



HAL
open science

Quelles légumineuses fourragères (espèces et variétés) et quelles conduites pour améliorer l'autonomie protéique des élevages herbivores ?

Bernadette Julier, Christian C. Huyghe

► To cite this version:

Bernadette Julier, Christian C. Huyghe. Quelles légumineuses fourragères (espèces et variétés) et quelles conduites pour améliorer l'autonomie protéique des élevages herbivores?. *Innovations Agronomiques*, 2010, 11, pp.101-114. hal-02664740

HAL Id: hal-02664740

<https://hal.inrae.fr/hal-02664740>

Submitted on 31 May 2020

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Quelles légumineuses fourragères (espèces et variétés) et quelles conduites pour améliorer l'autonomie protéique des élevages herbivores ?

Julier B.¹, Huyghe C.²

¹ INRA, UR4 Unité de Recherche Pluridisciplinaire Prairies et Plantes Fourragères, RD 150, BP 80006, F86600 Lusignan

² INRA, Centre Poitou-Charentes, RD 150, BP 80006, F86600 Lusignan

Correspondance : Bernadette.Julier@lusignan.inra.fr

Résumé

La fourniture de protéines de bonne valeur est indispensable à la croissance et à la production des ruminants. De nombreuses espèces de légumineuses fourragères, adaptées au climat tempéré, ont des potentialités élevées de production de protéines, sans apport d'engrais azotés de synthèse. Les espèces les plus productives et les plus utilisées, comme la luzerne et les trèfles, ont une dégradabilité élevée de leurs protéines dans le rumen, ce qui pénalise leur assimilation par l'animal. D'autres espèces, lotier, sainfoin, coronille, produisent des tannins condensés qui permettent de réduire cette dégradabilité. Face à des possibilités d'amélioration génétique assez limitées, les solutions techniques ou agronomiques peuvent maximiser la valorisation des protéines par les ruminants : des traitements technologiques tels que la déshydratation, des cultures associant plusieurs espèces pour rétablir un équilibre protéines / énergie de la ration permettant une meilleure assimilation des protéines, et enfin l'apport de légumineuses riches en tannins dans la ration, soit en les incluant dans les cultures en association, soit en les ajoutant à la ration. Au total, ces légumineuses fourragères offrent des opportunités réelles d'accroître l'autonomie protéique des élevages de ruminants.

Mots-clés : légumineuse, protéine, fourrage, autonomie

Abstract: Species and varieties of forage legumes and adapted agronomic practices to increase protein self-sufficiency of livestock farming.

Growth and production of ruminants require high quality proteins in their feed diet. Numerous forage legume species, adapted to temperate climates, have a high potential for protein production without any mineral nitrogen fertilizer. The most productive and used species, such as alfalfa and clovers, have a high protein degradability in their rumen and this decreases their assimilation by the animal. Other species, birdsfoot trefoil, sainfoin, crownvetch, produce condensed tannins that reduce protein degradation. As the possibilities of genetic improvement are limited, several technical or agronomical methods could help to maximise valorisation of proteins by ruminants: technological treatments such as dehydration, cultivation of mixtures of species to establish a convenient ratio between protein and energy that contribute to a better protein assimilation, and also addition of tannin-rich legumes to the diet, either directly sown in mixtures or as additional feed. Finally, forage legumes can really contribute to increase protein autonomy of livestock farming.

Keywords: legume, protein, forage, self-sufficiency

Introduction

Les ruminants, comme les autres animaux, doivent trouver dans leur ration les protéines nécessaires à leur croissance et à leur production. Au-delà de la seule quantité en protéines, l'équilibre en acides

aminés et l'assimilation des protéines par les animaux sont cruciaux. La ration de base de ces animaux est composée de fourrages, des graminées fourragères plus ou moins riches en protéines et des légumineuses qui affichent des teneurs en protéines comprises entre 15 et 25% de leur matière sèche. Cette ration de base est souvent complétée pour ajuster l'alimentation fournie aux besoins des animaux, que ce soit pour l'énergie, les protéines ou plus spécifiquement des composés mineurs en quantité tels que les vitamines ou les minéraux.

Les systèmes d'élevage en France, et plus largement en Europe, se sont largement focalisés sur la couverture des besoins énergétiques des animaux par des végétaux produits sur l'exploitation. Ainsi, la part d'autoproduction de protéines végétales destinées à la complémentation des rations en Europe n'est que de 23%. Les aliments fournissant cette énergie ont généralement une teneur en protéines insuffisante. Les besoins additionnels en protéines sont souvent couverts par des compléments riches en protéines, achetés par l'éleveur et le plus souvent importés de l'étranger : c'est le cas du tourteau de soja. Ce choix a deux avantages : (1) l'éleveur ne se soucie que de la production de fourrages de bonne valeur énergétique, en utilisant aussi souvent que besoin des engrais azotés de synthèse, (2) il achète en général à un prix très compétitif une source de protéines de bonne qualité. Les inconvénients de ce système ont été révélés à l'occasion de plusieurs crises. En effet, l'importation de protéines en provenance de l'étranger est soumise à des variations de prix voire à des pénuries (par exemple l'embargo sur les importations de soja en 1973, ou plus récemment les tensions sur les marchés internationaux). En outre, ces importations rendent difficiles de garantir la traçabilité des aliments, que ce soit sanitaire (crise de la vache folle lorsque les farines animales étaient encore autorisées) ou sur la présence d'OGM (pour les filières Bio). Enfin, le bilan environnemental de ce système est médiocre au moins à l'échelle de l'exploitant européen : il achète des engrais azotés minéraux dont la synthèse, basée sur l'utilisation de réserves d'énergie fossile, contribue au relargage de CO₂ et au réchauffement climatique. Le raisonnement nord-américain est strictement opposé : l'éleveur cherche à assurer les besoins en protéines de ses animaux et complémente si nécessaire la ration en énergie.

Le gain d'autonomie protéique des élevages permettrait donc de réduire cette dépendance face aux importations, d'améliorer la traçabilité de l'alimentation animale et sa sécurité et d'améliorer le bilan environnemental de la production agricole. On peut en attendre une réduction des coûts et dans tous les cas une moindre sensibilité aux variations des marchés internationaux. Pour atteindre cet objectif, des solutions existent : il s'agit des légumineuses fourragères pérennes, qui permettent de produire des fourrages riches en protéines sans apport d'engrais azotés. De nombreuses espèces sont adaptées au climat tempéré, même si certaines ont été délaissées depuis quelques décennies.

Après avoir décrit plus précisément les besoins protéiques des élevages en fonction des productions animales, nous présenterons les espèces de légumineuses fourragères pérennes avec leurs avantages et leurs limites. Enfin, nous évaluerons quelles pratiques sont susceptibles d'améliorer cette autonomie des élevages.

1- Quels sont les besoins en protéines des animaux ?

Les constituants azotés issus des fourrages de la ration doivent fournir au ruminant de l'azote qui sera absorbé sous la forme d'azote alpha-aminé mais aussi d'ammoniaque par l'intestin grêle. Les besoins des animaux sont satisfaits à partir de deux principales sources : les protéines synthétisées par les micro-organismes du rumen et les protéines de la ration qui échappent à la dégradation microbienne du rumen.

