

Le facteur anémiant des crucifères fourragères

I. Teneur en S-méthylcystéinesulfoxyde

R. Giovanni¹, D. Barbedette², M. Allez³, G. Viroben⁴

Les crucifères fourragères, choux et colzas en particulier, représentent une source d'énergie et de protéines de valeur nutritive intéressante à une période où la prairie est devenue peu productive. Ces fourrages verts ont une bonne valeur laitière mais leur utilisation est soumise à deux limites : le caractère rassasiant de ces aliments a tendance à réduire l'ingestion des autres constituants de la ration et la présence de composés soufrés peut provoquer des troubles sanitaires ou physiologiques chez les ruminants, jeunes ou adultes.

Toutes les espèces de crucifères fourragères contiennent en effet des glucosinates qui sont à l'origine de substances goitrigènes, comme la goitrine, les thiocyanates et les isothiocyanates. Ces substances diminuent la synthèse des hormones thyroïdiennes (T3 et T4), sans la bloquer cependant, ce qui peut dans des cas extrêmes engendrer des troubles du métabolisme basal, de la reproduction et de la croissance.

MOTS CLÉS

Analyse chimique, chou, colza, crucifère, S-méthylcystéinesulfoxyde, variabilité interspécifique, variations saisonnières.

KEY-WORDS

Chemical analysis, cruciferae, kale, rape, S-méthylcystéinesulfoxide, seasonal variations, variability.

AUTEURS

1 : Station de Recherches sur la Vache Laitière, INRA-Rennes (Ille-et-Vilaine)

2 : Laboratoire de Recherches sur le Jeune Ruminant, INRA-Rennes (Ille-et-Vilaine)

3 : Laboratoire de Biochimie et de Technologie des Protéines, INRA-Nantes (Loire-Atlantique).

CORRESPONDANCE

R. GIOVANNI, INRA, Station Vache Laitière, St Gilles, F 35590 L'Hermitage.

Alors que ces glucosinolates sont présents dans la plante en vert et dans la graine, la S-méthylcystéinesulfoxyde (S-MCO) isolée par SMITH (1974) n'existe que dans les organes verts et se révèle responsable de l'anémie hémolytique des ruminants. Certaines souches microbiennes du rumen transforment en effet très rapidement la S-MCO en diméthylsulfure (DMDS) qui entraîne une oxydation irréversible de l'hémoglobine (SMITH, 1980). Le système d'oxydo-réduction et l'équilibre enzymatique de la cellule sanguine sont atteints, ce qui ne lui permet plus de réduire les dérivés d'oxydation formés (corps de Heinz). Ainsi, l'anémie hémolytique peut-elle être très faible ou aiguë en fonction des crucifères utilisées, de la dose de S-MCO ingérée et du temps que dure le régime.

A la suite d'accidents sanitaires intervenus chez la vache laitière et la brebis, notamment dans l'Ouest de la France, il nous a paru nécessaire de connaître la teneur en S-MCO des choux et des colzas cultivés dans nos conditions climatiques. La première étape de ce travail était cependant de mettre au point une méthode de dosage de la S-MCO. Parmi les techniques existantes, nous avons retenu celle de GOSDEN (1979) utilisant le principe de la chromatographie sur colonne de résine échangeuse d'ions.

Conditions expérimentales

Chaque année (1979-1984), trois à cinq types de choux (*Brassica oleracea* L.), représentés par les variétés Maris-Kestrel (moellier), Proteor (demi-moellier), Sarbo (feuillu), Flamcaul (cavalier) et Mille-Têtes anglais, ont été semés fin mai-début juin. Trois types de colza fourrager (*B. napus* L.) représentés par Kentan (Parapluie), Arvor (hiver) et Furax (printemps) ont été semés fin juillet derrière une céréale.

1. Préparation des échantillons et extraction de la S-MCO

Les prélèvements de matière verte ont été effectués au cours de la période normale d'utilisation de ces fourrages, soit entre le 15 et le 20 des mois d'octobre, novembre, décembre et janvier. Ils ont donné lieu à une estimation de la production de matière sèche (MS) disponible par hectare et de la composition physique des plantes. De plus, chaque prélèvement a fait l'objet d'un échantillon de feuilles (1 kg), tiges (1 kg) et plante entière (2 kg), hâché grossièrement et congelé aussitôt (-25 °C) en attendant d'être lyophilisé. Il en a été de même pour deux choux (Maris-Kestrel, Proteor) et un colza (Kentan) dont on a voulu connaître les teneurs en S-MCO lors de leur seconde phase de croissance (mars-avril) conduisant à la floraison. Par ailleurs, quelques variétés de choux-fleurs (J15, DJ53, FM60, M25, MI33, Dagan) dont les fanes sont utilisées par les animaux des exploitations "Légumes-Elevage" de la région de Roscoff ont été échantillonnées de la même façon. Réalisés fin novem-

bre, les ensilages de choux (Maris-Kestrel, Proteor) et de colza (Kentan, Furax) ont été échantillonnés lors de leur utilisation par des moutons en digestibilité.

