

Ï Influence de la phytase d origine bactérienne ou fongique sur les performances de croissance et la rétention minérale des juvéniles de poisson-chat Africain nourris avec des ingrédients végétaux

Auteur : Vodougnon, Mahugnon Hamil Bonard

Promoteur(s) : 8791

Faculté : Faculté des Sciences

Diplôme : Master de spécialisation en gestion des ressources aquatiques et aquaculture

Année académique : 2018-2019

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/7282>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

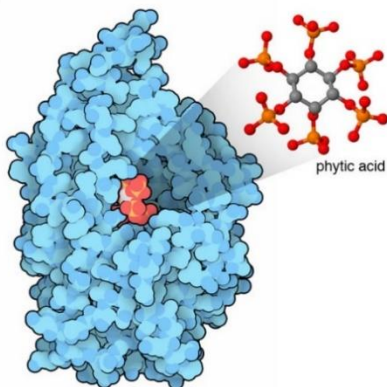
Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

FACULTE DES SCIENCES

MASTER DE SPECIALISATION EN GESTION DES RESSOURCES AQUATIQUES ET AQUACULTURE

Travail de Fin d'Etude

Influence de la phytase d'origine bactérienne ou fongique sur les performances de croissance et la rétention minérale des juvéniles de poisson-chat Africain nourris avec des ingrédients végétaux



Réalisé

par

Mahugnon Hamil Bonard VODOUGNON

Promoteur

Dr Robert MANDIKI

Encadrant

Dr Hossain SAKHAWAT

Année académique: 2018-2019

TABLE DES MATIERES

1	INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE	1
1.1	Contexte général	1
1.2	Aperçu sur le système digestif et comportement alimentaire chez le <i>Clarias gariepinus</i>	2
1.3	Utilisation des farines végétales et impact des facteurs nutritionnels	4
1.3.1	Généralités	4
1.3.2	Impact sur les processus de digestion des nutriments.....	5
1.4	Impact sur la vitesse de croissance et la rétention des nutriments.....	6
1.4.1	Impact sur la vitesse de croissance	6
1.4.2	<i>Digestibilité et rétention des nutriments</i>	6
1.5	Importance de la supplémentation en phytase dans l'alimentation des poissons.....	8
1.5.1	Particularités des phytases fongique et bactérienne	8
1.5.2	Influence de la phytase sur les performances de croissance.....	9
1.6	Objectifs	10
2	MATERIEL ET METHODES.....	12
2.1	Mise en charge et conditions d'élevage.....	12
2.2	Protocole expérimental	12
2.3	Evaluation des paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire	15
2.4	Collecte d'organes pour analyses biochimiques.....	16
2.5	Analyses biochimiques	16
2.5.1	Détermination de la matière sèche et contenu en cendres.....	16
2.5.2	Détermination de la teneur en protéines.....	17
2.5.3	<i>Lipides totaux et acides gras</i>	17
2.5.4	<i>Détermination des minéraux</i>	18
2.6	Détermination de l'activité des enzymes digestives.....	19
2.6.1	Homogénéisation des tissus de l'intestin ou de l'estomac	19
2.6.2	Dosage de l'alpha-amylase :	19
2.6.3	Dosage de la trypsine	21
2.7	Analyse statistique des données	21
3	RESULTATS.....	22

3.1	Influence des régimes sur les paramètres de croissance	22
3.1.2.	<i>Influence des régimes sur les paramètres d'utilisation alimentaire</i>	23
3.2.	Influence des régimes sur la Rétention Minérale et la composition corporelle.....	24
3.2.1.	<i>Influence des régimes sur la Rétention Minérale</i>	24
3.2.2.	-Influence des régimes sur la composition corporelle	27
3.3.	Influence des régimes sur l'activité des enzymes digestives.....	28
3.3.1	Activité de l' α -amylases de l'estomac	28
3.3.2	Activité de la trypsine	28
4	DISCUSSION	30
4.1	Paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire	30
4.2	Rétention minérale.....	31
4.3	Composition corporelle	32
4.4	Enzymes digestives.....	32

Liste des sigles et abréviations

CTRL-50% : Régime témoin contenant 50% de protéines végétales

CTRL-75% : Régime témoin contenant 75% de protéines végétales

CTRL-100% : Régime témoin contenant 100% de protéines végétales

FCR : Taux de Conversion Alimentaire

GMQ : Gain Moyen Quotidien

GP : Gain de poids

PBD1-75% : Phytases Bactériennes supplémentés à 500 UFT/Kg d'aliment et contenant 75% de protéines végétales

PBD2-75% : Phytases Bactériennes supplémentés à 1000 UFT/Kg d'aliment et contenant 75% de protéines végétales

PFD1-75% : Phytases Fongiques supplémentés à 500 UFT/Kg d'aliment et contenant 75% de protéines végétales

PFD2-75% : Phytases Fongiques supplémentés à 1000 UFT/Kg d'aliment et contenant 75% de protéines végétales

PBD1-100 : Phytases Bactériennes supplémentés à 500 UFT/Kg d'aliment et contenant 100% de protéines végétales

PBD2-100% : Phytases Bactériennes supplémentés à 1000 UFT/Kg d'aliment et contenant 100% de protéines végétales

PFD1-100% : Phytases Fongiques supplémentés à 500 UFT/Kg d'aliment et contenant 100% de protéines végétales

PFD2-100% : Phytases Fongiques supplémentés à 1000 UFT/Kg d'aliment et contenant 100% de protéines végétales

PER : Taux d'Efficienc Protéique

Pmf : Poids moyen final

Pmi : Poids moyen initial

% Phytase (SGR): Taux d'Efficacité du SGR

SGR : Taux de Croissance Spécifique

UFT : Formazine Turbidity Unit

Liste des figures

Figure 1: Structure de l'AP, Myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis dihydrogen phosphate (IP6). (Lerot, 2006).....	6
Figure 2: Hydrolyse de la phytate par la phytase. Source : Borey. (2017)	8
Figure 3: Taux de Croissance Spécifique (SGR) des juvéniles de <i>C. gariepinus</i> soumis aux différents régimes contenant de la phytase fongique ou bactérienne.	23
Figure 4: Influence des phytases sur la rétention minérale du Calcium du <i>C. gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires.....	24
Figure 5: Influence des phytases sur la rétention minérale du Potassium du <i>C. gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires.....	25
Figure 6: Influence des phytases sur la rétention minérale du Magnésium du <i>C. gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires.	26
Figure 7: Influence des phytases sur la rétention minérale du Phosphore du <i>C. gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires.	27
Figure 8: Activité de l' α -amylase chez le <i>C. gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires.	28
Figure 9: Activité de la trypsine chez le <i>C. gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires.	29

Liste des Tableaux :

Tableau 1: Besoins en vitamines, en macrominéraux et en oligoéléments de <i>Ictalurus punctatus</i> (Richir, 2004)	4
Tableau 2: Composition centésimale des aliments expérimentaux.....	14
Tableau 3: Composition en acides aminés essentiels dans les régimes alimentaires et besoins de <i>C. gariepinus</i> (FAO, 2016) (g/100 g d'aliments).....	15
Tableau 4: Concentration pour le dosage de la courbe d'étalonnage.....	20
Tableau 5: Paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire des juvéniles de <i>Clarias gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires supplémenté en phytases d'origine fongique ou bactérienne	(verso) 21
Tableau 6 : Composition corporelle des juvéniles de <i>Clarias gariepinus</i> soumis à différents régimes alimentaires supplémenté en phytases d'origine fongique ou bactérienne... (verso)	26

DEDICACE

A

mes parents Boniface VODOUGNON et Armande VODOUGNON née ATTLOU.

Merci pour tout.

REMERCIEMENTS

J'exprime ma gratitude à l'endroit de tous ceux qui de près ou de loin m'ont accompagné au cours de la réalisation de ce travail. Mes sincères remerciements:

A mon Promoteur, le Professeur Robert MANDIKI de l'Université de Namur pour la qualité de son encadrement, pour le soin et l'abnégation dont il a fait preuve au cours de cette étude. Recevez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Au Professeur Patrick KESTEMONT, Directeur de l'Unité de Recherche en Biologie Environnementale et évolutive de l'Université de Namur pour m'avoir permis d'exécuter mon Travail de Fin d'Etude au sein de son unité.

A mon encadrant, le Docteur Hossain SAKHAWAT chercheur à l'URBE/UNamur pour son assistance quotidienne, sa qualité d'écoute et ses conseils forts utiles pour la réussite de mon travail. Merci du fond du cœur.

A Chance AKSANTI BARUME pour son implication personnelle dans le déroulement harmonieux de mon travail.

A tous le personnel de l'URBE/UNamur, merci pour vos conseils et orientations tout au long de mon travail.

A tout le corps professoral du Master GeRAA pour la qualité de l'enseignement reçu.

A l'ARES-CCD pour l'opportunité qui m'a été offerte dans le cadre de cette formation afin d'améliorer mes compétences pour mieux servir ma communauté.

A tous mes frères et sœurs pour tous les sacrifices consentis en mon nom

A toi Raymonde KPLAI pour ton soutien indéfectible. Que Dieu te bénisse.

A tous mes promotionnaires du Master GeRAA 2018-2019, plus qu'une promotion, nous sommes une équipe.

Résumé :

Afin d'évaluer l'impact de l'utilisation de la phytase sur les paramètres physiologiques du *Clarias gariepinus*, 11 régimes alimentaires iso-protéique (40%) constitués de 3 contrôles contenant respectivement 50, 75 et 100% de protéines végétales et 8 régimes constitués de 75 et 100% de protéines végétales, mais supplémentés de phytase bactérienne ou fongique à 500 ou 1000 UFT/Kg d'aliment ont servi au test de nourrissage. Vingt juvéniles de poids moyen de 57,5 g ont été répartis en triplicatas par régime et nourris pendant 28 jours. Au terme de l'essai, au sein des poissons nourris aux régimes contenant 75% de protéines végétales, ceux dont l'aliment a été supplémenté de phytase fongique à 500 UFT/Kg d'aliment ont présenté les meilleures performances de croissance et utilisation de l'aliment. Pour les lots nourris à 100% de protéines végétales, les meilleures performances de croissance et d'utilisation alimentaire ont été obtenues au sein du régime supplémenté en phytase bactérienne à 1000 UFT/Kg. La meilleure efficacité en termes de stimulation de la vitesse de croissance a été observée avec la phytase bactérienne supplémentée à 1000 UFT/Kg du régime 100% de protéines végétales (46,5%). En ce qui concerne la rétention minérale, les lots nourris avec des régimes contenant de la phytase fongique ont présenté les meilleures rétentions en Calcium (60,5%) et en phosphore (53,78%) à 75% de protéines végétales. Pour les 100% de protéines végétales, les rétentions ont été plus faibles aussi bien pour le Calcium (50,24%) et que pour le phosphore (31,08%). L'évaluation des enzymes digestive comme l' α -amylase et la trypsine a révélé que la supplémentation en phytase améliore significativement leur activité au sein des régimes à 75% de protéines végétales et contrairement aux régimes à 100% de protéines végétales où leur action n'était pas significative.

Mots clés : Phytase, *Clarias gariepinus*, croissance, rétention minérale, enzymes digestives

Abstract :

In order to evaluate the impact of the use of phytase on the physiological parameters of *Clarias gariepinus*, 11 iso-protein diets (40%) consisting of 3 controls containing respectively 50, 75 and 100% of vegetable proteins and 8 diets consisting of 75 and 100% vegetable protein but supplemented with bacterial or fungal phytase at 500 or 1000 UFT / Kg of feed were used in the feeding test. Twenty juveniles with an average weight of 57.5 g were divided into triplicates by diet and fed for 28 days. At the end of the test, in fish fed diets which containing 75% vegetable protein, those whose feed was supplemented with fungal phytase at 500 UFT / kg of feed showed the best growth performance and use of the food. For batches fed 100% vegetable protein, the best growth and food utilization performances were obtained within the diet supplemented with bacterial phytase at 1000 UFT / kg. The best efficiency for stimulation of growth rate was observed with the bacterial phytase supplemented with 1000 UFT / Kg of the 100% vegetable protein diet (46.5%). For mineral retention, the fish which fed with fungal phytase diets had the best retention of calcium (60.5%) and phosphorus (53.78%) at 75% vegetable protein. For 100% vegetable protein, the retentions were lower for both Calcium (50.24%) and for phosphorus (31.08%). Evaluation of the activity of digestive enzymes such as α -amylase and trypsin revealed that phytase supplementation significantly improves their activity in 75% vegetable protein diets, in contrast to 100% vegetable protein diets, their action was not significant.

Key words: Phytase, *Clarias gariepinus*, growth, mineral retention, digestive enzymes

1 INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Contexte général

La croissance annuelle mondiale de la consommation de poisson est actuellement le double de la croissance démographique depuis 1961 (FAO, 2018). Selon Hai et *al.* (2018), les ressources de pêches mondiales ne suffiront plus pour nourrir plus de 9 milliards de personnes d'ici à 2050. L'aquaculture représente alors la meilleure alternative pour fournir de manière durable des produits halieutiques. Fort heureusement, ce secteur a connu une croissance de 9% par an ces 30 dernières années (Lazard, 2014). L'une des espèces aquacoles plébiscitées récemment est le poisson-chat Africain *Clarias gariepinus*. Selon les statistiques de la FAO (2018), la production annuelle sur le plan mondial de cette espèce est passée de 82 549 tonnes en 2007 à plus de 231 090 tonnes en 2016. En raison de sa capacité à supporter des densités très élevées, de sa forte tolérance au milieu hypoxique et son mode de nutrition omnivore ; le poisson-chat Africain est une espèce prometteuse pour l'aquaculture mondiale (Isyagi, 2007).