Les constituants azotés des fourrages sont de deux sortes : les constituants azotés non protéiques et les protéines. Les composés azotés non protéiques sont solubles dans l'eau (et dans le rumen) et représentent 15 à 25% de l'azote des fourrages. Ils ne sont utiles à l'animal que s'ils sont valorisés par la synthèse microbienne. Les protéines sont principalement contenues dans le cytoplasme des cellules

et dans les chloroplastes, ce sont principalement des enzymes impliquées dans la photosynthèse. Elles sont largement solubles et sont dégradées dans le rumen d'autant plus rapidement qu'elles sont accessibles et peu résistantes aux enzymes microbiennes. Selon leurs localisations dans les cellules végétales et leurs propriétés physico-chimiques, elles seront plus ou moins dégradées (Demarquilly et al., 1981 ; Jarrige et al., 1995).

La composition en acides aminés essentiels des protéines des légumineuses fourragères convient bien aux besoins des ruminants, mais il faut cependant noter un déficit sensible en méthionine et en lysine. En revanche, la composition des protéines microbiennes est réellement proche de la composition en acides aminés du lait de vache (Broderick, 1994).

La teneur en azote d'un fourrage est donc insuffisante pour décrire sa valeur protéique. Idéalement, il faudrait déterminer la valeur protéique d'un fourrage en mesurant dans quelle mesure il contribue à fournir ces deux types de protéines, celles synthétisées par les microbes du rumen et celles qui échappent à la dégradation ruminale. Ces mesures sont complexes du fait de l'intervention de la flore microbienne. L'INRA a mis en place le système PDI pour raisonner l'alimentation protéique des ruminants (Vérité et al., 1979). Les PDI (protéines digestibles dans l'intestin grêle) estime la quantité de protéines absorbées dans l'intestin grêle, en considérant leur double origine, alimentaire et microbienne. Chaque aliment est caractérisé par deux valeurs PDI: l'une (PDIN), calculée à partir de ses teneurs en azote dégradé et en azote non dégradé dans le rumen et l'autre (PDIE) calculée à partir de sa teneur en énergie libérée dans le rumen et de la teneur en azote non dégradé (INRA 1978, Vérité et Peyraud, 1988). Dans le calcul des rations, on additionne séparément les valeurs PDIN et PDIE des aliments. La valeur PDI de la ration est la plus faible de ces deux valeurs. On comprend donc que la mesure que la dégradabilité des protéines alimentaire dans le rumen est cruciale. Cette caractéristique est extrêmement laborieuse à mesurer avec des animaux (mesures *in vivo*). Aussi des méthodes *in vitro* utilisant des enzymes ou des produits chimiques ont été mises au point (Lindberg, 1985). Une autre méthode consiste à mesurer la cinétique de dégradation des protéines d'échantillons de fourrage en les plaçant dans des sachets incubés dans le rumen (Orskov et McDonald, 1979). On détermine alors la dégradation des protéines du fourrage à partir du taux de dégradation de leurs protéines et du flux de sortie du rumen pour les protéines non dégradées.

Au total, la valeur protéique d'un fourrage est déterminée par la teneur globale en azote, la dégradabilité ruminale de cet azote et l'énergie fournie par le fourrage.

2- Les espèces disponibles : atouts et limites

Sur le territoire national, ce sont principalement trois légumineuses fourragères (la luzerne – *Medicago sativa*, le trèfle blanc – *Trifolium repens* et le trèfle violet – *Trifolium pratense*) qui sont utilisées. De nombreuses autres espèces sont cultivées mais en moindre quantité (comme le lotier - *Lotus corniculatus*, d'autres trèfles – *Trifolium sp.*, le sainfoin - *Onobrychis viciifolia*, la coronille - *Coronilla varia* et les mélilots - *Melilotus sp.*). Les espèces dominantes ont été choisies dans les années 1960 pour leur aptitude à la production de biomasse dans nos conditions pédoclimatiques et d'exploitation. Le secteur semencier et la création variétale se sont focalisés sur ces principales espèces en délaissant les autres pour lesquelles le catalogue variétal est réduit.

2-1 Valeur agronomique

Les aptitudes agronomiques des différentes espèces sont bien décrites (Tableau 1, <http://www.prairies-gnis.org/pages/caracteristiques.htm>). Schématiquement, la luzerne est une plante à port érigé qui supporte les épisodes de sécheresse mais ne tolère pas les sols acides ou hydromorphes. C'est l'espèce qui permet de produire la plus grande quantité de protéines à l'hectare. Elle est cultivée pure ou en association avec une graminée fourragère de grande taille comme le dactyle ou la fétuque, et

récoltée en fauche sous forme de foin, d'ensilage (sous réserve d'addition d'un conservateur) ou d'enrubannage, plus rarement pâturée. De façon très complémentaire, le trèfle blanc, à port rampant, est bien adapté aux zones fraîches et humides, et tolère très bien le pâturage. Il n'est cultivé qu'en association, le plus souvent avec du ray-grass anglais. Le trèfle violet, à port érigé, est cultivé pur ou en association. Il est assez souvent utilisé en ensilage où la conservation des protéines est satisfaisante. La coronille qui a de longues tiges assez épaisses à port partiellement retombant, est productive seulement dans les deux premières coupes de l'année. Si son implantation est lente, sa pérennité est remarquable. Le lotier corniculé est lui aussi assez délicat à implanter mais il est productif dans des conditions séchantes. Le sainfoin, peu pérenne, est productif dans les premières coupes de l'année. Il présente une bonne aptitude à la production d'ensilages.

Tableau 1 : Caractéristiques biologiques et agronomiques des principales légumineuses fourragères pérennes (à partir de Huyghe, 2005)