Les échantillons lyophilisés sont finement broyés. L'extraction est effectuée sur une prise d'essai d'un gramme, par un volume (25 à 100 ml, suivant la teneur présumée en S-MCO) de la solution tampon citrate à pH 1,8 décrite par GOSDEN (1979). Cette solution contient de l'eau oxygénée pour assurer l'oxydation totale de la S-méthylcystéine éventuellement présente dans les échantillons.

Après agitation magnétique pendant deux heures à température ambiante, l'extrait est filtré sur filtre plissé et analysé immédiatement.

2. Mise au point de la méthode

GOSDEN (1979) a décrit une méthode destinée à être appliquée dans les programmes de sélection végétale. Le premier inconvénient de cette méthode concerne la cadence rapide des analyses qui entraîne l'utilisation d'une résine à particules grossières (200 mesh, soit 75 à 80 microns) permettant un débit important : dans ces conditions, les deux diastéréo-isomères de la S-MCO ne sont pas séparés. De plus, après un certain nombre d'analyses, on observe un élargissement du pic de la S-MCO qui peut alors être perturbé par les acides aminés voisins.

Nous avons donc cherché à résoudre ces difficultés analytiques à l'aide d'une colonne plus longue remplie d'une résine sphérique dont la taille des particules est voisine de 10 microns.

La S-MCO se comporte comme un acide aminé à caractère acide. Elle est peu retenue par la résine et émerge entre l'acide cystéique et l'acide aspartique. Dans cette zone, les séparations sont assez délicates et très influencées par de faibles variations des conditions opératoires.

Les essais ont été effectués à l'aide d'un analyseur automatique d'acides aminés (Kontron, Liquimat III) muni d'une colonne (28 × 0,4 cm) de résine Durram DC 6A et d'un injecteur automatique de huit boucles. Ils ont porté sur le choix du pH du tampon d'élution (entre 2,5 et 3,8), sur sa molarité (0,2 M ou 0,3 M) et sur la température de la colonne (entre 33 et 50°C).

Nous avons finalement retenu les conditions suivantes :

— température de colonne : 38°C ;

— solution tampon pour l'élution :

* acide citrique : 0,1 M

* chlorure de sodium : 0,2 M ; amener à pH 2,9.

Dans ces conditions, la S-MCO est éluée sous forme de deux pics assez bien séparés dont les temps de rétention sont voisins de 25 et 28 minutes (figure 1). La cadence de travail, incluant une régénération de la résine par la soude 0,6 M après chaque chromatographie et le passage d'une solution étalon après huit analyses, permet de traiter 14 échantillons en 24 heures.

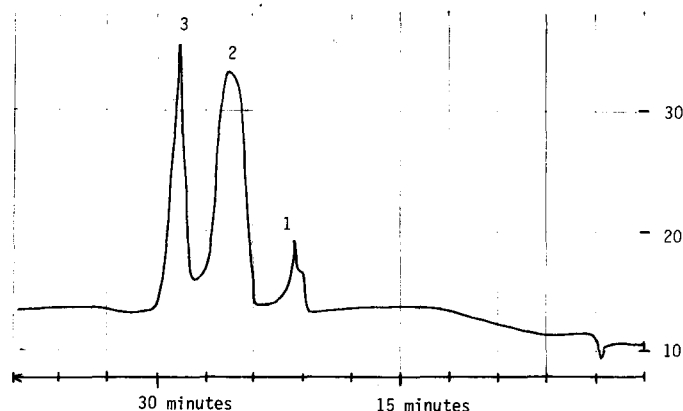


FIGURE 1 : Diagramme d'éluion d'une solution standard de S-méthylcystéinesulfoxyde (1 : artefact dû à l'eau oxygénée ; 2 et 3 : pics relatifs à la S-MCO).

FIGURE 1 : *Elution diagramme of a standard solution of S-methylcysteinesulfoxide (1 : artefact due to oxygenated water ; 2 and 3 : S-MCO peaks).*

Résultats

1. La production de matière sèche ralentit en novembre tandis que le rapport feuilles/tiges ne cesse de diminuer

Le développement des choux fourragers semés à la date normale (fin mai-début juin) s'est ralenti dès le mois d'octobre et la croissance antérieure des plantes proche de 80 à 100 kg MS/ha/jour a été réduite de moitié. Ainsi, la production de matière sèche, variable de 6 à 10 t/ha à la mi-octobre selon l'année, a peu augmenté en novembre et s'est stabilisée ensuite (figure 2).

Cependant, avec les plantes semées début juillet (1984), la croissance s'est poursuivie jusqu'en décembre, ce qui a favorisé une proportion élevée de feuilles jusqu'à cette date (60%).

