

## **Etude de l'impact de la fertilisation minérale sur la composition chimique et la teneur en tanins condensés de fourrages issus de prairies à haute valeur biologique**

**Auteur :** Kambire, Sami Joseph

**Promoteur(s) :** Bindelle, Jérôme

**Faculté :** Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

**Diplôme :** Master en bioingénieur : sciences agronomiques, à finalité spécialisée

**Année académique :** 2021-2022

**URI/URL :** <http://hdl.handle.net/2268.2/16580>

---

### *Avertissement à l'attention des usagers :*

*Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.*

*Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.*

---

# ETUDE DE L'IMPACT DE LA FERTILISATION MINERALE SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE ET LA TENEUR EN TANINS CONDENSES DE FOURRAGES ISSUS DE PRAIRIES A HAUTE VALEUR BIOLOGIQUE

KAMBIRE SAMI JOSEPH

TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER  
BIOINGENIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES

ANNEE ACADEMIQUE 2021-2022

PROMOTEUR : JERÔME BINDELLE

© Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech.

Le présent document n'engage que son auteur.

# ETUDE DE L'IMPACT DE LA FERTILISATION MINERALE SUR LA COMPOSITION CHIMIQUE ET LA TENEUR EN TANINS CONDENSES DE FOURRAGES ISSUS DE PRAIRIES A HAUTE VALEUR BIOLOGIQUE

KAMBIRE SAMI JOSEPH

TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER  
BIOINGENIEUR EN SCIENCES AGRONOMIQUES

ANNEE ACADEMIQUE 2021-2022

PROMOTEUR : JERÔME BINDELLE

Unité de Zootechnie  
Faculté de Gembloux Agro-Bio Tech  
Université de Liège  
Passage des déportés, 2  
5030 Gembloux  
Belgique



# REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je tiens à dire un grand merci à mon promoteur Prof. Jérôme Bindelle pour avoir cru en moi dès le début et aussi pour sa disponibilité, son soutien, ses conseils et ses critiques qui m'ont permis d'améliorer la qualité de mon travail.

Je remercie également tous les membres de mon jury à savoir MM. Arnaud Monty, Grégory Mahy, Arnaud Farinelle et Julien Piqueray pour l'intérêt qu'ils accordent à mon travail, et pour toutes les réponses et conseils qu'ils m'ont donnés quand j'en avais le plus besoin.

Merci aussi à Sylvie Mabilie pour son aide précieuse lors de mes manipulations en labo et aussi pour ses conseils. Merci également aux autres personnes de l'Unité de Zootechnie de GxABT pour leur sympathie, soutien et conseil.

Merci à ma famille qui m'a toujours soutenu et qui m'encourage à doubler d'effort quand je n'ai plus assez de force pour avancer.

Merci à tous ces amis de classe qui ont toujours répondu présent quand j'avais besoin d'eux et qui ont facilité mon intégration.

Merci à mes amis venus avec moi en Belgique pour des études et qui m'ont permis de vivre une belle expérience.

Merci à tous mes amis et à la communauté d'étudiants africains vivant à la maison Nord-Sud avec qui nous avons constitué une famille et partager des moments inoubliables de pur bonheur.

Merci à toutes ces personnes qui de près ou de loin me soutiennent toujours dans les différentes étapes de ma vie.

# RESUME

La biodiversité des agro-écosystèmes en Europe est en déclin avec l'intensification de l'agriculture et l'abandon des terres. Les mesures agro-environnementales et climatiques (MAEC) représentent aujourd'hui un outil important pour la protection de l'environnement, la conservation des espèces animales et végétales, et le maintien des paysages en zone agricole. Ce travail a eu pour objectif d'étudier un compromis entre les agriculteurs et les écologues à travers la comparaison de deux mesures MAEC (« P3B » qui autorise l'épandage de 50 Kg N/ha et « P4B » qui interdit l'utilisation de toutes matières fertilisantes) pour la préservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique au Grand-Duché de Luxembourg. La problématique de l'étude est par conséquent la suivante : quel est l'impact d'un apport de 50 Kg N/ha sur l'état de conservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique ? Pour répondre à la problématique, une expérience a été conduite dans 21 parcelles appartenant à l'habitat 6510 au Grand-Duché de Luxembourg. Les parcelles ont été subdivisées en deux zones comparables, une fertilisée (ZF) et l'autre non fertilisée (Z0). Dans chaque sous-parcelle, trois points d'échantillonnage (quadrats) ont été identifiés avec leurs coordonnées GPS enregistrées. Les échantillons prélevés dans ces quadrats ont été lyophilisés, puis moulu. Ensuite, ils ont été analysés d'une part par la méthode de spectrométrie proche infrarouge (SPIR) pour déterminer leur composition chimique, et d'autre part par la méthode butanol-HCl pour déterminer leur teneur en tanins condensés. Les résultats montrent que la dose de 50 Kg N/ha ne permet pas d'avoir une variation significative de la composition floristique entre les quadrats fertilisés et ceux non-fertilisés. Cependant, l'application de cette dose de fertilisant et le type de sol permettent d'avoir une variation significative de rendement en biomasse entre les quadrats fertilisés et non fertilisés. 84,22% de la variation du rendement de biomasse est expliquée par l'abondance des espèces végétales, principalement à 27,18% par celle de l'espèce *Poa trivialis*. L'abondance des espèces végétales permet également d'expliquer la variation de la composition chimique et de la teneur en tanins condensés des échantillons respectivement à 96,47% et 88,83%. Dix (10) espèces végétales sur les 92 espèces identifiées dans les quadrats expliquent à elles seules 52,36% de la variation totale de la teneur en tanins condensés entre les échantillons. En conclusion, la mesure P3B qui se traduit par un apport de 50 Kg N/ha peut être conseillée aux agriculteurs pour accroître leur rendement en biomasse sans toutefois impacter l'état de conservation de la biodiversité de leur prairie. Cette étude a porté sur une seule coupe avec une période d'essai relativement courte et sur une région limitée, celle du Grand-Duché de Luxembourg. Étendre l'étude dans d'autres pays partageant les mêmes conditions pédoclimatiques et environnementales que le Grand-Duché de Luxembourg permettra de confirmer les résultats obtenus et de les approfondir sur d'autres aspects.

