

Valeur agronomique et alimentaire du sainfoin

J. Aufrère^{1, 2}, K. Theodoridou^{1, 2, 3}, R. Baumont^{1, 2}

Le sainfoin est une légumineuse riche en tannins condensés. Bien que moins productif et moins pérenne que la luzerne, il possède des qualités nutritionnelles indéniables pour les ruminants et présente un intérêt pour limiter les rejets d'azote lessivable et de méthane émis par les animaux dans l'environnement.

RÉSUMÉ

La production du sainfoin en climat tempéré dépend de facteurs agronomiques (conditions de culture, variétés, mode d'utilisation, rendement, maladies) ici présentés. Selon leur teneur et leur structure, les tannins condensés ont un effet bénéfique ou négatif sur la valeur alimentaire de ce fourrage pour les ruminants, sans en modifier la quantité ingérée ni la digestibilité. En revanche, une diminution de la dégradation des protéines dans le rumen et de leur digestibilité dans l'intestin est mesurée, mais sans modification de la rétention d'azote par le ruminant. Le sainfoin offre des perspectives pour limiter les rejets d'azote urinaire et de méthane dans l'environnement.

SUMMARY

Agronomic and nutritional value of Sainfoin

Sainfoin is a legume rich in condensed tannins. In spite of the fact it has a low yield and is not as persistent as alfalfa, Sainfoin offers undeniable nutritional qualities for ruminants and helps limit nitrogen leaching and methane emissions from cattle in the environment. Production of Sainfoin is dependant on the agronomic factors (cultivation conditions, varieties, end use, yield, diseases) described below. Depending on their levels and structure, condensed tannins can have a beneficial or negative effect on the nutritional value of Sainfoin for ruminants, but does not affect ingested quantity and digestibility. However, a reduced degradation of proteins in the rumen and a reduced digestibility in the intestine is observed, but does not affect nitrogen capture by the ruminant.

Le contexte d'augmentation du prix des matières premières, de rarefaction de l'énergie fossile et la nécessité de réduire l'impact environnemental des élevages d'herbivores rendent les enjeux d'autonomie alimentaire et en particulier d'autonomie protéique d'autant plus importants. La part d'autoproduction des protéines végétales destinées à la complémentation des rations n'est que de 23 % en Europe (JULIER et HUYGHE, 2010). Les **légumineuses fourragères** constituent une

voie idéale pour améliorer l'autonomie protéique des élevages, mais les surfaces destinées à leur culture n'ont cessé de diminuer en Europe et en France depuis les années 1950-1960. Les surfaces en luzerne pure en France étaient d'environ 1 000 000 ha dans les années 1970, 320 000 ha en 2003 et seraient de l'ordre de 250 000 ha actuellement (données du GNIS 2009) plus une partie en association avec des graminées. Les autres légumineuses ne représentent même pas 10 % des

AUTEURS

1 : INRA, UMR1213 Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle (France) ; jocelyne.aufrere@clermont.inra.fr

2 : Clermont Université, VetAgro Sup, UMR Herbivores, BP 10448, F-63000 Clermont-Ferrand (France)

3 : University of Department of Animal & Poultry Science, University of Saskatchewan, Agriculture Building, 51 Campus Drive, Saskatoon, SK S7N 5A8 (Canada)

MOTS CLÉS : Azote organique, composition chimique, conservation de la récolte, digestibilité, environnement, fourrage, ingestibilité, légumineuse, luzerne, méthane, *Onobrychis viciifolia*, production, résistance à la sécheresse, résistance au froid, résistance aux maladies, sainfoin, stade de récolte, tanin, valeur azotée, valeur nutritive.

KEY-WORDS : Chemical composition, cold resistance, crop conservation, cutting stage, digestibility, environment, forage, ingestibility, legume, luzerne, methane, nitrogen value, nutritive value, *Onobrychis viciifolia*, organic nitrogen, production, resistance to diseases, resistance to drought, sainfoin, tannin.

RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE : Aufrère J., Theodoridou K., Baumont R. (2013) : "Valeur agronomique et alimentaire du sainfoin", *Fourrages*, 213, 63-75.

surfaces en luzerne. Néanmoins, les légumineuses ont beaucoup d'atouts agronomiques et zootechniques liés à la fixation symbiotique de l'azote pour leur nutrition et à leur teneur élevée en matières azotées, ce qui présente un intérêt du point de vue nutritionnel pour l'animal. Toutefois, cet azote est souvent mal utilisé par le ruminant en raison de la solubilité très élevée des protéines foliaires des légumineuses. Ces protéines peuvent subir une dégradation importante dans le rumen, jusqu'au stade ammoniac, perdu dans l'urine (MIN *et al.*, 2003) et source de pollution. Les légumineuses **contenant des tannins condensés** (TC), capables de se lier aux protéines et de réduire leur dégradation dans le rumen, font exception à cette loi générale (WAGHORN *et al.*, 1987 ; MUELLER-HARVEY et MC ALLAN, 1992 ; MC NABB *et al.*, 1996). C'est notamment le cas du sainfoin (*Onobrychis vicifolia*).

Communément cultivé en Europe dans les siècles passés, le sainfoin était utilisé traditionnellement pour l'alimentation des chevaux. Sa culture s'est considérablement réduite avec la mécanisation et l'arrivée massive des fertilisants dans les années 1960. En France, la culture du sainfoin est passée de 400 000 ha en 1960 à seulement 20 000 ha en 1986 presque exclusivement situés dans des zones de demi-montagne du sud, en Haute Provence et sur les Causses.

Un programme de recherche européen, Healthy-Hay¹, coordonné au niveau scientifique par Irene Mueller-Harvey (Université de Reading, UK) regroupant neuf pays (Arménie, Allemagne, Autriche, Danemark, Espagne, Grèce, Pays-Bas, Royaume-Uni, France) et différentes disciplines (agronomie, génétique, biochimie, science vétérinaire, nutrition animale), mis en œuvre de 2007 à fin 2010, **a permis de montrer l'intérêt de l'utilisation du sainfoin pour les ruminants**, à travers sa valeur alimentaire et antiparasitaire, et potentiellement pour l'environnement par la réduction des rejets azotés urinaires et du méthane.

Dans ce texte nous ferons le point sur la valeur agronomique et alimentaire du sainfoin, sur l'effet de ses TC sur l'excrétion d'azote et les rejets de méthane dans l'environnement. Les résultats proviennent de la bibliographie mais aussi du programme HealthyHay. La partie sur la valeur alimentaire reprend des données spécifiques au sainfoin dans le texte publié dans *INRA Productions animales* (AUFRERE *et al.*, 2012b)

1. Valeur agronomique

Le déclin de la culture du sainfoin par rapport à la luzerne peut s'expliquer notamment par la faible production des repousses et aussi par sa faible pérennité. Dans cette partie seront abordées les conditions de culture, les variétés, le mode d'utilisation de ce fourrage, son rendement et les principales maladies qui peuvent perturber sa production.

1 : HealthyHay : The re-invention of sainfoin: an example of a novel resource for sustainable agriculture. (2007-2010), EU's Marie Curie Research Training Network HealthyHay (MRTN-CT-2006-035805) (healthy-hay-project) ; <http://sainfoin.eu>

■ Climat, sol et fertilisation

Comme la luzerne et le lotier, le sainfoin peut se développer dans de multiples conditions climatiques en Europe, Amérique du Nord, Asie, Australie, Nouvelle-Zélande et sur des **sols neutres ou calcaires**, c'est-à-dire de pH 6 ou supérieur (MEYER-JONES, 2000). Il est plus **tolérant à la sécheresse** et a une croissance plus importante que la luzerne sur des **sols pauvres en phosphore** tandis qu'un **apport de potassium** est nécessaire pour maintenir sa production (KOIVISTO et LANE, 2001). De faibles doses d'azote minéral augmentent la productivité dans les stades jeunes et la pérennité de la culture (MEYER, 1975). Celle-ci s'installe facilement, même dans des conditions difficiles (sol pierreux, peu profonds, défriche...) et valorise particulièrement bien les sols calcaires et secs des zones de demi-montagne en France (Causses, Alpes-de-Haute-Provence, Jura ; PROSPERI *et al.*, 1994 ; PFLIMLIN *et al.*, 2003), en Italie (IANELLI, 1989) et en Espagne (DELGADO *et al.*, 2005). Le sainfoin est plus **résistant au froid** que la luzerne et que la plupart des trèfles. Il résiste également à des températures élevées, puisqu'en 2009-2010 il a été cultivé en Grèce et au sud de l'Espagne à des températures supérieures à 32°C. Néanmoins, une des raisons de l'abandon de sa culture au profit de la luzerne est sa **faible pérennité** qui peut être attribuée à une capacité moindre à stocker les sucres (KOIVISTO et LANE, 2001).

L'azote atmosphérique est réduit par les bactéries symbiotiques (rhizobia) en ammoniac qui est ensuite transformé en acides aminés dans la plante. En retour, ces bactéries assimilent les produits de la photosynthèse mais, pour le sainfoin, FRAME *et al.* (1998) observent une moins bonne utilisation des produits de la photosynthèse, ce qui conduit à une **moindre fixation de l'azote**. L'infection ou la pourriture des racines causée par les charançons pourrait limiter la pérennité des cultures (KOIVISTO et LANE, 2001).

■ Peu de programmes de sélection des variétés

D'importants programmes de sélection pour améliorer les performances agronomiques ont été développés pour la luzerne (*Medicago sativa*), les trèfles, mais peu de programmes de recherche ont été développés pour améliorer les connaissances et sélectionner des variétés de sainfoin en Europe. Chez cette espèce, le **faible coefficient de multiplication grainière**, de l'ordre de 10 contre 100 chez la luzerne, explique en grande partie le déclin de son utilisation (PROSPERI *et al.*, 1994).

