C. This lack of Ca could be the cause of the lower BMC gain in the C-C pigs in the second feeding phase compared to the adaptative phase (18.4 versus 21.8 g/d, Figure 5.1), whereas the BMC gain usually increases with body weight when animals fed adequate P and Ca diets (Couture *et al.*, 2018; Lautrou *et al.*, 2020). Therefore, because the bone mineralization was not maximized in the C-C group, the difference could have been lower with depleted groups. Meanwhile, Ca deprivation triggers the parathormone pathway that first stimulate the Ca reabsorption in the kidney and the Ca and P release from bones, and then the calcitriol synthesis by kidneys to enhance the Ca and P intestinal absorption and the reabsorption by kidneys (Schröder & Breves, 2006). The synthesis of calcitriol (1,25(OH)₂-vitamin D₃) comes from the hydroxylation of calcidiol (25(OH)-vitamin D₃, Holick, 2006), the circulating form of vitamin D, which tended to be lower in C-C and C-N groups compared to the C-H group. Moreover, the higher concentration of plasma Ca and P of C-N pigs are probably the result of higher absorption and reabsorption due to parathormone and calcitriol (Schröder & Breves, 2006; Riccardi & Brown, 2010). Finally, C-N and C-H pigs were depleted enough to have an increase utilization of P although bone mineralization was not modified.

The depletion that C-H pig experienced was supposed to be more acute because of higher Ca:P ratio. Consequently, there was no activation of the parathormone pathways because of a higher Ca status (Sommerville *et al.*, 1985). This is confirmed by the fact that calcidiol concentration in serum was not decreased in C-H pigs, suggesting that there was no synthesis of calcitriol. Despite similar level of digestible P in C-H and C-N diets, the high Ca supply in C-H results in lower intestinal absorption (46.7 vs 59.8%), because of their antagonism in the small intestine lumen. Besides, given the higher Ca level in C-H compared to C-N, the P retention over absorbed is way higher in C-H (97 vs 84%) due to Ca available to retain the P absorbed in the bone. It is interesting to note that the PICP, a marker of osteoblast activity and consequently bone formation (Eklou-Kalonji *et al.*, 1999; Delmas *et al.*, 2000) was numerically increased in the serum of both C-N and C-H indicating higher capacity to deposit mineral into bone. This results combined to the decreased calcidiol level in C-N group could mean that at the end of depletion phase, the bone formation was risen, as if the pigs was finally in a repletion phase. This result suggests that C-H and C-N pigs have

known a deprivation period, probably at the beginning of the depletion phase. Thereafter, the bone formation was increased allowing pigs to recover bone mineral deficit before the scan at the end of depletion phase.

The repletion had no effect on the growth in accordance with Varley *et al.* (2011), Létourneau-Montminy *et al.* (2014) and Gonzalo *et al.* (2018). As in the second phase, the BMC gain in the C-C-C group was lower than expected : 21.6 versus 28.3 g/d (Figure 5.1). At the end of the phase 3, the pigs could not be scanned, because of their heavy weight. Therefore, the body BMC content was estimated according to (Létourneau-Montminy *et al.*, 2017), based on the bone mineral density of the heads. This recalculation could have bring a little error compared to the direct measure of the total body BMC. The BMC at the beginning of the phase 3 was also recalculated to limited the error on the BMC gain, but this method is certainly less precise than a direct measure of the whole body BMC. The non significant difference despite the important gap in BMC gain between C-N-C and C-C-C pigs, could be related to the fact that we could not scan entire pigs and to the reduced number of heads that we received : 5 to 6 per group compared to 8 scanned animals at other times. Létourneau-Montminy *et al.* (2014) and Gonzalo *et al.* (2018) observed an increased P and Ca utilization efficiency until 56 days of repletion. Therefore, the numerically better BMC gain in the C-N-C group (+6.8 g/d compared to the C-C-C group) confirms that there was a short depletion, but long enough to cause a reaction to the deficiency and improved P and Ca utilizations even more than 28 days after the depletion. The higher BMC gain conducted to a numerically higher BMC in C-N-C group at the end of the trial. A longer third feeding phase might have allowed to detect a statistical difference in bone mineralization and not only numerical.

5.7 Conclusion

The objective of this study was to better understand the effect of a depletion-repletion sequence in P and Ca intake on the growth performances and the mineral status of growing pigs. The results show that it is possible to achieve the same level of bone mineralization and fairly comparable growth performance by different strategies. The depletion period in this trial was shorter than expected but sufficient to increase the absorption and metabolic use of P and Ca. A decrease in total P level in the feed of about 9.5% was observed while maintaining the same level of bone mineralization. On the other hand, considering P utilization efficiencies, excretion would have been reduced by 24% during the depletion phase in the depletion-repletion groups (C-N-C and C-H-C). Finally the success of the depletion-repletion strategy mainly depends on the Ca and P estimation of pigs, on the precise measure of the nutrients in feed and also on the way to estimate the digestible part of the total P and Ca.

References

- Aiyangar, A. K., Au, A. G., Crenshaw, T. D., & Ploeg, H. L. (2010). Recovery of bone strength in young pigs from an induced short-term dietary calcium deficit followed by a calcium replete diet. *Medical Engineering and Physics*, 32(10), 1116–1123. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2010.08.001> (cit. on p. 81)
- Breves, G., & Schröder, B. (1991). Comparative Aspects of Gastrointestinal Phosphorus Metabolism. *Nutrition Research Reviews*, 4(1), 125–140. <https://doi.org/10.1079/nrr19910011> (cit. on p. 81)
- Couture, C., Chiasson, R., Pomar, C., & Letourneau, M.-P. (2018). Évolution de la teneur en protéine corporelle et du contenu minéral osseux des porcs charcutiers nourris avec différents niveaux de phosphore et calcium alimentaires. *Journées Recherche Porcine*, 50(1), 167–168 (cit. on pp. 81, 90).
- Crenshaw, T. D. (2001). Calcium, Phosphorus, Vitamin D, and Vitamin K in Swine Nutrition. In A. J. Lewis & L. L. Southern (Eds.), *Swine Nutrition, Second Edition* (CRC Press, pp. 187–212). New York. (Cit. on p. 84).

- Delmas, P. D., Eastell, R., Garnero, P., Seibel, M. J., & Stepan, J. (2000). The Use of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis. *Osteoporosis International*, 11(3), S2–S17. <https://doi.org/10.1007/s001980070002> (cit. on p. 90)
- Eklou-Kalonji, E., Zerath, E., Colin, C., Lacroix, C., Holy, X., Denis, I., & Pointillart, A. (1999). Calcium-Regulating Hormones, Bone Mineral Content, Breaking Load and Trabecular Remodeling Are Altered in Growing Pigs Fed Calcium-Deficient Diets. *The Journal of Nutrition*, 129(1), 188–193. <https://doi.org/10.1093/jn/129.1.188> (cit. on p. 90)
- Gonzalo, E. (2017). *Consequences of a dietary phosphorus and calcium depletion and repletion strategy in growing-finishing pigs* (Doctoral dissertation). (Cit. on p. 81).
- Gonzalo, E., Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Bernier, J. F., & Pomar, C. (2018). Consequences of dietary calcium and phosphorus depletion and repletion feeding sequences on growth performance and body composition of growing pigs. *animal*, 12(6), 1165–1173. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002567> (cit. on pp. 81, 89, 91)
- Heaney, R. P., & Nordin, B. E. C. (2002). Calcium effects on phosphorus absorption: Implications for the prevention and co-therapy of osteoporosis. *Journal of the American College of Nutrition*, 21, 239–244 (cit. on p. 89).
- Holick, M. F. (2006). Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *Journal of Clinical Investigation*, 116(8), 2062–2072. <https://doi.org/10.1172/JCI29449> (cit. on p. 90)
- Jondreville, C., & Dourmad, J. Y. (2006). Phosphorus in pig nutrition. *Productions Animales*, 18(3), 183–192 (cit. on p. 81).
- Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., Narcy, A., Schmidely, P., & Létourneau-Montminy, M. (2020). Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling. *Animal*, 14(S2), s313–s322. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001627> (cit. on pp. 81, 82, 84, 89, 90)
- Létourneau-Montminy, M. P., Jondreville, C., Sauvant, D., & Narcy, A. (2012). Meta-analysis of phosphorus utilization by growing pigs: effect of dietary phosphorus, calcium and exogenous phytase. *Animal*, 6(10), 1590–1600. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000560> (cit. on p. 89)
- Létourneau-Montminy, M. P., Lovatto, P. A., & Pomar, C. (2014). Apparent total tract digestibility of dietary calcium and phosphorus and their efficiency in bone mineral retention are affected by body mineral status in growing pigs¹. *Journal of Animal Science*, 92(9), 3914–3924. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7320> (cit. on pp. 81, 89, 91)
- Létourneau-Montminy, M.-P., Couture, C., Cloutier, L., Marcoux, M., & Pomar, C. (2017). Révision de la méthode du bilan alimentaire simplifié en phosphore chez le porc en post-sevrage dans le contexte canadien de production. *Journées Recherche Porcine*, (49), 261–262 (cit. on pp. 84, 91).
- NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine. 11th rev.* Washington, DC, National Academies Press. (Cit. on p. 82).
- Pomar, C., & Rivest, J. (1996). The effect of body position and data analysis on the estimation of body composition of pigs by dual energy x-ray absorptiometry (DEXA)., In *Proceedings of the 46th Annual conference of the Canadian Society of Animal Science*, Lethbridge, Alberta. (Cit. on p. 84).
- Pomar, C., Jondreville, C., Dourmad, J.-y., & Bernier, J. (2006). Influence du niveau de phosphore des aliments sur les performances zootechniques et la rétention corporelle de calcium , phosphore , potassium , sodium , magnésium , fer et zinc chez le porc de 20 à 100 kg de poids vif. *Journées Recherche Porcine de recherche porcine*, 38(June 2014), 209–216 (cit. on p. 89).
- Reinhart, G. A., & Mahan, D. C. (1986). Effect of Various Calcium:Phosphorus Ratios at Low and High Dietary Phosphorus for Starter, Grower and Finishing Swine. *Journal of Animal Science*, 63(2), 457–466. <https://doi.org/10.2527/jas1986.632457x> (cit. on p. 89)
- Riccardi, D., & Brown, E. M. (2010). Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 298(3). <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00608.2009> (cit. on p. 90)
- Sauvant, D., Perez, J. M., & Tran, G. (2004). *Tables INRA-AFZ de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: 2ème édition.* (INRA Editi). Versailles. (Cit. on p. 83).

- Schröder, B., & Breves, G. (2006). Mechanisms and regulation of calcium absorption from the gastrointestinal tract in pigs and ruminants: comparative aspects with special emphasis on hypocalcemia in dairy cows. *Animal health research reviews / Conference of Research Workers in Animal Diseases*, 7(1-2), 31–41. <https://doi.org/10.1017/S1466252307001144> (cit. on p. 90)
- Selle, P. H., & Ravindran, V. (2008). Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Science*, 113(2-3), 99–122. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.014> (cit. on p. 81)
- Sommerville, B., Maunder, E., Ross, R., Care, A., & Brown, R. (1985). Effect of Dietary Calcium and Phosphorus Depletion on Vitamin D Metabolism and Calcium Binding Protein in the Growing Pig. *Hormone and Metabolic Research*, 17(02), 78–81. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1013456> (cit. on p. 90)
- Suttle, N. F. (2010). *Mineral nutrition of livestock, 4th Edition* (N. Suttle, Ed.). Wallingford, CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845934729.0000>. (Cit. on p. 89)
- Van Enk, R., Acera, L., Schuiling, R., Ehlert, P., De Wilt, J., De Vries, C., & Van Haren, R. (2011). *The phosphate balance: current developments and future outlook* (tech. rep.). Innovation Network. (Cit. on p. 81).
- Varley, P. F., Sweeney, T., Ryan, M. T., & O'Doherty, J. V. (2011). The effect of phosphorus restriction during the weaner-grower phase on compensatory growth, serum osteocalcin and bone mineralization in gilts. *Livestock Science*, 135(2-3), 282–288. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.07.025> (cit. on pp. 81, 91)

Chapitre 6

L'effet d'une stratégie sans phosphate minéral avec supplémentation en phytase sur les performances de croissance et le statut minéral des porcs en croissance.

The effect of a no-mineral phosphate strategy with phytase supplementation on the growth performances and the mineral status of growing pigs.

M. Lautrou^{1,2,3}, C. Pomar², P. Schmidely³, M.P. Létourneau-Montminy¹,

¹Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC, G1V 0A6 Canada

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

³UMR Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA, AgroParis-Tech, Université Paris-Saclay, 75005 Paris, France

6.1 Résumé

Une stratégie sans ajout de phosphate, avec utilisation de phytase a été testée chez des porcs en croissance de 30 à 130 kg. L'utilisation de la phytase ne permettait pas d'atteindre les besoins des animaux pour maximiser la minéralisation des animaux en première phase de croissance (30 à 70 kg), ce qui a donc induit un déficit en phosphore digestible, et également en calcium afin d'équilibrer le ratio. Après 70 kg, la phytase permettait d'atteindre les besoins en phosphore digestible. Les animaux en déplétion présentaient un contenu minéral osseux plus faible que les animaux témoins, mais les régulations déclenchées ont permis de rattraper ce retard dès la première phase de réplétion. Avec cette stratégie, aucun phosphate minéral n'a été distribué mais les animaux ont réussi à atteindre un même contenu minéral osseux que les animaux contrôles sans pour autant diminuer les performances de croissance finales.

6.2 Abstract

The use of phosphorus (P) nowadays raises environmental (eutrophication) and sustainability (limited resource) issues for the pig industry. Initial trials have shown that it is possible to obtain similar growth performances between pigs fed on a requirement basis and pigs fed on a P depletion-repletion strategy. In order to optimize the use of dietary P by pigs, 3 feeding strategies, according to a 3-phase feeding plan, were studied 1) Control providing 100% of the P and calcium (Ca) requirement, 2) Low 60% of the requirement, 3) Phyt (without phosphate, with phytase), providing 60% of the P and Ca requirement in phase 1, then 100%. Bone mineral content (BMC) and body weight were measured at the beginning and end of each phase. BMC gain, average daily gain (ADG), daily feed intake (ADFI) and feed efficiency were calculated per phase. In phase 1, the ADG was lower in the Phyt group than in the Control group (1.05 vs 1.08 kg/d, $P < 0.05$). BMC and BMC gain in the Control group were higher than in the Phyt group ($P < 0.05$). At the end of phase 2, the Control and Phyt groups had similar BMCs because of a higher BMC gain in the Phyt group (27.1 vs 18.4 g/d, $P < 0.01$). The Low group had a lower BMC than Control (1611 vs 1835 g, $P < 0.01$) with similar BMC gain. At the end of phase 3, the Low group had lower BMC (1966 vs 2342 g, $P < 0.01$). Depletion worked in the first phase in both Phyt and Low groups, resulting in increased P use efficiency during repletion. These results demonstrate the value of a depletion-repletion strategy to reduce P intake and excretion without affecting final performance. This type of strategy could be applied without phosphate input but with the addition of phytase.

6.3 Introduction

The efficient use of phosphorus (P) remains a sustainability issue for the swine industry with the associated environmental risks and the limited resource of P in mineral form. Therefore, the P utilization must be optimized in pig production. This optimization can be achieved by a better efficiency of P use by the pigs given that they can improve the absorption and metabolic utilization of some minerals in case of deficiencies (Suttle, 2010). This is especially true for dietary calcium (Ca) and P that are physiological regulator of their utilization (Crenshaw, 2001; Blaine *et al.*, 2015). The Ca and P deprivation trigger a regulation cascade, aiming to maintain a constant level of these minerals in blood. This results in an increased intestinal absorption and renal reabsorption are increased, allowing better use efficiencies of P and Ca. It was also shown in pigs that the improved P and Ca digestive and metabolic utilization was maintained after the deprivation period acute enough to deplete bone reserves (Létourneau-Montminy *et al.*, 2010; Ryan *et al.*, 2011). Recent trials have shown that it is possible to achieve the same final level of bone mineralization in pigs fed on a requirement basis and pigs fed a P depletion-repletion strategy, while maintaining growth performance at a similar level (Varley *et al.*, 2011; Létourneau-Montminy *et al.*, 2014; Gonzalo *et al.*, 2018). However, this strategy does not always achieve the same level of bone mineral content (BMC) and securing skeletal quality as the control (Aiyangar *et al.*, 2010; Gonzalo, 2017).

Furthermore, the depletion-repletion sequence in P and Ca intake has never been explored with the addition of microbial phytase. This enzyme is well known to reduce P excretion and to maximise the P utilization of plant feedstuffs. We hypothesised that the synergy between a depletion-repletion strategy and the supplementation of phytase may allow decreasing the mineral phosphate input without degrading the growth performances and the final BMC. The objective of this study was to test the effect of a non-mineral phosphate strategy with phytase in depletion-repletion protocol on growth performance and bone mineralization level in growing pigs from 25 kg to slaughter.

6.4 Material and methods

Animals were housed and treated in accordance with the guidelines established by the Canadian Council on Animal Care (CCAC, 2009). The protocol for this experiment was reviewed and approved by the Institutional Animal Care and Use Committee at the Laval University Québec, QC, Canada.

6.4.1 Experimental diets

The pigs were fed according to a three phases feeding program. The phases lasted 39, 27 and 28 days (expected 25 to 55 kg, 55 to 90 kg and 90 to 125 kg). In this trial, feed met all of the pig's nutritional requirements (NRC, 2012) except P and Ca. A first group (**Control**) was fed a diet covering 100% of the total Ca and digestible P requirements for maximum bone mineralization during the three feeding phases (Lautrou *et al.*, 2020) (Tables 6.1). The second group (**Phyt**) received no phosphate but 750, 686 and 390 FTU of phytase in phase 1, 2 and 3, respectively, allowing to reach 60% of the Ca and digestible P requirement in phase 1 and then 100% in phase 2 and 3. Finally, the feed in the **Low** group, negative control, covered 60% of the Ca and digestible P requirement in all phases. According to Lautrou *et al.* (2020), the optimal digestible P concentration to maximize bone mineralization were estimated at 4.3, 2.6 and 2.2 g/kg with a total Ca to digestible P ratio at 2.3, 2.4 and 2.7 for phase 1, 2 and 3 respectively. During the first phase, the diet was in mash while during the second and third phases it was in pelleted form.

6.4.2 Growth trial

The experimental diet distribution started when the mean body weight of pigs was about 30 kg. One hundred and forty four castrated pigs (276 or 275 Fast female x PIC 800 Duroc) were randomly assigned to treatments and housed in pens of six pigs 4 days before starting the trial. Individual body weight was recorded at the beginning and the end of each phase. The delivered feed was weighted daily per pen and the refusal at the end of phases. The body composition of 8 animals per treatments (one animal per pen) was measured at the beginning and the end of each phase with dual-energy X-ray absorptiometry (DXA, Hologic Discovery W, Hologic Inc., Waltham, MA) to quantify the BMC, bone mineral density (BMD), and mass of lean and fat tissues. The animals received an injection of azaperone (2.2 mg/kg BW; Stresnil; Jansen-Cilag, Neuss, Germany) to be calmed and then were anesthetized by mask inhalation of sevoflurane (Sevorane; Abbott Laboratories, North Chicago, IL, USA) at an oxygen concentration of 7% until sleepiness. Sevoflurane was then replaced by isoflurane (IsoFlo; Abbott Laboratories) at an oxygen concentration of 5% in order to keep the pigs anesthetized during scans. The animals were scanned in prone position with the front legs along the sides of the body using whole-body mode. At the end of phase 3, the animals were too heavy to be scanned, and only their heads recovered from the slaughterhouse were scanned.

At beginning and end of phases 1 and 2 blood samples were collected on all scanned animals (d-1; d37-38; d66-68). The blood samples were collected in dry and sodium heparinized vacutainer tubes (Becton Dickson, Franklin Lakes, NJ), to obtain serum and plasma after a 20 min at 2000 g centrifugation. The plasma and serum samples were frozen at -80°C until analyzes.

6.4.3 Metabolic trial

Total collects of feces and urine were organized during phase 1. On the day 7 (phase 1) of the experiment, at about 37 kg, 6 animals of each group (Control, Low and Phyt) were placed in metabolic cages for 6 days, with one day of adaptation. Feed consumption were recorded daily. For each pig, total feces and 20% of urine were daily collected separately during 5 consecutives

days and then frozen at -20°C. Thawed feces were homogenized with water, then samples were frozen at -20°C and freeze-dried before analyses. Thawed urines were filtrated (Ashless, grade 42, Whatman), then samples were frozen at -20°C before analyses.

6.4.4 Calculations

Average daily feed intake (ADFI) was estimated per pen and phase, with intake per pen divided by the number of days in the phase and the number of pigs in the phase. The average daily gain (ADG) was estimated per pen as the mean of the difference between the body weight of each pigs of the pen at the end of the phase and the beginning divided by the number of days for the phase. The gain to feed (G:F) represents the average ADG of the pen per kg of feed intake (ADG/ADFI), by phase and pen. At the end of phase 3, whole-body BMC was estimated according to Létourneau-Montminy *et al.* (2017) based on bone mineral density of the head. However, the amount of lean and fatty tissues were not available. To be able to compare the results of the end and the beginning of phase 3, the same BMC calculations were realized based on the BMC head region of the beginning of phase 3. The daily BMC gain was calculated per pig, as the difference of BMC between the end and beginning of phase, divided by the number of days of the phase. Body lean and fat content were used to determine whole body protein and lipid contents as proposed by Pomar and Rivest (1996). Whole body Ca and P contents were calculated as the sum of Ca and P contained in bone, muscle, and fat. The percentage of Ca and P in bone represents approximately 39% and 18%, respectively, of the whole body BMC (Crenshaw, 2001). P and Ca concentrations in protein and lipid were estimated as those associated with lean and adipose tissue, respectively, as in Lautrou *et al.* (2020). The retention efficiency coefficients of total Ca and digestible P considering phytase matrices were calculated by dividing the daily body gains in P and Ca by the daily ingested quantities estimated by phase, in phases 1 and 2.

6.4.5 Chemical analysis

Feed samples were taken at the beginning of the phase to analyze Ca and P concentrations and phytase activity level. Dry matter was analyzed in feed samples thereafter using Association of Official Analytical Chemists (1990) standard methods for dry matter (Method 950.46). The Ca, P in the feed were analyzed according to inductively-coupled plasma spectrometry (ICP-ES Perkin-Elmer Optima 3000; PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Phytase activity was also measured. The Ca, P and magnesium (Mg) in the plasma were analyzed according to inductively-coupled plasma spectrometry (ICP-ES Perkin-Elmer Optima 3000; PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Procollagen I C-terminal Propeptide (PICP) and Cross Linked C-telopeptide of Type I Collagen (CTX) concentrations in serum were measured using ELISA kits (Porcine PICP, Elabscience, Houston, TX, USA, and Porcine CTX-1 Elisa, Novus biologicals, Toronto, Canada). The serum osteocalcin (OC) concentration was analyzed using ELISA kit (Porcine OC/BGP (Osteocalcin/Bone Gla Protein), Elabscience, Houston, TX, USA). The calcitriol precursor (25(OH)-vitamin D₃, called calcidiol) was measured in serum using an ELISA kit (25 Hydroxy Vitamin D3 (25OHVD3), ELISA Kit, MyBioSource, San Diego, CA, USA). Feces samples were freeze-dried at 85°C. Ca and P in feces and urine were analyzed according to inductively-coupled plasma spectrometry.

6.4.6 Statistical analysis

Given the large number of animals, the measurements (scan, weighing and refusal of feed) could not all be performed on the same day. Corrections were applied by linear regression to bring the data back to the same phase duration, the feeding phase. The results were analyzed using the OLS procedure of the Statsmodels package under Python 3. The experimental unit was the pen for body weight, ADG, ADFI and G:F and was the pig for BMC, protein, lipid and blood samples. The effects of dietary treatments were evaluated separately for each feeding phase. The

differences were considered significant when $P \leq 0.05$ and a value of $P \leq 0.10$ denotes a statistical trend. When differences were significant, means were separated using Tukey's Highly Significant Difference test.

Table 6.1 – Ingredients and chemical composition of diets varying in dietary calcium and phosphorus concentration (as-fed basis)

Treatments	Phase 1			Phase 2			Phase 3		
	Control	Phyt	Low	Control	Phyt	Low	Control	Phyt	Low
Ingredients ¹ , g/kg									
Corn	713.1	755.3	740.7	575	575	575	575	575	575
Wheat				245.1	259.2	264.1	233.4	243.1	248.7
soybean meal 47%	222.6	217.3	219.2	144.5	141.6	141	158.5	157.7	156.8
Soy oil	15.8	2.8	7.3	4.9	1		6.7	3.7	2.1
Limestone	14.1	8.6	8.1	9.4	9.7	4.8	9.6	9.9	5.7
Monocalcic phosphate	18.7		9	8.5		2.5	6.3		1.2
Salt	5.4	5.5	5.5	4.9	5.5	4.9	7.1	7.1	7.1
L-Lysine	4.4	4.48	4.46	3.73	3.78	3.8	1.57	1.57	1.58
DL-Methionine	1.29	1.22	1.24	0.54	0.52	0.51			
L-Threonine	1.47	1.45	1.46	1.13	1.14	1.14	0.22	0.21	0.21
L-Tryptophan	0.56	0.58	0.57	0.29	0.29	0.29			
L-Valine	0.51	0.48	0.49						
Vitamin-mineral premix	2	2	2	2	2	2	1.6	1.6	1.6
Phytase		0.3			0.32			0.18	
Chemical composition ²									
Dry matter (%)	89.1	89.1	89.1	86.1	85.9	87.1	89.1	88.5	89.0
Total calcium (g/kg)	10.0	6.4	6.7	6.3	5.3	3.2	5.8	4.9	3.5
Total phosphorus (g/kg)	7.1	3.6	5.5	5.1	3.3	3.7	4.7	3.4	3.3
Digestible phosphorus (g/kg)	4.3	2.6	2.6	2.6	2.6	1.5	2.2	2.2	1.3
Total Ca/digestible P	2.3	2.5	2.6	2.4	2.0	2.1	2.6	2.2	2.7
Phytasic activity, FTU ³	0	750	0	0	686	0	0	390	0

¹ During the first phase, the diet was in mash while during the second and third phases it was in pelleted form.

² Dry matter, total P and Ca were analyzed, digestible P and ratio were calculated from Sauvant *et al.* (2004).

³ Analyzed phytase in Phyt diet: 1485 FTU/kg, 1260 FTU/kg et 466 FTU/kg, respectively in phases 1, 2 and 3.

6.5 Results

The analyzed values of Ca were higher than expected in phase 1 : 3%, 39% and 16% in Control, Phyt and Low diets, respectively. In phase 2 there were +3% +8% and -6% of difference in the Control, Phyt and Low groups. The analyzed values of P were very closed to the one expected : -1%, +5% and +6% in phase 1, -2%, +3% and -3% in phase 2 and +2%, +3% and -6% in phase 3 in Control, Phyt and Low diets, respectively. During the first phase, one Phyt and one Control pigs died of unknown reasons. During the second period in the Phyt group, two pigs died of unknown reasons (one died the day after the scan), one animal was euthanized because of lameness and an other because of a general state degradation.

6.5.1 First feeding phase

At the end of phase 1, the body weight tended to be lower in group Phyt ($P = 0.05$; Table 6.2). The body protein and lipid were not affected by diets. The BMC and body Ca were lower in the Phyt and Low groups than in the Control group (-14%, respectively, $P < 0.01$). The body P tended to be lower in the Phyt and Low groups than in the Control group ($P = 0.06$). At the end of phase 1, plasma Ca tended to be the lowest in the Low group (10.70 mg/dL, $P = 0.07$) and the highest in the Control group (11.68 mg/dL). The diet treatments had no effect on the plasmatic concentrations of P and Mg. The plasma Ca:P ratio was higher in the Control group than others ($P < 0.01$). The CTX, PICP and OC levels were not affected by the different diets. The vitamin D concentration were higher in the Control group than in the Low group (13.83 and 10.94 ng/mL, respectively ; $P < 0.01$).

About the performances, the ADG was lower in the Phyt group than in the C group (1.05 vs 1.08 kg/d; $P < 0.05$) but there was no difference between groups on ADFI, gain to feed and body protein and lipid. The BMC, Ca and P gains were 19, 19 and 13% lower in the phyt and Low groups compared to the Control ($P < 0.05$). The total Ca retention efficiency was higher in the Phyt group, than in the groups Low and Control (42.4, 37.2 and 32.2%, respectively; $P < 0.001$). The digestible P retention efficiency was higher in the Phyt and Low groups than the Control group (+23 percentage points, $P < 0.001$).

During the five days of metabolic trial, the P intake were the highest in the Control group, then in the Low group and the lowest in the Phyt group ($P < 0.001$, Table 6.3). Pigs from the Control and Low groups excreted more fecal P than the Phyt pigs ($P < 0.001$). The urinary P was undetectable for the pigs from the group phyt and P excretion in urine was more than doubled in the Control group versus the group Low ($P < 0.01$). The quantity of P absorbed (g/d) was higher in the Control group than others ($P < 0.001$). The mass of retained P was higher in the Control group compared to the Low one (5.93 and 4.93 g/d, respectively; $P < 0.01$). The P absorption (% intake) was superior in the phyt group than others (77.71 versus 56.94%; $P < 0.001$). The retention of P (% absorbed) was slightly higher in the Low than the Control group (+7.94 percentage points, $P < 0.001$) and the greatest in the phyt group. The pigs of Control group ingested the highest amount of Ca ($P < 0.001$) and the Ca excretion in feces was the lowest in the phyt group ($P < 0.001$). The Ca excretion in urine was the highest in the phyt group and the lowest in the Control group ($P < 0.05$). The amount of absorbed Ca was the lowest in the low group ($P < 0.001$). The daily retained Ca was the highest in the Control group (10.07 g/d ; $P < 0.001$), lower in the Phyt group (8.18 g/d) and the lowest in the Low group (6.28 g/d). The absorption (% intake) was higher in the phyt group (80%) than in other groups (59%, $P < 0.001$). Then, the Ca retention (% absorbed) was the highest in Control and the lowest in phyt group ($P < 0.05$).

6.5.2 Second feeding phase

No difference was found between the three groups on body weight, ADG, ADFI, G:F and body protein and lipid (Table 6.4). The repletion in group phyt lead to the same BMC and body Ca in phyt and Control groups but there were 13 and 13% lower in Low group ($P < 0.01$). The body P

Table 6.2 – Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 1

	Treatments			SEM ²	p-values ³
	Control	Phyt	Low		
Initial conditions					
Body weight, kg	30.4	30.1	30.8	0.34	0.27
Body protein, kg	4.0	4.3	3.9	0.22	0.41
Body lipid,kg	7.5	7.4	7.2	0.31	0.74
Bone mineral content, g	521	491	476	22.7	0.16
Body calcium, g	204	193	187	8.9	0.16
Body phosphorus, g	139	137	130	5.7	0.38
Ca plasma, mg/dL	11.96	12.55	11.92	0.69	0.74
P plasma, mg/dL	9.05	9.85	9.49	0.61	0.53
Mg plasma, mg/dL	1.54	1.67	1.67	0.11	0.43
Ca:P	1.33	1.28	1.26	0.05	0.48
Final conditions					
Body weight, kg	72.7	71.0	72.6	0.59	0.05
Body protein, kg	11.3	11.5	11.4	0.42	0.89
Body lipid, kg	14.6	14.3	13.4	0.60	0.37
Bone mineral content, g	1319 ^a	1143 ^b	1120 ^b	48.1	**
Body calcium, g	518 ^a	449 ^b	440 ^b	18.8	**
Body phosphorus, g	351	321	316	11.4	0.06
Ca plasma, mg/dL	11.68	11.26	10.70	0.44	0.07
P plasma, mg/dL	8.53	9.03	9.10	0.62	0.54
Mg plasma, mg/dL	1.80	1.74	1.73	0.07	0.57
Ca:P	1.37 ^a	1.24 ^b	1.19 ^b	0.04	**
CTX, ng/mL	6.56	3.74	4.40	1.67	0.21
PICP, pg/mL	145.88	88.69	170.03	71.63	0.62
OC, ng/mL	6.37	5.90	13.79	4.84	0.11
Vitamin D ₃ , ng/mL	13.83 ^a	12.92 ^{ab}	10.94 ^b	0.84	**
Performances ¹					
ADG, kg/d	1.08 ^a	1.05 ^b	1.07 ^{ab}	0.011	*
ADFI, kg/d	2.49	2.44	2.55	0.058	0.26
Gain to feed, kg	0.436	0.431	0.423	0.0110	0.59
BMC gain, g/d	20.5 ^a	16.7 ^b	16.2 ^b	1.11	**
Ca gain, g/d	8.0 ^a	6.6 ^b	6.4 ^b	0.43	**
P gain, g/d	5.4 ^a	4.7 ^b	4.7 ^b	0.25	*
Ca efficiency, %	32.2 ^a	42.4 ^b	37.2 ^{ab}	1.90	**
digP efficiency, %	51.3 ^a	74.9 ^b	71.5 ^b	2.81	***

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; BMC: Bone mineral content; digP: digestible phosphore.

² SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

³ Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$

^{a, b, c} Values with different superscript letters differ ($P < 0.05$) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

Table 6.3 – Phosphorus and calcium balance in pigs measured during the first feeding phase

	Treatments			SEM ¹	p-value ²
	Control	Phyt	Low		
Phosphorus					
Intake, g/d	12.26 ^a	6.45 ^c	9.80 ^b	0.397	***
Feces, g/d	5.04 ^a	1.43 ^b	4.44 ^a	0.367	***
Urine, g/d	1.29	Undetectable ³	0.52	0.179	**
Absorbed, g/d	7.22 ^a	5.02 ^b	5.36 ^b	0.356	***
Retained, g/d	5.93 ^a	5.02 ^b	4.93 ^b	0.356	*
Absorption, % intake	59.00 ^a	77.71 ^b	54.88 ^a	2.406	***
Retention, % absorbed	82.12 ^a	100.00 ^b	90.06 ^c	2.437	***
Calcium					
Intake, g/d	17.33 ^a	11.44 ^b	12.0 ^b	0.561	***
Feces, g/d	6.92 ^a	2.24 ^b	5.13 ^a	0.737	***
Urine, g/d	0.34 ^a	1.02 ^b	0.59 ^{ab}	0.197	*
Absorbed, g/d	10.41 ^a	9.20 ^a	6.87 ^b	0.715	***
Retained, g/d	10.07 ^a	8.18 ^b	6.28 ^c	0.745	***
Absorption, % intake	60.15 ^a	80.34 ^b	57.37 ^a	3.780	***
Retention, % absorbed	96.57 ^a	88.92 ^b	92.01 ^{ab}	2.219	*

¹ SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

² Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : P < 0.001; ** : P < 0.01; * : P < 0.05.

³ Urine phosphorus concentration was under the detection limit (<0.01%)

a, b, c Values with different superscript letters differ (P < 0.05) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

was lowest in the Low group than in the Phyt group ($P < 0.05$). At the end of phase 2, the plasmatic concentration of Ca was not affected by diets. The P level in plasma was higher in Low group ($P < 0.01$) with 9.72 versus 8.37 mg/dL. The treatments had no effect on the Mg concentration in plasma. The Ca:P ratio in plasma was lower in Low group (1.23 versus 1.40 mg/dL ; $P < 0.05$). The CTX concentration was not affected by diets. The PICP level was the lowest in the Control group (12.41 pg/mL ; $P < 0.05$) and the highest in the Phyt group (183.09 pg/mL). The OC and the vitamin D₃ levels were not affected by treatments. The BMC, P and Ca gains were greater in the Phyt group than in others (+49, 35 and 47%, $P < 0.05$). Total Ca retention efficiency was higher in the Phyt and Low groups (57.1 vs 32.8% in the Control group; $P < 0.01$). The retention efficiency of digestible P was higher in the Low group than the Control group ($P < 0.01$).

6.5.3 Third feeding phase

At the end of the third phase, no difference was observed on body weight, ADG, ADFI and G:F and BMC gain (Table 6.5). The pigs of Control and Phyt groups arrived with the same BMC at the end of the trial, but the BMC in the Low group was 16% lower ($P < 0.01$).

6.6 Discussion

6.6.1 Effect of a depletion in calcium and phosphorus

The depletion was studied over the 3 phases. The Phyt group was depleted during the first phase, because the digestible P intake without phosphate was not sufficient to cover the requirements for the maximal bone mineralization. The Low group was under the requirement and thus in depletion over all phases. During the first period, the phyt diet was formulated to provide the same total Ca and digestible P level than the Low diet. The BMC at the end of the first phase were the same in these two groups, meaning that the phytase worked well and released sufficient Ca and P from the phytate to reach the same bone mineralization level. Nevertheless, the ADG of Phyt pigs was deteriorated compared to the Control and Low groups. This result is surprising giving that it is generally considered that the requirement for bone mineralization is higher than for growth performance (NRC, 2012; Vier *et al.*, 2019). However, the total Ca level in the phyt diet was higher than planned, it was expected to be at 4.6 g/kg and it was at 6.4 g/kg, almost as in the Low diet (6.7 g/kg ; Table 6.1), while the total P was very close to the formulated levels. Moreover, by degrading phytates in the stomach, they are no longer likely to form insoluble Ca complexes in the gut, making Ca more available for absorption (Létourneau-Montminy *et al.*, 2010). This excess of Ca in comparison to P is reinforced by the P level in urine that was undetectable so retention is almost 100% of absorbed while the urinary Ca losses were higher in the phyt group leading to the lowest percentage of Ca retained over absorbed (89% vs 97% in the control). Imbalance in dietary Ca and P is well known to aggravate P deficiency and reduce feed intake momentarily and thus energy and or protein and reduce ADG. In fact, it is possible that a phosphocalcic imbalance with an excess of Ca in the gut would have led to the formation of insoluble Ca-P complexes (Heaney & Nordin, 2002; Selle *et al.*, 2009; Létourneau-Montminy *et al.*, 2010; Létourneau-Montminy *et al.*, 2012) leading to a reduction of plasma P which is known to reduce feed intake (Suttle, 2010). These complexes would have exacerbated the P deficiency despite the supply of digestible P by phytase. Besides, according to Adeola and Cowieson (2011), the Ca made available by phytase are often underestimated. Classically, the Ca:P ratio release from phytate are estimated at 1, but at levels of FTU as used in this study it rather be about 2. This unexpected Ca level combined to the phytase probably increased the quantity of soluble Ca and therefore decreased the ADG (Merriman *et al.*, 2017; Lagos *et al.*, 2019).

