

## Fractions de protéines dans trois légumineuses

Ueli Wyss, Marion Girard, Anja Grosse Brinkhaus et Frigga Dohme-Meier

Agroscope, 1725 Posieux, Suisse

Renseignements: Ueli Wyss, e-mail: ueli.wyss@agroscope.admin.ch



Prélèvement de l'échantillon au champ. (Photo: Ueli Wyss, Agroscope)

### Introduction

Pendant le préfanage et l'ensilage du fourrage vert, les protéines se dégradent. Les modifications des fractions de protéines provoquées par cette dégradation, en particulier la formation d'amines biogènes, peuvent entraîner des problèmes de santé chez l'animal. Licitra *et al.* (1996) ont proposé une méthode pour déterminer les cinq fractions de protéines. Selon Hoedtke *et al.* (2012),

différents facteurs, par exemple les conditions d'ensilage ou les composants végétaux secondaires, ont un impact sur la dégradation des protéines. Cet essai avait pour objectif d'étudier les modifications des cinq fractions de protéines dans la luzerne, le trèfle violet et l'esparcette dans le fourrage frais, préfané et ensilé au cours de deux cycles de végétation.

## Matériel et méthodes

Les trois légumineuses luzerne (variété Sanditi), trèfle violet (variété Milvus) et esparcette (variété Perly) ont été cultivées en culture pure à Posieux (altitude: 650 m). Le 9 juillet (premier cycle) et le 16 octobre (troisième cycle), des échantillons ont été prélevés dans le fourrage frais et le fourrage préfané au champ à trois endroits différents (fig. 1). Le fourrage a été préfané au champ pendant 24 h lors du premier cycle et pendant 48 h lors du troisième cycle, haché en brins courts et ensilé dans des silos de laboratoire (capacité: 1,5 l). Après une durée d'ensilage de respectivement 86 et 95 jours pour le premier et le troisième cycle, des échantillons d'ensilages ont été prélevés. Les teneurs en matière sèche (MS), différents composants et les cinq fractions de protéines ont été analysés selon la méthode de Licitra *et al.* (1996). L'azote non protéique (NPN) a été désigné comme fraction A. Les protéines sont subdivisées en trois catégories qui se différencient par une dégradabilité ou une solubilité ruminale rapide ( $B_1$ ), moyenne ( $B_2$ ) et lente ( $B_3$ ). La fraction C correspond à la fraction insoluble des protéines à une solution détergente acide. La valeur pH, les acides fermentaires et les teneurs en éthanol et en ammoniac des ensilages ont aussi été déterminés.

## Résultats et discussion

Dans le fourrage frais, les teneurs en MS s'élevaient entre 14 et 18 % (tabl. 1). Après un jour de préfanage, la luzerne affichait, au premier cycle, la teneur en MS la plus élevée (48 %), suivie par l'esparcette (39 %) et le trèfle violet (34 %). Dans le troisième cycle, la luzerne et

**Résumé** ■ Pendant le préfanage et l'ensilage du fourrage, les protéines se dégradent. Cette dégradation a un impact sur les différentes fractions de protéines. En plus des conditions d'ensilage, les composants secondaires des plantes exercent aussi une influence sur les fractions de protéines. Dans cet essai, l'influence de la conservation sur les fractions de protéines de trois légumineuses (luzerne, trèfle violet et esparcette) lors du premier et du troisième cycle a été étudiée. A cet effet, des échantillons de fourrage frais, préfané et ensilé ont été prélevés. Quelle que soit la variété de légumineuses, la proportion d'azote non protéique (NPN, fraction A) augmente considérablement dans le fourrage préfané et ensilé. La luzerne a enregistré l'augmentation relative la plus importante de la fraction NPN: la proportion de celle-ci dans l'ensilage était 60 % plus élevée que dans l'ensilage de trèfle violet et d'esparcette. Il est probable que la dégradation réduite des protéines dans l'esparcette soit due aux tanins condensés et à l'activité de l'oxydase des polyphénols dans le trèfle violet.

l'esparcette présentaient la même teneur en MS (32 %); quant au trèfle violet, il avait une teneur en MS légèrement plus élevée (36 %).