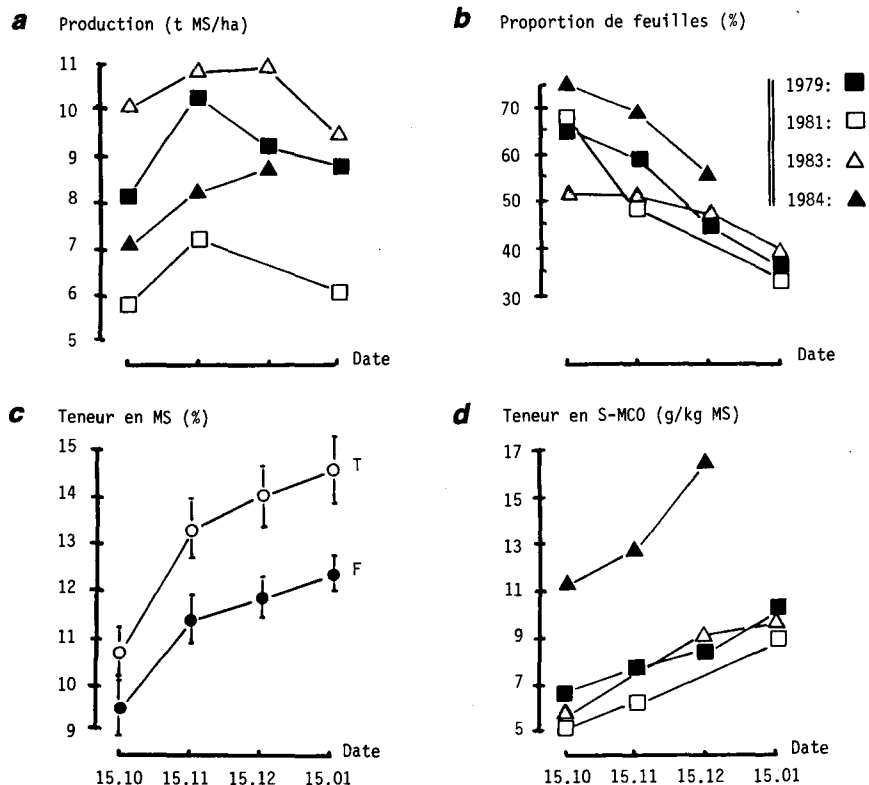


FIGURE 2 : Evolution, a) de la production, b) de la proportion de feuilles, c) de la teneur en matière sèche des tiges (T) et des feuilles (F), d) de la teneur en S-MCO (moyenne des 3 types de choux).

FIGURE 2 : Evolution of, a) production, b) proportion of leaves, c) dry matter content of stems (T) and leaves (F), d) S-MCO content (mean 3 kale types).

La stabilisation de la production de matière sèche entre novembre et janvier est cependant la résultante de l'évolution des composants du rapport feuilles/tiges. Dès le mois d'octobre, ce rapport ne cesse de diminuer pour devenir inférieur à 1 à partir du 15 novembre : en effet, les plantes perdent leurs feuilles âgées tandis que les feuilles restantes et les tiges ont une teneur en MS en augmentation et que les tiges connaissent une phase de grossissement simultanée. Néanmoins, cette date du 15 novembre ne convient pas pour des variétés très riches en feuilles dès octobre (variété Sarbo), leur rapport feuilles/tiges s'inversant en décembre (figure 3). Par ailleurs, l'influence des conditions agro-climatiques de l'année est très impor-

tante sur le rapport feuilles/tiges dès le mois d'octobre et sur l'évolution ultérieure du poids de matière sèche de feuilles et de tiges.

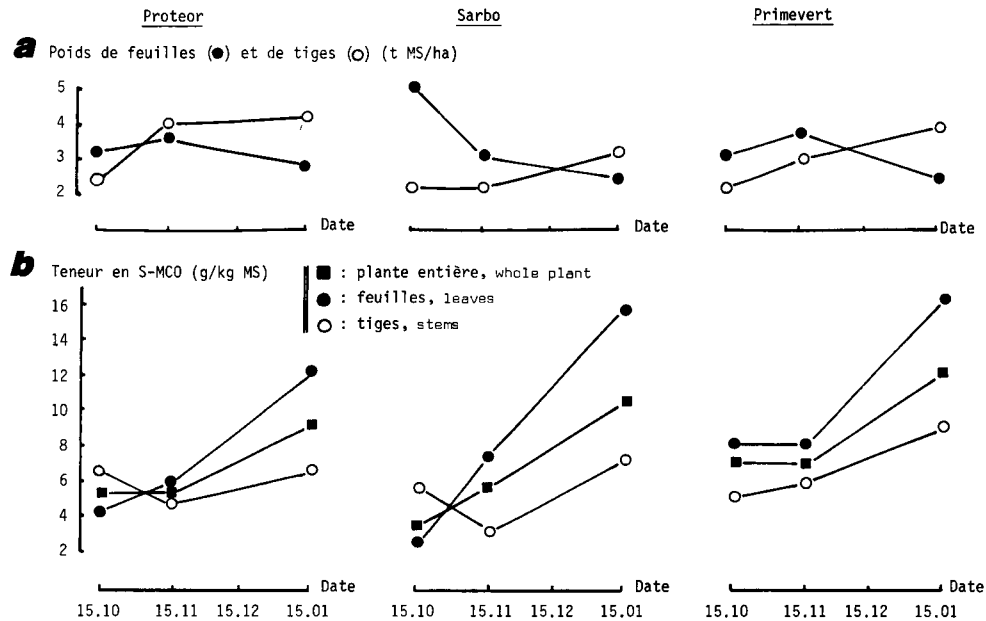


FIGURE 3 : Croissance a) (en kg MS/ha) des feuilles et des tiges et évolution b) de la teneur en S-MCO (en g/kg MS) de 3 choux fourragers (Proteor : demi-moellier, Sarbo : feuillu, Primevert : mille-têtes) semés début juin 1981.