Toutefois, l'apport d'aliment demeure un frein pour l'activité aquacole en raison du prix élevé et de la disponibilité fluctuante de la source essentielle de protéines pour l'aquaculture qui est la farine de poisson (Ble et *al.*, 2011). Il s'avère donc essentiel de trouver un substitut à la farine de poisson. De nombreuses études (Toko, 2007 ; Ble et *al.*, 2011 ; Akpoilih et *al.*, 2017; Aznan et *al.*, 2018; Chen et *al.*, 2018 ; Kemigabo et *al.*, 2018) ont permis de substituer à différents taux d'incorporation la farine de poisson par les protéines d'origine végétale. Cependant, ces ingrédients végétaux contiennent des facteurs antinutritionnels, tels que l'acide phytique, qui forment des complexes avec des minéraux, des protéines et lipides réduisant ainsi leur digestion et leur biodisponibilité au niveau du tractus digestif (Vielma et *al.*, 2002). L'un de ses minéraux piégés par l'acide phytique est le phosphore, or ce dernier est le représentant principal des composants structurels des tissus squelettiques, et est directement impliqué dans les processus énergétiques (Akpoilih et *al.*, 2017). Selon (Cangussu et *al.*, 2018), l'incorporation d'une enzyme synthétique dénommée phytase pourrait faire échec aux facteurs antinutritionnels de l'acide phytique et améliorer la biodisponibilité des minéraux et leur absorption dans le tractus intestinal. La phytase jouerait également un rôle dans l'amélioration de la digestibilité des protéines végétales et la biodisponibilité de certains minéraux notamment le phosphore (Kémigaboa et *al.*, 2018), le calcium, le magnésium, le fer, le zinc ou le manganèse (Toko, 2007).

Deux types de phytase sont généralement utilisés : il s'agit de la phytase d'origine fongique dont les mieux connus sont issus du genre *Aspergillus* sp et de la phytase d'origine bactérienne dont les plus étudiées sont du genre *Bacillus* sp (Singh et Satyanarayana, 2015). Les phytases sont utilisées dans l'alimentation animale notamment chez les monogastriques terrestres depuis des décennies (Koffi, 2010 ; Mellef *et al.*, 2010) et récemment en aquaculture (Abo Norag *et al.*, 2018). Cependant, les proportions optimales et les relations entre les types de phytase utilisés et l'absorption intestinale des minéraux ou des protéines ne sont pas bien connus.

La présente étude se propose d'évaluer l'influence de la supplémentation en phytase d'origine fongique et bactérienne sur la physiologie digestive du poisson-chat Africain nourri avec des régimes contenant des taux élevés d'ingrédients végétaux via les performances de croissance, la digestibilité des nutriments et l'activité de certaines enzymes digestives.

1.2 Aperçu sur le système digestif et comportement alimentaire chez le *Clarias gariepinus*

Selon Paugy *et al.* (2003a, b), le poisson-chat Africain est une espèce originaire d'Afrique avec une distribution presque panafricaine. Cette espèce fait partie de la famille des Clariidae qui se distinguent des autres Siluriformes par l'absence d'épine à la dorsale, par des nageoires dorsale et anale très longues, par un corps de type anguilliforme, par la présence de quatre paires de barbillons et d'un organe suprabranchial permettant aux poissons de pratiquer une respiration aérienne. *C. gariepinus* de par sa structure anatomique respiratoire particulière a une très bonne aptitude à la croissance même en milieu anoxique. Euryphage, le poisson-chat Africain est en général considéré comme une espèce opportuniste et un prédateur omnivore. Il est capable d'utiliser efficacement différentes sources alimentaires et/ou de les alterner. Il se nourrit par exemple de plantes et de détritus quand les animaux habituels de son régime alimentaire se font plus rares (FAO, 2018).

Les structures anatomiques digestives du poisson chat Africain présentent des particularités en rapport avec celles de nombreux téléostéens. En effet au sein de sa bouche, l'absence de papilles gustatives sur la langue en fait un organe non gustatif contrairement à la langue des mammifères (Verreth *et al.*, 1992). L'épithélium stratifié contenant des cellules muqueuses dans la paroi oropharyngée et la langue sert de protection physique (Richir, 2004). L'œsophage du poisson chat sert de conduit de transition entre sa bouche et son estomac. Il présente par rapport aux autres téléostéens une modification des plis de la muqueuse en un pli longitudinal destiné à faciliter le passage des aliments vers l'estomac (Ekele *et al.*, 2014). L'estomac est un sac en forme de J divisé en trois régions : (1) cardiaque; (2) fundique; et (3) pylorique. Histologiquement, sa paroi

est composée de quatre tuniques: (1) muqueuse; (2) sous-muqueuse; (3) musculuse externe; et (4) séreuse (Moawad et *al.*, 2016). La muqueuse gastrique est recouverte d'un épithélium cylindrique simple permettant l'absorption de molécules facilement digestibles à l'aide du mucus produit localement. Les muscles lisses du sphincter pylorique servent à la régulation involontaire du mouvement de l'alimentation dans l'intestin proximal. Les plis de la muqueuse observés dans l'intestin proximal constituent une adaptation à l'augmentation de la surface absorbée par les nutriments et réduisent également la vitesse du flux alimentaire intestinal.

Le spectre alimentaire de *C. gariepinus* est très étendu ; il est composé d'insectes, de mollusques, de crustacés, de myriapodes, d'arachnides et de macrophytes. Cette aptitude alimentaire confère à cette espèce un comportement alimentaire omnivore (Ikpegbu et *al.*, 2014). Dans le milieu naturel, le *C. gariepinus* présente un comportement alimentaire qui varie en fonction de la saison et de son stade de développement. Une forte consommation d'organismes benthiques en saison sèche et l'ingestion de proies pélagiques ou de surface, surtout d'origine terrestre, en saison des pluies montre qu'il s'agit d'une espèce opportuniste qui adopte un comportement benthique ou pélagique selon la saison hydrologique (Uys, 1989). Les besoins en Energie Digestible (ED) de *C. gariepinus* varient entre 10,5 et 18,5 kJ/g d'aliment selon les auteurs, ce qui correspond à un rapport Protéine/Energie allant de 21,5 à 36 mg de protéines/kJ ED (Ali, 2001). La demande nutritionnelle de *C. gariepinus* en protéines est de l'ordre de 40 à 55 % en fonction de son stade physiologique. En ce qui concerne la teneur de l'aliment en lipides, 10 à 12 % semblent être l'optimum (Uys, 1989). Les besoins en minéraux et en vitamines de *C. gariepinus* sont analogues à ceux du poisson chat américain *Ictalurus punctatus* (Richir, 2004) et comme présentés dans le tableau 1. Toutefois d'après les expérimentations de Nwana et Oni. (2018) en relation avec le taux de calcium et de phosphore nécessaire au *C. gariepinus*, un ratio Calcium/Phosphore de 2 : 1,5 serait idéal pour les juvéniles.

Tableau 1: Besoins en vitamines, en macrominéraux et en oligoéléments de *Ictalurus punctatus* (Richir, 2004)

Vitamines (mg ou UI/kg d'aliment)	
A (UI)	1000-2000
D (UI)	250-1000
E (UI)	25-50 (100)
K (UI)	10
Thiamine	1 (20)
Riboflavine	6-9 (20)
Pyridoxine	3 (20)
Ac. Pantothénique	10-20 (50)
Niacine	7,4-14
Ac. Folique	1,5
B 12	1,5 (0,02)
Biotine	0,1
Ac. Ascorbique	11-60 (100)
Inositol	NR
Choline	400

Macrominéraux (%)	
Phosphore (P)	0,30,45
Calcium (Ca)	0,45 ^a
Magnésium (Mg)	0,02-0,04
Potassium (K)	0,26

^c : eau sans Ca

Oligoéléments (ppm)	
Zinc (Zn)	20
Manganèse (Mn)	2,4
Cobalt (Co)	-
Cuivre (Cu)	4,8-5
Iode (I)	-
Fer (Fe)	20-30
Selenium (Se)	0,25

1.3 Utilisation des farines végétales et impact des facteurs nutritionnels

1.3.1 Généralités

La substitution de la farine de poisson par les farines végétales a fait l'objet de nombreuses études compte tenu de l'importance de cette dernière dans l'alimentation aquacole (Toko, 2007 ; Ble et al., 2011 ; Akpoilih et al., 2017; Aznan et al., 2018 ; Chen et al., 2018 ; Kemigabo et al., 2018, Sourabié et al., 2018). En effet, la pression exercée sur les produits de pêche du fait de la croissance démographique entraîne une diminution sensible des stocks de poisson (Fao, 2018) ; et donc leur indisponibilité pour la production aquacole. Pour parer à cet obstacle, bon nombre de produits végétaux tels que le tourteau de soja, de coton ou la farine de lupin présentant un

intérêt majeur en aquaculture à cause de leur teneur élevée en protéines (Borey, 2017) ont été valorisés dans différentes expérimentations (Ossey *et al.*, 2012). Cependant, ces produits présentent des facteurs antinutritionnels qui limitent leur utilisation en aquaculture (Lazard, 2014). Selon Blé *et al.* (2011), chez le *C. gariepinus*, une incorporation de 50% de protéines végétales précédemment traitées serait tolérable, et dans le cas des produits végétaux non préalablement traités, les taux d'incorporation ne devraient pas dépasser 20%. Cela pourrait s'expliquer par le caractère omnivore à tendance carnivore du *C. gariepinus*. De plus, les ingrédients végétaux présentent une déficience en Acide Gras Polyinsaturés à Longues Chaînes qui sont nécessaires à une bonne physiologie chez les poissons (Ekasari *et al.*, 2019). Chez le poisson chat Américain *Ictalurus punctatus*, Jackson *et al.* (1996) ont montré que la prise de poids et la consommation d'aliments chez des sujets nourris avec des régimes contenant des ingrédients végétaux étaient nettement inférieures à ceux des régimes contenant la farine de poisson.

1.3.2 Impact sur les processus de digestion des nutriments

Les ingrédients végétaux contiennent de nombreux facteurs antinutritionnels soit de par leur constitution, soit suite à leur transformation (Borey, 2017). Les facteurs antinutritionnels les plus limitants dans l'alimentation aquacole sont l'acide phytique, les inhibiteurs trypsiques, les saponines, les tanins et les glucosinolates (Médale et Kaushik, 2008). Dans le cadre de la présente étude, l'acide phytique a été le facteur antinutritionnel évalué.

L'acide phytique est un constituant essentiel des végétaux. Il renferme une teneur élevée en phosphore (28,2%) sous forme de phytine au niveau des graines représentant ainsi la forme principale du P dans la matière végétale (Lerot, 2006). De formule chimique $C_6H_{18}O_{24}P_6$ (Figure 1), l'acide myo-inositol hexaphosphorique ou l'acide phytique est chargé négativement. Cette charge négative lui confère une aptitude à attirer les cations minéraux tels que le zinc (Zn^{2+}), le cuivre (Cu^{2+}), le cobalt (Co^{2+}), le manganèse (Mn^{2+}), le calcium (Ca^{2+}), le fer (Fe^{2+}) (Zouaoui, 2018) formant ainsi des complexes acide phytique-minéral très stables appelés phytates et résistants à l'action d'hydrolyse de la phytase animale, végétale et microbienne. Ce qui constitue une double conséquence, soit la réduction de la disponibilité des minéraux et la diminution de la disponibilité du phosphore (Lerot, 2006). L'acide phytique contrairement à la majorité des facteurs antinutritionnels résiste assez bien aux traitements physiques tels que la cuisson et l'extrusion (Cangussu *et al.* 2018). Il joue de plus un rôle essentiel chez les végétaux et ne peut pas être éliminé par la sélection génétique (Médale et Kaushik, 2008). Certaines

études ont montré que l'ajout de phytase pourrait permettre de remédier à ce problème (Kémigabo et *al.*, 2018).

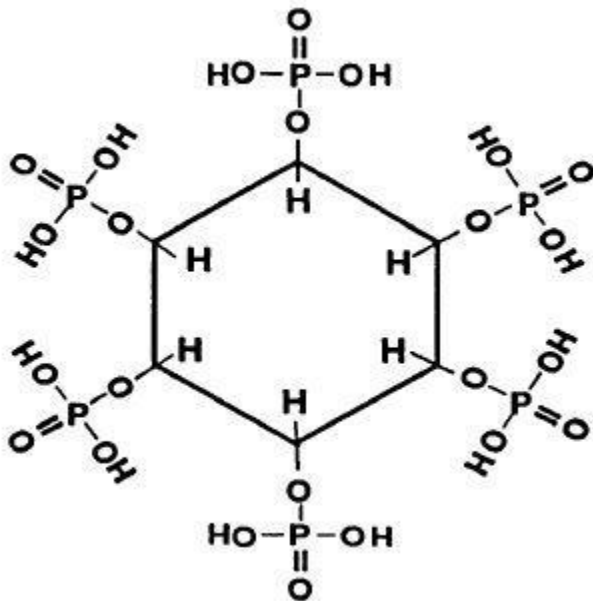


Figure 1: Structure de l'AP, Myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis dihydrogen phosphate (IP6). (Lerot, 2006).

1.4 Impact sur la vitesse de croissance et la rétention des nutriments

1.4.1 Impact sur la vitesse de croissance

Les poissons utilisent préférentiellement les lipides pour l'épargne protéique (Lazard, 2014). Les Acides Gras Polyinsaturés à Longues Chaines présents en quantité importante au sein de certains ingrédients alimentaires pour l'aquaculture tels que la farine ou l'huile de poisson jouent un rôle essentiel dans leur croissance (Sourabié et *al.*, 2018). De plus de nombreux facteurs antinutritionnels tels que l'acide phytique piègent les minéraux et protéines nécessaires à la croissance des poissons (Toko, 2007). La présence de ces nombreuses substances antinutritionnelles au sein des végétaux entraîne une diminution de la biodisponibilité de ces derniers pour la croissance des poissons. Selon Jackson et *al.*, (1996) la présence l'acide phytique à 1% dans l'aliment a entraîné une diminution de la croissance de l'ordre de 10% chez le poisson chat Américain *Ictalurus punctatus*.