Espèce	Caractéristiques biologiques	Caractéristiques agronomiques
Coronille <i>Coronilla varia</i>	Tiges grossières et creuses, de 30 à 150 cm de longueur, feuilles comportant 5 à 25 paires de folioles, fleurs roses disposées en couronne, forte racine pivotante. Multiplication végétative par racines rhizomateuses Allogame, entomophile	Intérêts Rendement fourrager élevé au printemps; résistance à la sécheresse et au froid, non météorisante Limites Sensibilité aux sols hydromorphes, salins ou alcalins
Lotier corniculé <i>Lotus corniculatus</i>	Hauteur de 30 à 60 cm, racines pivotantes. Tiges cylindriques glabres, pleines, dressées et fortement ramifiées. Fleurs jaune vif. Graines irrégulièrement globuleuses, jaunâtres et souvent dures ; PMG de 1 à 1,4 g. Allogame, entomophile et autotétraploïde ($2n = 4x = 24$)	Intérêts Bonne pérennité dans tous les sols ; tolérance à la sécheresse ; Adaptation au pâturage ; Absence de risque de météorisation en raison de la présence de tannins dans les feuilles Limites Installation lente et délicate ; Productivité fourragère limitée
Luzerne <i>Medicago sativa</i>	Grande taille (50 – 100 cm), racines pivotantes, puissantes et profondes. Tiges dressées Gousses fortement spiralées, graines réniformes, jaunâtres, parfois dures et d'un PMG de 2 g. Allogame, entomophile et autotétraploïde ($2n = 4x = 32$)	Intérêts Rendement fourrager très élevé ; Forte croissance estivale, même en situations séchantes ; Bonne résistance au froid ; Forte teneur en protéines ; Espèce s'associant bien avec le dactyle et le brome. Limites Sensibilité aux excès d'eau ; Fanage difficile au printemps ; Pâturage délicat en culture pure en raison des risques de météorisation
Sainfoin <i>Onobrychis viciifolia</i> .	Hauteur de 40 à 80 cm, racines pivotantes. Tiges presque dressées Les gousses contiennent une graine brunâtre. Allogame entomophile et tétraploïde ($2n = 4x = 28$).	Intérêts Réservé aux prairies de courte durée (1 à 3 ans) ; Forte production de printemps ; Teneur élevée en protéines ; Absence de météorisation ; Tolérance à la chaleur et aux sols calcaires Limites Faible pérennité ; Non adapté aux sols lourds, acides et trop humides.
Trèfle blanc <i>Trifolium repens</i>	Légumineuse de petite taille à tiges couchées qui forment des stolons. Feuilles à	Intérêts S'associe très bien au ray-grass anglais ou à la

	<p>longs pétioles</p> <p>Types variétaux classés en fonction de la taille des folioles : de petite taille pour les types nains à très grande pour les types <i>Ladino</i> en passant par les intermédiaires (ou <i>Hollandicum</i>).</p> <p>Graines cordiformes et jaunes ; PMG de 0,6 g.</p> <p>Allogame, entomophile, allotétraploïde ($2n = 4x = 32$).</p>	<p>fétuque élevée pour une utilisation en pâturage. ; Pousse bien l'été ; Très appétible ; Très digestible et très riche en protéines</p> <p>Limites</p> <p>Installation lente en semis d'automne ; Exige des sols bien pourvus en potasse ; A besoin de lumière pour se développer ; Météorisation en cas de présence excessive dans la prairie</p>
<p>Trèfle violet</p> <p><i>Trifolium pratense</i></p>	<p>Taille moyenne, forte racine pivotante</p> <p>Les gousses contiennent une graine jaunâtre d'un PMG de 1,6 g.</p> <p>Allogame entomophile et diploïde ($2n = 2x = 14$). Certaines variétés sont tétraploïdes.</p>	<p>Intérêts</p> <p>Rendement fourrager élevé ; Résistance au froid ; Adaptation aux sols acides ; Bonne valeur énergétique et protéique ; Facile à ensiler ; S'associe bien avec le ray-grass hybride</p> <p>Limites</p> <p>Pérennité moyenne ; Sensibilité à la sécheresse ; Difficile à faner ; Risque de météorisation au pâturage</p>

2-2 Valeur protéique

La valeur alimentaire de ces espèces est variable en fonction du stade de développement, à l'exception du trèfle blanc dont la composition morphologique est constante. La teneur en protéines est toujours élevée comparée aux graminées fourragères, d'autant qu'elle est obtenue sans fertilisation azotée. Globalement, les feuilles sont toujours de meilleure qualité (teneur en protéines, valeur énergétique) que les tiges. La teneur en protéines est élevée chez le trèfle blanc dont on récolte principalement les feuilles et elle évolue peu en fonction du stade de récolte. En revanche chez les espèces dont on récolte tiges et feuilles (luzerne, trèfle violet...), la teneur en protéines est plus faible du fait de la présence de tiges et diminue au cours de la croissance des plantes puisque la proportion de tiges dans le fourrage augmente et que la qualité des tiges diminue tandis que la qualité des feuilles est constante (Figure 1) (Lemaire et Allirand, 1993). Il existe une variabilité faible mais exploitable en sélection entre variétés et populations pour la teneur en protéines chez la luzerne (Julier et al., 2003a), à production constante en biomasse. La prise en compte conjointe lors de l'inscription des variétés de la composition biochimique (teneur en protéines et teneur en parois) et du rendement permet une progression sur ces deux composantes majeures de la valeur agronomique (Figure 2). On a pu montrer qu'un schéma de sélection visant à améliorer la valeur énergétique avait permis d'augmenter corrélativement la teneur en protéines (Julier et al., 2003b). La marge de progrès, si elle est effectuée à niveau de rendement constant, n'est pas très importante (+ 2 ou 3% de protéines dans la matière sèche), mais elle sera néanmoins positive. La spectroscopie de réflectance dans le proche infrarouge (SPIR) permet une mesure à haut débit de la teneur en protéines, ainsi que de la teneur en parois sur du matériel en cours de sélection. Elle est utilisée par les sélectionneurs pour créer de nouvelles variétés améliorées pour ce caractère (Lonnet, 1996).

La teneur en sucres solubles et en amidon est généralement faible (3 à 6%), quoique son augmentation au cours de la journée, du fait de l'accumulation de photosynthétats, soit suffisante pour avoir un impact sur la valeur alimentaire du fourrage (Pelletier et al. 2010). Toutefois, cette faible teneur en sucres explique la difficulté de produire des ensilages de qualité à partir de la luzerne et dans une moindre mesure chez le trèfle violet. En effet, le manque de sucres fermentescibles ralentit les fermentations lactiques et l'abaissement du pH, ce qui génère des difficultés de conservation. Les options sont alors d'ajouter des conservateurs, essentiellement des acides, et d'augmenter la teneur en matière sèche

avec un préfanage, permettant d'atteindre une stabilité de l'ensilage à des pH plus élevés. L'enrubannage, réalisé à des teneurs en matière sèche comprises entre 40 et 55% constitue alors un compromis intéressant.

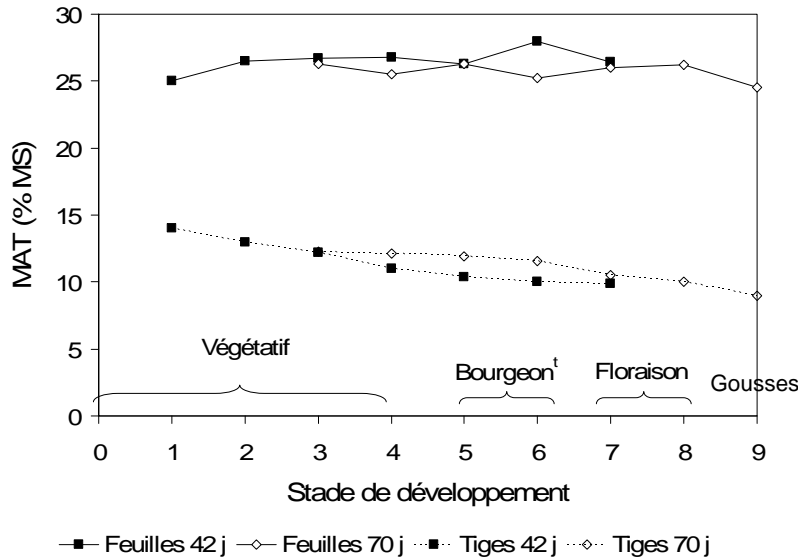


Figure 1: Evolution de la teneur en protéines des tiges et des feuilles de luzerne en fonction du stade de développement (adapté de Kalu et Fick, 1983)

