

# **Le sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*) et la chicorée (*Cichorium intybus*): deux modèles de plantes bioactives pour répondre aux défis agroécologiques en élevage de ruminants**

H. Hoste<sup>1,2</sup>, V. Niderkorn<sup>3</sup>

1 : INRA, UMR 1225 IHAP, 23, Chemin des Capelles, F-31076 Toulouse ; h.hoste@envt.fr

2 : Université de Toulouse, ENVT, 23, Chemin des Capelles, F-31076 Toulouse

3 : Université Clermont Auvergne, INRA, VetAgro Sup, UMR Herbivores, F-63122 Saint-Genès-Champanelle

## **Résumé**

L'élevage des ruminants doit maintenir des objectifs de production et de qualité (y compris sanitaire) des produits d'origine animale, mais doit aussi intégrer de nouveaux défis issus de demandes sociétales (préservation de l'environnement, réduction des intrants chimiques) et également liés à des facteurs biotiques (développements des résistances aux xénobiotiques). Dans ce contexte agroécologique, les plantes bioactives (contenant des métabolites secondaires) présentent plusieurs caractéristiques répondant à ces questions. Cette revue vise à illustrer les potentialités de 2 modèles de plantes contenant des métabolites secondaires différenciés pour améliorer la santé et le bien-être des ruminants, maintenir la production et réduire les conséquences sur l'environnement.

## **Introduction**

### **– Eléments de contexte**

Tout en maintenant des critères économiques de production, l'élevage des ruminants doit aujourd'hui faire face à de nouveaux défis. Nombre d'entre eux correspondent à de nouvelles attentes sociétales pour désormais considérer les conséquences sur l'environnement (exemples : réduction des gaz à effet de serre ou d'usage des intrants chimiques en agriculture) et le bien-être animal. Par ailleurs, des facteurs biotiques - tel le développement de résistances aux antibiotiques et aux antiparasitaires chez les agents pathogènes - sont aussi à intégrer pour développer des approches innovantes de lutte et préserver ainsi l'efficacité des molécules de synthèse actuelles dans la maîtrise des pathologies majeures d'animaux d'élevage. Enfin, la prise en compte des deux éléments précédents conduit à la mise en œuvre de plans spécifiques (par ex. plans ECOPHYTO ou ECOANTIBIO) qui se traduisent par une adaptation des législations à l'échelle nationale ou de l'UE.

Dans cette approche innovante de l'élevage des ruminant pour s'adapter aux critères de l'agroécologie, les plantes bioactives, par leur diversité, représentent un panel de solutions pour relever les nouveaux défis identifiés.

La notion de plantes bioactives est liée à la présence de composés phytochimiques, responsables d'effets thérapeutiques ou toxiques chez l'homme ou les animaux. Ces composés bioactifs sont des métabolites secondaires des plantes (MSPs), c'est-à-dire des molécules qui ne sont pas impliquées dans les métabolismes de base des végétaux (fonctions de croissance et développement) mais qui assurent des fonctions de défense face à des prédateurs ou des pathogènes, ou servent d'attractifs en lien avec la reproduction des plantes (BRUNETON, 1999).

Ces plantes bioactives peuvent être exploitées soit sous forme de remèdes de phytothérapie ou d'aromathérapie, soit comme alicament. L'objectif premier des diverses préparations de phytothérapie (extraits de plantes ou d'huiles essentielles) est thérapeutique. Elles sont souvent administrées sur une durée courte dans un but curatif. Par comparaison, un alicament (contraction des mots « aliment » + « médicament ») est défini comme une ressource alimentaire contenant des métabolites secondaires et distribué aux animaux tant pour ses propriétés nutritionnelles que sanitaires (ANDLAUER et FURST, 2002). Le but principal est préventif et suppose une distribution prolongée aux animaux. Son efficacité va dépendre de sa consommation volontaire par les ruminants.

## – Objectifs de l'article

Dans cet article, le sainfoin et la chicorée ont été retenus pour illustrer les possibilités d'exploitation en élevage de deux plantes bioactives, dans un contexte agroécologique. Pour cette revue, le choix de ces deux plantes comme **modèles de plantes fourragères bioactives** s'explique i) par la présence de deux types différents de MSP et ii) par l'abondance, la diversité et la qualité des travaux qui leur ont été consacrés, y compris en incluant l'exploration des modes d'actions. D'autres plantes bioactives sont évoquées (BERNHOF, 2008). Cependant, les données scientifiques restent trop parcellaires pour consolider une revue sur le sujet, en particulier une revue qui évoque des applications potentielles.

**Le sainfoin** (*Onobrychis viciifoliae*) est une légumineuse (Fabacea) rustique (cf <http://sainfoin.eu>; <http://legumeplus.eu>) adaptée aux sols basiques, calcaires. Comme la luzerne, le sainfoin est un fourrage appétant, de bonne valeur nutritive, notamment en termes de teneur en protéines, et permet de fixer l'azote atmosphérique, réduisant ainsi le besoin d'engrais azotés. En revanche, par différence à la luzerne, le sainfoin a la particularité de contenir des tannins condensés (TC) (comme d'autres légumineuses : les lotiers corniculés et pédonculés (*Lotus corniculatus* et *L. pedunculatus*), le sulla (*Hedysarum coronarium*) et le sericea lespedeza (*Lespedeza cuneata*)). Les tannins sont une catégorie de métabolites secondaires, comme les alcaloïdes, les terpènes, les protéases etc.

**La chicorée** (*Cichorium intybus*) est une plante bioactive de la famille des Astarecea. C'est une plante appétente, adaptée aux climats tempérés, riche en minéraux, dont la valeur protéique varie de 100 à 250 g/kg de MS. Les principaux MSP associés ne sont pas des tannins ou des flavonoïdes polyphénoliques mais des sesquiterpènes lactones. La chicorée est une plante pérenne largement répandue sous des climats tempérés. Cette plante est exploitée sous diverses formes : i) après torréfaction, les racines, riches en inuline, sont utilisées comme substitut au café, ii) les endives (chicons) et les feuilles en salade pour l'alimentation humaine, iii) comme fourrage, en nutrition animale, la plante étant utilisée en pâturage direct ou sous forme ensilée chez les ruminants (BARRY, 1998 ; PENA ESPINOZA *et al.*, 2017)

Dans cette revue, nous rapporterons à la fois un certain nombre d'éléments généraux sur la valeur de ces deux plantes bioactives, le sainfoin et la chicorée, et les dernières avancées scientifiques concernant les mécanismes d'action et l'usage de ces plantes comme alicaments (HOSTE *et al.*, 2015) afin i) d'améliorer la santé et le bien-être des ruminants, ii) tout en contribuant aux apports nutritionnels et iii) en réduisant les conséquences environnementales des ruminants. Une partie des résultats présentés reprend des travaux récents menés dans le cadre du programme européen LegumePlus qui a permis de constituer un réseau de chercheurs autour des légumineuses bioactives en utilisant principalement le sainfoin comme plante modèle. L'originalité de ce projet était de proposer une approche multidisciplinaire pour mieux comprendre l'intérêt de cette espèce de légumineuse fourragère en combinant des expertises en agronomie, phytochimie, parasitologie et nutrition/digestion des ruminants.