1.4.2 Digestibilité et rétention des nutriments

Du point de vue de la digestibilité, les poissons digèrent mieux les protéines d'origine animale que les protéines végétales. Selon (Azaza et *al.*, 2006), l'incorporation des protéines animales augmente fortement la digestibilité des aliments et par conséquent les performances de

croissance chez le Tilapia du Nil. En effet, le complexe enzymatique digestif de la majorité des téléostéens est plus adapté à la digestion des produits d'origines animales. De même chez le *C. gariepinus*, Sourabié et al. (2018) ont noté une meilleure digestibilité des nutriments notamment des lipides chez les poissons nourris à base de régimes contenant des protéines d'origines animales que chez les poissons nourris avec des protéines végétales. Les acides gras étant essentiels dans la rétention protéique, les sources d'origine animale contribuent mieux à une meilleure rétention. Toutefois, *C. gariepinus* possède des enzymes à localisation gastriques et intestinales qui lui permet une facile digestion des produits végétaux (Ikpegbu et al., 2014). L'obstacle à la rétention des nutriments issus de source d'origine végétale chez le *C. gariepinus* est l'ensemble des facteurs antinutritionnels des végétaux. L'acide phytique en est une parfaite illustration. Cet acide chélate les minéraux et protéines au niveau du tractus gastro-intestinales et empêche l'absorption intestinal de ces nutriments (Cangussu et al., 2018).

D'après Jimoh et Aroyehun (2011), l'acide phytique, forme un complexe avec les protéines et ou les ions métalliques tels que le calcium et le magnésium, inhibant l'absorption de ces minéraux importants au niveau de l'intestin du *C. gariepinus*. Dans le même ordre d'idée, (Nwana et al., 2009) ont montré chez les juvéniles de *C. gariepinus* que la présence de l'acide phytique entraîne une diminution sensible de biodisponibilité des protéines et ions au niveau de l'absorption intestinale et par voie de conséquence, une diminution de la rétention minérale et protéique. Les travaux de Spinelli et al. (1983) font également mention de ce que, l'ajout de 1 % d'acide phytique à des régimes alimentaires de la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss* a entraîné une diminution du taux de croissance et du taux de conversion alimentaire de l'ordre de 10%. De plus, l'augmentation de la teneur en calcium et en magnésium de l'alimentation en présence de l'acide phytique n'a d'incidence ni sur la croissance ni sur la conversion alimentaire. Ces mêmes études stipulent que l'ajout de la phytase (bactérienne ou fongiques) améliore la biodisponibilité des minéraux et des protéines au niveau du tractus digestif par hydrolyse des liaisons établies entre l'acide phytique et les protéines ou minéraux (Figure 2).

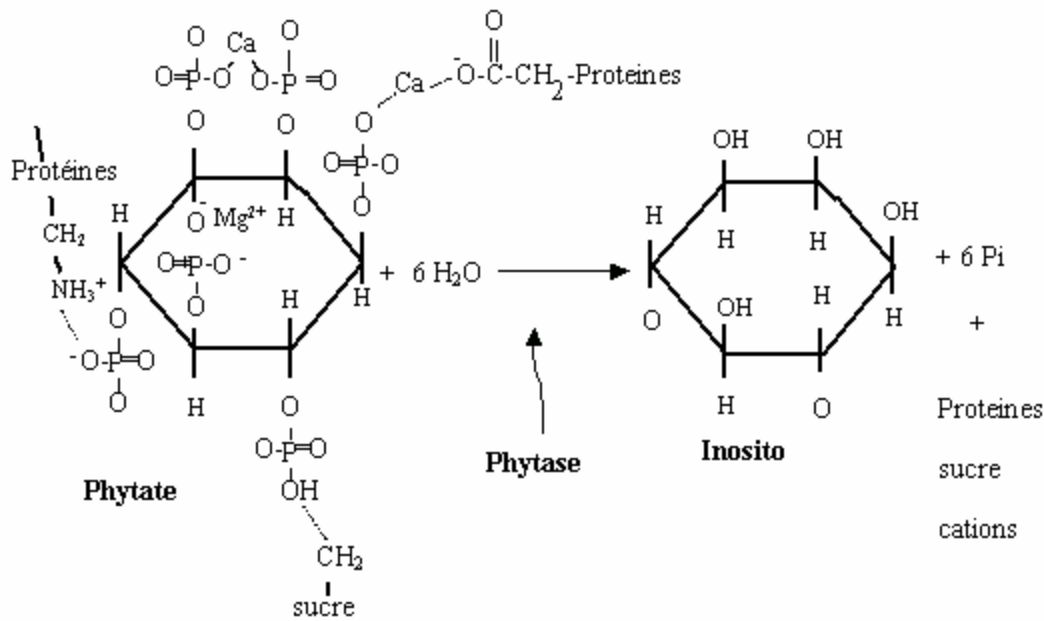


Figure 2: Hydrolyse de la phytate par la phytase. Source : Borey. (2017)

1.5. Importance de la supplémentation en phytase dans l'alimentation des poissons

1.5.1. Particularités des phytases fongique et bactérienne

Les phytases (myo-inositol hexa phosphate phosphohydrolase) sont des enzymes qui permettent l'hydrolyse de la molécule de phytates dans le tractus digestif et la libération des groupes de phosphates, de cations (minéraux) et de protéines qui y sont liés (Figure 3). Les phytases sont produites par une grande variété d'organismes, mais surtout par les microorganismes. Parmi les microorganismes producteurs de phytases, on citera notamment : les champignons des genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* et *Rhizopus*, les bactéries : *Pseudomonas sp.*, *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacter sp.*, *Bacillus subtilis* et levures : *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *Torulopsis candida*, *Debaryomyces castellii*, *Debaryomyces occidentalis* (synonyme *Schwanniomyces castellii*), *Kluyveromyces fragilis* (Koffi, 2010). Ces phytases possèdent des caractéristiques biochimiques très différentes en particulier leur activité en fonction du pH et leur stabilité à la température. Il y a deux types de phytases : les 3-phytases et les 6-phytases. Les microorganismes tels que les bactéries, les champignons et les levures produisent essentiellement les 3-phytases mais aussi les 6-phytases, alors que les plantes produisent les 6-phytases.

Les phytases fongiques sont des phosphatases acides de l'histidine, une sous-classe des phosphatases acides, qui catalysent l'hydrolyse de l'acide phytique entraînant la libération de fragments phosphate et atténuant ainsi ses propriétés anti-nutritionnelles. Les phytases sont

produites par des champignons suivant deux modes de fermentations dont l'une à l'état solide et l'autre à l'état liquide (Wyss et *al.*, 1999).

La supplémentation en phytases des aliments pour animaux augmente la biodisponibilité du phosphore et des minéraux chez les animaux monogastriques et réduit la pollution par le phosphore due à l'excrétion de phosphore dans les zones d'élevage de production intensive (Rasowo et *al.*, 2007). Les phytases fongiques ont une action optimale dans les gammes de pH 4,5 et 6,0 et lorsque la température oscille entre 45 et 70° C. La dégradation complexe effectuée entre l'acide phytique et les protéines et ou les minéraux conduit à une amélioration de la disponibilité des minéraux, du phosphore et des protéines chez les non-ruminants des animaux et des êtres humains et atténue ainsi la pollution par le phosphore dans l'environnement (Singh et Satyanarayana, 2015).

Les phytases d'origine bactérienne sont généralement des phytases hélicoïdales. Les principaux exemples de phytase alcaline relativement bien étudiée chez les bactéries sont ceux du genre *Bacillus sp* (Kerovuo et *al.*, 2000). Plusieurs études ont caractérisé des phytases à partir de différentes espèces de microorganismes telles que les bactéries *Bacillus sp*, *Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*; *Enterobacter*, *Klebsiella sp*, *Citrobacter braakii*, *Lactobacillus sanfranciscensis* (Maougal, 2014). Ces phytases ont des propriétés catalytiques spécifiques aux phytates. Leur modèle en trois dimensions ressemble à une hélice avec six lames, c'est pourquoi ils ont été nommés comme phytase hélicoïdale (Jorquera et *al.*, 2017). Toutes les phytases hélicoïdales dépendent des métaux et nécessitent du Ca²⁺ pour leur thermostabilité et activité catalytique (Singh et Satyanarayana., 2015). Les températures optimales pour l'action des phytases bactériennes sont de l'ordre de 50 à 60 ° C pour un pH optimal de 5 (Jang *et al.*, 2019).

1.5.2. Influence de la phytase sur les performances de croissance

Chez *Oncorhynchus mykiss*, Vielma *et al.* (2002) ont évalué l'efficacité du prétraitement de la phytase pour deux types de soja incorporés dans l'aliment des poissons. L'apport de la phytase a eu un effet bénéfique sur la prise de poids, l'efficacité alimentaire et l'utilisation de protéines de phosphore, de calcium, de magnésium et de zinc. En effet, les sujets soumis au régime alimentaire ayant précédemment été supplémenté avec de la phytase ont connu une rétention du phosphore plus élevée (72%) par rapport aux sujets nourris avec le régime ordinaire (33%) et un meilleur gain de poids moyen (4,3 g.kg⁻¹) plus élevé par rapport aux sujets nourris avec un régime ordinaire (1,5 g. kg⁻¹).

Chez le poisson chat Américain *Ictalurus punctatus*, Jackson et al. (1996) ont montré que la prise de poids, la consommation d'aliments, la teneur en phosphore des os étaient plus élevées chez les sujets ayant subi une supplémentation en phytase que chez ceux obtenus dans les régimes témoins. De plus, la concentration de phosphore fécal a diminué de façon linéaire à mesure que la supplémentation en phytase augmentait. Les résultats de cette étude démontrent que la phytase microbienne est efficace pour améliorer la biodisponibilité du phosphore chez les poissons-chats et la diminution de son excrétion.

D'après les travaux de Abo Norag et al. (2018), il ressort que la phytase bactérienne améliore la biodisponibilité des minéraux tels que le Zinc, le Fer et le cuivre chez le Tilapia du Nil *Oreochromis niloticus*. Il a été conclu que la croissance réduite dans les aliments pour poissons contenant de l'acide phytique était liée à une réduction de la disponibilité des protéines plutôt qu'à une altération de la biodisponibilité du Zinc, du Fer ou du Cuivre. De plus, la supplémentation en phytase améliore la croissance et l'état sanitaire du tilapia du Nil (Abo Norag et al., 2018).

Chez le *C. gariepinus*, Akpoilih et al. (2018) ont montré une meilleure rétention protéique et minérale (phosphore) après une supplémentation en phytases fongiques de l'aliment à différentes proportions (250, 500 et 1000 FTU/kg). Toutefois, les doses optimales de phytases pour atténuer l'effet de l'acide phytique restent mal connues. C'est ce qui ressort de l'analyse de Abo Norag et al. (2018) d'après laquelle en fonction de la taille et de l'état de développement du système digestif des poissons, l'action de la phytase serait variable. De plus, peu d'informations existent sur l'effet de la phytase concernant les régimes contenant un taux élevé de farines d'origine végétale et certaines études ne précisent même pas le type de phytase utilisée lors de leurs expérimentations.

1.6. Objectifs

De manière générale, la présente étude vise à évaluer l'influence de la phytase d'origine bactérienne ou fongique sur les performances de croissance et la physiologie digestive des juvéniles de poisson-chat Africain nourris avec des ingrédients végétaux. De manière spécifique, il s'agira de :

- Evaluer l'influence de la phytase d'origine bactérienne ou fongique sur les performances de croissance et l'utilisation alimentaire des juvéniles de poisson-chat Africain nourris avec des ingrédients végétaux ;

- Evaluer l'influence de la phytase d'origine bactérienne ou fongique sur l'activité des enzymes digestives des juvéniles de poisson-chat Africain nourris avec des ingrédients végétaux ;
- Déterminer types de phytases permettant la meilleure rétention protéique et ou minérale;
- Déterminer la dose optimale de phytase permettant d'augmenter l'utilisation alimentaire des protéines et minéraux dans des régimes à base de taux élevés de farines végétales.

2 MATERIEL ET METHODES

2.1 *Mise en charge et conditions d'élevage*

Les poissons utilisés dans le cadre de notre expérimentation ont été achetés au sein d'une structure de production aquacole sise en Hollande du nom de « Fleuren and Nooijen » puis transférés au laboratoire de l'« Institute of Life Earth and Environment » de l'Université de Namur en Belgique. Les juvéniles de poisson-chat africain « *Clarias gariepinus* » ont été stockés dans des bassins de 100 litres dans un système d'eau recirculée avec aération continue. Ils ont été alimentés par un régime contenant 46 % de protéines brutes, 15 % de lipides bruts (Coppens TROCO SUPREME-16, The Netherlands) durant deux semaines pour les acclimater aux conditions expérimentales. Au cours de cette période d'acclimatation, la température de l'eau a été progressivement augmentée de 25 à 28 °C, les autres paramètres (NO₂ : 0,05 mg/l ; NO₂-N : 0,02 mg/l ; NaNO₂ : 0,02 mg/l) ont été maintenus dans les limites acceptables pour le poisson-chat africain.

L'expérience proprement dite a eu lieu dans un système d'eau recirculée comprenant 33 bassins rectangulaires de 100 litres dont chacun a une entrée et une sortie, mais aussi une aération continue. Lors de l'expérience, la photopériode était constante (12 :12) et le débit de 1,5 litre/minute.