Le sainfoin est une espèce allogame, entomophile, allotétraploïde ($2n = 4x = 32$) (HUYGHE, 2005), mais il existerait aussi quelques rares types diploïdes (HAYOT-CARBONERO, 2011). On distingue deux types de sainfoin caractérisés par le port de la plante, le mode de croissance et la pérennité. Le premier, **sainfoin simple** ou forme **common**, est originaire d'Europe centrale. Les repousses après la première coupe du printemps sont

uniquement végétatives. Le deuxième, **sainfoin double** ou sainfoin **giant**, originaire du Moyen-Orient, a la faculté de reflleurir au deuxième cycle. Le type *giant* présente moins de tiges par plante mais ses tiges sont plus longues et présentent plus d'entre-nœuds par tige. Plus productif que le type *common* l'année d'implantation, il ne persiste que sur un temps assez court. En fait, il existe de **nombreux types intermédiaires** entre les deux formes (KOIVISTO et LANE, 2001 ; DELGADO *et al.*, 2008). En conséquence, les différents cultivars ne peuvent pas être classés de façon stricte dans les deux types *common* et *giant*. Des variétés bien connues comme Costwold Common, Hampshire Common et Somborne sont plus de type *common* alors que Hampshire Giant et English Giant sont plus de type *giant*. De nouvelles variétés au Canada, aux USA, en Nouvelle-Zélande et bien sûr en Europe dérivent de ces deux types. Toutefois, les programmes de sélection conduits sur cette espèce restent peu nombreux et **19 variétés** seulement de sainfoin étaient enregistrées **dans le catalogue européen** en 2010 (HAYOT-CARBONERO *et al.*, 2011) dont **seulement 4 figurent au catalogue français**.

■ Le sainfoin peut être utilisé au pâturage ou en fourrage conservé mais aussi en mélange

Le sainfoin est **utilisé traditionnellement en foin**. Il peut être également conservé en **ensilage** ou **enrubannage**, ou encore **pâturé** à la sortie de l'hiver lors de la mise à l'herbe ainsi qu'en automne. Les repousses se développant lentement, il est important d'attendre que des réserves au niveau racinaire soient reconstituées pour maintenir la pérennité et la longévité de la plante (KOIVISTO et LANE, 2001).

Des essais de **déshydratation** ont été testés en Suisse au FIBL et en France en Champagne crayeuse par le groupe Multifolia. La déshydratation peut être suivie d'une mise en pellet ce qui facilite le transport lorsque le fourrage est utilisé dans un lieu différent de celui de sa production, mais on manque actuellement de recul sur la pérennité de l'effet des TC sur la valeur alimentaire lorsque le fourrage a été déshydraté.

Les **mélanges d'espèces** consistant à combiner des cultures de graminées et légumineuses permettent de fournir aux ruminants une alimentation de qualité, régulièrement produite au cours de l'année et éviter les risques de gaspillage d'azote tant au niveau de la culture que de l'utilisation par l'animal. La complémentarité entre les espèces joue un rôle positif pour la qualité des fourrages. Traditionnellement, le sainfoin est semé avec de la fétuque ou de la fléole (FRAME *et al.*, 1998) mais il peut également être mélangé avec le pâturin, la fétuque rouge, la luzerne lupuline, le trèfle ou le lotier corniculé (HAYOT-CARBONERO, 2011). LIU *et al.* (2006) estiment qu'un mélange de sainfoin (2/3) et fétuque (1/3) permet le meilleur rendement. La production obtenue avec ce mélange était de 16,5 t MS/ha/an contre 13 t pour le sainfoin (cultivar Visnovsky) cultivé seul. L'association de graminées

et légumineuses contenant ou non du sainfoin par rapport aux mêmes espèces de graminées pures a été étudiée sur 5 mélanges constitués chacun de 2 graminées et 2 légumineuses. AUFRERE *et al.* (2006) ont observé dans les associations, au premier cycle de végétation, une augmentation à la fois de la biomasse produite et de sa qualité. Le sainfoin peut également être utilisé sous couvert de céréales.

La vente de semences de sainfoin a augmenté dans le Sud-Ouest, les Pyrénées et le Sud-Est de la France (de 2 862 quintaux en 2002 à 3 424 quintaux en 2006, source GNIS 2007) mais pour être cultivé sous forme d'association alors que les cultures pures régressent.

■ Un fourrage très productif au premier cycle de végétation

Le rendement annuel du sainfoin est plus faible que celui de la luzerne (PEEL *et al.*, 2004 ; KAZUK, 2010). Ainsi, DELGADO ENGUITA (2010) rapporte un rendement moyen de 5,5 t MS/ha/an pour la luzerne contre 4,5 t MS/ha pour le sainfoin sur une période de 3 ans (2000 à 2003) dans les zones sèches de l'Aragon en Espagne (précipitations annuelles comprises entre 250 et 450 mm) tandis que HAYOT-CARBONERO *et al.* (2011) notent des rendements de 7 à 15 t MS/ha au Royaume-Uni, mais 20 % plus faibles que ceux de la luzerne, et de 14 à 16 t MS/ha/an en zone méditerranéenne irriguée (REYNE et GARAMBOIS, 1977). Ces productions variables sont bien sûr dépendantes des conditions de culture et du climat. Récolté en foin **au premier cycle de végétation, le rendement peut être plus élevé que pour la luzerne**, mais il n'en n'est pas de même pour les coupes plus tardives (BALDRIDGE et LOHMILLER, 1990). Selon les résultats du GNIS, un sainfoin simple pâturé donne couramment 6 t MS/ha alors que le type double est capable de fournir selon les conditions de 5 à 7 t MS/ha s'il est utilisé en pâture et de 7 à 9 t MS/ha s'il est utilisé en fauche et pâturé à l'automne. MARTINIELLO *et al.* (2000) trouvent que la production de sulla (9,6 et 6,6 t MS/ha avec et sans irrigation) est supérieure à celle du sainfoin (respectivement de 5,8 et 5,2 t MS/ha).

Dans une étude réalisée au Royal Agricultural College (Royaume-Uni) sur 4 variétés de sainfoin, la production atteignait de 7,3 à 9,2 t MS/ha au premier cycle, mais n'était que de 1 à 3,6 t MS/ha au second cycle (KOIVISTO et LANE, 2001). Ces résultats sont en accord avec ceux de THEODORIDOU *et al.* (2010) qui ont obtenu avec la variété Perly une production de 8,5 t MS/ha au premier cycle et seulement 3,3 t MS/ha au deuxième.

Les **caractéristiques agronomiques** ont été étudiées sur 23 lignées de sainfoin issues de 12 variétés commerciales cultivées sur des terres irriguées, à Saragosse (Espagne) pendant une période de 3 ans (DEMDOUM *et al.*, 2010). Les plantes étaient réparties en 3 blocs (0,4 m x 1 m) de 12 plantes chacune. Au total, 5 coupes ont été étudiées entre 2008 et 2009. Les résultats indiquent une ample gamme de variation sur tous les critères, notamment sur la production totale de fourrage

	Production (g MS/plante)		Port de la plante (hauteur/largeur)		Taux de mortalité (%)	
	2008	2009	2008	2009	2008	2009
1 ^{er} cycle	365±161	295±155	1,13±0,39	1,13±0,39	0,00±0,06	2,17±2,47
2 ^e cycle	252±111	111±67	1,32±0,21	1,32±0,21	0,85±1,76	10,10±9,53
3 ^e cycle	94±54	60±42	1,13±0,40	1,58±0,41	8,08±7,21	7,40±6,26
4 ^e cycle	70±43	81±56	1,48±0,42	1,64±0,51	15,24±9,51	10,15±6,32
5 ^e cycle	43±30	33±20	1,60±0,40	1,60±0,40	3,26±4,22	2,88±2,61

TABLEAU 1 : **Production, port de la plante et taux de mortalité du sainfoin** (moyennes et écarts types pour 23 variétés et 5 cycles de végétation sur 2 années ; DEMDOUM *et al.*, 2010).

TABLE 1 : **Production, plant habit and mortality rate** (mean values and standard deviations) for 23 varieties of sainfoin and 5 growth cycles over 2 years (DEMDOUM *et al.*, 2010).

qui va de 1 041 g MS/plante pour la variété Costwold Common à 1 776 g MS/plante pour Polonia. La mortalité a varié de 50 % pour les variétés Yubileyna ou Polonia à 78 % pour les variétés Ambra ou Somborne. La variété, l'année, le numéro de la coupe (REYNE et GARAMBOIS, 1977) ont un effet significatif sur l'intensité de floraison, le port de la plante, la production de matière sèche et la mortalité mais la production reste la plus élevée lors de la première coupe (DEMDOUM *et al.*, 2010 ; tableau 1). Les repousses sont moins productives en raison d'un stockage trop faible de glucides dans les racines (cf. partie Climat, sol et fertilisation). KALLENBACH *et al.*, (1996) observent une relation négative entre l'augmentation de température et la concentration en glucides dans les racines.

■ Les ravageurs et maladies limitent la pérennité des cultures

En comparaison d'autres légumineuses telle que la luzerne, le sainfoin est **assez peu infecté par des ravageurs et des maladies** (GOPLIN *et al.*, 1991). HAYOT-CARBONERO (2011) distingue les maladies transmissibles du sol par les champignons de celles transmises par les insectes et les nématodes. Le *Fusarium solani* est probablement le facteur qui affecte le plus la longévité de la plante. Les autres maladies sont, comme pour les autres légumineuses, causées par des champignons responsables de dépérissements tels que le *Verticillium* et le *Sclerotinia*.

Des insectes qui attaquent les racines peuvent diminuer la pérennité des cultures de sainfoin. Des charançons de la famille des *Sitona* ainsi qu'un certain nombre d'autres insectes peuvent causer de graves dommages dans les cultures. Des larves d'insectes peuvent aussi se développer dans les semences et entraîner des dégâts dans leurs productions.

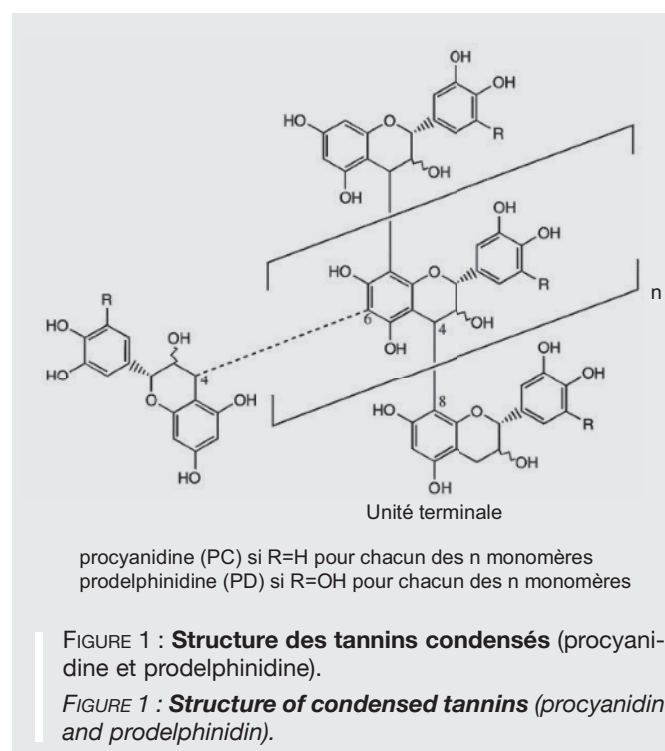
2. Les tannins condensés du sainfoin

Les tannins condensés (TC) sont des composés secondaires présents dans les vacuoles des cellules des

feuilles, des tiges, des racines, des fleurs. Ils ont la propriété de former des complexes avec les protéines, de façon plus ou moins importante selon leur teneur et leur structure.