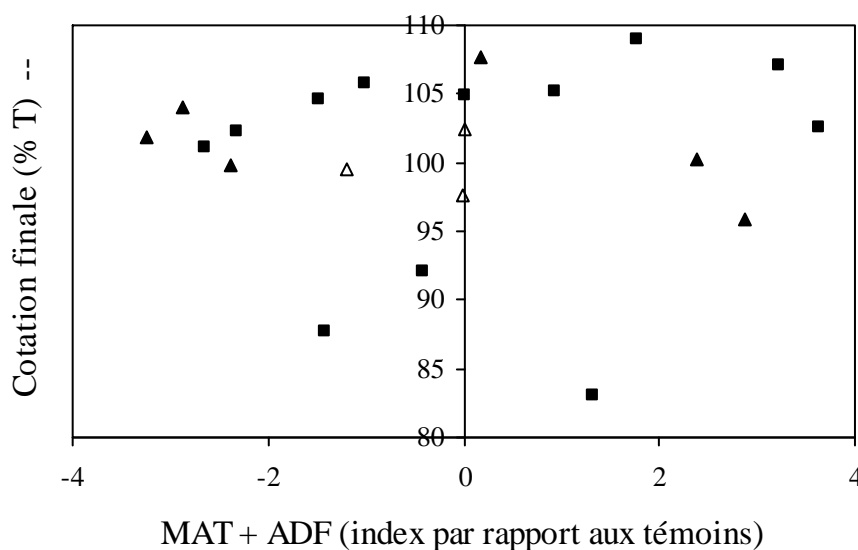


Figure 2: Relation entre l'index de composition biochimique et la cotation finale des luzernes lors de l'inscription des variétés au CTPS. Légende : ■ : variétés candidates ; ▲ : témoins ; symboles pleins : 2007 ; symboles vides : 2008 ; symboles grisés : 2009

Des variétés améliorées pour la teneur en protéines (MAT) et la teneur en parois (ADF) ont été obtenues par les sélectionneurs (à droite du graphique)

Les protéines produites par les légumineuses fourragères, comme les autres protéines végétales sont essentiellement solubles dans l'eau et elles sont très vite dégradées en acides aminés dans le rumen. Or, nous avons vu précédemment que les ruminants assimilent essentiellement des protéines dans leur intestin grêle. La dégradation ruminale des protéines limite donc leur assimilation. De plus, le rapport protéines/énergie est plus élevé que l'optimum. Dans ce contexte, les microorganismes du rumen utilisent une partie des protéines pour leur fournir de l'énergie. Néanmoins, la croissance de ces microorganismes permet la synthèse de protéines microbiennes qui pourront être assimilées par l'animal. Au total, l'efficacité d'utilisation des protéines fourragères est souvent médiocre. De ce fait, la quantité de protéines fournie dans la ration dépasse les stricts besoins, les excédents non assimilés sont excrétés, principalement dans les urines, pouvant conduire à des pollutions environnementales. La

forte dégradabilité des protéines est donc une limitation importante à la valorisation des légumineuses par les ruminants qu'il faut essayer de dépasser.

1-3 Composés secondaires et dégradabilité des protéines

Certaines légumineuses de régions tempérées comportent dans leurs parties végétatives (vacuoles des cellules des feuilles, des tiges, des racines) des composés secondaires qui ont une influence sur l'utilisation des protéines. Ainsi, le lotier, le sainfoin et la coronille produisent des tannins condensés alors que la luzerne, les trèfles et les mélilots en sont dépourvus, même si on trouve des tannins dans les fleurs de trèfle et dans les téguments des graines de luzerne. Les tannins condensés (Figure 3) sont des composés phénoliques (Morris et Robbins 1997) connus pour réduire la dégradabilité des protéines dans le rumen, mais à forte concentration, ils altèrent aussi la valeur énergétique en réduisant la digestibilité de la matière organique. A forte concentration, ils pénalisent même l'ingestibilité des fourrages. La teneur en tannins condensés est variable selon les variétés des espèces tempérées (entre 0.5 et 5% de la matière sèche). L'effet des tannins condensés sur la dégradabilité des protéines, sur la digestibilité et sur l'ingestibilité dépend de la teneur, de leur astringence, du degré moyen de polymérisation et du rapport entre les monomères prodelphinidine/procyanidine. Les conditions de culture influencent fortement la teneur en tannins condensés et leur composition. La teneur est accrue par des périodes sèches (Anuraga *et al.*, 1993). Elle varie donc en fonction du cycle (Theodoridou, 2010) mais qui peut aussi être modifiée par des traitements particuliers de photopériode et de température (Morris et Robbins 1997).

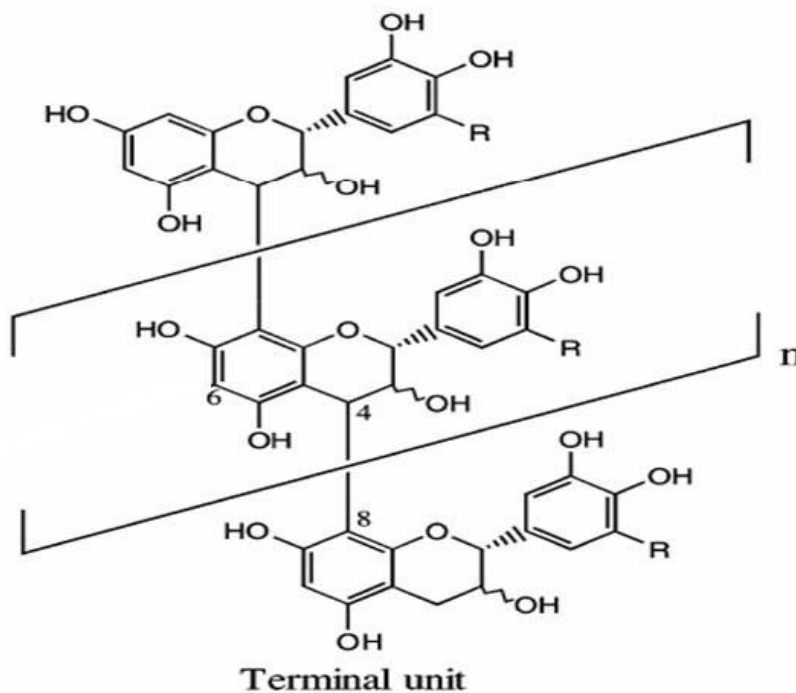


Figure 3 : Structure des tannins condensés. Pour les tannins à proanthocyanidine, le radical R est H. Pour les tannins à prodelphinidine, le radical R est OH