2.2 *Protocole expérimental*

Après leur adaptation à l'environnement expérimental, une homogénéisation des tailles des juvéniles a été réalisée. Ensuite, 20 sujets (de poids moyen initial : 57,5 g) ont été répartis de manière homogène dans chacun des 33 bassins expérimentaux après avoir pesé et enregistré aussi bien pour la biomasse que les poids individuels.

Onze traitements ont été affectés en trois répétitions dans les bassins d'élevage, dont trois régimes contrôles contenant respectivement 50% (CTRL 50%), 75% (CTRL 75%) et 100% (CTRL 100%) de protéines végétales. Pour les huit (8) régimes tests restants, ils étaient constitués de deux niveaux de protéines végétales dans des proportions de 75 % (4) et 100 % (4) ; ces régimes ont été supplémentés par deux types de phytases (P) de différentes origines (fongique-F et bactérienne-B) en deux doses (500 et 1000 UFT/kg d'aliments). Ainsi, les régimes constitués de 75 % de protéines végétales étaient respectivement PBD1-75%, PBD2-75%, PFD1-75%, PFD2-75% et ceux constitués de 100 % de protéines végétales respectivement PBD1-100 %, PBD2-100 %, PFD1-100 %, PFD2-100 %. Les aliments pour

chaque régime ont été fabriqués à l'aide d'une machine à presse avec une maille de quatre (4) millimètres.

Pendant l'expérience proprement dite, l'aliment a été distribué aux poissons manuellement et jusqu'à satiété apparente à raison de deux repas par jour (à 9 h00 et à 16 h00). A la fin de chaque journée, la consommation journalière d'aliments a été obtenue par la différence entre l'aliment restant et l'aliment pesé estimé sur base de la ration journalière (NRC, 1981). Les restes d'aliments ont été collectés une heure après chaque nourrissage, séchés, pesés et enfin soustrait de la quantité totale d'aliments apportés aux poissons pour estimer la consommation actuelle. Le tableau 1 ci-dessous donne la composition centésimale des ingrédients alimentaires utilisés dans la constitution du régime chez le poisson-chat africain.

Tableau 2: Composition centésimale des aliments expérimentaux

Régimes Ingrédients (%)	CTRL	75 % PV					100 % PV				
	-	DOP7 5	BPD1	BPD2	FPD1	FPD2	DOP100	BPD1	BPD2	FPD1	FPD2
Farine de poisson	30,8	15,46	15,46	15,46	15,46	15,46	0	0	0	0	0
Tourteau de soja	6	9,81	9,81	9,81	9,81	9,81	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6
Gluten de blé	9	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	21,5	21,5	21,5	21,5	21,5
Farine de lupin blanc	14	15,45	15,45	15,45	15,45	15,45	22	22	22	22	22
Farine de sang	4	7,88	7,88	7,88	7,88	7,88	10,05	10,05	10,05	10,05	10,05
Huile de foie de morue	5,5	6,2	6,2	6,2	6,2	6,2	6	6	6	6	6
Huile de soja	1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1	1	1	1	1
Amidon	23,76	23,3	23,3	23,3	23,3	23,3	23,2	23,2	23,2	23,2	23,2
Oxyde de chrome	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Pré-mélanges vitaminés	1	1	1	1	1	1	1	1	10000	1	1
Pré-mélanges minéraux	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Antioxydant	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Carboxymethylcellulose	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Méthionine	0,34	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7	1,05	1,05	1,05	1,05	1,05
Bétaïne	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Phytase	-	-					-				

Total	100	100	100
Composition proximale des régimes (g/100 g de matière sèche)			
Protéines brutes	40	40,09341	40,2476
Lipides brutes	10,203	10,51459	10,2673
Energie digestible (KJ/100g)	1410,5 7321	1423,86435	1423,0572
Matières sèches	57,934	57,09292	56,87695
Cendres	8,428	5,86343	3,2568

A l'exception du régime témoin (testé en triplicat), tous les autres traitements seront soumis à l'effet de deux types de phytases administrées en triplicat de deux doses. PB : phytase bactérienne, PF : phytase fongique, D1 (dose 1) : 500 UFT/kg d'aliments, D2 (dose 2) : 1000 UFT/kg d'aliments.

Tableau 3: Composition en acides aminés essentiels dans les régimes alimentaires et besoins de *C. gariepinus* (FAO, 2016) (g/100 g d'aliments)

Acides aminés essentiels	Régimes			Besoins du <i>C. gariepinus</i>
	Contrôle	75 % PV	100 % PV	
Lys	6,379	5,943	5,255	5,7
Thr	3,932	3,873	3,776	2,04
Met	2,3	2,3	2,3	2,5
Trp	1,046	1,104	1,133	2,59
Ile	3,87	3,549	3,315	1,56
Val	5,168	5,427	5,531	2,08
Leu	7,506	7,848	7,969	4,87
Phe	4,247	4,55	4,696	4,56
His	2,804	3,188	3,41	2,9
Arg	6,644	6,662	6,955	6,4

2.3 Evaluation des paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire

Après 45 jours de nourrissage, une évaluation de performances de croissance et d'utilisation des aliments par les poissons a été réalisée grâce au calcul des paramètres suivants :

$$\text{Gain de poids (\%)} = (\text{poids final} - \text{poids initial}) \times 100 / \text{poids initial}$$

Taux Spécifique de Croissance (SGR, % jour⁻¹) = {Ln (poids final) – Ln (poids initial) / durée (dt)} × 100

Survie (%) = 100 × (nombre final des poissons/ nombre initial des poissons)

Ration ingérée : (g poissons⁻¹ 60 jour⁻¹) = (régime alimentaire distribué – régime alimentaire sec restant collecté) / nombre des poissons

Taux de Conversion Alimentaire (TCA ou FCR) = ration distribué(g) / (biomasse finale – biomasse initiale)

Ratio d'Efficienc e Protéique (PER) = gain de poids vif (g) / protéine brute consommée (g).

2.4 Collecte d'organes pour analyses biochimiques

A la fin de la phase de nourrissage, tous les poissons ont été mis à jeun durant 24h puis anesthésiés avec une solution de 120 mg/L d'acide 3-aminobenzoate (méthanesulfonate de tricaine, MS222-Sigma, pureté de 98 %, Sigma). Par la suite, le poids individuel des poissons a été mesuré dans le but de calculer les paramètres de croissance. De même, six (06) poissons par aquarium ont été pris au hasard et utilisés pour l'analyse du corps entier en vue de la détermination de la rétention protéique et minérale. De plus, trois autres (03) poissons par bassin ont également été collectés pour le prélèvement de différents organes tels que le foie, la rate, l'intestin et l'estomac pour des analyses ultérieures.

2.5 Analyses biochimiques

2.5.1 Détermination de la matière sèche et contenu en cendres

Pour la détermination, la matière sèche de cendre, les aliments et les muscles de poissons ont été répartis en triplicat.

L'humidité a été déterminée en séchant chaque échantillon à l'étuve à une température de 105 C jusqu'au poids constant. Les échantillons ont été transférés dans le dessiccateur afin de se refroidir à température ambiante puis repeser. La différence de poids déterminera la matière sèche selon la formule : % Humidité = poids échantillon humide-poids échantillon sec/ poids échantillon humide.

Les cendres ont été obtenues par combustion de 0,2 g d'échantillons à 550 °C pendant 12 h dans un four de combustion. La différence entre le poids de l'échantillon avant et après incinération a été considérée comme contenu en cendres selon la formule: % contenu en cendres = poids échantillon de cendre-poids du creuset vide/poids échantillon sec- poids du creuset vide.

2.5.2 Détermination de la teneur en protéines

La méthode de Kjeldahl a été utilisée pour déterminer l'azote total (protéines brutes) (Huda *et al.*, 2010). Les échantillons de poisson ont été enroulés dans un papier de pesée avec comme catalyseur le mélange de sulfate de potassium (K_2SO_4) et de sulfate de Cuivre ($CuSO_4$). La phase de la pesée a été suivie d'une phase de minéralisation au cours de laquelle le processus a été réalisé de manière à introduire dans chaque tube de minéralisation l'ensemble constitué des 0,2 g d'échantillon prélevé et des 2 g du catalyseur. Cependant dans le tube de minéralisation représentant le témoin, il n'a été introduit que les 2 g du catalyseur du papier de pesée. Après ceci, le minéralisateur est démarré puis porté à une température de 420 °C. En attendant, que la température du minéralisateur n'atteigne 420°C, à chaque tube de minéralisation a été ajouté 10 ml d'acide sulfurique H_2SO_4 pour la carboxylation et 5 ml d'eau oxygénée 30 % (H_2O_2). Une fois la température du minéralisateur à 420 °C, les tubes de minéralisation ont été placés sur les chaufferettes du minéralisateur puis portés sur le digesteur en laissant chauffer pour une durée de 90 minutes avant de laisser refroidir pendant 30 minutes. La minéralisation achevée, la distillation a été réalisée en mettant les tubes de minéralisation dans le distillateur puis à lancer le programme de distillation qui ajoute dans celles-ci respectivement 50 ml d'eau distillée et de solution alcaline (40 % NaOH). 25 ml d'acide borique (indicateur) ont été introduit dans un Erlenmeyer de 200 ml (H_3BO_4) qui est placé dans le compartiment de distillation du système de Kjeldahl. 150 ml de distillat (azote-ammoniacal) déversé dans l'Erlenmeyer ont été dosés par le $H_2SO_4/NaOH$ 0,1N par titrage volumétrique jusqu'au virage entre le rouge et le rose en se servant d'une multi-burette (titration). Le volume de virage (ml de NaOH) est utilisé pour calculer la teneur en azote total.

2.5.3 Lipides totaux et acides gras

Après avoir préparé la solution extractante (666,6 ml de dichlorométhane ; 333,3 ml de méthanol et 0,5 ppm de BHT). Il a été ajouté 5 ml de solution extractante à 0,5 g d'échantillon précédemment pesé, le mélangeur a permis d'homogénéiser la solution pendant 4 minutes. Les tubes contenant l'ensemble solution extractante et échantillon ont été rincés avec 25 ml de solution extractante puis transvasés. La solution transvasée a été centrifugée à 1400 tours à 4°C pendant 10 minutes. Une décantation du surnageant a été ensuite réalisée à l'aide d'entonnoirs contenant le papier filtre (9 cm) sur les ampoules de décantation. Il a été ensuite procédé au rinçage du tube issu de la centrifugation avec 20 ml de solution extractante.

10 ml (20 % du volume) de NaCl ont été ensuite ajoutés dans chaque ampoule à décantation avant d'enlever les ampoules aux statifs, puis les agiter et les dégazer pendant 2

minutes. Les ampoules ont été plus tard remis au statif puis les bouchons ouverts pendant 1-2 heures afin que la séparation ait lieu.

Après les 1-2 heures, il a été ajouté 0,5 g de Na₂SO₄ sur le papier filtre d'un entonnoir et puis le robinet a été ouvert afin de récupérer le sous nageant au sein de l'ampoule de décantation dans un tube à essai. Un rinçage de l'ampoule à décantation avec 5 ml de dichlorométhane a été également réalisé afin de refaire autre rinçage puis récupérer la phase lipidique restante.

L'aérateur a été actionné afin de passer à la précipitation complète de la solution lipidique dans le tube à essai jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dichlorométhane. Après l'évaporation totale de tout le dichlorométhane en se servant d'un aérateur, il est procédé à un transfert grâce au dichlorométhane de la phase lipidique dans des flacons précédemment pesés (vide). Cette phase lipidique contenue dans les flacons a été également dégazée grâce à l'aérateur. Une fois dégazé, les flacons obtenus ont été soumis à la dessiccation pendant 30 minutes avant leur pesée finale. Après dégazage le poids de lipide total a été obtenu par différence entre le poids des flacons avant et après.

2.5.4 *Détermination des minéraux*

Le contenu corporel des individus en phosphore (P) et en calcium (Ca) ainsi que la teneur de ces minéraux dans l'aliment ont été analysés par spectrophotométrie de masse à couplage inductif du plasma (CIP-spectroscopie radiale). En ce qui concerne le Potassium (K) et le Magnésium (Mg), leur teneur a été déterminée par la spectroscopie d'absorption atomique. Les échantillons ont été précédemment soumis à l'incinérateur pendant douze (12) heures afin d'obtenir la matière minérale (cendre) qui a été dissoute dans de l'acide nitrique (HNO₃). Les homogénats ainsi obtenus ont été dosés pour obtenir la concentration en minéraux de chaque échantillon. La rétention de chaque minéral au sein des sujets soumis à l'expérimentation a été obtenue d'après la formule :

$R_m = 100 [(B_f * C_{mf}) - (B_i * C_{mi})] / (Q * C_{ma})$ avec R_m : Rétention Minérale, B_f : Biomasse Finale, B_i : Biomasse Initiale, C_{mf} : Concentration Minérale des échantillons finaux, C_{mi} : Concentration Minérale des échantillons initiaux, Q : Quantité d'aliments ingérés par les poissons et C_{ma} : Concentration du minéral au sein de l'aliment. (Kemigabo et *al.*, 2018)

2.6 Détermination de l'activité des enzymes digestives

2.6.1 Homogénéisation des tissus de l'intestin ou de l'estomac

En prélude à la détermination de l'activité enzymatique des spécimens au cours de l'expérience, une homogénéisation des organes tels que les intestins et les estomacs a été réalisée. Pour ce fait, un tampon de Phosphate-Buffered Saline (PBS) constitué du phosphate monosodique 20 mM (NaH_2PO_4) et du chlorure de sodium 6 mM (NaCl) avec un pH à 6,9 a été préparé. Les échantillons d'organes ayant été préalablement décongelés et séchés à l'aide d'un papier filtre, 150 mg de chaque échantillon a été pesé, broyé à l'aide d'un pilon et introduit dans des micro tubes de 1,5 mL de contenance. Aux 150 mg d'échantillon a été ajouté 1 mL du tampon. Après cette étape, l'ensemble échantillon et tampon a été homogénéisé à l'aide d'un agitateur pendant 20 à 25 secondes deux fois de suite avec une pause de 10 secondes. Une fois obtenu, l'homogénat a été transféré dans un tube Eppendorff, auquel a été ajouté 0,5 mL d'homogénat issu du rinçage du premier tube. Enfin, l'homogénat a été centrifugé à 4°C pendant 30 minutes à 4200 G et le surnageant recueilli. Ces surnageants obtenus pour chaque échantillon ont été conservés à -80 °C pour les analyses enzymatiques.