La teneur en sucres (hydrates de carbone hydrosolubles) a considérablement baissé sous l'action du préfanage et surtout du processus d'ensilage au cours des deux cycles et dans les trois variétés de légumineuses étudiées. Cette di-



Figure 1 | Les trois légumineuses luzerne, trèfle violet et esparcette avant la coupe du premier cycle. (Photo: A. Grosse Brinkhaus)

minution a entraîné une concentration des autres composants. La teneur en matière azotée était plus élevée dans le fourrage du troisième cycle que dans celui du premier cycle et, en conséquence, les teneurs en constituants pariétaux ADF et NDF étaient plus basses. L'esparcette a enregistré dans le premier cycle des teneurs en matière azotée plus basses, comparée à la luzerne et au trèfle violet. La luzerne présentait pour les deux cycles les teneurs en nitrate les plus élevées. Selon Kaiser *et al.* (1999), le fourrage avec une teneur en nitrate inférieure à 4,4 g par kg/MS est considéré comme pauvre en nitrate. Le coefficient de fermentation du fourrage préfané, calculé au moyen des teneurs en MS et, en sucres et de la capacité tampon (Weissbach et Honig 1996), présentait des valeurs situées entre 43 et 57. Des valeurs supérieures à 45 correspondent à des fourrages faciles à ensiler. Les ensilages des deux cycles ont enregistré des teneurs en acide lactique élevées, des teneurs en acide acétique adéquates et des traces d'acide butyrique (tabl. 2). Les valeurs pH se situaient dans le domaine optimal des teneurs en MS correspondantes. Les proportions d'azote ammoniacal par rapport à l'azote total se situaient toutes en dessous de 10 %, ce qui indique que les ensilages étaient de bonne qualité.

Selon la clé d'évaluation DLG (Staudacher et Schenkel 2007), tous les ensilages ont enregistré un nombre moyen de points situés entre 89 et 100, autrement dit, la qualité des ensilages était bonne, voire très bonne.

Dans les figures 2 et 3, les fractions de protéines A, B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub> et C sont indiquées en pourcent de la matière azotée pour le fourrage frais, préfané et ensilé (1<sup>er</sup> et 3<sup>e</sup> cycle). Quelle que soit la variété de légumineuses, la proportion de NPN (fraction A) augmente considérablement du fourrage frais au fourrage préfané et ensilé. L'augmentation relative la plus importante de la fraction NPN a été enregistrée pour la luzerne, dans laquelle la proportion dans l'ensilage était 60 % plus élevée que dans les ensilages de trèfle violet et d'esparcette. Il est fort probable que la dégradation réduite des protéines soit due aux tannins condensés de l'esparcette et à l'activité de l'oxydase des polyphénols dans le trèfle violet. Selon l'étude de Girard (2016), l'esparcette présentait dans le fourrage frais du premier et du troisième cycle des teneurs en tannins condensés de respectivement 174 et 165 g/kg MS. Or, Tabacco *et al.* (2006) ont démontré que l'ajout de tannins de châtaignes à la luzerne réduisait la dégradation des protéines et par conséquent la proportion de NPN dans les ensilages. Selon Lee *et al.* (2014), l'oxydase des

**Tableau 1** | Composants dans les trois variétés de légumineuses dans le fourrage frais, préfané et ensilé lors du premier et du troisième cycle.

Fourrage	Cycle	Etat	MS	Cendres	Matière azotée	ADF	NDF	Sucres	NO <sub>3</sub>	CF
			%	g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS
Luzerne	1	frais	18,2	99	193	410	463	78		
	1	préfané	48,4	102	190	391	465	72	3,7	57
	1	ensilé	49,0	114	194	379	440	40		
Trèfle violet	1	frais	13,7	102	190	300	345	122		
	1	préfané	34,1	112	188	314	356	107	3,1	46
	1	ensilé	33,3	118	196	334	403	34		
Esparcette	1	frais	16,9	84	132	389	396	118		
	1	préfané	37,8	94	136	375	413	106	1,1	54
	1	ensilé	36,6	99	136	394	406	53		
Luzerne	3	frais	18,2	87	205	316	333	155		
	3	préfané	31,9	100	217	309	358	125	1,8	43
	3	ensilé	30,9	106	221	341	377	55		
Trèfle violet	3	frais	15,1	87	233	217	257	189		
	3	préfané	35,7	107	229	230	285	154	0,1	51
	3	ensilé	34,1	116	243	237	269	50		
Esparcette	3	frais	17,8	78	228	249	238	203		
	3	préfané	32,2	84	233	253	196	183	0,1	53
	3	ensilé	31,4	91	247	218	239	98		

ADF: lignocellulose; NDF: parois; sucres: hydrates de carbone hydrosolubles; NO<sub>3</sub>: nitrate; CF: coefficient de fermentation.