A pH neutre tel que celui du rumen, les tannins condensés se lient aux protéines (Jones et Mangan, 1977) et le complexe formé ne peut pas être dégradé par les microorganismes du rumen. Dans l'intestin grêle où le pH est acide, le complexe se dissocie, et les protéines peuvent alors être directement assimilées. De la même façon, les tannins peuvent se lier aux fibres des fourrages et limiter alors leur digestion ruminale. Dans ce cas, la digestion des fibres est définitivement réduite puisque leur dégradation est réalisée essentiellement dans le rumen. A forte concentration de tannins condensés (5% et au-delà) comme cela peut être le cas chez des légumineuses tropicales (*Desmodium ovalifolium* (Carulla *et al.*, 2001), *Lespedeza cuneata*, (McSweeney *et al.*, 2001)), l'effet négatif sur la digestion de la matière organique est très important, les tannins venant inhiber l'activité des enzymes digestives, conduisant parfois à proposer des additifs tels que le polyéthylène glycol (PEG) pour neutraliser les

tannins. A faible concentration (2%) telle que celle rencontrée chez du lotier cultivé ou chez le sainfoin en climat tempéré, la digestibilité de la matière organique n'est pratiquement pas réduite. En revanche, la dégradabilité des protéines, mesurée en laboratoire, est nettement réduite comparée à de la luzerne ou du trèfle (Julier et al., 2003c ; Theodoridou, 2010). Le fourrage de lotier est donc riche en protéines, de valeur énergétique normale et ses protéines sont moins dégradées dans le rumen. Ces résultats, obtenus par des mesures en laboratoire, ont été testés sur des animaux en production en utilisant une autre légumineuse, le sainfoin. En comparant du fourrage non traité et du fourrage traité avec du PEG pour annuler l'effet des tannins condensés, il a été montré que si la dégradabilité des protéines mesurée au laboratoire était effectivement réduite par la présence de tannins, la quantité d'azote retenu par l'animal n'était pas augmentée. En conséquence, les rejets azotés sont identiques, mais les rejets urinaires sont réduits alors que les rejets fécaux sont augmentés. Cette répartition des rejets azotés est positive, car les rejets urinaires sont rapidement lessivés alors que les rejets fécaux parviennent plus facilement à enrichir les sols (Theodoridou et al. 2010). Ces résultats obtenus sur des animaux à l'entretien vont être enrichis par de nouvelles études sur le devenir des protéines de sainfoin dans des rations d'animaux en production (R. Baumont, communication personnelle).

L'effet des tannins sur la dégradabilité des protéines a un impact sur le risque de météorisation au pâturage. Lorsque des ruminants ingèrent un fourrage humide riche en protéines, la dégradation rapide des protéines dans le rumen permet la mise en place de réseaux de protéines qui, enrichis des gaz issus de la fermentation ; génèrent une mousse. Cette mousse, en gonflant sans permettre l'éruclation des gaz est à l'origine de la météorisation. Les légumineuses contenant des tannins ne présentent pas de risque de météorisation puisque les protéines sont faiblement dégradées et ne peuvent constituer ces réseaux protéiques. Il est bon de noter que les trèfles produisent des tannins dans leurs fleurs. Pour cette raison, le trèfle incarnat (*Trifolium incarnatum*), largement introduit depuis quelques années dans les exploitations en agriculture biologique, et exploité à un stade de pleine floraison, est décrit comme non météorisant. Il en est de même pour les prairies riches en trèfle blanc au moment où celui-ci est en floraison.

Les tannins condensés ont des intérêts supplémentaires dans l'élevage des ruminants. Tout d'abord, les tannins présents dans le lotier et le sainfoin agissent comme des agents antiparasitaires directs contre les nématodes intestinaux des ruminants, mais semblent aussi agir indirectement en augmentant la résistance de l'hôte (Hoste et al., 2006). L'alimentation avec le sainfoin permet de réduire le nombre d'œufs de nématodes rejetés tant chez les ovins (Heckendorn et al., 2006) que chez les chèvres (Hoste et al., 2005 ; Paolini et al, 2005), avec un net effet de la teneur en tannins. L'analyse des modes d'actions a permis de montrer que l'interaction entre la présence de tannins et les premiers stades de l'infection par le nématode était un des principaux modes d'action contribuant aux propriétés anthelmintiques des légumineuses riches en tannins (Brunet et al., 2007). En outre, on a montré que la présence de tannins condensés dans la ration contribue à réduire les émissions de méthane lors de la rumination, un gaz impliqué dans l'effet de serre et donc le réchauffement climatique (Animut et al., 2007 ; Puchala et al., 2005).

Chez la plupart des variétés de trèfle violet, il y a présence d'une enzyme particulière dans les cellules, la PPO pour PolyPhenol Oxydase (Jones et al., 1995). Lorsque cette enzyme est en contact avec l'oxygène de l'air et en présence de composés phénoliques, elle est activée ce qui conduit à une réduction de la dégradabilité des protéines. Au pâturage, le temps de contact de la PPO avec l'oxygène est trop court pour produire un effet positif. De même pour du trèfle violet récolté en foin, le séchage empêche l'action de la PPO. En revanche, en ensilage, le fourrage est suffisamment broyé pour que la PPO soit en contact avec l'oxygène de l'air, et la durée d'ensilage permet à la PPO de réduire efficacement la dégradabilité des protéines. Pour cette raison, la valeur protéique de l'ensilage de trèfle violet est élevée.

2-4 Combiner valeur agronomique et faible dégradabilité des protéines

Comme nous venons de le voir, les trois principales légumineuses fourragères cultivées ont des dégradabilités de protéines élevées. Cette caractéristique pénalise la valorisation de leur biomasse par les ruminants. Les légumineuses dont la dégradabilité de protéines est plus faible sont caractérisées par des valeurs agronomiques modestes dans la plupart des conditions pédoclimatiques de nos régions. L'amélioration des plantes est souvent une voie pour corriger certains caractères et créer ainsi des variétés mieux adaptées aux besoins des agriculteurs.

Dans le cas présent, quatre stratégies sont possibles :