At the end of phase 1, the Phyt and Low groups had lower bone mineralization than the Control group due to the decrease in Ca and digestible P, as previously seen after a depletion period (Aiyangar *et al.*, 2010; Létourneau-Montminy *et al.*, 2010; Létourneau-Montminy *et al.*, 2014; Gon-

Table 6.4 – Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 2

	Treatments			SEM ²	p-values ³
	Control	Phyt	Low		
Initial conditions					
Body weight, kg	72.7	71.0	72.6	0.59	0.05
Body protein, kg	11.6	11.5	11.4	0.42	0.89
Body lipid,kg	14.6	14.3	13.4	0.60	0.37
Bone mineral content, g	1319 ^a	1143 ^b	1120 ^b	48.1	**
Body calcium, g	518 ^a	449 ^b	440 ^b	18.8	**
Body phosphorus, g	351	321	316	11.4	0.06
Final conditions					
Body weight, kg	108.9	108.2	108.1	1.17	0.87
Body protein, g	15.4	15.8	15.4	0.47	0.65
Body lipid, g	28.4	31.2	30.4	1.91	0.52
Bone mineral content, g	1835 ^a	1883 ^a	1611 ^b	60.43	**
Body calcium, g	720 ^a	739 ^a	633 ^b	23.7	**
Body phosphorus, g	482 ^{ab}	499 ^a	446 ^b	12.7	*
Ca plasma, mg/dL	11.55	11.85	11.77	0.43	0.86
P plasma, mg/dL	8.17 ^a	8.56 ^a	9.72 ^b	0.31	**
Mg plasma, mg/dL	1.57	1.68	1.59	0.06	0.29
Ca:P	1.41 ^a	1.39 ^a	1.23 ^b	0.04	*
CTX, ng/mL	4.84	5.94	4.67	1.63	0.7779
PICP, pg/mL	12.41 ^a	183.09 ^b	66.67 ^{ab}	53.11	*
OC, ng/mL	3.25	6.63	6.26	1.87	0.1607
Vitamin D ₃ , ng/mL	17.40	15.65	17.42	1.86	0.64
Performances ¹					
ADG, kg/d	1.31	1.36	1.29	0.037	0.31
ADFI, kg/d	3.51	3.66	3.53	0.089	0.42
Gain to feed, kg	0.375	0.383	0.367	0.0101	0.37
BMC gain, g/d	18.4 ^a	27.1 ^b	18.0 ^a	2.76	**
Body Ca gain, g/d	7.2 ^a	10.6 ^b	7.1 ^a	1.08	**
Body P gain, g/d	4.7 ^a	6.5 ^b	4.8 ^a	0.56	*
Ca efficiency, %	32.8 ^a	52.3 ^b	61.8 ^b	4.57	**
digP efficiency, %	52.6 ^a	67.0 ^{ab}	86.8 ^b	5.74	**

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; BMC: Bone mineral content; digP: digestible phosphore.

² SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

³ Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^{a, b, c} Values with different superscript letters differ ($P < 0.05$) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

Table 6.5 – Growth performance and mineral status in pigs fed with different phosphorus and calcium levels during feeding phase 3

	Treatments			SEM ²	p-values ³
	Control	Phyt	Low		
Initial conditions					
Body weight, kg	108.9	108.2	108.1	1.17	0.87
Bone mineral content, g	1957	1923	1682	88.4	*
Final conditions					
Body weight, kg	131.6	130.2	130.7	1.39	0.74
Bone mineral content, g	2342 ^a	2515 ^a	1966 ^b	91.1	**
Performances ¹					
ADG, kg/d	1.11	1.08	1.11	0.050	0.86
ADFI, kg/d	3.88	3.69	3.75	0.099	0.31
Gain to feed, kg	0.286	0.292	0.297	0.0117	0.78
BMC gain, g/d	18.7	20.5	12.4	3.36	0.16

¹ ADG: average daily gain; ADFI: average daily feed intake; BMC: Bone mineral content.

² SEM: Standard error of the mean, the highest value was reported.

³ Data were analyzed using ANOVA linear models that included the effect of diet. *** : $P < 0.001$; ** : $P < 0.01$; * : $P < 0.05$.

^{a, b, c} Values with different superscript letters differ ($P < 0.05$) from each other as analyzed by the Tukey's tests.

zalo *et al.*, 2018). The gain of BMC was also lower than that of group Control. The digestible P efficiency, on the other hand, was higher in the Phyt and Low groups than in the Control group, showing an increased utilization of digestible P with and without phytase. The Ca efficiency was the same in the Control and Low groups, because of the slight excess of Ca in the Low diet (previous: 5.8 g/kg, analyzed: 6.7 g/kg), conducting to a higher Ca:digestible P ratio in Low diet (2.6) compared to the Control one (2.3). The Ca and P deficiencies in the Phyt and Low groups were not visible with the blood levels of Ca and P, probably because of the regulations, that aim to maintain a constant Ca and P concentration in blood. The synthesis of calcitriol (1,25(OH)₂D₃) comes from the hydroxylation of calcidiol (25(OH)-vitamin D₃ Holick, 2006) the circulating form of vitamin D. The calcidiol concentration was superior in the Control than the Low group. If the level was higher in the Control group, it is certainly because the 25(OH)-vitamin D was hydroxylated to produce the active vitamin-D form in other groups (Gonzalo, 2017) in order to maintain a constant level of Ca in the blood and lead to better efficiencies of Ca and digestible P utilizations.

The Ca and P requirements were estimated by Lautrou *et al.* (2020) model allowing to predict the potential of bone mineral deposition (Figure 6.1). The Control group BMC gain was slightly higher than the predicted potential in phase 1, even though the formulation of diets aimed to reach the maximum bone mineralization (Lautrou *et al.*, 2020) maybe thanks to a Ca level in diet slightly higher than planned (9.7 versus 10.0 g/kg). That means that some absorbed Ca was not deposited in bones and increased a bit the Ca level in plasma, enough to increase the Ca:P ratio.

In phase 2, the Low group, depleted for approximately 66 days, did not show lower BMC gain than the Control group due to higher Ca and digestible P efficiencies than in the Control group. This was observed by Létourneau-Montminy *et al.* (2014) at the vertebral level after 56 days of depletion, whereas Gonzalo *et al.* (2018) did not observe the same gain either on the whole body or on the vertebral level in animals receiving reduced Ca and digestible P intakes during 4 phases of 28-days feeding, compared to a control. The increased utilization efficiency of both minerals is consistent with regulation more via calcitriol, the active molecule of vitamin D, which is hypercal-

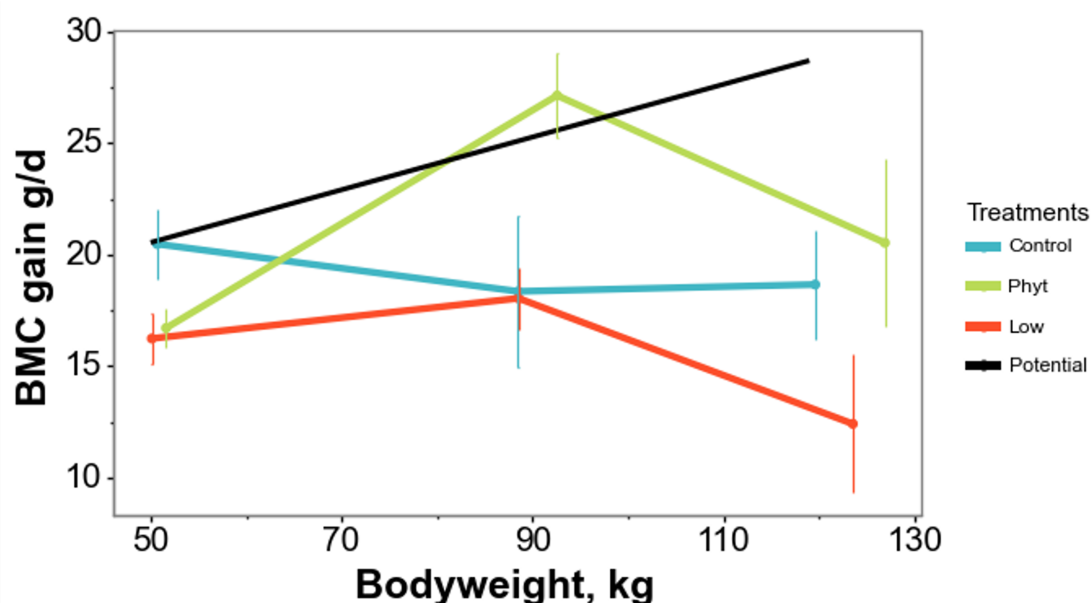


Figure 6.1 – Realized BMC gain (g/d) per phase in each groups and potential BMC gain (g/d) according to Lautrou *et al.* (2020)

cemic and -phosphatemic, in contrast to parathyroid hormone which is hypercalcemic and hypophosphatemic (Penido & Alon, 2012). This is consistent with the plasma P concentration that was higher in the Low group, leading to a lower Ca:P ratio. The results of Eklou-Kalonji *et al.* (1999) and Oster *et al.* (2016) show that parathyroid hormone can be increased in 7 to 10 days in pigs while for calcitriol activation 21 days would be required. This could explain the maintenance of similar P and Ca retention as in the control group yet with approximately 42% lower digestible P and 49% Ca intake in the Low group. These results confirm that depletion can lead to an increase in P and Ca utilization efficiency. However, this increase did not persist over time, since in phase 3, the low group showed a lower gain of BMC than the Control animals, possibly due to a recovery of bone mineral status.

6.6.2 Effect of a repletion in calcium and phosphorus

During the second phase, the Phyt group were considered in repletion since the use of phytase lead to a digestible P intake sufficient for a maximal bone mineralization. The repletion period had no effect on growth performance in agreement with the work of Létourneau-Montminy *et al.* (2014) and Gonzalo *et al.* (2018).

During this phase, the total Ca level seemed limiting for the bone mineralization as explained in (Lautrou *et al.*, 2022). That is certainly why the bone mineralization in Control group (18.4 g/d) was lower than predicted by Lautrou *et al.* (2020) (24 g/d) and was lower than in the first period (Figure 6.1). This decrease in the BMC gain is not supposed to happen when the animal is fed at the Ca and P requirement (Couture *et al.*, 2018; Lautrou *et al.*, 2020). The Phyt group had a 47% higher BMC gain than the Control group, while both groups received identical levels of digestible P and total Ca. Interestingly, the PICP level was more than 10 times higher in the Phyt than the Control group indicating an intense bone formation (Cormier *et al.*, 1993; Delmas *et al.*, 2000). This higher BMC gain allowed the Phyt group to recover bone mineralization deficit experienced in phase 1. This BMC gain increase is really high, after a 28 days repletion, the gain is usually about 14% higher than a control (Aiyangar *et al.*, 2010; Létourneau-Montminy *et al.*, 2014; Gonzalo *et al.*, 2018), even though a difference of +56% was observed in one depletion-repletion treatment in (Létourneau-Montminy *et al.*, 2014). This difference in BMC gain between the Control and Phyt groups could come from two hypothesis. The regulations triggered in the first phase, due to Ca

and P deficiency (Suttle, 2010; Penido & Alon, 2012) lead to a better utilization of Ca and digestible P, because the absorption and reabsorption of these minerals were increased thanks to a higher number of proteins involve in the cited mechanisms (Gonzalo, 2017). The higher number of these proteins persists during the 28 first days of repletion (Gonzalo, 2017), leading to a better total Ca and digestible P utilization, as seen in the present study with higher Ca efficiency in the Phyt group than the Control group (+19.5 percentage points). The explanation of this particularly higher BMC gain in the Phyt group is due to the limiting level of Ca in the Control diet and the phytase use. Indeed, the Ca could have been limiting in the Control diet and not in the Phyt one, thanks to the phytase efficacy. The difference in the analyzed Ca between the two diets was exactly the one desired (+1 g/kg). But if the phytase was more efficient in the Ca release than planned, as explained previously, then the digestible Ca in the Phyt diet was higher than in the Control and was less or not limiting for the bone mineralization.

During the second repletion period for the Phyt group, the BMC gain was the same as in the Control group. In Létourneau-Montminy *et al.* (2014) and Gonzalo *et al.* (2018), the repleted pigs still had a better BMC gain during the second repletion period of 28 days, but the pigs had not recover the BMC level at the end of the first repletion period. At the end of the phase 3, the pigs could not be scanned, because of their heavy weight. Therefore, the body BMC content was estimated according to (Létourneau-Montminy *et al.*, 2017), based on the bone mineral density of the heads. This recalculation could have bring a little error compared to the direct measure of the total body BMC. The BMC at the beginning of the phase 3 was also recalculated to limited the error on the BMC gain, but this method is certainly less precise than a direct measure of the whole body BMC. However, Phyt did not surpass the other group. Moreover, the Ca level could still have been limiting for the mineral deposition on bones. Indeed, the Control BMC gain still was lower than predicted (-15%, Figure 6.1).

6.7 Conclusion

The objective of the present work was to study a no-phosphate strategy, leading to a sequence of depletion-repletion in the digestible P and Ca intake. The results indicate that it is possible to achieve the same level of bone mineralization and fairly comparable growth performance with a no-phosphate strategy compared to a control. Results shawed that a depletion lead to decreased BMC but also increase the P and Ca utilization efficiencies. The increased efficiencies participate to recover BMC during the repletion period. However, the ADG was degraded by the phytase use during the depletion, but at the end of the trial the slaughter weight were the same in all groups. Further researches are needed to better understand this phenomenen and to precisely define how to use phytase throughout depletion-repletion. The no-phosphate strategy has potential to improving the sustainability of pig production given that allowed to not use phosphate while maintaining the same level of bone mineralization and without decreasing the final growth performances.

References

- Adeola, O., & Cowieson, A. J. (2011). Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of Animal Science*, 89(10), 3189–3218. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715> (cit. on p. 105)
- Aiyangar, A. K., Au, A. G., Crenshaw, T. D., & Ploeg, H. L. (2010). Recovery of bone strength in young pigs from an induced short-term dietary calcium deficit followed by a calcium replete diet. *Medical Engineering and Physics*, 32(10), 1116–1123. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2010.08.001> (cit. on pp. 97, 105, 108)
- Blaine, J., Chonchol, M., & Levi, M. (2015). Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(7), 1257–1272. <https://doi.org/10.2215/CJN.09750913> (cit. on p. 97)

- Cormier, C., Souberbielle, J., Kindermans, C., Menkes, C., & Sachs, C. (1993). Les marqueurs osseux. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 8(6), 348–354. [https://doi.org/10.1016/S0923-2532\(05\)80125-5](https://doi.org/10.1016/S0923-2532(05)80125-5) (cit. on p. 108)
- Couture, C., Chiasson, R., Pomar, C., & Letourneau, M.-P. (2018). Évolution de la teneur en protéine corporelle et du contenu minéral osseux des porcs charcutiers nourris avec différents niveaux de phosphore et calcium alimentaires. *Journées Recherche Porcine*, 50(1), 167–168 (cit. on p. 108).
- Crenshaw, T. D. (2001). Calcium, Phosphorus, Vitamin D, and Vitamin K in Swine Nutrition. In A. J. Lewis & L. L. Southern (Eds.), *Swine Nutrition, Second Edition* (CRC Press, pp. 187–212). New York. (Cit. on pp. 97, 99).
- Delmas, P. D., Eastell, R., Garnero, P., Seibel, M. J., & Stepan, J. (2000). The Use of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis. *Osteoporosis International*, 11(3), S2–S17. <https://doi.org/10.1007/s001980070002> (cit. on p. 108)
- Eklou-Kalonji, E., Zerath, E., Colin, C., Lacroix, C., Holy, X., Denis, I., & Pointillart, A. (1999). Calcium-Regulating Hormones, Bone Mineral Content, Breaking Load and Trabecular Remodeling Are Altered in Growing Pigs Fed Calcium-Deficient Diets. *The Journal of Nutrition*, 129(1), 188–193. <https://doi.org/10.1093/jn/129.1.188> (cit. on p. 108)
- Gonzalo, E. (2017). *Consequences of a dietary phosphorus and calcium depletion and repletion strategy in growing-finishing pigs* (Doctoral dissertation). (Cit. on pp. 97, 107, 109).
- Gonzalo, E., Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Bernier, J. F., & Pomar, C. (2018). Consequences of dietary calcium and phosphorus depletion and repletion feeding sequences on growth performance and body composition of growing pigs. *animal*, 12(6), 1165–1173. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002567> (cit. on pp. 97, 105, 107–109)
- Heaney, R. P., & Nordin, B. E. C. (2002). Calcium effects on phosphorus absorption: Implications for the prevention and co-therapy of osteoporosis. *Journal of the American College of Nutrition*, 21, 239–244 (cit. on p. 105).
- Holick, M. F. (2006). Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *Journal of Clinical Investigation*, 116(8), 2062–2072. <https://doi.org/10.1172/JCI29449> (cit. on p. 107)
- Lagos, L. V., Walk, C. L., Murphy, M. R., & Stein, H. H. (2019). Effects of dietary digestible calcium on growth performance and bone ash concentration in 50- to 85-kg growing pigs fed diets with different concentrations of digestible phosphorus. *Animal Feed Science and Technology*, 247, 262–272. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.11.019> (cit. on p. 105)
- Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., Narcy, A., Schmidely, P., & Létourneau-Montminy, M. (2020). Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling. *Animal*, 14(S2), s313–s322. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001627> (cit. on pp. 98, 99, 107, 108)
- Lautrou, M., Schmidely, P., Pomar, C., & Létourneau-Montminy, M.-P. (2022). Effects of phosphorus and calcium depletion on performance and bone mineralization in growing pigs (cit. on p. 108).
- Létourneau-Montminy, M. P., Jondreville, C., Sauvant, D., & Narcy, A. (2012). Meta-analysis of phosphorus utilization by growing pigs: effect of dietary phosphorus, calcium and exogenous phytase. *Animal*, 6(10), 1590–1600. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000560> (cit. on p. 105)
- Létourneau-Montminy, M. P., Lovatto, P. A., & Pomar, C. (2014). Apparent total tract digestibility of dietary calcium and phosphorus and their efficiency in bone mineral retention are affected by body mineral status in growing pigs¹. *Journal of Animal Science*, 92(9), 3914–3924. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7320> (cit. on pp. 97, 105, 107–109)
- Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Magnin, M., Sauvant, D., Bernier, J. F., Pomar, C., & Jondreville, C. (2010). Effect of reduced dietary calcium concentration and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilization in weanling pigs with modified mineral status. *Journal of Animal Science*, 88(5), 1706–1717. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1615> (cit. on pp. 97, 105)
- Létourneau-Montminy, M.-P., Couture, C., Cloutier, L., Marcoux, M., & Pomar, C. (2017). Révision de la méthode du bilan alimentaire simplifié en phosphore chez le porc en post-sevrage dans le contexte canadien de production. *Journées Recherche Porcine*, (49), 261–262 (cit. on pp. 99, 109).

- Merriman, L. A., Walk, C. L., Murphy, M. R., Parsons, C. M., & Stein, H. H. (2017). Inclusion of excess dietary calcium in diets for 100- to 130-kg growing pigs reduces feed intake and daily gain if dietary phosphorus is at or below the requirement. *Journal of Animal Science*, 95(12), 5439–5446. <https://doi.org/10.2527/jas2017.1995> (cit. on p. 105)
- NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine. 11th rev.* Washington, DC, National Academies Press. (Cit. on pp. 98, 105).
- Oster, M., Just, F., Büsing, K., Wolf, P., Polley, C., Vollmar, B., Muráni, E., Ponsuksili, S., & Wimmers, K. (2016). Toward improved phosphorus efficiency in monogastrics—interplay of serum, minerals, bone, and immune system after divergent dietary phosphorus supply in swine. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 310(10), R917–R925. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00215.2015> (cit. on p. 108)
- Penido, M. G. M., & Alon, U. S. (2012). Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatric Nephrology*, 27(11), 2039–2048. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2175-z> (cit. on pp. 108, 109)
- Pomar, C., & Rivest, J. (1996). The effect of body position and data analysis on the estimation of body composition of pigs by dual energy x-ray absorptiometry (DEXA). In *Proceedings of the 46th Annual conference of the Canadian Society of Animal Science*, Lethbridge, Alberta. (Cit. on p. 99).
- Ryan, W. F., Lynch, P. B., & O'Doherty, J. V. (2011). Compensatory effect of dietary phosphorus on performance of growing pigs and development of bone mineral density assessed using dual energy X-ray absorptiometry. *Livestock Science*, 138(1-3), 89–95. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.12.006> (cit. on p. 97)
- Sauvant, D., Perez, J. M., & Tran, G. (2004). *Tables INRA-AFZ de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: 2ème édition.* (INRA Editi). Versailles. (Cit. on p. 101).
- Selle, P. H., Cowieson, A. J., & Ravindran, V. (2009). Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science*, 124(1-3), 126–141. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2009.01.006> (cit. on p. 105)
- Suttle, N. F. (2010). *Mineral nutrition of livestock, 4th Edition* (N. Suttle, Ed.). Wallingford, CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845934729.0000>. (Cit. on pp. 97, 105, 109)
- Varley, P. F., Sweeney, T., Ryan, M. T., & O'Doherty, J. V. (2011). The effect of phosphorus restriction during the weaner-grower phase on compensatory growth, serum osteocalcin and bone mineralization in gilts. *Livestock Science*, 135(2-3), 282–288. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.07.025> (cit. on p. 97)
- Vier, C. M., Dritz, S. S., Wu, F., Tokach, M. D., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Gonçalves, M. A. D., Orlando, U. A. D., Chitakasempornkul, K., & Woodworth, J. C. (2019). Standardized total tract digestible phosphorus requirement of 24- to 130-kg pigs. *Journal of Animal Science*, 97(10), 4023–4031. <https://doi.org/10.1093/jas/skz256> (cit. on p. 105)

Chapitre 7

Discussion générale

7.1 Rappel des objectifs et de la démarche de la thèse

Le premier objectif de cette thèse était de développer un modèle permettant la maximisation de la minéralisation osseuse chez le porc en croissance, indépendamment du dépôt de protéines corporelles, afin de prédire ses besoins en phosphore et en calcium. Ensuite, ces estimations des besoins en phosphore et calcium ont été utilisées pour atteindre le deuxième objectif de la thèse, qui était de développer de nouvelles stratégies nutritionnelles pour améliorer l'efficacité d'utilisation du phosphore afin d'en diminuer les rejets. Deux étapes préalables ont été nécessaires au développement du modèle et conduites au travers d'expérimentations. La première a été la réévaluation des allométries de croissance des différents types de tissus et de la composition chimique de ces derniers, particulièrement en phosphore et en calcium à différents stades de croissance du porc. La deuxième étape a été l'établissement d'un potentiel de dépôt de calcium dans les os, qui constitue la force motrice du modèle. Ce modèle nouvellement développé a été utilisé pour établir les besoins en phosphore et calcium dans un essai de déplétion-réplétion avec notamment un traitement sans phosphate combiné à l'utilisation d'une phytase de dernière génération. Cette application a permis de tester le modèle : les données issues de cet essai ont servi à sa validation externe.

La discussion ci-après est organisée en deux parties, tout d'abord autour du développement du modèle, sa structure, son utilisation et comment il peut être utilisé en élevage ou en recherche. La deuxième partie porte sur les conséquences des travaux de la thèse sur la durabilité de la production porcine.

7.2 Développement et utilisation du modèle de prédiction des besoins en phosphore et calcium chez le porc en croissance

7.2.1 Développement et structure du modèle

Originalité du modèle

La structure du modèle développé au cours de cette thèse a été fortement inspirée du modèle de Létourneau-Montminy *et al.* (2015), qui permet de prédire le devenir métabolique du phosphore et du calcium alimentaires chez le porc en croissance. Néanmoins, dans ce précédent modèle, le dépôt de calcium et de phosphore dans les os est indexé au potentiel de dépôt de protéines corporelles, du fait d'un manque de données spécifiques sur la dynamique de dépôt des minéraux dans les os. De plus, en l'état, ce modèle ne prédit pas de besoin en phosphore et en calcium, il en estime le devenir.

La principale originalité du modèle développé au cours de la thèse réside dans la structuration du modèle sur la base d'une force motrice constituée par le dépôt de calcium et donc de phosphore dans les os indépendants de la croissance protéique. Pour cela, le modèle représente séparément les besoins phosphocalciques des os, ceux des muscles, et ceux du tissu adipeux. Le calcium est principalement déposé dans l'os (environ 99%, Crenshaw, 2001 ; Suttle, 2010) et 30 à 40 % du phosphore est retrouvé dans les tissus mous, plus particulièrement les muscles (Nielsen, 1973 ; Crenshaw, 2001 ; Suttle, 2010). De plus, la cinétique de dépôt protéique et de dépôt de contenu minéral osseux n'est pas synchrone : il y a une disjonction entre les deux à partir d'environ 60 kg de poids vif (Couture *et al.*, 2018). Pour obtenir l'estimation la plus précise possible des besoins, il fallait donc représenter cette disjonction. C'est pourquoi nous avons développé une équation de potentiel de dépôt de calcium dans les os, qui est le minéral avec la concentration la plus élevée dans l'os. Cette équation représente bien un potentiel de dépôt de calcium dans les os, puisque les données utilisées pour l'élaborer ont été obtenues dans des essais avec des niveaux d'apports en calcium très élevés et des niveaux maximaux en phosphore. La séparation entre les dépôts de minéraux dans les os et dans les tissus mous représente donc mieux d'un point de vue mécaniste la physiologie de dépôt du calcium et du phosphore chez le porc en croissance. Cette séparation permet aussi de viser une minéralisation osseuse élevée même en cas de ralentissement de la croissance des tissus mous, ce qui peut être retrouvé sur le terrain notamment dans le cadre de cahiers des charges comme le Label Rouge, dans lequel les porcs ont une croissance plus lente.

Robustesse des paramètres du modèle

Dans cette section, nous discutons de la robustesse des paramètres du modèle, afin d'identifier ceux qui pourraient permettre d'améliorer l'estimation des besoins en phosphore et calcium des porcs en croissance. Le premier essai réalisé au cours de cette thèse a permis d'actualiser et donc de mieux quantifier les paramètres de dépôt de calcium et phosphore dans les tissus mous. Cet essai a été réalisé sur des porcs à différents stades de leur croissance, permettant ainsi de créer des courbes d'évolution de composition chimique des tissus en fonction du poids. Ces données ont été récoltées sur un petit échantillon d'animaux (10 par groupe de poids, femelles et mâles castrés). Dans d'autres publications, le nombre de porcs utilisés était plus élevé, allant de 8 à 36 porcs par groupe de poids vif (Nielsen, 1973 ; Jørgensen *et al.*, 1985 ; Bikker, 1994 ; Quiniou & Noblet, 1995 ; Ruiz-Ascacibar *et al.*, 2019a). Dans certains essais, le nombre d'animaux autour du poids d'abattage classique de l'époque était beaucoup plus important, avec jusqu'à 208 porcs pesant environ 90 kg de poids vif (Nielsen, 1973 ; Jørgensen *et al.*, 1985). Cependant, dans les publications de Nielsen (1973) et Jørgensen *et al.* (1985), les animaux dont la composition est décrite n'étaient pas issus des mêmes essais, contrairement au nôtre, dans lequel les animaux étaient issus de la même ferme et alimentés de la même façon. Les paramètres de dépôt de calcium et de phosphore dans les tissus mous (gras et muscle) peuvent donc être considérés comme moyennement robustes, du fait du nombre limité de données disponibles. Des essais pourraient encore être réalisés afin d'avoir un nombre de données plus important. De plus, ces données ont été récoltées sur des animaux de même lignée génétique. D'une part, il est connu que les allométries de croissance des animaux sont différentes selon la génétique (Sellier *et al.*, 2010). D'autre part, nous savons également que la composition chimique de la viande (matière sèche, protéine, lipides, cendres) est modifiée selon la génétique étudiée (Zullo *et al.*, 2003). Il est donc possible que la composition chimique d'autres tissus puisse aussi être modifiée. Avec une base de données plus importante, nous pourrions affiner les paramètres selon la génétique et le sexe des animaux et ainsi déterminer des besoins encore plus ajustés à chaque type d'animal. Cependant, la connaissance des cinétiques de dépôt de muscle et de minéraux dans les os est fondamentalement plus importante et risque d'avoir un effet plus important sur la variabilité du besoin que la concentration en phosphore et calcium dans les différents tissus.

L'équation de dépôt de calcium dans les os, qui est la force motrice du nouveau modèle, a été développée grâce à de nombreuses données de scan de porcs à différents poids et avec des niveaux de calcium et de phosphore élevés dans l'aliment (Pomar *et al.*, 2006; Langlois *et al.*, 2016a, 2016b). Une première validation du modèle a été réalisée et présentée aux *Journées de la recherche porcine*, en 2019 (Annexe A). Les résultats ont montré que l'erreur quadratique moyenne de prédiction de la composition corporelle en calcium et en phosphore était faible dans les groupes témoins (nourris au besoin), avec des erreurs inférieures à 6% et une erreur de bruit (c'est à dire non liée aux paramètres du modèle) supérieure à 70%. Nous avons donc de bonnes raisons de penser que cette équation est fiable et représente vraiment un potentiel de dépôt, du fait des hauts niveaux de minéraux dans l'aliment et des conditions expérimentales favorables à la croissance des animaux. Du fait de la rareté des données nécessaires pour élaborer cette équation, elle n'a pas pu être déclinée selon différents sexes ou différentes lignées génétiques, qui pourraient potentiellement avoir un effet, puisqu'avec une même alimentation, le contenu minéral osseux ou la quantité d'os peut différer (Alexander *et al.*, 2008; Cloutier *et al.*, 2015). Cependant, le dépôt potentiel de calcium dans les os est l'élément qui influe le plus fortement sur la variabilité des besoins en phosphore et calcium (chapitre 4). Afin de proposer à terme des apports en phosphore au plus près des besoins des animaux, il faudrait pouvoir déterminer l'effet du sexe et de la lignée génétique sur le dépôt de minéraux dans les os.

Il n'existe pas autant de données disponibles sur les pertes en calcium, fécales ou urinaires et donc sur la digestibilité, que pour celles en phosphore. En effet, les pertes en phosphore ayant des conséquences importantes sur l'environnement, elles ont été largement quantifiées, tandis que les travaux sur le calcium ont débuté plus récemment. Il existe beaucoup de données sur les pertes urinaires obligatoires en phosphore et elles semblent peu variables (Bikker & Blok, 2017), nous pouvons donc raisonnablement penser que ce paramètre est un paramètre robuste. En revanche, les pertes urinaires obligatoires en calcium ont été peu étudiées et très rarement avec un aliment dépourvu ou pauvre en calcium (Bikker & Blok, 2017). Ce point constitue une voie d'amélioration du modèle, en vue d'affiner la prédiction des besoins en calcium mais aussi en phosphore, puisqu'ils sont déposés conjointement dans les os. Néanmoins, la quantité de perte obligatoire en calcium rejetée par voie urinaire est très faible (autour de 2 mg/kg de poids vif, Bikker & Blok, 2017) et n'a certainement que peu d'influence sur l'estimation des besoins en calcium et en phosphore des porcs en croissance.

Le modèle prédit d'abord des besoins en phosphore et calcium digestible apparent. Ces besoins peuvent ensuite être convertis en besoins standardisés ou totaux. Pour le phosphore, la conversion de besoins apparents en besoins standardisés se fait en considérant 190 mg de pertes endogènes basales/kg de matière sèche ingérée (MSI) (NRC, 2012). Pour le calcium, les pertes endogènes basales sont beaucoup plus variables, allant de 123 à 670 mg/kg de MSI (González-Vega *et al.*, 2015b). De plus, les pertes endogènes basales en calcium sont influencées par la composition de l'aliment, notamment par le niveau de fibre, qui semble favoriser la digestibilité du calcium (González-Vega *et al.*, 2015a; Merriman, 2016; Zhang & Adeola, 2017). Nous avons choisi une valeur de pertes endogènes basales en calcium de 300 mg/kg de MSI, suite à un échange avec l'équipe du Dr Stein, afin de faciliter la conversion de besoin en calcium apparent à standardisé mais le choix de cette valeur devra probablement être affiné. Finalement la digestibilité du calcium est encore peu comprise, notamment du fait des nombreux facteurs de modulation tel que le niveau de calcium et phosphore, les formes de phosphore (phytique ou non) ou encore la composition de l'aliment. Afin d'affiner l'estimation des apports nécessaires à l'animal, la modélisation de l'absorption du calcium chez le porc en croissance doit être revue, puisqu'elle se base plutôt sur des données peu robustes aujourd'hui.

Le ratio Ca:P dans les os n'a pas pu être vérifié lors de notre essai de dissection, du fait de la difficulté technique d'incinérer les os en toute sécurité. Néanmoins, cette donnée est réputée peu variable (Crenshaw, 2001) et la variation de ce paramètre entre les valeurs les plus extrêmes

retrouvées dans la littérature n'a aucun effet sur la variabilité du besoin en calcium et très peu d'effet sur la variabilité des besoins en phosphore (2% maximum), comme l'a démontré l'analyse de sensibilité du modèle dans le chapitre 4.

Limites du modèle

Le modèle ne tient pas compte aujourd'hui de l'effet du niveau de phosphore apporté aux animaux sur leurs performances de croissance. Il est en effet rapporté que des apports faibles ou très élevés en phosphore pouvaient diminuer la vitesse de croissance des animaux (Suttle, 2010; Vier *et al.*, 2019b) mais cet effet n'est pas rapporté dans tous les essais, malgré des niveaux parfois très faibles ou très élevés de phosphore (Pomar *et al.*, 2006). Le modèle permet aujourd'hui de prédire les besoins en phosphore en visant une maximisation de la minéralisation osseuse, il n'est donc pas question de carence pouvant modifier les performances de croissance avec ce type d'approche. Le besoin en phosphore calculé par le NRC (2012) est basé sur la maximisation des performances de croissance, et préconise un apport en phosphore équivalent à 85% de la rétention maximale en phosphore. Ceci implique qu'un apport visant une minéralisation osseuse à 100% pourrait compromettre les performances de croissance. Vier *et al.* (2019b) ont testé l'apport de différents niveaux de phosphore sur les performances des porcs en croissance et ont montré que les performances étaient dégradées à partir de 122% des besoins du NRC. Nous avons donc comparé les besoins en phosphore estimés par notre modèle pour 100% de minéralisation osseuse avec le NRC et le modèle ne prédit jamais plus de 120% des besoins du NRC chez des animaux de 20 à 120 kg de poids vif. Nous pouvons donc raisonnablement supposer que dans le modèle développé au cours de la thèse, il n'y a pas d'intérêt à intégrer l'effet du phosphore sur les performances de croissance des animaux. Cette supposition sera néanmoins à revoir si le modèle est un jour utilisé lors de stratégies de déplétion-réplétion, par exemple, avec une période de carence en phosphore, qui pourrait alors avoir un effet sur les performances de croissance des porcs. En effet, une forte carence en phosphore est connue pour diminuer l'ingestion (Suttle, 2010). L'animal ingère donc des quantités de protéine et d'énergie plus faibles, ce qui a une conséquence directe sur sa vitesse de croissance.

Le modèle développé au cours de la thèse prédit le besoin en phosphore et calcium tout au long de la vie productive des porcs. Ce modèle nutritionnel représente le système opérant de l'animal, c'est à dire les compartiments (os, tissu protéique, et tissu lipidique) et les voies métaboliques associées (Sauvant, 1992). Or, le métabolisme phosphocalcique est fortement régulé grâce à des hormones telles que la parathormone, la calcitonine, le calcitriol et la FGF-23. En effet, ces régulations visent à avoir un niveau constant de phosphore et surtout de calcium dans le sang de l'animal. Lorsque la concentration sanguine en calcium est trop faible ou trop forte ou lorsque la concentration en phosphore est trop élevée, les hormones citées vont alors stimuler ou réduire l'absorption intestinale, la réabsorption rénale et la résorption ou accrétion osseuse (Figure 7.1). Ces régulations ont des effets à long terme sur l'absorption et l'utilisation du phosphore et du calcium. L'absence de système régulateur n'est pas déterminante pour l'estimation des besoins des animaux, lorsqu'ils sont toujours alimentés au besoin. En revanche, sans représentation des effets de régulations à long terme, le modèle n'est pas utilisable dans le cadre de stratégies de déplétion-réplétion, prometteuse pour la diminution des excréments en phosphore (Voir section 7.3). L'ajout d'un système régulateur permettrait donc de compléter le modèle. La modélisation mécaniste d'un tel système est encore un peu difficile dans le cas du métabolisme phosphocalcique, notamment du fait du manque de données et de compréhension sur la digestibilité du calcium, particulièrement en cas de carence ou d'excès. Plusieurs essais portant sur l'utilisation du phosphore et du calcium chez les porcs en croissance, en cas de déplétion-réplétion ou de déséquilibres phosphocalciques, ont été réalisés dans notre équipe (Langlois *et al.*, 2016b; Gonzalo, 2017; Gonzalo *et al.*, 2018). Les données de ces essais ont été rassemblées dans une base de don-

nées, avec notamment des mesures de concentration de calcidiol, calcitriol et PTH dans le sang. Les effets de ces régulations pourraient certainement être modélisés à partir d'une telle base de données dans de futurs travaux.

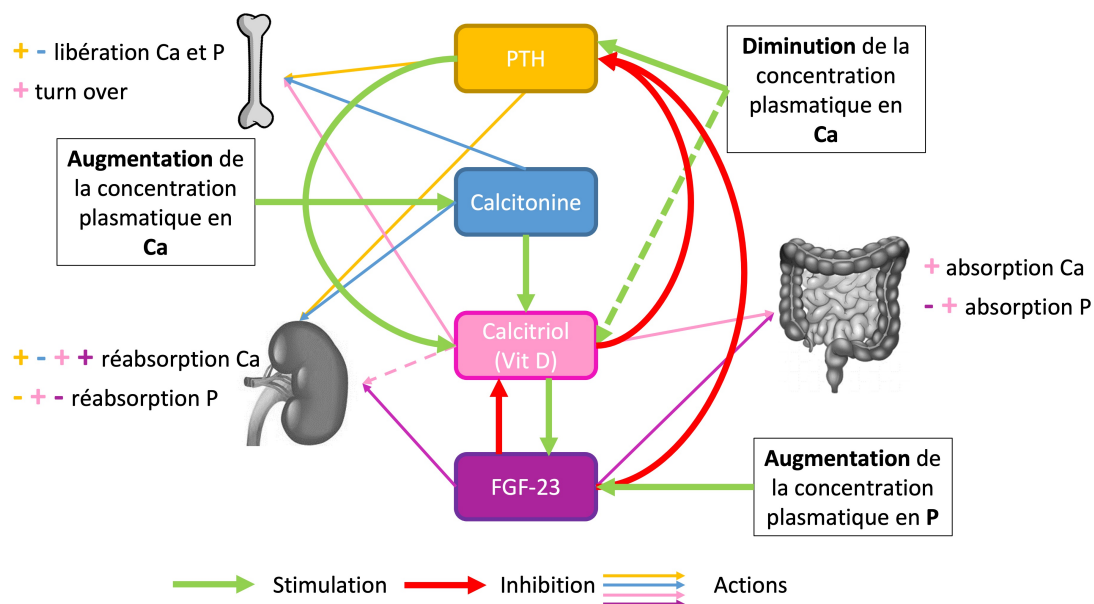


Figure 7.1 – Régulations hormonales du métabolisme phosphocalcique

Une première validation du modèle a été réalisée et présentée aux *Journées de la recherche porcine* (Annexe A) mais avec les données d'essais dans lesquels les besoins et donc les apports en phosphore et calcium n'avaient pas été estimés selon le modèle, que nous avons développé au cours de cette thèse (Lautrou *et al.*, 2020). Lors de l'essai testant les stratégies de déplétion-réplétion, les besoins des animaux avaient été estimés selon le modèle présenté dans cette thèse. La cinétique de dépôt de minéraux dans les os dans le groupe Contrôle, dont les apports étaient censés permettre un dépôt maximal, n'est pas du tout linéaire et ne ressemble donc pas au potentiel de dépôt (Figure 7.2). Pendant la phase 1, le potentiel de dépôt de minéraux dans les os a été atteint par les animaux du groupe Contrôle mais en phase 2, le dépôt est plus faible qu'en phase 1 ; et en phase 3, il est légèrement supérieur mais loin d'atteindre la courbe de potentiel. Cependant, nous supposons que cette différence importante entre le potentiel de dépôt et le dépôt réalisé vient majoritairement d'une digestibilité surestimée du calcium (section 7.3).