2.6.2 Dosage de l'alpha-amylase :

Le dosage de l' α -amylase est effectué selon la méthode de Bernfeld (1951), en utilisant l'amidon dilué dans un tampon phosphate de potassium, pH 6,9 comme substrat. Le principe est basé sur la réduction de l'acide 3,5-dinitrosalicylique (DNS ou DNSA/ formule linéaire : $(\text{O}_2\text{N})_2\text{C}_6\text{H}_2-2-(\text{OH})\text{CO}_2\text{H}$) par les groupes réducteurs (tel que le maltose) libérés par l'hydrolyse de l'amidon. Pour cela, quatre (04) solutions ont été préparées :

- une solution Tampon : constitué de phosphate monosodique (NaH_2PO_4) 20mM, de Chlorure de Sodium (NaCl) 6mM et d'hydroxyde de Sodium (NaOH) 2M avec un pH de 6,9.
- une solution de réactif colorant : constitué de 3.5 dinitrosalicylique acid = 1g/50ml H_2O , de Sodium potassium tartrate tetrahydrate = 30g et de NaOH 2M =20 ml. A cet ensemble a été ajouté de l'eau distillée jusqu'à obtention d'un volume total équivalent à 100 ml.
- une solution de Strach 1%: un tampon constitué de 100 mg de sodium phosphate pour 10 ml de Chlorure de Sodium (NaCl) avec un pH de 6.9 + (incube 4-5 min avant l'utilisation).
- une solution de Maltose (Standard) 10 μ M = 36mg/10 ml H_2O . Suite à la préparation des solutions, une courbe d'étalonnage a été établie afin de déterminer la concentration des réducteurs libérés par la réaction enzymatique. Pour cela, il a été nécessaire de préparer deux bains-marie (37°C et 100°C) et deux tubes pour chaque valeur de la concentration de maltose

et un tube pour le témoin (blanc) du spectrophotomètre (Tableau 4). Pour le témoin du spectrophotomètre, la concentration a été de 100 µl d'Amidon et 100 µl eau.

Tableau 4: Concentration pour le dosage de la courbe d'étalonnage

Concentration (µM)	Maltose	Maltose 10µM (µl)	H ₂ O (µl)
0		-	200
2		40	160
4		80	120
5		100	100
8		160	40
10		200	-

Après avoir préparé les solutions conformément aux concentrations établies dans le tableau 4, il a été procédé à une incubation des tubes pendant 5 minutes à 25°C. Puis après l'ajout de 200 µl de réactif colorant, il s'en est suivi une incubation à 100°C pendant 5 minutes. La lecture au spectrophotomètre a été faite à 540 nm après refroidissement des tubes et ajout de 2 mL d'eau. Le dosage proprement dit des échantillons de l'α-amylase a été effectué de la même façon que pour la courbe d'étalonnage ; dans des tubes à essai. Toutefois, les homogénats ont été dilués 20 fois. Ainsi, dans chaque tube a été introduit successivement 5µl d'homogénat, 95 µl d'eau et 100 µl d'amidon. Une incubation à 25°C dans un bain-marie pendant 5 minutes a été réalisée. La réaction est ensuite fixée avec 200 µl du réactif (acide dinitrosalicylique coloré). Une seconde incubation pendant environ 10 minutes a été effectuée dans un bain-marie bouillant (100°C), puis après refroidissement il s'en est suivi un ajout de 2 ml d'eau distillée. Les densités optiques sont lues à 540nm contre un blanc « spectro 100µl amidon + 100µl eau ». Le calcul de concentration en amylase a été fait suivant la formule : $\text{Activité Amylase (U/ml)} = ((\text{OD}-b) / (a*t*0,05))$ avec :

OD : valeur lue au spectro

t : temps d'incubation (5min)

a : pente de la droite d'étalonnage

b : ordonné à l'origine de la droite d'étalonnage.

2.6.3 Dosage de la trypsine

Le dosage de la trypsine a été réalisé d'après la méthode de Holm et *al.* (1988). Pour ce dosage, deux solutions ont été préparées : une solution tampon et un substrat. La solution tampon était composée de Tris HCl ou Tris (hydroxyméthyl) aminométhane hydrochlorid à 50mM, de chlorure de calcium (CaCl_2) 20mM, le tout avec un pH de 8,2. En ce qui concerne le substrat, il était composé de BAPNA (N Benzoyl-DL- arginine-p Nitroanilide) dissous dans du diméthylsulfoxyde (DMSO). Dans le cadre de la présente étude, la dissolution finale BAPNA/DMSO était de $1\text{mM} = 0,0217\text{g}/500\mu\text{l}$. Le substrat obtenu a été protégé de la lumière. Enfin, il a été procédé à un dosage successif de différentes concentrations afin de déterminer la meilleure. Ainsi, la concentration choisie grâce à la meilleure courbe d'étalonnage obtenue a été ajoutée à 1 ml de la solution tampon et 10 μl du substrat. Après cette étape, la lecture au spectrophotomètre à 407 nm a été immédiatement réalisée.

2.7 Analyse statistique des données

Le logiciel R version i358 3.5.1 de par son interface RStudio a permis d'analyser toutes les données par un test d'ANOVA2 pour la comparaison des performances de croissance et les tests enzymatique en considérant l'origine et la dose séparément pour les deux niveaux de protéines (P75 ou P100). Les résultats (moyenne des triplicats \pm écart-type) sont présentés grâce au tableur MicroSoft Excel 2013 dans les tableaux et figures.

3 RESULTATS

3.1 Influence des régimes sur les paramètres de croissance

Au terme de l'expérimentation, le poids moyen final des poissons nourris au régime CTRL - 100% ($102 \pm 3\text{g}$) a présenté une différence hautement significativement faible ($p < 0,001$) par rapport à ceux des sujets nourris aux régimes CTRL-50% ($172 \pm 8\text{g}$) et CTRL-75% ($157 \pm 8\text{g}$) (Tableau 5). De même, le Gain de Poids corporel et le Taux de Croissance Spécifique (Figure 3) des CTRL-100% ont également présentés des différences hautement significatives ($p < 0,001$) par rapport à ceux obtenus au sein des régimes CTRL-50% et CTRL-75%.

En ce qui concerne les lots nourris aux régimes additionnés de phytase, les sujets soumis à une alimentation à 75% de protéines végétales ont présenté des différences respectivement significative (PBD2-75%), très significative (PFD1-75%) et hautement significative (PFD2-75%) par rapport au CTRL-75% pour le Gain de Poids et le Poids moyen final. Contrairement à ces observations, aucune différence significative n'a été établie entre les valeurs du Taux de Croissance Spécifique entre les régimes à 75% (Figure 3). Toutefois, il a été observé des valeurs de Taux de Croissance Spécifique plus élevées pour les régimes supplémentés en phytase (PBD2-75%, PFD1-75% et PFD2-75%) par rapport au régime CTRL-75%.

Pour les poissons nourris à l'aliment contenant 100% de protéines végétales, les valeurs de Gain de Poids et Poids Moyen finaux des CTRL-100% (Tableau 5) ont été inférieurs aux régimes supplémentés en phytase respectivement significativement (PFD2-100%), très significativement (PBD1-100%) et hautement significativement (PBD2-100%, PFD1-100%). Quant au Taux de Croissance Spécifique (Figure : 3), il a été significativement inférieur entre le CTRL-100% et respectivement le PFD2-100% ($p < 0,05$), le PFD2-100% ($p < 0,01$) et PBD2-75% ($p < 0,001$). L'Efficacité du Taux de Croissance Spécifique (Figure 3) au sein des régimes 100% a été nettement élevée. La meilleure efficacité a été établie au sein du régime PBD2-100% (46%).

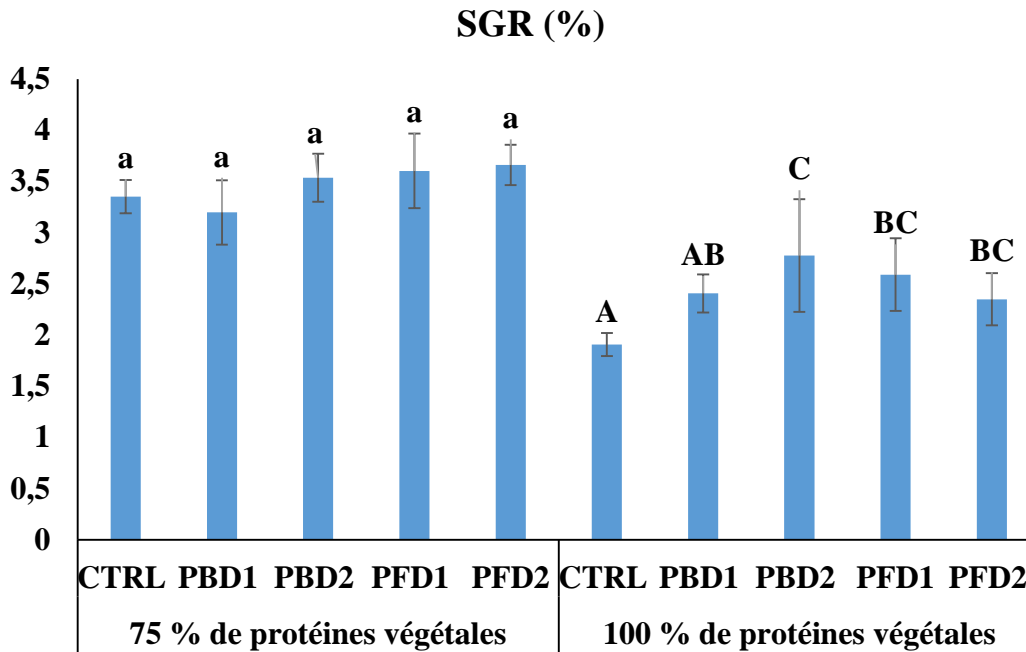


Figure 3: Taux de Croissance Spécifique (SGR) des juvéniles de *C. gariepinus* soumis aux différents régimes contenant de la phytase fongique ou bactérienne.

3.1.2. Influence des régimes sur les paramètres d'utilisation alimentaire

Les valeurs de taux de conversion alimentaire (FCR) des lots des régimes CTRL-50% et CTRL-75% ont été hautement supérieures à celles des lots du régime CTRL-100% ($p < 0,001$) (Tableau 5). Pour l'efficacité protéique, des différences hautement significatives ($p < 0,001$) ont été établies entre les régimes CTRL-50% et CTRL-100% d'une part et CTRL-75% et CTRL-100% d'autre part. De plus, une différence très significative a été établie entre CTRL-50% et CTRL-75% ($p < 0,001$).

Au sein du groupe contenant 75% de protéines végétales, le régime PFD1-75% a présenté la meilleure conversion alimentaire et la meilleure efficacité protéique. Ces deux paramètres ont été significativement ($p < 0,05$) meilleurs au sein du régime PFD1-75% par rapport au CTRL-75%. De plus, des différences significatives ont été établies entre les régimes PFD1 75 et PBD1 75 ($p < 0,05$). Bien qu'étant tous les deux supplémentés de phytase à 500 UFT/Kg, le régime contenant de la phytase fongique a donné des meilleures valeurs par rapport à celui contenant de la phytase bactérienne.

Les valeurs du Taux de Conversion Alimentaire ont montrées une amélioration hautement significative ($p < 0,001$) au sein de tous les régimes supplémentés en phytase par rapport au régime témoin (CTRL-100%). Les meilleures conversions alimentaires et efficacité protéique

ont été observées au sein du régime PBD2-100% qui ont été significativement différent de ceux du régime témoin (CTRL-100%).

3.2. Influence des régimes sur la Rétention Minérale et la composition corporelle

3.2.1. Influence des régimes sur la Rétention Minérale

Au sein des groupes témoins, la rétention minérale du calcium a été meilleure pour le CTRL-50% et significativement différent de celle des lots du régime CTRL-75% ($p < 0,05$). Pour les régimes expérimentaux contenant 75% de protéines végétales, à l'exception du PBD1-75%, tous les autres ont permis une meilleure rétention calcique par rapport au CTRL-75% (Figure 4). Le PFD2-75% a induit la meilleure rétention calcique qui a été hautement supérieure aux valeurs des lots de tous les autres régimes ($p < 0,001$). S'agissant des régimes contenant 100% de protéines végétales, le PFD1-100% a induit la meilleure incidence sur la rétention calcique par rapport au témoin (CTRL-100%). De plus, les poissons nourris au régime PFD1-100% ont présenté une rétention en calcium très significativement meilleure par rapport à ceux nourris au régime de PBD2-100% ($p < 0,001$).

