

Utilisation des enzymes exogènes en alimentation porcine et avicole

Yves Beckers et Fabien Piron
Unité de Zootechnie
Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège
Passage des Déportés, 2, B-5030 Gembloux, Belgique

Introduction

Les porcs et les volailles sont considérés comme des transformateurs efficaces des aliments en produits animaux consommables par l'homme. Leur efficacité est particulièrement élevée pour extraire l'énergie des hydrates de carbone de réserve (*i.e.* amidon) afin de satisfaire leurs besoins énergétiques d'entretien et de production. Nonobstant beaucoup de nutriments des aliments ne sont pas totalement digérés par ces animaux, ce qui limite leur utilisation dans les formules alimentaires et s'accompagne de rejets, parfois conséquents, dans l'environnement.

Face à ces réalités, les formules alimentaires dédiées aux porcs et volailles se basent principalement sur une ou plusieurs sources d'amidon combinées à une source de protéines : le maïs et le tourteau de soja constituent les aliments standards pour nourrir ces animaux. Ces associations alimentaires ont toujours démontré une grande efficacité alimentaire associée à une efficacité économique élevée.

Depuis plus de 20 ans, l'usage des enzymes exogènes est courant en alimentation animale et cette technologie ne cesse de croître en masse et valeur monétaire car elle ouvre beaucoup de perspectives en matière d'alimentation animale. Les objectifs de cette communication sont de synthétiser les effets positifs de l'usage des enzymes exogènes dans l'alimentation des porcs et des volailles à l'aide de quelques exemples et de présenter les avancées attendues pour les années futures.

L'usage des enzymes exogènes en alimentation animale

Quatre raisons essentielles justifient les usages des enzymes exogènes en alimentation animale :

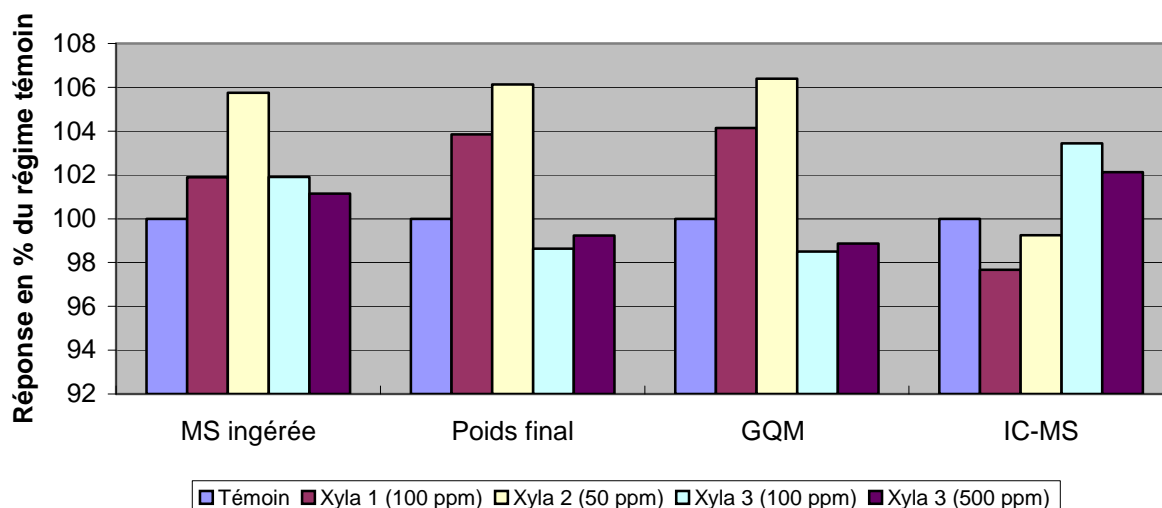
1. Pour inhiber l'action des facteurs antinutritionnels contenu dans les aliments et qui ont des effets délétères sur le processus de la digestion et la santé de l'animal ;
2. Pour augmenter l'accessibilité des nutriments contenus dans les aliments par les enzymes endogènes de l'animal ;
3. Pour palier l'absence chez l'animal d'enzyme capable d'hydrolyser des liaisons chimiques particulières ;
4. Pour palier le manque d'enzyme au niveau d'un tube digestif immature (*i.e.* jeunes animaux).

Le plus souvent, les préparations enzymatiques employées en alimentation animale cumulent plus d'une raison.