7.2.2 Utilisation du modèle en recherche et application en élevage

Le modèle précédemment décrit est un modèle générique : il peut être utilisé pour prédire les besoins d'un animal moyen mais il n'intègre pas, par exemple, un effet sexe ou lignée génétique. L'analyse de sensibilité présentée dans le chapitre 4, quantifie les paramètres les plus influents sur la variabilité des besoins en phosphore et calcium, selon le poids de l'animal (30, 60 ou 120 kg de poids vif). Les paramètres étudiés étaient le ratio Ca:P de dépôt dans les os, le potentiel de dépôt de calcium dans les os, et le dépôt de lipides et de protéines. Le dépôt potentiel de calcium dans les os est responsable de plus de 99% de la variabilité du besoin en calcium et de 84 à 98% du besoin en phosphore selon le poids vif de l'animal. Le dépôt protéique constitue le second paramètre d'influence, représentant un peu plus de 15% de la variabilité du besoin en phosphore à 30 kg, 6% à 60 kg, et moins de 1% à 120 kg. Les différences de dépôt corporel de protéines et de lipides selon le sexe ou la lignée génétique sont plutôt bien connus. Le dépôt protéique est en effet plus élevé chez les mâles entiers que chez les mâles castrés et les femelles; à l'inverse le dépôt de lipides est plus faible chez les mâles entiers que chez les femelles, chez qui

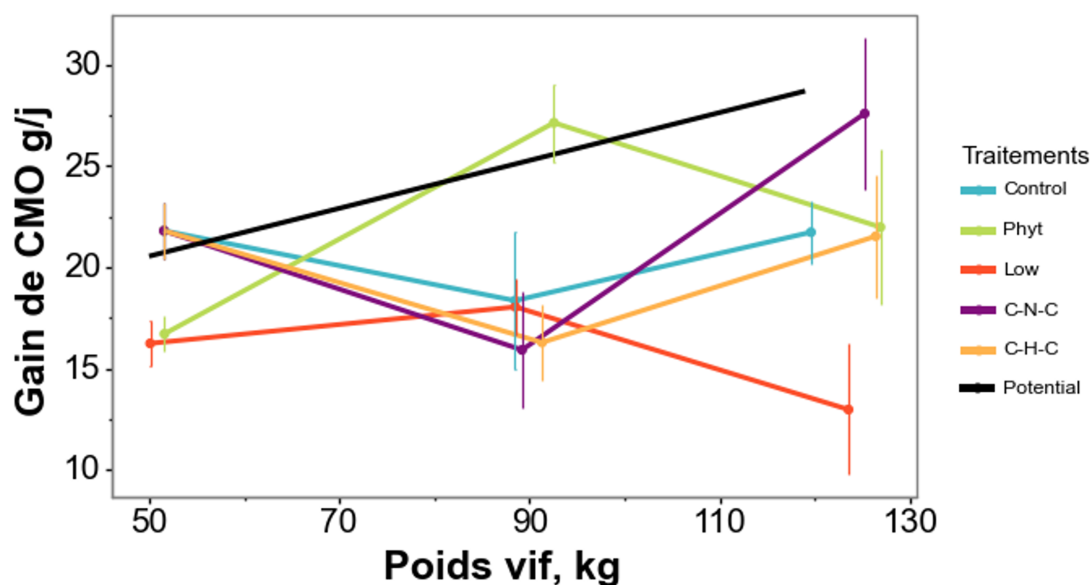


Figure 7.2 – Gain moyen de contenu minéral osseux moyen réalisé par phase dans chaque groupe et potentiel de gain de contenu minéral osseux journalier selon Lautrou *et al.* (2020)

il est plus faible que chez les mâles castrés (Schinckel *et al.*, 2008; Ruiz-Ascacibar *et al.*, 2019b). Les différentes lignées génétiques entraînent aussi des différences dans le gain de protéines et de lipides corporels. Les lignées synthétiques sont par exemple moins grasses que les Piértrain, eux-même moins gras que les Large White (Quiniou & Noblet, 1995). Il y a donc suffisamment de données et de connaissances pour calibrer le modèle et l'adapter à des génétiques ou sexes différents concernant le dépôt de protéines et de lipides corporels. En revanche, les différences de cinétique de dépôt de minéraux dans les os sont moins bien connues, puisque moins étudiées. Il y a tout de même des différences entre lignées connues pour avoir une ossature plus lourde que d'autres, comme les Duroc par exemple (Alexander *et al.*, 2008). Des études laissent à penser qu'il existe des différences de contenu minéral osseux selon les lignées. Cloutier *et al.* (2015) ont en effet comparé la croissance d'animaux d'une lignée terminale et d'une lignée maternelle et il s'est avéré que la lignée terminale avait un contenu minéral osseux inférieur à celui de la lignée maternelle. De plus, le gain de contenu minéral osseux journalier au cours des phases d'études semble plus faible dans la lignée terminale que dans la lignée maternelle (non analysé dans l'article), la différence de contenu minéral osseux pourrait donc augmenter avec le poids vif des animaux. Dans l'essai de Alexander *et al.* (2008), bien que les lignées Duroc soient connues pour avoir une ossature plus lourde, la force à la rupture et la quantité de cendres osseuses étaient plus faibles que celles de la lignée synthétique. Cependant, dans d'autres études, la différence de croissance osseuse entre sexes ou lignées n'a pas été remarquée (Quiniou & Noblet, 1995; Wiseman *et al.*, 2009; Ruiz-Ascacibar *et al.*, 2019b). Finalement, la généricité du modèle permet d'envisager une utilisation pratique en élevage. De plus, le choix d'un modèle mécaniste permet d'ajuster certains paramètres précédemment cités afin de personnaliser le modèle selon le sexe et la génétique de l'animal. Néanmoins, le manque de données rend aujourd'hui difficile de spécifier une équation de dépôt potentiel de calcium dans les os pour chaque sexe ou pour différentes lignées génétiques.

Ce modèle proposant la prédiction de besoins journaliers en phosphore et calcium pourrait être utilisé dans le cadre de l'alimentation de précision pour viser une maximisation de la minéralisation osseuse. Cependant, en pratique, les systèmes d'alimentation de précision ne sont pas évidents à mettre en place pour le phosphore, parce que les apports en phosphore doivent intégrer de nombreux critères de réponse : les performances de croissance ne doivent pas être dégradées, les rejets doivent être limités mais il faut aussi maintenir un bon niveau de minéralisa-

tion osseuse pour ne pas avoir de fractures pendant le transport/l'abattage, qui peuvent entraîner des pétéchies et des déclassements de carcasse. La mise en place de stratégies permettant une utilisation améliorée du phosphore couplées à notre modèle pourrait répondre à ces objectifs. Mais en pratique, les systèmes de décision sont plus difficiles à imaginer pour le phosphore que pour d'autres nutriments comme la protéine du fait du phénomène de stockage et déstockage des minéraux dans les os. En effet, si l'animal s'adapte à un aliment déficitaire en phosphore, entraînant une déminéralisation osseuse, ce ne sera pas visible ou quantifiable avec les outils traditionnellement disponibles en élevage. Il est impossible aujourd'hui de suivre la minéralisation osseuse en élevage. Nous conseillons aujourd'hui un ratio Ca total:P digestible non fixe au cours de la croissance des porcs dans l'aliment pour satisfaire les besoins des animaux. L'alimentation de précision, aujourd'hui, consiste en pratique en un mélange d'aliments sur la ferme par des alimenteurs de précision, avec par exemple un aliment riche en un nutriment et l'autre avec une concentration faible, dont le mélange permettra d'atteindre le niveau désiré pour chaque porc et à chaque jour. Rien que pour satisfaire les besoins en phosphore, en calcium et leur ratio il faudrait idéalement quatre silos : un avec niveau élevé en phosphore, un avec niveau faible en phosphore, et la même chose pour le calcium. Or, la formulation de régimes alimentaires doit aussi intégrer les acides aminés et l'énergie par exemple. Il faudrait donc aboutir à des compromis sur les aliments en fonction du nombre de silos envisageables dans chaque élevage, ce qui nous éloigne de l'alimentation dite de précision... Néanmoins, dans certains systèmes d'élevage, uniquement engraisseurs et avec des animaux au même stade (comme au Québec), deux aliments pour le calcium et le phosphore pourraient suffire en imaginant un rechargement des silos réguliers (à la semaine/aux deux semaines) avec de nouveaux aliments. Il y aurait alors un compromis sur le ratio Ca total:P digestible mais sur de courtes périodes de temps.

7.3 Stratégies alimentaires d'amélioration de l'efficacité d'utilisation du phosphore

7.3.1 Mise en place de séquences de déplétion-réplétion et stratégie sans phosphate

Il a déjà été montré que des séquences de déplétion et réplétion dans les apports en phosphore et calcium étaient prometteuses pour diminuer les intrants et les rejets en phosphore pour l'élevage, tout en maintenant un niveau de minéralisation osseuse satisfaisant en fin de croissance, sans avoir d'effet sur les performances de croissance. Dans l'essai présenté au chapitre 5, les porcs ont subi une déplétion dans les apports en phosphore et en calcium en deuxième phase de croissance, et une réplétion dans la dernière phase. À la fin de la phase de déplétion, le contenu minéral osseux était le même dans tous les groupes (déplétés ou non), ce qui n'est pas en accord avec les essais de Létourneau-Montminy *et al.* (2014) ou Gonzalo *et al.* (2018), lors desquels une déplétion dans les apports en phosphore et calcium avait entraîné un contenu minéral osseux plus faible. La durée de phase de déplétion dans notre essai était pourtant équivalente à celles testées dans Létourneau-Montminy *et al.* (2014) et Gonzalo *et al.* (2018) (28 versus 27 jours dans notre essai) mais l'intensité de la déplétion était plus forte dans notre essai que dans Gonzalo *et al.* (2018) et équivalente de celle induite par Létourneau-Montminy *et al.* (2014). La différence majeure avec les essais précédemment cités est constituée par le fait que les porcs n'ont pas été en carence lors des 28 jours de phase de déplétion. En fin de phase supposée de déplétion, les animaux déplétés présentent un statut sanguin indiquant plutôt qu'ils sont en réplétion, comme s'ils avaient subi une carence moins longue que prévue. Le suivi du statut sanguin par phase ne permet néanmoins pas d'estimer la durée de la carence. Plusieurs raisons peuvent expliquer ces observations. D'abord, les valeurs de calcium et de phosphore dans l'aliment sont basées sur les prédictions de besoins du modèle. Le modèle offre des prédictions journalières pour maximiser la minéralisation osseuse. L'alimentation dans les essais réalisés au cours de la thèse fonctionnant

par phase, il a fallu transformer des estimations de besoins journaliers en apports en calcium et phosphore digestible pour chaque phase. Pour valider l'hypothèse d'une maximisation de la minéralisation osseuse permise par des recommandations de besoin issues de notre modèle, nous avons fait le choix de prendre les valeurs maximales de besoins en phosphore digestible et en calcium par phase, et d'en faire la valeur de l'aliment pour la phase (Figure 7.3a). De plus, les animaux sont arrivés à l'élevage avec un poids plus élevé que prévu et leur croissance a aussi été plus rapide que prévue en phase 1. L'excès de phosphore digestible provoqué par le choix de la valeur maximale par phase, a été amplifié par ce décalage de poids (Figure 7.3b). La déplétion en phosphore a été fixée à 40% en dessous du besoin mais encore une fois, avec l'alimentation par phase, les apports en phosphore digestible (g/kg) sont au-dessus de 60% des besoins (Figure 7.3c) et ceci a encore été accentué par le décalage de poids (Figure 7.3d). Finalement, avec l'alimentation par phase et ce décalage de poids imprévu, les animaux en phase de déplétion étaient nourris avec un apport en phosphore digestible supérieur à 60% du besoin. En moyenne, sur la phase de déplétion les apports étaient à 66% du besoin pour une minéralisation osseuse maximale. Ensuite, l'ingestion des porcs a été plus élevée que prévue, tout au long de la croissance des animaux. L'ingestion de phosphore digestible en moyenne sur la phase de déplétion (en g/j) était donc de 82% du besoin pour la maximisation de la minéralisation osseuse. Au lieu d'avoir une déplétion de 40% nous avons eu une déplétion d'environ 18% sur l'ingestion de phosphore digestible. Par ailleurs, l'alimentation par phase en essai rend difficile la quantification des régulations, puisque la déplétion induite ne correspond pas tous les jours à celle souhaitée.

La prédiction des besoins en calcium total avec le modèle repose sur des hypothèses fortes. Après discussion avec l'équipe du Dr. Stein, nous avons appliqué une digestibilité standardisée du calcium de 70%, ce qui est très élevé par rapport à celle de 58% prise par Bikker et Blok (2017), par exemple. Si la digestibilité choisie est trop élevée, l'apport en calcium absorbable est limité et le calcium se retrouve donc limitant pour le dépôt de minéraux dans les os. Cette hypothèse semble être corroborée par les mesures de cages métaboliques réalisées en phase de déplétion. En effet, lors de cette phase, les pertes urinaires en calcium étaient indétectables à l'analyse, alors que celles en phosphore étaient de 0,8 g par jour dans le groupe Contrôle, 0,9 g dans le groupe déplété avec un ratio Ca total:P digestible normal (2,7), et 0,4 g dans le groupe déplété avec un ratio élevé (3,1). Or, les pertes urinaires obligatoires en phosphore sont censées être inférieures à celles en calcium (Bikker & Blok, 2017). Il apparaît donc qu'en phase 2, lors de laquelle le dépôt de contenu minéral osseux (CMO) était le plus faible pour le groupe contrôle, le calcium était limitant. L'apport en calcium semble donc avoir été limitant dans tous les groupes, ce qui a fait diminuer le dépôt de minéraux dans les os notamment dans le groupe contrôle (Figure 7.2). La courte déplétion en phosphore et certainement en calcium dans les groupes déplétés, a pu entraîner quand même des régulations, et donc une augmentation de l'efficacité d'utilisation du phosphore et du calcium suffisante pour atteindre le niveau réduit de minéralisation osseuse du groupe contrôle. En phase de réplétion, le gain de CMO tendait à être plus élevé dans le groupe déplété avec un ratio Ca total:P digestible normal, que dans le groupe Contrôle et le groupe déplété avec un ratio élevé. La carence en calcium absorbable semble donc avoir quand même été suffisante pour provoquer des régulations et une meilleure efficacité d'utilisation du phosphore et du calcium qui s'est prolongée dans le temps. La différence de CMO en fin de phase de déplétion entre les groupes contrôle et déplétés n'était pas significative mais les animaux déplétés ont dépassé numériquement le CMO des animaux du groupe contrôle, certainement du fait de l'effet des régulations induites par la carence.

Finalement, le choix d'une déplétion d'environ 40% du besoin est pertinent puisqu'il a donné lieu à une déplétion observée. Cette déplétion n'était pas trop intense et la compensation du retard de minéralisation osseuse a été très rapide. Par contre, nous ne connaissons pas la durée de la déplétion. L'idéal serait de tester ce type de stratégie dans des conditions d'alimentation de précision avec une adaptation journalière des apports à l'individu, ainsi la déplétion (durée et intensité) pourrait être gérée avec plus de fiabilité.

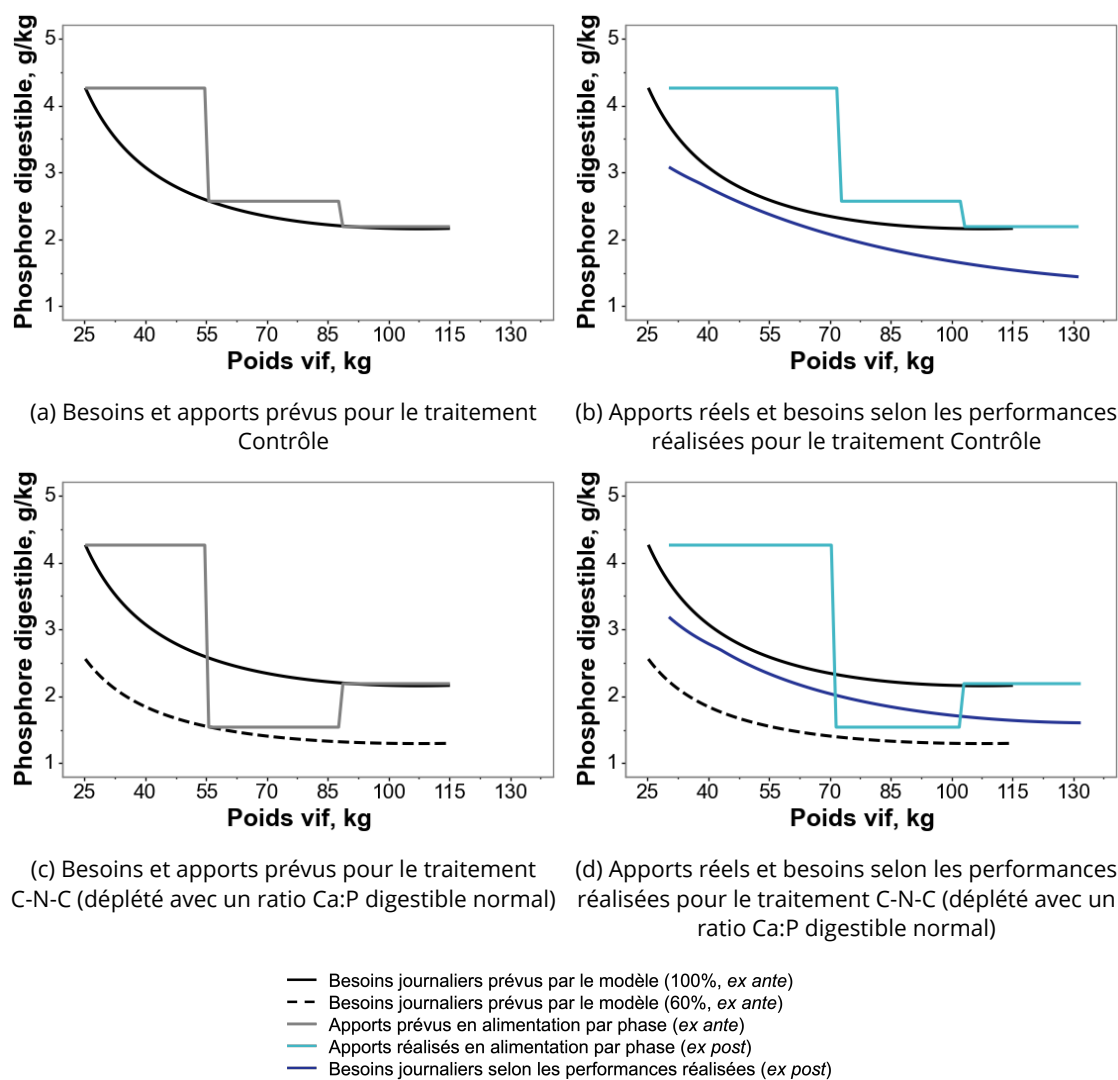


Figure 7.3 – Besoins et apports en phosphore digestible prévus et réalisés dans l'essai de déplétion-réplétion (Chapitre 5)

L'utilisation de phytases est aussi un levier bien connu pour augmenter l'efficacité de l'utilisation du phosphore des matières premières d'origine végétale et permet donc de diminuer l'apport en phosphate minéral. Il existe différentes générations de phytases, qui sont de plus en plus efficaces pour la libération de phosphore et de calcium. Néanmoins, elles ne sont pas toujours utilisées de façon adéquate, notamment concernant la libération de calcium. Les phytases libéreraient, d'après les fabricants, du calcium et du phosphore selon un ratio d'environ 1:1. Or, la dégradation toujours plus efficace des IP_6 et IP_5 avec les phytases de dernières générations, pourrait avoir augmenté la quantité de calcium soluble et donc entraîné une augmentation du ratio de Ca libéré:P libéré à environ 2 (Adeola & Cowieson, 2011). En cas de surdosage de la phytase, le ratio Ca libéré:P libéré serait rééquilibré et se rapprocherait de 1.

Nous avons testé au cours de notre dernier essai, l'utilisation d'une phytase de dernière génération dans le cadre d'une stratégie de déplétion-réplétion. Pour cela nous avons testé une stratégie sans phosphate minéral, mais avec apport de cette phytase afin de valoriser au mieux le phosphore des matières premières d'origine végétale. Si cette stratégie n'a pas permis d'atteindre les besoins en phosphore digestible des porcs en phase 1 de l'essai (de 30 à 70 kg environ), en revanche le besoin en phosphore digestible était couvert à 100 % dans les phases 2 et 3 (de 70 à 130 kg environ). L'apport en phase 1 était donc à 60% du besoin. En parallèle, un aliment bas en phosphore (60% du besoin), sans utilisation de phytase, était distribué à un troisième groupe à toutes les phases. La déplétion, lors de la phase 1 a bien fonctionné, puisque le niveau de CMO à la fin de cette phase était le même dans les groupes Phyt et Bas, et était inférieur à celui dans le groupe Contrôle. Par contre, les performances de croissance dans le groupe recevant de la phytase ont été légèrement diminuées. Les résultats des cages métaboliques indiquent qu'il y a pu y avoir un excès en calcium soluble, car les rejets en calcium par voie urinaire ont été plus élevés dans le groupe Phyt que les autres. En effet, les analyses d'aliment indiquent que la teneur en calcium analysée était supérieure à celle désirée de 1,8 g/kg d'aliment. Nous avons bien retiré à l'aliment Phyt, lors de la formulation, tout le calcium supposé être rendu disponible par la phytase mais l'excès de calcium dans l'aliment combiné à l'effet de la phytase a entraîné un excès en calcium soluble. De plus, le ratio Ca:P de la matrice de la phytase que nous avons utilisée est supposé à 0,86:1 : selon Adeola et Cowieson (2011), la phytase aurait pu libérer plus de calcium que prévu, aggravant l'excès de calcium et donc la carence en phosphore. Lors de la première phase de réplétion, le gain de contenu minéral osseux est très supérieur dans le groupe Phyt par rapport aux autres groupes. La façon d'estimer le niveau d'apport nécessaire en calcium dans l'essai, comme présenté précédemment a engendré une carence en ce minéral et donc a limité le dépôt de minéraux dans les os chez les animaux du groupe contrôle. L'utilisation de la phytase, qui a peut-être libéré plus de calcium que prévu, combinée aux effets des régulations mises en place lors de la phase 1, avec une meilleure absorption et réabsorption des minéraux, a permis une augmentation du gain de CMO de 47% par rapport au groupe Contrôle. En phase 3, les effets des régulations semblent estompés puisqu'il n'y avait pas de différence de gain de CMO entre le groupe ayant reçu la phytase et le groupe Contrôle.

Un apport élevé en calcium peut aggraver une carence en phosphore, notamment du fait de formation de complexes Ca-P indigestibles (Létourneau-Montminy *et al.*, 2012; Narcy *et al.*, 2012; Létourneau-Montminy & Narcy, 2013; Lagos *et al.*, 2019). Ainsi, si le modèle construit au cours de la thèse est utilisé pour définir des stratégies de déplétion-réplétion, il faudra considérer trois points :

1. La carence en calcium ne doit pas être plus forte que celle en phosphore pour optimiser l'utilisation ultérieure du phosphore (Gonzalo, 2017).
2. La carence en phosphore ne doit pas être trop forte pour ne pas pénaliser les performances de croissance.
3. Le ratio Ca:P digestible apporté ne doit pas être trop élevé, pour ne pas aggraver la carence en phosphore.

Table 7.1 – Excrétions de phosphore par phase selon le traitement alimentaire, estimées par les données de scan

	Phase 1			Phase 2				
	C	Phyt	Bas	C-C	Phyt	Bas	C-N	C-H
CMJ ¹ , g/j	2,51	2,44	2,55	3,51	3,66	3,53	3,65	3,64
P total, g/kg	7,1	3,6	5,5	5,1	3,3	3,7	4,0	4,0
P fixé, g/j	5,7	4,7	4,7	4,7	6,5	4,8	4,5	4,3
Phase, j	39	39	39	27	27	27	27	27
Rejets, g/phase	472	159	362	354	146	225	270	273
Rejets, g/j	12,1	4,1	9,3	13,1	5,4	8,3	10,0	10,1

¹ CMJ: consommation moyenne journalière

La différence de pourcentage entre la carence en phosphore et celle du calcium doit donc être assez faible, comme testée dans le chapitre 5 (plus ou moins 5%).

7.3.2 Conséquences des travaux réalisés sur la durabilité de l'élevage porcin

Les rejets en phosphore peuvent être estimés avec les données de scan des animaux. En effet, nous connaissons la composition en phosphore des aliments, la consommation des animaux, et avec les scans nous pouvons quantifier la rétention en phosphore. Les rejets en phosphore calculés selon les données de scan sont présentés dans le tableau 7.1. Du fait du poids des animaux, nous n'avons pas pu réaliser le dernier scan, en fin de phase 3, c'est pourquoi seuls les rejets des phases 1 et 2 sont présentés avec les données de scan. Globalement, les rejets en phosphore sont assez élevés. En effet, lorsque les rejets du groupe contrôle sont comparés à d'autres essais (Andretta *et al.*, 2014; Andretta *et al.*, 2016), ils sont jusqu'à 57% plus élevés. Plusieurs raisons peuvent expliquer cela :

1. Comme signalé dans la partie précédente, la façon d'estimer les apports de phosphore dans chaque phase a créé un excès important en phosphore relativement aux besoins. Le poids plus important des porcs à l'arrivée dans l'élevage et la croissance plus rapide que prévue ont encore augmenté l'excès de phosphore dans l'aliment.
2. L'ingestion des porcs a été plus élevée que prévue tout au long de la croissance des animaux, sans pour autant déposer plus de minéraux qu'attendu dans les os (du fait de la quantité limitante de calcium). Les animaux ont donc clairement ingéré plus de phosphore que prévu et n'ont pas réussi à l'utiliser, il s'est donc retrouvé dans les rejets.
3. Le calcium a été limitant en phase 2, limitant le dépôt de ce minéral dans les os et donc aussi le dépôt de phosphore. Le même phénomène a pu se produire en phase 3, c'est pourquoi, le gain de CMO était plus faible qu'envisagé. Nous avons prévu un dépôt moyen quotidien de phosphore dans l'os de 3,6 g en phase 1, 4,4 g en phase 2 et 5,1 g en phase 3. Le gain quotidien de phosphore dans l'os réalisé a été de 3,7 g en phase 1, 3,3 g en phase 2 et 3,8 g en phase 3. Le phosphore distribué en excès par rapport au dépôt dans l'os a donc été excrété dans les urines.

L'application de séquences de déplétion-réplétion a permis une diminution des rejets en phosphore d'environ 23% par rapport au groupe contrôle lors de la phase de déplétion. En phase de réplétion, le groupe qui a subi une déplétion avec un ratio Ca total:P digestible normal a eu gain de CMO numériquement très supérieur à celui du groupe Contrôle (+6,8 g/j). Le gain moyen quotidien (GMQ) dans ce groupe était aussi numériquement plus élevé, il est donc possible que les rejets en phosphore aient été plus faibles que dans le groupe Contrôle. En revanche, la consommation

moyenne journalière, et donc l'ingestion en phosphore dans ce groupe, étaient numériquement plus élevées, ce qui risque de diminuer l'écart de pertes en phosphore entre le groupe déplété avec un ratio normal et le groupe Contrôle. La diminution d'excrétion la plus impressionnante a été obtenue avec le groupe ayant reçu de la phytase. En effet les rejets totaux en phosphore en fin de phase 2 sont diminués de 63% par rapport au groupe contrôle.

Par ailleurs, le phosphate est un élément coûteux dans l'alimentation porcine. Dans certains élevages, afin de se conformer aux normes phosphore, il a été également nécessaire de mettre en place des stations de traitement des effluents, et parfois, il est indispensable d'épandre sur des terres éloignées. L'excès de phosphore apporté dans l'alimentation par rapport aux besoins a donc des conséquences négatives sur la performance économique des exploitations. Dans le contexte de l'essai, la stratégie sans phosphate était économiquement intéressante. En effet, le coût de l'aliment était moins élevé que l'aliment contrôle (-4\$ par animal) et la forte diminution des excréments en phosphore, nécessite moins de surface pour l'épandage. Cette stratégie pourrait donc permettre de ne pas avoir à traiter le lisier avant de l'utiliser ou à l'exporter, faisant disparaître une partie des coûts liés à la gestion des effluents. De plus, le phosphate est une ressource dont le prix tend à augmenter et peut surtout être très volatile. À l'inverse, le prix de la phytase diminue depuis sa mise en marché, et est aussi moins volatile (Cowieson *et al.*, 2014). L'utilisation d'une stratégie sans phosphate pourrait participer à sécuriser à la fois le prix de l'aliment porc et les rejets en phosphore.

Table 7.2 – Coût des aliments des essais de déplétion-réplétion

Traitements	Phase 1					Phase 2					Phase 3					Total			
	C	Phyt	Bas	CC	Phyt	Bas	CN	CH	CCC	Phyt	Bas	CNC	CHC	CCC	Phyt	Bas	CNC	CHC	
Prix, \$/tonne	362	344	351	337	331	332	332	332	330	326	326	330	330	330					
CMJ ¹ , kg/porc/j	2,51	2,44	2,55	3,51	3,66	3,53	3,65	3,64	3,88	3,69	3,75	4,04	4,06						
Phase, j	39	39	39	27	27	27	27	27	28	28	28	28	28						
Ingestion, kg/porc/phase	97,89	95,16	99,45	94,77	98,82	95,31	98,55	98,28	108,64	103,32	105	113,12	113,68	301,3	297,3	299,76	309,56	309,85	
Coût, \$/porc/phase	35,43	32,76	34,95	31,96	32,74	31,63	32,75	32,64	35,87	33,66	34,18	37,35	37,54	103,26	99,16	100,75	105,53	105,61	
Gain poids, kg/phase	72,7	71	72,6	36,2	37,2	35,5	37,2	36	22,7	22,1	22,7	24,9	25	131,60	130,30	130,80	134,80	133,70	
Coût aliment, ct \$/kg	48,73	46,14	48,13	88,28	88,01	89,09	88,04	90,67	158,04	152,32	150,58	150,01	150,15	78,46	76,10	77,03	78,29	78,99	

¹ CMJ: consommation moyenne journalière

Conclusion et perspectives

Ce travail de thèse a permis le développement d'un modèle d'estimation des besoins phosphocalciques basé sur une approche nouvelle. Il est le premier modèle dans lequel le besoin en minéraux pour le dépôt osseux est indépendant du dépôt de tissus mous. Ceci a nécessité la détermination de la composition anatomique et chimique des porcs en croissance, à 3 poids vifs différents (24, 65 et 117 kg). Cet essai a confirmé le changement anatomique des porcs actuels par rapport aux précédentes générations ; les porcs sont plus maigres et par ailleurs, les femelles sont moins grasses que les mâles castrés. La composition chimique (matière sèche, protéines, lipides, cendres, calcium et phosphore) des tissus mous a également changé et évolue avec le poids vif. À notre connaissance, la comparaison de la composition chimique des tissus à différents poids vifs n'avait encore jamais été présentée. Ces données ont été utilisées dans le développement du modèle de prédiction des besoins en phosphore et calcium des porcs en croissance, plus particulièrement pour estimer le besoin phosphocalcique pour le dépôt dans les tissus mous.

Les besoins estimés par le modèle sont différents de ceux proposés par les modèles de l'INRAe (2005) ou du NRC (2012) : les besoins en phosphore et calcium (en g/kg d'aliment) se maintiennent voire augmentent à partir d'environ 80 kg de poids vif. De plus, le modèle propose un ratio Ca:P dans l'aliment qui évolue avec le poids vif de l'animal, ce qui semble plus en adéquation avec la dynamique des besoins, du fait d'une séparation entre les dépôts de protéines et de contenu minéral osseux durant la croissance. Ce nouveau modèle permet aujourd'hui d'estimer de façon précise les besoins en calcium et phosphore digestible durant la croissance à l'échelle du troupeau. Dans l'idée d'utiliser ce modèle pour estimer les besoins de chaque porc, des travaux pourraient être menés pour mesurer l'effet du sexe et de la génétique sur l'utilisation du phosphore et du calcium. Pour chacun de ces effets, de nouvelles courbes de dépôt potentiel de minéraux dans les os pourraient être produites et implémentées dans le modèle.

Une étape de validation du modèle a ensuite été réalisée en conditions expérimentales. Les niveaux d'apport de phosphore et calcium des aliments témoins ont été estimés par phase selon le modèle présenté dans cette thèse avec l'objectif de maximiser la minéralisation osseuse. Des stratégies d'optimisation de l'utilisation de phosphore, que sont la déplétion-réplétion et l'ajout de phytase pour remplacer complètement les phosphates, ont également été testées. Les stratégies de déplétion-réplétion ont amélioré l'utilisation du phosphore, ce qui a permis d'atteindre le même contenu minéral osseux que des porcs non déplétés, sans diminuer les performances de croissance, et tout en réduisant les rejets en phosphore. La stratégie sans phosphate, avec ajout de phytase microbienne dans l'aliment a été particulièrement efficace pour la diminution des intrants en phosphates et des rejets en phosphore. Dans tous les cas, l'efficacité de l'utilisation du phosphore pourrait être encore améliorée avec une meilleure estimation de la digestibilité du calcium, surtout lors de l'utilisation de phytase.

Enfin, pour que le modèle précédemment développé puisse être appliqué à ces nouvelles stratégies, une meilleure compréhension et quantification de l'incidence des régulations sur l'utilisation du phosphore et du calcium est nécessaire. La réussite des stratégies de déplétion-réplétion et l'application précise des recommandations issues du modèle sur le terrain dépendent également beaucoup de la précision des mesures des minéraux dans l'aliment et de la façon d'estimer la part de calcium et phosphore digestible.