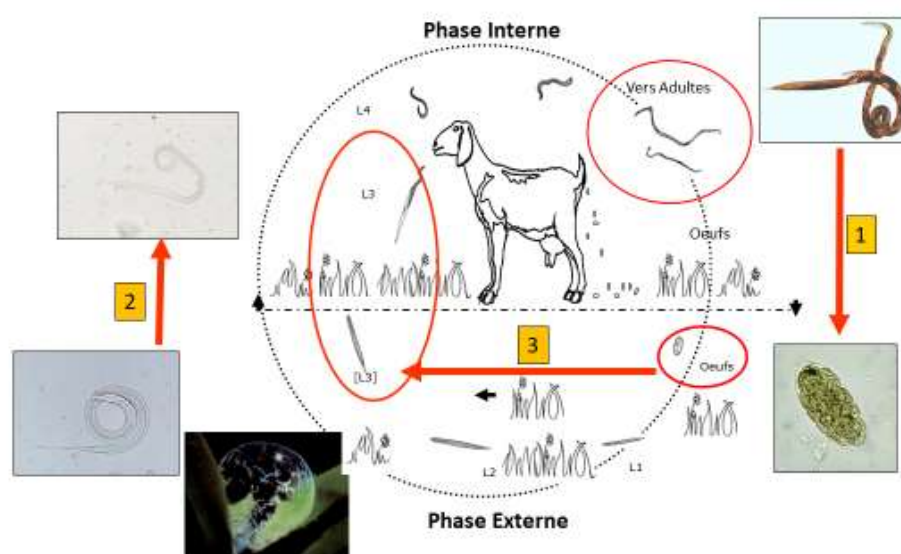
## 1. Effets de la consommation de sainfoin sur les nématodes gastro-intestinaux

Les infestations parasitaires par des nématodes gastro-intestinaux (NGIs) affectent le bien-être et la santé des ruminants au pâturage. Ces vers sont responsables de pertes économiques importantes. Sans mesure de contrôle, les infestations peuvent entraîner des signes cliniques, voire la mort. Pendant plus de 50 ans, la lutte contre ces verminoses a reposé avant tout sur l'emploi répété de traitements anthelminthiques (AH) de synthèse afin d'éliminer les NGIs. Toutefois, cet usage quasi exclusif de molécules de synthèse est confronté au développement de résistances aux AHs, y compris à des cas de résistances multiples, conduisant parfois à des « impasses thérapeutiques » (CHARLIER *et al.*, 2017).

## - Quels effets AH *in vivo* de la consommation de sainfoin ?

L'action des tannins et des polyphénols flavonoïdes sur les NGIs diffère complètement de celle des AHs de synthèse. Ces derniers, en l'absence de résistance, visent à éliminer 99,9 % des vers. Par comparaison, la consommation de plantes contenant des TC est plutôt associée à une perturbation de la biologie des vers en affectant 3 stades clefs du cycle des NGIs : **i) les œufs** (élément de contamination du pâturage), **ii) les larves 3 infestantes (L3)**, stade assurant la transition entre phase externe (l'environnement) et phase interne (chez l'animal) du cycle biologique des NGss et **iii) les vers adultes**, responsables des perturbations pathophysiologiques et donc des conséquences économiques (Figure 1). Ces résultats ont été constatés avec les principales espèces de NGI de la caillette ou de l'intestin des ovins ou caprins et dans le cadre d'études portant sur le sainfoin mais aussi d'autres légumineuses contenant des TC (HOSTE *et al.*, 2015). On peut ainsi résumer les effets du sainfoin (considéré comme un modèle de fourrages contenant des tannins condensés) sur les NGI parasites :

**FIGURE 1 : Résumé des principaux effets constatés *in vivo* sur les divers stades du cycle des NGIs lors de la consommation de légumineuses contenant des TC.**



- **Sur les vers adultes** : une diminution d'excrétion des œufs de nématodes (la contamination du pâturage est donc moindre) qui a été associée soit à une moindre fertilité des vers femelles, soit à une diminution du nombre de vers.

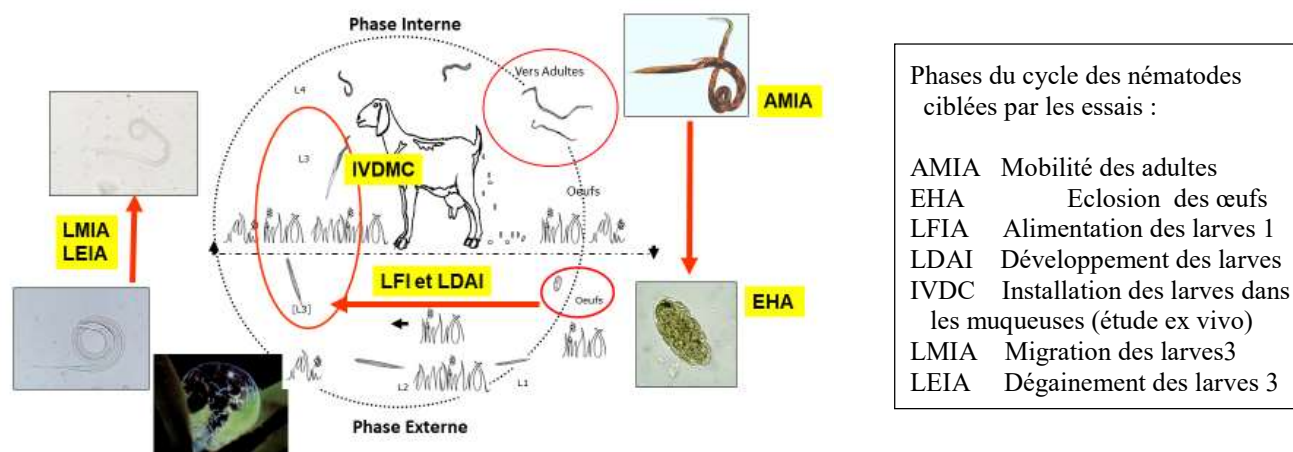
- **Sur les L3** ingérées par l'animal (la première étape de la phase parasitaire du cycle) : la consommation de légumineuse à tannins provoque des réductions significatives d'installation dans le tube digestif des larves 3.

- **Sur le développement des œufs** sur la prairie : quelques études suggèrent un effet inhibiteur sur le développement des œufs en larves 3 sur le pâturage en raison de la présence de tannins dans l'alimentation et donc dans les fèces.

**En bilan**, l'action cumulée des composés polyphénoliques et notamment les tannins sur les étapes majeures du cycle des NGIs conduit à freiner la dynamique des infestations. Ces impacts combinés contribueraient à réduire, voire supprimer, le recours aux AHs de synthèse lors des saisons de pâturage.

Par ailleurs, une diversité d'essais *in vitro* ciblant les principaux stades du cycle, ont été adaptés à partir des modèles sur les AH de synthèse pour i) cribler les différentes ressources, ii) comparer les variétés d'une même espèce de plante, iii) comparer les effets sur différentes espèces de nématodes et iv) analyser les modes d'action des tannins condensés et des composés phénoliques. Selon les objectifs visés (Figure 2), des extraits de plantes, des fractions ou des composés purifiés ont été utilisés (JACKSON et HOSTE, 2010).

**FIGURE 2 : Objectifs des principaux essais *in vitro* disponibles pour examiner ou analyser les propriétés AH des plantes bioactives.**



### - Variabilité des résultats

Une variabilité dans les résultats *in vivo* obtenus sur les trois stades principaux du cycle des NGLs a été constatée au travers de diverses études sur le sainfoin (HOSTE *et al.*, 2015). Ces différences s'expliquent par des facteurs liés à la plante, aux espèces de nématodes en cause et à l'animal hôte infesté (HOSTE *et al.*, 2015)

Les résultats d'études fondées sur des essais *in vitro* variés et sur le calcul de concentration inhibitrice 50 % (CI 50) pour les diverses fonctions examinées (ex dégainement des L3, éclosion des œufs) ont montré de fortes différences de propriétés anthelminthiques entre plus de 40 cultivars de sainfoin examinés (MANOLARAKI, 2011). Une variabilité similaire liée à des facteurs génétiques a été récemment rapportée avec le lotier corniculé, une autre légumineuse riche en tannins condensés (BARONE *et al.*, 2019). A partir d'études comparées sur 2 cultivars spécifiques, les mêmes méthodes *in vitro* ont confirmé l'influence de facteurs environnementaux dans les effets anthelminthiques observés, dépendant des sites de culture, de la phénologie de la plante ou de conditions de stress plus ou moins fortes. Enfin, le rôle de facteurs technologiques liés à divers modes de conservation ou de préservation du sainfoin a aussi été examiné (cf. ci-après).