■ Structure biochimique

Les TC sont synthétisés dans le cytoplasme des cellules à partir de la phenylalanine et de l'acétate (MUELLER-HARVEY et Mc ALLAN, 1992) pour former des unités de catéchine dans les vacuoles des cellules (LEES *et al.*, 1995). Ce sont des polymères de flavanoïdes (flavan-3-ols) liés par des liaisons C-C. Les monomères peuvent être liés par des liaisons C4-C8 ou C4-C6 qui affectent la forme de la chaîne de polymère. Différentes combinaisons des groupes OH et H de ces unités de monomères conduisent à **différentes classes de polymères : prodelphinidines (PD) et procyanidines (PC)** (figure 1).



■ Evaluation de la teneur en tannins condensés...

En raison de la grande variation et de la diversité de leur structure, la mesure de la teneur en TC est complexe. Les **méthodes de dosage** (AUFRERE *et al.*, 2012b) les plus couramment utilisées sont des méthodes colorimétriques : HCl-butanol ou à la vanilline (TERRILL *et al.*, 1992), ou basées sur la précipitation des protéines pour déterminer l'**activité biologique** (méthode de diffusion radiale, HAGERMAN, 1987, *cf.* ci-après). Ces méthodes dosent des entités différentes et restent imparfaites notamment en raison d'un manque de standards appropriés et de leur non-spécificité. La comparaison des résultats des différents travaux de la littérature reste donc difficile. Enfin, très récemment, la **méthode de thiolyse** proposée par GEA *et al.* (2011) permet de mesurer la teneur en TC et d'avoir des indications sur leur structure. Cependant à l'heure actuelle, cette méthode n'est pas applicable à tous les modes de conservation du fourrage, en particulier aux ensilages.

Ainsi, le concept selon lequel une teneur en TC dans la plante inférieure à 50 g/kg MS serait bénéfique pour la santé et la nutrition de l'animal (BARRY et MC NABB, 1999) est obsolète et ne reste valable que lorsque le dosage a été réalisé par la méthode vaniline-HCl ou HCl-Butanol. D'ailleurs, les résultats obtenus par THEODORIDOU (2010) et THEODORIDOU *et al.* (2011a) sur le sainfoin avec la méthode de thiolyse sont beaucoup plus faibles parce que la méthode est plus spécifique. Cette méthode quantitative et qualitative permet de déterminer à la fois la teneur et la structure des TC. Appliquée pour la première fois à une quarantaine d'échantillons de sainfoin, l'activité biologique présente une relation très étroite avec la teneur en TC déterminée par la méthode de thiolyse (figure 2).

Les effets des tannins sont modulés par différents facteurs tels que leur teneur dans la plante, les paramètres de leur structure (le degré moyen de polymé-

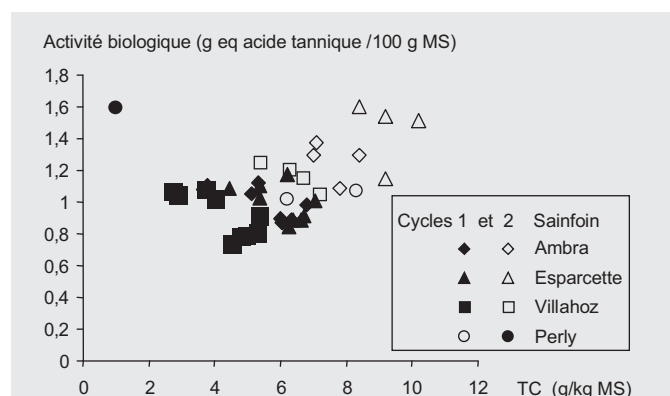


FIGURE 2 : Relation entre l'activité biologique des tannins condensés (TC) et la teneur en TC pour 4 variétés et 2 cycles de végétation (méthode de thiolyse ; THEODORIDOU, 2010).

FIGURE 2 : Correlation between the biological activity of condensed tannins (TC) and contents of these tannins for 4 varieties and 2 growth cycles (thiolyse method ; THEODORIDOU, 2010).

risation (mDP) *i.e.* le poids moléculaire moyen, le rapport prodéphinidine/procyanidine (PD/PC), la conformation dans l'espace (forme cis flavanols ou trans flavanols), la capacité des tannins à se lier aux protéines et le rapport tannins/protéines, FRAZIER *et al.*, 2003).

■ Activité biologique des tannins

L'activité biologique ou astringence est définie par la capacité des TC à se lier aux protéines. Chez le ruminant, les TC d'un fourrage vont réagir avec la rubisco, principale protéine soluble des cellules foliaires, avec d'autres enzymes de la plante ou avec des protéines de salive, des protéines microbiennes. La liaison tannin - protéine est réversible et dépend du pH. De plus, la force de cette liaison dépend à la fois des caractéristiques des tannins mais aussi des protéines auxquelles ils se lient (poids moléculaire, structure tertiaire, point isoélectrique...).

La teneur et la structure chimique des TC apparaissent comme les principaux facteurs qui **expliquent les variations de la capacité des TC à se lier aux protéines.** Les TC se lient aux protéines à des pH compris entre 3,5 et 7 et la liaison est dissociée à des pH < 3,5 ou > 7.

Plus le poids moléculaire des protéines est élevé, plus l'affinité des tannins est élevée mais, au-delà d'un certain poids moléculaire pour les tannins comme pour les protéines, les molécules sont trop volumineuses pour interagir efficacement et l'activité biologique peut diminuer (MAKKAR *et al.*, 1988). De plus, une teneur élevée en unités PD dans les TC augmente la possibilité de complexes avec les protéines (AERTS *et al.*, 1999) ce qui contribue à une augmentation de l'activité biologique.

■ Facteurs de variation de la teneur, de la structure et de l'activité des tannins

La variété : Le rapport PD/PC peut varier de façon importante selon les variétés de sainfoin comme l'ont noté MARAIS *et al.* (2000). Dans le programme HealthyHay, les valeurs de mDP étaient comprises entre 12 et 74 pour 40 variétés cultivées sur le même lieu, de 27 à 48 pour 3 variétés récoltées au début et à la fin du 1^{er} cycle de végétation (THEODORIDOU *et al.* 2011a).

Les organes de la plante : Les TC peuvent s'accumuler dans différents tissus (bourgeons, racines, graines, tiges). Selon BELL *et al.* (1992), la majorité des tannins se trouvent dans les jeunes feuilles des plantes comme l'ont observé THEODORIDOU *et al.* (2010) pour la variété Perly. Les effets des TC sur la dégradation de l'azote dans le rumen sont plus importants dans les feuilles que dans les tiges en liaison avec leur concentration, leur activité biologique et le rapport PD/PC plus élevé.

Le mode de conservation du fourrage : SCHARENBERG *et al.* (2007) ne rapportent pas de modifications de teneur en TC dans l'ensilage mi-fané de sainfoin par rapport au fourrage vert correspondant mais THEODORIDOU *et al.* (2012) observent que l'activité biologique des TC est plus faible

dans les ensilages que dans le fourrage vert. MINNEE *et al.* (2002) constatent que la teneur en tannins libres est diminuée dans l'ensilage. Cette modification se ferait lors de la mise en silo qui cause une rupture cellulaire et la libération des TC, qui peuvent alors se combiner à d'autres molécules. Cela explique la diminution de l'activité biologique observée par THEODORIDOU *et al.* (2012). La perte des feuilles et l'exposition au soleil peuvent expliquer la diminution de la teneur en TC au cours de la fenaison (BORREANI *et al.*, 2003 ; AUFRERE *et al.*, 2008).

Les stades de développement : Avec l'évolution du stade de développement, le rapport feuille/plante entière décroît, ce qui laisse supposer que la teneur en TC va diminuer puisque les feuilles sont plus riches en TC que les tiges, comme l'ont observé BORREANI *et al.* (2003), BERARD *et al.* (2011). Or, les études de THEODORIDOU *et al.* (2011a), réalisées sur 3 variétés de sainfoin indiquent que la teneur en TC augmente en début de 1^{er} cycle, reste stable puis diminue légèrement ensuite. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que, pendant la période de croissance, les plantes produisant une quantité importante de biomasse, la synthèse des composés phénoliques est faible alors que, pendant la floraison, la croissance étant ralentie, le carbone serait disponible pour la synthèse des TC (IASON *et al.*, 1995).

L'environnement pédoclimatique : Des facteurs relatifs à la plante (gène, âge, organe) et liés à l'environnement (stress, intensité lumineuse, climat, fertilité du sol) peuvent affecter la biosynthèse des TC. La teneur en TC augmente avec l'intensité lumineuse, la fertilisation, la température et la maturité de la plante.

3. Le sainfoin : un fourrage avec une bonne valeur alimentaire

■ Particularités de sa composition chimique

La composition chimique d'un fourrage dépend de sa famille végétale, de l'espèce et varie principalement avec le

n° du stade	Stade phénologique	Définition du stade
1	Végétatif précoce	Longueur des tiges < 20 cm
2	Mi-végétatif	Longueur des tiges < 30 cm ; pas de bourgeons, ni de fleurs
3	Végétatif tardif	Longueur des tiges > 30 cm ; pas de bourgeons, ni de fleurs
4	Végétatif tardif	Longueur des tiges > 45 cm ; pas de bourgeons, ni de fleurs
5	Début bourgeonnement	1 à 2 bourgeons floraux ; pas de fleurs ouvertes
6	Bourgeonnement tardif	> 2 bourgeons floraux ; pas de fleurs ouvertes
7	Début floraison	1 nœud avec fleurs ouvertes
8	Fin floraison	Fleurs ouvertes ; pas de gousses vertes
9	Gousses précoces	Fleurs marrons ; premières gousses

TABLEAU 2 : Définition de stades phénologiques pour le sainfoin et la luzerne.

