

Trèfle violet et composition fine du lait des vaches au pâturage

E. Froidmont¹, F. Daems², F. Laurent¹, D. Franckson¹,
F. Dehareng², J.M. Romnee², V.¹ Decruyenaere

1 : Centre wallon de Recherches agronomiques, Département Productions et Filières, Rue de Liroux 8, F-5030 Gembloux (Belgique) ; e.froidmont@cra.wallonie.be

2 : Centre wallon de Recherches agronomiques, Département Valorisation des Productions, Chaussée de Namur 24, B-5030 Gembloux (Belgique)

Introduction

Contrairement aux graminées (G), les légumineuses fourragères et en particulier le trèfle violet (TV) contiennent des teneurs élevées en phyto-œstrogènes. Consommées par le ruminant, certaines de ces molécules, dont la daidzéine et la formononétine, sont métabolisées par les bactéries du tube digestif en équol, partiellement excrété dans le lait (NJASTAD *et al.*, 2014). Le lait pourrait donc constituer une source intéressante de ce métabolite microbien pour l'homme, surtout chez les individus incapables de le synthétiser, soit 30 à 50 % de la population mondiale (CHEMLER *et al.*, 2009). Selon JACKSON *et al.* (2011), l'équol pourrait avoir un réel intérêt pour la santé humaine, en prévenant des risques de développer certains cancers, des maladies cardiovasculaires et en réduisant les troubles liés à la ménopause même si des études cliniques doivent encore être menées. L'objectif était d'étudier l'enrichissement du lait en équol lorsque les vaches laitières (VL) pâturent une prairie riche en TV (variété Pastor, pâturable) comparativement à une prairie composée de graminées.

1. Matériel et méthodes

L'essai s'est déroulé du 22/04/2014 au 24/05/2014 selon un schéma expérimental en cross over, avec 2 lots de 5 VL (130 jours de lactation, 27,7 l/j/VL en moyenne, 3 primipares et 2 multipares par lot). Elles ont pâturé alternativement les deux types de prairie (G et TV). Les périodes avaient une durée de 16 jours, dont 10 d'adaptation et 6 de collectes quotidiennes d'échantillons d'herbe, de lait individuels et de fèces individuelles. La conduite des animaux était réalisée au fil, avancé tous les deux jours de sorte à proposer une herbe de qualité et à volonté aux animaux. A chaque avancée, les refus étaient fauchés sur les parties pâturées afin de limiter l'offre à la nouvelle herbe tout en conservant l'accès au point d'eau. Les VL recevaient un complément en sec de 1,3 kg/j de pulpes de betteraves, 1,7 kg/j d'orge et 0,4 kg/j de son, en deux repas identiques après les traites (07:00 et 16:30). Ce complément apportait de l'énergie et des fibres sans fournir de phyto-œstrogènes.

La hauteur d'herbe en entrée/sortie de parcelle a été mesurée à l'aide d'un herbomètre à plateau (30 cm x 30 cm, 2,122 kg/m²). La valeur alimentaire de l'herbe a été estimée sur base de ses constituants prédits par spectrométrie proche infrarouge. La composition botanique en entrée de parcelle a été estimée par tri manuel et pesée. Après lyophilisation, mouture et regroupement par parcelle et période, la teneur en phyto-œstrogènes des échantillons d'herbe a été analysée par UPLC®-MS/MS (DAEMS *et al.*, 2014). Chaque jour, les échantillons de lait récoltés lors de la traite du soir étaient regroupés, par animal, avec ceux de la traite du matin suivant, proportionnellement aux productions laitières. Ils ont été analysés par spectrométrie moyen infrarouge pour prédire les taux butyreux, protéique et le profil en acides gras (SOYEURT *et al.*, 2011), ainsi que par UPLC®-MS/MS pour mesurer la teneur en équol (DAEMS *et al.*, 2015). Des échantillons individuels de matières fécales ont été prélevés, lyophilisés et moulus, pour prédire le niveau d'ingestion quotidien (DECRUYENAERE *et al.*, 2012).

Les résultats ont été analysés selon un modèle linéaire généralisé en considérant le traitement (G ou TV), la période et l'animal comme facteurs de variation. Les moyennes ont été comparées selon le test de Tukey et considérées comme différentes pour un $P < 0,05$.

2. Résultats et discussion

La proportion de TV différait considérablement entre les deux périodes (Tableau 1), ce qui se reflète dans les teneurs en formononétine et daidzéine du couvert. Le trèfle présent dans la parcelle G en période 1 était du trèfle blanc, beaucoup moins riche que le TV en phyto-œstrogènes. En raison de conditions climatiques favorables dès le début de l'essai, l'herbe était particulièrement haute à l'entrée des vaches dans les parcelles.

L'ingestion totale de MS (MSI) des animaux ne différait pas selon le type de pâture et atteignait en moyenne 17,7 kg/j/VL ($P = 0,564$), dont 14,4 kg/j/VL d'herbe ($P = 0,912$). La production laitière moyenne (27,2 l/VL/j, $P = 0,517$), les taux butyreux (3,70%, $P = 0,564$) et protéique (3,30 vs 3,27%, $P = 0,021$) ainsi que le profil en acides gras étaient équivalents pour G vs TV, respectivement. Les proportions d'AG saturés (79%) et insaturés (21%) étaient stables. Ces résultats sont cohérents au regard des apports d'énergie nette (17 867 VEM/j,

P = 0,487) et de protéines digestibles (1 567 vs 1 628 g/j de DVE, P = 0,004) par la ration totale lors du pâturage des parcelles G et TV, respectivement.