La question de la variabilité des effets AH observés est essentielle à résoudre en termes de question scientifique pour préparer des applications raisonnées et des recommandations pour favoriser une exploitation du sainfoin et d'autres légumineuses contenant des tannins comme alicament. Un des moyens pour résoudre cette difficulté consiste en une meilleure compréhension des mécanismes d'action sur les vers.

### - Hypothèses sur les mécanismes d'action

Dès les premiers résultats empiriques sur des légumineuses bioactives caractérisées par la présence de tannins condensés, le rôle de ces métabolites secondaires a été suspecté pour expliquer les propriétés AH (NIEZEN *et al.*, 1995 ; MOLAN *et al.*, 2003a)

Au plan phytochimique, les TC sont des polyphénols de poids moléculaire compris entre 500 et 20 000 daltons, généralement hydrosolubles. Ce sont en fait des polymères constitués à partir de monomères de base (les flavonoïdes). Les TC sont largement présents dans le règne végétal (MUELLER HARVEY *et al.*, 2018). Une des principales propriétés des tannins est de former des complexes avec des macromolécules, notamment les protéines (BRUNETON, 1999). Deux hypothèses non exclusives ont été avancées pour expliquer le rôle AH de ces composés : i) une hypothèse « pharmacologique » expliquant les effets des polyphénols par une action directe perturbant les structures et fonctions des divers stades au sein des organes digestifs et ii) une hypothèse « indirecte » lié à une réponse immune locale dans les muqueuses de l'animal, stimulée par apport accru de PDIA en présence de TC dans la ration. De nombreux résultats *in vitro* et *in vivo* sont venus conforter la première hypothèse (HOSTE *et al.*, 2012 ; WILLIAMS *et al.*, 2014). Ils ont aussi montré qu'à côté des tannins, certains flavonoïdes étaient aussi dotés de propriétés AHs (BRUNET et HOSTE, 2006 ; MOLAN *et al.*, 2003a).

Sur la base de l'hypothèse « pharmacologique », les variations d'efficacité observées peuvent s'expliquer par des différences d'exposition des vers aux composés actifs en lien avec les concentrations dans la ration puis dans le milieu luminal digestif mais aussi en fonction des divers segments digestif (rumen, abomasum et intestins) (QUIJADA *et al.*, 2018). De plus, la qualité des TC, associée à la nature et au nombre de monomères de base, est également un critère intervenant dans les effets AH (QUIJADA *et al.*, 2015 ; MUELLER HARVEY *et al.*, 2018).

## – Conditions d'exploitation en élevage

L'utilisation du sainfoin comme alicament pour la maîtrise des NGIs suppose une distribution prolongée aux animaux infestés (HOSTE *et al.*, 2015). Les résultats d'une thèse récente suggèrent qu'une période minimale de distribution de plusieurs jours ( > 14 ) est nécessaire pour assurer une imprégnation du chyme et une exposition prolongée des vers aux MSP. Par ailleurs, en relation avec les postulats sur les modes d'action, plusieurs études suggèrent qu'un seuil de concentration minimale de TC et polyphénols dans la ration est à atteindre pour observer les premiers effets AHs (GAUDIN, 2017).

Les résultats sur les effets AH du sainfoin ainsi que d'autres légumineuses fourragères contenant des TC ont été obtenus sous diverses formes d'exploitation : que ce soit directement au pâturage ou sous forme conservée en fourrage : foin, ensilage, voire granulés déshydratés ([www. sainfolia.com](http://www.sainfolia.com)) (PAOLINI *et al.*, 2003 ; HECKENDORN *et al.* 2006 ; GAUDIN, 2017). Ces résultats montrent que les processus technologiques appliqués affectent peu les métabolites secondaires présents et donc les propriétés antiparasitaires associées. L'intérêt des formes conservées se décline en termes de standardisation des ressources, de facilités de stockage et facilités de distribution localement ou internationalement et surtout par les possibilités de caractérisation des ressources en mesurant les TC et les propriétés antiparasitaires avant usage. Cependant, par rapport au pâturage, ces avantages se font au détriment de l'autonomie des élevages.

## 2. Effets de la consommation de la chicorée sur les nématodes gastro-intestinaux

Au cours des 20 dernières années, une démarche similaire à celle développée pour les légumineuses contenant des TC a été appliquée pour la chicorée, représentant un second modèle de plante bioactive exploitable en régions tempérées.

Comme pour le sainfoin, plusieurs études *in vivo* chez les ovins ou les bovins ont confirmé les effets AH de la chicorée sur des NGIs parasites de l'abomasum ou de l'intestin et sur la nature des composés en cause (sesquiterpène lactones). De manière résumée, plusieurs conclusions principales peuvent être tirées des diverses études menées (PENA ESPINOZA *et al.*, 2017, 2018) :

- l'apport de chicorée à un niveau suffisant dans la ration contribue à réduire les excréments d'oeufs et le nombre de vers présents pour les espèces abomasales des petits ruminants (*H. contortus*, *Teladorsagia circumcincta*) ou des bovins (*Ostertagia ostertagi*). En revanche, les effets rapportés sur les populations de nématodes de l'intestin (*Cooperia sp*, *Trichostrongylus sp*) sont en général mineurs (ATHANASIADOU *et al.*, 2007 ; NIELSEN *et al.*, 2009 ; PENA ESPINOZA *et al.*, 2018) ;

- les principaux métabolites secondaires associés à la bioactivité de la chicorée ne sont pas des tannins mais des sesquiterpènes lactones (SL). Ils sont présents dans les feuilles de chicorée (~2% de la MS) et à un degré moindre dans les racines (~0,4% de la MS). Toutefois, des flavonoïdes et des coumarines ont aussi été détectés ;

- sur la base des essais *in vitro* décrits dans la Figure 2, l'hypothèse d'effets directs des SL sur différentes espèces de vers a été confortée (FOSTER *et al.*, 2011b ; MOLAN *et al.*, 2003b). En revanche, les raisons d'une efficacité marquée sur les espèces abomasales et faible sur les espèces intestinales restent à élucider ;

- comme pour le sainfoin, des facteurs environnementaux ou génétiques, en exploitant les divers cultivars sélectionnés pour la nutrition des ruminants, ont aussi été identifiés comme influant sur les concentrations en SLs et sur les effets AHs (FOSTER *et al.*, 2006, 2011 ; PENA ESPINOZA *et al.*, 2017) ;

- les potentialités offertes par la chicorée comme alicament ont surtout été explorées au travers du pâturage, quelques études ayant porté sur de l'ensilage (PENA ESPINOZA *et al.*, 2018). La notion d'effets parasitaires liés à un seuil minimal d'apport dans la ration a aussi été validée. Comme pour le sainfoin, les effets antiparasitaires dépendent des niveaux de distribution de la chicorée dans la ration. Des niveaux de l'ordre de 50 à 70 % ont été nécessaires pour obtenir des modifications significatives des parasites de l'abomasum, alors que des valeurs plus faibles (autour de 25 %) n'ont conduit à aucun changement. Les informations sur une durée minimale de distribution ou d'exploitation restent à préciser.

### **3. Valeur alimentaire du sainfoin et impacts sur les rejets polluants**

#### **- Valeur alimentaire**

Comparé à d'autres légumineuses sans tannins condensés comme la luzerne, le sainfoin présente une teneur comparable en composés pariétaux mais contient davantage de sucres solubles. En revanche, n'ayant pas fait l'objet de nombreux programmes de sélection, le sainfoin contient moins de matières azotées totales (MAT) (AUFRERE *et al.*, 2012). Par rapport à la luzerne, cette teneur en MAT diminue également plus rapidement au cours du premier cycle de végétation, probablement en raison d'une diminution plus rapide du rapport feuilles/tiges à la floraison (BORREANI *et al.*, 2003).