Enzymes exogènes – Les carbohydrases

Dans nos régions, les céréales à paille constituent des aliments de choix pour l'alimentation des porcs et des volailles. En effet, leur culture y est très répandue et ces céréales possèdent des qualités nutritionnelles indéniables liées à l'importance de leur contenu amylicé. Elles peuvent en conséquence représenter jusqu'à pratiquement 70 % du régime ingéré par les porcs et les volailles. Toutefois les graines de ces céréales contiennent des quantités non négligeables de composés appartenant au groupe des hémicelluloses (arabinoxylanes, β -glucanes) et non digestibles par les enzymes endogènes des animaux. Ces molécules ingérées massivement, lors de l'emploi des céréales à paille, ont des effets délétères sur les performances animales et les conditions d'ambiance dans les ateliers de production, voire conduisent dans certains cas à des déclassements de carcasses à l'abattoir (théorie de la viscosité). D'autre part, les hémicelluloses participent à la constitution des membranes des cellules végétales et s'opposent en conséquence à l'action des enzymes endogènes de l'animal sur les constituants intracellulaires : elles pénalisent donc la digestion des autres constituants (effet cage). Ces hémicelluloses sont en conséquence qualifiées de facteurs anti-nutritionnels chez le porc et la volaille.

Pour remédier à ces défauts, il est usuel d'incorporer dans les régimes utilisant massivement les céréales viscosantes des enzymes exogènes capables d'inhiber ces facteurs antinutritionnels. Les préparations enzymatiques ajoutées ont pour première fonction d'hydrolyser ces hémicelluloses en polysaccharides de plus petites tailles de manière à réduire fortement, voire annuler, les effets négatifs de ces molécules sur le fonctionnement du tube digestif des animaux. Classiquement, l'utilité de ces enzymes est démontrée lors d'essais expérimentaux comparant les performances de croissance des animaux alimentés avec un régime supplémenté ou non en enzymes¹ (graphique 1).



Graphique 1. Performances zootechniques de poulets de chair âgés de 7 à 28 jours ingérant un régime riche en froment (65 % de la MS) supplémenté ou non en xylanase (résultats exprimés par rapport aux valeurs du régime témoin, valeur du témoin = 100 pour chaque paramètre).

Comme l'illustre le graphique 1, les effets bénéfiques des hémicellulases s'expriment de manière variable sur les performances de croissance : ingestion, gain quotidien moyen et indice de consommation. Les xylanases et les glucanases sont à présent largement utilisées avec des régimes contenant du blé, de l'orge, du seigle et du triticale chez les porcs et les volailles afin de stabiliser, voire d'améliorer, la valeur énergétique et protéique du régime. Nonobstant, l'efficacité de ces enzymes est variable en fonction du scénario alimentaire, de la nature de l'enzyme (graphique 1 et référence 2), de l'activité microbienne dans le tube digestif, de l'âge des animaux, des traitements subis par les aliments³ ...

Leur usage est particulièrement préconisé lorsque le maïs se voit substituer par une autre céréale dans le régime⁴ ou lorsque le tourteau de soja est substitué par une autre source de protéines⁵ ⁶. Bien qu'initialement dédiées aux céréales viscosantes, de nombreux travaux ont démontré les intérêts des carbohydrases dans des régimes basés sur le maïs⁷.

A côté d'une justification technico-économique de ces enzymes, d'aucuns démontrent que leurs emplois permettent aussi de réduire de manière non négligeable l'incidence environnementale des productions animales⁸. Par exemple, les enzymes capables d'hydrolyser les hydrates de carbone de structure procurent le moyen d'utiliser davantage de co-produits industriels réputés peu digestibles chez le porc (tableau 1) et la volaille.

Tableau 1. Effet d'une supplémentation en xylanase sur l'énergie digestible (Mcal/kg MS) des co-produits du blé chez le porc⁹.

Co-produits	ED mesurée au niveau iléal		ED mesurée au niveau fécal	
	Sans xylanase	Avec xylanase	Sans xylanase	Avec xylanase
Millrun	2,42	3,35	2,65	3,56
Middlings	2,09	1,89	2,95	3,01
Shorts	2,43	2,66	2,99	3,19
Screening	2,35	2,45	3,26	3,31
Bran	2,61	3,01	2,61	3,11

Enzymes exogènes – Les phytases

La plupart des graines contiennent des quantités appréciables de phosphore. Cependant, la majorité de ce phosphore est peu assimilable par les porcs et les volailles (de 12 à 50 %) car il se trouve sous la forme d'acide phytique ou phytate (60 à 80 % du phosphore), cette molécule constituant le principal réservoir en phosphore lors de la germination des graines : l'acide phytique contient 282 g de P/kg.