- (1) réussir à faire exprimer des tannins condensés dans la biomasse végétative de la luzerne et des trèfles. La voie de biosynthèse des tannins n'est pas parfaitement connue mais elle fait intervenir un grand nombre d'enzymes (Aerts et al., 1999). Cette voie n'est pas absente des légumineuses citées, puisque la luzerne synthétise des tannins dans la paroi de ses graines et que les trèfles en contiennent dans leurs fleurs. Il faudrait parvenir à « allumer » la voie de biosynthèse dans les feuilles ou les tiges. Aucun variant naturel n'ayant été trouvé, une perspective serait d'introduire un ou quelques gènes permettant cette orientation de la voie de biosynthèse des tannins dans les organes végétatifs. Un projet financé par l'Union Européenne il y a une dizaine (CAGED) avait cette ambition. Cependant la voie de biosynthèse et sa régulation sont très complexes (Zhao et al., 2010). Des tentatives de faire exprimer des tannins chez la luzerne ont été faites. En introduisant un gène de régulation de la voie de synthèse des anthocyanines issu du maïs chez la luzerne, une accumulation de molécules précurseurs des tannins ont été obtenus mais ces plantes ne produisent pas de tannins condensés (Jonker et al., 2010). Les perspectives concrètes de produire des variétés OGM de luzerne exprimant des tannins sont encore éloignées. De plus, la faible acceptabilité des variétés OGM par la société, en particulier pour des espèces allogames, n'a pas incité à poursuivre les recherches dans cette direction ;
- (2) faire exprimer la PPO chez la luzerne et le trèfle blanc. Cette enzyme n'est très efficace que dans la situation d'une exploitation du fourrage en ensilage, mais ceci serait déjà une amélioration notable. Un tel transfert de gènes a été réussi par Sullivan et al (2004) avec la luzerne en utilisant trois gènes codant pour la PPO et clonés chez le trèfle violet. Même si l'activité PPO chez les transformants est plus faible que chez le trèfle, une réduction de 80% de la protéolyse post-récolte a été observée dans du matériel foliaire de plantes ayant intégré le gène PPO1 en présence de *o*-diphénol, substrat de l'activité PPO. Ainsi, une activité PPO, même nettement plus faible que chez le trèfle violet pourrait avoir des applications pratiques importantes. Par homologie avec le trèfle violet, l'activité PPO chez la luzerne ne devrait pas suffire à réduire les risques de météorisation au pâturage, même si l'expérience n'a pas été réalisée ;
- (3) réduire la dégradabilité des protéines en réduisant la solubilité des protéines, qui représente la phase initiale de leur dégradation. Cette stratégie a été utilisée au Canada permettant d'obtenir une variété présentant moins de risques de météorisation mais de moindre digestibilité (Coulman et al., 2000). Cette voie de progrès est donc limitée, les gains opérés pour réduire la dégradation des protéines étant associés à une perte de digestibilité de la matière organique. Cette liaison négative entre dégradabilité des protéines et digestibilité de la matière organique est d'ailleurs constatée quand on analyse un ensemble de variétés de luzerne (Julier et al., 2003b) ;
- (4) améliorer la valeur agronomique des espèces contenant des tannins condensés pour qu'elle atteigne celle de la luzerne ou du trèfle violet. Cette perspective est en réalité assez peu réaliste, les espèces ayant des limites intrinsèques difficiles à surmonter dans les conditions optimales des systèmes d'exploitation actuels même si une certaine marge de progrès est

certainement possible, y compris sur le rendement fourrager comme observée chez certaines autres espèces. Toutefois, cette question pourrait être rediscutée dans un contexte économique et environnemental différent, prenant en compte les conséquences bénéfiques sur les pertes en azote et sur les réductions des émissions de méthane.

Dans ces conditions où le progrès génétique au sein des espèces concernées est limité, il convient de rechercher des pistes techniques permettant d'améliorer la valorisation de ces protéines fourragères.

3- Des conduites et des pratiques

Nous avons vu précédemment que les légumineuses fourragères étaient capables de produire une grande quantité de protéines dont la composition en acides aminés est largement favorable. En revanche, la forte dégradabilité des protéines des espèces les plus productives et la faible productivité des espèces ayant une dégradabilité des protéines réduite sont des freins à la valorisation des protéines fourragères. Des réflexions sur les conduites agronomiques et sur les pratiques sont menées pour améliorer cette situation, d'une part pour augmenter l'autonomie protéique des élevages, d'autre part pour limiter les pollutions en azote générées par les élevages. Plusieurs voies sont envisageables : des traitements technologiques du fourrage visant à réduire la dégradabilité des protéines, des cultures en mélange d'espèces ayant des valeurs agronomiques et compositions biochimiques complémentaires, des additions de tannins végétaux. Nous allons analyser ces trois pistes qui ne sont nullement exclusives les unes des autres.

3-1 Traitements technologiques

La solution la plus simple pour réduire la dégradabilité des protéines est de modifier leur conformation en utilisant de hautes températures. En effet, lorsqu'on déshydrate un fourrage à hautes températures, il s'établit des liaisons covalentes entre protéines et sucres (réactions de Maillard) ce qui réduit la dégradation des protéines dans le rumen. La déshydratation se traduit généralement par une augmentation de la quantité d'azote absorbé par l'intestin grêle (Demarquilly et al., 1981). La déshydratation, largement utilisée pour la luzerne, est de ce fait le mode de récolte qui permet de valoriser au mieux les protéines. Elle a en outre l'avantage de produire un fourrage facile à conserver. Cependant, nécessitant des infrastructures lourdes, elle ne peut pas être l'unique voie à la réduction de la dégradabilité des protéines. D'ailleurs, dans la problématique du bilan environnemental à cette filière de la déshydratation, le bénéfice fourni par l'amélioration qualitative des protéines doit être pris en compte.

3-2 Mélanges d'espèces

Le mélange d'espèces peut être une solution pour combiner les qualités des différentes espèces.

La première stratégie, qui connaît un regain d'intérêt notable depuis plusieurs années, consiste à combiner graminées et légumineuses, le plus souvent au champ en cultivant des associations. Cette méthode a fait ces preuves au niveau agronomique, et on connaît quelques assemblages d'espèces qui montrent des performances agronomiques élevées : trèfle blanc – ray-grass anglais, luzerne – dactyle par exemple. Dans ces associations, l'enjeu est de maintenir un équilibre entre les deux espèces, ce qui est généralement possible en ajustant les doses de semis et les pratiques agronomiques (modes d'exploitation, fertilisation) (voir Louarn et al., Actes de ce colloque). Au niveau protéique, le fourrage ainsi récolté combine souvent une teneur en protéines et une teneur en énergie appropriée à la nutrition animale. Ce ratio protéines/énergie est favorable à la valorisation des protéines, même si elles sont intrinsèquement dégradables dans le rumen : en effet, les micro-organismes du rumen vont prioritairement utiliser l'énergie de la ration pour leur croissance et leur multiplication, ce qui épargne pour partie une dégradation des protéines dans le rumen. Ces protéines sont donc mieux absorbées dans l'intestin grêle. Cet usage traditionnel des légumineuses fourragères dans des cultures associées

avec des graminées mérite donc l'intérêt qu'on lui porte de nouveau, permettant de produire des fourrages de bonne qualité nutritionnelle et en grande quantité, sans apport de fertilisants azotés de synthèse.

Une seconde stratégie, qui se présente comme une variante de la précédente, consiste à introduire dans les mélanges d'espèces des légumineuses riches en tannins. En effet, il a été montré à l'échelle expérimentale que le mélange de lotier avec de la luzerne ou du trèfle permettait de réduire sensiblement la dégradabilité globale des protéines (Julier et al., 2003c). La dégradabilité des protéines du mélange est inférieure à la moyenne des dégradabilités des deux fourrages initiaux (Figure 4). Cela signifie que les tannins du lotier ont pour partie réduit la dégradation des protéines de la luzerne ou du trèfle. Obtenu en conditions de laboratoire et nécessitant une validation sur des animaux nourris avec des mélanges d'espèces, ce résultat constitue une piste prometteuse. De ce résultat, on peut préconiser la culture différents mélanges ou associations d'espèces : (1) des mélanges de légumineuses : luzerne – lotier, bien qu'on puisse craindre que le lotier ait une pérennité faible puisque son interception de la lumière en présence de la luzerne, de taille plus haute, soit limitée, ou luzerne – sainfoin, ou luzerne – coronille ; (2) des associations graminées – légumineuses incluant des légumineuses riches en tannins : ray-grass anglais – trèfle blanc – lotier ou dactyle – luzerne – coronille, ou d'autres combinaisons. La valeur agronomique et alimentaire de ces mélanges demande à être évaluée, toute la difficulté étant de maintenir les différentes espèces au cours des cycles de coupes – repousses pendant plusieurs années.