Les études menées sur l'effet des TC sur l'ingestibilité du sainfoin montrent que ceux-ci ont peu ou pas d'effet, probablement à cause d'une concentration qui reste modérée (BERMINGHAM *et al.*, 2001 ; SCHARENBERG *et al.*, 2007), alors que les concentrations élevées en TC diminuent l'ingestion volontaire à travers une réduction de la palatabilité, une réduction de la vitesse de digestion ou encore une altération des fermentations ruminales (FRUTOS *et al.*, 2004). Le niveau d'ingestibilité du sainfoin est d'ailleurs comparable à celui qui peut être observé chez des légumineuses ne contenant pas de TC (AUFRERE *et al.*, 2008). D'une manière générale, lorsque la concentration en TC dans la ration est trop élevée ou que la teneur en protéines est trop faible, comme ce peut être le cas dans les environnements tropicaux dans lesquels les fourrages peuvent contenir peu d'azote et que les feuilles peuvent contenir beaucoup de TC, les TC peuvent être anti-nutritionnels (COOPER *et al.*, 1988). En revanche, lorsque les teneurs en TC sont modérées, plusieurs bénéfices nutritionnels ont été décrits chez les ruminants parmi lesquels la protection contre une dégradation excessive des protéines alimentaires dans le rumen, la prévention de la météorisation associée à la stabilisation de la mousse qui renferme les gaz de fermentation ruminale, et parfois l'amélioration des performances animales (MACADAM *et VILLALBA*, 2015 ; WAGHORN, 2008).

#### **- Teneur et activité biologique des tannins condensés du sainfoin**

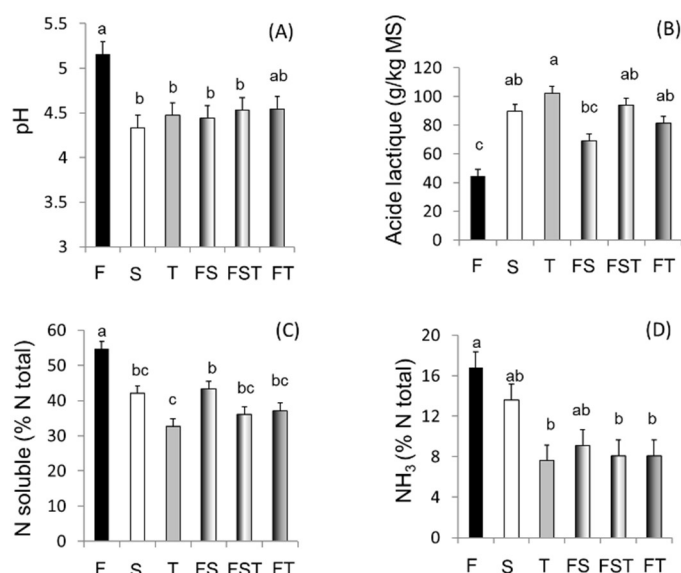
Lorsque le stade de développement des plantes avance, le rapport feuilles/tiges tend à diminuer. Les feuilles du sainfoin étant plus riches en TC que les tiges, la teneur en TC diminue donc logiquement avec le stade de végétation (BORREANI *et al.*, 2003). Dans le volet agronomique du projet LegumePlus, une étude portant sur une large gamme de variétés de sainfoin issues de différents continents a permis de montrer qu'une large variabilité peut être observée dans les profils en TC tant en termes de concentration qu'en termes de caractéristiques structurales (MALISCH *et al.*, 2015). Cette variabilité s'étend aux différentes variétés mais aussi au sein d'une même variété. Le principal critère qui conditionne la teneur en TC semble rester le rapport feuilles/tiges. Les auteurs, en conclusion de leurs travaux, indiquent que cette variabilité est source de possible amélioration du sainfoin à travers des programmes de sélection.

L'activité biologique des TC correspond à leur aptitude à former des complexes avec les protéines. Lors de l'ingestion du fourrage par les ruminants, les TC extractibles se lient avec les protéines foliaires et salivaires mais aussi, lors de leur passage dans le rumen, aux protéines et enzymes microbiennes et endogènes. La taille des molécules de TC semble être le facteur clé qui contrôle la précipitation des protéines. Il a été montré avec de la sérumalbumine bovine que cette activité augmente lorsque le degré de polymérisation augmente de 3 à 8 monomères, puis les différences sont moins marquées lorsque celui-ci est supérieur à 9 (ROPIAK *et al.*, 2017). Par ailleurs, pour un même type de TC, la taille et la nature des protéines interviennent également dans le niveau de précipitation (ZELLER *et al.*, 2015). La capacité à former des complexes dépend donc à la fois de la structure des TC et de celle des protéines (DOBREVA *et al.*, 2012).

## - Impact du sainfoin sur la conservation du fourrage

La valeur alimentaire et l'activité biologique du sainfoin varient selon qu'il est consommé pâturé, sous forme de foin (avec une potentielle perte de feuilles dans lesquelles se concentrent la valeur nutritive et les TC), en ensilage ou en granulés déshydratés (plante entière). Or, comme les exigences agronomiques du sainfoin font qu'il ne peut pas être cultivé dans toutes les régions et en toute saison, il est souvent nécessaire de le conserver. De plus, les processus de conservation semblent affecter de manière significative le profil en TC du fourrage puisque les biochimistes du programme LegumePlus ont observé une modification du ratio TC extractibles/TC non extractibles. Ceci suggère que ces processus augmentent le niveau de complexation des TC avec les protéines végétales et que ces complexes seraient liés de façon covalente (GIRARD *et al.*, 2018 ; RAMSAY *et al.*, 2015).

Il a été montré que l'inclusion de sainfoin dans les ensilages de graminée améliore la qualité du fourrage, la fermentation ainsi que la protection des protéines contre la dégradation microbienne et enzymatique (COPANI *et al.*, 2014 ; LORENZ *et al.*, 2010). Ce bénéfice sur la conservation du fourrage a été démontré en mini-silos à travers de plus faibles valeurs de pH, d'azote soluble et d'ammoniaque, et des concentrations plus élevées en acide lactique en comparaison de la graminée ensilée pure (Figure 3). Les valeurs de ces paramètres pour le mélange fléole-sainfoin étaient même similaires à celles du mélange fléole-trèfle violet, alors que le trèfle violet est connu comme étant une légumineuse particulièrement adaptée à la conservation en ensilage grâce à l'action de sa polyphénol oxydase, une enzyme qui protège fortement les protéines de la dégradation dans les silos (LEE *et al.* 2008).



**FIGURE 3 : (A) Valeurs de pH, (B) concentration en acide lactique, et pourcentages (C) d'azote (N) soluble et (D) d'ammoniaque (N-NH<sub>3</sub>) de l'azote total dans les ensilages de fléole pure (F), sainfoin pur (S), trèfle violet pur (T), mélange binaire FS (50:50%), mélange binaire FT (50:50%) et mélange ternaire FST (50:25:25%) (COPANI *et al.*, 2014).**

## - Impact des tannins condensés sur l'utilisation de l'azote par les ruminants

L'analyse de la littérature montre que les réponses digestives des animaux aux TC sont très variables, ce qui n'est pas surprenant si l'on considère la complexité de ces composés au sein du règne végétal, mais aussi leurs interactions avec les autres composants de la ration, le microbiome ou les tissus des animaux hôtes. Il résulte de cette complexité que les progrès dans la compréhension des effets des TC sont relativement lents avec des challenges analytiques et expérimentaux importants.