TABLE 2 : Phenological stages for sainfoin and alfalfa.

stade de développement au sein des cycles de végétation successifs et avec le mode de conservation. Bien que les TC ne participent pas directement au développement de la plante, ils peuvent en modifier la composition chimique en se fixant aux parois et aux protéines.

• Les effets du développement de la plante

Le développement de la plante entraîne une diminution de la proportion de feuilles et une augmentation de la proportion de tiges ; c'est le principal facteur de variation de la composition chimique.

Dans une étude réalisée sur 3 variétés de sainfoin et une luzerne, cultivées la même année dans un même lieu, THEODORIDOU *et al.* (2011a) ont montré au 1^{er} cycle de végétation un **développement** (mesuré en utilisant l'échelle de KALU et FICK, 1981, tableau 2) **plus précoce du sainfoin par rapport à la luzerne**. Bien que le stade de développement des 3 variétés de sainfoin soit plus avancé que celui de la luzerne, la vitesse de développement était identique (figure 3a). Dans cette expérience, le rapport feuille/plante entière était plus élevé pour le sainfoin que pour la luzerne au début du 1^{er} cycle de

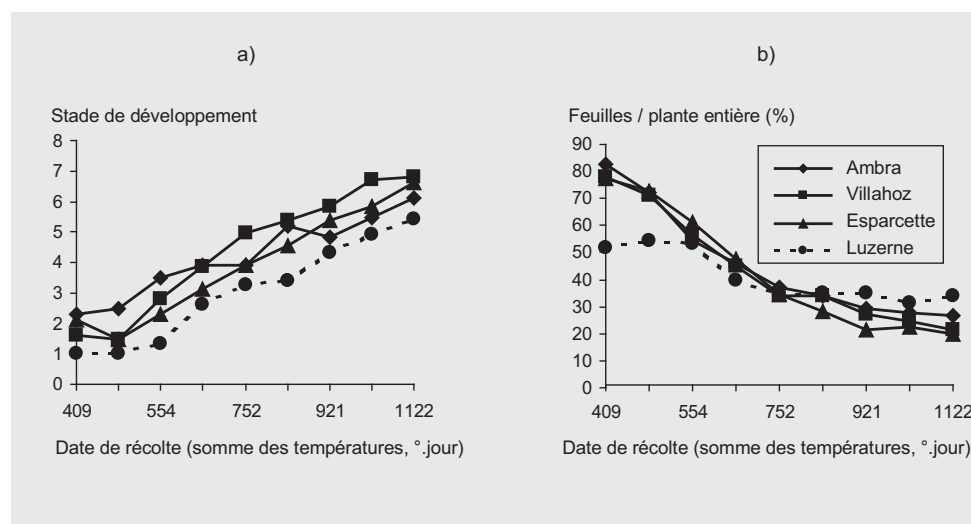


FIGURE 3 : Evolution a) du stade de développement et b) du rapport feuilles/plante entière durant le 1^{er} cycle de végétation pour 3 variétés de sainfoin et une luzerne (d'après THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

FIGURE 3 : Evolution of a) phenological stage and b) leaf-to-whole-plant ratio during the 1st growth cycle for 3 varieties of sainfoin and 1 of alfalfa (after THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

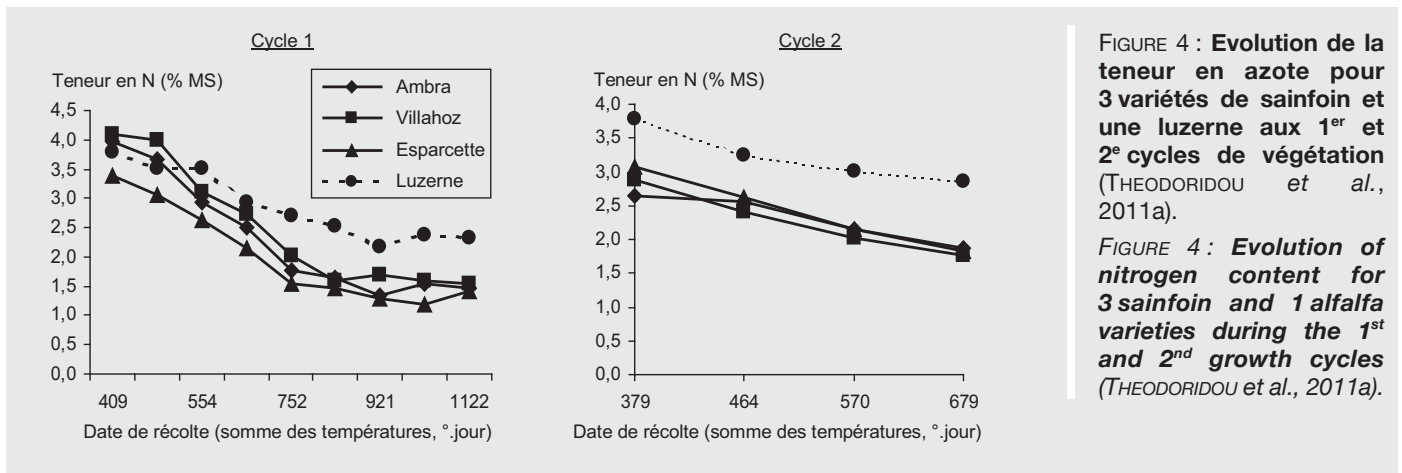


FIGURE 4 : Evolution de la teneur en azote pour 3 variétés de sainfoin et une luzerne aux 1^{er} et 2^e cycles de végétation (THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

FIGURE 4 : Evolution of nitrogen content for 3 sainfoin and 1 alfalfa varieties during the 1st and 2nd growth cycles (THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

végétation et plus faible en fin de cycle pour le sainfoin (figure 3b). Les **différences** de composition chimique **entre variétés ou écotypes** étaient dues à une évolution différente de la croissance de chacune des variétés.

• Les teneurs en constituants glucidiques et azotés spécifiques au sainfoin

Teneur en constituants pariétaux : Bien que le sainfoin se développe plus précocement dans l'année que la luzerne, à même stade de végétation, la teneur en NDF du sainfoin est plus faible ou similaire à celle de la luzerne (42,6 % MS pour le sainfoin contre 45,4 % MS pour la luzerne, AUFRERE *et al.*, 2008 ; valeurs moyennes au 1^{er} cycle de végétation : 35,8 % MS pour le sainfoin contre 38,4 % MS pour la luzerne ; THEODORIDOU *et al.*, 2011a) et dépend de la variété.

Teneur en sucres solubles : Comme le sulla et le lotier corniculé, le sainfoin se caractérise par une quantité plus abondante de sucres solubles que la luzerne (FRASER *et al.*, 2000 ; MINNEE *et al.*, 2002). THEODORIDOU *et al.* (non publié) observent, pour le sainfoin, des teneurs plus élevées aux stades végétatif et bourgeonnement (14,8 % MS), et au 1^{er} cycle de végétation (12,2 %) que pour la luzerne (9,2 % et 5,2 % MS). Il en résulte un équilibre énergie/azote plus favorable avec le sainfoin qu'avec la luzerne d'autant plus que les TC, en se fixant sur les protéines, vont limiter leur solubilité excessive.

Teneur en azote (N) et N soluble (Ns) : THEODORIDOU *et al.* (2011a) rapportent des teneurs moyennes en azote, établies sur 3 variétés de sainfoin, de 2,27 % MS au 1^{er} cycle de végétation contre 2,87 % MS pour la luzerne cultivée dans les mêmes conditions soit respectivement 14,2 et 17,9 % de protéines. Ces résultats sont en accord avec ceux des Tables INRA (2007), de MC GRAW et MARTEN (1986) ; de KRAIEM *et al.* (1990) et de AUFRERE *et al.* (2008). BORREANI *et al.* (2003), expliquent la **diminution plus rapide de la teneur en azote pour le sainfoin que pour la luzerne** par un changement plus rapide du rapport feuille/tige à partir du début floraison au 1^{er} cycle de végétation. De plus, la variété Esparcette présente un rapport feuille/plante entière plus faible que les autres variétés ce qui explique sa teneur en azote faible et sa teneur en constituants pariétaux (NDF) élevée par rapport

aux autres variétés au 1^{er} cycle de végétation (THEODORIDOU *et al.* 2011a). Un processus similaire peut aussi expliquer la teneur en azote plus élevée pour la luzerne que pour le sainfoin au 2^e cycle de végétation (figure 4).

Contrairement aux protéines de luzerne mal utilisées par le ruminant en raison de la teneur en N soluble (Ns) élevée, associée à un déséquilibre sucres solubles/azote, **la teneur en Ns reste plus faible chez le sainfoin en raison de la protection de la dégradation des protéines par la présence de TC** (valeur moyenne de Ns au premier cycle des 3 variétés de 22,1 % N contre 43,6 % N pour la luzerne ; THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

La concentration en Ns du sainfoin résulte de deux effets inverses qui se compensent en partie : les teneurs en azote diminuent en relation avec le stade de développement mais la diminution concomitante de l'activité biologique des TC, c'est-à-dire de la liaison tannin - protéine, a pour conséquence une augmentation de la teneur en Ns. Il en résulte que les teneurs en Ns du sainfoin évoluent peu et sont en moyennes beaucoup plus faibles que celles de la luzerne.

Composition chimique et mode de conservation : Comme pour la luzerne ou les autres fourrages, la valeur nutritive du foin est plus faible que celle du fourrage vert en raison de la perte de feuilles à la récolte (AUFRERE *et al.*, 2008). En revanche, le sainfoin se caractérise par une **bonne conservation en ensilage mi-fané** sans ajout de conservateur dans la mesure où les TC peuvent se fixer sur les protéines de la plante et empêcher la protéolyse dans le silo (ALBRECHT et MUCK, 1991 ; LORENZ *et al.*, 2010). De plus, les teneurs élevées en glucides solubles permettent un **développement des lactobacilles** qui, en transformant les glucides solubles en acide lactique, entraîneront une baisse supplémentaire du pH et une **bonne conservation de l'ensilage**.

■ Effet des TC sur la valeur alimentaire

• Mise en évidence des effets des tannins condensés

L'effet des TC contenus dans un fourrage peut se faire par comparaison avec un fourrage témoin sans tannins,

lequel peut être une légumineuse (luzerne, trèfle). Néanmoins, ce type de comparaison ne peut généralement pas se faire toutes choses égales par ailleurs. En effet, le sainfoin se développe plus précocement que la luzerne, ce qui peut conduire à des explications biaisées de l'effet des TC car les autres paramètres de la composition chimique ne sont pas identiques.