Pour satisfaire les besoins en phosphore des animaux, une complémentation avec une source minérale de phosphore est dès lors pratiquée. Les conséquences de cette pratique sont doubles. D'une part, la complémentation minérale a un impact sur le coût de l'alimentation et, d'autre part, les porcs et les volailles rejettent des quantités importantes de phosphore via leurs déjections, ce qui pose un problème environnemental dans les régions à forte concentration d'élevages de monogastriques. Des données montrent que chaque porc commercialisé à l'abattoir aura rejeté entre 1 et 1,3 kg de phosphore durant sa vie car il ne retient que 36 %, en moyenne, du phosphore ingéré et excrète 55 % par la voie fécale et de l'ordre de 9 % par la voie urinaire¹⁰.

Les phytases sont des enzymes capables d'extraire le phosphore du phytate et elles sont présentes dans les végétaux ou synthétisés par les micro-organismes, voire certains tissus animaux.

Aux exceptions du blé, du seigle et du triticale (et de l'orge), les phytases végétales ont peu d'importances pratiques en alimentation animale. En effet, elles se révèlent très sensibles aux traitements thermiques appliqués lors de la fabrication des aliments (*i.e.* la granulation) et peu actives à des pH acides.

Les phytases microbiennes sont synthétisées par des bactéries, des levures et des champignons. Grâce aux progrès du génie génétique et la pression de certaines législations sur les rejets de phosphore dans l'environnement, les phytases commerciales, fongiques pour la majorité (*Aspergillus niger* et *Peniophora lycci*), se sont révélées très intéressantes dès le début des années 90 dans l'alimentation des porcs¹¹ et des volailles¹². A présent, elles sont incluses à raison de 500 Unités/kg au minimum dans la majorité des régimes dédiés aux porcs et aux volailles. Les phytases fongiques agissent principalement au niveau de l'estomac du porc et du jabot de la volaille.

Aux doses usuelles, l'ajout de phytases dans les régimes des porcs et des volailles permet de pratiquement doubler la digestibilité apparente du P et de diminuer son excrétion de plus de 30 %¹³. Cette pratique permet de diminuer de manière notable les concentrations en phosphore total des régimes des porcs (tableau 2) et des volailles¹⁴, et par voie de conséquence de diminuer la demande en phosphore non organique, tout en assurant la couverture des besoins des animaux en cet élément.

Tableau 2. Effet des phytases sur les performances de croissance, les teneurs plasmatiques en phosphore et les teneurs en cendres (CT) des os chez le porc ingérant un régime à base de maïs et de tourteau de soja¹⁵.

	Régimes			
	P+	P-	P- plus 500 FTU	P- plus 1000 FTU
<u>Post-sevrage (10 - 22 kg)</u>				
P total (g/kg)	5,7	4,0	4,0	4,0
P non phytique (g/kg)	2,4	0,8	0,8	0,8
GQM (kg/j)	0,54	0,43	0,48	0,48
MSI (kg/j)	1,08	1,09	1,06	1,02
P plasmatique (mmol/l)	3,61	1,59	2,20	2,50
<u>Croissance (23 – 55 kg)</u>				
P total (g/kg)	5,3	3,6	3,6	3,6
P non phytique (g/kg)	2,3	0,7	0,7	0,7
GQM (kg/j)	0,87	0,60	0,73	0,77
MSI (kg/j)	2,29	1,96	2,06	2,14
P plasmatique (mmol/l)	2,24	2,19	2,22	2,23
CT des os (%)	56,4	52,0	53,6	55,2
<u>Finition (53 – 90 kg)</u>				
P total (g/kg)	5,1	3,4	3,4	3,4
P non phytique (g/kg)	2,3	0,6	0,6	0,6
GQM (kg/j)	0,92	0,76	0,80	0,86
MSI (kg/j)	2,97	2,94	2,98	2,95
P plasmatique (mmol/l)	2,32	2,27	2,26	2,27
CT des os (%)	59,0	56,7	58,4	57,5

L'ajout de phytases aux régimes s'accompagne dans certaines études d'un effet positif sur la digestibilité des acides aminés dans l'intestin grêle chez les porcs et les volailles, l'énergie métabolisable des régimes des volailles et sur la digestibilité du calcium alimentaire chez ces animaux^{11 12}. D'autres travaux n'aboutissent cependant pas à de telles conclusions.