**Tableau 2** | Paramètres de fermentation dans les ensilages des trois légumineuses lors du premier et du troisième cycle.

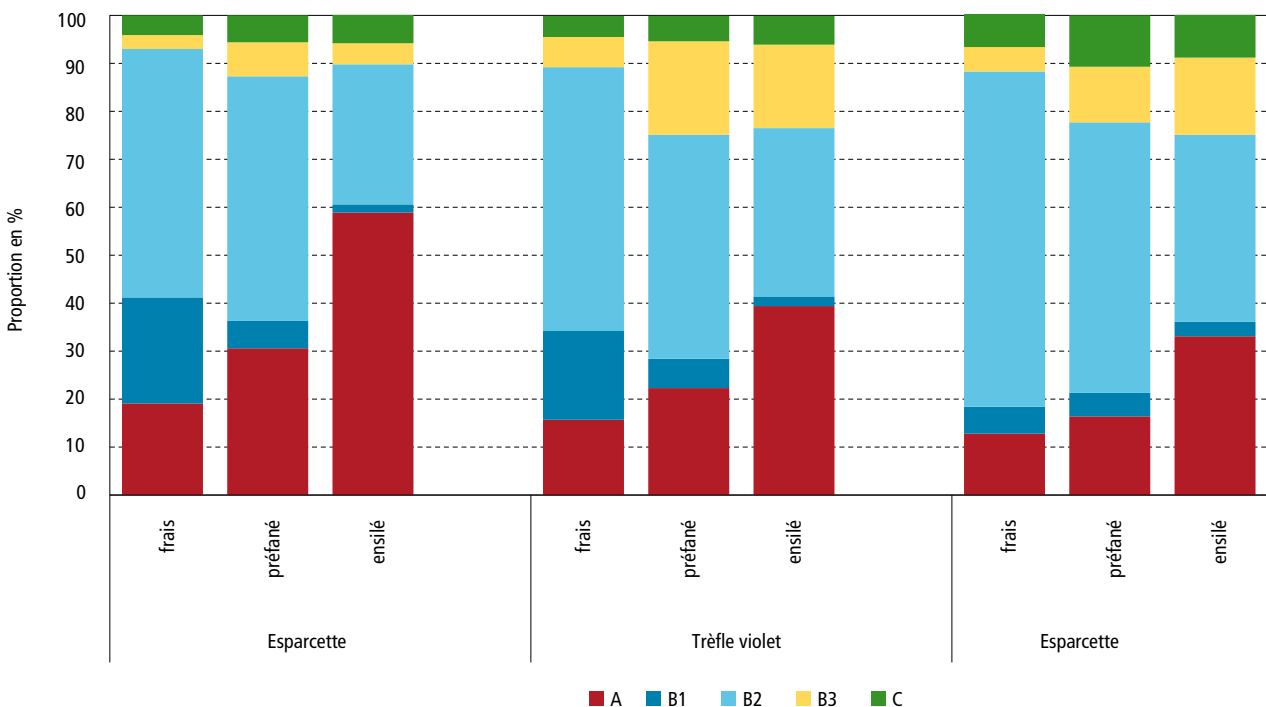
Fourrage	Cycle	pH	Acide lactique	Acide acétique	Acide butyrique	Ethanol	NH <sub>3</sub> -N	Points
			g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	g/kg MS	N total	DLG
							%	
Luzerne	1	4,8	51	10	2	2	7,9	100
Trèfle violet	1	4,4	110	28	1	1	6,8	99
Esparcette	1	4,4	62	7	1	4	5,4	100
Luzerne	3	4,6	82	27	1	6	9,8	89
Trèfle violet	3	4,4	102	25	2	3	6,2	100
Esparcette	3	4,4	67	14	1	7	4,1	99

MS: matière sèche; NH<sub>3</sub>-N/N total: proportion d'azote ammoniacal par rapport à l'azote total.

polyphénols dans le trèfle violet a aussi un impact sur la protéolyse dans les ensilages et entraîne une réduction de la dégradation des protéines.