Une constante dans les essais sur les ruminants est observée sur la réduction de l'azote urinaire et l'augmentation de l'azote fécal (WAGHORN, 2008). Cette modification dans la partition de l'azote excrété est importante d'un point de vue environnemental puisque, en comparaison de l'azote fécal, l'azote urinaire entraîne davantage d'émissions de protoxyde d'azote (N<sub>2</sub>O), un gaz à effet de serre 296 fois plus puissant que le CO<sub>2</sub> et qui persiste très longtemps dans l'atmosphère (plus de 100 ans) (KINGSTON-SMITH *et al.*, 2010). De plus, l'azote urinaire peut affecter la qualité des eaux à travers l'eutrophisation ou des teneurs en nitrates excessives. Alors que la capacité des TC à réduire la solubilisation des protéines dans le rumen est connue depuis longtemps, les déterminants du devenir des matières azotées au-delà du rumen restent dans une large mesure inconnus. Les travaux de WANG *et al.* (1996) ont montré que, chez des ovins alimentés avec du lotier corniculé en présence de polyéthylène glycol,

un composé qui inactive les TC, environ 80% des acides aminés étaient absorbés dans la première partie de l'intestin alors que la totalité de l'intestin était requise lorsque les TC étaient actifs. Ces résultats suggèrent que l'absorption intestinale est au moins ralentie par les TC. D'autres travaux indiquent que les TC entraînent une réduction de la digestibilité intestinale due à une dissociation incomplète des complexes TC-protéines ou à une re-formation de ces complexes lorsque le pH augmente au-delà du compartiment abomasal. Cela se traduit par une rétention de l'azote par les animaux qui n'est généralement pas améliorée, du moins chez les ovins (THEODORIDOU *et al.*, 2010).

L'utilisation du sainfoin s'envisage parfois en substitution d'autres espèces de légumineuses au sein de prairies semées. Dans cette situation, la concentration en TC se trouve diluée dans les espèces fourragères n'en contenant pas. Cependant, il a été montré que les TC du sainfoin (à une concentration de 1% dans cette étude) peuvent affecter la digestion des protéines d'une espèce fourragère associée (NIDERKORN *et al.*, 2012).

### **- Effet du sainfoin sur les performances animales et les émissions de méthane**

De nombreuses variables interviennent sur les réponses des ruminants au sainfoin. Parmi ces variables, on peut citer la variété de sainfoin, son mode conservation, la composition chimique de la ration dans laquelle il est intégré et l'espèce animale.

Dans un récent essai sur vaches laitières, l'inclusion d'ensilage de sainfoin à hauteur de 50% dans une ration à base d'ensilage d'herbe et de concentré a entraîné une perte de digestibilité de 5,5% et une réduction des émissions de méthane par kg de matière sèche ingérée de 6%. Mais, dans le même temps, l'ensilage de sainfoin a permis une amélioration de la production laitière et semble avoir redirigé le métabolisme vers davantage de protéines corporelles et moins de gras (HUYEN *et al.*, 2016a).

Afin d'étudier les effets des ensilages contenant du sainfoin sur la digestion de l'animal entier et les performances en conditions d'élevage, deux essais *in vivo* ont été menés en parallèle avec le même matériel végétal sur des moutons mâles castrés en cage à métabolisme et chez des agneaux en croissance. Les résultats obtenus en cage à métabolisme indiquent que l'inclusion de sainfoin dans les ensilages réduit la digestibilité de la matière organique par rapport à la fléole pure, mais que les émissions de méthane sont proportionnellement moins élevées (NIDERKORN *et al.*, 2016). Les agneaux en croissance présentaient des niveaux d'ingestion et de gain de poids vif similaires à ceux des agneaux alimentés avec de la fléole pure.

Grâce à des essais de fermentation ruminale *in vitro*, des avancées significatives ont été récemment obtenues pour décrire les relations entre structure des TC (définie par le ratio prodelphinidines vs procyanidines et le degré de polymérisation, notamment) et émissions de méthane (HATEW *et al.*, 2016 ; HUYEN *et al.*, 2016b). Cependant, des études interdisciplinaires restent nécessaires pour comprendre comment les TC exercent leur action sur la digestion microbienne et *in fine* sur les performances animales.

## **4. Intérêts de la chicorée et possibles effets sur les émissions de méthane**

La chicorée fourragère suscite un intérêt croissant compte tenu de ses spécificités morphologiques et physiologiques. Sa capacité à être productive en conditions séchantes et sa capacité d'adaptation à un grand nombre d'environnements sont ses principaux atouts dans un contexte de développement de systèmes d'élevage davantage résistants aux aléas climatiques. Elle a été le plus étudiée dans certaines régions du monde axées sur des systèmes d'élevage utilisant intensivement le pâturage (Nouvelle-Zélande), où elle a fait l'objet d'une sélection génétique poussée depuis plus de 20 ans.

### **- Valeur alimentaire et performances animales**

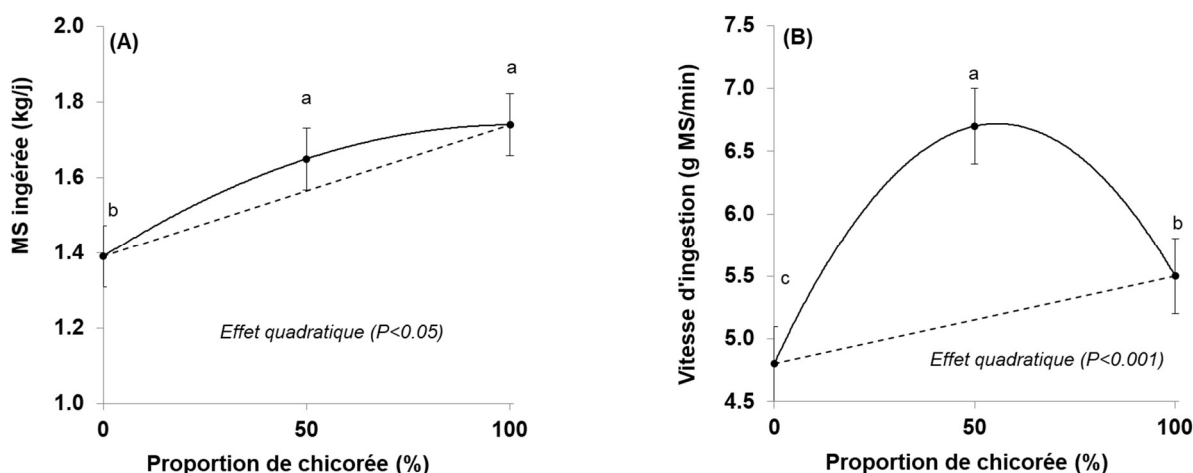
De par sa composition chimique et morphologique, la chicorée a une bonne valeur alimentaire pour les ruminants. Sa teneur en fibres est relativement faible (de l'ordre de 350 g/kg de MS) et fluctue relativement peu selon le stade de développement de la plante. D'une manière générale, sa composition chimique est relativement stable durant toute la saison de pâturage (SANDERSON *et al.*, 2003). La teneur en protéines brutes est variable selon les études mais elle peut atteindre des teneurs



équivalentes à celles de certaines légumineuses. Au stade végétatif, ces caractéristiques rendent la chicorée hautement digestible (HOSKIN *et al.*, 1999) et permettent d'obtenir de bonnes performances zootechniques (BARRY, 1998). La chicorée est riche en micro- et macro-minéraux, et peut ainsi contribuer à maîtriser certains problèmes sanitaires liés à la consommation de fourrages carencés en minéraux. C'est également une plante non météorisante, qui peut donc être consommée *ad libitum* sans risque métabolique. Il est cependant recommandé que les prairies pâturées par des vaches laitières ne contiennent pas plus de 25% de chicorée car des odeurs désagréables peuvent apparaître en raison de produits de dégradation des sesquiterpènes lactones (VISSER, 1992).