Références Bibliographiques

- Adeola, O. & Cowieson, A. J. (2011). Board-invited review: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *Journal of Animal Science*, 89(10), 3189-3218. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3715> (cf. p. 31, 34, 122)
- Adeola, O., Olukosi, O. A., Jendza, J. A., Dilger, R. N. & Bedford, M. R. (2006). Response of growing pigs to *Peniophora lycii*- And *Escherichia coli*-derived phytases or varying ratios of calcium to total phosphorus. *Animal Science*, 82(5), 637-644. <https://doi.org/10.1079/ASC200676> (cf. p. 21, 31, 34, 39)
- Aiyangar, A. K., Au, A. G., Crenshaw, T. D. & Ploeg, H. L. (2010). Recovery of bone strength in young pigs from an induced short-term dietary calcium deficit followed by a calcium replete diet. *Medical Engineering and Physics*, 32(10), 1116-1123. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2010.08.001> (cf. p. 35, 36, 38)
- Åkesson, K., Lau, K. H., Johnston, P., Imperio, E. & Baylink, D. J. (1998). Effects of short-term calcium depletion and repletion on biochemical markers of bone turnover in young adult women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83(6), 1921-1927. <https://doi.org/10.1210/jc.83.6.1921> (cf. p. 35)
- Alexander, L. S., Qu, A., Cutler, S. A., Mahajan, A., Lonergan, S. M., Rothschild, M. F., Weber, T. E., Kerr, B. J. & Stahl, C. H. (2008). Response to dietary phosphorus deficiency is affected by genetic background in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 86(10), 2585-2595. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0692> (cf. p. 115, 118)
- Alexander, R. T., Rievaj, J. & Dimke, H. (2014). Paracellular calcium transport across renal and intestinal epithelia. *Biochemistry and Cell Biology*, 92(6), 467-480. <https://doi.org/10.1139/bcb-2014-0061> (cf. p. 5, 8)
- Allen, M. J. (2003). Biochemical markers of bone metabolism in animals: Uses and limitations. *Veterinary Clinical Pathology*, 32(3), 101-113 (cf. p. 24, 25, 36).
- Almeida, F. N. & Stein, H. (2010). Performance and phosphorus balance of pigs fed diets formulated on the basis of values for standardized total tract digestibility of phosphorus. *Journal of Animal Science*, 88(9), 2968-2977. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2285> (cf. p. 19, 30, 39)
- Alon, U. S. (2011). Clinical practice - Fibroblast growth factor (FGF)23: A new hormone. *European Journal of Pediatrics*, 170(5), 545-554. <https://doi.org/10.1007/s00431-010-1382-5> (cf. p. 14)
- Andretta, I., Pomar, C., Rivest, J., Pomar, J., Lovatto, P. A. & Radünz Neto, J. (2014). The impact of feeding growing-finishing pigs with daily tailored diets using precision feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and carcass composition1. *Journal of Animal Science*, 92(9), 3925-3936. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-7643> (cf. p. 39, 123)
- Andretta, I., Pomar, C., Rivest, J., Pomar, J. & Radünz, J. (2016). Precision feeding can significantly reduce lysine intake and nitrogen excretion without compromising the performance of growing pigs. *Animal*, 10(7), 1137-1147. <https://doi.org/10.1017/S1751731115003067> (cf. p. 123)
- Angel, R., Tamim, N. M., Applegate, T. J., Dhandu, A. S. & Ellestad, L. E. (2002). Phytic acid chemistry: Influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *Journal of Applied Poultry Research*, 11(4), 471-480. <https://doi.org/10.1093/japr/11.4.471> (cf. p. 15)
- Anwar, M. N., Ravindran, V., Morel, P. C., Ravindran, G. & Cowieson, A. J. (2016). Measurement of true ileal calcium digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. *Poultry Science*, 95(1), 70-76. <https://doi.org/10.3382/ps/pev319> (cf. p. 19)
- Ashwell, C. M. & Angel, R. (2010). Nutritional genomics: a practical approach by early life conditioning with dietary phosphorus. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 39(suppl spe), 268-278. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300030> (cf. p. 35)

- Auchère, D., Taedivel, S., Gounelle, J. C., Drüeke, T. & Lacour, B. (1998). Role of transcellular pathway in ileal Ca²⁺ absorption: Stimulation by low-Ca²⁺ diet. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 275(5 38-5), 951-956. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1998.275.5.g951> (cf. p. 5)
- Augspurger, N. R., Spencer, J. D., Webel, D. M. & Baker, D. H. (2004). Pharmacological zinc levels reduce the phosphorus-releasing efficacy of phytase in young pigs and chickens. *Journal of Animal Science*, 82(6), 1732-1739. <https://doi.org/10.2527/2004.8261732x> (cf. p. 33)
- Augspurger, N. R., Webel, D. M., Lei, X. G. & Baker, D. H. (2003). Efficacy of an E. coli phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. *Journal of Animal Science*, 81(2), 474-483. <https://doi.org/10.2527/2003.812474x> (cf. p. 31)
- Bacic, D., LeHir, M., Biber, J., Kaissling, B., Murer, H. & Wagner, C. A. (2006). The renal Na⁺/phosphate cotransporter NaPi-IIa is internalized via the receptor-mediated endocytic route in response to parathyroid hormone. *Kidney International*, 69(3), 495-503. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000148> (cf. p. 12)
- Baker, D. H. (1986). Problems and Pitfalls in Animal Experiments Designed to Establish Dietary Requirements for Essential Nutrients. *The Journal of Nutrition*, 116(12), 2339-2349. <https://doi.org/10.1093/jn/116.12.2339> (cf. p. 25)
- Biber, J., Custer, M., Magagnin, S., Hayes, G., Werner, A., Lötscher, M., Kaissling, B. & Murer, H. (1996). Renal Na/Pi-cotransporters. *Kidney International*, 49(4), 981-985. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.139> (cf. p. 9)
- Bikker, P. (1994). *Protein and lipid accretion in body components of growing pigs: Effects of body weight and nutrient intake* (thèse de doct.). (Cf. p. 114).
- Bikker, P. & Blok, M. (2017). *Phosphorus and calcium requirements of growing pigs and sows* (rapp. tech. N° 59). <https://doi.org/10.18174/424780>. (Cf. p. 19, 26, 28, 41, 42, 115, 120)
- Blaine, J., Chonchol, M. & Levi, M. (2015). Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 10(7), 1257-1272. <https://doi.org/10.2215/CJN.09750913> (cf. p. 6-9, 12-14)
- Blaustein, M. P. & Lederer, W. J. (1999). Sodium / Calcium Exchange : Its Physiological Implications. *Physiological reviews*, 79(3), 763-854. <https://doi.org/0031-9333/99> (cf. p. 5, 6, 9)
- Blavi, L., Sola-Oriol, D., Perez, J. F. & Stein, H. H. (2017). Effects of zinc oxide and microbial phytase on digestibility of calcium and phosphorus in maize-based diets fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 95(2), 847-854. <https://doi.org/10.2527/jas2016.1149> (cf. p. 33)
- Bleukx, W. (2005). Production et qualité nutritionnelle des phosphates alimentaires. *Productions Animales*, 18(3), 169-173. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2005.18.3.3521> (cf. p. 15)
- Bohlke, R. A., Thaler, R. C. & Stein, H. H. (2005). Calcium, phosphorus, and amino acid digestibility in low-phytate corn, normal corn, and soybean meal by growing pigs. *Journal of Animal Science*, 83(10), 2396-2403. <https://doi.org/10.2527/2005.83102396x> (cf. p. 18, 20)
- Bonewald, L. F. (2011). The amazing osteocyte. *Journal of Bone and Mineral Research*, 26(2), 229-238. <https://doi.org/10.1002/jbmr.320> (cf. p. 12)
- Bonucci, E. (1992). *Calcification in Biological Systems* (E. Bonucci, Éd.). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003068396>. (Cf. p. 11)
- Brandenburger, M. (2004). *Verlauf der postnatalen Entwicklung des Vitamin D-abhängigen Ca²⁺ - Transportes im Dünndarm von Ferkeln* (thèse de doct.). Tierärztliche Hochschule Hannover. (Cf. p. 5).
- Brautbar, N., Lee, D. N., Coburn, J. W. & Kleeman, C. R. (1979). Normophosphatemic phosphate depletion in growing rat. *American Journal of Physiology Endocrinology Metabolism and Gastrointestinal Physiology*, 5(3). <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1979.236.3.e283> (cf. p. 3)
- Bredella, M. A., Ghomi, R. H., Thomas, B. J., Torriani, M., Brick, D. J., Gerweck, A. V., Misra, M., Klibanski, A. & Miller, K. K. (2010). Comparison of DXA and CT in the Assessment of Body Composition in Premenopausal Women With Obesity and Anorexia Nervosa. *Obesity*, 18(11), 2227-2233. <https://doi.org/10.1038/oby.2010.5> (cf. p. 24)
- Breves, G., Schröder, B. & Muscher, A. (2010). Luminal and endocrine factors for regulation of intestinal monosaccharide and Ca²⁺ transport. *Livestock Science*, 134(1-3), 4-10. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.06.081> (cf. p. 4, 5)
- Bronner, F. (1987). Intestinal calcium absorption: Mechanisms and applications. *Journal of Nutrition*, 117(8), 1347-1352. <https://doi.org/10.1093/jn/117.8.1347> (cf. p. 5)

- Bronner, F., Slepchenko, B., Wood, R. J. & Pansu, D. (2003). The Role of Passive Transport in Calcium Absorption. *International Journal of Phytoremediation*, 133(1), 1426. <https://doi.org/10.1080/13518040701205365> (cf. p. 6)
- Cannata-Andía, J. B., Rodríguez García, M. & Gómez Alonso, C. (2013). Osteoporosis and adynamic bone in chronic kidney disease. *Journal of Nephrology*, 26(1), 73-80. <https://doi.org/10.5301/jn.5000212> (cf. p. 22)
- Champagne, E. T. & Fisher, M. S. (1990). Binding differences of Zn(II) and Cu(II) ions with phytate. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 38(3), 217-223. [https://doi.org/10.1016/0162-0134\(90\)84014-G](https://doi.org/10.1016/0162-0134(90)84014-G) (cf. p. 33)
- Cheryan, M. & Rackis, J. J. (1980). Phytic acid interactions in food systems. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 13(4), 297-335. <https://doi.org/10.1080/10408398009527293> (cf. p. 34)
- Christakos, S. (2012a). Mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D 3 on intestinal calcium absorption. *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, 13(1), 39-44. <https://doi.org/10.1007/s11154-011-9197-x> (cf. p. 5, 13)
- Christakos, S. (2012b). Recent advances in our understanding of 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulation of intestinal calcium absorption. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 523(1)arXiv NIHMS150003, 73-76. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2011.12.020> (cf. p. 5, 13)
- Christakos, S., Gabrielides, C. & Rhoten, W. B. (1989). Vitamin D-dependent calcium binding proteins: Chemistry, distribution, functional considerations, and molecular biology. *Endocrine Reviews*, 10(1), 3-26. <https://doi.org/10.1210/edrv-10-1-3> (cf. p. 13)
- Christakos, S., Mady, L. J. & Dhawan, P. (2018). Calbindin-D28K and Calbindin-D9K and the Epithelial Calcium Channels TRPV5 and TRPV6. In *Vitamin D: Fourth Edition* (Fourth Edi, p. 343-359). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809965-0.00021-5>. (Cf. p. 13)
- Christensen, T., Mejlidal, R., Dersjant-li, Y., Debicki-Garnier, A.-M. & Messenger, B. (2019). Activité phytasique relative dans une gamme de pH allant résultats d ' une étude in vitro comparant trois phytases. *Journées Recherche Porcine*, 113-114 (cf. p. 31).
- Clarke, B. (2008). Normal bone anatomy and physiology. *Clinical journal of the American Society of Nephrology*, 3 Suppl 3, 131-139. <https://doi.org/10.2215/CJN.04151206> (cf. p. 10, 11)
- Cloutier, L., Pomar, C., Létourneau Montminy, M. P., Bernier, J. F. & Pomar, J. (2015). Evaluation of a method estimating real-time individual lysine requirements in two lines of growing-finishing pigs. *Animal*, 9(4), 561-568. <https://doi.org/10.1017/S1751731114003073> (cf. p. 115, 118)
- Cormier, C., Souberbielle, J., Kindermans, C., Menkes, C. & Sachs, C. (1993). Les marqueurs osseux. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 8(6), 348-354. [https://doi.org/10.1016/S0923-2532\(05\)80125-5](https://doi.org/10.1016/S0923-2532(05)80125-5) (cf. p. 24, 25)
- Couture, C., Chiasson, R., Pomar, C. & Letourneau, M.-P. (2018). Évolution de la teneur en protéine corporelle et du contenu minéral osseux des porcs charcutiers nourris avec différents niveaux de phosphore et calcium alimentaires. *Journées Recherche Porcine*, 50(1), 167-168 (cf. p. 29, 30, 41, 114).
- Cowieson, A. J., Masey-O'Neill, H. & Bedford, M. R. (2014). Enzymes beyond phytase in poultry nutrition. (Cf. p. 124).
- Cowieson, A. J., Wilcock, P. & Bedford, M. R. (2011). Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *World's Poultry Science Journal*, 67(2), 225-235. <https://doi.org/10.1017/S0043933911000250> (cf. p. 34)
- Crenshaw, T. D. (1986). Reliability of dietary Ca and P levels and bone mineral content as predictors of bone mechanical properties at various time periods in growing swine. *Journal of Nutrition*, 116(11), 2155-2170. <https://doi.org/10.1093/jn/116.11.2155> (cf. p. 24)
- Crenshaw, T. D. (2001). Calcium, Phosphorus, Vitamin D, and Vitamin K in Swine Nutrition. In A. J. Lewis & L. L. Southern (Éd.), *Swine Nutrition, Second Edition* (CRC Press, p. 187-212). New York. (Cf. p. 4-6, 10, 13, 31, 41, 114, 115).
- Crenshaw, T. D. (2014). Nutritionally induced cellular signals that affect skeletal integrity in swine Bone composition and integrity Selection of a single bone for diagnosis of the animal Turn-around time and pitfalls in methods to assess mineral status. (Cf. p. 21).
- Crenshaw, T. D., Danielson, J., Hoffman, L. & Schneider, D. (2009). Femurs are more accurate than fibulas as predictors of whole body bone mineral content in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 87((E-Suppl 2)), 510 (cf. p. 22).

- Crenshaw, T. D., Peo, E. R., Lewis, A. J., Moser, B. D. & Olson, D. (1981). Influence of age, sex and calcium and phosphorus levels on the mechanical properties of various bones in swine. *Journal of animal science*, 52(6), 1319-1329. <https://doi.org/10.2527/jas1981.5261319x> (cf. p. 23, 24)
- CVB Centraal Veevoederbureau. (2000). *Veevoedertabel*. Lelystad, The Netherlands. (Cf. p. 18).
- De Groote, G., Lippens, M., Jongbloed, A. & Meschy, F. (2002). *Study on the Bioavailability of major and trace minerals* (rapp. tech.). <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.610-613.3085>. (Cf. p. 15, 16)
- De Jong, J. A., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Stark, C. R. & Jones, C. K. (2017). Stability of four commercial phytase products under increasing thermal conditioning temperatures. *Translational Animal Science*, 1(3), 255-260. <https://doi.org/10.2527/tas2017.0030> (cf. p. 31)
- De Lange, C., Morel, P. & Birkett, S. (2003). Modeling chemical and physical body composition of the growing pig. *Journal of Animal Science*, 81(14_suppl_2), E159-E165. https://doi.org/10.2527/2003.8114_suppl_2E159x (cf. p. 21)
- Delaissé, J. M., Andersen, T. L., Engsig, M. T., Henriksen, K., Troen, T. & Blavier, L. (2003). Matrix metalloproteinases (MMP) and cathepsin K contribute differently to osteoclastic activities. *Microscopy Research and Technique*, 61(6), 504-513. <https://doi.org/10.1002/jemt.10374> (cf. p. 12)
- Delmas, P. D., Eastell, R., Garnero, P., Seibel, M. J. & Stepan, J. (2000). The Use of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis. *Osteoporosis International*, 11(3), S2-S17. <https://doi.org/10.1007/s001980070002> (cf. p. 24)
- Dersjant-Li, Y., Awati, A., Schulze, H. & Partridge, G. (2015). Phytase in non-ruminant animal nutrition: A critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(5), 878-896. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6998> (cf. p. 30-32)
- Dersjant-Li, Y., Hruby, M., Evans, C. & Greiner, R. (2019). A critical review of methods used to determine phosphorus and digestible amino acid matrices when using phytase in poultry and pig diets. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 7, e2. <https://doi.org/10.1017/JAN.2019.1> (cf. p. 32)
- Desoutter, J., Mentaverri, R., Brazier, M. & Kamel, S. (2012). Le remodelage osseux normal et pathologique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012(446), 33-42. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71733-1](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71733-1) (cf. p. 11)
- Dilger, R. N. & Adeola, O. (2006). Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing pigs fed conventional and low-phytate soybean meals. *Journal of Animal Science*, 84(3), 627-634. <https://doi.org/10.2527/2006.843627x> (cf. p. 18, 19)
- DiMeglio, L. A. & Imel, E. A. (2019). Calcium and Phosphate: Hormonal Regulation and Metabolism. In D. B. Burr & M. J. Allen (Éd.), *Basic and Applied Bone Biology (Second Edition)* (Academic P, p. 257-282). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813259-3.00013-0>. (Cf. p. 4-8, 12, 13)
- Dourmad, J.-Y., Boudon, A. & Narcy, A. (2020). Le phosphore dans les systèmes d'élevage. *INRAE Productions Animales*, 33(1). <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2020.33.1.3126> (cf. p. 1, 41)
- Drivdahl, R. H., Liu, C. C. & Baylink, D. J. (1984). Regulation of bone repletion in rats subjected to varying low-calcium stress. *American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology*, 246, R190-R196. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.1984.246.2.r190> (cf. p. 35)
- Driver, J., Pesti, G., Bakalli, R. & Edwards, H. (2005). Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficacy in broiler chicks. *Poultry Science*, 84(9), 1406-1417. <https://doi.org/10.1093/ps/84.9.1406> (cf. p. 34)
- Eeckhout, W. & De Paepe, M. (1994). Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Animal Feed Science and Technology*, 47(1-2), 19-29. [https://doi.org/10.1016/0377-8401\(94\)90156-2](https://doi.org/10.1016/0377-8401(94)90156-2) (cf. p. 31)
- Fan, D., Takawale, A., Lee, J. & Kassiri, Z. (2012). Cardiac fibroblasts, fibrosis and extracellular matrix remodeling in heart disease. *Fibrogenesis and Tissue Repair*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1755-1536-5-15> (cf. p. 11)

- Fan, M. Z. & Sauer, W. C. (2002). Additivity of apparent ileal and fecal phosphorus digestibility values measured in single feed ingredients for growing-finishing pigs. *Canadian Journal of Animal Science*, 82(2), 183-191. <https://doi.org/10.4141/A01-072> (cf. p. 19)
- Fan, M. Z., Archbold, T., Sauer, W. C., Lackeyram, D., Rideout, T., Gao, Y., De Lange, C. F. & Hacker, R. R. (2001). Novel methodology allows simultaneous measurement of true phosphorus digestibility and the gastrointestinal endogenous phosphorus outputs in studies with pigs. *Journal of Nutrition*, 131(9), 2388-2396. <https://doi.org/10.1093/jn/131.9.2388> (cf. p. 19)
- FAO & WHO. (2001). Human Vitamin and Mineral Requirements. *Human vitamin and mineral requirements*, 303 (cf. p. 25).
- Farrow, E. G. & White, K. E. (2010). Recent advances in renal phosphate handling. *Nature Reviews Nephrology*, 6(4), 207-217. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2010.17> (cf. p. 9, 10, 12, 13)
- Feaster, J., Shirley, R., McCall, J. & Davis, G. (1953). P32 distribution and excretion in rats fed vitamin D-free and low phosphorus diets, 381-392 (cf. p. 3).
- Feil, B. (2001). Phytic Acid (B. Holland, I. d. Unwin & D. H. Buss, Éd.). *Journal of New Seeds*, 3(3), 1-35. https://doi.org/10.1300/J153v03n03_01 (cf. p. 15)
- Forster, I. C., Hernando, N., Biber, J. & Murer, H. (2006). Proximal tubular handling of phosphate: A molecular perspective. *Kidney International*, 70(9), 1548-1559. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001813> (cf. p. 9)
- FranceAgriMer. (2021). *Fiche filière - Viande porcine* (rapp. tech.). (Cf. p. 1).
- Frandsen, R. D., Wilke, W. L. & Fails, A. D. (2009). *Anatomy and Physiology of Farm Animals*. (Cf. p. 10-13).
- Franz-Odenaal, T. A., Hall, B. K. & Witten, P. E. (2006). Buried alive: How osteoblasts become osteocytes. *Developmental Dynamics*, 235(1), 176-190. <https://doi.org/10.1002/dvdy.20603> (cf. p. 12)
- Friggens, N. C., Andersen, J. B., Larsen, T., Aaes, O. & Dewhurst, R. J. (2004). Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. *Animal Research*, 53(6), 453-473. <https://doi.org/10.1051/animres:2004037> (cf. p. 35)
- Fujita, H., Sugimoto, K., Inatomi, S., Maeda, T., Osanai, M., Uchiyama, Y., Yamamoto, Y., Wada, T., Kojima, T., Yokozaki, H., Yamashita, T., Kato, S., Sawada, N. & Chiba, H. (2008). Tight Junction Proteins Claudin-2 and -12 Are Critical for Vitamin D-dependent Ca²⁺ Absorption between Enterocytes (A. Nusrat, Éd.). *Molecular Biology of the Cell*, 19(5), 1912-1921. <https://doi.org/10.1091/mbc.e07-09-0973> (cf. p. 5, 13)
- Gaillard, C., Gauthier, R., Cloutier, L. & Dourmad, J. Y. (2019). Exploration of individual variability to better predict the nutrient requirements of gestating sows. *Journal of Animal Science*, 97(12), 4934-4945. <https://doi.org/10.1093/jas/skz320> (cf. p. 27)
- Garcia, R., Rosentrater, K. A. & Flores, R. A. (2006). Characteristics of North American Meat and Bone Meal Relevant to the Development of Non-Feed Applications. *Applied Engineering in Agriculture*, 22(5), 729-736. <https://doi.org/10.13031/2013.21989> (cf. p. 17)
- Garrett, J. B., Kretz, K. A., O'Donoghue, E., Kerovuo, J., Kim, W., Barton, N. R., Hazlewood, G. P., Short, J. M., Robertson, D. E. & Gray, K. A. (2004). Enhancing the thermal tolerance and gastric performance of a microbial phytase for use as a phosphate-mobilizing monogastric-feed supplement. *Applied and Environmental Microbiology*, 70(5), 3041-3046. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.5.3041-3046.2004> (cf. p. 31)
- Gauthier, R., Largouët, C., Gaillard, C., Cloutier, L., Guay, F. & Dourmad, J. Y. (2019). Dynamic modeling of nutrient use and individual requirements of lactating sows. *Journal of Animal Science*, 2822-2836. <https://doi.org/10.1093/jas/skz167> (cf. p. 27)
- Gloux, A., Le Roy, N., Brionne, A., Bonin, E., Juanchich, A., Benzoni, G., Piketty, M. L., Prié, D., Nys, Y., Gautron, J., Narcy, A. & Duclos, M. J. (2019). Candidate genes of the transcellular and paracellular calcium absorption pathways in the small intestine of laying hens. *Poultry Science*, 98(11), 6005-6018. <https://doi.org/10.3382/ps/pez407> (cf. p. 13)
- Goff, J. P. (2006). Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Animal Feed Science and Technology*, 126(3-4), 237-257. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.08.005> (cf. p. 35)
- González-Vega, J. C. & Stein, H. H. (2014). - Invited Review - Calcium Digestibility and Metabolism in Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 27(1), 1-9. <https://doi.org/10.5713/ajas.2014.r.01> (cf. p. 4, 6, 12, 13, 16, 31, 36)

- González-Vega, J. C., Walk, C. L., Liu, Y. & Stein, H. H. (2013). Determination of endogenous intestinal losses of calcium and true total tract digestibility of calcium in canola meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(10), 4807-4816. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-6410> (cf. p. 19, 20)
- González-Vega, J. C., Walk, C. L. & Stein, H. H. (2015a). Effect of phytate, microbial phytase, fiber, and soybean oil on calculated values for apparent and standardized total tract digestibility of calcium and apparent total tract digestibility of phosphorus in fish meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 93(10), 4808. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-8992> (cf. p. 19, 20, 115)
- González-Vega, J. C., Walk, C. L. & Stein, H. H. (2015b). Effects of microbial phytase on apparent and standardized total tract digestibility of calcium in calcium supplements fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 93(5), 2255-2264. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8215> (cf. p. 16, 19, 20, 115)
- González-Vega, J. C., Walk, C. L., Liu, Y. & Stein, H. H. (2014). The site of net absorption of Ca from the intestinal tract of growing pigs and effect of phytic acid, Ca level and Ca source on Ca digestibility. *Archives of Animal Nutrition*, 68(2), 126-142. <https://doi.org/10.1080/1745039X.2014.892249> (cf. p. 4, 16, 18, 19)
- Gonzalo, E. (2017). *Consequences of a dietary phosphorus and calcium depletion and repletion strategy in growing-finishing pigs* (thèse de doct.). (Cf. p. 2, 35, 36, 39, 43, 116, 122).
- Gonzalo, E., Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Bernier, J. F. & Pomar, C. (2018). Consequences of dietary calcium and phosphorus depletion and repletion feeding sequences on growth performance and body composition of growing pigs. *animal*, 12(6), 1165-1173. <https://doi.org/10.1017/S1751731117002567> (cf. p. 21, 24, 35, 36, 38, 39, 43, 116, 119)
- Goodman, W. G. (2005). Calcium and phosphorus metabolism in patients who have chronic kidney disease. *Medical Clinics of North America*, 89(3), 631-647. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2004.12.005> (cf. p. 4, 6, 7)
- Goss, S. L., Lemons, K. A., Kerstetter, J. E. & Bogner, R. H. (2007). Determination of calcium salt solubility with changes in pH and PCO₂, simulating varying gastrointestinal environments. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 59(11), 1485-1492. <https://doi.org/10.1211/jpp.59.11.0004> (cf. p. 4)
- Gourmelen, C. & Rieu, M. (2006). Évaluation Du Coût De La Gestion Des Effluents Dans Différents Types D'Exploitations Porcines. *Journées Recherche Porcine*, 38(1), 263-270 (cf. p. 41).
- Greiner, R. & Konietzny, U. (2006). Phytase for food application. *Food Technology and Biotechnology*, 44(2), 125-140 (cf. p. 30).
- Greiner, R. & Konietzny, U. (2012). Update on characteristics of commercial phytases. *International Phytase Summit*, 96-107 (cf. p. 15).
- Guéguen, L. & Perez, J. M. (1981). A re-evaluation of recommended dietary allowances of calcium and phosphorus for pigs. *Proceedings of the nutrition society*, 40, 273-278 (cf. p. 26).
- Günzel, D. & Yu, A. S. L. (2013). Claudins and the Modulation of Tight Junction Permeability. *Physiological Reviews*, 93(2), 525-569. <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2012> (cf. p. 6, 7)
- Gutzwiller, A., Stoll, P. & Guggisberg, D. (2007). Apport de phosphore et faiblesse des pattes chez le jeune porc. *Revue suisse Agric.*, 39, 233-237 (cf. p. 41).
- Hasegawa, H., Nagano, N., Urakawa, I., Yamazaki, Y., Iijima, K., Fujita, T., Yamashita, T., Fukumoto, S. & Shimada, T. (2010). Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. *Kidney International*, 78(10), 975-980. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.313> (cf. p. 14)
- Hattenhauer, O., Traebert, M., Murer, H. & Biber, J. (1999). Regulation of small intestinal Na-P(i) type IIb cotransporter by dietary phosphate intake. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 277(4 40-4). <https://doi.org/10.1152/ajpgi.1999.277.4.g756> (cf. p. 6, 13)
- Henriksen, K. & Karsdal, M. A. (2019). *Type I collagen* (Second Edi, T. 2). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817068-7.00001-X>. (Cf. p. 11)
- Hoenderop, J. G. J., Hartog, A., Stuiver, M., Doucet, A., Willems, P. H. & Bindels, R. J. (2000a). Localization of the epithelial Ca²⁺ channel in rabbit kidney and intestine. *Journal of the American Society of Nephrology*, 11(7), 1171-1178. <https://doi.org/10.1681/asn.v1171171> (cf. p. 8)

- Hoenderop, J. G. J., Nilius, B. & Bindels, R. J. (2005). Calcium absorption across epithelia. *Physiological Reviews*, 85(1), 373-422. <https://doi.org/10.1152/physrev.00003.2004> (cf. p. 5, 8)
- Hoenderop, J. G. J., Vennekens, R., Müller, D., Prenen, J., Droogmans, G., Bindels, R. J. & Nilius, B. (2001). Function and expression of the epithelial Ca²⁺ channel family: Comparison of mammalian ECaC1 and 2. *Journal of Physiology*, 537(3), 747-761. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2001.012917> (cf. p. 5)
- Hoenderop, J. G. J., Willems, P. H. G. M. & Bindels, R. J. M. (2000b). Toward a comprehensive molecular model of active calcium reabsorption. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 278(3), F352-F360. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2000.278.3.F352> (cf. p. 9, 13)
- Hou, J. (2013). The Role of Claudin in Hypercalciuric Nephrolithiasis. *Current Urology Reports*, 14(1)arXiv NIHMS150003, 5-12. <https://doi.org/10.1007/s11934-012-0289-2> (cf. p. 7, 8)
- Humer, E., Schwarz, C. & Schedle, K. (2015). Phytate in pig and poultry nutrition. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99(4), 605-625. <https://doi.org/10.1111/jpn.12258> (cf. p. 16, 30)
- IFIP. (2016). Porc par les chiffres, la filière porcine en France, dans l'UE et le monde. IFIP-Institut du Porc. (Cf. p. 1).
- IFP. (2021). Evaluating feed phosphates. (Cf. p. 15).
- Jondreville, C. & Dourmad, J. Y. (2005). Le phosphore dans la nutrition des porcs. *Productions Animales*, 18(3), 183-192 (cf. p. 28, 41, 127).
- Jondreville, C. & Dourmad, J. Y. (2006). Phosphorus in pig nutrition. *Productions Animales*, 18(3), 183-192 (cf. p. 26, 29, 30).
- Jongbloed, A. W., Mroz, Z. & Kemme, P. A. (1992). The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *Journal of animal science*, 70(4), 1159-1168. <https://doi.org/10.2527/1992.7041159x> (cf. p. 20)
- Jongbloed, A., Everts, H., Kemme, P. & Mroz, Z. (1999). Quantification of absorbability and requirements of macroelements. In I. Kyriazakis (Ed.), *Quantitative biology of the pig* (p. 275-298). Wallingford, UK, CAB International. (Cf. p. 26).
- Jongbloed, A. & Kemme, P. (1990). Apparent digestible phosphorus in the feeding of pigs in relation to availability, requirement and environment. 1. Digestible phosphorus in feedstuffs from plant and animal origin. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 38(3B), 567-575. <https://doi.org/10.18174/njas.v38i3b.16579> (cf. p. 17)
- Jørgensen, J. N., Fernández, J. A., Jørgensen, H. H. & Just, A. (1985). Anatomical and chemical composition of female pigs and barrows of Danish Landrace related to nutrition. *Zeitschrift für Tierphysiologie Tierernährung und Futtermittelkunde*, 54(1-5), 253-263. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1985.tb01539.x> (cf. p. 114)
- Kasper, C., Schlegel, P., Ruiz-Ascacibar, I., Stoll, P. & Bee, G. (2020). Accuracy of predicting chemical body composition of growing pigs using dual-energy X-ray absorptiometry. *bioRxiv*, 1-24. <https://doi.org/10.1101/2020.09.15.286153> (cf. p. 35)
- Kellett, G. L. (2011). Alternative perspective on intestinal calcium absorption: Proposed complementary actions of Cav1.3 and TRPV6. *Nutrition Reviews*, 69(7), 347-370. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2011.00395.x> (cf. p. 5, 6)
- Kemme, P. A., Schlemmer, U., Mroz, Z. & Jongbloed, A. W. (2006). Monitoring the stepwise phytate degradation in the upper gastrointestinal tract of pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(4), 612-622. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2380> (cf. p. 20, 30)
- Khanal, R. C. & Nemere, I. (2008). Regulation of intestinal calcium transport. *Annual Review of Nutrition*, 28(May), 179-196. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.010308.161202> (cf. p. 5, 6, 13)
- Kinsella, S., Murphy, K., Breen, M., O'Neill, S., McLaughlin, P., Coyle, J., Bogue, C., O'Neill, F., Moore, N., McGarrigle, A., Molloy, M. G., Maher, M. M. & Eustace, J. A. (2015). Comparison of single CT scan assessment of bone mineral density, vascular calcification and fat mass with standard clinical measurements in renal transplant subjects: the ABC HeART study. *BMC Nephrology*, 16(1), 188. <https://doi.org/10.1186/s12882-015-0182-6> (cf. p. 24)
- Knöpfel. (2017). *Mechanisms of intestinal phosphate absorption* (thèse de doct.). University of Zurich. (Cf. p. 6).
- Kopic, S. & Geibel, J. P. (2013). Gastric acid, calcium absorption, and their impact on bone health. *Physiological Reviews*, 93(1), 189-268. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2012> (cf. p. 5)

- Kornegay, E. T. (2001). Digestion of Phosphorus and Other Nutrients: the Role of Phytases and Factors Influencing Their Activity. In M. R. Bedford & G. G. Partridge (Éd.), *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Wallingford, UK, CABI Publishing. (Cf. p. 31).
- Kriz, W. & Kaissling, B. (2013). Structural Organization of the Mammalian Kidney. In *Seldin and Giebisch's The Kidney* (p. 595-691). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381462-3.00020-3>. (Cf. p. 6)
- Lagos, L. V., Walk, C. L., Murphy, M. R. & Stein, H. H. (2019). Effects of dietary digestible calcium on growth performance and bone ash concentration in 50- to 85-kg growing pigs fed diets with different concentrations of digestible phosphorus. *Animal Feed Science and Technology*, 247, 262-272. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.11.019> (cf. p. 122)
- Lagos, L. V., Lee, S. A., Bedford, M. R. & Stein, H. H. (2021). Formulation of diets for pigs based on a ratio between digestible calcium and digestible phosphorus results in reduced excretion of calcium in urine without affecting retention of calcium and phosphorus compared with formulation based on values for total. *Journal of Animal Science*, 99(5), 1-7. <https://doi.org/10.1093/jas/skab138> (cf. p. 39)
- Lambers, T. T., Bindels, R. J. & Hoenderop, J. G. J. (2006). Coordinated control of renal Ca²⁺ handling. *Kidney International*, 69(4), 650-654. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000169> (cf. p. 9)
- Lambers, T. T., Weidema, A. F., Nilius, B., Hoenderop, J. G. J. & Bindels, R. J. (2004). Regulation of the mouse epithelial Ca²⁺ channel TRPV6 by the Ca²⁺-sensor calmodulin. *Journal of Biological Chemistry*, 279(28), 28855-28861. <https://doi.org/10.1074/jbc.M313637200> (cf. p. 5)
- Langlois, J., Pomar, C. & Létourneau-Montminy, M.-P. (2016a). Estimation des besoins de phosphore et de calcium chez le porc de 25 à 50 kilogrammes de poids vif. *Journées Recherche Porcine*, 48(2), 163-164 (cf. p. 115).
- Langlois, J., Pomar, C. & Létourneau-Montminy, M.-P. (2016b). Impact de déséquilibres phospho-calciques sur les performances zootechniques et la minéralisation osseuse chez le porc en finition. *Journées Recherche Porcine*, 48(2), 109-114 (cf. p. 42, 115, 116).
- Lautrou, M., Pomar, C., Dourmad, J.-Y., Narcy, A., Schmidely, P. & Létourneau-Montminy, M. (2020). Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling. *Animal*, 14(S2), s313-s322. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001627> (cf. p. 117, 118)
- Lautrou, M., Narcy, A., Dourmad, J.-Y., Pomar, C., Schmidely, P. & Létourneau-Montminy, M.-P. (2021). Dietary Phosphorus and Calcium Utilization in Growing Pigs: Requirements and Improvements. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 1-17. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734365> (cf. p. 2)
- Lee, S. A., Lagos, L. V. & Stein, H. H. (2019). Digestible calcium and digestible phosphorus in swine diets. In J. H. Smith & L. Eastwood (Éd.), *Proceedings of London swine conference* (p. 63-72). (Cf. p. 18-20).
- Lei, X. G., Ku, P. K., Miller, E. R., Yokoyama, M. T. & Ullrey, D. E. (1994). Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal diets of weanling pigs1. *Journal of Animal Science*, 72(1), 139-143. <https://doi.org/10.2527/1994.721139x> (cf. p. 34)
- Lei, X. G. & Porres, J. M. (2003). Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnology Letters*, 25(21), 1787-1794. <https://doi.org/10.1023/A:1026224101580> (cf. p. 31)
- Lei, X. G., Weaver, J. D., Mullaney, E., Ullah, A. H. & Azain, M. J. (2013). Phytase, a new life for an "old" enzyme. *Annual Review of Animal Biosciences*, 1, 283-309. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-031412-103717> (cf. p. 31, 32)
- Les Éleveurs de porcs du Québec. (2016). *Étude Sur Les Coûts De Production Du Porc Et Du Porcelet* (rapp. tech.). (Cf. p. 1).
- Les Éleveurs de porcs du Québec. (2021). Rapport 2020-2021. (Cf. p. 1).
- Létourneau-Montminy, M. P., Jondreville, C., Sauvante, D. & Narcy, A. (2012). Meta-analysis of phosphorus utilization by growing pigs: effect of dietary phosphorus, calcium and exogenous phytase. *Animal*, 6(10), 1590-1600. <https://doi.org/10.1017/S1751731112000560> (cf. p. 20, 30, 122)
- Létourneau-Montminy, M. P., Lovatto, P. A. & Pomar, C. (2014). Apparent total tract digestibility of dietary calcium and phosphorus and their efficiency in bone mineral retention are affected by body mineral status in growing pigs1. *Journal of Animal Science*, 92(9), 3914-3924. <https://doi.org/10.2527/jas.2013-7320> (cf. p. 35, 36, 38, 39, 119)

- Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Dourmad, J. Y., Crenshaw, T. D. & Pomar, C. (2015). Modeling the metabolic fate of dietary phosphorus and calcium and the dynamics of body ash content in growing pigs. *Journal of Animal Science*, 93(3), 1200-1217. <https://doi.org/10.2527/jas.2014-8519> (cf. p. 30, 42, 113)
- Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Lescoat, P., Magnin, M., Bernier, J. F., Sauvant, D., Jondreville, C. & Pomar, C. (2011). Modeling the fate of dietary phosphorus in the digestive tract of growing pigs. *Journal of Animal Science*, 89(11), 3596-3611. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3397> (cf. p. 20, 31)
- Létourneau-Montminy, M. P., Narcy, A., Magnin, M., Sauvant, D., Bernier, J. F., Pomar, C. & Jondreville, C. (2010). Effect of reduced dietary calcium concentration and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilization in weanling pigs with modified mineral status. *Journal of Animal Science*, 88(5), 1706-1717. <https://doi.org/10.2527/jas.2008-1615> (cf. p. 21, 24, 34, 38, 39, 41)
- Létourneau-Montminy, M.-P. & Narcy, A. (2013). Meta-analysis of the impact of dietary phosphorus, calcium, and microbial phytase on growth performance in pigs., In *Poster Presented at the Annual Meeting of Midwest ASAS ADSAS, 10-13 March 2013, Des Moines, USA, P100*. (Cf. p. 122).
- Liu, J., Bollinger, D. W., Ledoux, D. R. & Veum, T. L. (1998). Lowering the dietary calcium to total phosphorus ratio increases phosphorus utilization in low-phosphorus corn-soybean meal diets supplemented with microbial phytase for growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science*, 76, 808-813 (cf. p. 34).
- Liu, J., Bollinger, D. W., Ledoux, D. R. & Veum, T. L. (2000). 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*, 78(1), 106-109. <https://doi.org/10.2527/2000.781106x> (cf. p. 4, 6, 18, 31)
- Liu, J. B., Cao, S. C., Chen, L. & Zhang, H. F. (2016). Effect of dietary phosphorus level on the determination of standardized and true total tract digestibility of phosphorus for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 215(March), 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.022> (cf. p. 19, 20)
- Liu, J., Yan, H., Cao, S., Liu, J. & Zhang, H. (2018). Effect of feed intake level on the determination of apparent and standardized total tract digestibility of phosphorus for growing pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 246, 137-143. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2018.10.012> (cf. p. 19)
- Long, F. (2012). Building strong bones: molecular regulation of the osteoblast lineage. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 13(1), 27-38. <https://doi.org/10.1038/nrm3254> (cf. p. 11)
- Lovatto, P. A. & Sauvant, D. (2003). Modeling homeorhetic and homeostatic controls of pig growth. *Journal of Animal Science*, 81(3), 683-696. <https://doi.org/10.2527/2003.813683x> (cf. p. 3)
- Maenz, D. D., Engele-Schaan, C. M., Newkirk, R. W. & Classen, H. L. (1999). The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. *Animal Feed Science and Technology*, 81(3-4), 177-192. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(99\)00085-1](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(99)00085-1) (cf. p. 31, 33)
- Mahan, D. C. & Shields, R. G. (1998). Macro- and micromineral composition of pigs from birth to 145 kilograms of body weight. *Journal of Animal Science*, 76(2), 506. <https://doi.org/10.2527/1998.762506x> (cf. p. 21)
- McCormick, C. C. (2002). Passive diffusion does not play a major role in the absorption of dietary calcium in normal adults. *Journal of Nutrition*, 132(11), 3428-3430. <https://doi.org/10.1093/jn/132.11.3428> (cf. p. 6)
- Menezes-Blackburn, D., Gabler, S. & Greiner, R. (2015). Performance of Seven Commercial Phytases in an in Vitro Simulation of Poultry Digestive Tract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(27), 6142-6149. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b01996> (cf. p. 31, 32)
- Merriman, L. A. (2016). *Factors Affecting the Digestibility of Calcium in Feed Ingredients By Pigs* (thèse de doct.). Univ. Illinois. (Cf. p. 19, 115).
- Merriman, L. A. & Stein, H. H. (2016). Particle size of calcium carbonate does not affect apparent and standardized total tract digestibility of calcium, retention of calcium, or growth performance of growing pigs. *Journal of Animal Science*, 94(9), 3844-3850. <https://doi.org/10.2527/jas.2015-0252> (cf. p. 16, 19, 20)

- Merriman, L. A., Walk, C. L. & Stein, H. H. (2016). The effect of microbial phytase on the apparent and standardized total tract digestibility of calcium in feed ingredients of animal origin. *Journal of Animal Science*, 94(E-Suppl), 110 (cf. p. 17).
- Mitchell, A. D., Scholz, A. M. & Pursel, V. G. (2001a). Total body and regional measurements of bone mineral content and bone mineral density in pigs by dual energy X-ray absorptiometry. *Journal of animal science*, 79, 2594-2604 (cf. p. 22, 24, 36).
- Mitchell, A. D., Scholz, A. M., Wang, P. C. & Song, H. (2001b). Body composition analysis of the pig by magnetic resonance imaging. *Journal of Animal Science*, 79(7), 1800-1813. <https://doi.org/10.2527/2001.7971800x> (cf. p. 21)
- Moor, M. B. & Bonny, O. (2016). Ways of calcium reabsorption in the kidney. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 310(11), F1337-F1350. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00273.2015> (cf. p. 7, 8, 12, 13)
- Moore, J. H. & Tyler, C. (1955). Studies on the Intestinal Absorption and Excretion of Calcium and Phosphorus in the Pig. *British Journal of Nutrition*, 9(4), 389-397. <https://doi.org/10.1079/bjn19550056> (cf. p. 4)
- Morales, G. A., Moyano, F. J. & Marquez, L. (2011). In vitro assessment of the effects of phytate and phytase on nitrogen and phosphorus bioaccessibility within fish digestive tract. *Animal Feed Science and Technology*, 170(3-4), 209-221. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2011.08.011> (cf. p. 31, 33)
- Mouw, J. K., Ou, G. & Weaver, V. M. (2014). Extracellular matrix assembly: A multiscale deconstruction. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(12), 771-785. <https://doi.org/10.1038/nrm3902> (cf. p. 11)
- Mundy, G. R. & Guise, T. A. (1999). Hormonal control of calcium homeostasis. *Clinical Chemistry*, 45(8 II), 1347-1352. <https://doi.org/10.1093/clinchem/45.8.1347> (cf. p. 13)
- Murayama, A., Takeyama, K.-i., Kitanaka, S., Kodera, Y., Kawaguchi, Y., Hosoya, T. & Kato, S. (1999). Positive and Negative Regulations of the Renal 25-Hydroxyvitamin D3 1 α -Hydroxylase Gene by Parathyroid Hormone, Calcitonin, and 1 α ,25(OH) $_2$ D3 in Intact Animals. *Endocrinology*, 140(5), 2224-2231. <https://doi.org/10.1210/endo.140.5.6691> (cf. p. 13)
- Mutucumarana, R. K. & Ravindran, V. (2016). Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. *Animal Feed Science and Technology*, 219(February 2018), 249-256. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.06.025> (cf. p. 19)
- Narcy, A., Létourneau-Montminy, M.-P., Bouzouagh, E., Mème, N., Magnin, M. & Dourmad, J.-Y. (2010). Effect of dietary calcium concentration and microbialphytase addition on P utilisation in weaned pigs. *Journal of Animal Science*, 88 (Suppl. 861-862 (cf. p. 21).
- Narcy, A., Létourneau-Montminy, M.-p., Bouzouagh, E., Mème, N., Magnin, M. & Dourmad, J.-Y. (2012). Modulation de l'utilisation digestive du phosphore chez le porcelet sevré : influence de l'apport de calcium et de phytase sur le pH et la solubilité des minéraux au niveau gastro-intestinal. *Journées de la Recherche Porcine*, 44, 159-164 (cf. p. 122).
- Nemere, I., Leathers, V. L., Thompson, B. S., Lüben, R. A. & Norman, A. W. (1991). Redistribution of calbindin-D28k in chick intestine in response to calcium transport. *Endocrinology*, 129(6), 2972-2984. <https://doi.org/10.1210/endo-129-6-2972> (cf. p. 5, 6)
- Nielsen, A. J. (1973). Anatomical and Chemical Composition of Danish Landrace Pigs Slaughtered at 90 Kilograms Live Weight in Relation to Litter, Sex and Feed Composition. *Journal of Animal Science*, 36(3), 476-483. <https://doi.org/10.2527/jas1973.363476x> (cf. p. 42, 114)
- Nishizawa, Y., Nakamura, T., Ohta, H., Kushida, K., Gorai, I., Shiraki, M., Fukunaga, M., Hosoi, T., Miki, T., Chaki, O., Ichimura, S., Nakatsuka, K. & Miura, M. (2005). Guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis (2004). *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 23(2), 97-104. <https://doi.org/10.1007/s00774-004-0547-6> (cf. p. 25)
- Nordin, M. & Frankel, V. H. (2021). *Basic Biomechanics of the Musculoskeletal System*. Wolters Kluwers. (Cf. p. 22).
- NRC. (1994). *Nutrient Requirements of Poultry :Ninth Revised Edition*. Washington, D.C., National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/2114>. (Cf. p. 21)
- NRC. (1998). *Nutrient Requirements of Swine*. Washington, D.C., National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/6016>. (Cf. p. 18, 42)
- NRC. (2012). *Nutrient Requirements of Swine. 11th rev.* Washington, DC, National Academies Press. (Cf. p. 15-20, 25, 26, 28, 29, 41, 42, 115, 116, 127).