TABLEAU 1 – Composition botanique, hauteur entrée et sortie et teneur en phyto-œstrogènes de l’herbe.

	Période 1		Période 2		P
	G	TV	G	TV	
Graminée (% MS)	71,7	67,9	87,2	74,0	0,164
Trèfle (% MS)	5,8 ^c	28,3 ^a	0,0 ^c	12,2 ^a	0,001
Hauteur entrée (cm)	18,3 ^c	29,2 ^a	24,7 ^b	25,5 ^b	0,001
Hauteur sortie (cm)	9,8 ^b	17,5 ^a	15,9 ^a	16,3 ^a	0,001
Formononétine (µg/g MS)	4,7	1168,0	0,9	628,5	-
Daidzéine (µg/g MS)	0,0	44,0	0,0	22,3	-

^{a,b,c} Les valeurs d’une même ligne n’ayant pas une lettre commune diffèrent significativement (P < 0,05)

Malgré des performances zootechniques équivalentes, la concentration en équol du lait augmentait très fortement avec le TV (Tableau 2) qui est donc le principal facteur déterminant la production d’équol. Celle-ci a d’ailleurs été limitée en période 2 en raison d’une moindre proportion de trèfle dans la parcelle TV (Tableau 1).

En accord avec HÖJER *et al.* (2012), des VL se sont avérées plus productrices d’équol que d’autres (Tableau 2). Cela peut refléter la spécificité des micro-organismes du tube digestif, l’évolution des populations bactériennes ou de leur métabolisme avec l’âge de l’animal. Cinq primipares ont en effet excrété trois fois moins d’équol que les multipares (64 vs 188 µg/kg MSI). Une meilleure connaissance du métabolisme des phyto-œstrogènes chez le ruminant devrait permettre d’expliquer cette variabilité.

TABLEAU 2 – Production d’équol dans le lait selon le type de parcelle, la période et l’animal.

	Traitement		Période		Animal	
	G	TV	1	2	Min	Max
Equol (µg/kg de lait)	3 ^a	162 ^b	105 ^a	61 ^b	41 ^a	170 ^b
Equol (µg/j)	83 ^a	4620 ^b	3001 ^a	1702 ^b	952 ^a	5008 ^b
Equol (µg/kg MSI)	4 ^a	259 ^b	161 ^a	102 ^b	51 ^a	272 ^b

^{a,b} Pour un facteur, les valeurs d’une même ligne n’ayant pas une lettre commune diffèrent significativement (P < 0,001)

Conclusions

Dans nos conditions expérimentales, la présence de TV dans le pâturage des vaches augmente la teneur en équol du lait et, de ce fait, sa valeur santé, sans modifier son profil en AG ni la production laitière des animaux. Une variabilité animale importante dans l’excrétion d’équol a été observée.

Remerciements : Les auteurs remercient le Service Public de Wallonie pour le financement de cette recherche.

Références bibliographiques

- CHEMLER J.A., EFFENDI L., KOFFAS M.A.G. (2009) : "Flavonoid biotransformation in microorganisms". In : anthocyanins, biosynthesis, functions and applications, Ed: Gould K., Davies K., Winefield C., Springer edition. 191-238.
- DAEMS F., FRANCKSON D., JASSELETTE C., LOGNAY G., ROMNEE JM, FROIDMONT E. (2014) : "Evolution de la teneur en phyto-oestrogènes dans des ensilages de trèfles violets", Journées 3R, Paris, 21, 80.
- DAEMS F., JASSELETTE C., ROMNÉE JM, PLANCHON V., LOGNAY G., FROIDMONT E. (2015) : "Validating the use of an ultra-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry method to quantify equol in cow's milk", Dairy Science and Technology, 95 (3), 303-319.
- DECRUYENAERE V., FROIDMONT E., BARTIAUX-THILL N., BULDGEN A., DARDENNE P. (2012) : "Faecal Near-Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) compared with other techniques for estimating the in vivo digestibility and dry matter intake of lactating grazing dairy cows", Anim. Feed Sci. Techn., 173, 220-234.
- HÖJER A., ADLER S., PURUP S., HANSEN-MØLLER J., MARTINSSON K., STEINSHAMN H., GUSTAVSSON A.M. (2012): "Effects of feeding dairy cows different legume-grass silages on milk phytoestrogen concentration", J. Dairy Sci., 95, 4526-4540.
- JACKSON R.L., GREIWE J.S., SCHWEN R.J. (2011) : "Emerging evidence of the health benefits of S-equol, an estrogen receptor b agonist", Nutrition Reviews, 69 (8), 432-448.
- NJASTAD K.M., ADLER S.A., HANSEN-MØLLER J., THUEN E., GUSTAVSSON AM, STEINSHAMN H. (2014). "Gastrointestinal metabolism of phytoestrogens in lactating dairy cows fed silages with different botanical composition", J. Dairy Sci., 97, 7735-7750.
- SOYEURT H., DEHARENG F., GENGLER N., MCPARLAND E., WALL E., BERRY D., COFFEY M., DARDENNE P. (2011). "Mid-infrared prediction of bovine milk fatty acids across multiple breeds, production systems, and countries", J. Dairy.Sci. 94, 1657-1667.