Dans une récente étude en conditions contrôlées visant à mesurer l'effet de l'augmentation de la proportion de chicorée dans un régime à base d'herbe chez le mouton mâle, il a été montré que la chicorée pure permet une ingestion de MS plus importante de 25% en comparaison du ray-grass pur (NIDERKORN *et al.*, 2018). Cette différence semblait due à des compositions chimiques contrastées mais aussi à une fragmentation plus rapide de la chicorée réduisant le temps de rumination et le temps de séjour dans le rumen. De plus, cette étude a montré que mélanger du ray-grass anglais et de la chicorée produit une synergie sur l'ingestion volontaire de MS accompagnée d'un effet quadratique très net sur la vitesse d'ingestion, ce qui indique une forte motivation à ingérer le mélange ray-grass anglais - chicorée (Figure 4). En mélange avec du plantain, la chicorée permet de maintenir la production de lait chez des brebis par rapport à une prairie à base de graminées tout en améliorant l'utilisation de l'azote et en augmentant le taux protéique du lait (RODRIGUEZ *et al.*, 2019).

**FIGURE 4 : Quantité de matière sèche (MS) ingérée et vitesse d'ingestion observée la première heure après distribution chez des moutons alimentés avec 0, 50 et 100% de chicorée en complément de ray-grass anglais (NIDERKORN *et al.* 2018).**



Mais, au-delà de sa valeur alimentaire, la chicorée suscite l'intérêt pour sa teneur en divers composés bioactifs (NWAFOR *et al.*, 2017) dont les effets ont été encore peu étudiés en comparaison de composés comme les TC du sainfoin.

### – Effets des composés bioactifs de la chicorée sur la digestion

Plusieurs études ont montré une nette réduction des émissions de méthane par kg de MS ingérée chez des animaux pâturant de la chicorée par rapport à des animaux pâturant du ray-grass anglais (NIDERKORN *et al.*, 2018 ; WAGHORN *et al.*, 2002) alors que d'autres auteurs ont observé des niveaux d'émission similaires (SUN *et al.*, 2012). En tout état de cause, bien que la chicorée contienne des TC, il semble que ceux-ci soient en concentration trop faible pour affecter les processus digestifs des ruminants.

L'effet des sesquiterpènes lactones sur les fermentations ruminales ont fait l'objet de peu d'étude en comparaison de leurs possibles effets anthelminthiques. Les propriétés pharmacologiques impliquant les sesquiterpènes lactones concernent leurs activités antibactériennes et antifongiques qui ont été démontrées *in vitro* (NEERMAN, 2003). Ces composés pourraient ainsi agir sur la flore

microbienne du rumen même si, à notre connaissance, aucun travail n'a rapporté une quelconque action de ses composés sur l'écosystème microbien ruminal.

Le mécanisme d'action sur un possible effet de la chicorée sur les émissions de méthane reste donc à déterminer. En dehors d'un rôle potentiel de composés bioactifs, une vitesse de transit élevée et donc un temps de séjour réduit des aliments dans le rumen pourraient être impliqués. En effet, une relation entre vitesse de passage des digestats et émissions de méthane a déjà été évoquée par certains auteurs (HEGARTY, 2004 ; PINARES-PATIÑO *et al.*, 2003). Une explication pourrait être que cette augmentation du transit s'accompagne d'un lessivage des bactéries archaé méthano-gènes.

## Conclusions

Cette courte revue a pour but d'illustrer les potentialités qu'offrent les plantes bioactives, riches en métabolites secondaires, pour aborder certaines des questions nouvelles associées au développement de l'agroécologie. N'ont pas été développés ici d'autres aspects associés à l'exploitation de ces plantes comme des effets anti coccidiens chez les ruminants mais aussi le lapin ou sur la qualité des produits d'origine animale (HOSTE *et al.*, 2015 ; MUELLER HARVEY *et al.*, 2018 ; LEGENDRE *et al.*, 2018) pour les légumineuses contenant des TC. Toutefois, cette synthèse a voulu également illustrer la complexité d'utilisation raisonnée de ces plantes, compte tenu de la diversité des métabolites secondaires impliqués et de la variabilité des concentrations en fonction de multiples facteurs. Les travaux sur la chicorée comme sur le sainfoin soulignent la nécessité d'une connaissance des composés bioactifs en cause et d'une analyse de leurs mécanismes d'action avant toutes recommandations sur les modes d'application en élevage. Enfin, ces travaux sur les plantes bioactives et les métabolites secondaires ouvrent aussi de nouvelles questions scientifiques à explorer, comme par exemple les recherches sur l'automédication chez les ruminants.

## Remerciements

Les auteurs tiennent à exprimer leurs sincères remerciements pour le soutien financier du projet CASDAR « Fastoche » AAP n°18 AIP 5845

## Références bibliographiques

- ANDLAUER, W., FÜRST, P., (2002). "Nutraceuticals: a piece of history, present status and outlook". *Food Research*, 35, 171-176.
- ATHANASIADOU, S., GRAY, D., YOUNIE, D., TZAMALOUKAS, O., JACKSON, F., KYRIAZAKIS, I. (2007). The use of chicory for parasite control in organic ewes and their lambs. *Parasitology* 134, 299–307.
- AUFRÈRE, J., DUDILIEU, M., PONCET, C. (2008). In vivo and in situ measurements of the digestive characteristics of sainfoin in comparison with lucerne fed to sheep as fresh forages at two growth stages and as hay. *Animal*, 2, 1331-1339.
- AUFRÈRE, J., THEODORIDOU, K., BAUMONT, R. (2012). Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés. *Productions Animales*, 25, 29.
- BARONE C.D., ZAJAC A.M., FERGUSON S.M., BROWN R.N., REED J., KRUEGER C.G. PETERSSON K.H. (2019) *In vitro* screening of 51 birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.; Fabaceae) strains for anti-parasitic effects against *Haemonchus contortus*. *Parasitology*, in press
- BARRY, T. (1998). The feeding value of chicory (*Cichorium intybus*) for ruminant livestock. *The Journal of Agricultural Science*, 131, 251-257.
- BERMINGHAM, E. N., HUTCHINSON, K., REVELL, D. K., BROOKES, I., MCNABB, W. (2001) The effect of condensed tannins in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) and sulla (*Hedysarum coronarium*) on the digestion of amino acids in sheep." *New Zealand Society of Animal Production*, 61, 116-119.
- BERNHOF A. (2008) Bioactive compounds in plants –benefits and risks for man and animals Proceedings from a symposium. The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo, 13 - 14 November 2008
- BORREANI, G., PEIRETTI, P., TABACCO, E. (2003). Evolution of yield and quality of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) in the spring growth cycle. *Agronomie*, 23, 193-201.