FIGURE 3 : Growth a) (kg DM/ha) of leaves and stems and evolution b) of S-MCO content (g/kg DM) in 3 kale types (Proteor : marrow-stem, Sarbo : leafy, Primevert : thousand heads) sown in early June 1981.

La production de matière sèche des colzas fourragers Arvor et Furax a varié de 4,5 à 6 t après 80 à 100 jours de végétation correspondant à un semis de fin juillet. La croissance de ces fourrages n'a commencé à ralentir qu'à partir du mois de novembre : si le rapport feuilles/tiges est supérieur à 1 en octobre, il l'est encore en novembre ; dans le cas contraire, il a eu tendance à diminuer dès octobre, notamment pour les variétés moins riches en feuilles comme Furax (GIOVANNI, 1984).

2. La teneur en S-MCO des crucifères fourragères varie avec les espèces et l'âge des plantes à la récolte

— Les choux fourragers ont une teneur en S-MCO élevée à partir de décembre

Toutes variétés confondues, la teneur moyenne des choux fourragers a augmenté régulièrement de 6 g/kg MS en octobre à 9 g/kg MS en décembre et a atteint 10 g/kg MS en janvier pour des plantes semées fin mai-début juin. Avec des semis tardifs du début juillet 1984, les teneurs en S-MCO ont été très élevées dès le mois d'octobre et jusqu'en hiver, respectivement 11,5 et 17 g/kg MS, avec les mêmes variétés que celles utilisées en 1983 (tableau 1, figure 2).

	Mi-octobre			Mi-novembre			Mi-décembre			Mi-janvier		
	F	T	P	F	T	P	F	T	P	F	T	P
1979 (5 variétés)	6,2	7,5	6,6	7,5	6,4	7,0	10,9	7,6	8,7	9,5	7,2	8,5
1981 (6 variétés)	5,2	5,6	5,5	7,6	5,3	6,5	-	-	-	12,3	6,6	9,5
1983 (4 variétés)	5,7	6,8	6,0	-	-	-	13,2	4,7	9,3	15,8	4,8	10,2
1984 (4 variétés)	9,8	11,6	11,6	12,0	11,1	12,5	22,4	15,0	17,4	-	-	-
Ecart-type moyen	1,6	2,0	1,6	1,7	2,4	2,1	2,9	2,5	2,2	2,9	1,2	1,8
Coefficient de variation (%)	27	28	24	17	36	24	20	27	20	25	16	19

TABLEAU 1 : Teneur moyenne en S-méthylcystéinesulfoxyde (g/kg MS) des feuilles (F), des tiges (T) et des plantes entières (P) du chou fourrager selon l'année et la date de récolte.

TABLE 1 : S-methylcysteinesulfoxide mean content (g/kg DM) of leaves (F), stems (T) and whole plants (P) of kale according to year and harvest date.

Les teneurs moyennes en S-MCO des plantes entières ont résulté de l'évolution respective de celle des feuilles et des tiges de chaque variété. En octobre, feuilles et tiges ont des teneurs voisines de 5 à 6 g/kg MS. Par la suite, la teneur des feuilles a augmenté de novembre à janvier, respectivement de 8 à 12-15 g/kg MS alors que celle des tiges a paru diminuer en novembre, puis augmenter par la suite mais sans atteindre des valeurs aussi élevées que celles des feuilles, en année de semis à date normale (tableau 1).

En 1984, à la suite d'un semis tardif, les teneurs en S-MCO des feuilles et des tiges ont été particulièrement élevées dès octobre et leur augmentation s'est encore poursuivie en décembre jusqu'à 22 et 15 g/kg MS respectivement pour les feuilles et les tiges (figure 4). Signalons enfin que les teneurs observées en janvier ont tendance à se maintenir pendant l'hiver. Au cours de la seconde période de croissance des choux qui aboutit à la floraison, les feuilles nouvelles et les inflorescences ont atteint des teneurs en S-MCO respectivement de 15 et 20 g/kg MS.

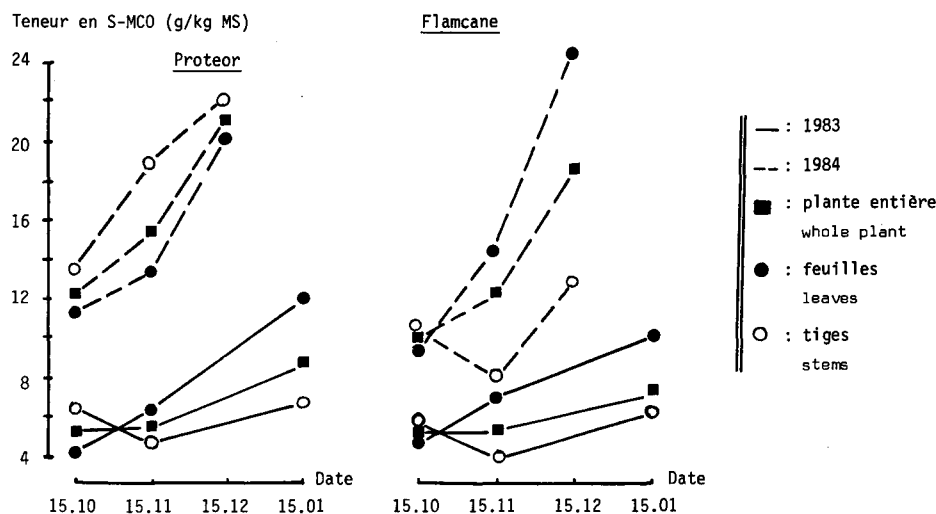


FIGURE 4 : Comparaison des teneurs en S-MCO (g/kg MS) de 2 variétés de chou fourrager (Proteor : demi-moellier et Flamcane : cavalier) lors de 2 années différant par la date de semis (précoce : 1983 et tardive : 1984).