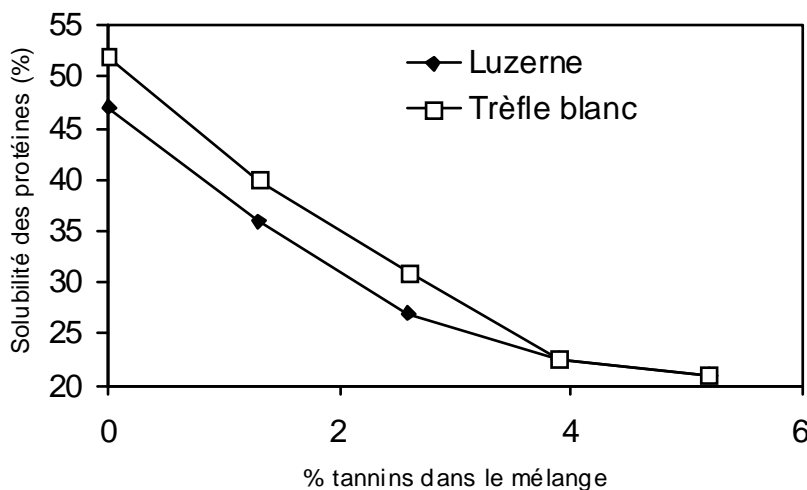


Figure 4 : Effet sur la solubilité des protéines de l'introduction de tannins dans des mélanges à base de luzerne ou de trèfle blanc

Une dernière stratégie pourra être de réaliser un mélange à l'auge. Dans ce cas, considérant que la culture d'associations graminées – légumineuses est relativement facile à maîtriser, l'agriculteur pourrait consacrer une partie de sa surface agricole à cultiver une espèce riche en tannins condensés même si sa production fourragère est modeste. Il introduirait ce fourrage dans la ration de ses animaux, dans l'objectif de mieux valoriser les protéines fournies par les autres composantes de la ration, en particulier celles apportées par des légumineuses de bonne productivité et des graminées fourragères. Ayant mieux valorisé les protéines produites sur l'exploitation, il réduit ses coûts de production et gagne en autonomie. Difficilement envisageable pour une alimentation en vert à l'auge, ceci pourrait être applicable lors de la production de fourrages conservés

3-3 Addition de tannins végétaux

Une modalité pour réduire la dégradabilité protéique des fourrages comme la luzerne ou les trèfles pourraient consister à ajouter des tannins condensés au fourrage déjà récolté. Les espèces fourragères tempérées ont des teneurs relativement limitées en tannins condensés qui ne permettent pas une

extraction rentable. En revanche, certaines espèces tropicales peuvent en contenir plus de 20% de leur matière sèche (12% pour *Mimosa caesalpiniiifolia*, Campos et al., 2009 ; 17.5% pour *Calliandra calothyrsus*, Tiemann et al., 2008, 7 à 30% pour *Desmodium ovalifolium*, Schofield et al. 2001). Leur extraction est possible même si elle est complexe. Au laboratoire, l'ajout de tannins condensés à des échantillons de luzerne et de trèfle permet de réduire leur dégradabilité (Julier et al., 2003c). De la même façon que nous l'avons constaté dans le paragraphe « mélange d'espèces », la proximité cellulaire des protéines et des tannins n'est donc pas indispensable à l'efficacité des tannins. Cette perspective offre aussi la possibilité de « choisir » les tannins que l'on souhaite utiliser. En effet, dans la famille de ces composés secondaires, les structures chimiques diffèrent largement, et influencent leur effet sur la dégradabilité des protéines. L'effet des tannins est plus fort pour des degrés de polymérisation plus faibles (Waghorn, 2008) et pour des rapports élevés entre les monomères prodelphinidine/procyanidine (Aerts et al., 1999). Ces résultats concernant l'utilisation de tannins condensés issus d'extraction demandent à être validés dans des expérimentations sur des animaux. L'efficacité économique et environnementale d'une telle technique a aussi largement besoin d'être précisée.

Conclusion

Les légumineuses fourragères sont des espèces traditionnellement utilisées dans les prairies et qui connaissent un regain d'intérêt. En effet, la fixation symbiotique de l'azote atmosphérique leur permet de produire un fourrage riche en protéines sans apport d'engrais azotés de synthèse. Cette spécificité peut être exploitée pour nourrir les ruminants et contribuer à augmenter l'autonomie protéique des élevages. Les espèces les plus couramment cultivées sont aussi celles qui ont la meilleure productivité. Parmi les autres espèces, relativement délaissées actuellement, certaines produisent des tannins dans leur biomasse végétative aérienne, tannins qui contribuent à une meilleure valorisation des protéines par l'animal.

A la fois pour accroître l'autonomie protéique des élevages mais aussi pour obtenir des bilans environnementaux améliorés, la culture de légumineuses fourragères est prometteuse, en particulier en association avec des graminées fourragères. La combinaison d'espèces très productives avec des espèces riches en tannins pourrait être une solution d'avenir. De telles préconisations demandent néanmoins d'assurer le maintien de toutes les espèces implantées tout au long de la vie de la prairie. Les mécanismes impliqués dans la survie des plantes dans ces peuplements complexes devront être élucidés, et des expérimentations dans différentes situations d'exploitation (conditions pédoclimatiques, mode de récolte, rythme d'exploitation) devront être menées.

Références bibliographiques

Aerts R., Barry T., McNabb W.C., 1999. Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture Ecosystems and Environment* 75, 1-12

Animut G., Puchala R., Goetsch A.L., Patra A.K., Sahlu T., Varel V.H., Wells J., 2007. Methane emission by goats consuming diets with different levels of condensed tannins from *Lespedeza*. *Animal Feed Science and Technology* 144, 212-227

Anuraga M., Duarsa P., Hill M.J., Lovett J.V., 1993. Soil moisture and temperature affect condensed tannin concentrations and growth in *Lotus corniculatus* and *Lotus pedunculatus*. *Australian Journal of Agricultural Research* 44, 1667-1681

Broderick G.A., 1994. Quantifying forage protein quality. In: Fahey Jr, G.C. (Ed.), *Forage quality, evaluation, and utilization*. ASA-CSSA, SSSA, Madison, p. 200-228