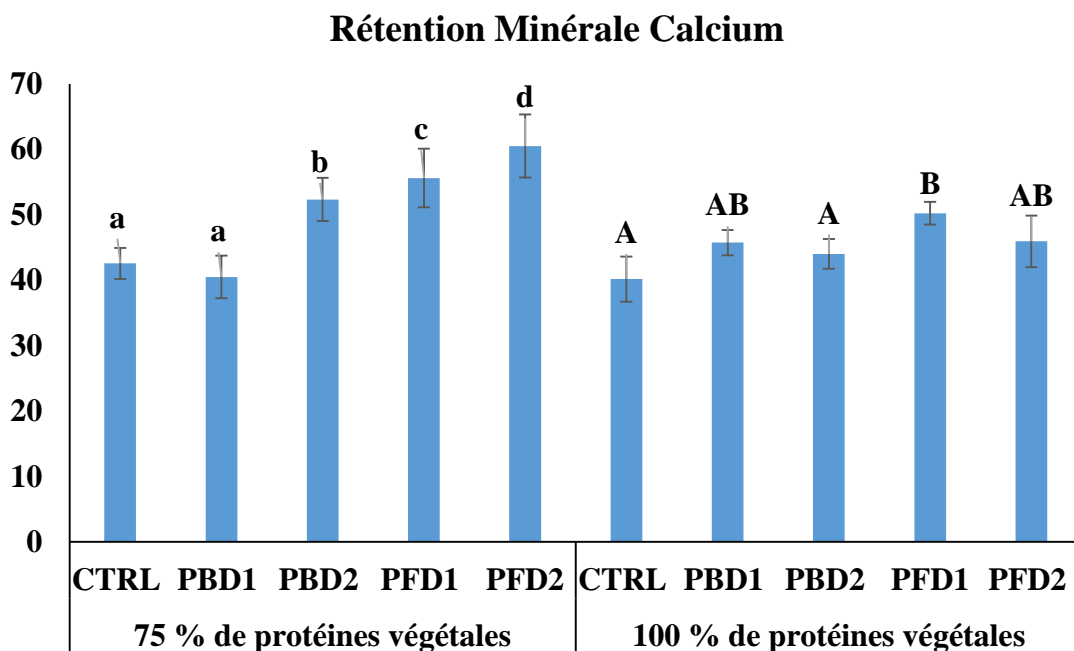


Figure 4: Influence des phytases sur la rétention minérale du Calcium du *C. gariepinus* soumis à différents régimes alimentaires

Les poissons nourris aux régimes témoins pour la rétention en potassium ont été significativement différents ($p < 0,05$). En effet, la rétention en potassium des poissons soumis au régime du CTRL-50% a été significativement supérieure à celle des sujet des régimes

CTRL-75% et CTRL-100%. Quant au régime contenant 75% de protéines, une amélioration de la rétention a été observée dans tous les régimes supplémentés à la phytase. En effet, le PFD2-75% a présenté la meilleure rétention tout en étant significativement supérieure ($p < 0,05$) au CTRL-75%. Par contre, aucune différence significative n'a été observée au sein des régimes contenant 100% de protéines végétales. On note toutefois une légère amélioration de la rétention au sein des régimes PBD1-100% et PBD2-100% (Figure : 5).

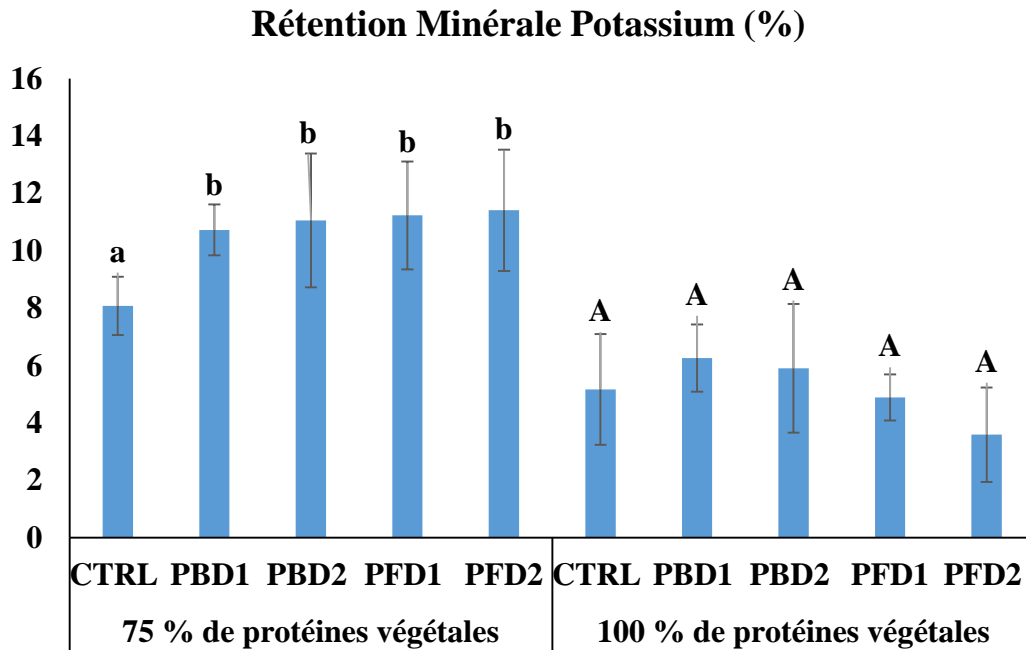


Figure 5: Influence des phytases sur la rétention minérale du Potassium du *C. gariepinus* soumis à différents régimes alimentaires.

Une différence significative a été obtenue pour la rétention du Magnésium au sein des régimes contrôles, en effet les rétentions des sujets des régimes CTRL-50% et CTRL-75% ont été significativement supérieures à celles du CTRL-100% ($p < 0,05$). De plus, le régime PFD2-75% présentant la meilleure rétention est significativement meilleur au régime CTRL-75% ($p < 0,05$). Le régime PBD1-75% bien que supplémenté en phytase bactérienne à 500 UFT/kg d'aliment, a été très significativement ($p < 0,01$) inférieure (Figure : 6) au régime PFD2-75% (contenant de la phytase fongique à 1000 UFT/kg d'aliment). La rétention du Magnésium chez les sujets nourris à 100% de protéines végétale a été inférieure au sein des régimes supplémentés en phytase par rapport au CTRL-100%.

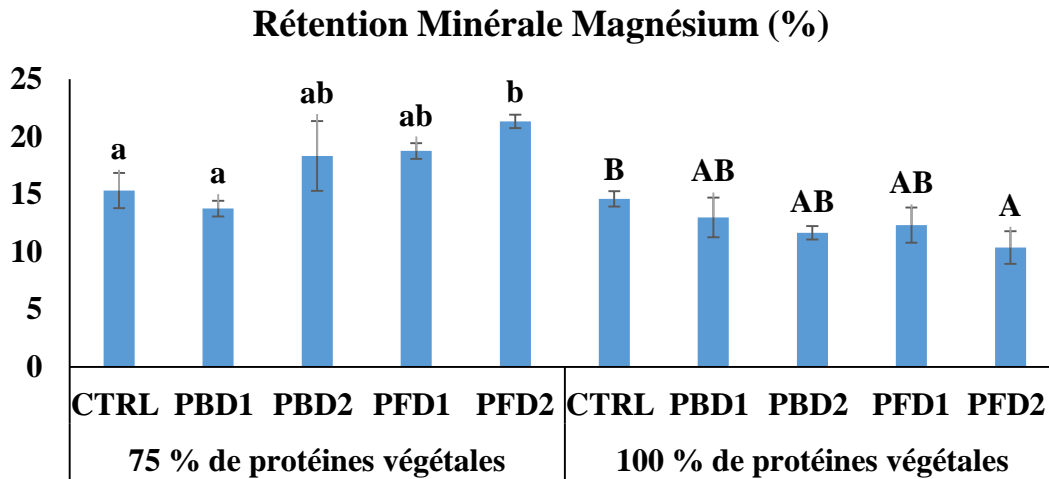


Figure 6: Influence des phytases sur la rétention minérale du Magnésium du *C. gariepinus* soumis à différents régimes alimentaires.

La rétention du phosphore chez les témoins CTRL-50% a été très significativement différente de celle des lots des régimes CTRL-75% et CTRL-100%. Les sujets nourris au régime PFD1-75% ont présenté la meilleure rétention du phosphore (Figure : 7). Cette valeur a été hautement significativement ($p < 0,001$) différente de celle du CTRL-75% ce qui traduit une meilleure rétention au sein de ce régime. Une différence hautement significative a été également établie entre les régimes PFD1-75% et PBD1-75% ($p < 0,001$). Pour les sujets soumis à une alimentation contenant 100% de protéines végétales, aucun effet de la phytase n'a été observé car la rétention du phosphore des poissons soumis aux régimes supplémentés en phytase a été inférieure à celle des individus du régime CTRL-100% (Figure 7).

Rétention Minérale Phosphore (%)

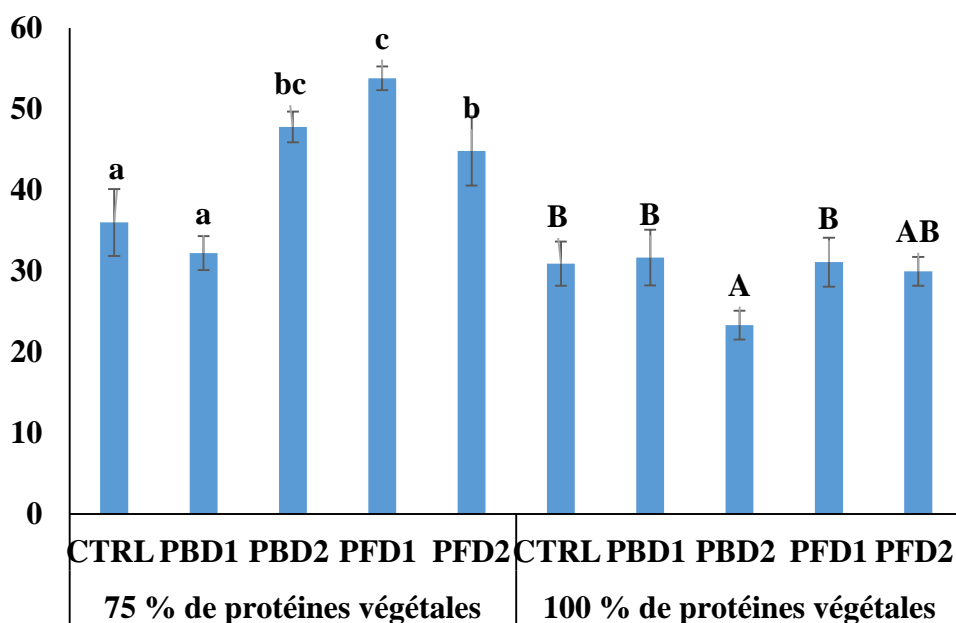


Figure 7: Influence des phytases sur la rétention minérale du Phosphore du *C. gariepinus* soumis à différents régimes alimentaires.

3.2.2.-Influence des régimes sur la composition corporelle

Quatre paramètres ont été utilisés afin d'évaluer la composition corporelle des sujets au cours de l'expérimentation. La composition protéique dans le corps entier n'a présentée aucune différence significative entre les régimes contrôles. En ce qui concerne les lipides, aucune différence significative n'a été observée entre les valeurs obtenues qu'il s'agisse des régimes contrôles que des régimes expérimentaux. Il a toutefois été noté que les meilleures compositions lipidiques ont été répertoriées dans les régimes contenant de la phytase notamment PBD1-75% et PBD1-100%. Les valeurs minimales ont été obtenues dans les régimes nourris à 100% de protéines (PFD2-100%). Les résultats obtenus pour la Matière Sèche et la Matière Minérale n'ont présentés aucune différence significative. Toutefois les résultats observés en général révèlent une teneur en Matière Sèche et Matière Minérale plus faible chez les sujets soumis au régime de protéines végétales à 100% par rapport à ceux soumis au régime à 75 % (Tableau 6).

3.3. Influence des régimes sur l'activité des enzymes digestives

3.3.1 Activité de l' α -amylases de l'estomac

L'activité de l' α -amylases de l'estomac a été significativement différente entre les lots des différents régimes expérimentaux. En effet, l'activité des sujets du régime CTRL-100% a été très significativement supérieur ($p < 0,01$) à celle des sujets des régimes CTRL-50% et CTRL-75%. L'activité la plus élevée au sein des régimes nourris à 75% de protéines a été observée au sein des lots du régime PFD1-75%. Cette activité maximale a été hautement supérieure à celle des poissons du régime CTRL-75% ($p < 0,001$). De plus, les sujets nourris aux régimes contenant de la phytase fongique (PFD1-75% et PFD2-75%) ont présentées une activité très significativement supérieure à celles des poissons soumis aux régimes contenant de la phytase bactérienne PBD1-75% et PBD2-75%. Pour le groupe nourris à 100% de protéines végétales, les activités des régimes CTRL-100 et PFD2-100% ont été semblables et très significativement plus élevées que celles des régimes PBD1-100% et PFD1-100%.