FIGURE 4 : Comparison of S-MCO contents (g/kg DM) for 2 types of kale (Proteor : marrow-stem and Flamcane : cavalier) during 2 years after early (1983) and late (1984) sowing.

— *Le colza fourrager est moins riche en S-MCO que le chou*

Les colzas fourragers Arvor, Furax et Kentan, observés de 1978 à 1983, ont présenté des teneurs en S-MCO inférieures de moitié à celles des choux fourragers, soit 2 à 3 g/kg MS en octobre et 6 g/kg MS en janvier. Les valeurs les plus élevées ont été observées avec la variété Kentan, respectivement 5,5 et 10 g/kg MS en novembre et décembre 1978 pour des plantes semées en août. Par ailleurs, une croissance rapide des colzas Arvor et Furax intervenue en octobre après une phase de végétation ralentie en été (1979) a provoqué une augmentation des teneurs en S-MCO de 2 g/kg MS par rapport à la moyenne des années de végétation régulière.

— *Le chou-fleur est très riche en S-MCO du fait de l'importance de la pomme*

L'analyse des fanes de chou-fleur (*Brassica oleracea* L., v. Botrytis) a montré que les feuilles et les tiges (trognons) contenaient respectivement 3-5 et 5-8 g/kg MS de S-MCO. En revanche, la teneur en S-MCO des plantes entières était comprise entre 12 et 20 g/kg MS en raison de la teneur élevée de la pomme (20-24 g/kg MS) et

du rapport pomme/plante entière variable de 50 à 20 % selon les variétés, précoces (décembre) et tardives (avril) (RUFFIO, 1987).

— *Les crucifères ensilées ont une teneur en S-MCO voisine du fourrage vert initial*

Les analyses de S-MCO effectuées sur des ensilages expérimentaux de chou et de colza ont conduit à deux observations :

— la teneur en S-MCO des choux ensilés sans conservateur (variétés Proteor et Maris Kestrel) à la fin du mois de novembre a été de 7 à 10 g/kg MS et celle des colzas ensilés de 4 à 6 g/kg MS ;

— les ensilages de choux réalisés avec conservateur (sylade ou acide formique) sont apparus plus riches en S-MCO (9-13 g/kg MS) que les ensilages sans conservateur. Ainsi, la teneur en S-MCO des ensilages observés a été voisine de celle du fourrage vert au moment de la récolte.

— *Effet du type et de la variété de chou fourrager*

Le tableau 2 présente la teneur en S-MCO des différentes variétés de chou observées lors de deux saisons, du moins pour les types de chou les plus utilisés. Le type moëllier représenté par la variété Maris-Kestrel est apparu le plus riche en S-MCO aussi bien en octobre (7 g/kg MS) qu'en décembre (10-12 g/kg MS) tandis que les

Type de chou fourrager et variété	Mi-octobre				Mi-décembre			
	1979	1981	1983	1984	1979	1981	1983	1984
Moellier Maris Kestrel	6,8	7,9	-	-	12,9	10,2	-	-
Demi-Moellier Proteor	7,8	5,2	6,5	12,2	8,4	8,7	9,8	20,9
Coleor	-	4,0	6,2	11,5	-	8,0	8,8	16,6
Feuille Sarbo	3,4	3,2	-	-	6,8	10,6	-	-
Cavarouge	8,5	-	-	-	7,8	-	-	-
Cavador	-	-	4,9	12,6	-	-	8,9	14,0
Flamcaul	-	4,6	6,1	10,1	-	7,5	9,8	18,4
Mille Têtes Miljö	6,5	-	-	-	7,6	-	-	-
Primevert	-	7,9	-	-	-	12,1	-	-
Valeur moyenne	6,6	5,5	5,9	11,6	8,7	9,5	9,3	17,4
Ecart-type	1,9	2,0	0,7	1,0	2,4	1,7	0,6	2,9
Coefficient de variation (%)	28	36	17	9	27	18	7	17

TABLEAU 2 : Teneur en S-méthylcystéinesulfoxyde (g/kg MS) de différents types de chou fourrager selon l'année et la période d'utilisation.

TABLE 2 : S-methylcysteinesulfoxide content (g/kg DM) of main kale types according to year and feeding period.

types feuillu et cavalier ont eu une teneur plus faible (3-5 g/kg MS) tout au moins en octobre. En effet, la teneur en S-MCO de ces dernières variétés a rejoint en décembre celle de la variété Proteor considérée comme moyenne à cette saison.