Il est manifeste que les phytates sont capables d'interagir avec d'autres molécules comme les protéines, les cations en formant des complexes insolubles. De ce point de vue, les phytases peuvent limiter ces réactions en détruisant partiellement ou totalement l'acide phytique en inositol et ions phosphates avant la formation des complexes insolubles. D'autres travaux ont aussi montré que les phytates étaient responsables d'une augmentation des sécrétions endogènes d'acides aminés dans le tube digestif du poulet et que les phytases s'opposaient à cette perte¹⁶.

Le supplément d'énergie métabolisable chez la volaille (3 % en moyenne¹²) consécutif à l'ajout de phytases serait induit par un supplément de digestibilité de l'ensemble des entités de la matière organique (protéine, lipides et amidon). Un tel effet sur l'énergie digestible des régimes du porc semble moins évident¹¹.

Enfin, il semble que les phytates et les phytases aient des effets manifestes sur la balance acide-base au niveau du tube digestif en modulant les excrétions de sodium chez les volailles: les phytates les augmentent alors que les phytases les diminuent¹².

Il est manifeste que l'efficacité des phytases dépend de la source mais aussi des aliments constitutifs du régime et plus précisément des interactions entre le calcium avec les phytates et les phytases¹⁷. Etant donné qu'une molécule de phytate est capable de lier jusqu'à 5 atomes de calcium, ces molécules influencent non seulement la disponibilité du phosphore mais aussi très certainement celle du calcium chez les porcs et les volailles. D'autre part, il est démontré que les phytases agissent d'autant mieux que le rapport Ca : P du régime est proche de 1.

Les premières phytases utilisées en pratique étaient d'origine fongique, des données montrent que les phytases bactériennes (*E. coli*) seraient plus efficaces pour extraire le phosphore des phytates, notamment grâce à leur plus grande résistance à la protéolyse leur donnant la possibilité de s'exprimer aussi dans l'intestin grêle. Pour être complet citons encore des plantes génétiquement modifiées de manière à produire les phytases d'origine bactérienne¹⁸.

A ce stade, les phytases disponibles sur le terrain seraient capables d'extraire moins de 35 % chez la volaille¹² et de l'ordre de 50 % chez le porc¹¹ du phosphore des phytates. La mise à disposition de phytates capables d'extraire davantage de phosphore laisse présager de réelles avancées dans le futur concernant l'alimentation en phosphore des porcs et des volailles. Ces enzymes permettront non seulement de limiter les rejets de phosphore dans l'environnement, mais aussi d'économiser les ressources minérales non renouvelables de phosphore¹⁹.

Enzymes exogènes : Les protéases, amylases et lipases

Comme c'est actuellement couramment le cas pour des enzymes qui ne sont pas sécrétées par les porcs et les volailles (phytases, xylanases, bêta-glucanases...), il est possible d'ajouter des enzymes exogènes d'origine bactérienne ou fongique dans l'alimentation des porcs et des volailles afin de renforcer leur potentiel enzymatique. Les conséquences attendues sont principalement d'améliorer les performances animales par rapport à une situation où la supplémentation en enzymes exogènes n'est pas réalisée.

La majorité des études relatives aux effets nutritionnels des protéases, amylases et lipases exogènes portent sur l'emploi de mélanges de plusieurs enzymes (le plus souvent une xylanase, une amylase et une protéase). Un plus petit nombre de travaux porte sur l'emploi isolé d'une de ces enzymes.