L'utilisation du **polyéthylène glycol (PEG)**, qui **en se combinant aux TC supprime leurs effets**, permet d'étudier l'effet des TC sur les paramètres digestifs par rapport au fourrage étudié sans ajout de PEG. La quantité de PEG administrée aux animaux sous forme liquide doit être suffisante pour que tous les TC soient inactivés mais une dose excessive de PEG peut augmenter le taux de passage de la phase liquide à la sortie du rumen et provoquer des diarrhées (SCHILLER *et al.*, 1988). Les essais réalisés par THEODORIDOU *et al.* (2010, 2012) l'ont été avec 60 g/jour de PEG, ce qui n'a pas provoqué de diarrhées chez les animaux sans que l'on puisse toutefois affirmer que la totalité des TC était inactivée. La plupart des résultats des expériences *in vivo* rapportées dans ce texte ont été réalisées sur moutons. Lorsqu'une autre espèce animale a été étudiée, elle est précisée.

• L'ingestibilité n'est pas diminuée lorsque la teneur en TC est peu élevée

Pour les fourrages contenant des tannins condensés, il est habituel de trouver des réductions d'ingestion allant de 10 à 30 % lorsque la teneur en TC est élevée (> 50 g/kg MS selon FRUTOS *et al.*, 2004 ; WAGHORN *et al.*, 1999). Le sainfoin semble plus appétent que le lotier (SCHARENBERG *et al.*, 2007) et le foin de sainfoin que celui de luzerne (PARKER et MOSS, 1981). L'ingestibilité du sainfoin est identique (AUFRERE *et al.*, 2008) ou supérieure à celle de la luzerne et du trèfle (EGAN et ULYATT, 1980 ; WAGHORN *et al.*, 1990) que les plantes soient consommées

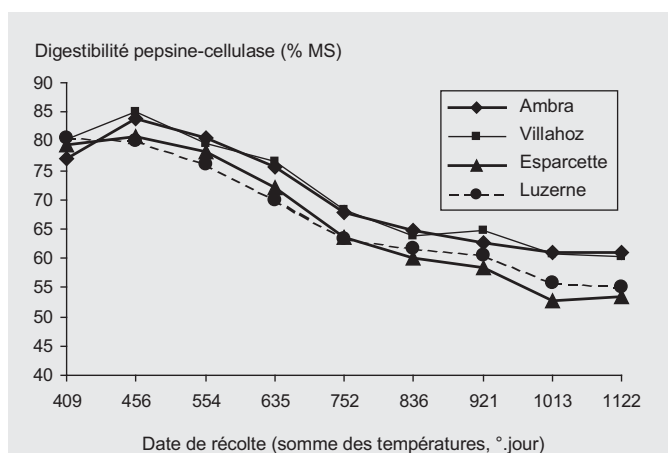


FIGURE 5 : Evolution de la digestibilité pour 3 variétés de sainfoin et une luzerne au 1^{er} cycle de végétation (THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

FIGURE 5 : Pepsin-cellulase digestibility for 3 sainfoin and 1 alfalfa varieties during the 1st growth cycle (THEODORIDOU *et al.*, 2011a).

fraîches ou ensilées (FRASER *et al.*, 2000). La conservation en foin diminue (AUFRERE *et al.*, 2008) ou non l'ingestibilité (PARKER et MOSS, 1981) du sainfoin par rapport à celle de la luzerne. KARNEZOS *et al.* (1994) expliquent une ingestion de sainfoin plus élevée de 30 % que celle de la luzerne par sa teneur plus élevée en sucres.

• Les TC affectent peu la digestion de la matière organique en milieu tempéré

Des variations de **digestibilité *in vitro*** ont été observées par DEMDOUM *et al.* (2008) sur 23 repousses d'automne de sainfoin d'écotypes et variétés différentes. La comparaison de la digestibilité pepsine - cellulase entre une luzerne et 3 variétés de sainfoin récoltées en vert à différents stades phénologiques fait apparaître des différences moyennes de l'ordre de 2 points entre le sainfoin et la luzerne et entre les variétés de sainfoin (THEODORIDOU *et al.*, 2011a ; figure 5).

En comparant sainfoin et luzerne en fourrage vert, ou en utilisant du PEG pour annuler l'effet des TC, notons que KRAIEM *et al.* (1990), AUFRERE *et al.* (2008) et THEODORIDOU *et al.* (2010, 2012) n'ont pas obtenu de diminution significative de la **digestibilité de la matière organique (dMO)** dans l'ensemble du tube digestif (figure 6) alors que SCHARENBERG *et al.* (2007) et BERMINGHAM *et al.* (2001) ont observé une diminution respectivement de 5 à 8 points de dMO lorsque les tannins du sainfoin sont actifs.

Des diminutions de dMO des fourrages de sainfoin conservés en ensilage ou en foin ont été observées par THEODORIDOU *et al.* (2012) et AUFRERE *et al.* (2008). DEMARQUILLY (1968) attribue cette baisse de digestibilité aux pertes mécaniques lors des opérations de fauche, fanage, pressage. Ces pertes mécaniques affectent plus les parties les plus fragiles de la plante (feuilles, folioles...) qui sont aussi les plus digestibles en vert et en sec.

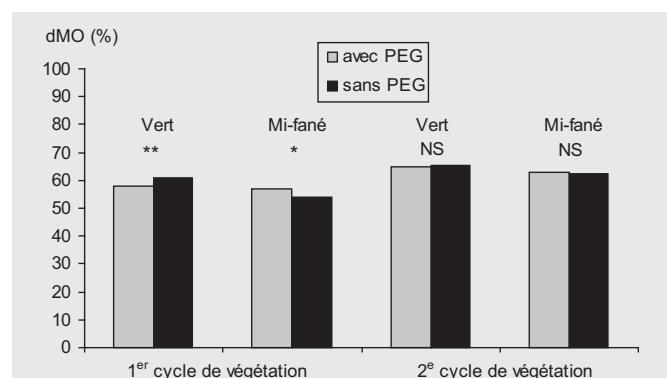


FIGURE 6 : Digestibilité de la matière organique (dMO) et effet des tannins condensés (mis en évidence par le PEG) sur le sainfoin vert ou ensilé mi-fané (1^{er} et 2^e cycles, variété Perly ; THEODORIDOU *et al.*, 2010b, 2012).

FIGURE 6 : Organic matter digestibility (dMO) and effect of condensed tannins (detected with PEG) on fresh or pre-wilted silage sainfoin (1st and 2nd cycles, Perly cv. ; THEODORIDOU *et al.*, 2010b, 2012).

Fourrage	Sainfoin		Sainfoin + PEG		Luzerne		Trèfle blanc		Référence
	dMAT	N retenu	dMAT	N retenu	dMAT	N retenu	dMAT	N retenu	
Fourrage vert - Stade 1	80	0,11					85	-0,06	EGAN et ULYATT, 1980
- Stade 2	74	0,14					84	0,06	
Fourrage séché	50,8				68,1				THOMSON <i>et al.</i> , 1971
Fourrage séché	51				68				HARRISON <i>et al.</i> , 1973
Foin ou ensilage	58,2				73,2				KRAIEM <i>et al.</i> , 1990
Fourrage vert	65		76						BERMINGHAM <i>et al.</i> , 2001
Fourrage ensilé	14,9	-0,13			70,0	0			FRASER <i>et al.</i> , 2000
Fourrage séché	62,1	0,28	70	0,29					SCHARENBERG <i>et al.</i> , 2007
Fourrage ensilé	48	0,19	63	0,27					
Fourrage vert - Stade végétatif	55,6	0,24			71,4	0,19			AUFRERE <i>et al.</i> , 2008
- Début floraison	52,3	0,17			72,8	0,21			
Foin - Début floraison	46,4	0,13			68,3	0,16			
Fourrage vert - Fin floraison (cycle1)	60,1	0,19	67,7	0,23					THEODORIDOU <i>et al.</i> , 2010
- Graines (cycle 1)	59,0	0,26	65,4	0,26					
- Début floraison (cycle 2)	66,5	0,29	77,5	0,30					
Enrubannage - Fin floraison (cycle 1)	54,8	0,16	65,5	0,23					THEODORIDOU <i>et al.</i> , 2012
- Début floraison (cycle 2)	59,1	0,27	73,7	0,28					

TABLEAU 3 : **Digestibilité de l'azote (dMAT, %) et azote retenu (N retenu, g/g Ningéré) sur l'ensemble du tube digestif pour le sainfoin, en présence ou non de PEG (polyéthylène glycol) et comparaison avec la luzerne et le trèfle blanc d'après la littérature.**

TABLE 3 : **Nitrogen digestibility (dMAT, %) and amount of captured nitrogen (N retenu, g/g ingested N) in the digestive tract, in the presence or absence of polyethylene glycol (PEG), and comparative data with alfalfa and white clover based on literature.**

Alors que l'on n'observe **pas d'effet des TC sur la DMO de la plante entière** de sainfoin, **les TC diminuent la dégradation dans le rumen** de la matière sèche des feuilles et des tiges de sainfoin récoltées en vert (THEODORIDOU *et al.*, 2010), de la plante entière (AUFRERE *et al.*, 2008) et de l'ensilage mi-fané (THEODORIDOU *et al.*, 2012). Ce résultat peut s'expliquer par le fait que la diminution de la dégradation de la matière sèche dans le rumen en présence de TC est compensée par une plus forte digestion dans l'intestin une fois les complexes TC - protéines solubilisés, conduisant finalement à une absence d'effet sur la digestibilité totale de la matière organique.

• **La diminution de la dégradation des matières azotées dans le rumen n'est pas toujours compensée par une augmentation de leur digestibilité dans l'intestin**

La méthode des bilans azotés, qui combine la mesure de la digestibilité des matières azotées totales et la mesure de l'azote excrété dans l'urine, permet de déterminer à la fois la part d'azote retenue par l'animal et la part d'azote rejetée dans l'urine et dans les fèces. Pour quantifier l'utilisation de l'azote dans les différents compartiments du tractus digestif, des **mesures en sachets de nylon** dans le rumen et dans l'intestin peuvent être réalisées.

Dans le rumen : Les résultats de ARRIGO et SCHARENBERG (2008) dans une comparaison de plantes contenant ou non des TC et ceux d'AUFRERE *et al.* (2008) comparant sainfoin et luzerne montrent une dégradabilité plus faible de l'azote du sainfoin que de l'azote des plantes ne contenant pas de TC. La diminution de la dégradation des

protéines dans le rumen serait expliquée non seulement par la formation de complexes tannins - protéines au pH du rumen (compris entre 3,5 et 7) qui empêche les protéines d'être solubilisées et dégradées par les microbes mais aussi par une inhibition de la synthèse des bactéries protéolytiques (PATRA et SAXENA, 2010).