L'influence de l'année et de la date de semis qui conditionne l'âge des plantes lors du prélèvement ont été importantes sur les teneurs en S-MCO. Pour la variété Protéor, elles ont varié de 5-8 g/kg MS en octobre à 8-10 g/kg MS en décembre (tableau 2). Cette variation annuelle de 2 à 3 points s'est amplifiée chez des plantes plus jeunes car semées plus tardivement (1984) ; la figure 4 illustre la variation possible des teneurs de deux variétés (Protéor et Flamcaul) lors de deux années différentes. Par ailleurs, il n'est pas apparu de liaison significative entre les teneurs en S-MCO et la matière sèche présente au moment des prélèvements ($r = 0,58$).

Discussion

1. La méthode d'analyse est minutieuse, d'une bonne répétabilité mais d'un rendement journalier limité (15-20 analyses/jour)

La S-MCO n'étant pas commercialisée, l'étalonnage a été réalisé par oxydation de la S-méthylcystéine suivant la technique proposée par GOSDEN (1979). L'analyse de cette solution dans les conditions décrites révèle l'existence de deux diastéréo-isomères. Ces deux composés apparaissent également lors de l'analyse des extraits végétaux, mais le premier dans l'ordre de l'élution est en concentration généralement faible - il dépasse rarement 20% de la surface totale des deux pics - alors qu'il domine largement dans la solution utilisée pour l'étalonnage. Il peut donc en résulter une erreur systématique de quantification dans la méthode initiale de GOSDEN. Les essais d'évaluation séparée des deux diastéréo-isomères paraissent donc justifiés.

Cependant, quelles que soient les conditions d'élution, le premier pic de la solution étalon est toujours asymétrique. D'autre part, dans les extraits végétaux, le temps de rétention du deuxième pic, c'est-à-dire celui du composé dominant, est toujours compris entre les temps de rétention des deux pics de la solution étalon. Il est possible que cette anomalie soit due à la présence, dans l'extrait, de protéines solubles. Une étape de déprotéinisation — par exemple par l'acide sulfosalicylique — devrait permettre de remédier à cet inconvénient, mais la durée totale de l'analyse s'en trouverait augmentée.

Pour les raisons qui viennent d'être invoquées, il a fallu renoncer à la quantification séparée des deux diastéréo-isomères et considérer la somme des surfaces des pics. Dans ces conditions, le coefficient de variation, déterminé au cours d'un test de répétabilité effectué sur huit analyses consécutives de la solution étalon est de 3,4%.

2. L'analyse des feuilles et des tiges améliore l'estimation de la teneur en S-MCO de la plante entière

Au cours de la période habituelle d'utilisation des crucifères, les teneurs en S-MCO enregistrées dans l'Ouest apparaissent voisines de celles obtenues en Grande-Bretagne par la méthode de GOSDEN, soit 7 à 12 g/kg MS entre les mois d'octobre et de janvier pour un ensemble de 10 variétés de type moëllier, demi-moëllier et mille têtes (BRADSHAW et BORZUCKI, 1981). Elles sont aussi très voisines de celles analysées par électrophorèse dans les années antérieures (WHITTLE et al., 1976). Il semble cependant que les valeurs observées à Rennes soient inférieures de 1 à 2 points et correspondent ainsi à celles de septembre et de novembre en Grande-Bretagne. Ces différences peuvent provenir de dates de semis plus précoces et des conditions de culture et de végétation différentes.

La connaissance du rapport feuilles/tiges et des teneurs en S-MCO des deux constituants de la plante a permis vraisemblablement de mieux estimer la teneur en S-MCO moyenne de la plante. En effet, la proportion de feuilles variant avec la saison, il n'est pas certain à chaque échantillonnage que la prise d'essai de 1 gramme à l'analyse soit représentative de la composition de la plante. Certaines teneurs en S-MCO de la plante entière apparues trop proches soit de la teneur des feuilles, soit de celles des tiges, ont été éliminées.

Un renseignement complémentaire concerne l'influence de la teneur en S-MCO des feuilles (surtout consommées par les animaux) sur la teneur moyenne de la plante. En début de saison, feuilles et tiges semblent avoir une influence semblable (figure 3) alors qu'en décembre, la teneur moyenne de la plante dépend plus de celle des feuilles restantes et des feuilles jeunes formées en dernier ; celle des tiges, plus faible, évolue moins entre novembre et décembre. Selon BRADSHAW et BORSUCKI (1981), l'analyse de la teneur en S-MCO des feuilles prélevées en novembre serait un bon moyen d'investigation de celle de la plante entière.