- BRUNET, S., HOSTE, H. (2006). Monomers of condensed tannins affect the larval exsheathment of parasitic nematodes of ruminants. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 54, 7481-7487.
- BRUNETON J. (1999) "Tanins" in "Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales" 3rd Edition, Tec et Doc Eds Page 370-404.
- CHARLIER, J., THAMSBORG S. M., BARTLEY D., SKUCE P., KENYON F, GEURDEN T., HOSTE H., WILLIAMS A. R., WANG RUI, SOTIRAKI S., HÖGLUND J., CHARTIER C., GELDHOF P., VAN DIJK J., RINALDI L., MORGAN E., G. VON SAMSON-HIMMELSTJERNA G., VERCRUYSSSE J., CLAEREBOUT E. (2017) Mind the gaps in research on parasitic gastrointestinal nematodes of farmed ruminants and pigs. *Transboundaries and Emerging Diseases*. 65, Supp 1, 217-234..
- COOPER, S. M., OWEN-SMITH, N., BRYANT, J. P. (1988). Foliage acceptability to browsing ruminants in relation to seasonal changes in the leaf chemistry of woody plants in a South African savanna. *Oecologia*, 75, 336-342.
- COPANI, G., GINANE, C., LE MORVAN, A., NIDERKORN, V. (2014). Bioactive forage legumes as a strategy to improve silage quality and minimise nitrogenous losses. *Animal Production Science*, 54, 1826-1829.
- DOBREVA, M., STRINGANO, E., FRAZIER, R., GREEN, R., MUELLER-HARVEY, I., LATTANZIO, V., MULINACCI, N., PINELLI, P., ROMANI, A. (2012) : Interaction of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) condensed tannins and proteins." *Proc., XXVIth International Conference on Polyphenols*.
- FOSTER, J.G., CLAPHAM, W.M., BELESKY, D.P., LABREVEUX, M., HALL, M.H., SANDERSON, M.A. (2006). Influence of cultivation site on sesquiterpene lactone composition of forage chicory (*Cichorium intybus* L.). *Journal of Agricultural Food Chemistry* 54, 1772–1778.
- FOSTER, J.G., CASSIDA, K.A., SANDERSON, M.A. (2011a ). "Seasonal variations in sesquiterpene lactone concentrations and composition of forage chicory (*Cichorium intybus* L.) cultivars". *Grass Forage Sciences*. 66, 424-433.
- FOSTER, J.G., JOYCE, G., CASSIDA, K.A., TURNER K.E. (2011b) "In vitro analysis of the anthelmintic activity of forage chicory (*Cichorium intybus* L.) sesquiterpene lactones against a predominantly *Haemonchus contortus* egg populations". *Veterinary Parasitology*. 180, 296-306.
- FRUTOS, P., HERVAS, G., GIRÁLDEZ, F. J., MANTECÓN, A. (2004). Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2, 191-202.
- GAUDIN E. (2017). « Le sainfoin déshydraté : Un modèle de nutriment dans la lutte contre les nématodes parasites des petits ruminants ». Thèse d Université INP Toulouse, soutenue le 16 mai 2017
- GIRARD, M., DOHME-MEIER, F., AMPUERO-KRAGTEN, S., GROSSE-BRINKHAUS, A., ARRIGO, Y., WYSS, U., BEE, G. (2018). "Modification of the proportion of extractable and bound condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) and sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) during wilting, ensiling and pelleting processes." *Biotechnology in Animal Husbandry*, 34, 1-19.
- HATEW, B., STRINGANO, E., MUELLER-HARVEY, I., HENDRIKS, W., CARBONERO, C. H., SMITH, L., PELLIKAAN, W. (2016). "Impact of variation in structure of condensed tannins from sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vitro ruminal methane production and fermentation characteristics." *Journal of Animal Physiology and Animal nutrition*, 100, 348-360.
- HECKENDORN, F., HÄRING, D.A.; MAURER, V., ZINSSTAG, J., LANGHANS W., HERTZBERG, H. (2006). "Effect of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage and hay on established populations of *Haemonchus contortus* and *Cooperia curticei* in lambs". *Veterinary Parasitology* 142, 293-300.
- HEGARTY, R. (2004). "Genotype differences and their impact on digestive tract function of ruminants: a review." *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 44, 459-467.
- HOSKIN, S. O., BARRY, T., WILSON, P., CHARLESTON, W., KEMP, P. (1999). "Growth and carcass production of young farmed deer grazing sulla (*Hedysarum coronarium*), chicory (*Cichorium intybus*), or perennial ryegrass (*Lolium perenne*)/white clover (*Trifolium repens*) pasture in New Zealand." *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 42, 83-92.
- HOSTE H., MARTINEZ ORTIZ-DE-MONTELLANO C., MANOLARAKI F., BRUNET S., OJEDA-ROBERTOS N., FOURQUAUX I., TORRES-ACOSTA JFJ, SANDOVAL-CASTRO C. (2012). Direct and indirect effects of bioactive legume forages against parasitic infections: experiences with tropical and temperate forages. *Veterinary Parasitology* 186, 18-27.
- HOSTE H., TORRES-ACOSTA J.F.J., SANDOVAL-CASTRO C.A., MUELLER-HARVEY I., S. SOTIRAKI S., LOUVANDINI H., THAMSBORG S.M., TERRILL T.H. (2015). Tannin containing legumes as a model for nutraceuticals against digestive parasites in livestock. *Veterinary Parasitology* 212, 5-17.
- HUYEN, N., FRYGANAS, C., UITTENBOGAARD, G., MUELLER-HARVEY, I., VERSTEGEN, M., HENDRIKS, W., PELLIKAAN, W. (2016a). "Structural features of condensed tannins affect in vitro ruminal methane production and fermentation characteristics." *The Journal of Agricultural Science*, 154(8), 1474-1487.

- HUYEN, N., DESRUES, O., ALFERINK, S., ZANDSTRA, T., VERSTEGEN, M., HENDRIKS, W., PELLIKAAN, W. (2016b). "Inclusion of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) silage in dairy cow rations affects nutrient digestibility, nitrogen utilization, energy balance, and methane emissions." *Journal of dairy science*, 99, 3566-3577.
- JACKSON, F., HOSTE, H. (2010). In vitro methods for the primary screening of plant products for direct activity against ruminant gastrointestinal nematodes. In: Vercoe, P.E.; Makkar, H.P.S.; Schlink, A.C. (Eds.), *In vitro screening of Plant Resources for Extra Nutritional Attributes in Ruminants: Nuclear and Related Methodologies*, FAO/IAEA Springer Edition. 2010, pp 24-45.
- KINGSTON-SMITH, A. H., EDWARDS, J. E., HUWS, S. A., KIM, E. J., ABBERTON, M. (2010). "Plant-based strategies towards minimising 'livestock's long shadow'." *Proceedings of the Nutrition Society*, 69, 613-620.
- LEE, M. R. F., SCOTT, M. B., TWEED, J. K. S., MINCHIN, F. R., & DAVIES, D. R. (2008). "Effects of polyphenol oxidase on lipolysis and proteolysis of red clover silage with and without a silage inoculant (*Lactobacillus plantarum* L54)." *Animal Feed Science and Technology*, 144, 125-136.
- LEGENDRE H., SARATSI, K., VOUTZOURAKIS N., SARATSIS N., STEFANAKIS A., GOMBAULT P., HOSTE H. GIDENNE T., SOTIRAKI S. (2018). Coccidiostatic effects of tannin rich diets in rabbit production. *Parasitology Research*. 117, 3705-3713 <https://doi.org/10.1007/s0043601860692>
- LORENZ, M., ERIKSSON, T., UDÉN, P. (2010). "Effect of wilting, silage additive, PEG treatment and tannin content on the distribution of N between different fractions after ensiling of three different sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) varieties." *Grass and forage science*, 65, 175-184.
- MACADAM, J. W., VILLALBA, J. J. (2015). Beneficial effects of temperate forage legumes that contain condensed tannins. *Agriculture*, 5, 475-491.
- MALISCH, C. S., LUSCHER, A., BAERT, N., ENGSTRÖM, M. T., STUDER, B., FRYGANAS, C., SUTER, D., MUELLER-HARVEY, I., SALMINEN, J.-P. (2015). Large variability of proanthocyanidin content and composition in sainfoin (*Onobrychis viciifolia*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 10234-10242.
- MANOLARAKI, F. (2011). Propriétés anthelminthiques du sainfoin (*Onobrychis viciifoliae*): Analyse des facteurs de variations et du rôle des composés phénoliques impliqués. PhD University 21st Jan 2011. INP Toulouse.
- MOLAN, A.L., MEAGHER, L.P., SPENCER, P.A., SIVAKUMARAN, S. (2003a). "Effect of flavan-3-ols in vitro hatching, larval development and viability of infective larvae of *Trichostrongylus colubriformis*". *International Journal for Parasitology* 33, 1691 - 1698.
- MOLAN, A.L., DUNCAN, A.J., BARRY, T.N., McNABB, W.C., (2003b). Effect of condensed tannins and crude sesquiterpene lactones extracted from chicory on the motility of larvae of deer lungworms and gastrointestinal nematodes. *Parasitology International*. 52, 209–218.
- MUELLER-HARVEY, I.; BEE, G., DOHME-MEIER, F., HOSTE, H., KARONEN M., KOELLIKER, R., LÜSCHER, A., NIDERKORN, V., PELLIKAAN, W., SALMINEN, JP., SKOT, LEIF., SMITH, L., THAMSBORG, S., TOTTERDELL, P., WILKINSON, I., WILLIAMS, A., AZUHNWI, B., BAERT, N., GROSSE BRINKHAUS, A., COPANI, G., DESRUES, O., DRAKE, C., ENGSTRÖM, M., FRYGANAS, C., GIRARD, M. (2018). Benefits of condensed tannins in forage legumes fed to ruminants: importance of structure, concentration and diet composition" *Crop Science* 58, doi: 10.2135/cropsci2017.06.0369
- NEERMAN, M. F. (2003). Sesquiterpene lactones: a diverse class of compounds found in essential oils possessing antibacterial and antifungal properties. *International Journal of Aromatherapy*, 13(2-3), 114-120.
- NIDERKORN, V., COPANI, G., GINANE, C. (2016). "Including bioactive legumes in grass silage to improve productivity and reduce pollutant emissions." 26th General Meeting of the European Grassland Federation, Trondheim, Norway, 4-8 September 2016. pp. 391-393.
- NIDERKORN, V., MUELLER-HARVEY, I., LE MORVAN, A., AUFRÈRE, J. (2012). Synergistic effects of mixing cocksfoot and sainfoin on in vitro rumen fermentation. Role of condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 178, 48-56.
- NIDERKORN, V., MARTIN, C., BERNARD, M., LE MORVAN, A., ROCHETTE, Y., BAUMONT, R. (2018). Effect of increasing the proportion of chicory in forage-based diets on intake and digestion by sheep. *Animal*, 1-9.
- NIELSEN, B.K., THAMSBORG, S.M., HANSEN, H., RANVING, H., HOGH-JENSEN, H. (2009). Effects of including chicory in perennial ryegrass-white clover on production and health in organic lambs. *Livestock Science*. 125, 66–73.
- NIEZEN, J.H., WAGHORN, T.S., CHARLESTON, W.A.G., WAGHORN, G.C. (1995). Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) which contains condensed tannins. *Journal of Agricultural Sciences* 125, 281–289.
- NWAFOR, I. C., SHALE, K., ACHILONU, M. C. (2017). Chemical Composition and Nutritive Benefits of Chicory (*Cichorium intybus*) as an Ideal Complementary and/or Alternative Livestock Feed Supplement. *The Scientific World Journal*, article ID 7343928, 11 p.
- PAOLINI V., DORCHIES PH., HOSTE H. (2003). Effects of sainfoin hay on gastrointestinal infection with nematodes in goats. *Veterinary Record* 152, 600-601.