- Nussey, S. & Whitehead, S. (2001). *Endocrinology, an integrated approach*. Oxford, U.K, BIOS Scientific. (Cf. p. 35).
- O'Dell, B. L. & De Boland, A. (1976). Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oil seed meals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24(4), 804-808. <https://doi.org/10.1021/jf60206a034> (cf. p. 15)
- OECD & Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2021). Viande. In *OECD- FAO Agricultural Outlook 2021-2030* (Éditions, p. 184-199). Paris. (Cf. p. 2).
- Oksztulska-Kolanek, E., Znorko, B., Michałowska, M. & Pawlak, K. (2016). The biomechanical testing for the assessment of bone quality in an experimental model of chronic kidney disease. *Nephron*, 132(1), 51-58. <https://doi.org/10.1159/000442714> (cf. p. 22)
- Olszta, M. J., Cheng, X., Jee, S. S., Kumar, R., Kim, Y. Y., Kaufman, M. J., Douglas, E. P. & Gower, L. B. (2007). Bone structure and formation: A new perspective. *Materials Science and Engineering R: Reports*, 58(3-5), 77-116. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2007.05.001> (cf. p. 10-12)
- Outchkourov, N. & Petkov, S. (2013). Phytases for Feed Applications. In A. Vogel & O. May (Éd.), *Industrial Enzyme Applications* (p. 255-286). Weinheim, Germany, Wiley-VCH. (Cf. p. 31, 32).
- Pang, Y. & Applegate, T. J. (2006). Effects of copper source and concentration on in vitro phytate phosphorus hydrolysis by phytase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1792-1796. <https://doi.org/10.1021/jf052053b> (cf. p. 33)
- Peng, J. B., Brown, E. M. & Hediger, M. A. (2003). Apical entry channels in calcium-transporting epithelia. *News in Physiological Sciences*, 18(4), 158-163. <https://doi.org/10.1152/nips.01440.2003> (cf. p. 5, 8)
- Penido, M. G. M. & Alon, U. S. (2012). Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatric Nephrology*, 27(11), 2039-2048. <https://doi.org/10.1007/s00467-012-2175-z> (cf. p. 4, 6, 9, 10, 12-14)
- Perez, J. M., Bories, G., Aumaitre, A., Barrier-Guillot, B., Delaveau, A., Gueguen, L., Larbier, M. & Sauvant, D. (2002). Conséquences en élevage et pour le consommateur du remplacement des farines et des graisses animales. *Productions Animales*, 15(2), 87-96. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2002.15.2.3689> (cf. p. 17)
- Petersen, G. I., Pedersen, C., Lindemann, M. D. & Stein, H. H. (2011). Relative bioavailability of phosphorus in inorganic phosphorus sources fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 89(2), 460-466. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2161> (cf. p. 18)
- Petersen, G. I. & Stein, H. H. (2006). Novel procedure for estimating endogenous losses and measurement of apparent and true digestibility of phosphorus by growing pigs. *Journal of Animal Science*, 84(8), 2126-2132. <https://doi.org/10.2527/jas.2005-479> (cf. p. 19)
- Pointillart, A. (1994). Phytates, phytases : leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRAE Productions Animales*, 7(1), 29-39. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1994.7.1.4155> (cf. p. 15)
- Pomar, C., Jondreville, C., Dourmad, J.-y. & Bernier, J. (2006). Influence du niveau de phosphore des aliments sur les performances zootechniques et la rétention corporelle de calcium , phosphore , potassium , sodium , magnésium , fer et zinc chez le porc de 20 à 100 kg de poids vif. *Journées Recherche Porcine de recherche porcine*, 38, 209-216 (cf. p. 21, 42, 115, 116).
- Pomar, C., Hauschild, L., Zhang, G.-H., Pomar, J. & Lovatto, P. A. (2009). Applying precision feeding techniques in growing-finishing pig operations. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 38(spe), 226-237 (cf. p. 39).
- Pontoppidan, K., Pettersson, D. & Sandberg, A. S. (2007). The type of thermal feed treatment influences the inositol phosphate composition. *Animal Feed Science and Technology*, 132(1-2), 137-147. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2006.03.008> (cf. p. 15)
- Qian, H., Kornegay, E. T. & Conner, D. J. (1996). Adverse effects of wide calcium:phosphorus ratios on supplemental phytase efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. *Journal of Animal Science*, 74, 1288-1297 (cf. p. 34).
- Quiniou, N. & Noblet, J. (1995). Prediction of tissular body composition from protein and lipid deposition in growing pigs1. *Journal of Animal Science*, 73(6), 1567-1575. <https://doi.org/10.2527/1995.7361567x> (cf. p. 114, 118)

- Rapp, C., Lantzsch, H. J. & Drochner, W. (2001). 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 (IP6) and occurrence of hydrolysis products (I. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 85, 420-430. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0396.2001.00337.x> (cf. p. 20, 30)
- Rauchenzauner, M., Schmid, A., Heinz-Erian, P., Kapelari, K., Falkensammer, G., Griesmacher, A., Finkenstedt, G. & Högl, W. (2007). Sex- and age-specific reference curves for serum markers of bone turnover in healthy children from 2 months to 18 years. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 92(2), 443-449. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1706> (cf. p. 24)
- Ren, P., Chen, J., Hancock, D. & Vázquez-Añón, M. (2021). Interactive Effects of Copper Sources and a High Level of Phytase in Phosphorus-Deficient Diets on Growth Performance, Nutrient Digestibility, Tissue Mineral Concentrations, and Plasma Parameters in Nursery Pigs. *Biological Trace Element Research*. <https://doi.org/10.1007/s12011-021-02580-x> (cf. p. 33)
- Ren, P., Chen, J., Wedekind, K., Hancock, D. & Vázquez-Añón, M. (2020). Interactive effects of zinc and copper sources and phytase on growth performance, mineral digestibility, bone mineral concentrations, oxidative status, and gut morphology in nursery pigs. *Translational Animal Science*, 4(2), 783-798. <https://doi.org/10.1093/tas/txaa083> (cf. p. 33, 34)
- Riccardi, D. & Brown, E. M. (2010). Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *American Journal of Physiology - Renal Physiology*, 298(3). <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00608.2009> (cf. p. 8)
- Richards, J. D., Zhao, J., Harrell, R. J., Atwell, C. A. & Dibner, J. J. (2010). Trace Mineral Nutrition in Poultry and Swine. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(11), 1527-1534. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.r.07> (cf. p. 33)
- Rodehutsord, M. (2013). Determination of phosphorus availability in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 69(3), 687-698 (cf. p. 20).
- Ross, R., Cromwell, G. L. & Stahly, T. (1984). Effects of source and particle size on the biological availability of calcium in calcium supplements for growing pigs. *Journal of Animal Science*, 59, 125-134 (cf. p. 16).
- Rousseau, X., Valable, A. S., Létourneau-Montminy, M. P., Meme, N., Godet, E., Magnin, M., Nys, Y., Duclos, M. J. & Narcy, A. (2016). Metabolism and nutrition: Adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions. *Poultry Science*, 95(12), 2849-2860. <https://doi.org/10.3382/ps/pew172> (cf. p. 35)
- Rubino, M. J. & Nellans, H. N. (1985). Active calcium sequestration by intestinal microsomes. Stimulation by increased calcium load. *Journal of Biological Chemistry*, 260(13), 7824-7828. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(17\)39526-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(17)39526-1) (cf. p. 6)
- Ruimerman, R. (2005). *Modeling and Remodeling in Bone Tissue* (thèse de doct.). Technische Universiteit Eindhoven. (Cf. p. 11, 12).
- Ruiz-Ascacibar, I., Stoll, P. & Bee, G. (2019a). Effects of dietary CP and amino acid restriction on the growth dynamics of organs and body components in entire male, castrated and female pigs. *Animal*, 13(10), 2223-2231. <https://doi.org/10.1017/S1751731119000132> (cf. p. 114)
- Ruiz-Ascacibar, I., Stoll, P., Bee, G. & Schlegel, P. (2019b). Dynamics of the mineral composition and deposition rates in the empty body of entire males, castrates and female pigs. *Animal*, 13(5), 950-958. <https://doi.org/10.1017/S1751731118002495> (cf. p. 118)
- Ryan, W. F., Lynch, P. B. & O'Doherty, J. V. (2011). Compensatory effect of dietary phosphorus on performance of growing pigs and development of bone mineral density assessed using dual energy X-ray absorptiometry. *Livestock Science*, 138(1-3), 89-95. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.12.006> (cf. p. 35, 36)
- Sauvant, D., Letourneau-Montminy, M. P., Schmidely, P., Boval, M., Loncke, C. & Daniel, J. B. (2020). Review: Use and misuse of meta-analysis in Animal Science. *Animal*, 14, s207-s222. <https://doi.org/10.1017/S1751731120001688> (cf. p. 20)
- Sauvant, D., Perez, J. M. & Tran, G. (2004). *Tables INRA-AFZ de composition et de valeur nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: 2ème édition*. (INRA Editi). Versailles. (Cf. p. 15, 16, 18, 30).
- Sauvant, D., Schmidely, P., Daudin, J. & St-Pierre, N. (2008). Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal*, 2(8), 1203-1214. <https://doi.org/10.1017/S1751731108002280> (cf. p. 20)

- Sauvant, D. (1992). La modélisation systémique en nutrition. *Reproduction Nutrition Development*, 32, 217-230 (cf. p. 30, 116).
- Sauveur, B. (1989). Phosphore phytique et phytases dans l'alimentation des volailles. *INRAE Productions Animales*, 2(5), 343-351. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.1989.2.5.4428> (cf. p. 25, 26)
- Sauveur, B. & Perez, J. M. (1989). Alimentation minérale des animaux monogastriques. In *L'alimentation des animaux monogastriques : porc, lapin, volailles*. 2e ed. (INRA Ed., p. 23-31). Paris. (Cf. p. 26).
- Schanler, R. J., Abrams, S. A. & Sheng, H. P. (1991). Calcium and phosphorus deficiencies affect mineral distribution in neonatal miniature piglets. *American Journal of Clinical Nutrition*, 54(2), 420-424. <https://doi.org/10.1093/ajcn/54.2.420> (cf. p. 36)
- Schinckel, A. P., Mahan, D. C., Wiseman, T. G. & Einstein, M. E. (2008). Growth of protein, moisture, lipid, and ash of two genetic lines of barrows and gilts from twenty to one hundred twenty-five kilograms of body weight. *Journal of Animal Science*, 86(2), 460-471. <https://doi.org/10.2527/jas.2007-0625> (cf. p. 118)
- Schlegel, P. & Gutzwiller, A. (2017). Effect of dietary calcium level and source on mineral utilisation by piglets fed diets containing exogenous phytase. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 101(5), e165-e174. <https://doi.org/10.1111/jpn.12582> (cf. p. 16)
- Scholz, A., Bünger, L., Kongsro, J., Baulain, U. & Mitchell, A. (2015). Non-invasive methods for the determination of body and carcass composition in livestock: dual-energy X-ray absorptiometry, computed tomography, magnetic resonance imaging and ultrasound: invited review. *Animal*, 9(7), 1250-1264. <https://doi.org/10.1017/S1751731115000336> (cf. p. 24)
- Schröder, B., Schlumbohm, C., Kaune, R. & Breves, G. (1996). Role of calbindin-D9k in buffering cytosolic free Ca²⁺ ions in pig duodenal enterocytes. *Journal of Physiology*, 492(3), 715-722. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1996.sp021340> (cf. p. 36)
- Selle, P. H. & Ravindran, V. (2008). Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Science*, 113(2-3), 99-122. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.014> (cf. p. 1, 2, 15, 30, 31, 34, 39, 42)
- Sellier, P., Maignel, L. & Bidanel, J. P. (2010). Genetic parameters for tissue and fatty acid composition of backfat, perirenal fat and longissimus muscle in Large White and Landrace pigs. *Animal*, 4(4), 497-504. <https://doi.org/10.1017/S1751731109991261> (cf. p. 114)
- Sepúlveda, M. R. & Mata, A. M. (2004). The interaction of ethanol with reconstituted synaptosomal plasma membrane Ca²⁺-ATPase. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1665(1-2), 75-80. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2004.06.016> (cf. p. 5)
- She, Y., Li, D. & Zhang, S. (2017). Methodological aspects of determining phosphorus digestibility in swine: A review. *Animal Nutrition*, 3(2), 97-102. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.02.003> (cf. p. 18, 19)
- Silver, J. & Naveh-Many, T. (2010). FGF23 and the parathyroid glands. *Pediatric Nephrology*, 25(11), 2241-2245. <https://doi.org/10.1007/s00467-010-1565-3> (cf. p. 14)
- Song, Y., Peng, X., Porta, A., Takanaga, H., Peng, J. B., Hediger, M. A., Fleet, J. C. & Christakos, S. (2003). Calcium transporter 1 and epithelial calcium channel messenger ribonucleic acid are differentially regulated by 1,25 dihydroxyvitamin D3 in the intestine and kidney of mice. *Endocrinology*, 144(9), 3885-3894. <https://doi.org/10.1210/en.2003-0314> (cf. p. 5, 8)
- Sørensen, K. U., Shiguetomi-Medina, J. M. & Poulsen, H. D. (2019). Mineralisation of tubular bones is affected differently by low phosphorus supply in growing-finishing pigs. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(7), 3628-3634. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9583> (cf. p. 21)
- Stauffer, M., Baylink, D., Wergedal, J. & Rich, C. (1972). Bone repletion in calcium deficient rats fed a high calcium diet. *Calcified Tissue Research*, 9(1), 163-172. <https://doi.org/10.1007/BF02061954> (cf. p. 35)
- Stauffer, M., Baylink, D., Wergedal, J. & Rich, C. (1973). Decreased enhanced bone formation, mineralization, and enhanced resorption and in calcium-deficient rats. *Am. J. Physiol.*, 225(2), 163-172 (cf. p. 35).
- Stein, H. H., Adeola, O., Cromwell, G. L., Kim, S. W., Mahan, D. C. & Miller, P. S. (2011). Concentration of dietary calcium supplied by calcium carbonate does not affect the apparent total tract digestibility of calcium, but decreases digestibility of phosphorus by growing pigs. *Journal of Animal Science*, 89(7), 2139-2144. <https://doi.org/10.2527/jas.2010-3522> (cf. p. 20)

- Stein, H. H., Fuller, M. F., Moughan, P. J., Sève, B., Mosenthin, R., Jansman, A. J., Fernández, J. A. & de Lange, C. F. (2007). Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *Livestock Science*, 109(1-3), 282-285. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.01.019> (cf. p. 19)
- Sulabo, R. C. & Stein, H. H. (2013). Digestibility of phosphorus and calcium in meat and bone meal fed to growing pigs. *Journal of Animal Science*, 91(3), 1285-1294. <https://doi.org/10.2527/jas.2011-4632> (cf. p. 17, 20)
- Suttle, N. F. (2010). *Mineral nutrition of livestock*, 4th Edition (N. Suttle, Éd.). Wallingford, CABI. <https://doi.org/10.1079/9781845934729.0000>. (Cf. p. 4, 21, 35, 114, 116)
- Szulc, P., Seeman, E. & Delmas, P. D. (2000). Biochemical Measurements of Bone Turnover in Children and Adolescents. *Osteoporosis International*, 11(4), 281-294. <https://doi.org/10.1007/s001980070116> (cf. p. 24, 25)
- Taylor, T. C. (1965). The availability of the calcium and phosphorus of plant materials for animals. *Proceedings of the Nutrition Society*, 24(1), 105-112. <https://doi.org/10.1079/pns19650017> (cf. p. 15)
- Teixeira, A. O., Corassa, A., Moreira, L. M., Nogueira, E. T., Lopes, J. B., Rocha Junior, C. M. & Ferreira, V. P. (2016). Bone characteristics of pigs fed different sources of phosphorus. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 29(4), 245-254. <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v29n4a01> (cf. p. 41)
- Tewari, N., Awad, S., Macdonald, I. A. & Lobo, D. N. (2018). A comparison of three methods to assess body composition. *Nutrition*, 47, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2017.09.005> (cf. p. 24)
- Traylor, S. L., Cromwell, G. L. & Lindemann, M. D. (2005). Bioavailability of phosphorus in meat and bone meal for swine. *Journal of Animal Science*, 83(5), 1054-1061. <https://doi.org/10.2527/2005.8351054x> (cf. p. 17)
- Turner, C. H. & Burr, D. B. (1993). Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial. *Bone*, 14(4), 595-608. [https://doi.org/10.1016/8756-3282\(93\)90081-K](https://doi.org/10.1016/8756-3282(93)90081-K) (cf. p. 22, 23)
- Underwood, E. & Mertz, W. (1987). Introduction. In *Trace elements in human and animal nutrition*. 5th rev. ed. (p. 1-19). New York, Academic Press, (cf. p. 35).
- Valable, A. S., Létourneau-Montminy, M. P., Klein, S., Lardic, L., Lecompte, F., Metayer-Coustard, S., Mème, N., Page, G., Duclos, M. J. & Narcy, A. (2020). Early-life conditioning strategies to reduce dietary phosphorus in broilers: Underlying mechanisms. *Journal of Nutritional Science*, 1-9. <https://doi.org/10.1017/jns.2020.17> (cf. p. 35)
- Valable, A., Narcy, A., Duclos, M., Pomar, C., Page, G., Nasir, Z., Magnin, M. & Létourneau-Montminy, M. (2018). Effects of dietary calcium and phosphorus deficiency and subsequent recovery on broiler chicken growth performance and bone characteristics. *Animal*, 12(8), 1555-1563. <https://doi.org/10.1017/S1751731117003093> (cf. p. 35)
- Van Enk, R., Acera, L., Schuiling, R., Ehlert, P., De Wilt, J., De Vries, C. & Van Haren, R. (2011). *The phosphate balance: current developments and future outlook* (rapp. tech.). Innovation Network. (Cf. p. 1).
- Van Harn, J., Spek, J. W., Van Vuure, C. A. & Van Krimpen, M. M. (2017). Determination of pre-cecal phosphorus digestibility of inorganic phosphates and bone meal products in broilers. *Poultry Science*, 96(5), 1334-1340. <https://doi.org/10.3382/ps/pew458> (cf. p. 17)
- van Dijck, P. W., Selten, G. C. & Hempenius, R. A. (2003). On the safety of a new generation of DSM *Aspergillus niger* enzyme production strains. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 38(1), 27-35. [https://doi.org/10.1016/S0273-2300\(03\)00049-7](https://doi.org/10.1016/S0273-2300(03)00049-7) (cf. p. 31)
- Varley, P. F., Sweeney, T., Ryan, M. T. & O'Doherty, J. V. (2011). The effect of phosphorus restriction during the weaner-grower phase on compensatory growth, serum osteocalcin and bone mineralization in gilts. *Livestock Science*, 135(2-3), 282-288. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2010.07.025> (cf. p. 35, 36, 38)
- Vasca, E., Materazzi, S., Caruso, T., Milano, O., Fontanella, C. & Manfredi, C. (2002). Complex formation between phytic acid and divalent metal ions: a solution equilibria and solid state investigation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 374(1), 173-178. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1469-6> (cf. p. 15)
- Vasudevan, U. M., Krishna, S., Jalaja, V. & Pandey, A. (2017). Microbial phytase: Impact of advances in genetic engineering in revolutionizing its properties and applications. *Bioresource Technology*, 245, 1790-1799. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.05.060> (cf. p. 31)

- Veum, T. L. (2010). Phosphorus and calcium nutrition and metabolism. In D. M. S. S. Vitti & E. Kebreab (Éd.), *Phosphorus and calcium utilization and requirements in farm animals* (CAB Intern, p. 94-112). (Cf. p. 12).
- Vier, C. M., Dritz, S. S., Tokach, M. D., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Gonçalves, M. A. D., Orlando, U. A. D., Bergstrom, J. R. & Woodworth, J. C. (2019a). Calcium to phosphorus ratio requirement of 26- to 127- kg pigs fed diets with or without phytase. *Journal of Animal Science*, 1-19. <https://doi.org/10.1093/jas/skz257> (cf. p. 21)
- Vier, C. M., Dritz, S. S., Wu, F., Tokach, M. D., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Gonçalves, M. A. D., Orlando, U. A. D., Chitakasempornkul, K. & Woodworth, J. C. (2019b). Standardized total tract digestible phosphorus requirement of 24- to 130-kg pigs. *Journal of Animal Science*, 97(10), 4023-4031. <https://doi.org/10.1093/jas/skz256> (cf. p. 21, 42, 116)
- Viljoen, J. (2001). Quality of feed phosphate supplements for animal nutrition. *South African Journal of Animal Science*, 2, 13-19 (cf. p. 15).
- Villa-Bellosta, R., Levi, M. & Sorribas, V. (2009). Vascular smooth muscle cell calcification and SLC20 inorganic phosphate transporters: Effects of PDGF, TNF- α , and Pi. *Pflugers Archiv European Journal of Physiology*, 458(6), 1151-1161. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0688-5> (cf. p. 10)
- Vohra, P., Gray, G. A. & Kratzer, F. H. (1965). Phytic acid metal complexes. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 120, 447 (cf. p. 15).
- Walk, C. L. (2016). The influence of calcium on phytase efficacy in non-ruminant animals. *Animal Production Science*, 56(8), 1345. <https://doi.org/10.1071/AN15341> (cf. p. 34)
- Walk, C. L., Addo-Chidie, E. K., Bedford, M. R. & Adeola, O. (2012). Evaluation of a highly soluble calcium source and phytase in the diets of broiler chickens. *Poultry Science*, 91(9), 2255-2263. <https://doi.org/10.3382/ps.2012-02224> (cf. p. 16, 17)
- Wasserman, R. H. & Kallfelz, F. A. (1962). Vitamin D 3 and unidirectional calcium fluxes across the rachitic chick duodenum. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 203(2), 221-224. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1962.203.2.221> (cf. p. 13)
- Weiner, S. & Wagner, H. D. (1998). The material bone: Structure-mechanical function relations. *Annual Review of Materials Science*, 28(1), 271-298. <https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.28.1.271> (cf. p. 11)
- Wise, A. (1983). Dietary factors determining the biological activities of phytase. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 53, 791-806. (Cf. p. 15).
- Wiseman, T. G., Mahan, D. C. & St-Pierre, N. R. (2009). Mineral composition of two genetic lines of barrows and gilts from twenty to one hundred twenty-five kilograms of body weight. *Journal of Animal Science*, 87(7), 2306-2314. <https://doi.org/10.2527/jas.2006-545> (cf. p. 118)
- Wu, F., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Woodworth, J. C., Derouchey, J. M., Goodband, R. D., Gonçalves, M. A. & Bergstrom, J. R. (2018). Effects of dietary calcium to phosphorus ratio and addition of phytase on growth performance of nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 96(5), 1825-1837. <https://doi.org/10.1093/jas/sky101> (cf. p. 34)
- Yan, F., Angel, R., Ashwell, C., Mitchell, A. & Christman, M. (2005). Evaluation of the broiler's ability to adapt to an early moderate deficiency of phosphorus and calcium. *Poultry Science*, 84(8), 1232-1241. <https://doi.org/10.1093/ps/84.8.1232> (cf. p. 35)
- Younes, H., Demigné, C. & Rémésy, C. (1996). Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *British Journal of Nutrition*, 75(2), 301-314. <https://doi.org/10.1079/BJN19960132> (cf. p. 20)
- Zacchia, M., Capolongo, G., Rinaldi, L. & Capasso, G. (2018). The importance of the thick ascending limb of Henle's loop in renal physiology and pathophysiology. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 11, 81-92. <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S154000> (cf. p. 8)
- Zapata, F. (2004). *Utilisation des phosphates naturels pour une agriculture durable* (FAO, Éd.). Rome. (Cf. p. 1).
- Zhang, F. & Adeola, O. (2017). Techniques for evaluating digestibility of energy, amino acids, phosphorus, and calcium in feed ingredients for pigs. *Animal Nutrition*, 3(4), 344-352. <https://doi.org/10.1016/j.aninu.2017.06.008> (cf. p. 19, 115)
- Zullo, A., Barone, C. M., Colatruglio, P., Girolami, A. & Matassino, D. (2003). Chemical composition of pig meat from the genetic type 'Casertana' and its crossbreeds. *Meat Science*, 63(1), 89-100. [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(02\)00060-8](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00060-8) (cf. p. 114)

Annexe A

Communication aux *Journées de la recherche porcine* 2019

Modèle mécaniste de l'utilisation métabolique du phosphore et du calcium alimentaires et de la dynamique de dépôt des cendres corporelles : version 2.0

Marion LAUTROU (1,2,3), Candido POMAR (2), Jean-Yves DOURMAD (4),
Marie-Pierre LÉTOURNEAU-MONTMINY (1)

(1) Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC, J1V 0A6 Canada

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

(3) UMR MOSAR, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, 75005 Paris, France

(4) INRA-Agrocampus Ouest, UMR PEGASE, 16 Le Clos, 35590 Saint-Gilles, France

Marie-Pierre.Letourneau@fsaa.ulaval.ca

Modèle mécaniste de l'utilisation métabolique du phosphore et du calcium alimentaires et de la dynamique de dépôt des cendres corporelles : version 2.0.

L'alimentation de précision permet de diminuer les impacts environnementaux des systèmes d'alimentation actuels, mais nécessite l'estimation précise des besoins de phosphore (P) et de calcium (Ca). L'objectif est d'adapter un modèle mécaniste récemment développé portant sur l'utilisation du P et du Ca alimentaires, à l'alimentation de précision. Une première étape a consisté à modifier le potentiel de dépôt de P et Ca dans l'os pour le rendre indépendant du dépôt protéique. Ceci a été réalisé à partir de résultats récents obtenus sur des porcs nourris avec des excès de P et Ca. Ensuite, des données de composition corporelle de porcs recevant des apports de Ca et P contrastés (rations couvrant ou non les besoins et dont l'apport de Ca et de P est déséquilibré ou non) ont été utilisées pour estimer la capacité de prédiction du modèle par l'erreur quadratique moyenne de prédiction (EMP) et sa décomposition en erreur de tendance centrale (ETC), de régression (ER) et de bruit (EB). Les résultats montrent une prédiction globale qui est très bonne avec des EMP de moins de 9% provenant à plus de 70% d'EB, donc non liées aux paramètres du modèle. Lorsque la qualité de prédiction est étudiée par groupes d'apport (témoins, carencés, stratégies de déplétion-réplétions), les témoins présentent une ETC plus élevée (P : ETC = 30%, ER = 0%, EB = 70% ; Ca : ETC = 22%, ER = 2%, EB = 76%) montrant que le modèle sous-estime le Ca et P corporels (pente = 0,99 et 0,98 respectivement). Pour les porcs carencés, l'ER est plus élevée (P : ETC = 6%, ER = 11%, EB = 83% ; Ca : ETC = 51%, ER = 23%, EB = 26%) mettant en évidence que le modèle surestime la teneur corporelle en P et Ca des porcs en phase de finition. Des pistes d'amélioration ont été proposées pour améliorer sa prédiction sur ses points faibles avant de passer à l'étape de l'inversion pour prédire les besoins de porcs en groupe puis ceux d'animaux alimentés individuellement de façon journalière.

Mechanistic model of metabolic use of dietary phosphorus and calcium and dynamics of body ash deposition: version 2.0.

Precision feeding reduces environmental impacts of current phase-feeding systems but requires an accurate estimate of phosphorus (P) and calcium (Ca) requirements. The aim is to adjust to precision feeding a mechanistic model recently developed to predict the fate of dietary P and Ca. The first step was to modify the model's potential Ca and P deposition into bone to make it independent of protein deposition. This was done by using recent results for pigs fed excess P and Ca. Then, body composition data from pigs receiving contrasting Ca and P supplies were used to evaluate the predictive ability of the model. Mean squared prediction error (MSPE) and its decomposition into central tendency error (ECT), regression (ER) and disturbance (ED) were calculated. The results show good prediction overall, with MSPE less than 9% from more than 70% of ED not related to model parameters. For predictive ability by contribution group, control pigs have higher ECT (P: ECT = 30%, ER = 0%, ED = 70%; Ca: ECT = 22%, ER = 2%, ED = 76%), showing that the model underestimates requirements (slope = 0.99). For pigs fed deficient dietary Ca and P diets, higher ER was observed (P: ECT = 6%, ER = 11%, ED = 83%; Ca: ECT = 51%, ER = 23%, ED = 26%), showing that the model overestimates requirements in the finishing phase. Areas for improvement have been identified, and in the next steps the model will be modified to improve its prediction of its weak points before moving to the inversion stage to predict requirements of pigs fed on group basis and then on an individually basis.

INTRODUCTION

L'alimentation de précision est proposée pour diminuer les impacts environnementaux des systèmes d'alimentation par phase et par groupe actuellement utilisés. En effet, elle permet des réductions de la consommation et de l'excrétion d'azote de, respectivement, 25 et 40 % une fois les besoins individuels connus (Pomar *et al.*, 2015). L'estimation des besoins de phosphore (P) et calcium (Ca) dans un contexte d'alimentation minérale de précision pourrait permettre des réductions de consommation et de rejets de P, similaires à celles observées pour l'azote. Un modèle mécaniste a été développé (Létourneau-Montminy *et al.*, 2015) pour simuler la rétention du calcium et du phosphore dans différents compartiments anatomiques du porc en réponse au potentiel de croissance de l'animal ainsi qu'aux quantités de Ca et P ingérées. L'originalité de ce modèle par rapport aux modèles disponibles (ex. : InraPorc et NRC) réside dans le fait que le dépôt de Ca et de P dans l'os sont prédits indépendamment de la protéine corporelle. Cependant, faute de données, la prédiction du potentiel de dépôt osseux demeure liée à celui de la protéine. Afin de répondre à cette problématique, divers essais visant tant à maximiser qu'à diminuer les réserves minérales corporelles ont été réalisés. Ces derniers ont été utilisés pour faire la démonstration que le dépôt des minéraux dans l'os et le dépôt de protéines ne sont pas liés (Couture *et al.*, 2018). L'objectif du présent travail était donc de simuler le potentiel de dépôt de Ca et P dans l'os indépendamment du dépôt protéique et d'évaluer la capacité du modèle à prédire la rétention corporelle de Ca et P chez des porcs recevant des apports contrastés (élevés, faibles, déséquilibrés) de ces deux minéraux.

1. MATERIEL ET METHODES

1.1. Description de la base de données

Les données de porcs recevant tant des apports faibles de Ca ou de P, des apports déséquilibrés en Ca et P, que des stratégies de déplétion et réplétion sans phytase ajoutée ont été combinés dans une base de données (Pomar *et al.*, 2006 ; Langlois *et al.*, 2016 ; Gonzalo *et al.*, 2018).

Dans l'essai de Pomar *et al.* (2006), les porcs ont reçu des apports très élevés (VH), élevés (H), moyens (M), bas (L) ou très bas (VL) de Ca et de P (Tableau 1). Les six rations de Langlois *et al.* (2016) étaient déséquilibrées en P et Ca, c'est-à-dire que le ratio Ca:Pdig allait de 1,75 à 4,63 en fonction du traitement. Dans les six traitements le P variait de 60 à 140 % du besoin en même temps que le Ca variait de 130 à 70 % du besoin (ex : trt 140-70 apporte 140 % du besoin en P et 70 % du besoin en Ca). Enfin, les porcs étudiés dans Gonzalo *et al.* (2018) recevaient une stratégie de déplétion-réplétion : soit les porcs recevaient durant certaines phases un aliment apportant du P et du Ca en quantité suffisante (C), soit l'aliment n'apportait que 60 % du besoin (L, phase de déplétion).

Dans les essais de Langlois *et al.* (2016) et Gonzalo *et al.* (2018), les porcs étaient radiographiés par absorption bi-photonique à rayons X (DXA ; Prodigy, GE Healthcare, Madison, WI) tous les 28 jours soit quatre à cinq fois durant la phase de croissance pour mesurer le contenu minéral osseux (CMO), la masse corporelle maigre et grasse. Les teneurs en maigre et gras étaient converties en protéines et lipides selon la méthode proposée par Pomar et Rivest (1996) et celles en CMO en P et

Ca corporels selon Nielsen (1973). Dans l'essai de Pomar *et al.* (2006), les porcs ont été abattus, saignés, les viscères ont été vidés et le corps entier incluant le sang et les viscères a été broyé pour quantifier la teneur en protéines, lipides, P et Ca corporels.

La base de données répertoriait les données d'entrée nécessaires à la simulation des essais dans le modèle soit les apports de P sous forme phytique, non-phytique végétal et non-phytique minéral et l'apport de Ca, les performances de croissance et les sorties du modèle soient les teneurs en protéines, lipides, Ca et P corporels (Tableau 1).

1.2. Description de la démarche d'analyse

1.2.1. Estimation du potentiel de dépôt de Ca et P dans les cendres corporelles

Dans un premier temps, les données ont été comparées graphiquement afin de sélectionner le ou les traitements permettant d'atteindre le maximum de minéralisation. Les données de CMO de ces traitements ont alors été utilisées pour créer une équation de potentiel de dépôt de Ca et P dans les cendres osseuses. Autrement dit, cette nouvelle équation sera considérée comme l'estimation du dépôt maximal de Ca envisageable dans les os et est rarement atteinte sur le terrain.

À titre de rappel, dans le modèle, le P et le Ca fixés dans les tissus mous protéiques et lipidiques ont priorité sur le tissu osseux. Ils sont déposés de façon fixe par unité de protéines et de lipides et ont été déterminés à partir de données de composition chimique de dissection de porcs entiers (Nielsen, 1973).

1.2.2. Évaluation de la qualité de prédiction du modèle en termes de P et Ca corporels

Pour cette étape, chaque traitement de la base de données a été simulé avec le modèle. Les apports en nutriments autres que Ca et P (ex. : énergie, acides aminés) sont considérés non limitants pour le dépôt de protéines et de lipides. De plus, afin que le modèle représente précisément la croissance corporelle non minérale des porcs étudiés, des équations polynomiales ont été déterminées pour chacun des essais pour simuler le dépôt de protéines et de lipides, ainsi que l'ingestion journalière. Ces équations dépendent du poids de l'animal :

Dépôt de protéines, kg/j = $a + b \times \text{poids vif} + c \times \text{poids vif}^2$

Dépôt de lipides, kg/j = $a + b \times \text{poids vif}$

Consommation, kg/j = $a + b \times \text{poids vif} + c \times \text{poids vif}^2$

La consommation journalière et les dépôts de protéines et de lipides étaient des valeurs d'entrées correspondant aux valeurs observées au même titre que les teneurs alimentaires en P et Ca. Les résultats de Ca et P corporels de début et de fin de phase ont été comptabilisés dans la base de données à titre de données, permettant une comparaison avec les résultats des simulations.

1.3. Analyses statistiques

La qualité de prédiction a été évaluée en comparant les valeurs simulées avec les résultats rapportés dans les essais comme il suit :

$$\text{Teneur corporelle observée}_{ij} = \alpha + \alpha_i + B \times \text{Teneur corporelle simulée}_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

où la Teneur corporelle observée_{ij} correspond à la teneur corporelle en P ou Ca rapportée dans les essais, Teneur corporelle simulée_{ij} correspond à celle prédite par le modèle,

tous deux pour l'expérience i et le traitement j , α est l'ordonnée à l'origine, α_i est l'effet fixe de l'expérience sur α , B est la pente de la régression et ε_{ij} l'erreur résiduelle. La capacité du modèle à prédire des données expérimentales a été évaluée selon l'ordonnée à l'origine, la pente, l'écart-type et le coefficient de détermination obtenus par régression. De plus, l'erreur quadratique moyenne de prédiction (EMP) a été évaluée par la racine carrée de l'erreur relative de prédiction exprimée en pourcentage de la moyenne observée. L'EMP a été divisée en trois composantes : l'erreur de tendance centrale (ETC) qui indique comment la moyenne prédite dévie de celle mesurée,

celle due à la régression (ER) qui mesure la déviation du coefficient de régression par rapport à 1 et celle due au bruit (EB) qui est la variance non-expliquée, soit la portion de l'erreur de prédiction qui ne peut être expliquée par la régression (Theil, 1966). Une prédiction adéquate se caractérise par une EB la plus élevée possible par rapport à ETC et ER.