3. L'influence du milieu, des variations climatiques apparaît prépondérante sur le niveau des teneurs en S-MCO

Il nous faut rappeler ici que cette étude ne pouvait viser que deux objectifs : disposer d'une méthode d'analyse de la S-MCO et avoir une connaissance de l'évolution de la teneur en S-MCO des principales crucifères utilisées dans l'Ouest, afin d'évaluer le risque de toxicité au plan zootechnique (articles à paraître). Aussi, au plan agronomique, nous n'avancerons que les causes générales de variation suivantes :

— Il existe des variations importantes entre les teneurs en S-MCO des différents types de crucifères fourragères, comme nous l'avons vu par exemple entre les choux et les colzas, ou entre types de choux à une date donnée. Cette variabilité

génétique se retrouve chez d'autres crucifères moins utilisées comme les navets (*B. campestris* L., v. *rapifera*), les radis fourragers (*Raphanus sativus* L.) et les rutabagas (*B. napus* L., v. *rapifera*) dont les teneurs en S-MCO sont de 2 à 6 g/kg MS en période d'utilisation (SHELDRIK et LAVENDER, 1981 ; YOUNG et al., 1982). A l'heure actuelle, cette variabilité génétique est encore très difficile à connaître d'autant qu'elle ne s'exprime pas d'une manière uniforme entre variétés, les unes ayant déjà des teneurs en S-MCO élevées en octobre et les autres n'y parvenant qu'en décembre. Aucun classement de type ou de variété de crucifères n'est donc possible, l'effet du milieu sur l'expression du potentiel génétique apparaissant plus important que le potentiel génétique lui-même.

— L'augmentation des teneurs en S-MCO entre octobre et janvier est certes dépendante de l'âge de la plante par l'intermédiaire de sa proportion de feuilles jeunes ou capables de rester saines et fonctionnelles. Néanmoins, les conditions de végétation de l'été et les variations climatiques de l'automne ou de l'hiver ont une influence sur les synthèses ou les migrations de la S-MCO dans la plante. En effet, en période de jours courts et de baisse de température, la teneur en S-MCO continue d'augmenter, surtout chez les feuilles bien que leur croissance soit ralentie ou stoppée. De plus, l'interaction "âge x année" a été particulièrement remarquée à l'examen des observations de 1983 et 1984. Signalons aussi que la richesse en soufre et sa disponibilité dans le sol peuvent influencer la teneur en S-MCO des crucifères fourragères (Mc DONALD et al., 1981).

Conclusion

Cette première approche de la teneur en S-MCO des crucifères fourragères cultivées dans l'Ouest de la France nous conduit à proposer les réflexions suivantes :

— La méthode d'analyse utilisée a certes donné satisfaction après une période de mise au point relativement longue. Cependant, les conditions opératoires doivent être constamment et minutieusement surveillées ; de plus, la procédure de régénération de la résine après chaque chromatographie et le passage d'une solution étalon après huit analyses limite le nombre d'analyses à une quinzaine par jour. Il est fort probable que l'utilisation de la chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) doit nettement améliorer la rapidité d'analyse (GUSTINE D.L., 1985). Par ailleurs, le développement de la technique d'analyse de la S-MCO dans le proche infrarouge (Scottish Crop Research Institute) apparaît très prometteuse. La préparation et la conservation au froid des échantillons en vert ou lyophilisés restent cependant les mêmes puisqu'il est nécessaire de congeler aussitôt, de lyophiliser rapidement et de conserver au froid (-25°C) les échantillons lyophilisés.

— Les teneurs en S-MCO de ces fourrages sont élevées (5 à 12 g/kg MS) si on les compare à celles des composés goitrigènes (1 à 3 g/kg MS) au cours de la

même période d'utilisation. De plus, elles augmentent avec l'âge de la plante alors que celles des goitrigènes diminuent (PAXMAN et HILL, 1974). Aussi, les conséquences d'une anémie aiguë, ou même subchimique mais prolongée, peuvent être importantes si la quantité de S-MCO ingérée par l'animal dépasse 10 g/100 kg de poids vif (SMITH, 1980). De ce fait, l'influence des composés goitrigènes, jugés auparavant comme seuls responsables des troubles sanitaires dûs aux crucifères, a été reléguée au second plan.

— L'influence du milieu apparaît primordiale sur les variations de la teneur en S-MCO de ces fourrages. Il serait souhaitable que l'on puisse mieux connaître le rôle des conditions culturales (sol, fumure, date de semis) et des rythmes de croissance estivale ou automnale, fonction des conditions climatiques, sur la réponse physiologique des crucifères fourragères. Bien entendu, la recherche de variétés moins riches en S-MCO, notamment pour les choux fourragers, serait une solution sécurisante en année de végétation normale.

Dans l'immédiat, les risques d'accident sanitaire sont cependant limités car la part des crucifères dans la ration est généralement réduite (30 % MS totale). Ils ne peuvent exister que lors d'une erreur prolongée de rationnement ou de pâturage et d'une année exceptionnellement favorable à des teneurs élevées en S-MCO dès le mois d'octobre.