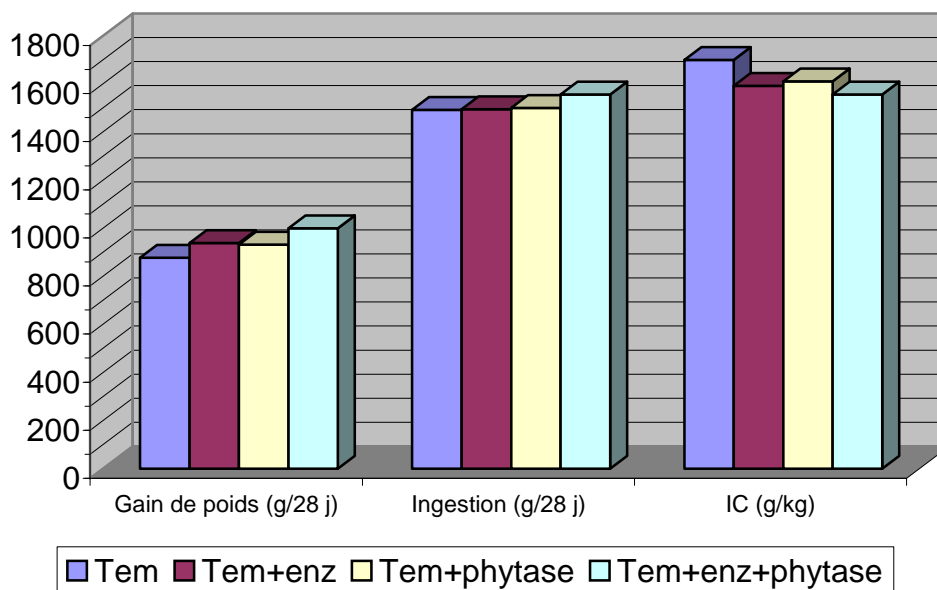
Dans le cadre de l'emploi des protéases exogènes, les aliments ciblés sont classiquement les protéagineux, les oléoprotéagineux et les co-produits de céréales riches en protéines²⁰. Il a

été montré que certaines protéases fongiques et bactériennes pouvaient inactiver *in vitro* les facteurs antinutritionnels (les inhibiteurs de trypsine et la lectine) des fèves crues de soja^{20 21}. De même, des protéases peuvent réduire les effets immunologiques de certaines protéines²⁰.

Enzymes exogènes : Les mélanges d'enzymes

De nombreux travaux ont montré l'intérêt nutritionnel de la supplémentation enzymatique des régimes des porcs et des volailles. A côté de ceux se focalisant sur une seule activité enzymatique, d'autres travaux s'intéressent à la combinaison de plusieurs activités enzymatiques. Le plus souvent les combinaisons portent sur une phytase associée à une enzyme ayant une action sur les hydrates de carbone non amylacés, voire une protéase et une amylase. De ces travaux, il ressort que les combinaisons de 2 et plus activités enzymatiques peuvent donner des effets synergiques, additifs voire antagonistes sur les performances animales !

Le graphique 2 montre par exemple les effets synergiques mesurés lors de l'association d'une phytase et d'un mélange de xylanase, amylase et protéase (enz dans le graphique 2) sur les performances de croissance du poulet de chair ingérant un régime à base de maïs, de seigle et de tourteau de soja entre 1 et 28 jours d'âge²².



Graphique 2. Effets d'un mélange d'enzymes sur les performances de croissance du poulet de chair.

D'autres travaux montrent que l'emploi des combinaisons enzymatiques se révèle particulièrement intéressant pour maintenir les performances animales recevant des régimes sub-carencés en énergie, protéines, minéraux (tableau 3)... et ce même dans un scénario alimentaire maïs - tourteau de soja^{23 24 25}.

Tableau 3. Effet de la supplémentation enzymatique sur les performances de croissance des porcs recevant un régime sub-carencé ou non en énergie digestible et en lysine ²⁶.

	Régimes*			
	RNC	RC	RC + enz1	RC + enz2
Croissance (g/j)	905 ^a	762 ^b	812 ^{ab}	872 ^a
Ingestion (g/j)	2325	2325	2295	2363
Crois./Inges. (g/g)	0,39 ^a	0,33 ^b	0,35 ^{ab}	0,37 ^a

* RNC : régime non carencé, RC : régime carencé, RC + enz 1 et 2 : régime carencé plus xylanase, glucanase et cellulase.

Un cocktail contenant une xylanase, une amylase et une protéase pourrait agir favorablement via une amélioration de la solubilisation des protéines et de l'amidon dans le chyme gastrique, ce qui réduirait la sécrétion de pepsine et d'HCl et entraînerait une diminution de la sécrétion intestinale de mucine et donc une diminution des pertes endogènes et une amélioration des digestibilités apparentes de certains acides aminés²⁷. De même, l'emploi d'un cocktail contenant une xylanase, une amylase et une protéase permet de limiter l'activité de la microflore intestinale et de réduire les pertes endogènes d'azote²¹.

Quelles enzymes pour demain ?