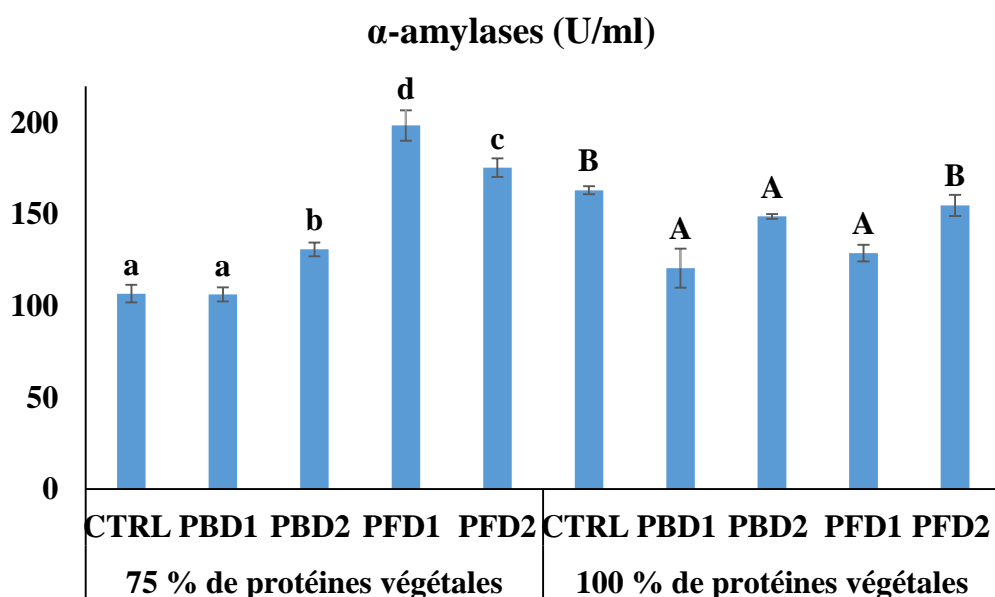


Figure 8: Activité de l' α -amylase chez le *C. gariepinus* soumis à différents régimes alimentaires.

3.3.2 Activité de la trypsine

Au sein des régimes contrôles, l'activité de la trypsine a été la plus importante chez les sujets soumis au CTRL-100. Cette activité a été hautement plus élevée ($p < 0,001$) que celles par les poissons des CTRL-50% et CTRL-75%. Les poissons nourris au régime PBD2-75% ont présenté la meilleure activité trypsique pour les régimes contenant 75% de protéines végétales.

Une différence hautement significative a été établie entre les activités au sein des régimes CTRL-75% et PBD2-75%.

En ce qui concerne les régimes alimentés à 100% de protéines végétales, aucune différence significative n'a été détectée (Figure 9).

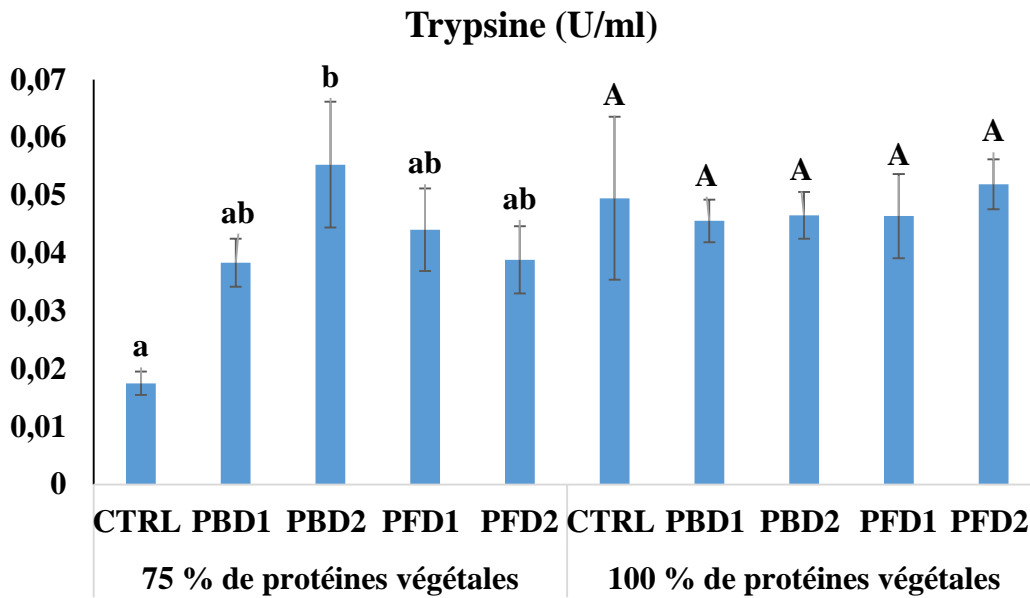


Figure 9: Activité de la trypsine chez le *C. gariepinus* soumis à différents régimes alimentaires.

4 DISCUSSION

4.1 Paramètres de croissance et d'utilisation alimentaire

Les performances zootechniques permettent d'évaluer l'état général des sujets soumis à l'expérimentation. Dans le cadre de la présente étude, l'utilisation de différents types de phytase à différentes doses a permis de mettre en évidence des différences importantes entre les régimes. Les témoins nourris à 50% de protéines végétales (50% de protéines animales) ont eu de meilleures performances de croissance et d'utilisation alimentaire que ceux nourris aux régimes contenant davantage de protéines végétales (CTRL-75% et CTRL-100%). Ceci pourrait s'expliquer par l'action des facteurs antinutritionnels contenu dans les protéines végétales et qui empêchent la biodisponibilité des nutriments au cours du processus de la digestion (Jorquera et al., 2017). Au sein des sujets nourris aux régimes alimentaires contenant 75% de protéines végétales, à l'exception des poissons du PBD1-75% (Phytase Bactérienne à 500 UFT/Kg d'aliment), une amélioration de l'ingestion alimentaire, du Gain de Poids et du Taux de Croissance Spécifique a été constatée en fonction de l'augmentation la dose de la phytase. D'après les observations de Kémigabo et al. (2018) sur l'effet de la supplémentation de la phytase sur les performances de croissance de *Clarias gariepinus*, l'incorporation d'une teneur plus élevée de phytase dans l'alimentation aurait un impact significatif sur l'ingestion de l'aliment et les performances pondérales des sujets. De même, une meilleure conversion alimentaire et une meilleure efficacité protéique ont été constaté au sein des poissons nourris aux aliments supplémentés en phytase fongique notamment PFD2-75%.

Il ressort de l'ensemble de nos observations que la supplémentation en phytase a contribué en général à améliorer les performances de croissance et d'utilisation alimentaire des poissons par rapport aux sujets témoins. De plus, la phytase fongique s'est révélée plus efficace que la phytase bactérienne pour l'aliment contenant 75% de protéines végétales. Au sein des régimes constitués exclusivement de protéines végétales (100%), contrairement aux précédentes observations, la phytase bactérienne a été plus active. Les sujets nourris au régime PBD2-100% ont présenté les meilleures performances de croissance notamment une efficacité de croissance de 46,5 % supérieure à celle des témoins (CTRL-100%). Une meilleure utilisation de l'aliment a été également observée dans ce régime par rapport aux autres. Il ressort de ces observations que les phytases bactériennes seraient beaucoup plus actives lorsque les teneurs en protéines végétales deviennent plus élevées, et cette observation est appuyée par une étude Akpoilih et al. (2017) chez le Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Somme toute, les meilleures

efficacités du Taux de Croissance Spécifique (23-46,5%) par rapport au témoin obtenues au sein des régimes contenant 100% de protéines végétales supplémentés de phytases démontre que l'utilisation de la phytase est nettement plus bénéfique au sein des régimes contenant exclusivement de la protéine végétale.

4.2 Rétention minérale

Le calcium joue un rôle fondamentale dans la physiologie osseuse et musculaire du poisson Akpoilih et *al.* (2019). Il fait partie des cations préférentiellement emprisonnées par l'acide phytique et rendu bio-indisponible pour la digestion des poissons (Borey, 2017). Une meilleure rétention du calcium est généralement associée à une faible incorporation en protéines végétales dans l'alimentation (Vielma et *al.* 2002). Cela explique les meilleures rétentions en calcium observées au sein des lots témoins de poissons nourris à 50% (CTRL-50%) de protéines comparés à ceux dont le régime est constitué davantage de protéines végétales (CTRL-75% et CTRL-100%). D'après Abo Norag et *al.* (2018), l'ajout de la phytase améliorerait la rétention des minéraux en général et celle du calcium en particulier dans les régimes des teneurs élevées en protéines d'origine végétale. Cette observation s'avère fondée pour les poissons nourris au sein des régimes contenant 75% de protéines végétales car à l'exception du PBD1-75%, une meilleure rétention du calcium a été observée au sein des autres régimes. Toutefois, pour les sujets nourris à 100% de protéines végétales, cela s'avère plus nuancé. En effet, bien qu'ayant présenté des rétentions plus élevées, seule la supplémentation en phytase d'origine fongique à 500 UFT/Kg a été meilleure que celle des témoins. Selon Kerovu et *al.* (2000) la présence d'importantes teneurs en protéine végétale limiterait l'action de la phytase sur les facteurs antinutritionnels. Pour le Potassium, la rétention a été meilleure au sein de tous les régimes supplémentés en phytase pour l'alimentation contenant 75% de protéines végétales contrairement à l'aliment contenant 100% de protéines végétales. En ce qui concerne le Magnésium, l'ajout de phytase n'a pas significativement amélioré la rétention de ce minéral chez les poissons soumis aux régimes supplémentés par rapport aux témoins.

Le phosphore est un minéral vital pour la croissance et le maintien des fonctions physiologiques des poissons (Nwanna et Oni, 2018). La rétention du phosphore serait meilleure chez les poissons nourris avec une ration contenant des ingrédients végétaux si une supplémentation de phytase est effectuée (Kémigabo et *al.*, 2018). Nos résultats sont en phase avec cette observation en ce qui concerne les poissons soumis aux régimes contenant 75% de protéines végétales. En effet une amélioration de la rétention par rapport aux sujets témoins a été observées. Cependant

lorsque les sujets sont nourris avec des protéines végétales exclusivement, aucune amélioration significative de la rétention en phosphore n'est observée.

4.3 Composition corporelle

Le contenu protéique obtenu au sein des régimes est semblable aux résultats des études antérieures chez le *Clarias gariepinus* de Toko (2007), Akpoilih *et al.* (2017) et Nwana et Oni (2018). Toutefois, les faibles teneurs protéiques observées au sein des régimes 100% pourraient s'expliquer par leur faible efficacité protéique. Selon Ekasari *et al.* (2019), l'efficacité protéique des régimes alimentaires influence la composition corporelle, notamment en protéine et en lipide de ces derniers. Il a été remarqué un impact significatif inversement proportionnel de la teneur en protéines sur la phytase fongique. En ce qui concerne les lipides, la teneur en lipides n'a pas significativement été différente entre les différents types et doses de phytases. Une influence de la phytase a été également observée au niveau de la matière sèche et aussi au niveau de la matière minérale. En effet, la phytase impacte positivement la composition corporelle en Matière Sèche et Minérale selon les observations de Kémigabo *et al.* (2018) chez le *C. gariepinus*.

4.4 Enzymes digestives

L' α -amylase joue un rôle essentiel dans l'hydrolyse de l'amidon. Le *C. gariepinus* étant omnivore, il utilise cette enzyme pour sa digestion (Sugita *et al.*, 1997). D'après Ali (2001), l'activité de l' α -amylase croît avec l'incorporation d'ingrédients végétaux dans la ration. Cette affirmation a été confirmée pour les sujets témoins au niveau desquels, l'activité de l'amylase a significativement été plus élevée au sein des lots nourris à 100% de protéine végétale que des lots alimentés avec des régimes contenant 50 et 75% de protéine végétale. L'incorporation à 75 % de protéines végétales au vu de nos résultats permettrait une meilleure activité de l'amylase (meilleure hydrolyse l'amidon) notamment au sein des régimes supplémentés en phytase fongiques (PFD1-75% et PFD2-75%). À l'opposé, l'apport exclusif de protéines végétales dans l'alimentation serait contre-productif pour l' α -amylase ce qui empêcherait l'hydrolyse de l'amidon en glucose directement utilisable pour les poissons (Uys, 1989).

Le rôle de la trypsine au sein des régimes témoins a été mis en évidence par une forte activité trypsique en fonction de la croissance de la teneur en protéines d'origine végétale de l'aliment. La trypsine est une enzyme digestive pouvant améliorer la digestion des aliments par hydrolyse des liaisons peptiques (Richir, 2004). L'activité de la trypsine est améliorée en présence de phytase (Médale et Kaushik, 2008). Cette amélioration de l'activité de la trypsine a été observée uniquement au sein des lots de poissons nourris aux régimes alimentaires constitués à 75% de

protéines végétales. Pour les poissons soumis à 100% de protéines végétales, la présence de la phytase n'a pas amélioré l'activité de la trypsine. Cela serait dû à la présence d'importantes teneurs en protéine végétale qui limiterait l'action de la phytase sur les facteurs antinutritionnels (Kerovuo et *al.*, 2000) et contribuerait en restreindre l'action de la trypsine.

CONCLUSION

La présente étude nous permet de conclure que la supplémentation de la phytase qu'elle soit d'origine bactérienne ou fongique dans des régimes alimentaires constitués partiellement des protéines d'origine végétale améliore les performances de croissance, le taux de conversion alimentaire, l'efficacité protéique et la rétention minérale des poissons. D'après les résultats obtenus, l'incorporation de 75 % de protéines végétales dans l'alimentation du poisson-chat Africain *Clarias gariepinus* serait sans incidences négatives sur les performances de croissance si une supplémentation en phytase (500 ou 1000 UFT/Kg d'aliment) est effectuée. Il ressort également qu'en cas d'utilisation exclusive des protéines végétales dans les régimes alimentaires (100%), l'effet de la supplémentation de la phytase bactérienne à 1000 UFT/Kg d'aliment pourrait améliorer de 46,5% la vitesse de croissance. De plus, les observations permettent de conclure que la phytase fongique a eu une activité plus efficace que la phytase bactérienne pour les performances de croissance et d'utilisation alimentaire à 75 % de protéines végétales.

En ce qui concerne la rétention minérale, pour les poissons nourris à 75 % de protéines végétales, une supplémentation en phytase, qu'elle soit d'origine bactérienne ou fongique permet une nette amélioration. Cependant, l'action de la phytase (fongique ou bactérienne) à 100% de protéines végétales n'a pas améliorée de manière significative la rétention minérale.