La dégradabilité dans le rumen a également été étudiée par la technique des sachets de nylon dans des mélanges de fourrages. La dégradabilité dans le rumen du mélange est inférieure à la moyenne des deux fourrages initiaux comme l'ont montré *in vitro* JULIER *et al.* (2003) pour un mélange luzerne - lotier, AUFRERE *et al.* (2005) pour un mélange sainfoin - luzerne, NIDERKORN *et al.* (2011) pour un mélange sainfoin - dactyle et *in vivo* (AUFRERE *et al.*, 2012a) pour un mélange sainfoin - luzerne.

Dans l'intestin : Si les auteurs dans la littérature sont en général d'accord pour observer une diminution de la dégradation de l'azote dans le rumen en présence de TC, les résultats au niveau de l'intestin sont plus variables. Bien qu'en présence de TC, la quantité d'azote alimentaire non dégradé dans le rumen et arrivant au niveau du duodénum soit élevée, les TC entraîneraient une diminution de la digestibilité intestinale en raison d'une incomplète dissociation tannins - protéines ou bien d'une reformation de la liaison tannins - protéines lors de l'augmentation du pH au-delà de la caillette. L'importance de cette dissociation tannins - protéines peut être attribuée à des différences de structures de tannins et de protéines (MUELLER-HARVEY, 2006) mais aucune étude n'a été réalisée sur le sainfoin. Une autre hypothèse est que les TC pourraient entraîner une diminution de l'absorption au niveau de la barrière intestinale dans les

conditions acides au niveau de l'abomasum et du duodénum. Ils pourraient aussi se lier aux enzymes protéolytiques et diminuer leurs effets (SILANIKOVE *et al.*, 2001). L'importance de ces effets antagonistes détermine l'effet nutritionnel des TC en termes d'azote digéré dans l'intestin. Au final, dans l'ensemble du tube digestif, on observe généralement une diminution plus ou moins importante de la digestibilité des matières azotées qui ne prend en compte que l'azote non digéré, contenu dans les fèces alors que la mesure de l'azote retenu par l'animal prend en compte l'azote perdu à la fois dans les fèces et dans l'urine (tableau 3).

Toutefois, bien que la digestibilité intestinale du sainfoin soit diminuée **par rapport à** celle de la luzerne (AUFRERE *et al.*, 2008) ou en l'absence de PEG (THEODORIDOU *et al.*, 2010), **la quantité d'azote retenue par l'animal (g/g N ingéré) reste la même**. Cette quantité est bien sûr plus élevée pour le fourrage le plus jeune utilisé en vert ou conservé en fourrage mi-fané (tableau 3).

4. Les TC entraînent une diminution d'excrétion de l'azote et de l'émission de méthane

Les principaux gaz à effet de serre qui existent naturellement dans l'atmosphère sont la vapeur d'eau (H₂O), l'ozone (O₃), le dioxyde de carbone (CO₂), le protoxyde d'azote (N₂O) et le méthane (CH₄), ces 3 derniers étant produits notamment par les élevages de ruminants.

La contribution mondiale de l'élevage au GES représenterait, selon la FAO (rapport de 2006), 18 % du total des émissions de gaz à effet de serre. Pour réduire l'effet de l'activité anthropique sur le changement climatique, suite au nouveau protocole de Kyoto, les politiques européennes affichent l'objectif de réduction de ces émissions

de 20 % en 2020 (« Paquet énergie climat »). Dans l'optique de réduire la production de GES entérique chez le ruminant, diverses études ont été réalisées *in vitro* avec des plantes très diverses riches en composés secondaires.

■ Rejets azotés

L'alimentation des ruminants avec des plantes contenant des TC telles que le sainfoin peut entraîner un changement de la forme de l'azote excrété en **réduisant l'azote urinaire tout en augmentant l'azote fécal** (MIN *et al.*, 2003 ; AUFRERE *et al.*, 2008 ; THEODORIDOU *et al.*, 2010 ; figure 7). L'azote urinaire est converti rapidement en émissions gazeuses (NH₃ et NO) alors que la volatilisation de NH₃ des fèces est beaucoup plus lente. De plus, l'azote de l'urine peut directement contaminer l'eau du sol (VAREL *et al.*, 1999) alors que l'azote fécal va se décomposer plus lentement et mieux contribuer à l'accumulation de matière organique que le N urinaire. **L'utilisation de plantes à TC comme le sainfoin permet donc de réduire l'impact environnemental négatif des rejets azotés des ruminants.**

■ Effet sur le méthane

Lorsque la totalité des émissions de GES est exprimée en équivalent CO₂ sur la base du pouvoir réchauffant respectif du CO₂, du N₂O et du CH₄, le méthane représente environ la moitié des émissions de gaz chez le ruminant (DOREAU *et al.*, 2011). *In vitro*, les TC du sainfoin peuvent faire diminuer la production de méthane (MC MAHON *et al.*, 1999 ; THEODORIDOU *et al.*, 2011b). Des effets comparables ont été observés avec du sainfoin associé à du ray-grass ou du dactyle (NIDERKORN *et al.*, 2011) alors que GUGLIELMELLI *et al.* (2011) n'obtiennent pas de diminution de production de CH₄ *in vitro* avec du foin de sainfoin comparé à du foin de luzerne.

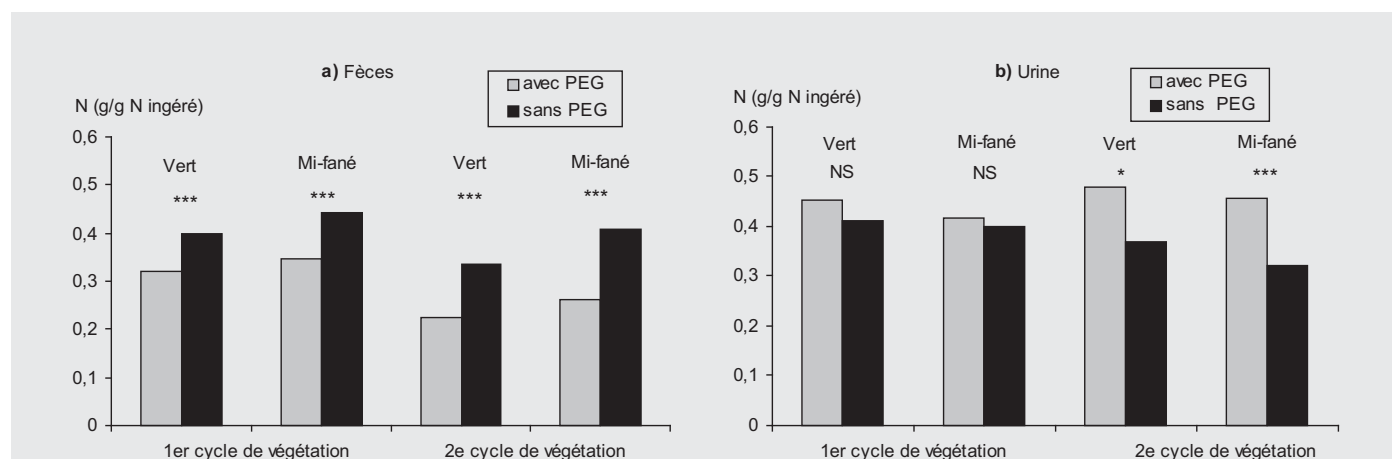


FIGURE 7 : Azote excrété dans a) les fèces et b) l'urine d'animaux ayant consommé du sainfoin vert ou ensilé mi-fané (1^{er} et 2^e cycles de végétation) et effet des tannins condensés (mis en évidence par le PEG ; THEODORIDOU *et al.*, 2010, 2012).

FIGURE 7 : Nitrogen excreted in a) animal feces and in b) animal urine fed fresh sainfoin or pre-wilted silage sainfoin (1st and 2nd growth cycles), plus effect of condensed tannins (detected with PEG ; THEODORIDOU *et al.*, 2010, 2012).

In vivo, les TC des légumineuses des régions tempérées (sulla, lotier pédonculé et corniculé) peuvent entraîner des baisses importantes des émissions de CH₄ par rapport à des plantes qui ne contiennent pas de tannins (revue de DOREAU *et al.*, 2011). Peu d'études portent sur le sainfoin mais une diminution de la production de méthane a été observée dans des expériences réalisées sur des vaches allaitantes alimentées avec du foin de sainfoin par comparaison avec du foin de luzerne (BOUCHARD, 2011). CHOBTANG *et al.* (2011) indiquent qu'**une teneur élevée en TC conduit à une diminution de la production de CH₄ et que cette diminution dépend de la variété de sainfoin étudiée et de sa structure** (PD/PC et mDP faibles, favorables à une baisse de la production de méthane). La faible production de CH₄ chez les ruminants alimentés avec des légumineuses à tannins peut être due à une activité anti-méthanogène des TC et à leur interaction avec des bactéries du rumen (MARTIN *et al.*, 2010). Deux modes d'action des TC sur la méthanogénèse peuvent être proposés (POPOVA *et al.*, 2011) : un effet direct sur les bactéries méthanogènes (les archées), dont le nombre diminue (GUGLIELMELLI *et al.*, 2009) chez des vaches alimentées avec du sainfoin, et un effet indirect sur la digestion des fibres qui diminue la production d'hydrogène, substrat de ces bactéries (TAVENDALE *et al.*, 2005) mais cet effet n'a pas été à notre connaissance testé chez le sainfoin.

Conclusion

Bien que sa production annuelle soit inférieure à celle de la luzerne, notamment celle des repousses, et que sa faible pérennité constitue une limite au développement de sa culture, le sainfoin peut se développer sur des sols pauvres, là où la luzerne ne peut être cultivée.

Par comparaison avec la luzerne, la présence de tannins condensés en quantité modérée n'affecte ni l'ingestibilité du sainfoin, ni sa valeur énergétique. Si la digestibilité des matières azotées du sainfoin est plus faible que celle des légumineuses sans tannins, **l'azote retenu par les animaux n'est pas diminué.**

L'utilisation du sainfoin comme légumineuse fourragère dans l'alimentation des ruminants est donc intéressante non seulement pour la nutrition de l'animal mais aussi pour **limiter les impacts environnementaux** puisque le sainfoin conduit à une moindre pollution par les rejets azotés et pourrait conduire à une diminution de l'émission de CH₄.