Trois sous-groupes ont été créés pour évaluer la qualité des prédictions dans différents contextes, i) les porcs recevant les traitements témoins non-carencés, ii) ceux recevant des traitements ne satisfaisant pas les besoins de Ca et P iii) ceux ayant suivi des stratégies de déplétion et réplétion.

Tableau 1 – Description de la base de données

		Performances globales ²										
		Caractéristiques de l'aliment					Caractéristiques finales de l'animal					
		PP	PNPv	PNPmin	Pdig	Ca	CMJ	PV final	Protéines	Lipides	Ca	P
Traitements ³	Publication ¹	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	g/kg	kg/j	Kg	kg	kg	g	g
Témoins												
CCCC	1	2,14	1,02	2,12	2,61	7,00	3,20	133	20	36	985	675
H	2	2,30	1,13	1,67	2,10	7,13	2,60	106	16	22	763	510
VH	2	2,30	1,13	2,27	2,40	10,17	2,50	105	15	27	806	537
Trt 120-85	3	2,18	1,02	2,12	3,04	6,30	3,00	119	19	27	754	545
Trt 140-70	3	2,18	1,02	2,56	3,55	6,33	2,90	123	19	30	743	547
Trt 135-135	3	2,18	1,02	2,14	3,10	8,13	2,80	123	19	27	911	659
Carencés												
LLLL	1	2,14	1,02	1,22	6,96	5,33	3,02	131	20	33	728	552
M	2	2,30	1,13	1,50	1,80	6,93	2,54	102	15	22	686	464
L	2	2,30	1,13	1,14	1,60	5,90	2,49	103	16	22	592	420
VL	2	2,30	1,13	0,64	1,20	4,23	2,36	98	16	15	488	361
Trt 60-130	3	2,18	1,02	0,82	1,51	6,20	2,60	108	17	22	466	412
Trt 80-115	3	2,18	1,02	1,25	2,02	6,23	2,80	117	18	27	691	539
Trt 100-100	3	2,18	1,02	1,69	2,53	6,27	3,00	121	19	27	780	592
Déplétion-Réplétion												
CLCC	1	2,14	1,02	1,77	2,40	6,58	2,98	129	19	33	910	629
CCLC	1	2,14	1,02	1,94	2,70	6,80	3,04	134	21	32	945	657
LCLC	1	2,14	1,02	1,72	2,30	5,90	2,94	127	20	31	853	603
CCCL	1	2,14	1,02	1,97	2,50	6,85	3,08	132	20	35	910	634

¹Publication : 1, Gonzalo et al. (2018) ; 2, Pomar et al. (2006) ; 3, Langlois et al. (2016).

²Abréviations : PP, P phytique ; PNPv, P non-phytique végétal ; PNPmin, P non-phytique minéral ; Pdig, P digestible ; CMJ, consommation moyenne journalière.

³Voir 1.1. Description de la base de données.

2. RÉSULTATS ET DISCUSSION

2.1. Estimation du potentiel de dépôt de Ca dans les cendres corporelles

Le traitement qui apportait le plus de Ca total et de P digestible, et donc susceptible de permettre aux porcs d'atteindre leur potentiel de minéralisation osseuse, était le traitement Trt 135-135 de l'étude de Langlois *et al.* (2016) qui fournissait 135% des besoins de Ca et P digestible en moyenne sur toute la croissance. Celui-ci correspondait à l'alimentation de truies de renouvellement au Québec. Une équation décrivant le mieux ces données, c'est-à-dire le dépôt de Ca en g/j a été générée (Tableau 2).

Tableau 2 – Équation de dépôt potentiel de calcium¹

Paramètres	Coefficient	Ecart-type	P-value
Ordonnée à l'origine	6,51	0,386	< 0,001
Effet quadratique	4,38 10 ⁻⁴	5,392 10 ⁻⁵	< 0,001
R ²	0,76		

¹Langlois et al. (2016).

L'équation montre un dépôt qui augmente progressivement avec le poids de l'animal et tout au long de sa croissance (Figure 1).

La dynamique des dépôts de Ca et de protéines observée dans cet exemple, ainsi que dans les autres traitements étudiés, met en évidence l'absence de relation entre la croissance minérale du tissu osseux et des tissus mous des porcs en croissance. En fait, pendant que la croissance musculaire semble atteindre son maximum aux alentours de 50 kg de poids vif, la croissance minérale osseuse semble stable au début de la période de croissance alors qu'elle augmente par la suite sans que nous ayons observé ni atténuation ni plateau au poids d'abattage.

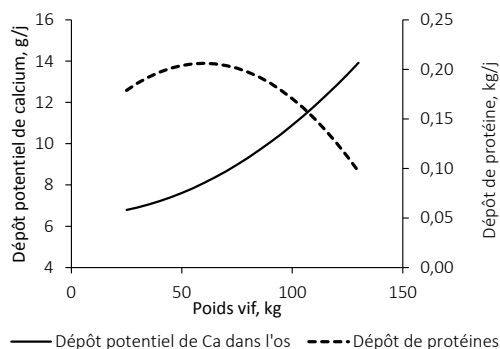


Figure 1 – Dépôt potentiel de calcium (Axe Y principal) et de protéine (axe Y secondaire) en fonction du poids vif du porc (d'après trt 135-135, Langlois *et al.* (2016))

2.2. Évaluation de la qualité de prédiction en termes de P et Ca corporels

Lorsque toutes les données du tableau 1 sont simulées, le modèle semble bien réagir avec des erreurs quadratiques moyennes de prédiction de 5,5 et 8,4%, respectivement pour P et Ca, avec des erreurs de bruit qui sont à plus de 85% (Tableau 3, Figure 2ab). Par contre lorsque l'analyse est effectuée seulement dans le cas des traitements témoins des essais, l'erreur de tendance centrale s'élève à 30% pour le P et 22% pour le Ca, montrant que le modèle sous-estime alors les teneurs corporelles (Figure 2cd). Ceci pourrait provenir du fait que le traitement 135-135 de Langlois *et al.* (2016), supposé permettre d'approcher le potentiel maximal, n'était pas celui qui maximisait le dépôt de Ca. L'équation de potentiel devra peut-être d'être révisée, bien que les niveaux d'apport en P digestible et Ca du traitement 135-135 de Langlois *et al.* (2016) étaient largement au-dessus du besoin et des apports réalisés dans la pratique. Le même type d'erreur est observé dans les traitements où des stratégies de déplétion et réplétion étaient pratiquées (Figure 2ef), mais il s'agit ici d'une surestimation de la part du modèle. Lorsque les traitements dits carencés (apports plus faibles que les besoins) sont isolés, une erreur de tendance centrale est toujours présente pour le Ca (51%), mais également une erreur de régression (23%). Cette dernière montre que le modèle surestime la rétention de Ca surtout chez les porcs plus lourds (Figure 2gh). Il est donc possible que l'absorption de Ca soit surestimée dans le modèle. Cette équation provient d'une méta-analyse réalisée avec les données disponibles qui n'étaient pas nombreuses et sera certainement à revoir avec de nouvelles données (ex. : Gonzalez-Vega, 2016).

Tableau 2 – Résultats de l'évaluation du modèle^{1,2}

Minéral Sous-groupes	n	Équation			Décomposition de l'erreur		
		Ordonnée à l'origine	Pente	EMPr	Erreur de tendance centrale	Erreur de régression	Erreur de bruit
P corporel, g							
Toutes les données	63	3,4	0,99	5,5	0,57	0,13	99,3
Témoin ³	23	17,8	0,99	5,7	29,60	0,17	70,3
Carencés ⁴	28	8,8	0,96	4,5	6,40	10,90	82,6
Déplétion-Réplétion ⁵	12	-10,8	1,00	4,9	12,30	1,04	86,7
Ca corporel, g							
Toutes les données	63	-2,8	0,98	8,4	11,20	1,46	87,3
Témoin	23	28,0	0,98	5,8	22,30	2,24	75,5
Carencés	28	18,1	0,89	11,3	50,80	23,40	25,8
Déplétion-Réplétion	12	-28,3	1,01	8,3	24,90	0,54	74,6

¹EMPr: erreur moyenne de prédiction relative.

²Y, Ca et P corporels observés, g/porc ; X, Ca et P corporels prédits par le modèle, g/porc.

³CCCC, H, VH, 120-85, 140-70, 135-135, voir Tableau 1.

⁴LLLL, M, L, VL, 100-100, 80-115, 60-30, voir Tableau 1.

⁵CLCC, CCLC, LCLC, CCCL voir Tableau 1.

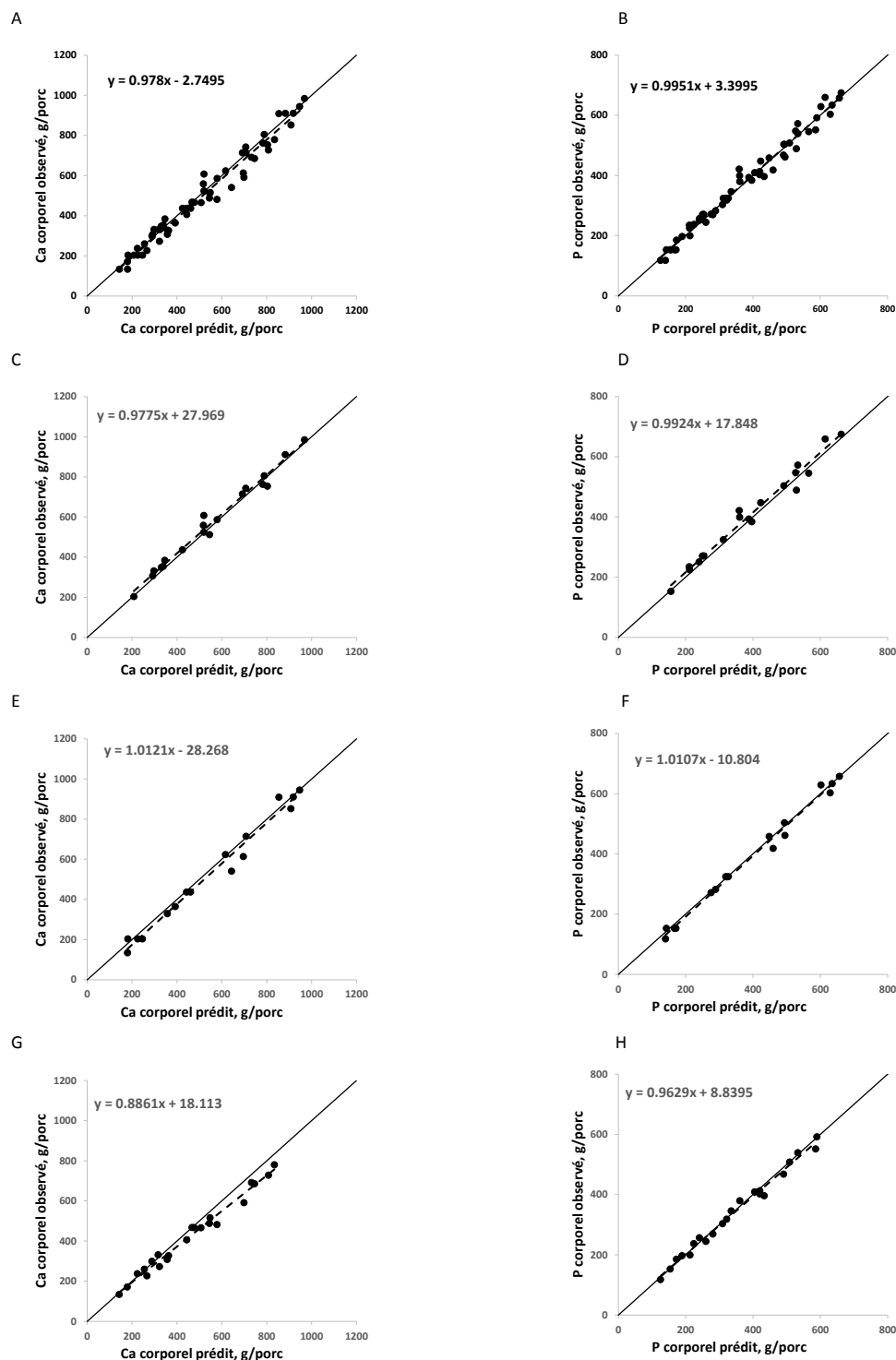


Figure 2 – Masses de Ca et P corporels observées en fonction de celles simulées par le modèle selon la stratégie des apports :
A, B : toutes les données ; C,D : témoins ; E, F : déplétion-réplétion ; G, H : carencés ; voir Tableau 1

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Une approche de modélisation mécaniste a été choisie pour représenter la complexité du métabolisme phosphocalcique en prenant en compte simultanément tous les mécanismes impliqués. Cette approche permettra de rendre compte de différents objectifs de production donc de donner des recommandations tant pour maximiser la minéralisation osseuse chez les truies de remplacement que de l'optimiser chez le porc en croissance.

Le présent travail montre que le modèle offre une bonne prédiction, mais a mis en évidence certaines faiblesses qui seront corrigées en prenant en compte certains phénomènes que nous savons manquants. C'est le cas notamment de la prédiction de l'absorption de Ca. La prochaine étape consistera à prédire les besoins en P et Ca alimentaires (actuelles entrées du modèle) par les dépôts de P et Ca dans les os et les tissus mous (actuelles sorties du modèle). Ce qui permettra de donner des recommandations d'apports selon divers objectifs notamment lorsque les animaux seront nourris avec des techniques d'alimentation de précision.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Couture C., Chiasson R., Pomar C., Létourneau-Montminy M.P., 2018. Evolution de la teneur en protéine corporelle et du contenu minéral osseux des porcs charcutiers nourris avec différents niveaux de phosphore et calcium alimentaires. Journées Rech. Porcine, 50, 167-168.
- Gonzalez-Vega C. 2016. Digestibility of calcium and digestible calcium requirements in pigs. PhD Thesis, University Illinois, 209 p.
- Gonzalo E., Létourneau-Montminy M.P., Narcy A., Bernier J.F., Pomar C., 2018. Consequences of dietary calcium and phosphorus depletion and repletion feeding sequences on growth performance and body composition of growing pigs. Animal, 12, 1751-1773.
- Langlois J., Pomar C., Létourneau-Montminy M.P., 2016. Estimation des besoins de phosphore et calcium chez le porc en début de croissance. Journées Rech. Porcine, 48, 163-164.
- Langlois J., Pomar C., Létourneau-Montminy M.P., 2016. Impact d'un débalancement phosphocalcique sur les performances zootechniques et la minéralisation osseuse chez le porc en finition. Journées Rech. Porcine, 48, 109-114.
- Létourneau-Montminy M.P., Narcy A., Dourmad J.Y., Crenshaw T.D., Pomar C., 2015. Modeling the metabolic fate of dietary phosphorus and calcium and the dynamics of body ash content in growing pigs. J. Anim. Sci., 93, 1200-1217.
- Nielsen A., 1973. Anatomical and chemical composition of Danish Landrace pigs slaughtered at 90 kilograms live weight in relation to litter, sex and feed composition. J. Anim. Sci. 36, 476-482.
- Pomar C., Rivest J., 1996. The effect of body position and data analysis on the estimation of body composition of pigs by dual energy x-ray absorptiometry (DEXA). In: Proceedings of the 46th Annual conference of the Canadian Society of Animal Science, Lethbridge, Alberta, July 7-11, page 26 (Abstr).
- Pomar C., Jondreville C., Dourmad, J.Y., Bernier J.F., 2006. Influence du niveau de phosphore des aliments sur les performances zootechniques et la rétention corporelle de calcium, phosphore, potassium, sodium, magnésium, fer et zinc chez le porc de 20 à 100 kg de poids vif. Journées Rech. Porcine, 38, 209-216.
- Pomar C., Pomar J., Rivest J., Cloutier L., Létourneau-Montminy M.P., Andretta I., Hauschild L., 2015. Estimating real-time individual amino acid requirements in growing-finishing pigs: towards a new definition of nutrient requirements? In: Nutritional modelling for pigs and poultry, Eds N.K. Sakomura, R. Gous, I. Kyriazakis and L. Hauschild, CAB International, Wallingford, UK, 157-174.
- Theil H., 1966. Applied economic forecasting. Studies in mathematical and managerial economics. North-Holland, Amsterdam, The Netherlands, 503 p.

Annexe B

Article de synthèse bibliographique 2021



Dietary Phosphorus and Calcium Utilization in Growing Pigs: Requirements and Improvements

Marion Lautrou^{1,2*}, Agnès Narcy³, Jean-Yves Dourmad⁴, Candido Pomar⁵,
Philippe Schmidely² and Marie-Pierre Létourneau Montminy¹

¹ Département des sciences animales, Université Laval, Québec, QC, Canada, ² UMR Modélisation Systémique Appliquée aux Ruminants, INRA, AgroParisTech, Université Paris-Saclay, Paris, France, ³ UMR Biologie des oiseaux et aviculture, INRA, Nouzilly, France, ⁴ PEGASE, Agrocampus Ouest, INRA, Saint-Gilles, France, ⁵ Agriculture et Agroalimentaire Canada, Sherbrooke, QC, Canada

OPEN ACCESS

Edited by:

Luciano Hauschild,
São Paulo State University, Brazil

Reviewed by:

Thomas D. Crenshaw,
University of Wisconsin–Madison,
United States
Yang Zhi,
Yangzhou University, China

*Correspondence:

Marion Lautrou
marion.lautrou.1@ulaval.ca

Specialty section:

This article was submitted to
Animal Nutrition and Metabolism,
a section of the journal
Frontiers in Veterinary Science

Received: 01 July 2021

Accepted: 04 October 2021

Published: 24 November 2021

Citation:

Lautrou M, Narcy A, Dourmad J-Y,
Pomar C, Schmidely P and
Létourneau Montminy M-P (2021)
Dietary Phosphorus and Calcium
Utilization in Growing Pigs:
Requirements and Improvements.
Front. Vet. Sci. 8:734365.
doi: 10.3389/fvets.2021.734365

The sustainability of animal production relies on the judicious use of phosphorus (P). Phosphate, the mined source of agricultural phosphorus supplements, is a non-renewable resource, but phosphorus is essential for animal growth, health, and well-being. P must be provided by efficient and sustainable means that minimize the phosphorus footprint of livestock production by developing precise assessment of the bioavailability of dietary P using robust models. About 60% of the phosphorus in an animal's body occurs in bone at a fixed ratio with calcium (Ca) and the rest is found in muscle. The P and Ca requirements must be estimated together; they cannot be dissociated. While precise assessment of P and Ca requirements is important for animal well-being, it can also help to mitigate the environmental effects of pig farming. These strategies refer to multicriteria approaches of modeling, efficient use of the new generations of phytase, depletion and repletion strategies to prime the animal to be more efficient, and finally combining these strategies into a precision feeding model that provides daily tailored diets for individuals. The industry will need to use strategies such as these to ensure a sustainable plant–animal–soil system and an efficient P cycle.

Keywords: phosphorus, calcium, mitigation, requirements, environment, swine

1. INTRODUCTION

Phosphorus (P) is an essential element for all living beings, as it is a key component of nucleic acids and energy transfer molecules (adenosine triphosphate, creatine phosphate) and a major mineral component of bone (1). The element P is found in animals as orthophosphates. This is the circulating form of P. Adequate amounts must be provided in livestock diets to ensure animal growth and health. To date, producers have used inorganic phosphate, a limited and non-renewable resource that will be depleted within 100–200 years at current rates of extraction (2). As a commodity mineral, its price is volatile (3). Of greater concern is that P is not absorbed completely from any diet, and in the case of monogastric livestock farming, phosphorus-laden run-off can pollute and cause eutrophication of waterways, which can lead to growth of toxic nitrogen-fixing algae or cyanobacteria (4). This compromises the sustainability of pig farming, which has become highly concentrated in certain regions of several pork-producing countries. In swine production, to avoid an excess of P, the cost of transporting P-rich manure for use as crop field fertilizer can be high and the cost of treating it can be prohibitive; rational and efficient use of P is therefore essential.

Calcium (Ca) is the most abundant mineral in the body (1, 5) and is indispensable for bone mineralization, muscle contraction, and nerve impulse propagation. It is not an expensive element in livestock feed, it is abundant, and it does not represent a threat to the environment. However, as absorption and utilization of P in growing pigs is related to that of Ca, P and Ca requirements must be studied together. Insoluble and indigestible Ca–P complexes can form in the intestines (6, 7). Ca and P deposits in bone are co-dependent. If discharges of phosphorus are to be minimal and its efficiency of utilization must be maximized, its supply must be matched as closely as possible to the requirements of the animals. To achieve this, the actual usable P content of feedstuffs and the animal physiological requirement both must be estimated accurately and precisely. Both global and factorial methods have been used to estimate the Ca and P requirement.

P and Ca requirements can be estimated to maximize growth performance, keep P rejection minimal and/or maximize bone mineralization. Novel approaches in development aim to improve the digestive and/or metabolic utilization of P, thereby decreasing P excretion. The best-known example is the use of phytases, which facilitate the digestion of plant P as phytic acid, the phosphoric ester of inositol, a compound found in many plants and poorly absorbable by pigs. The new generation of phytases makes this strategy even more attractive. The depletion–repletion, a strategy less well known, consists of reducing P and Ca input below the animal's requirements over some period of growth and then increasing the supply as needed (8). This strategy can increase the animal's P digestive efficiency and metabolic utilization in growing pigs; thus it overall decreases in P intake and excretion while maintaining growth and bone mineralization (9, 10). Finally, a mechanistic model approach predicts bone ash and then P and Ca requirement (11, 12) and does not estimate the P and Ca requirement for bone directly from protein. This is an interesting multicriteria approach to mitigate P impact that will be essential for P precision feeding (13). The objective of this paper is to review the latest P and Ca assessment of bioavailability methods for evaluating the nutritional values of feed ingredients for pigs and estimating precisely P requirements, as well as, describing innovations and promising strategies to decrease the P excretions by growing pigs.

2. PRECISELY ASSESS BIOAVAILABILITY AND EVALUATING THE NUTRITIONAL VALUES OF FEED INGREDIENTS

2.1. Dietary Forms of Phosphorus and Calcium

2.1.1. Plant Phosphorus and Calcium

Phytic acid is synthesized in plants by phosphorylating inositol in any or all possible positions. It can thus bear 6 phosphate groups (IP₆) as shown in **Figure 1**, or a smaller number (IP₅–IP₁). The main form found in feed ingredients of plant origin is IP₆ (15, 16). Phytic acid plays a key role in plant metabolism by constituting a reserve of P and chelating other minerals, whereas inositol is used in cell wall formation (17). Phytic acid is present

in all plant-based ingredients (18), in which it accounts for 50–80% of the P content (19, 20) and is found almost entirely in the form of salts called phytates, primarily with Ca, Fe, Zn, Mg, K, and Mn. Phytates are solubilized at gastric pH, whereas the higher pH of the small intestine is conducive to their re-formation or *de novo* complexation thus decreasing the absorption of minerals and trace elements (21, 22). *In vitro*, phytic acid forms its most stable salts with Cu, Zn, Ni, Co, Mn, Fe, and then Ca (23, 24). Ca rarely makes up more than 1% of plant dry matter (20) and its absorption is decreased by phytate formation, but this can be countered somewhat by using phytases (see section 4.2), which break down phytates that are in solution (25–27). The cation-binding ability of phytic acid declines as phosphate groups are removed (21). Phytates form insoluble complexes also with proteins, amino acids, and starch and thereby decrease the digestibility in the small intestine and utilization of these nutrients (18).

2.1.2. Mineral Phosphorus and Calcium

P is usually added to pig diets as dicalcium phosphate, which represents 60% of the feed phosphates used in the European Union; monocalcium and monodicalcium phosphates are also used (28). Magnesium, calcium-magnesium, ammonium, and sodium phosphates are also available for use in livestock feed (28–30). To minimize excreted phosphate, which becomes pollution, the most digestible phosphates are preferred, although price also is considered. The first and foremost criterion is to meet narrow technical specifications in terms of composition and physicochemical stability. Phosphates can be classified according to their solubility in 2% citric acid solution. This test does not indicate real digestibility but makes it possible to rank different products (29). A feed-grade phosphate must be at least 95% soluble in 2% citric acid and in alkaline ammonium citrate (28, 31). For monocalcium phosphates, the solubility in water must be greater than 80%, and for monodicalcium phosphate, greater than 50% (28). Monocalcium phosphate is more digestible than monodicalcium phosphate, which is more digestible than dicalcium phosphate (28, 29). Dicalcium phosphate dihydrate is more digestible than the anhydrous form. The final criterion for judging the quality of a feed-grade phosphate is its level of undesirable substances such as arsenic, cadmium, lead, fluorine, or mercury, and dioxins (28, 29).

The inorganic Ca supplements most used in pig farming are calcium phosphates (32) and carbonates supplied in the form of limestone, a mineral that contains calcium carbonate and dolomite and which varies in Ca content (35–38% Ca; (19)). The bioavailability of the Ca in these sources is in the 90–100% range of calcium carbonate (CaCO₃) used as reference (19, 20, 30). Unlike in poultry, carbonate particle size appears to have no significant effect on apparent or standardized Ca digestibility in growing pigs, based on tests with animals in the 10–20 kg live weight range (33, 34). Calcified red algae has been studied due to its solubility at gastric pH. It is 32% more soluble than calcareous Ca at pH 6.7 and 34% more soluble at pH 3.0 (35). Limestone is 100% calcite, whereas CeltiCal (Celtic Sea Minerals) is 65% calcite, 23% aragonite, and 12% valterite (polymorphs of calcite). The greater solubility does not make

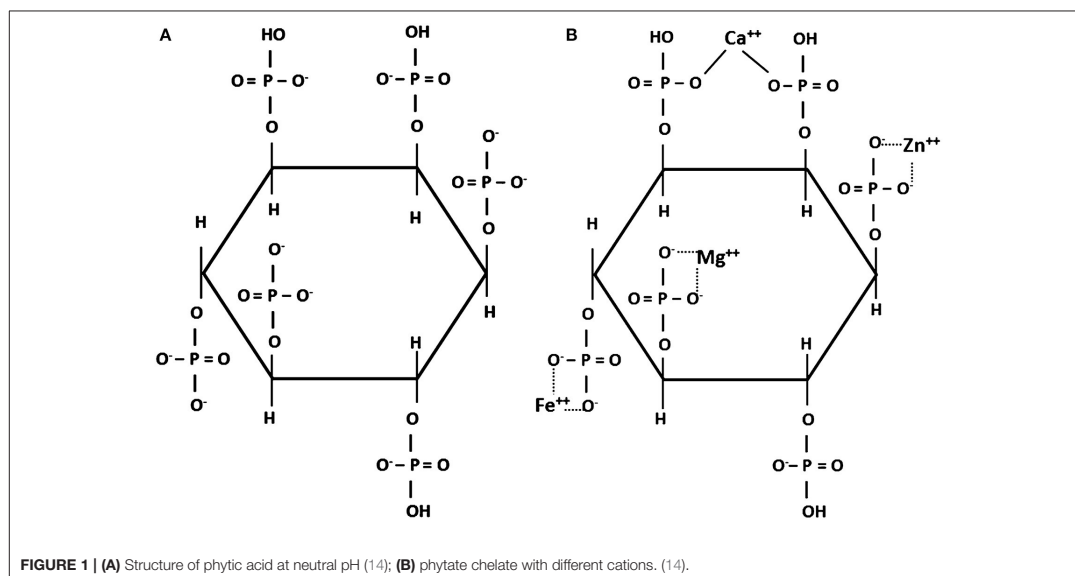


FIGURE 1 | (A) Structure of phytic acid at neutral pH (14); **(B)** phytate chelate with different cations. (14).

the Celtic Sea product more digestible than calcium carbonate. Its digestibility in pigs is at best equivalent to that of calcium carbonate [apparent total tract digestibility [ATTD] Ca of 46.7% and 51.2% for calcium carbonate and CeltiCal, respectively (36), 64% for both sources (37), and may be lower: 46.9% of ATTD Ca and 30.5% for calcium carbonate and CeltiCal (38)]. Marine Ca is absorbed poorly in the upper parts of the gut (38); the higher concentration of dissolved cations moreover makes it precipitate more with phosphate or phytic acids, decreasing P digestibility, bone mineralization, and animal growth (35, 36). A highly soluble Ca to P ratio makes precipitation more likely. Nevertheless, adding marine Ca in smaller amounts and using phytase allows proper balancing of the soluble Ca:P ratio and growth performance equivalent to the control group, and quantitatively superior bone mineralization, at least in broiler chicken studies (35). These results show, above all, that Ca and P interact strongly in the digestive system, and how much further study, especially of the soluble Ca:P ratio, is needed to optimize their utilization.

2.1.3. Phosphorus and Calcium of Animal Origin

In addition to inorganic phosphates, meat and bone meal from the rendering industry is also used as a source of P and Ca. Except in Europe, where it is prohibited in livestock feed other than for fish, these by-products are commonly included in poultry diets. Meat and bone meal can be made up of bones and soft tissues but not blood, hair, hoof, horn, skin/leather, stomach and ruminal contents, or excrement. Most meat and bone meal in North America is a mixture of cattle, pig, and poultry by-products (39). It must contain at least 4.0% of P, and the Ca:P ratio must not exceed 2.2 [AAFCO 2011, cited in Sulabo and Stein (40)]. Meat

and bone meal is a source of highly available Ca and P (41, 42) but has unpredictable quality and Ca:P ratios, due to differences in raw materials and processes (39). Depending on the source, the P and Ca contents may vary 2–4 times as much as the protein content, the coefficients of variance being, respectively, 20, 22, and 6.2% (40). A negative correlation exists between protein concentration and P and Ca concentration, due to variations in the proportions of soft tissue and bone (40). The most important sources of variation in the composition of meat and bone meal are therefore the origin of the by-products used and the ratio of soft tissue to bone.

When meat and bone meal is fed to pigs, it provides much of the Ca and P in the diet. It is therefore necessary to have a supplier that uses controlled processes and can guarantee Ca and P content. The standardized digestibility of P in meat and bone meal ranges from 55 to 84% and averages 70% (20, 40), falling between the values for inorganic P and materials of plant origin. Standardized Ca digestibility in meat and bone meal is estimated at 77% but can be 82% for poultry meal (43). The apparent Ca digestibility ranges from 55 to 84% (40). The digestibility of P and Ca in meat and bone meal does vary somewhat, due mostly to the P concentration: the higher the P concentration, the lower the Ca and P digestibility. Since the P concentration depends mainly on the proportion of bone in the meal, it may be presumed that the higher the bone-to-meat ratio, the lower the Ca and P digestibility. The apparent digestibility of P in bone meal is in fact about 68 vs. 80% in meat-and-bone meal and 85% in meat meal (44). Hydroxyapatite, therefore, seems to be a less digestible form of P and Ca. This has been validated for P by comparing diets containing different forms of bone meal. The pre-cecal digestibility of P in chickens is lower when it is still in the form

of hydroxyapatite than when it has been previously dissolved (45). Although its composition may vary widely, meat and bone meal offers the possibility of recycling, providing sufficient P to livestock without inorganic P from non-renewable sources. At least one study suggests that heat and pressure treatment of bone meal and removal of gelatin may improve P digestibility (45).

2.2. Precisely Estimates of Dietary Phosphorus and Calcium Values of Feedstuffs

2.2.1. Total Analyzable Value

Total dietary Ca and P content in feed ingredients are routinely measured by chemical analysis. However, these numbers do not indicate what portion the animals digest or retain or how much will be excreted. Although this method has its drawbacks, it is still the preferred method for Ca, mainly because of the lack of knowledge on Ca bioavailability. Recent work underway is expected to provide a more accurate Ca bioavailability assessment method with standardized digestibility measurements (46). The P system is more precise with different expression modes, which will be described in the following sections.

2.2.2. Relative Bioavailability

Bioavailability, also called availability, was added in the ninth edition of NRC (47). Availability is an indicator of the use of a nutrient based on a predefined criterion, for example, in the case of P and Ca, bone mineralization measured in terms of mineral (ash) content or a biomechanical property such as breaking strength (48, 49). The value is obtained by comparison with a reference that is considered 100% bioavailable, usually monocalcium phosphate. The relative bioavailability of a nutrient in an ingredient is generally expressed as the slope ratio, which is obtained from linear regressions of the criterion vs. nutrient ingested (48). The main disadvantage of this method is that it is not standardized and thus the bone and parameter measured (e.g., ash content and break strength) may differ between studies, so studies are not comparable (46).

2.2.3. Digestibility

The digestibility concept was first used to assess P content of feedstuffs as ATTD in the Netherlands (50) and then in France (19). In 2012, the National Research Council (NRC) proposed another method, like the one used for amino acid and that should be more precise, the standardized total tract digestibility (STTD). Digestibility refers to the quantity of nutrient that is not found in the feces and therefore must have been digested, or, at least, has disappeared from the digestive tract, a definition that must be nuanced according to whether endogenous losses are considered. Unlike other nutrients, the digestibility of P (and of Ca to a lesser extent) is estimated over the entire digestive tract as fecal digestibility. Two reasonable assumptions justify this: (1) P and Ca are absorbed in the cecum and the colon, respectively (51). These play a homeostatic role in maintaining serum P and Ca under conditions of low intake, and (2) for P and Ca in most dietary supplies, there are no difference between fecal and ileal digestibility for true and apparent P digestibility (52, 53), or apparent and standardized Ca digestibility (38) and therefore

no interest in estimating ileal digestibility, which is much more difficult and expensive than measuring fecal digestibility (20).

Apparent total tract digestibility (ATTD) of a nutrient in a feed is the difference between the total intake of the nutrient in question and the amount found in the feces (54, 55):

$$ATTD_{Ca \text{ or } P}(\%) = [(Ca \text{ or } P_{intake} - Ca \text{ or } P_{feces}) / Ca \text{ or } P_{intake}] \times 100 \quad (1)$$

The methods most used to determine apparent digestibility are total feces collection or partial collection in conjunction with an indigestible marker. Apparent P digestibility is still used widely but has the disadvantage of not being additive in feeds composed of several ingredients (55, 56).

STTD considers basal endogenous losses, which represent the minimal loss of a nutrient, independent of feed composition but influenced by dry matter intake (49, 54). These losses were first estimated by regression with extrapolation to zero ingestion of the studied mineral (57). They are now measured by analyzing feces of animals fed a diet free of P or Ca (34, 37, 58–60). Critics of this method point out that Ca metabolism is well known to be regulated through absorption and thus reabsorption of endogenous losses, leading to underestimation of basal endogenous losses (61). Likewise, a P imbalance due to a P-free but Ca-containing feed would probably affect endogenous P losses (62). Further trials are needed to determine whether endogenous P losses should be measured with a P-free and Ca-free diet, or if it is better to measure P losses with some Ca to minimize interference by regulation. Basal endogenous losses of P and Ca fall, respectively, into the ranges of 139–252 mg and 123–670 mg/kg of dry matter intake (DMI) (37, 38, 63, 64). Basal endogenous P losses in pigs have been estimated at 190 mg/kg of DMI by (20) and 6 mg/kg of live bodyweight (BW) by Bikker and Blok (65). Standardized digestibility can then be calculated using the following equation (55):

$$STTD_{Ca \text{ or } P}(\%) = [(Ca \text{ or } P_{intake} - (Ca \text{ or } P_{feces} - \text{Basal endogenous losses})) / Ca \text{ or } P_{intake}] \times 100 \quad (2)$$

Standardized digestibility values are considered additive in feeds composed of several raw materials (20, 46). According to this equation and the use of a constant basal P loss of 190 mg/kg of DMI, it is simple to convert values of ATTD digestibility values into STTD values.

True digestibility accounts for total endogenous losses, which include basal and specific endogenous losses. The latter represents the losses above basal endogenous ones, due to specific characteristics of the feed, such as the level of anti-nutritional factors and fiber content (54). No method of direct measurement of true digestibility exists, except the use of radioisotopes that are now banned in many countries. It is therefore determined by regression, using apparent digestibility and ingested quantity of the nutrient (46, 49):

$$Ca \text{ or } P_{absorbed} = (TTTD \times Ca \text{ or } P_{intake}) - \text{Total endogenous losses} \quad (3)$$

The negative intercept corresponds to total endogenous loss, while the slope of the regression represents true digestibility. Critics of this method point out that for P and Ca, estimates are highly variable, dependent on individuals, often intercept is not different from 0 (53, 66, 67) and influenced by the amount ingested, in violation of the basic assumption of the regression method (66, 67).

Although several studies about Ca digestibility have been completed (34, 37, 40, 52, 59, 66, 68), the Ca requirement continues to be generally expressed as a total requirement (20, 46) due to the lack of data on digestibility in specific feed ingredients. To overcome the non-additivity of apparent digestibility in a mixed feed, most recent studies have focused on standardized digestibility (59). However, basal endogenous Ca losses measured so far are highly variable and appear to depend on feed composition (59). In addition, components such as fiber may have a direct and proportionate positive effect on standardized Ca digestibility (59), as shown in rat studies (69). These last considerations show the interest in evaluating the Ca digestibility of raw materials under the specific conditions in which they will be used, as recommended in chicken for P (70).

2.2.4. Mechanistic Modeling and Meta-Analysis Approach

All the methods described earlier give a unique P and Ca value for each feedstuff regardless of the interactions with other components of the diet. With the objective of precisely estimate the digestibility of dietary P in a complete diet, two approaches have been used by Létourneau-Montminy et al. (71, 72) based on available literature. First, a mechanistic research mathematical model that simulates the fate of dietary P forms, phytate P (PP) and non-phytate P (NPP) from plant, mineral and animal origin, in the gastro-intestinal-tract was developed and evaluated by Létourneau-Montminy et al. (71). The proposed model integrates and predicts the impact of the most relevant physiological processes involved in P digestion and absorption, including P dietary forms, the presence of exogenous phytase, and the dietary concentration of Ca. It also predicts the impact of transit time and pH of the different dietary sections. The output is the standardized P and Ca absorbed. It can be used as a prospective tool to study P digestibility for different feedstuffs and feeding strategies, as well as the effect of specific digestive processes on P digestive utilization. Second, given the large number of publications on P digestibility in pigs, meta-analysis, a statistical method relevant for summarizing and quantifying knowledge acquired through previously published research (73, 74), was chosen to predict P digestibility considering dietary P forms, Ca, and exogenous phytases. Dietary forms are PP and NPP from plant, mineral, and animal (72). This study provided a generic response of ATTD P (g/kg) to variation of PP, NPP, and phytase. Results showed a linear relationship between NPP and digestible P. Both NPP from mineral and animal feedstuffs and NPP from plant are highly digestible (78 and 73%, respectively). A digestibility coefficient of 21% was also found for PP showed that part of the PP is available for absorption without any exogenous phytase supply (75–77). Then microbial phytase improved digestible P given hydrolysis was

simulated with a classic enzyme equation, the Michaelis–Menten. Its response depends on PP quantity, its substrate. The addition of 500 FTU of microbial phytase per kg of feed to a diet with 2 g of PP/kg, increased the amount of digestible P by 0.60 g/kg. With 3 g of PP/kg, the amount of digestible P increased by 0.67 g/kg. It is worthy to note that the amount of PP varies little in swine ingredients. Finally, dietary Ca linearly decreases digestible P independently of phytase supply as previously shown when testing different concentrations of dietary Ca crossed with different levels of phytase (78, 79). This simple method allows a prediction of true P digestibility based on chemical analysis of the diet in total P, PP, Ca, and microbial phytase, while NPP is the difference between total P and PP as used in broilers (80).