Le rôle de la phytase dans l'amélioration de l'activité des enzymes digestives tels que l' α -amylase et la trypsine a été mis en évidence au sein des sujets nourris à 75 % de protéines végétales. En ce qui concerne les sujets nourris à 100% de protéines végétales, l'ajout de la phytase n'a pas permis d'observer de différence pour les activités de l' α -amylase et de la trypsine.

Afin d'approfondir l'évaluation de la supplémentation en phytase sur la physiologie digestive chez le poisson chat africain, nous suggérons :

- la poursuite de l'expérimentation avec une durée d'étude plus longue afin d'évaluer les effets à plus long terme que dans notre étude,
- l'utilisation des plus faibles proportions de farine de poisson, soit de protéines végétales de 85% et 95%, par exemple,

- l'utilisation de doses plus importantes de phytase (1250, 1500, 2000 UFT/Kg d'aliment) afin d'étudier l'impact d'une augmentation de la dose de phytase sur les proportions élevées de protéines végétales,
- l'évaluation de la supplémentation d'autres types d'enzymes comme pepsine et chymotrypsine après une période de nourrissage plus étendue afin de détecter le mécanisme enzymatique responsable de l'amélioration des performances de croissance et la rétention minérale.
- l'évaluation des paramètres immunologiques des poissons soumis à l'action de la phytase.

Bibliographie :

Abo Norag, M. A., El-Shenawy, A. M., Fadl, S. E., Abdo, W. S., Gad, D. M., Rashed, M. A., & Prince, A. M. (2018). Effect of phytase enzyme on growth performance, serum biochemical alteration, immune response and gene expression in Nile tilapia. *Fish and Shellfish Immunology*, 80(May), 97–108. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.05.051>

Akpoilih, B. U., Omitoyin, B. O., & Ajani, E. K. (2017). Phosphorus utilization in juvenile *Clarias gariepinus* fed phytase-supplemented diets based on soya bean (oil-extracted) and full fat (roasted): A comparison. *Journal of Applied Aquaculture*, 29(2), 126–151. <https://doi.org/10.1080/10454438.2016.1276000>

Ali Zulfikar (2001) Dietary protein and energy interactions in African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). Thèse de doctorat. Institute of Aquaculture, University of Stirling. 217 p

Azaza, M. S., Mensi, F., Imorou Toko, I., Dhraief, M. N., Abdelmouleh, A., Brini, B., & Kraïem, M. M. (2006). Effets de l'incorporation de la farine de tomate dans l'alimentation du tilapia du Nil (*Oreochromis niloticus* L.1758) en élevage dans les eaux géothermales du Sud Tunisien. *Bulletin de L'Institut National Des Sciences et Technologies de La Mer de Salammbô*, 33, 47–58.

Aznan, A. S., Lee, K. L., Low, C. F., Iberahim, N. A., Wan Ibrahim, W. N., Musa, N., Musa, N. (2018). Protective effect of apple mangrove *Sonneratia caseolaris* extract in *Edwardsiella tarda*-infected African catfish, *Clarias gariepinus*. *Fish and Shellfish Immunology*, 78(September 2017), 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2018.04.033>

Ble, M. C., Otchoumou, K. A., Alla, Y. L., & Kaushik, S. (2011). Utilisation des farines végétales dans l'alimentation des poissons d'élevage en milieu tropical. *Fiches Techniques et Documents de Vulgarisation*, 11, 7–11.

Borey, M. (2017). Effets de l'alimentation végétale sur les capacités digestives de la truite arc-en-ciel et sur le micro biote associé à sa muqueuse digestive en fonction de son génotype. Thèse

de doctorat en Sciences agronomiques, biotechnologies agro-alimentaires. Université de Pau et des Pays de l'Adour. 350p.

Burel, C., Medale, F. (2014). Protein sources in animal feed. Les sources de protéine dans l'alimentation du bétail. Oilseeds & fats crops and lipids. 21-4. DOI: 10.1051/ocl/2014013.

Cangussu, A. S. R., Aires Almeida, D., Aguiar, R. W. de S., Bordignon-Junior, S. E., Viana, K. F., Barbosa, L. C. B., ... Lima, W. J. N. (2018). Characterization of the Catalytic Structure of Plant Phytase, Protein Tyrosine Phosphatase-Like Phytase, and Histidine Acid Phytases and Their Biotechnological Applications. *Enzyme Research*, 2018, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2018/8240698>

Chen, A., Bu, X., Yu, S., Luo, C., Wang, Y., Zhou, Q., & Yang, Y. (2018). Optimum level of dietary monocalcium phosphate determined based on optimal growth and vertebrae phosphate content of juvenile Ussuri catfish, *Pseudobagrus ussuriensis*. *Aquaculture Nutrition*, 24(5), 1484–1493. <https://doi.org/10.1111/anu.12685>

Ekasari, J., Setiawati, R., Ritonga, F. R., Setiawati, M., & Suprayudi, M. A. (2019). Growth and health performance of African catfish *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) juvenile fed with graded levels of biofloc meal. *Aquaculture Research*, 50(7), 1802–1811. <https://doi.org/10.1111/are.14059>

Ekele, I., Nlebedum, U., Okechukwu, N., & Isaiah, A. (2014). The stomach of the adult african catfish (*Clarias gariepinus*, Siluriformes: Clariidae) in farm conditions: a morphological and mucin histochemistry analysis. *histología*, 55(1), 4–10.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2018. La Situation Mondiale des pêches et de l'aquaculture. 254p. Retrieved from www.fao.org/publications/fr/

Francis G, Makkar HP, Becker K (2001). Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture* 199:197–227. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00526-9.

Hai, F. I., Visvanathan, C., Boopathy, R., (2018). Sustainable Aquaculture. Applied Environmental Science and Engineering for a Sustainable Future ISBN 978-3-319-73256-5 ISBN 978-3-319-73257-2 (eBook) <https://doi.org/10.1007/978-3-319-73257-2>.

Holm, J. , Holm, A., (1988). Pidgins and Creoles. Cambridge University Press, volume 1

Ikpegbu, E., Nlebedum, U., & Ibe, C. (2014). Morpho-histochemistry of the distal intestines and rectum of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Agricultural Sciences, Belgrade*, 59(3), 287–300. <https://doi.org/10.2298/jas1403287i>

Isyagi, N.A. (2007). The Aquaculture Potential of Indigenous Catfish (*Clarias gariepinus*) in the Lake Victoria Basin, Uganda. Degree of Doctor of Philosophy. University of Stirling. 277p

Jackson, L,S.,M.Li and E.H.Robinson , (1996). Use of microbial phytase in catfish, *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. *Journal of World Aquatic Science*.309-313p. DOI:101111/J.17497345.1996.TB00613x.

Jimoh, W. A., & Aroyehun, H. T. (2011). Evaluation of cooked and mechanically defatted sesame (*Sesamum indicum*) seed meal as a replacer for soybean meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*). *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 11(2), 185–190. <https://doi.org/10.4194/trjfas.2011.0202>

Kemigabo, C., Abdel-Tawwab, M., Lazaro, J. W., Sikawa, D., Masembe, C., & Kang’Ombe, J. (2018). Combined effect of dietary protein and phytase levels on growth performance, feed utilization, and nutrients digestibility of African catfish, *Clarias gariepinus* (B.), reared in earthen ponds. *Journal of Applied Aquaculture*, 30(3), 211–226. <https://doi.org/10.1080/10454438.2018.1439425>

Kerovu, J., Lappalainen, I., & Reinikainen, T. (2000). The metal dependence of *Bacillus subtilis* phytase. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 268(2), 365–369. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.2131>

Koffi, Y. J. N. (2010). Effets des phytases d’origine bactérienne et fongique sur la croissance des poulets de chair au Sénégal. Thèse de Doctorat. Ecole Inter - Etats Des Sciences et Médecine Vétérinaires. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. 125p.

Lazard, J. (2014). La diversité des piscicultures mondiales illustrée par les cas de la Chine et du Nigeria. *Cahier d’Agriculture*, vol. 23, n8 1.10p. doi: 10.1684/agr.2014.0680

Lerot, B. (2006). Les éléments minéraux. *Source*, (V), 1–34. p <https://www.doc-developpement-durable.org>

Maougal, T.R. (2014). Contribution des phytases bactériennes à l'adaptation de *Phaseolus vulgaris* à la faible disponibilité de phosphore en sols méditerranéens. Doctorat en Sciences. Université Constantine 1. 264p.

Médale, F., & Kaushik, S. (2008). Evolution des recherches en nutrition piscicole à l'INRA: Substitution des produits d'origine marine dans l'alimentation des poissons d'élevage. *Productions Animales*, 21(1), 87–94.

Mellef, J., Dridi, A., Bahri, L. El, & Belhaj, O. (2010). Revue des effets de l'ajout de phytase microbienne sur la biodisponibilité du phosphore et les performances des volailles. *Revue Méd. Vét*, 161(7)(7), 342–352. Retrieved from http://www.revmedvet.com/2010/RMV161_342_352.pdf

Moawad, U., Awaad, A., & Tawfik, M. (2016). Histomorphological, histochemical, and ultrastructural studies on the stomach of the adult African catfish (*Clarias gariepinus*). *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 5(3), 155. <https://doi.org/10.1016/j.jmau.2016.08.002>

Nwanna, L. C., Adebayo, I. A., & Omitoyin, B. O. (2009). Phosphorus requirements of African catfish, *Clarias gariepinus*, based on broken-line regression analysis methods. *ScienceAsia*, 35(3), 227–233. <https://doi.org/10.2306/scienceasia513-1874.2009.35.227>

Nwanna, L., & Oni, O. (2018). Determination of Optimum Calcium and Phosphorous Ratio for the Production of African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822). *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 22(5), 689. <https://doi.org/10.4314/jasem.v22i5.12>

Ossey, Y. B., Koumi, A. R., Koffi, K. M., Atse, B. C., & Kouame, L. P. (2012). Use of soybean, bovine brain and maggot as sources of dietary protein in larval *Heterobranchus longifilis* (Valenciennes, 1840). *Journal of Animal & Plant Science*, 15(1), 2099–2108.

Paugy, D., C. Leveque & G. G. Teugels. 2003a. - Faune des poissons d'eaux douces et saumâtres de l'Afrique de l'Ouest, Vol. 1. Collection Faune et Flore Tropicales n°40. Tervuren: Musée Royale de l'Afrique Centrale; Paris (France): Muséum National d'Histoire Naturelle;

- Paris (France): Institut de Recherche pour le Développement. 457 p.
- Paugy, D., C. Leveque & G. G. Teugels. 2003b. - Faune des poissons d'eaux douces et saumâtres de l'Afrique de l'Ouest, Vol. 2. Collection Faune et Flore Tropicales n°40. Tervuren: Musée Royale de l'Afrique Centrale; Paris (France): Muséum National d'Histoire Naturelle; Paris (France): Institut de Recherche pour le Développement. 815 pp.
- Rasowo, J., Okoth, O. E., & Ngugi, C. C. (2007). Effects of formaldehyde, sodium chloride, potassium permanganate and hydrogen peroxide on hatch rate of African catfish *Clarias gariepinus* eggs. *Aquaculture*, 269(1–4), 271–277. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.04.087>
- Richir, J. (2004). La valorisation des sous-produits agro-industriels dans l'alimentation du poisson-chat africain, *Clarias gariepinus*, au Rwanda. Mémoire de Licence Sciences biologiques. Facultés Universitaires Notre-Dame De La Paix Namur. 88p
- Saithi, S., & Tongta, A. (2016). Phytase Production of *Aspergillus Niger* on Soybean Meal by Solid-State Fermentation Using a Rotating Drum Bioreactor. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 11, 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.aaspro.2016.12.005>
- Singh, B., & Satyanarayana, T. (2015). Fungal phytases: Characteristics and amelioration of nutritional quality and growth of non-ruminants. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 99(4), 646–660. <https://doi.org/10.1111/jpn.12236>
- Sourabié, A., Mandiki, S. N. M., Geay, F., Sene, T., Toguyeni, A., & Kestemont, P. (2018). Fish proteins not lipids are the major nutrients limiting the use of vegetable ingredients in catfish nutrition. *Aquaculture Nutrition*, 24(5), 1393–1405. <https://doi.org/10.1111/anu.12676>
- Spinelli, J. Houle, R. Wekell, J. (1983). The effect of phytates on the growth of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) fed purified diets containing varying quantities of calcium and magnesium. *Aquaculture*, Volume 30, Issues 1- 4, 71 - 83 p.
- Toko, I. I. (2007). Amélioration de la production halieutique des trous traditionnels à poissons (whedos) du delta de l'Ouémé (sud Bénin) par la promotion de l'élevage des poissons chats

Clarias gariepinus et *Heterobranchus longifilis*. Thèse de Doctorat. Département de Biologie. Facultés Universitaires Notre-Dame de la Paix. 128p

Verreth, J. A. J., Torreale, E., Spazier, E., Van der Sluiszen, A., Rombout, J. H. W. M., Booms, R., & Segner, H. (1992). The Development of a Functional Digestive System in the African Catfish *Clarias gariepinus* (Burchell). In *Journal of the World Aquaculture Society* (Vol. 23). <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1992.tb00792.x>

Vielma, J. Ruohonen, K and Peisker M. (2002). Dephosphorylation of two soy proteins increases phosphorus and protein utilization by rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. Volume 204, Issues 1–2. 145-156p.

Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Rémy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, G., Van Loon, A. P. G. M. (1999). Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): Catalytic properties. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(2), 367–373.

Zouaoui, M. (2018). Étude de l'impact des enzymes exogènes sur la digestibilité des acides aminés chez le porc et le poulet : approche par méta-analyse. Université de Laval. 191p.