Le sainfoin répond donc à l'objectif qui est pour les éleveurs **d'améliorer avant tout l'autonomie fourragère, la valeur azotée des fourrages et la résistance à la sécheresse, avec un souci de limiter le recours aux intrants et à l'irrigation**, en anticipant les attentes des citoyens pour une agriculture durable et de qualité, préservant mieux la qualité de l'eau et réduisant ses émissions de gaz à effet de serre.

De nouvelles recherches se développent dans le cadre d'un projet européen Légume^{plus} où l'étude de l'utilisation

par les ruminants du sainfoin associé à d'autres légumineuses et graminées a été entreprise. Les cultures du sainfoin en mélange avec d'autres plantes semblent très prometteuses en termes de rendement et de qualité pour la nutrition des ruminants.

Depuis 2010, **l'aide supplémentaire aux protéagineux est élargie à de nouvelles surfaces en légumineuses fourragères et notamment au sainfoin** afin de favoriser l'implantation de ces cultures qui enrichissent le sol en azote et limitent la consommation d'intrants dans les assolements (Commission des comptes de l'agriculture, article 68) ce qui est un élément favorable pour le développement de cette culture.

Accepté pour publication,
le 5 septembre 2012.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AERTS R., BARRY T., MCNABB W.C. (1999) : "Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages", *Agric. Ecosyst. Environ.*, 75, 1-12.
- ALBRECHT K.A., MUCK R.E. (1991) : "Proteolysis in ensiled legumes that vary in tannin concentration", *Crop Science*, 31, 464-469.
- ARRIGO Y., SCHARENBERG A. (2008) : "Détermination de la valeur nutritive de plantes riches en tannins. Globalisierung und Klimawandel: Verändern sie die Tierernährung in der Schweiz Tagungsbericht, ETH Zürich, Institut für Nutztierwissenschaften", *Schriftenreihe aus dem INW*, 30, 147-150.
- AUFRERE J., DUDILIEU M., PONCET C., BAUMONT R. (2005) : "Effect of condensed tannins in sainfoin on *in vitro* protein solubility of lucerne", *XXth Int. Grassl. Congr., Grasslands - a Global Resource*, (O'Mara F.P., Wilkins R.J., 't Mannetje L., Lovet D.K., Rogers P.A.M., Boland T.M. eds), Dublin, Irlande, Wageningen Academic Publishers, p 248.
- AUFRERE J., PONCET C., GAYRAUD P., DUDILIEU M., LAGET M., BERTHON D., BAUMONT R. (2006) : "Nutritional interest of growing mixtures of grasses and legumes with and without tannins", *EGF 2006: Sustainable Grassland Productivity*, 3-6 April, Badajoz, Spain, 11, 360-362.
- AUFRERE J., DUDILIEU M., PONCET C. (2008) : "*In vivo* and *in situ* measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay", *Animal*, 2, 1331-1339.
- AUFRERE J., DUDILIEU M., ANDUEZA D., PONCET C., BAUMONT R. (2012a) : "Mixing sainfoin and lucerne to improve the feed value of legumes fed to sheep by the effect of condensed tannins", *Animal* (doi:10.1017/S1751731112001097).
- AUFRERE J., THEODORIDOU K., BAUMONT R. (2012b) : "Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés", *INRA Productions Animales*, 25, 29-45.
- BALDRIDGE D.E., LOHMILLER R.G. (1990) : *Montana Interagency Plant Materials Handbook*, Montana State University, Bozeman, M.T., 337 p.
- BARRY T.N., MCNABB W.C. (1999) : "Review article. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants", *Br. J. Nutr.*, 81, 263-272.
- BELL A.A., EL-ZIK K.M., THAXTON P.M. (1992) : "Chemistry, biological significance, and genetic control of proanthocyanidins in cotton (*Gossypium* spp.)", Hemingway, R.W., Laks P.E. (eds.), *Plant polyphenols, synthesis, properties, significance*, Plenum Press, London, 571-595.

- BERARD N.C., WANG Y., WITTENBERG K.M., KRAUSS D.O., COULMAN B.E., MC ALLISTER T.A., OMINSKI K.H. (2011): "Condensed tannin concentrations found in vegetative and mature forage legumes grown in western Canada", *Can. J. Plant Sci.*, 91, 669-675.
- BERMINGHAM E.N., HUTCHINSON K.J., REVELL D.K., BROOKES I.M., MCNABB W.C. (2001): "The effect of condensed tannins in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on the digestion of amino acids in sheep", *Proc. N. Zeal. Soc. Anim. Prod.*, 61, 116-119.
- BORREANI G., PEIRETTI P.G., TABACCO E. (2003): "Evolution of yield and quality of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) in the spring growth cycle", *Agronomie*, 23, 193-201.
- BOUCHARD K. (2011): *Methane emissions and rumen microbial changes in steers fed condensed tannin containing diets under western Canadian conditions*, <http://hdl.handle.net/1993/4779>
- CHOBTANG J., HATEW B., HENDRIKS W.H., STRINGANO E., MUELLER-HARVEY I., PELLIKAAN W.F. (2011): "Assessing sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) accessions for their efficacy to reduce in vitro rumen methane production", 36th An. Nutrition Res. Forum, Heverlee (Belgium).
- DELGADO ENGUITA I. (2010): "Autres repères autres paysages. Ensemercer les terres abandonnées? Quelques solutions contre la désertification", *Courrier de l'environnement de l'INRA*, 58, 69-73.
- DELGADO I., ANDRES C., SIN E., OCHOA M.J. (2005): "Current state of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) in Spain", *Agric. Revista Agropecuaria*, 74, 146-149.
- DELGADO I., SALVIA J., BUIL I., ANDRES C. (2008): "The agronomic variability of a collection of sainfoin accessions", *Span. J. Agric. Res.*, 6, 401-403.
- DEMARQUILLY C. (1968): "Valeur alimentaire des foin et des fourrages déshydratés", *Bulletin Technique d'Information*, INRA, 226, 1-11.
- DEMDOM S., DELGADO I., MUNOZ F. (2008): "Caractérisation agronomique et valeur nutritive de la repousse automnale d'une collection de sainfoin (*Onobrychis viciifolia*)", *Renc. Rech. Ruminants*, 15, 299.
- DEMDOM S., MUNOZ F., DELGADO I. (2010): "Forage production of a collection of sainfoin over a three year period", *Options méditerranéennes*, 92, 101-104.
- DOREAU M., MARTIN C., EUGENE M., POPOVA M., MORGAVI D.P. (2011): "Leviers d'action pour réduire la production de méthane entérique par les ruminants", *INRA Prod. Anim.*, 24, 461-474.
- EGAN A.R., ULYATT M.J. (1980): "Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. VI Utilization of nitrogen in five herbage", *J. Agric. Sci. (Cambr.)*, 94, 47-56.
- FRAME J., CHARLTON J.F., LAIDLAW A.S. (1998): "Alsike clover and sainfoin", Frame J., Charlton J.F. et Laidlaw A. S. (eds), *Temperate forage legumes*, Wallingford CAB International, 273-289.
- FRASER M.D., FYCHAN R., JONES R. (2000): "Voluntary intake, digestibility and nitrogen utilization by sheep fed ensiled forage legumes", *Grass Forage Sci.*, 55, 271-279.
- FRAZIER R.A., PAPADOPOULOU A., MUELLER-HARVEY I., KISSOON D., GREEN R.J. (2003): "Probing protein-tannin interactions by isothermal titration microcalorimetry", *J. Agric. Food Chem.*, 51, 5189-5195.
- FRUTOS P., HERVAS G., GIRALEZ F.J., MANTECON A.R. (2004): "Review. Tannins and ruminant nutrition", *Span. J. Agric. Res.*, 2, 191-202.
- GEA A., STRINGANO E., BROWN R.H., MUELLER-HARVEY I. (2011): "In situ analysis and structural elucidation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) tannins for high throughput germplasm screening", *J. Agric. Food Chem.*, 59, 495-503.
- GOPLEN B.P., RICHARDS K.W., MOYER J.R. (1991): *Sainfoin for western Canada. Publication 1470/E*, Ottawa Canada. Agriculture Canada.
- GUGLIEMELLI A., PEREZ O.N., TIEMESSEN F., DOMENIS M., ALBANESSE R., SMIDT H., PELLIKAAN W.F. (2009): "Changes in methanogenic populations residing in the rumen of dairy cows in response to a sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) based diet", *Proc. 11th Int. Symp. on Ruminant Physiology (ISRP)*, Clermont-Ferrand (France), 6-9 September, 198-199.
- GUGLIEMELLI A., CALABRO S., PRIMI R.; CARONE F., CUTRIGNELLI M.I., TUDISCO R., PICCOLO G., RONCHI B., DANIELLI P.P. (2011): "In vitro fermentation patterns and methane production of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) hay with different condensed tannin contents", *Grass Forage Sci.*, 66, 488-500.
- HAGERMAN A.E. (1987): "Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts", *J. Chem. Ecol.*, 13, 437-449.
- HARRISON D.G., BEEVER D.E., THOMSON D.J., OSBURN D.F. (1973): "The influence of diet upon the quantity and types of amino acids entering and leaving the small intestine of sheep", *J. Agric. Sci., Cambridge*, 81, 391-401.
- HAYOT-CARBONERO C. (2011): *Sainfoin (Onobrychis viciifolia), a forage legume with great potential for sustainable agriculture, an insight on its morphological, agronomical, cytological and genetic characterisation*, thèse, Université de Manchester, 175 p.
- HAYOT-CARBONERO C., MUELLER-HARVEY I., BROWN T.A., SMITH L. (2011): "Sainfoin (*Onobrychis viciifolia*): a beneficial forage legume", *Plant Genetic Resources: Characterization and Utilization*, 9, 70-85.
- HUYGHE C. (2005): *Prairies et cultures fourragères en France. Entre logiques et production et enjeux territoriaux*, INRA, Paris.
- IANELLI (1989): *Apicoltura*, REDA, Rome, Italie.
- IASON G.R., HODGSON J., BARRY T. (1995): "Variation in condensed tannin concentration of a temperate grass (*Holcus lanatus*) in relation to season and reproductive development", *J. Chemical Ecology*, 21, 1103-1112.
- INRA (2007): *Alimentation des bovins, ovins et caprins. Besoin des animaux-Valeur des aliments*, éd. Quae, 307 p.
- JULIER B., HUYGHE C. (2010): "Quelles légumineuses fourragères (espèces et variétés) et quelles conduites pour améliorer l'autonomie protéique des élevages herbivores", *Innovations Agronomiques*, 11, 101-114.
- JULIER B., GUINES F., EMILE J., HUYGHE C. (2003): "Variation in protein degradability in dried forage legumes", *Anim. Research*, 52, 401-412.
- KALLENBACH R.L., MATCHES A.G., MAHAN J.R. (1996): "Sainfoin regrowth declines as metabolic rate increases with temperature", *Crop Sci.*, 36, 1, 91-97.
- KALU B.A., FICK G.W. (1981): "Quantifying morphological development of alfalfa for studies of herbage quality", *Crop Sci.*, 21, 267-271.
- KARNEZOS T.P., MATCHES A.G., BROWN C.P. (1994): "Spring lamb production on alfalfa, sainfoin, and wheatgrass pastures", *Agron. J.*, 86, 497-502.
- KAZUK R.W. (2010): *An investigation of sainfoin condensed tannin dynamics in manured perennial forage production*, thèse, Department of Plant Science, University of Manitoba (Canada), 164 p.
- KOIVISTO J.M., LANE G.P.F. (2001): *Sainfoin-worth another look*, Cirencester, UK-Royal Agricultural College, <http://www.fao.org/ag/AGP/agpc/docg-1base/AddInfo/sainfoin.pdf>
- KRAIEM K., GARRETT J.E., MEISKE J.C., GOODRICH R.D., MARTEN G.C. (1990): "Influence of method of forage preservation on fibre and protein digestion in cattle given lucerne, birdsfoot trefoil and sainfoin", *Anim. Prod.*, 50, 221-230.
- LEES G.L., GRUBER M.Y., SUTTILL N.H. (1995): "Condensed tannins in sainfoin. II. Occurrence and changes during leaf development", *Can. J. Bot.*, 73, 1540-1547.
- LIU Z., BAINES R.N., LANE G.P.F., DAVIES W.P. (2006): "The effects of establishment method on the yield of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and sainfoin-grass mixtures", *Proc. of British Grassl. Soc.*, 8th Res. Conf., p 9-10.
- LORENZ M.M., ERIKSSON T., UDÉN P. (2010): "Effect of wilting, silage additive, PEG treatment and tannin content on the distribution of N between different fractions after ensiling of three different sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) varieties", *Grass Forage Sci.*, 65, 175-184.