La recherche devra poursuivre son travail de compréhension de l'action des différents enzymes et de leur mélange sur la mise à disposition pour le métabolisme animal des nutriments contenus dans les aliments. Elle permettra de définir les scénarios alimentaires favorisant l'action bénéfique des préparations enzymatiques tant sur les performances animales que sur les rejets dans l'environnement. Un travail conséquent sera certainement de pouvoir transposer l'effet enzymatique en termes de supplément d'énergie métabolisable, d'acides aminés digestibles, de phosphore disponible selon le scénario alimentaire. Cette étape est cruciale pour que la formulation alimentaire au moindre coût puisse bénéficier pleinement des avantages des enzymes exogènes en alimentation porcine et avicole.

Le développement des cocktails enzymatiques ouvre la porte à une utilisation plus importante d'aliments secondaires et de co-produits industriels actuellement peu employés chez les volailles et les porcs.

Les enzymes de demain devront aussi pouvoir s'exprimer efficacement sur les hydrates de carbone de structure solubles et insolubles³, voire préférentiellement dans certaines parties du tube digestif des porcs et des volailles. Leur pH optimal d'activité²⁸ et leur résistance à la digestion sont des caractéristiques essentielles à leurs succès. La mise à disposition de préparations enzymatiques thermorésistantes, mais aussi actives aux températures corporelles des animaux, constituera un avantage certain lors de la fabrication de régimes devant subir un traitement thermique.

Les enzymes exogènes de demain permettront très certainement de piloter la flore microbienne colonisant le tube digestif des porcs et des volailles. Le contrôle indirect des micro-organismes via les nutriments disponibles à un endroit donné du tube digestif est très certainement d'application, bien que peu documenté quant aux effets sur les performances animales²⁹. Certaines enzymes pourront être vraisemblablement utilisées comme facteur antimicrobien en s'opposant à la fixation des micro-organismes aux muqueuses intestinales, voire en induisant la lyse de la paroi des micro-organismes, en modifiant la flore compétitive induite par les produits de l'hydrolyse enzymatique³⁰ ou comme facteur stimulant le système immunitaire localisé de l'animal.

Pour toutes ces raisons, il est indéniable que l'usage des enzymes exogènes chez le porc et la volaille ne cessera de s'amplifier dans le futur. Cependant, cet usage devra probablement être davantage piloté par un retour maximum sur investissement que par un coût minimum à la tonne d'aliment. Il importera dès lors de pouvoir quantifier les effets des enzymes exogènes suivant cette voie.

Remerciements

Ces travaux sont financés par la Direction Générale Opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement de la Région wallonne (D GARNE, Namur, Belgique) et la société BELDEM sa (Andenne, Belgique).