Quel que soit le cycle, les fractions B<sub>1</sub> et B<sub>2</sub> ont diminué pendant le préfanage et le processus d'ensilage. Pour la luzerne et le trèfle violet, la proportion de la fraction B<sub>3</sub> était plus élevée dans le fourrage préfané que dans le fourrage frais, mais plus basse dans les ensilages. La même observation a été faite pour l'esparcette au cours du troisième cycle, tandis qu'au premier cycle une augmentation a été constatée du fourrage frais au fourrage ensilé.

Dans la luzerne et le trèfle violet, la proportion de la fraction C au cours des deux cycles était faible et seules de faibles augmentations ont été enregistrées du fourrage frais au fourrage préfané et ensilé. En revanche, la proportion de la fraction C de l'esparcette au cours du premier cycle était plus élevée qu'au cours du troisième cycle, ce qui est probablement dû aux teneurs plus basses en matière azotée et plus élevées en fibres. Par ailleurs, une augmentation du fourrage frais au fourrage préfané et ensuite une baisse du fourrage préfané et au fourrage ensilé ont été relevées.

**Figure 2** | Evolution des fractions de protéines dans le fourrage frais, préfané et ensilé des trois variétés de légumineuses (1<sup>er</sup> cycle).

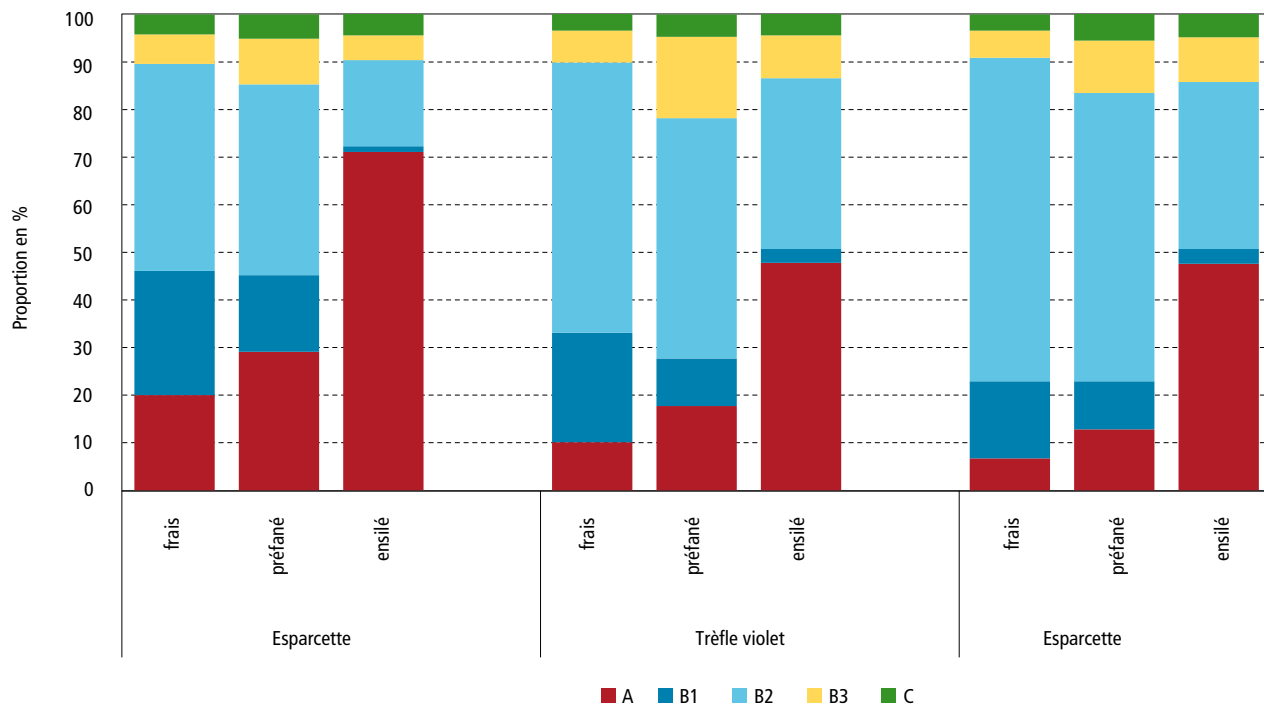


Figure 3 | Evolution des fractions de protéines du fourrage frais, préfané et ensilé des trois variétés de légumineuses (3<sup>e</sup> cycle).