- PEÑA-ESPINOZA, M., WILLIAMS A.R., THAMSBORG S.M., SIMONSEN, H.T., ENEMARK H. L. (2017) Anthelmintic effects of forage chicory (*Cichorium intybus*) against free-living and parasitic stages of *Cooperia oncophora* *Veterinary Parasitology*, 243, 204-207
- PEÑA ESPINOZA M., VALENTE A., THAMSBORG S.M., SIMONSEN H.T., BOAS U., EINEMARK H.L., LOPEZ-MUNOZ R. WILLIAMS A.R (2018). "Anti parasitic activity of chicory (*Cichorium intybus*) and the role of its natural bioactive compounds: a review." *Parasite & Vectors* ,11, 475.
- PINARES-PATIÑO, C., BAUMONT, R., MARTIN, C. (2003). "Methane emissions by Charolais cows grazing a monospecific pasture of timothy at four stages of maturity." *Canadian Journal of Animal Science*, 83, 769-777.
- QUIJADA J., FRYGANAS C., ROPIAK H. M., RAMSAY A, MUELLER-HARVEY I, HOSTE H. (2015) Anthelmintic activities against *Haemonchus contortus* or *Trichostrongylus colubriformis* are influenced by different structural features of condensed tannins. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 63, 6346-6354.
- QUIJADA J., DRAKE C., GAUDIN E., EL-KORSO R., HOSTE H., MUELLER-HARVEY I. (2018). Pharmacokinetics of condensed tannins along the digestive tract in lambs fed with sainfoin pellets or hazelnut skins. *Journal of Agricultural Food and Chemistry* 66, 2136-2142
- RAMSAY, A., DRAKE, C., GROSSE BRINKHAUS, A., GIRARD, M., COPANI, G., DOHME-MEIER, F., BEE, G., NIDERKORN, V., MUELLER-HARVEY, I. (2015). "Sodium hydroxide enhances extractability and analysis of proanthocyanidins in ensiled sainfoin (*Onobrychis viciifolia*)." *Journal of agricultural and food chemistry*, 63, 9471-9479.
- RODRÍGUEZ, R., SUAZO, C., BALOCCHI, O., ALOMAR, D. (2019). "Milk production and quality from ewes grazing a plantain-chicory mixture or a grass-based permanent sward." *Small Ruminant Research*, 170, 91-96.
- ROPIAK, H. M., LACHMANN, P., RAMSAY, A., GREEN, R. J., MUELLER-HARVEY, I. (2017). "Identification of structural features of condensed tannins that affect protein aggregation." *PloS one*, 12, e0170768.
- SANDERSON, M. A., LABREVEUX, M., HALL, M. H., ELWINGER, G. F. (2003). "Nutritive value of chicory and English plantain forage." *Crop Science*, 43, 1797-1804.
- SCHARENBERG, A., ARRIGO, Y., GUTZWILLER, A., WYSS, U., HESS, H. D., KREUZER, M., DOHME, F. (2007). "Effect of feeding dehydrated and ensiled tanniferous sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on nitrogen and mineral digestion and metabolism of lambs." *Archives of animal nutrition*, 61, 390-405.
- SUN, X., HOSKIN, S., ZHANG, G., MOLANO, G., MUETZEL, S., PINARES-PATIÑO, C., CLARK, H., PACHECO, D. (2012). "Sheep fed forage chicory (*Cichorium intybus*) or perennial ryegrass (*Lolium perenne*) have similar methane emissions." *Animal feed science and technology*, 172, 217-225.
- THEODORIDOU, K., AUFRÈRE, J., ANDUEZA, D., POURRAT, J., LE MORVAN, A., STRINGANO, E., MUELLER-HARVEY, I., BAUMONT, R. (2010). "Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep." *Animal Feed Science and Technology*, 160, 23-38.
- VISSER, F. (1992) "Changes in milk flavour: effect of different feeds." *Proc., Milkfat flavour Forum (ed. New Zealand Dairy Research Institute)*, 36-40.
- WAGHORN, G. (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.
- WAGHORN, G., TAVENDALE, M., WOODFIELD, D. (2002) : "Methanogenesis from forages fed to sheep." *Proc., Proceedings Conference-New Zealand Grassland Association*, 167-172.
- WANG, Y., WAGHORN, G., MCNABB, W., BARRY, T., HEDLEY, M., SHELTON, I. (1996). "Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon the digestion of methionine and cysteine in the small intestine of sheep." *Journal of Agricultural Science*, 127, 413-421.
- WILLIAMS, A.R., FRYGANAS, C., RAMSAY, A., MUELLER-HARVEY, I., THAMSBORG, S.M. (2014). Direct anthelmintic effects of condensed tannins from diverse plant sources against *Ascaris suum*. *PLoS ONE*. 9(5):e97053.doi:10.1371/journal.pone.0097053
- ZELLER, W. E., SULLIVAN, M. L., MUELLER-HARVEY, I., GRABBER, J. H., RAMSAY, A., DRAKE, C., BROWN, R. H. (2015). "Protein precipitation behavior of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Trifolium repens* with different mean degrees of polymerization." *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 1160-1168.