Références

- ¹ Beckers Y., A. Théwis, 2004. Influence sur les performances zootechniques de quatre xylanases ajoutées à un régime riche en froment chez le poulet de chair. Rapport final sur la prestation de service entre l'Unité de Zootechnie de la Faculté universitaire des Sciences agronomiques à Gembloux et la société Beldem s.a., 10 p.
- ² Vandeplass et al., 2009. Effect of the bacterial or fungal origin of exogenous xylanases supplemented to a wheat-based diet on performances of broiler chickens and nutrient digestibilities of the diet. *Canadian Journal of Animal Science* (soumis).
- ³ Cowieson et al., 2006. Evolving enzyme technology : impact on commercial poultry nutrition. *Nutrition Research Reviews* **19**: 90-103.
- ⁴ Garcia et al., 2008. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive traits and productive performance of broilers. *Poultry Science* **87**: 940-948.
- ⁵ Fang et al., 2009. Effects of enzyme addition on the nutritive value of broiler diets containing hulled or dehulled Chinese double-low rapeseed meals. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **93**: 467-476.
- ⁶ Kiarie et al., 2007. Growth performance, gastrointestinal microbial activity, and nutrient digestibility in early-weaned pigs fed diets containing flaxseed and carbohydrase enzyme. *Journal of Animal Science* **85**: 2982-2993.
- ⁷ Cowieson A. J., 2005. Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Animal Feed Science and Technology* **119**: 239-305.
- ⁸ Nielsen et al., 2008. Environmental assessment of digestibility improvement factors applied in animal production. *International Journal of Life Cycle Assessment* **13**: 49-56.
- ⁹ Nortey et al., 2008. Effects of xylanase supplementation on the apparent digestibility and digestible content of energy, amino acids, phosphorus, and calcium in wheat and wheat by-products from dry milling fed to grower pigs. *Journal of Animal Science* **86**: 3450-3464.
- ¹⁰ Poulsen et al., 1999. Phosphorous consumption, utilisation and losses in pig production in France, The Netherlands and Denmark. *Livestock Production Science* **58**: 251-259.
- ¹¹ Selle P. H. Ravindran V., 2008. Phytate –degrading enzymes in pig nutrition. *Livestock Science* **113**: 99-122.
- ¹² Selle P. H., Ravindran V., 2007. Microbial phytase in poultry nutrition. *Animal Feed Science and Technology* **135**: 1-41.
- ¹³ Pointillart A., 1994. Phytates, phytases : leur importance dans l'alimentation des monogastriques. *INRA Production Animale* **7**: 29-39.
- ¹⁴ Nyannor et al., 2009. Corn expressing an Escherichia coli-derived phytase gene : comparative evaluation study in broiler chicks. *Poultry Science* **87**: 20015-20022.
- ¹⁵ Jendza et al., 2005. Escherichia coli phytase improves growth performance of starter, grower, and finisher pigs fed phosphorous-deficient diets. *Journal of Animal Science* **83**: 1882-1889.
- ¹⁶ Cowieson et al., 2004. The effects of phytase and phytic acid on the loss of endogenous amino acids and minerals from broiler chickens. *British Poultry Science* **45**: 101-108.
- ¹⁷ Selle et al., 2009. Consequences of calcium interactions with phytate and phytase for poultry and pigs. *Livestock Science* **124**: 126-141.
- ¹⁸ Nyannor et al., 2007. Corn expressing an Escherichia coli-derived phytase gene : A proof-of-concept nutritional study in pigs. *Journal of Animal Science* **85**: 1946-1952.
- ¹⁹ Rodehutschord M., 2008. Approaches for saving limited phosphate resources. *Archiv für Tierzucht* **51**: 39-48.
- ²⁰ Thorpe J., Beal J. D., 2001. Vegetable protein meals and the effects of enzymes. In Bedford, M. R., Partridge, G. G. (Ed.) *Enzymes in farm nutrition*. CAB international, pp. 125-144.
- ²¹ Hong et al., 2002. Addition of enzyme to starter and grower diets for ducks. *Poultry Science* **81**: 1842-1849.

-
- ²² Cowieson A.J., Adeola O., 2005. Carbohydrases, protease and phytase have an additive beneficial effect in nutritionally marginal diets for broiler chicks. *Poultry Science* **84**: 1860-1867.
- ²³ Francesch M., Geraert P. A., 2009. Enzyme complex containing carbohydrases and phytase improves growth performance and bone mineralization of broilers fed reduced nutrient corn-soybean-based diets. *Poultry Science* **88**: 1915-1924.
- ²⁴ Tahir et al., 2008. An effective combination of carbohydrases that enables reduction of dietary protein in broilers : importance of hemicellulase. *Poultry Science* **87**: 713-718.
- ²⁵ Olukosi et al., 2007. Supplementation of carbohydrase or phytase individually or in combination to diets for weanling and growing-finishing pigs. *Journal of Animal Science* **85**: 1702-1711.
- ²⁶ Emiola et al., 2009. Growth performance and nutrient digestibility in pigs fed wheat distillers dried grains with solubles-based diets supplemented with a multicarbohydrase enzyme. *Journal of Animal Science* **87**: 2315-2322.
- ²⁷ Cowieson A. J., Ravindran V., 2008. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutriment density for young broiler: growth performance and digestibility of energy, minerals and amino acids. *British Poultry Science* **49**: 37-44.
- ²⁸ Ao et al., 2008. In vitro evaluation of feed-grade enzyme activity at pH levels simulating various parts of the avian digestive tract. *Animal Feed Science and Technology* **140**: 462-468.
- ²⁹ Carneiro et al., 2008. Effects of dietary fibre source and enzyme supplementation on faecal apparent digestibility, short chain fatty acid production and activity of bacterial enzymes in the gut of piglets. *Animal Feed Science and Technology* **146**: 124-136.
- ³⁰ Vandeplass et al., 2009. Efficiency of a *Lactobacillus plantarum*-xylanase combination on growth performances, microflora populations, and nutrient digestibilities of broilers infected with *Salmonella* Typhimurium. *Poultry Science* **88**: 1643-1654.