## Conclusions

Cet essai a montré que l'esparcette (avec des tannins) et le trèfle violet (avec l'oxydase des polyphénols) influencent les fractions de protéines et en réduisent la dégradation. Pour améliorer la qualité des protéines et des ensilages, il serait donc judicieux d'inclure ces plantes fourragères dans les mélanges. ■

**Riassunto**

**Frazioni proteiche in tre tipi di leguminose**

Durante l'avvizzimento e l'insilamento del foraggio avviene una diminuzione delle proteine che si riflette su diverse frazioni proteiche. Oltre alle condizioni di insilamento, anche i metaboliti secondari vegetali si ripercuotono sulle diverse frazioni proteiche. In un esperimento è stato analizzato l'influsso della conservazione sulle frazioni proteiche nelle tre tipologie di leguminose erba medica, trifoglio rosso e lupinella del primo e terzo taglio. Inoltre, sono stati analizzati campioni di materiale fresco, avvizzito e insilato. Indipendentemente dal tipo di leguminosa, la percentuale di azoto non proteico (NPN, frazione A) è aumentata notevolmente dal foraggio fresco a quello avvizzito e insilato. L'aumento relativo più importante della frazione NPN è stato osservato nell'erba medica: il percento nell'insilato era del 60 % più elevato rispetto al trifoglio rosso e alla lupinella. Un possibile motivo per la diminuzione proteica ridotta potrebbero essere i tannini condensati presenti nella lupinella e l'attività della polifenolossidasi nel trifoglio rosso.

**Summary**

**Protein fractions in three legume species**

During the forage wilting and ensiling process, a protein degradation takes place that affects the different protein fractions. In addition to the silage conditions, secondary plant ingredients also affect the different protein fractions. In an experiment, the influence of the wilting and ensiling process on the protein fractions of the first and third cuts of the three legume species alfalfa, red clover and sainfoin was investigated. Samples of the fresh, wilted and ensiled material were analysed. Irrespective of legume type, the proportion of non-protein nitrogen (NPN, fraction A) increased significantly from the fresh to the wilted and ensiled material. The highest relative increase in NPN fraction was observed in alfalfa, where the proportion in the silage was 60 % higher than in red clover and sainfoin silage. The condensed tannins in the sainfoin and the polyphenol oxidase activity in the red clover are possible reasons for the lower protein degradation in these two species.

**Key words:** legumes, protein fractions, silage quality, secondary plant ingredients.

#### Bibliographie

- Girard M., 2016. Bioactive compounds in forage legumes: Structural changes during conservation, their fate along the digestive tract and their potential to impact ruminant products. Dissertation ETH Zürich N° 23421, 158 p.
- Hoedtke S., Gabel M. & Zeyner A., 2010. Der Proteinabbau im Futter während der Silierung und Veränderungen in der Zusammensetzung der Rohproteinfraktion. *Übersichten Tierernährung* **38**, 157–179.
- Kaiser E., Weiss K. & Milimonka A., 1999. Untersuchungen zur Gärqualität von Silagen aus nitratarmem Grünfütter. *Archives of Animal Nutrition* **52**, 75–93.
- Lee M.R.F., Scott M.B., Tweed J.K.S. Minchin F.R. & Davis D.R., 2008. Effects of polyphenol oxidase on lipolysis and proteolysis of red clover silage with and without a silage inoculant, *Animal Feed Science and Technology* **144**, 125–136.
- Licitra G., Hernandez T. M. & Van Soest P. J., 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractions of ruminant feeds. *Animal Feed Science and Technology* **57**, 347–358.
- Staudacher W. & Schenkel H., 2007. Analytische Kenngrößen und Bewertung der Gärqualität von Silagen unter besonderer Berücksichtigung des DLG-Schlüssels. *Übersichten Tierernährung* **35**, 45–53.
- Tabacco E., Borreani G., Crovetto G.M., Galassi G., Colombo D. & Cavallarin L., 2006. Effect of chestnut tannin on fermentation quality, proteolysis and protein rumen degradability of alfalfa silage. *J. Dairy Sci.* **89**, 4736–4746.
- Weissbach F. & Honig H., 1996. Über die Voraussage und Steuerung des Gärungsverlaufs bei der Silierung von Grünfütter aus extensivem Anbau. *Landbauforschung Völkenrode* **46** (1), 10–17.