Accepté pour publication, le 30 novembre 1988

Remerciements

Les auteurs tiennent à remercier toutes les personnes de la Station d'Amélioration des Plantes du Centre de Rennes pour leur participation à cette étude, ainsi que l'Association pour la Promotion de la Sélection des semences Oléagineuses (PRO-MOSOL) pour son aide matérielle.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BRADSHAW J.E., BORZUCKI R. (1981) : "The effect of cultivar and harvest date on the chemical composition and digestibility of fodder kale", *J. Sci. Food. Agric.*, 32, 965-972.
- BRADSHAW J., BORZUCKI R. (1983) : "The effect of harvest date on the DOMD, Crude Protein, S-MCO and SCN contents of the lamina, petiole, and stem of fodder kale", *J. Sci. Food. Agric.*, 34, 227-232.
- GIOVANNI R. (1978) : "Influence d'une alimentation riche en crucifères sur l'état sanitaire et les performances des ruminants : 1. Etude bibliographique de l'activité antithyroïdienne", *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 32, 19-29.
- GIOVANNI R. (1978) : "Influence d'une alimentation riche en crucifères sur l'état sanitaire et les performances des ruminants : 2. Etude bibliographique de l'anémie hémolytique", *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 33, 35-45.
- GIOVANNI R. (1984) : "Production, qualité et valeur alimentaire du colza fourrager utilisé à l'automne ou au printemps", *Bull. Tech. CRZV Theix, INRA*, 57, 51-55.
- GOSDEN A.F. (1979) : "An automated procedure for the estimation of S-methylcysteine sulfoxide in kale", *J. Sci. Food. Agric.*, 30, 892-898.
- GUSTINE D.L. (1985) : "Determination of S-methylcysteine sulfoxide in Brassica extracts by high performance liquid chromatography", *J. Chromatogr.* 319, 450.
- MC DONALD R.C., MANLEY T.R., BARRY T.N., FORSS D.A., SINCLAIR A.G. (1981) : "Nutrition evaluation of kale diets. 3. Changes in plant composition induced by soil fertility practise, with special reference to S-MCO and glucosinolate concentrations", *J. Agric. Sc. Camb.*, 97, 13-23.
- RUFFIO-CHABLE V., HERVE Y. (1987) : "Growth of winter cauliflower", *Cruciferae Newsletter*, 12, 110-112.
- SHELDRIK R.D., LAVENDER R.H. (1981) : "A comparison of a hybrid stubble turnip (cv. Appin) with other cruciferous catch crops for lamb fattening. 1. Initial evaluation for dry matter yield and forage quality", *Grass and Forage Sci*, 36, 281-289.
- SMITH R.H. (1974) : "Kale poisoning," *Rep. of the Rowett Res. Inst.* 30, 112-131.
- SMITH R.H. (1980) : "Kale poisoning : the brassica anaemia factor", *The Veterinary Record*, 107, 12-15.
- WHITTLE P.J., SMITH R.H., MCINTOSH A (1976) : "Estimation of S-methylcysteine sulfoxide (Kale Anemia Factor) and its distribution among Brassica Forage and Roots Crops", *J. Sci. Food. Agric.*, 27, 633-642.
- YOUNG N.E., AUSTIN A.R., ORR R.J., NEWTON J.E., TAYLOR R.J. (1982) : "A comparison of a hybrid stubble turnip (cv. Appin) with other cruciferous catch crops for lamb fattening. 2. Animal performance and toxicological evaluation," *Grass and Forage Sci.*, 37, 39-46.

RÉSUMÉ

Les crucifères fourragères utilisées en vert contiennent un composé soufré, la S-méthylcystéinesulfoxyde (S-MCO), qui est responsable de l'anémie hémolytique des ruminants recevant une ration trop riche en crucifères notamment avec les choux fourragers. La méthode d'analyse utilisée en Grande-Bretagne a été mise au point avec quelques modifications pour connaître les teneurs en S-MCO des principales variétés de choux et de colzas fourragers cultivées dans l'Ouest de la France.

La teneur en S-MCO des choux fourragers augmente avec l'âge des plantes : elle est en moyenne de 6 g/kg MS en octobre et de 9 à 12 g/kg MS pendant l'hiver ; celle des colzas est inférieure de moitié pendant la même période. Les teneurs les plus élevées (12-20 g/kg MS) se rencontrent dans les feuilles jeunes et les inflorescences. Les ensilages ont une teneur en S-MCO voisine de celle du vert à la récolte. Il n'est pas possible actuellement d'avancer un classement des types de crucifères en fonction de leur teneur en S-MCO. Les facteurs de variation de la synthèse de la S-MCO semblent dépendre autant du potentiel génétique des plantes que des conditions du milieu.

La recherche de variétés moins riches en S-MCO (4-6 g/kg MS maximum) permettrait de réduire notablement les risques d'accidents sanitaires qui peuvent apparaître au pâturage, ou en période de pénurie des autres aliments.

SUMMARY

The forages cruciferae factor responsible for anaemia. I — S-Methylcysteinesulfoxide content

Cruciferae forages contain S-Methylcysteinesulfoxide (S-MCO), a sulphur compound that induces haemolytic anaemia in ruminants receiving diets with too high a content of cruciferae, particularly kale. After preliminary experiments and modifications, the method of analysis of GOSDEN was used in order to determine the S-MCO contents of kale and rape cultivated in the West of France.

The S-MCO content of kale increases with age, from 6 g/kg DM in October to 9-12 g/kg DM in Winter. In the same period, that of rape is lower by half. Highest contents (12-20 g/kg DM) are observed in young leaves and flowers. Ensiling does not modify the S-MCO content of green forage. This study does not allow a classification of the different kale types according to their S-MCO contents. Some plants with a low content in October become similar to the others with an average content (9-10 g/kg DM) in December ; sowing date, cultivation conditions, growth pattern, temperature variations in Winter could all have an effect on S-MCO synthesis.

To develop varieties low in the factor responsible for anaemia (4-6 g/kg DM) should bring about a decrease of potentially toxic risk at grazing, or in other times of feed scarcity.