- MAKKAR H.P.S., DAWRA R., SINGH B. (1988) : "Determination of both Tannin and Protein in a Tannin-Protein Complex", *J. Agric. Food Chem.*, 36, 523-525.
- MARAIS J.P.J., MUELLER-HARVEY I., BRANDT E.V., FERREIRA D. (2000) : "Polyphenols, condensed tannins, and other natural products in *Onobrychis viciifolia* (sainfoin)", *J. Agric. Food Chem.*, 48, 3440-3447.
- MARTIN C., MORGAVI D.P., DOREAU M. (2010) : "Methane mitigation in ruminants: from microbe to the farm scale", *Animal*, 4, 3, 351-365.
- MARTINIELLO P., LAUDADIO V., PINTO V., CIRUZZI B. (2000) : "Influence des techniques de culture sur la production de sulla et de sainfoin en milieu méditerranéen", *Fourrages*, 161, 53-59.
- MC GRAW R.L., MARTEN G.C. (1986) : "Analysis of primary spring growth of four pasture legume species", *Agron. J.*, 78, 704-710.
- MC MAHON L.R., MAJAK W., MCALLISTER T.A., HALL J.W., JONES G.A., POPP J.D., CHENG K.J. (1999) : "Effect of sainfoin on *in vitro* digestion of fresh alfalfa and bloat in steers", *Can. J. Anim. Sci.*, 79, 203-212.
- MC NABB W.C., WAGHORN G.C., PETERS J.S., BARRY T.N. (1996) : "The effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on the solubilization and degradation of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase (EC 4.1.1.39; Rubisco) protein in the rumen and the sites of Rubisco digestion", *Br. J. Nutr.*, 76, 535-549.
- MEYER D.W. (1975) : "Yield, Regrowth, and Persistence of Sainfoin under Fertilization", *Agron. J.*, 67, 439-441.
- MEYER-JONES (2000) : *Hay types for performance horses*, <http://www.equiworld.com/uk/horsecare/feeding/articles/a/HayTyperforPerformanceHorses.htm>
- MIN R., BARRY T.N., ATTWOOD G.T., MC NABB W.C. (2003) : "The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 106, 3-19.
- MINNEE E.M.K., WOODWARD S.L., WAGHORN G.C., LABOYRIE P.G. (2002) : "The effect of ensiling forage legumes on condensed tannins", *Agron. N. Z.*, 32/33, 117-119.
- MUELLER-HARVEY I. (2006) : "Review. Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health", *J. Sci. Food Agric.*, 86, 2010-2037.
- MUELLER-HARVEY I., MC ALLAN A.B. (1992) : "Tannins their biochemistry and nutritional properties", *Advances in Plant Cell Biochem. Biotechnol.*, 1, 151-217.
- NIDERKORN V., BAUMONT R., LE MORVAN A., MACHEBOEUF D. (2011) : "Occurrence of associative effects between grasses and legumes in binary mixtures on *in vitro* rumen fermentation characteristics", *J. Anim. Sci.*, 89, 1138-1145.
- PARKER R.J., MOSS B.R. (1981) : "Nutritional value of sainfoin hay compared with alfalfa hay", *J. Dairy Sci.*, 64, 206-210.
- PATRA A.K., SAXENA J. (2010) : "Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition", *J. Sci. Food Agric.*, 91, 24-37.
- PEEL M.D., ASAY K.H., JOHNSON D.A., WALDRON B.L. (2004) : "Forage production of sainfoin across an irrigation gradient", *Crop Sci.*, 44, 614-619.
- PFLIMLIN A., ARNAUD J.D., GAUTIER A., LE GALL A. (2003) : "Les légumineuses fourragères, une voie pour concilier autonomie en protéines et préservation de l'environnement", *Fourrages*, 174, 183-203.
- POPOVA M., MORGAVI D.P., DOREAU M., MARTIN C. (2011) : "Production de méthane et interactions microbiennes dans le rumen", *INRA Prod. Anim.*, 24, 447-461.
- PROSPERI J., DEMARQUET F., ANGEVAIN M., MANSAT P. (1994) : "Evaluation agronomique de variétés de pays de sainfoin (*Onobrychis sativa* L.) originaires du sud-est de la France", *Agronomie*, 14, 285-298.
- REYNE Y., GARAMBOIS X. (1977) : "Note sur la valeur alimentaire en zone méditerranéenne irriguée du ray-grass d'Italie Tiara et du sainfoin Fakir distribués en vert", *Fourrages*, 69, 85-96.
- SCHARENBERG A., ARRIGO Y., GUTZWILLER A., WYSS U., HESS H., KREUZER M., DOHME F. (2007) : "Effect of feeding dehydrated and ensiled tanniferous sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on nitrogen and mineral digestion and metabolism of lambs", *Arch. Anim. Nutr.*, 61, 390-405.
- SCHILLER L.R., EMMETT M., SANTA ANA C.A., FORDTRAN J.S. (1988) : "Osmotic effects of polyethylene glycol", *Gastroenterology*, 94, 933-941.
- SILANIKOVE N., PEREVOLOTSKY A., PROVENZA F.D. (2001) : "Use of tannin binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 91, 69-81.
- TAVENDALE M.H., MEAGHER L.P., PACHECO D., WALKER N., ATTWOOD G.T., SIVAKUMARAN S. (2005) : "Methane production from *in vitro* rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa* and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 123, 403-419.
- TERRILL T.H., ROWAN A.M., DOUGLAS G.B., BARRY T.N. (1992) : "Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains", *J. Sci. Food Agric.*, 58, 321-329.
- THEODORIDOU K. (2010) : *Les effets des tannins condensés du sainfoin (Onobrychis viciifolia) sur sa digestion et sa valeur nutritive*, thèse Clermont-Ferrand, Université d'Auvergne, 289 p.
- THEODORIDOU K., AUFRERE J., ANDUEZA D., POURRAT J., LEMORVAN A., STRINGANO E., MUELLER-HARVEY I., BAUMONT R. (2010) : "The effect of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 160, 23-28.
- THEODORIDOU K., AUFRERE J., ANDUEZA D., LEMORVAN A., PICARD F., STRINGANO E., STRINGANO E., POURRAT J., MUELLER-HARVEY I., BAUMONT R. (2011a) : "Effect of plant development during first and second growth cycle on chemical composition, condensed tannins and nutritive value of three sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) varieties and lucerne", *Grass Forage Sci.*, 66, 402-414.
- THEODORIDOU K., AUFRERE J., NIDERKORN V., ANDUEZA D., LE MORVAN A., PICARD F., BAUMONT R. (2011b) : "*In vitro* study of the effects of condensed tannins in sainfoin on the digestive process in the rumen at two vegetation cycles", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 170, 147-159.
- THEODORIDOU K., AUFRERE J., ANDUEZA D., LE MORVAN A., PICARD F., POURRAT J., BAUMONT R. (2012) : "Effects of condensed tannins in wrapped silage bales of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep", *Animal*, 6, 2, 245-253.
- THOMSON D.J., BEEVER D.E., HARRISON D.G., HILLI W., OSBURND F. (1971) : "The digestion of dried sainfoin and dried lucerne by sheep", *Proc. Nutr. Soc.*, 30, 14A.
- VAREL V.H., NIENABER J.A., FREELY H.C. (1999) : "Conservation of nitrogen in cattle feedlot waste with urease inhibitors", *J. Anim. Sci.*, 77, 1162-1168.
- WAGHORN G.C., ULYATT M.J., JOHN A., FISHER M. (1987) : "The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L.", *Br. J. Nutr.*, 57, 115-126.
- WAGHORN G.C., JONES W.T., SHELTON I.D., MC NABB W.C. (1990) : "Condensed tannins and the nutritive value of herbage", *Proc. N. Z. Grassland Assoc.*, 51, 171-176.
- WAGHORN G.C., REED J.D., NDLOVU L.R. (1999) : "Condensed tannins and herbivore nutrition", *Proc. 18th Int. Grassl. Congr.*, Vol. III, Buchanan-Smith J.G., Bailey L.D., McCaughey P. (eds), Saskatchewan (Canada), 8-19 June 1997, Association Management Centre, Calgary, AB, Canada, 153-166.