- Brunet S., Aufrère J., Babili E.L., Fouraste F.I., Hoste H., 2007. The kinetics of exsheathment of infective nematode larvae is disturbed in the presence of a tannin-rich plant extract (sainfoin) both *in vitro* and *in vivo*. *Parasitology* 134, 1253-1262.
- Carulla J., Lascano C and Klopfenstein T 2001. Reduction of tannin level in tropical legume (*Desmodium ovalifolium*) with polyethylene glycol (PEG): effects on intake and N balance, digestion and absorption by sheep. *Archivos latinoamericanos de Producción animal* 9, 17-24.
- Campos G.M., Louvandini H., McManus C.M., Cabral Filho S.L.S., Garcia J.A.S., Abdalla A.L., 2009. Growth performance of hair sheep at pasture, supplemented with tropical legume (*Mimosa caesalpiniiifolia* Benth) rich in condensed tannins. *Options Méditerranéennes. Série A, Séminaires Méditerranéens* 85, 181-184
- Coulman B.E., Goplen B.P., McAllister T., Majak W., Cheng K.J., Hall J., Berg B., McCartney D., Acharya S., 2000. A review of the development of a bloat-reduced alfalfa cultivar. *Canadian Journal of Plant Science* 80, 487-491
- Demarquilly C., Grenet E., Andrieu J., 1981. Les constituants azotés des fourrages et la prévision de la valeur azotée des fourrages. In : *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, C. Demarquilly (Ed), INRA, Versailles, p. 129-154.
- Heckendorn F., Haring D.A., Maurer V., Senn M., Hertzberg H., 2007. Individual administration of three tanniferous forage plants to lambs artificially infected with *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei*. *Veterinary Parasitology* 146, 123-134.
- Hoste H., Gaillard L., Le Frileux Y., 2005. Consequences of the regular distribution of sainfoin hay on gastrointestinal parasitism with nematodes and milk production in dairy goats. *Small Ruminant Research* 59, 265–271.
- Hoste H., Jackson F., Athanasiadou S., Thamsborg S.M., Hoskin S.O., 2006. The effects of tannin-rich plants on parasitic nematodes in ruminants. *Trends Parasitology* 22, 253-261
- Huyghe C., Duru M., Peyraud J.L., Lherm M., Gensollen V., Bournoville R., Couteaudier Y., 2005. Prairies et cultures fourragères : au carrefour des logiques de production et des enjeux environnementaux. INRA Editions, 209 pp
- INRA, 1978. Alimentation des ruminants. INRA Publications, Versailles
- Jarrige R., Grenet E., Demarquilly C., Besle J.M., 1995. Les constituants de l'appareil végétatif des plantes fourragères. In : Jarrige R. et al. (Eds), *Nutrition des ruminants domestiques, ingestion et digestion*. INRA Editions, INRA, Paris, p. 25-82
- Jones B.A., Hatfield R.D., Muck R.E., 1995. Screening legume forages for soluble phenols, polyphenol oxidase and extract browning. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 67, 109-112
- Jones W.T., Mangan J.L., 1977. Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mycoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28, 126-136
- Jonker A., Gruber M.Y., McCaslin M., Wang Y., Coulman B., McKinnon J.J., Christensen D.A., Yu P., 2010. Nutrient composition and degradation profiles of anthocyanidin-accumulating Lc-alfalfa populations. *Canadian Journal of Animal Science* 90, 401-412
- Julier B., Guines F., Emile J.C., Huyghe C., 2003a. Variation in protein degradability in dried forage legumes. *Animal Research* 52, 401-412
- Julier B., Guines F., Ecalle C., Emile J.C., Lila M., Briand M., Huyghe C., 2003b. Eléments pour une amélioration génétique de la valeur énergétique de la luzerne. *Fourrages* 173, 49-61
- Julier B., Lila M., Huyghe C., Morris P., Allison G., Robbins M., 2003c. Effet des tannins condensés sur la solubilité des protéines de légumineuses fourragères. *Fourrages* 175, 373-377
- Kalu B.A., Fick G.W. 1983. Morphological stage of development as a predictor of alfalfa herbage quality. *Crop Science* 23, 1167-1172
- Lemaire G., Allirand J.M., 1993. Relation entre croissance et qualité de la luzerne : interaction génotype-mode d'exploitation. *Fourrages* 134, 183- 198

- Lindberg J.E., 1985. Estimation of rumen degradability of feed proteins with the *in sacco* technique and various *in vitro* methods: a review. *Acta Agriculturae Scandinavica*, Suppl. 25, 64-97
- Lonnet P., 1996. Objectifs et critères actuels de la sélection des luzernes pérennes. *Fourrages* 147, 303-308
- Louarn G., Corre-Hellou G., Fustec J., Lô-Pelzer E., Julier B., Litrico I., Hinsinger P., Lecomte C., 2010. Déterminants écologiques et physiologiques de la productivité et de la stabilité des associations graminées-légumineuses. *Innovations Agronomiques* 11 (à paraître)
- McSweeney CS, Palmer B, McNeill D.M and Krause DO 2001. Microbial interactions with tannins: nutritive consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 82, 227–241.
- Orskov E.R., McDonald I. 1979. The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *Journal of Agricultural Science* 92, 499-503
- Paolini V., Prevot F., Dorchie P., Hoste H., 2005. Lack of effects of quebracho and sainfoin hay on incoming third stage larvae of *Haemonchus contortus* in goats. *Veterinary Journal*, 170, 260-263
- Pelletier S., Tremblay G.F., Belanger G., 2010. Forage Nonstructural Carbohydrates and Nutritive Value as Affected by Time of Cutting and Species. *Agronomy Journal* 102, 1388-1398
- Puchala R., Min B.R., Goetsch A.L., Sahlu T., 2005. The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *Journal of Animal Science* 83,182-186.
- Schofield P., Mbugua D. M., Pell A. N., 2001. Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology* 91, 21-40
- Sullivan M.L., Hatfield R.D., 2006. Polyphenol oxidase and o-diphenols inhibit postharvest proteolysis in red clover and alfalfa. *Crop Science* 46, 662-670
- Theodoridou K., 2010. The effects of condensed tannins in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on its digestion and nutritive value. Thèse Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand. 286 pp
- Theodoridou K., Aufrère J., Andueza D., Pourrat J., Le Morvan A., Stringano E., Mueller-Harvey I., Baumont R., 2010. Effect of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on *in vivo* and *in situ* digestion in sheep. *Anim Feed Science and Technology* 160, 23-38
- Tiemann T.T., Lascano C.E., Wettstein H.R., Mayer A.C., Kreuzer M., Hess H.D., 2009. Effect of the tropical tannin-rich shrub legumes *Calliandra calothyrsus* and *Flemingia macrophylla* on methane emission and nitrogen and energy balance in growing lambs. *Animal* 2, 790-799
- Vérité R., Journet M., Jarrige R., 1979. A new system for the protein feeding of ruminants: the PDI system. *Livestock Production Science* 6, 349-367
- Vérité R., Peyraud J.L., 1988. Nutrition azotée. In : R. Jarrige (Ed.), *Alimentation des bovins, ovins, caprins*, INRA, p. 75-93
- Waghorn G.C., 2008. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production. *Progress and challenges. Animal Feed Science and Technology* 147, 116-139.
- Zhao J., Pang Y., Dixon R.A., 2010. The mysteries of proanthocyanidin transport and polymerization. *Plant Physiology* 153, 437-443