3. PRECISELY ASSESS PHOSPHORUS AND CALCIUM REQUIREMENTS

According to the FAO and WHO (81), a nutrient requirement is defined as the intake level that will meet specified criteria of adequacy without risking deficit or excess. These criteria include an array of biological effects associated with the nutrient. In livestock production, a requirement is defined as the quantity necessary to maximize a production factor such as body growth or bone mineralization. In practice, growth alone is often a poor indicator of mineral status. Tissue analyses should always accompany growth and feed intake data when evaluating mineral adequacy (82). Bone mineralization has long been the standard, but environmental issues have led several countries to review this, giving rise to the notion of growth performance (20). Ca and P requirements may be defined as facilitating growth according to genetic potential while ensuring optimal bone mineralization and keeping environmental risks minimal. In other words, a multicriteria approach to setting nutrient requirements is needed. To respond to these different objectives, global and factorial approaches, and increasingly mechanistic models simultaneously consider the most important variables, including genetics, live weight, and sex.

3.1. Global Approach

This method consists of measuring different performance criteria (growth rate, feed conversion ratio, etc.) in herds that have been fed with increasing levels of the tested nutrient. If all the criteria are not satisfied simultaneously, the proper intake is then considered to be the one that optimizes the most important criterion (83). At this time, the digestibility of nutrients was not considered. This approach presents two main disadvantages. The first one is that it is difficult to compare the estimation of nutrient requirements by this approach with the availability or digestibility of the raw material. The second is that, like nutrient availability, the approach does not consider the portions of P and Ca effectively used and does not allow differentiation between the portions released in feces and urine. Global approaches were replaced by factorial approaches in the 1990s.

3.2. Factorial Approaches

A more advanced method is the factorial approach, which consists of quantification and the addition of the requirements

TABLE 1 | Estimates of P and Ca requirements for growing pigs according to different models.

	30 kg				50 kg				70 kg				100 kg			
Bodyweight	30 kg				50 kg				70 kg				100 kg			
ADG	0.96 kg				1.11 kg				1.17 kg				1.12 kg			
Feed intake	1.36 kg				2.14 kg				2.71 kg				3.22 kg			
Body protein	4.68 kg				7.08 kg				11.09 kg				15.03 kg			
	CVB ^a	NRC ^b	INRAe ^c	Lautrou ^d	CVB ^a	NRC ^b	INRAe ^c	Lautrou ^d	CVB ^a	NRC ^b	INRAe ^c	Lautrou ^d	CVB ^a	NRC ^b	INRAe ^c	Lautrou ^d
STTD P (g/kg)	3.77	4.2	-	4.07	2.83	3.07	-	2.85	2.39	2.45	-	2.38	2.01	1.83	-	2.12
ATTD P (g/kg)	-	-	4.0	3.9	-	-	2.98	2.68	-	-	2.5	2.21	-	-	2.1	1.95
Total Ca (g/kg)	9.96	9.03	11.61	8.16	7.53	6.6	8.65	5.9	6.38	5.27	7.26	5.2	5.4	3.93	6.09	5.06
Total Ca:STTD P	2.64	2.15	-	2.00	2.66	2.15	-	2.07	2.67	2.15	-	2.18	2.69	2.15	-	2.39
Total Ca:ATTD P	-	-	2.90	2.09	-	-	2.90	2.20	-	-	2.90	2.35	-	-	2.90	2.59

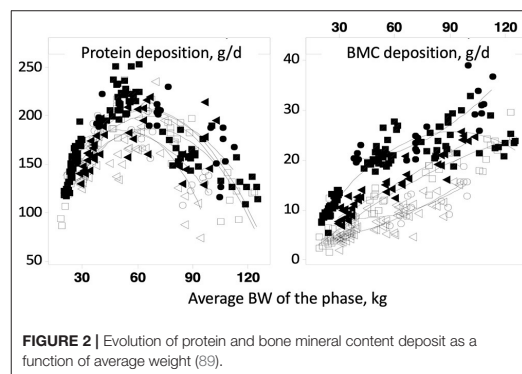
^aEstimated according to Bikker and Blok (65).^bEstimated according to NRC (20).^cEstimated according to Jondreville and Dourmad (84).^destimated according to Lautrou et al. (12).

for each physiological function (e.g., for maintenance and growth). With the emergence of this method came the consideration of the intestinal absorption of minerals. Several factorial methods estimating P and Ca requirements had been proposed such as Jondreville and Dourmad (84), NRC (20), and Bikker and Blok (65). The first of these methods is based partly on studies conducted years ago in France (83, 85) and the Netherlands (86) and is applied widely in France and Europe. The second one is popular in North America. The third one is in fact an update of the Jongbloed et al. (86) method based on data published since then. The P requirements estimated by these methods are presented in **Table 1**.

In Jondreville and Dourmad (84)'s model, estimation of P and Ca requirements aims for a bone mineralization of 100%. The maintenance requirement corresponds to obligatory urinary losses, because the P requirements are expressed on an ATTD basis, and endogenous fecal losses are already considered. The maintenance P requirements are estimated at 10 mg/kg of BW (85). The requirement for growth is assessed based on the average daily gain. Finally, the total Ca requirement is estimated according to a fix ratio of 2.9 with the ATTD P requirement.

The NRC (20) considers that P and N retention are highly correlated, and that this correlation is affected little by animal genetics or sex. According to their model, maximal P retention in growing pigs is dependent on body protein. Endogenous basal losses in the gastrointestinal tract are estimated at 190 mg/kg of DMI, to express the P requirements in STTD, and minimal urinary loss at 7 mg/kg of BW. Finally, growth performance is maximized by considering the standardized digestible P requirement to be 85% of the level that maximizes body P retention. The total Ca requirement is set at 2.15 times the standardized P requirement.

In Bikker and Blok (65), Ca and P requirements are estimated independently and aim for a bone mineralization of 100%. The requirement is the sum of the Ca or P retention and the maintenance requirement. An allometric relationship links body Ca and P retention to animal empty body weight gain. The maintenance requirement includes the obligatory urinary loss

**FIGURE 2** | Evolution of protein and bone mineral content deposit as a function of average weight (89).

and the minimal endogenous loss. Basal fecal endogenous losses of P and Ca are set at 6 mg and 8 mg/kg of BW, respectively, and obligatory urinary losses are estimated to be 1 mg and 2 mg/kg of BW. These unavoidable losses are low under conditions of low P or Ca supply, and become greater as the supply increases. The utilization efficiency of the absorbed P and Ca is therefore set at 98%. The Ca and P requirements are first estimated as standardized before applying a digestibility coefficient of 58% to the Ca requirement for expression as total Ca. In this model, as in Sauveur and Perez (83) Ca requirement is estimated according to a factorial approach based on digestible Ca and expressed on a total basis assuming 45–50% Ca digestibility. This permits adaptation of the Ca:digestible P requirement according to animal weight and performance. The same approach was recently used for sows by Gauthier et al. (87) and Gaillard et al. (88).

In all these models, ash deposition strongly correlates with soft tissue gain. However, recent feed trials have shown that this is not the case in growing pigs (**Figure 2**; 89). Protein deposition increases linearly up to a body weight of about 60 kg, then decreases while bone mineral content deposition increases until the pigs reach slaughter weight (120 kg). These two variables

are, therefore, measurements of different physiological processes. In the Jondreville and Dourmad (84) and NRC (20) models, the Ca requirement and the digestible P requirement form a fixed ratio throughout the life of the pig. However, as seen previously, bone growth and soft tissue growth are dissociated, which logically results in a Ca:P requirement ratio that is not the same throughout the life of the animal.

4. STRATEGIES TO REDUCE PHOSPHORUS EXCRETION

4.1. Improved Mechanistic Models to Assess Phosphorus and Calcium Requirements

The factorial approach can be integrated in a mechanistic model. The mechanistic models aim to represent the mechanisms of a system. In fact, they connect the underlying mechanisms that control operation of a system. It is, therefore, a matter to meet the conventional notion of requirements (homeorhesis, long-term response) with the response of the animals to inputs [homeostasis, short time scales, (90)]. In a more recent model (11), because of a lack of data, the potential Ca and P depositions were driven by potential protein deposition. But as seen previously, the protein and ash bone depositions are not correlated (89). Consequently, the assessment of Ca and P requirements must consider the fact that changes in skeletal tissue are not directly proportional to lean growth. This is clear when looking at the capacity of P- and Ca-depleted pigs to rapidly replace bone mass through compensatory bone mineralization (see section 4.3). This model has been revised (12) to rectify the no dependency of bone mineral deposition on protein gain by establishing a potential for Ca deposition independent of soft tissue gain, thus allowing P and Ca requirements for soft tissue growth and bone growth to be predicted independently (Figure 3).

This new model estimates apparent digestible Ca and P requirements, which can be converted to STTD or total requirements. The only input required is the initial body weight, from which body protein, lipid, water, and ash (soft tissue and bone) are estimated. Soft tissue growth is currently estimated by applying the principles of van Milgen et al. (91), although other models such as NRC (20) or even user-specific equations tailored to animal growth in a specific setting may be adequate. Estimated protein and lipid gains can be used to assess P and Ca retention in soft tissues (92). In parallel, the Ca requirement for bone is estimated with the bone Ca potential deposition curve presented by the same authors (12). The deposition of P in bone is estimated at a fixed ratio of 2.16 to Ca deposition. The maintenance requirements, equivalent to the obligatory urinary losses, are set at 0.5 mg for P and 2 mg for Ca, per kg of body weight. The sum of the maintenance and growth requirements (of soft tissue and bone) thus provides apparent digestible P and Ca requirements. In fact, the ratio increased with body weight because protein deposition that represents about 30–40% of the body P decreases while bones continue to grow after 70 kg of BW. These can be converted to standardized or total requirements.

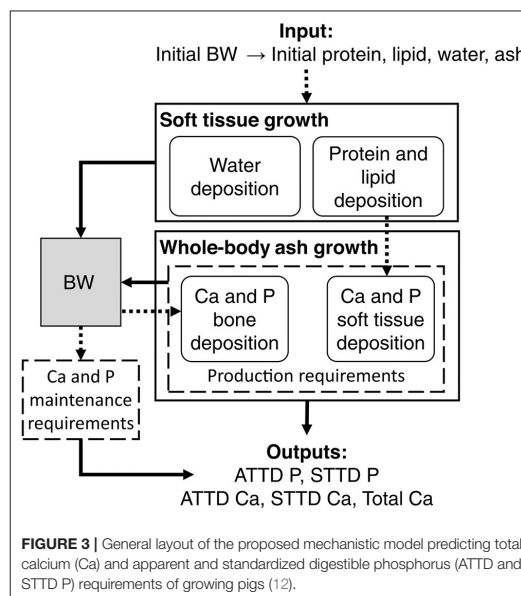


FIGURE 3 | General layout of the proposed mechanistic model predicting total calcium (Ca) and apparent and standardized digestible phosphorus (ATTD and STTD P) requirements of growing pigs (12).

Results confirm the need for a non-fixed Ca:P requirement ratio (Table 1). This model has the additional advantage of being adaptable to different production objectives such as 100% or 85% mineralization, without decreasing the share of Ca or P destined for soft tissues. Although a single deposition potential has been established, it will become necessary to consider animal genetics (93, 94) and/or sex in further validations of the model. The sensitivity analysis of the model showed that protein deposition influenced ATTD-P variance by 15% for pigs at 30 kg, 6% at 60 kg, and 1% at 120 kg based on protein deposition variation in previous trials (12). The decrease in the influence of protein deposition on P with BW increase coincides with the linear increase in bone deposition. Moreover, the ATTD-P variance associated with protein deposition at 30 kg shows that animal growth will have a major impact on P recommendations.

4.2. Toward More Efficient Degradation of Phytate Phosphorus

4.2.1. Description of Phytases

Phytases, or myo-inositol hexaphosphate phosphohydrolases, are enzymes that hydrolyze phytic acids and release the phosphate groups (55). In growing pigs, there are 4 sources of phytase: (1) the mucosa of the small intestine, (2) microorganisms in the large intestine, (3) ingested plant matter, and (4) exogenous phytase added to the feed. A unit of phytase activity is defined as the release of 1 μ mol of inorganic P per minute in a solution containing 5.1 mmol of sodium phytate per liter at pH 5.5 and 37°C (95). Low endogenous phytase activity is observed in the proximal part of the pig intestine, but about 20% of the phytic P would nevertheless be potentially absorbable (72, 76, 77). Some

TABLE 2 | Characteristics of some commercial microbial phytases.

Product	Origin	Expression	Type ^a	pH optima	IP ₆ degradation ^b	Year ^c
Natuphos®	A. Niger	A. Niger	3	2; 5–5.5	503	1990
Allzyme® SSF	A. Niger	A. Niger	3	6		
Finase® P/L	A. Niger	Trichoderma reesei	3	2.5		
Ronozyme® P	Peniophora lycii	Aspergillus oryzae	6	4–4.5	480	2002
Phyzyme® XP	Escherichia coli	Schizosaccharomyces pombe (ATCC 5233)	6	4.5	140	2003
OptiPhos®	Escherichia coli	Pichia pastoris	6	3.4; 5.0		2006
Quantum™	Escherichia coli	Pichia pastoris	6	4.5	148	2007
Ronozyme® Hiphos	Citrobacter braakii	Aspergillus oryzae	6	4–5	269	2010
Quantum® Blue	Escherichia coli	Trichoderma reesei	6	4–5	211	2012
Axtra® PHY	Buttiauxella sp.	Trichoderma reesei	6	3.5–4.5	129	2013
Natuphos® E	Hybrid phytase (Hafnia sp., Yersinia sp. et Buttiauxella sp)	A. Niger	6	4–5		2016

Table 2 is not an exhaustive list and represents only a few of the currently available commercial phytases, adapted from Dersjant-Li et al. (95, 97), and Lei et al. (98).

^a3 or 6 phytase.

^bPhytase activity needed to achieve 50% reduction in IP₆, with high buffer volume.

^cYear of the commercial launch.

plant raw materials have their own phytasic activity. This one is more or less important according to the ingredient and the part used (14, 84). Phytasic activity is higher in some cereals such as rye, triticale, wheat, or barley than in cereals richer in proteins (19). Plant phytase is sensitive to heat (more than microbial phytases), since its activity is partially or completely inactivated after high temperature treatment (>70°C) such as those for pelleting (18, 84, 96). It is why in INRA-AFZ feed tables (19) two values are given for P digestibility, one which takes account of the effect of endogenous phytase to be used when feed is given as meal, and a second without considering the effect of endogenous phytase to be used when the feed is pelleted. Therefore, the most promising phytase sources remains the exogenous phytase.

4.2.2. New Generations of Exogenous Phytases

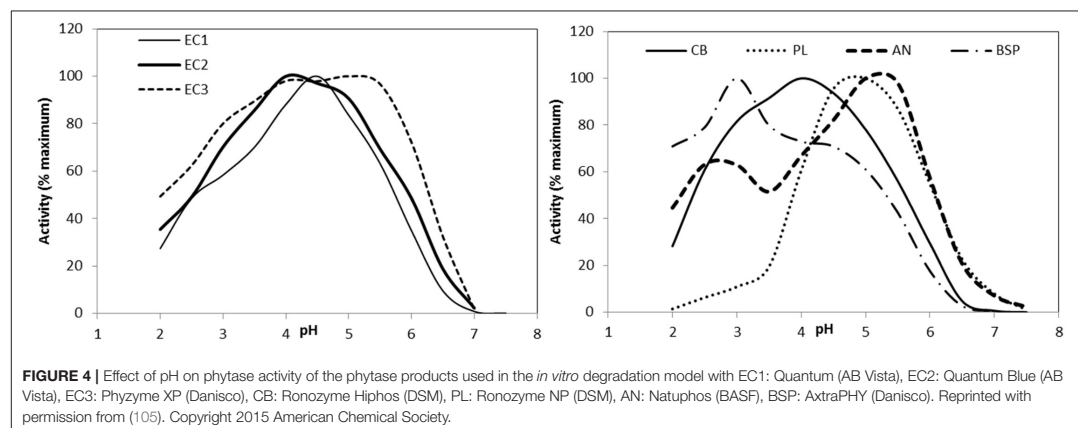
The first exogenous phytase was marketed in 1991 in the Netherlands, the first country to introduce strict regulations intended to limit P discharges from pig and poultry farming. The use of phytases then accelerated following the introduction of similar legislation in other countries and the ban on the use of animal byproducts in Europe (18). These enzymes were isolated first from fungi (Table 2), then new techniques allowed the production of phytases by bacteria and yeast, leading to the second generation of phytases. The common commercial phytases are obtained from cultures of *Aspergillus niger*, *Peniophora lycii* (fungi, 3-phytase), and *Escherichia coli* (bacteria, 6-phytase). In pigs, bacterial phytase has been found to be more effective than fungal phytase (78, 99). This explains why fungal phytases were supplanted in the early 2000s by 6-phytases produced by *Escherichia coli*. Other second-generation phytases obtained from cultures of *Citrobacter braakii*, *Buttiauxella* spp. and even hybrid forms soon followed (Table 2). Third generation phytases with up to 8 amino acid substitutions in the *E. coli* enzyme have better thermostability (100). The presence of plant phytase reduces the response to added exogenous phytase (18).

New generation phytases developed through genetic engineering release more P (101). Exogenous phytases also increase Ca availability (32) but the underlying mechanism remains to be determined. P and Ca digestion in pigs has been modeled, integrating interactions, the different chemical forms, and the effect of phytase (71). Dissociation of Ca phytates at gastric pH is presumed in this model has showed *in vitro* (102). By increasing the proportion of phytate degraded by phytase in the upper digestive tract, less Ca should form insoluble complexes with phytate in the small intestine where pH is favorable and therefore more should remain available for absorption. However, we have not seen validation of this hypothesis *in vivo* and the exact mode of action of phytase on Ca remains unclear, but undoubtedly have an impact *in vivo*. Phytases preferentially release the position 5 and 6 phosphates, which have the highest affinity for cations such as Ca, rather than dephosphorylating phytate completely (103). As a result, the phytase doses that are now commonly used would increase Ca availability more than P availability, at a ratio of about 2, whereas high doses would sustain P release while Ca release reached an asymptote (103).

4.2.3. Factors Influencing the Efficiency of Exogenous Phytases

For optimal action, phytic acid must be hydrolyzed upstream from the sites of absorption of P and other minerals such as Ca, Zn, and Fe. P is absorbed mostly in the upper small intestine (5, 51). Hydrolysis in the stomach is therefore ideal, meaning that the enzyme must be sufficiently active at gastric pH (3.5 in young pigs and lower in older animals (104)). Phytase from *A. niger* works well at pH 2 or 5–5.5, but poorly at porcine gastric pH. The optimal pH range of new generation phytases has been lowered and in some cases broadened [Figure 4; (105–107)].

To limit the loss of activity, phytases must be made resistant to digestive proteases. Second-generation phytases were better in this sense (*P. Lycii* vs. *E. coli*, Figure 5, 106). After 2 h in contact

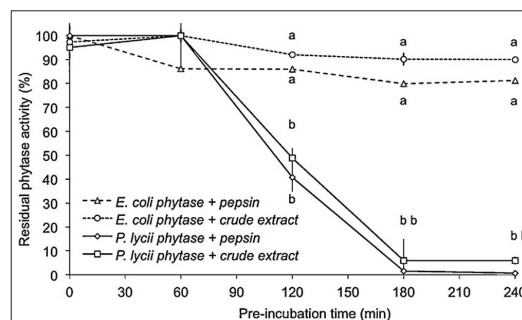


with pepsin, *E. coli* phytases retained 77% of their initial activity compared to 31% for an *A. niger* phytase (95).

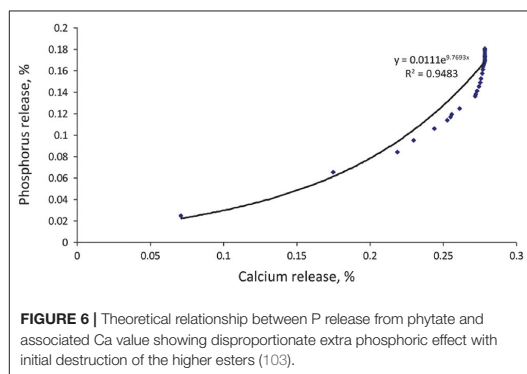
The ideal temperature of activation of the phytase is between 50 and 60°C. On the other hand, high temperature treatments (> 70°C) decrease the phytase activity of the feed (108–110). The second-generation *E. coli* phytases lost thermostability compared to the fungal phytases (98), except for a third-generation phytase from *E. coli* (Phy9X), which is resistant to higher temperatures, up to 75°C (108, 111). On the other hand, increasing the resistance temperature of phytases can lead to a higher optimal temperature and thus potentially decrease their efficacy at normal pig body temperature (around 39°C) (112).

To be the most useful, phytases must preferentially degrade IP₆ and IP₅ phytates as quickly as possible. They must, therefore, have a high affinity for the preferred substrate. Second-generation phytases were improved in this sense (112), at least in terms of initial reaction velocity (V_{max}) *in vitro* with IP₆ and IP₅ substrates (105).

Despite the improvement in phytases, it is important to understand that they act on soluble phytates. Therefore, the factors that influenced phytate solubility must be control. Certain minerals interfere with phytates. Cations have an inhibitory power related to their affinities for phytic acid but also the insolubility of the complexes they formed. This is measurable as the amount of mineral that causes phytates hydrolysis to drop by 50% at a given pH (102). The smaller the amount, the more inhibitory. On this basis, the following ranking has been established (102): at pH 6: $Fe^{2+} > Zn^{2+} = Fe^{3+} > Mn^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$. At pH 5: $Fe^{3+} > Fe^{2+} > Zn^{2+} > Mn^{2+} > Ca^{2+} > Mg^{2+}$, representatives of the gut pH in pigs. This inhibitory power represents the affinities of the minerals for phytic acid but also the insolubility of the complexes formed. Reducing the pH to 4, which corresponds to gastric pH, strongly reduces the power of all minerals tested. Iron has the greatest potential for inhibition, but to our knowledge, no study of its effect on phytase effectiveness in animal feed has been published. Regarding Zn and Cu, their supply can be high in piglets with so-called pharmacological levels (2,500 ppm) when used as a



growth factor to reduce diarrhea. Zn has a high complexing power, a single Zn cation being capable of binding to two phytic acid molecules (113). The effect of Zn on phytase efficiency has been studied in weaned pigs (6–20 kg). With 1,000 and 3,000 FTU in the diet, zinc oxide at 3,000 mg/kg decreased the Ca ATTD by 6 and 9%, respectively, and the P ATTD by 10 and 16% in pigs weighing 15–20 kg (114). In young pigs weighing 7–13 kg, P release by phytase was reduced by 30% when the dietary Zn content was 1,500 mg/kg (115). The effect of Cu on phytase is less clear. Cu phytates appear to be soluble at neutral pH (113), suggesting no effect. An *in vitro* study of Cu at 62.5 mg/kg and pH 5.5 suggests that P release from phytase may decrease by 2–30% depending on the source of the Cu (116). At 500 mg/kg, the decreases ranged from 5 to 75%. At pH 6.5, the decreases were even more marked but were almost non-existent at pH 2.5. The most likely explanation for these



observations would be formation of insoluble phytic acid–Cu complexes at higher pH, which is of some concern given the pH of the porcine gut (116–118). In pigs weighing 6–22 kg, P digestibility was greater with methionine-chelated Cu than with Cu sulfate (118). Chelated Cu would be more stable in the upper gastrointestinal tract and less available to form complexes with phytic acid; thus there would be a better release of absorbable phosphate (116, 119). Tests of the effect of Zn and Cu form and concentration on Ca and P digestibility in pigs weighing 6–22 kg showed that the form of Cu had no effect, while the form of Zn did (117).

Ca is ranked as less inhibitory but is incorporated into feed at much higher concentrations than Zn, Cu, or Fe. As a result, Ca forms a significant proportion of insoluble phytates, frequently with Zn (120). Because the recent phytases have a higher affinity for IP₆ and IP₅, which have higher affinities for Ca, the ratio of Ca:P released using second and third generation phytases is around 2 at 500 FTU/kg (Figure 6) and decreases as phytase activity increases (103, 121, 122). The phytase levels practiced in the field may therefore lead to an increase in the digestible Ca:P ratio. Trials have shown phytase effectiveness to decrease as the Ca:P ratio increases in the feed (123–125) albeit without comparison to phytase-free diets, making it impossible to know whether the effect of Ca was on phytase or on P absorption (126). When the ratio of Ca to total P was increased from 1.2 to 1.8, pigs grew more slowly regardless of the presence of phytase, suggesting a specific effect due to Ca rather than an influence on phytase efficacy in releasing P (78). In trials conducted with P at requirement levels, P digestibility decreased slightly as the Ca:P ratio increased from 1.2 to 1.9 but was indifferent to phytase (79). Furthermore, urinary excretion of P was 5-fold higher at a Ca:P ratio of 1.2, due to the lack of Ca for deposition of P in bone. Nor was any effect of Ca on phytase efficacy found when animals were fed above the P requirement (127). A high Ca:P ratio therefore does not seem to have a direct effect on phytase efficacy in releasing P but rather on P absorption and retention, possibly going so far as to cause a P deficiency and ultimately poorer growth regardless of the presence of phytase (18, 79).

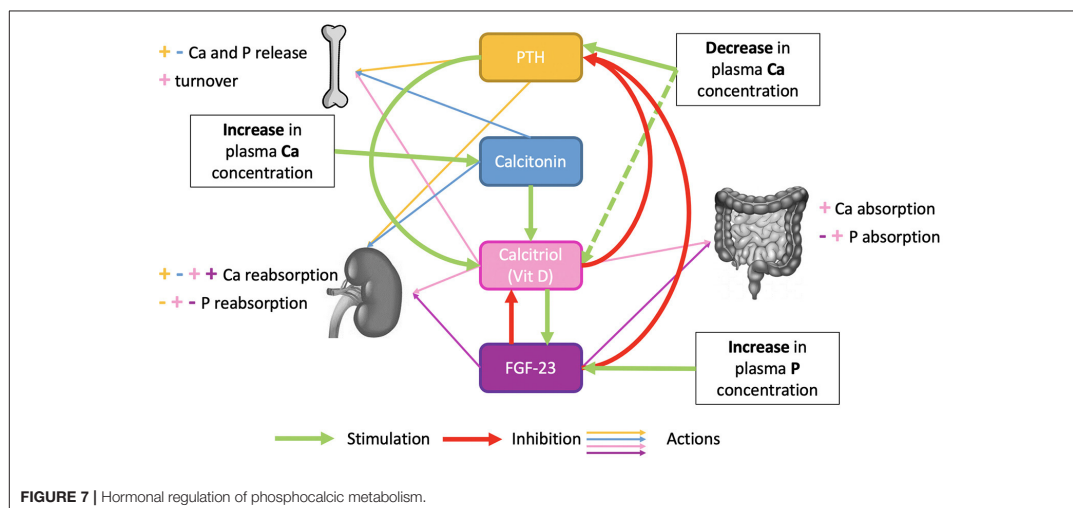
4.3. Depletion–Repletion Strategy

Animals have a survival strategy to overcome some mineral deficiencies by enhancing digestion and increasing the efficiency of utilization of the deficient nutrient (128). In several species, dietary restriction of Ca and P results in increased intestinal absorption, renal reabsorption, and deposition and mobilization in bone tissue (1). The effects of dietary Ca restriction and recovery processes on bone metabolism were studied decades ago in rats (129–131) and humans (132). The findings suggest that bone has ways of replenishing losses due to the use of mineral reserves and that parathyroid hormone and vitamin D play a role in the mechanisms. Bone accretion, intestinal absorption, and renal reabsorption of minerals are under hormonal regulations described in Figure 7.

The Ca depletion–repletion strategy is already used to prime dairy cows for high Ca demand during early lactation (133) and to prevent milk fever. By feeding a Ca-deficient ration for a few weeks before the start of lactation, regulatory mechanisms that maintain blood Ca levels (increased intestinal absorption and renal reabsorption) are activated (133, 134). A few days before calving, when the demand for Ca becomes very high, the cows then receive more Ca (134), and the shortfall between the requirement and Ca absorbed is smaller because of the effect of priming on parathyroid hormone. The animal is also better prepared to draw upon bone Ca as needed to maintain blood Ca levels and thus prevent milk fever. Similar regulatory mechanisms allow maintenance of P levels, and these can be exploited to increase dietary P utilization in growing animals and hence the sustainability of livestock farms from the environmental perspective. The idea underlying the depletion–repletion strategy is therefore to trigger regulatory mechanisms during the depletion phase to induce an increase in P utilization efficiency without affecting growth performance (1). In the case of P and Ca, the mineral content of the body or of a specific bone is monitored using X-ray absorptiometry [DXA, (135)]. During depletion in growing pigs, body bone mineral content continues to increase, but bone accretion is decreased compared to control pigs, leading to reduced bone mineral content.

When P supply is intentionally below the estimated requirement of the animals, the level of Ca is generally decreased at the same time to avoid the deleterious effects of a high digestible Ca:P ratio on P absorption. When animals thus primed are fed the repletion diet, which provides P at least at the requirement level, the deficit overcome. This allows an overall reduction in dietary P intake during the rearing phase. Depletion–repletion studies of growing animals such as pigs (8, 10, 136) and chickens (137–141) led to effectively increasing P utilization and limiting excretion without compromising animal well-being and performance. Some authors (9, 142) have focused on improvements to bone health; these studies have led to better understanding of the deleterious effects of short-term dietary Ca deficits during growth on long-term bone mineralization. The main trials performed with pigs are summarized in Table 3.

When Ca is deficient, the Ca regulation calls for parathyroid hormone, which is a hypercalcemic hormone that increases dietary Ca utilization, but with a concomitant hypophosphoremic effect due to renal excretion of P (144).



Ca deficiency must therefore be avoided. In growing pigs, it has been found to reduce the expression of genes related to P reabsorption in the kidney, favoring P excretion in urine (145). P depletion in the range of 30–40% and slightly lower for Ca induces demineralization of the same order in the whole body and vertebrae as measured by DXA (Table 3). The trial conducted by Aiyangar et al. (9) shows greater demineralization with a higher Ca deficiency. The metacarpus appears to demineralize less (5–10%) than the whole body or vertebrae (10), whereas the femur responds like the whole body. Bone reserve depletion measured thus depends primarily on the degree of dietary depletion and on the bone region studied.

Several studies have shown that this strategy works and increases bone mineral content (BMC) gains and digestible P utilization when animals are fed a repletion diet (at requirement or above). The gain of BMC in L2 to L4 vertebrae in depleted animals exceeded those in non-depleted control pigs by 56% during a first 28-day repletion phase and 15% during a second repletion of the same length (8) and by 29% after a 28-day repletion and 11% after a 56-day repletion in another study (Figure 8; 136). The corresponding increases in digestible P utilization estimated as deposition vs. intake were 20–50% with bone deficit recovery in 28–56 days for the whole body and in 28 days for vertebrae. The shorter time for vertebrae could be due to their high percentage of trabecular tissue, which is more sensitive than cortical tissue to mineral deficiencies (146). Furthermore, in pigs, bone mineralization is faster in the trunk from 3 to 30 kg of BW than in other parts of the skeleton (147). In a study using the common dosage of 750 FTU/kg without phosphate, thus 40% below the requirement, the deficit was recovered in 27 days on the repletion diet with a 47% increase in whole body BMC gain (143). Overall, the depletion–repletion strategy reduced dietary phosphate use and P release by about 40%. In contrast, the

repletion diet has failed to restore bone mineralization in at least two porcine studies (9, 142).

Phosphocalcic regulations occur in the gut, kidney, and bone (32, 148). Ca absorption may increase by 27% upon repletion compared to control animals receiving the same feed (8). Osteocalcin, derived from newly synthesized bone and thus an indicator of osteoblastic activity and hence increased bone accretion (149), has been found to increase during the repletion phase (10). The physiological mechanisms underlying animal responses to the depletion–repletion strategy remain poorly understood. It, nevertheless, appears that adequate bone mineralization and growth performance can be achieved at decreased P intake and excretion through improved P utilization.

5. MITIGATION STRATEGIES: COMPARISON AND PERSPECTIVES

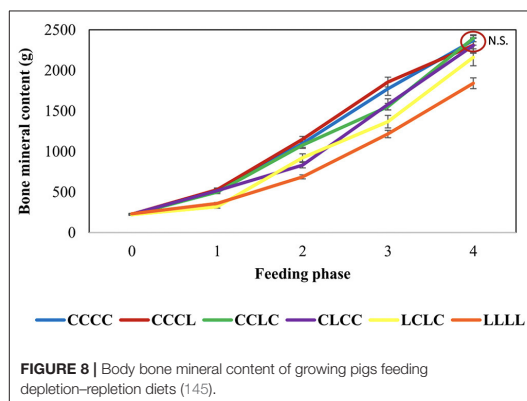
The mitigation of the environmental footprint of P in pig production both refers to the optimization of the use of phosphates, which are a non-renewable resource that must be extracted and transported, and to the minimization of its excretion especially in regions with high production density. Some strategies of mitigation have been proposed in the previous sections.

The potential for decreasing P excretion with phytase is well known (18). Its potential depends mainly on a precise nutritional matrix. First, a precise estimation and utilization of the P matrix is crucial. The Ca matrix has recently been shown to be of great importance because, on the one hand, an excess of soluble Ca can decrease the P digestibility (78) and, on the other hand, in case of Ca deficiency, the P is not retained and is excreted in the urine (79). In recent trial with microbial phytases (500 FTU), Lagos et al. (150) showed a drop of 37% in the total P excretion,

TABLE 3 | Effect of depletion–repletion strategy on bone mineralization of growing pigs.

Article ^a	Measurement	Phase	Sequence ^b	Depletion period								Repletion period									
				BW, kg	p-value ^c	Days ^d	P ^e , %	Ca ^e , %	Bone ^e , %	p-value ^c	Bone accretion ^f , %	p-value ^c	Sequence ^b	Days ^d	BW, kg	p-value ^c	Bone ^e , %	p-value ^c	Bone accretion ^f , %	p-value ^c	
1	BMC total body (DXA)	1	L	34	ns	28	-31	-39	-34	<0.001	-62	<0.001									
		2	CL	67		28	-42	-22	-25		-48		LC	28	64	0.03	-17	<0.001	+2	ns	
		3	LL	66	ns	56	-42	-22	-25	<0.001	-45	<0.001									
		4	CCL	102	ns	28	-34	-13	-14	0.002	-31	<0.001	CLC	28	100	ns	-13	0.006	+8	ns	
2	BMC of the L2 to L4 vertebrae	1	LLL	100		84	-34	-13	-33		-23		CLCC	56	129		-3		+11		
		2											CCLC	28	134	ns	+1	ns	+29	<0.001	
		3	Low	46	ns	28	-40	-30	-29	<0.001	-53		Low-Con	28	70	<0.01	-9	0.007	+17	0.005	
		4	Con-Low	72		28	-40	-46	-24		-36	<0.001									
3	Ash of the 3 rd and 4 th metacarpus	1	Con-Con-Low	104		28	-40	-33	-2		-18		Low-Con-Con	56	99		-1		+15		
		2	Con-Low-Low	101		56	-40	-33	-16		+1		Low-Low-Con	28	103	ns	-7	ns	+56	<0.001	
		3	Low-Low-Low	106	ns	84	-40	-33	-18	<0.001	0	ns	Low-Low-Con	28	103	ns	-7	ns			
		4																			
4	BMC total body (DXA)	1	L	48	<0.001	59	-47	-29	-9	<0.05			LH	72	99	ns	-1	ns			
		2	LL	91	<0.05	131	-45	-30	-7	<0.05			LH	72	99	ns	-1	ns			
		3	HL	100	ns	72	-45	-30	-1	ns			LH	72	99	ns	-1	ns			
5	Femur ash	1	L			28		-54	-66	<0.01											
		2	LL	71		43	-54	-62	<0.01	-60	<0.01	LH	43					+3			
		3	HL			43		-54		-59	<0.01										
		4	DD-	12	ns	10	-60	-53	-19	<0.01			DD- HCaPhyt+	25	21		1				
6	BMC total body (DXA)	1	DD+ HCaPhyt-	21		25	-32	0	-10				Phyt-Phyt	27	108	ns	+3	ns	+47	<0.05	
		2	DD+ LCaPhyt-	21		25	-32	-37	-7				Phyt-Phyt-Phyt	55	130	ns	+7	ns	+4	ns	
		3	DD- LCaPhyt+	21		35	0	-34	-1												
		4	DD- HCaPhyt-	21		35	-32	0	-17												
7	BMC total body (DXA)	1	DD- LCaPhyt-	21		35	-32	-37	-19												
		2																			
		3	Phyt	71	<0.05	39	-40	-40	-17	<0.001	-23	<0.01									
		4																			

^aArticle 1 : Gonzalo et al. (136), article 2 : Létourneau-Montminy et al. (8), article 3 : Varley et al. (10), article 4 : Alyangar et al. (9), article 5 : Létourneau-Montminy et al. (73), article 6 : Lautrou et al. (143).^bSequences of depletion and repletion as named in the original articles.^cp-value of the statistical analysis of the control vs. the studied group, for the variable of the previous column.^dDuration of the depletion or repletion.^eP or Ca depletion against the control.^fDifference of the state of the bone at the end of the phase between the control vs. the studied group, according to the measurement.^gDifference of the bone accretion measurement between the control and the studied group.



and a reduction of 6.1 g/kg monocalcium phosphate supply, for 60 kg BW pigs. Besides, Almeida and Stein (55) showed that the total P excretion decreases up to 51% with 685 FTU at 15 kg of BW, and monocalcium phosphate supply is reduced up to 8 g/kg.

The depletion-repletion strategy also led to a decrease of the phosphate input and the P excretion. In Gonzalo et al. (136)'s trial, a depletion period of 28 days (L) resulted in a decrease of P supply from 8 to 12%, and 2 separate depletion periods of 28 days (LCLC, C being a 28 days phase of feeding control diet) resulted in a reduction of 12% of P input. The excretion of P in the CLCC, CCLC, and LCLC groups decreased of 15, 13, and 16%, respectively, compared to the control. The decrease of P excretion was greater than the decrease of P input thanks to animals utilizing P more efficiently during the depletion and the repletion periods. With P total collection of feces and urine, Létourneau-Montminy et al. (8) showed that a depletion of 56 days can lead to a P excretion decrease of 19% with a diminution of P intake of 23%. As seen previously, few authors tested depletion-repletion strategies on growing pigs and the results differ in terms of bone mineralization compensation (145). There is a lack of data to precisely defined an ideal strategy of depletion repletion (depletion duration, age, intensity). The study of underlying mechanisms, such as hormonal regulations, will certainly help to reach this objective to reduce phosphate input without compromising bone mineralization and to apply this strategy on farm. Nevertheless, a reduction of 15–20% of both phosphate use and P excretion may be achieved with depletion-repletion strategy.

The strategy of depletion-repletion can also be combined with phytase. Lautrou et al. (143) tried to evaluate the effect of a zero phosphate diet on the growth of pigs and the environment. The use of phytase did not meet the full extent of the P requirements for pigs during the first growing phase of 39 days, but phytase

provided enough P during the 2 next phases. This strategy led to a drop of 66% in P excretion during the 2 first phases (the data are not available for the last one), and a reduction in monocalcium phosphate supply of 18.71, 9.52, and 7.17 g/kg in Phases 1, 2, and 3, respectively. This trial showed that there is an opportunity to feed growing pigs from 30 to 130 kg without adding any mineral phosphates. This success has to be confirmed and always requires a well-defined phytase matrix, particularly to mitigate the risks associated with the depletion phase.

In a simulation, Pomar et al. (151) showed that precision feeding, a strategy in development that allow to feed pigs with diets tailored daily to each individual's nutrient requirements, could reduce P excretion by 38%. A recent study compared the P excretion of pigs under conventional or precision feeding (152). The individual and daily feeding system (based on estimated lysine requirement) led to a decrease of 27% in P excretion compared to the group phase feeding system. In this trial, phytase was used but not compared with a control without phytase. The combination of precision feeding with phytase and a depletion-repletion strategy has not been tested yet, but after the synergy observed with the phytase and depletion-repletion strategy, combining these 3 methods seems a promising strategy that could lead to an even greater reduction of P excretion.

6. CONCLUSIONS

This review has shown that it is still possible to improve P utilization in swine and to improve the sustainability of the industry by mitigating phosphorus' impact on the environment. The first step is to precisely estimate the P and Ca content of feedstuffs and each animal's total diet. The second step is to use a robust multicriteria modeling approach to establish animal requirements. The new generation of phytases may provide a strategy to increase P utilization by pigs by providing a precise estimation of the equivalences and interfering factors and maximizing the solubility of phytates. A depletion-repletion strategy to prime animals to make them more efficient is also promising, but still requires testing to refine it and better understand the underlying mechanisms. Finally, precision feeding, a strategy in development that permits feeding pigs with diets that are tailored daily to each individual's nutrient requirements, shows possibilities to reduce more P excretion, and will undoubtedly be employed once the P requirements will be well defined by a robust modeling approach.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

ML wrote the original draft. AN, J-YD, CP, PS, and M-PL reviewed the article and add new ideas and participate to improve the structure of the document. All authors contributed to the article and approved the submitted version.

REFERENCES

- Suttle NF. *Mineral nutrition of livestock*, 4th ed, Suttle N, editor. Wallingford: CABI (2010). Available online at: <http://www.cabi.org/cabbooks/ebook/20103291114>
- Van Enk RJ, Acera LK, Schuiling RD, Ehlert P, De Wilt JG, De Vries CK, et al. *The Phosphate Balance: Current Developments and Future Outlook*. (2011). Available online at: http://www.innovatienetwerk.org/sitemanager/downloadattachment.php?id=TnV9h_IU2899_OkhjHHC1
- Heckenmüller M, Narita D, Klepper G. Global availability of phosphorus and its implications for global food supply: An economic overview. Kiel Working Paper, No. 1897, Kiel Institute for the World Economy (IfW), Kiel (2014).
- Yang XE, Wu X, Hao HL, He ZL. Mechanisms and assessment of water eutrophication. *J Zhejiang Univ.* (2008) 9:197–209. doi: 10.1631/jzus.B0710626
- Crenshaw TD. Calcium, phosphorus, vitamin d, and vitamin k in swine nutrition. In: Lewis AJ, Southern LL, editors. *Swine Nutrition*, 2nd ed. New York, NY: CRC Press (2001). p. 187–212.
- Heaney RP. Phosphorus nutrition and the treatment of osteoporosis. *Mayo Clin Proc.* (2004) 79:91–97. doi: 10.4065/79.1.91
- Selle PH, Cowieson AJ, Ravindran V. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Sci.* (2009) 124:126–41. doi: 10.1016/j.livsci.2009.01.006
- Létoirneau-Montminy MP, Pomar C, Lovatto PA. Apparent total tract digestibility of dietary calcium and phosphorus and their efficiency in bone mineral retention are affected by body mineral status in growing pigs. *J Anim Sci.* (2014) 92:3914–24. doi: 10.2527/jas.2013-7320
- Aiyangar AK, Au AG, Crenshaw TD, Ploeg HL. Recovery of bone strength in young pigs from an induced short-term dietary calcium deficit followed by a calcium replete diet. *Med Eng Phys.* (2010) 32:1116–23. doi: 10.1016/j.medengphys.2010.08.001
- Varley PF, Sweeney T, Ryan MT, O'Doherty JV. The effect of phosphorus restriction during the weaner-grower phase on compensatory growth, serum osteocalcin and bone mineralization in gilts. *Livestock Sci.* (2011) 135:282–8. doi: 10.1016/j.livsci.2010.07.025
- Létoirneau-Montminy MP, Narcy A, Dourmad JY, Crenshaw TD, Pomar C. Modeling the metabolic fate of dietary phosphorus and calcium and the dynamics of body ash content in growing pigs. *J Anim Sci.* (2015) 93:1200–17. doi: 10.2527/jas.2014-8519
- Lautrou M, Pomar C, Dourmad JY, Narcy A, Schmidely P, Létoirneau-Montminy MP. Phosphorus and calcium requirements for bone mineralisation of growing pigs predicted by mechanistic modelling. *Animal.* (2020) 14:s313–22. doi: 10.1017/S1751731120001627
- Pomar C, Pomar J, Rivest J, Cloutier L, Létoirneau-Montminy MP, Andretta I, et al. Estimating real-time individual amino acid requirements in growing-finishing pigs: towards a new definition of nutrient requirements in growing-finishing pigs? In: Sakomura NK, Gous R, Kyriazakis I, Hauschild L, editors. *Nutritional Modelling for Pigs and Poultry*. Wallingford, UK: CAB International (2015). p. 157–74. doi: 10.1079/9781780644110.0157
- Humer E, Schwarz C, Schedle K. Phytate in pig and poultry nutrition. *J Anim Physiol Anim Nutr.* (2015) 99:605–25. doi: 10.1111/jpn.12258
- Pointillart A. Phytates, phytases : leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRAE Prod Anim.* (1994) 7:29–39. doi: 10.20870/productions-animales.1994.7.1.4155
- Pontoppidan K, Pettersson D, Sandberg AS. The type of thermal feed treatment influences the inositol phosphate composition. *Anim Feed Sci Technol.* (2007) 132:137–47. doi: 10.1016/j.anifeeds.2006.03.008
- Feil B. Phytic acid. *J New Seeds.* (2001) 3:1–35. doi: 10.1300/J153v03n03_01
- Selle PH, Ravindran V. Phytate-degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Sci.* (2008) 113:99–122. doi: 10.1016/j.livsci.2007.05.014
- Sauvant D, Perez JM, Tran G. *Tables INRA-AFZ de Composition et de Valeur Nutritive des matières premières destinées aux animaux d'élevage: 2ème édition*. Versailles: INRA Editi Edition (2004).
- NRC. *Nutrient Requirements of Swine*, 11th Rev. Washington, DC: National Academies Press (2012).
- Wise A. Dietary factors determining the biological activities of phytase. *Nutr Abstr Rev.* (1983) 53:791–806.
- Angel R, Tamim NM, Applegate TJ, Dhandu AS, Ellestad LE. Phytic acid chemistry: influence on phytin-phosphorus availability and phytase efficacy. *J Appl Poultry Res.* (2002) 11:471–80. doi: 10.1093/japr/11.4.471
- Vohra P, Gray GA, Kratzer FH. Phytic acid metal complexes. *Proce Soc Exp Biol Med.* (1965) 120:447. doi: 10.3181/00379727-120-30559
- Vasca E, Materazzi S, Caruso T, Milano O, Fontanella C, Manfredi C. Complex formation between phytic acid and divalent metal ions: a solution equilibria and solid state investigation. *Anal Bioanal Chem.* (2002) 374:173–8. doi: 10.1007/s00216-002-1469-6
- Taylor TC. The availability of the calcium and phosphorus of plant materials for animals. *Proc Nutr Soc.* (1965) 24:105–12. doi: 10.1079/PNS19650017
- O'Dell BL, De Boland A. Complexation of phytate with proteins and cations in corn germ and oil seed meals. *J Agric Food Chem.* (1976) 24:804–8. doi: 10.1021/jf60206a034
- Greiner R, Konietzny U. Update on characteristics of commercial phytases. *Int Phytase Summit.* (2012) 96–107.
- Bleukx W. Production et qualité nutritionnelle des phosphates alimentaires. *Prod Anim.* (2005) 18:169–73. doi: 10.20870/productions-animales.2005.18.3.3521
- Viljoen J. Quality of feed phosphate supplements for animal nutrition. *S Afr J Anim Sci.* (2001) 2:13–19.
- De Groote G, Lippens M, Jongbloed AW, Meschy F. *Study on the Bioavailability of Major and Trace Minerals*. Technical report (2002).
- IFP. *Evaluating Feed Phosphates*. (2021). Available online at: <http://www.feedphosphates.org/index.php/guides/11-guides/13-evaluating-feed-phosphates>
- González-Vega JC, Stein HH. - Invited review - calcium digestibility and metabolism in pigs. *Asian Aust J Anim Sci.* (2014) 27:1–9. doi: 10.5713/ajas.2014.r.01
- Ross RD, Cromwell GL, Stahly TS. Effects of source and particle size on the biological availability of calcium in calcium supplements for growing pigs. *J Anim Sci.* (1984) 59:125–34. doi: 10.2527/jas1984.591125x
- Merriman LA, Stein HH. Particle size of calcium carbonate does not affect apparent and standardized total tract digestibility of calcium, retention of calcium, or growth performance of growing pigs. *J Anim Sci.* (2016) 94:3844–50. doi: 10.2527/jas.2015-0252
- Walk CL, Addo-Chidie EK, Bedford MR, Adeola O. Evaluation of a highly soluble calcium source and phytase in the diets of broiler chickens. *Poultry Sci.* (2012) 91:2255–63. doi: 10.3382/ps.2012-02224
- Schlegel P, Gutzwiller A. Effect of dietary calcium level and source on mineral utilisation by piglets fed diets containing exogenous phytase. *J Anim Physiol Anim Nutr.* (2017) 101:e165–74. doi: 10.1111/jpn.12582
- González-Vega JC, Walk CL, Stein HH. Effects of microbial phytase on apparent and standardized total tract digestibility of calcium in calcium supplements fed to growing pigs. *J Anim Sci.* (2015) 93:2255–64. doi: 10.2527/jas.2014-8215
- González-Vega JC, Walk CL, Liu Y, Stein HH. The site of net absorption of Ca from the intestinal tract of growing pigs and effect of phytic acid, Ca level and Ca source on Ca digestibility. *Arch Anim Nutr.* (2014) 68:126–42. doi: 10.1080/1745039X.2014.892249
- Garcia RA, Rosentrater KA, Flores RA. Characteristics of North American meat and bone meal relevant to the development of non-feed applications. *Appl Eng Agric.* (2006) 22:729–36. doi: 10.13031/2013.21989
- Sulabo RC, Stein HH. Digestibility of phosphorus and calcium in meat and bone meal fed to growing pigs. *J Anim Sci.* (2013) 91:1285–94. doi: 10.2527/jas.2011-4632
- Perez JM, Bories G, Aumaitre A, Barrier-Guillot B, Delaveau A, Gueguen L, et al. Conséquences en élevage et pour le consommateur du remplacement des farines et des graisses animales. *Prod Anim.* (2002) 15:87–96. doi: 10.20870/productions-animales.2002.15.2.3689
- Traylor SL, Cromwell GL, Lindemann MD. Bioavailability of phosphorus in meat and bone meal for swine. *J Anim Sci.* (2005) 83:1054–61. doi: 10.2527/2005.8351054x
- Merriman LA, Walk CL, Stein HH. The effect of microbial phytase on the apparent and standardized total tract digestibility of calcium in feed ingredients of animal origin. *J Anim Sci.* (2016) 94(E-Suppl):110. doi: 10.2527/msas2016-240

44. Jongbloed AW, Kemme PA. Apparent digestible phosphorus in the feeding of pigs in relation to availability, requirement and environment. 1. Digestible phosphorus in feedstuffs from plant and animal origin. *Neth J Agric Sci.* (1990). 38:567–575. doi: 10.18174/njas.v38i3B.16579
45. Van Harn J, Spek JW, Van Vuure CA, Van Krimpen MM. Determination of pre-cecal phosphorus digestibility of inorganic phosphates and bone meal products in broilers. *Poultry Sci.* (2017) 96:1334–40. doi: 10.3382/ps/pew458
46. Lee SA, Lagos LV, Stein HH. Digestible calcium and digestible phosphorus in swine diets. In: Smith JH, Eastwood L, editors. *Proceedings of London Swine Conference.* (2019). p. 63–72.
47. NRC. *Nutrient Requirements of Swine.* Washington, DC: National Academies Press (1998).
48. Petersen GL, Pedersen C, Lindemann MD, Stein HH. Relative bioavailability of phosphorus in inorganic phosphorus sources fed to growing pigs. *J Anim Sci.* (2011) 89:460–6. doi: 10.2527/jas.2009-2161
49. She Y, Li D, Zhang S. Methodological aspects of determining phosphorus digestibility in swine: a review. *Anim Nutr.* (2017) 3:97–102. doi: 10.1016/j.aninu.2017.02.003
50. CVB Centraal Veevoederbureau. *Veevoedertabel.* Lelystad (2000).
51. Liu J, Bollinger DW, Ledoux DR, Veum TL. Effects of dietary calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in the small intestine, cecum, and colon of pigs. *J Anim Sci.* (2000) 78:106–9. doi: 10.2527/2000.781106x
52. Bohlke RA, Thaler RC, Stein HH. Calcium, phosphorus, and amino acid digestibility in low-phytate corn, normal corn, and soybean meal by growing pigs. *J Anim Sci.* (2005) 83:2396–403. doi: 10.2527/2005.83102396x
53. Dilger RN, Adeola O. Estimation of true phosphorus digestibility and endogenous phosphorus loss in growing pigs fed conventional and low-phytate soybean meals. *J Anim Sci.* (2006) 84:627–34. doi: 10.2527/2006.843627x
54. Stein HH, Fuller MF, Moughan PJ, Sève B, Mosenthin R, Jansman AJM, et al. Definition of apparent, true, and standardized ileal digestibility of amino acids in pigs. *Livestock Sci.* (2007) 109:282–5. doi: 10.1016/j.livsci.2007.01.019
55. Almeida FN, Stein H. Performance and phosphorus balance of pigs fed diets formulated on the basis of values for standardized total tract digestibility of phosphorus. *J Anim Sci.* (2010) 88:2968–77. doi: 10.2527/jas.2009-2285
56. Fan MZ, Sauer WC. Additivity of apparent ileal and fecal phosphorus digestibility values measured in single feed ingredients for growing-finishing pigs. *Can J Anim Sci.* (2002) 82:183–91. doi: 10.4141/A01-072
57. Fan MZ, Archbold T, Sauer WC, Lackeyram D, Rideout T, Gao Y, et al. Novel methodology allows simultaneous measurement of true phosphorus digestibility and the gastrointestinal endogenous phosphorus outputs in studies with pigs. *J Nutr.* (2001) 131:2388–96. doi: 10.1093/jn/131.9.2388
58. Petersen GL, Stein HH. Novel procedure for estimating endogenous losses and measurement of apparent and true digestibility of phosphorus by growing pigs. *J Anim Sci.* (2006) 84:2126–32. doi: 10.2527/jas.2005-479
59. González-Vega JC, Walk CL, Stein HH. Effect of phytate, microbial phytase, fiber, and soybean oil on calculated values for apparent and standardized total tract digestibility of calcium and apparent total tract digestibility of phosphorus in fish meal fed to growing pigs. *J Anim Sci.* (2015) 93:4808. doi: 10.2527/jas.2015-8992
60. Liu JB, Yan HL, Cao SC, Liu J, Zhang HF. Effect of feed intake level on the determination of apparent and standardized total tract digestibility of phosphorus for growing pigs. *Anim Feed Sci Technol.* (2018) 246:137–43. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2018.10.012
61. Anwar MN, Ravindran V, Morel PCH, Ravindran G, Cowieson AJ. Measurement of true ileal calcium digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. *Poultry Sci.* (2016) 95:70–6. doi: 10.3382/ps/pev319
62. Mutucumarana RK, Ravindran V. Measurement of true ileal phosphorus digestibility in meat and bone meal for broiler chickens using the direct method. *Anim Feed Sci Technol.* (2016) 219:249–56. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.06.025
63. Merriman LA. *Factors Affecting the Digestibility of Calcium in Feed Ingredients By Pigs.* Univ. Illinois (2016).
64. Zhang F, Adeola O. Techniques for evaluating digestibility of energy, amino acids, phosphorus, and calcium in feed ingredients for pigs. *Anim Nutr.* (2017) 3:344–52. doi: 10.1016/j.aninu.2017.06.008
65. Bikker P, Blok MC. *Phosphorus and Calcium Requirements of Growing Pigs and Sows.* Technical Report (2017).
66. González-Vega JC, Walk CL, Liu Y, Stein HH. Determination of endogenous intestinal losses of calcium and true total tract digestibility of calcium in canola meal fed to growing pigs. *J Anim Sci.* (2013) 91:4807–16. doi: 10.2527/jas.2013-6410
67. Liu JB, Cao SC, Chen L, Zhang HF. Effect of dietary phosphorus level on the determination of standardized and true total tract digestibility of phosphorus for growing pigs. *Anim Feed Sci Technol.* (2016) 215:117–23. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.02.022
68. Stein HH, Adeola O, Cromwell GL, Kim SW, Mahan DC, Miller PS. Concentration of dietary calcium supplied by calcium carbonate does not affect the apparent total tract digestibility of calcium, but decreases digestibility of phosphorus by growing pigs. *J Anim Sci.* (2011) 89:2139–44. doi: 10.2527/jas.2010-3522
69. Younes H, Demigné C, Rémésy C. Acidic fermentation in the caecum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *Br J Nutr.* (1996) 75:301–14. doi: 10.1079/BJN19960132
70. Rodehutsord M. Determination of phosphorus availability in poultry. *Worlds Poultry Sci J.* (2013) 69:687–98. doi: 10.1017/S0043933913000688
71. Létourneau-Montminy MP, Narcy A, Lescoat P, Magnin M, Bernier JF, Sauvant D, et al. Modeling the fate of dietary phosphorus in the digestive tract of growing pigs. *J Anim Sci.* (2011) 89:3596–611. doi: 10.2527/jas.2010-3397
72. Létourneau-Montminy MP, Jondreville C, Sauvant D, Narcy A. Meta-analysis of phosphorus utilization by growing pigs: effect of dietary phosphorus, calcium and exogenous phytase. *Animal.* (2012) 6:1590–600. doi: 10.1017/S1751731112000560
73. Sauvant D, Schmidely P, Daudin JJ, St-Pierre NR. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal.* (2008) 2:1203–14. doi: 10.1017/S1751731108002280
74. Sauvant D, Létourneau-Montminy MP, Schmidely P, Boval M, Loncke C, Daniel JB. Review: use and misuse of meta-analysis in animal science. *Animal.* (2020) 14:s207–22. doi: 10.1017/S1751731120001688
75. Jongbloed AW, Mroz Z, Kemme PA. The effect of supplementary *Aspergillus niger* phytase in diets for pigs on concentration and apparent digestibility of dry matter, total phosphorus, and phytic acid in different sections of the alimentary tract. *J Anim Sci.* (1992) 70:1159–68. doi: 10.2527/1992.70.41159x
76. Rapp C, Lantzsich HJ, 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 (IP6) occurrence of hydrolysis products (IP5, IP4, IP3 and IP2). *J Anim Physiol Anim Nutr.* (2001) 85:420–30. doi: 10.1046/j.1439-0396.2001.00337.x
77. Kemme PA, Schlemmer U, Mroz Z, Jongbloed AW. Monitoring the stepwise phytate degradation in the upper gastrointestinal tract of pigs. *J Sci Food Agric.* (2006) 86:612–22. doi: 10.1002/jsfa.2380
78. Adeola O, Olukosi OA, Jendza JA, Dilger RN, Bedford MR. Response of growing pigs to *Peniophora lycii*- and *Escherichia coli*-derived phytases or varying ratios of calcium to total phosphorus. *Anim Sci.* (2006) 82:637–44. doi: 10.1079/ASC200676
79. Létourneau-Montminy MP, Narcy A, Magnin M, Sauvant D, Bernier JF, Pomar C, et al. Effect of reduced dietary calcium concentration and phytase supplementation on calcium and phosphorus utilization in weanling pigs with modified mineral status. *J Anim Sci.* (2010) 88:1706–17. doi: 10.2527/jas.2008-1615
80. NRC. *Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition.* Washington, DC: National Academies Press (1994).
81. FAO, WHO. *Human Vitamin and Mineral Requirements.* Human Vitamin and Mineral Requirements (2001). p. 303.
82. Baker DH. Problems and pitfalls in animal experiments designed to establish dietary requirements for essential nutrients. *J Nutr.* (1986) 116:2339–49. doi: 10.1093/jn/116.12.2339
83. Sauveur B, Perez JM. Alimentation minérale des animaux monogastriques. In: *L'alimentation des Animaux Monogastriques: porc, lapin, volailles.* 2e ed. Paris: INRA. (1989). p. 23–31.
84. Jondreville C, Dourmad JY. Phosphorus in pig nutrition. *Prod Anim.* (2006) 18:183–92. doi: 10.20870/productions-animales.2005.18.3.3523

85. Guéguen L, Perez JM. A re-evaluation of recommended dietary allowances of calcium and phosphorus for pigs. *Proc Nutr Soc.* (1981) 40:273–8. doi: 10.1079/PNS19810043
86. Jongbloed AW, Everts H, Kemme PA, Mroz Z. Quantification of absorbability and requirements of macroelements. In: Kyriazakis I, editor. *Quantitative Biology of the pig*. Wallingford, UK: CAB International (1999). p. 275–98.
87. Gauthier R, Largouët C, Gaillard C, Cloutier L, Guay F, Dourmad JY. Dynamic modeling of nutrient use and individual requirements of lactating sows. *J Anim Sci.* (2019) 97:2822–36. doi: 10.1093/jas/skz167
88. Gaillard C, Gauthier R, Cloutier L, Dourmad JY. Exploration of individual variability to better predict the nutrient requirements of gestating sows. *J Anim Sci.* (2019) 97:4934–45. doi: 10.1093/jas/skz320
89. Couture C, Chiasson R, Pomar C, Letourneau MP. Évolution de la teneur en protéine corporelle et du contenu minéral osseux des porcs charcutiers nourris avec différents niveaux de phosphore et calcium alimentaires. *J Rech Porcine.* (2018) 50:167–8.
90. Sauviant D, Grizard J. Bases d'un modèle décrivant la régulation du métabolisme du glucose de la chèvre en lactation. *Listing.* (1992) 41:115–6. doi: 10.1051/rnd:19920164
91. van Milgen J, Valancogne A, Dubois S, Dourmad JY, Sève B, Noblet J. InraPorc: a model and decision support tool for the nutrition of growing pigs. *Anim Feed Sci Technol.* (2008) 143:387–405. doi: 10.1016/j.anifeeds.2007.05.020
92. Lautrou M, Letourneau-Montminy MP, Schmidely P, Pomar C. Anatomical and chemical composition of growing pigs at different bodyweights. *Banff Pork Seminar.* (2021).
93. Alexander LS, Qu A, Cutler SA, Mahajan A, Lonergan SM, Rothschild MF, et al. Response to dietary phosphorus deficiency is affected by genetic background in growing pigs. *J Anim Sci.* (2008) 86:2585–95. doi: 10.2527/jas.2007-0692
94. Cloutier L, Pomar C, Letourneau Montminy MP, Bernier JF, Pomar J. Evaluation of a method estimating real-time individual lysine requirements in two lines of growing-finishing pigs. *Animal.* (2015) 9:561–8. doi: 10.1017/S1751731114003073
95. Dersjant-Li Y, Awati A, Schulze H, Partridge G. Phytase in non-ruminant animal nutrition: a critical review on phytase activities in the gastrointestinal tract and influencing factors. *J Sci Food Agric.* (2015) 95:878–96. doi: 10.1002/jsfa.6998
96. Greiner R, Konietzny U. Phytase for food application. *Food Technol Biotechnol.* (2006) 44:125–140.
97. Dersjant-Li Y, Hruby M, Evans C, Greiner R. A critical review of methods used to determine phosphorus and digestible amino acid matrices when using phytase in poultry and pig diets. *J Appl Anim Nutr.* (2019) 7:e2. doi: 10.1017/JAN.2019.1
98. Lei XG, Weaver JD, Mullaney E, Ullah AH, Azain MJ. Phytase, a new life for an "old" enzyme. *Ann Rev Anim Biosci.* (2013) 1:283–309. doi: 10.1146/annurev-animal-031412-103717
99. Augspurger NR, Weibel DM, Lei XG, Baker DH. Efficacy of an *E. coli* phytase expressed in yeast for releasing phytate-bound phosphorus in young chicks and pigs. *J Anim Sci.* (2003) 81:474–83. doi: 10.2527/2003.812474x
100. Vasudevan UM, Krishna S, Jalaja V, Pandey A. Microbial phytase: impact of advances in genetic engineering in revolutionizing its properties and applications. *Bioresource Technol.* (2017) 245:1790–9. doi: 10.1016/j.biortech.2017.05.060
101. van Dijck PWM, Selten GCM, Hempenius RA. On the safety of a new generation of DSM *Aspergillus niger* enzyme production strains. *Regul Toxicol Pharmacol.* (2003) 38:27–35. doi: 10.1016/S0273-2300(03)00049-7
102. Maenz DD, Engele-Schaan CM, Newkirk RW, Classen HL. The effect of minerals and mineral chelators on the formation of phytase-resistant and phytase-susceptible forms of phytic acid in solution and in a slurry of canola meal. *Anim Feed Sci Technol.* (1999) 81:177–92. doi: 10.1016/S0377-8401(99)00085-1
103. Adeola O, Cowieson AJ. BOARD-INVITED REVIEW: Opportunities and challenges in using exogenous enzymes to improve nonruminant animal production. *J Anim Sci.* (2011) 89:3189–218. doi: 10.2527/jas.2010-3715
104. Lei XG, Porres JM. Phytase enzymology, applications, and biotechnology. *Biotechnol Lett.* (2003) 25:1787–94. doi: 10.1023/A:1026224101580
105. Menezes-Blackburn D, Gabler S, Greiner R. Performance of seven commercial phytases in an in vitro simulation of poultry digestive tract. *J Agric Food Chem.* (2015) 63:6142–9. doi: 10.1021/acs.jafc.5b01996
106. Morales GA, Moyano FJ, Marquez L. In vitro assessment of the effects of phytate and phytase on nitrogen and phosphorus bioaccessibility within fish digestive tract. *Anim Feed Sci Technol.* (2011) 170:209–21. doi: 10.1016/j.anifeeds.2011.08.011
107. Christensen T, Mejldal R, Dersjant-li Y, Debicki-Garnier AM, Messenger B. Activité phytasique relative dans une gamme de pH allant résultats d'une étude in vitro comparant trois phytases. *J Rech Porcine.* (2019) 51:1134.
108. De Jong JA, Woodworth JC, DeRouchey JM, Goodband RD, Tokach MD, Dritz SS, et al. Stability of four commercial phytase products under increasing thermal conditioning temperatures. *Transl Anim Sci.* (2017) 1:255–60. doi: 10.2527/tas2017.0030
109. Eeckhout W, De Paepe M. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedstuffs. *Anim Feed Sci Technol.* (1994) 47:19–29. doi: 10.1016/0377-8401(94)90156-2
110. Kornegay ET. Digestion of phosphorus and other nutrients: the role of phytases and factors influencing their activity. In: Bedford MR, Partridge GG, editors. *Enzymes in Farm Animal Nutrition*. Wallingford, UK: CAB International (2001).
111. Garrett JB, Kretz KA, O'Donoghue E, Kerovuo J, Kim W, Barton NR, et al. Enhancing the thermal tolerance and gastric performance of a microbial phytase for use as a phosphate-mobilizing monogastric-feed supplement. *Appl Environ Microbiol.* (2004) 70:3041–6. doi: 10.1128/AEM.70.5.3041-3046.2004
112. Outchkourov N, Petkov S. Phytases for feed applications. In: Vogel A, May O, editors. *Industrial Enzyme Applications*. Weinheim: Wiley-VCH (2013). p. 255–86.
113. Champagne ET, Fisher MS. Binding differences of Zn(II) and Cu(II) ions with phytate. *J Inorg Biochem.* (1990) 38:217–23. doi: 10.1016/0162-0134(90)84014-G
114. Blavi L, Sola-Oriol D, Perez JF, Stein HH. Effects of zinc oxide and microbial phytase on digestibility of calcium and phosphorus in maize-based diets fed to growing pigs. *J Anim Sci.* (2017) 95:847–54. doi: 10.2527/jas2016.1149
115. Augspurger NR, Spencer JD, Weibel DM, Baker DH. Pharmacological zinc levels reduce the phosphorus-releasing efficacy of phytase in young pigs and chickens. *J Anim Sci.* (2004) 82:1732–9. doi: 10.2527/2004.8261732x
116. Pang Y, Applegate TJ. Effects of copper source and concentration on in vitro phytate phosphorus hydrolysis by phytase. *J Agric Food Chem.* (2006) 54:1792–6. doi: 10.1021/jf052053b
117. Ren P, Chen J, Wedekind K, Hancock D, Vázquez-A nón M. Interactive effects of zinc and copper sources and phytase on growth performance, mineral digestibility, bone mineral concentrations, oxidative status, and gut morphology in nursery pigs. *Transl Anim Sci.* (2020) 4:783–98. doi: 10.1093/tas/txaa083
118. Ren P, Chen J, Hancock D, Vázquez-A nón M. Interactive effects of copper sources and a high level of phytase in phosphorus-deficient diets on growth performance, nutrient digestibility, tissue mineral concentrations, and plasma parameters in nursery pigs. *Biol Trace Elem Res.* (2021) 199:4582–92. doi: 10.1007/s12011-021-02580-x
119. Richards JD, Zhao J, Harrell RJ, Atwell CA, Dibner JJ. Trace mineral nutrition in poultry and swine. *Asian Aust J Anim Sci.* (2010) 23:1527–34. doi: 10.5713/ajas.2010.r.07
120. Cheryan M, Rackis JJ. Phytic acid interactions in food systems. *Crit Rev Food Sci Nutr.* (1980) 13:297–335. doi: 10.1080/10408398009527293
121. Cowieson AJ, Wilcock P, Bedford MR. Super-dosing effects of phytase in poultry and other monogastrics. *Worlds Poultry Sci J.* (2011) 67:225–35. doi: 10.1017/S0043933911000250
122. Walk CL. The influence of calcium on phytase efficacy in non-ruminant animals. *Anim Prod Sci.* (2016) 56:1345. doi: 10.1071/AN15341
123. Lei XG, Ku PK, Miller ER, Yokoyama MT, Ullrey DE. Calcium level affects the efficacy of supplemental microbial phytase in corn-soybean meal diets of weanling pigs1. *J Anim Sci.* (1994) 72:139–43. doi: 10.2527/1994.721139x
124. Qian H, Kornegay ET, Conner DEJ. Adverse effects of wide calcium:phosphorus ratios on supplemental phytase efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. *J Anim Sci.* (1996) 74:1288–97. doi: 10.2527/1996.7461288x

125. Liu J, Bollinger DW, Ledoux DR, Veum TL. Lowering the dietary calcium to total phosphorus ratio increases phosphorus utilization in low-phosphorus corn-soybean meal diets supplemented with microbial phytase for growing-finishing pigs. *J Anim Sci.* (1998) 76:808–13. doi: 10.2527/1998.763808x
126. Driver JP, Pesti GM, Bakalli RI, Edwards HM. Effects of calcium and nonphytate phosphorus concentrations on phytase efficacy in broiler chicks. *Poultry Sci.* (2005) 84:1406–17. doi: 10.1093/ps/84.9.1406
127. Wu F, Tokach MD, Dritz SS, Woodworth JC, Derouchey JM, Goodband RD, et al. Effects of dietary calcium to phosphorus ratio and addition of phytase on growth performance of nursery pigs. *J Anim Sci.* (2018) 96:1825–37. doi: 10.1093/jas/sky101
128. Underwood EJ, Mertz W. Introduction. In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*. 5th rev. ed. New York, NY: Academic Press (1987). p. 1–19.
129. Stauffer M, Baylink D, Wergedal J, Rich C. Bone repletion in calcium deficient rats fed a high calcium diet. *Calcif Tissue Res.* (1972) 9:163–72. doi: 10.1007/BF02061954
130. Stauffer M, Baylink D, Wergedal J, Rich C. Decreased enhanced bone formation, mineralization, and enhanced resorption and in calcium-deficient rats. *Am J Physiol.* (1973) 225:163–72. doi: 10.1152/ajplegacy.1973.225.2.269
131. Drivdahl RH, Liu CC, Baylink DJ. Regulation of bone repletion in rats subjected to varying low-calcium stress. *Am J Physiol.* (1984) 246:R190–6. doi: 10.1152/ajpregu.1984.246.2.R190
132. Åkesson K, Lau KHW, Johnston P, Imperio E, Baylink DJ. Effects of short-term calcium depletion and repletion on biochemical markers of bone turnover in young adult women. *J Clin Endocrinol Metab.* (1998) 83:1921–7. doi: 10.1210/jc.83.6.1921
133. Goff JP. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. *Anim Feed Sci Technol.* (2006) 126:237–57. doi: 10.1016/j.anifeeds.2005.08.005
134. Friggens NC, Andersen JB, Larsen T, Aes O, Dewhurst RJ. Priming the dairy cow for lactation: a review of dry cow feeding strategies. *Anim Res.* (2004) 53:453–73. doi: 10.1051/animres:2004037
135. Kasper C, Schlegel P, Ruiz-Ascacibar I, Stoll P, Bee G. Accuracy of predicting chemical body composition of growing pigs using dual-energy X-ray absorptiometry. *bioRxiv.* (2020). 1–24. doi: 10.1101/2020.09.15.286153
136. Gonzalo E, Létourneau-Montminy MP, Narcy A, Bernier JF, Pomar C. Consequences of dietary calcium and phosphorus depletion and repletion feeding sequences on growth performance and body composition of growing pigs. *Animal.* (2018) 12:1165–73. doi: 10.1017/S1751731117002567
137. Yan F, Angel R, Ashwell C, Mitchell A, Christman M. Evaluation of the broiler's ability to adapt to an early moderate deficiency of phosphorus and calcium. *Poultry Sci.* (2005) 84:1232–41. doi: 10.1093/ps/84.8.1232
138. Ashwell CM, Angel R. Nutritional genomics: a practical approach by early life conditioning with dietary phosphorus. *Rev Brasileira de Zootecnia.* (2010) 39(Suppl. spe):268–78. doi: 10.1590/S1516-35982010001300030
139. Rousseau X, Valable AS, L'Étourneau-Montminy MP, Meme N, Godet E, Magnin M, et al. Metabolism and nutrition: adaptive response of broilers to dietary phosphorus and calcium restrictions. *Poultry Sci.* (2016) 95:2849–60. doi: 10.3382/ps/pew172
140. Valable AS, Narcy A, Duclos MJ, Pomar C, Page G, Nasir Z, et al. Effects of dietary calcium and phosphorus deficiency and subsequent recovery on broiler chicken growth performance and bone characteristics. *Animal.* (2018) 12:1555–63. doi: 10.1017/S1751731117003093
141. Valable AS, Létourneau-Montminy MP, Klein S, Lardic L, Lecompte F, Metayer-Coustard S, et al. Early-life conditioning strategies to reduce dietary phosphorus in broilers: underlying mechanisms. *J Nutr Sci.* (2020) 9:e28. doi: 10.1017/jns.2020.17
142. Ryan WF, Lynch PB, O'Doherty JV. Compensatory effect of dietary phosphorus on performance of growing pigs and development of bone mineral density assessed using dual energy X-ray absorptiometry. *Livestock Sci.* (2011) 138:89–95. doi: 10.1016/j.livsci.2010.12.006
143. Lautrou M, Pomar C, Schmidely P, Laval U, Mosar UMR, Paris-saclay U, et al. Effets d'une déplétion-réplétion en phosphore et calcium sur les performances et la minéralisation osseuse des porcs en croissance. *J Rech Porcine.* (2021) 53:163–8.
144. Nussey SS, Whitehead SA. *Endocrinology, An Integrated Approach*. Oxford, U.K: BIOS Scientific (2001).
145. Gonzalo E. *Consequences of a dietary phosphorus and calcium depletion and repletion strategy in growing-finishing pigs* (Ph.D. thesis) (2017).
146. Schanler RJ, Abrams SA, Sheng HP. Calcium and phosphorus deficiencies affect mineral distribution in neonatal miniature piglets. *Am J Clin Nutr.* (1991) 54:420–4. doi: 10.1093/ajcn/54.2.420
147. Mitchell AD, Scholz AM, Pursel VG. Total body and regional measurements of bone mineral content and bone mineral density in pigs by dual energy X-ray absorptiometry. *J Anim Sci.* (2001) 79:2594–2604. doi: 10.2527/2001.79102594x
148. Schröder B, Schlumbohm C, Kaune R, Breves G. Role of calbindin-D9k in buffering cytosolic free Ca²⁺ ions in pig duodenal enterocytes. *J Physiol.* (1996) 492:715–22. doi: 10.1113/jphysiol.1996.sp021340
149. Allen MJ. Biochemical markers of bone metabolism in animals: uses and limitations. *Vet Clin Pathol.* (2003) 32:101–13. doi: 10.1111/j.1939-165X.2003.tb00323.x
150. Lagos LV, Lee SA, Bedford MR, Stein HH. Formulation of diets for pigs based on a ratio between digestible calcium and digestible phosphorus results in reduced excretion of calcium in urine without affecting retention of calcium and phosphorus compared with formulation based on values for total. *J Anim Sci.* (2021) 99:1–7. doi: 10.1093/jas/skab138
151. Pomar C, Hauschild L, Zhang GH, Pomar J, Lovatto PA. Applying precision feeding techniques in growing-finishing pig operations. *Rev Brasileira de Zoot.* (2009) 38:226–37. doi: 10.1590/S1516-35982009001300023
152. Andretta I, Pomar C, Rivest J, Pomar J, Lovatto PA, Radünz Neto J. The impact of feeding growing-finishing pigs with daily tailored diets using precision feeding techniques on animal performance, nutrient utilization, and body and carcass composition. *J Anim Sci.* (2014) 92:3925–36. doi: 10.2527/jas.2014-7643

Conflict of Interest: The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Publisher's Note: All claims expressed in this article are solely those of the authors and do not necessarily represent those of their affiliated organizations, or those of the publisher, the editors and the reviewers. Any product that may be evaluated in this article, or claim that may be made by its manufacturer, is not guaranteed or endorsed by the publisher.

Copyright © 2021 Lautrou, Narcy, Dourmad, Pomar, Schmidely and Létourneau Montminy. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY). The use, distribution or reproduction in other forums is permitted, provided the original author(s) and the copyright owner(s) are credited and that the original publication in this journal is cited, in accordance with accepted academic practice. No use, distribution or reproduction is permitted which does not comply with these terms.