**Mots clés :** Biodiversité, prairies, haute valeur biologique, tanins condensés, fertilisation, conservation.

# ABSTRACT

The biodiversity of agro-ecosystems in Europe is declining with the intensification of agriculture and the abandonment of land. Agro-environmental and climate measures (MAEC) are nowadays an important tool for environmental protection, conservation of animal and plant species, and maintenance of landscapes in agricultural areas. The objective of this study was to investigate a compromise between farmers and ecologists through the comparison of two MAEC measures ("P3B", which authorises the application of 50 kg N/ha, and "P4B", which prohibits the use of all fertilising materials) for the preservation of biodiversity in high biological value grasslands in the Grand Duchy of Luxembourg. The problem of the study is therefore the following: what is the impact of a 50 kg N/ha input on the conservation status of biodiversity in high biological value grasslands? To answer this question, an experiment was carried out on 21 plots belonging to habitat 6510 in the Grand Duchy of Luxembourg. The plots were subdivided into two comparable zones, one fertilised (ZF) and the other unfertilised (Z0). In each sub-plot, three sampling points (quadrats) were identified with their GPS coordinates recorded. The samples taken from these quadrats were freeze-dried and then ground. They were then analysed by the near infrared spectrometry (NIRS) method to determine their chemical composition, and by the butanol-HCl method to determine their condensed tannin content. The results show that the dose of 50 kg N/ha does not allow a significant variation in the floristic composition between the fertilized and non-fertilized quadrats. However, the application of this dose of fertiliser and the type of soil allowed a significant variation in biomass yield between the fertilised and non-fertilised quadrats. 84.22% of the variation in biomass yield is explained by the abundance of plant species, mainly 27.18% by the abundance of *Poa trivialis* species. The abundance of plant species also explains 96.47% and 88.83% of the variation in chemical composition and condensed tannin content of the samples respectively. Ten (10) plant species out of the 92 species identified in the quadrats explain 52.36% of the total variation in condensed tannin content between samples. In conclusion, the P3B measure, which results in an input of 50 kg N/ha, can be recommended to farmers to increase their biomass yield without impacting the conservation status of the biodiversity of their grassland. This study focused on a single cutting with a relatively short trial period and a limited region, that of the Grand Duchy of Luxembourg. Extending the study to other countries sharing the same soil-climate and environmental conditions as the Grand Duchy of Luxembourg will make it possible to confirm the results obtained and to deepen them on other aspects.

**Key words:** Biodiversity, grasslands, high biological value, condensed tannins, fertilization, conservation.



# TABLE DES MATIERES

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>PRAIRIES À HAUTE VALEUR BIOLOGIQUE .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>MESURES AGROENVIRONNEMENTALES DANS LE GRAND-DUCHÉ DE LUXEMBOURG .....</b>	<b>2</b>
3.1	La mesure P3B .....	3
3.2	La mesure P4B .....	3
<b>4</b>	<b>FERTILISATION DES PRAIRIES.....</b>	<b>4</b>
4.1	Fertilisation organique des prairies.....	4
4.1.1	Matières organiques à action rapide.....	4
4.1.2	Matières organiques à action lente.....	5
4.2	Fertilisation minérale des prairies.....	5
4.3	Effet de la fertilisation azotée sur la production fourragère.....	6
4.4	Effet de la fertilisation azotée sur la valeur nutritive du fourrage.....	6
4.5	Effet de la fertilisation azotée sur les performances animales .....	7
<b>5</b>	<b>LES TANINS .....</b>	<b>7</b>
5.1	Description et structure des tanins .....	7
5.2	Les tanins condensés.....	8
5.2.1	Méthodes de quantification des tanins condensés.....	9
5.2.2	Effets des tanins condensés dans l'alimentation animale .....	9
<b>6</b>	<b>OBJECTIFS.....</b>	<b>13</b>
<b>7</b>	<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>14</b>
7.1	Site de l'étude.....	14
7.2	Choix des parcelles expérimentales .....	14
7.3	Matériel d'étude.....	15
7.4	Méthodologie appliquée .....	15
7.4.1	Echantillonnage .....	15
7.4.2	Caractérisation de la composition floristique .....	15
7.4.3	Détermination de la composition chimique du fourrage par SPIR.....	16
7.4.4	Préparation des échantillons pour les analyses de tanins .....	17
7.4.5	Détermination de la matière sèche analytique (%MSa), la teneur en cendres totales (%CT) et la teneur en matière organique (%MO) des échantillons .....	17
7.4.6	Quantification des tanins dans le fourrage .....	19
7.4.6.1	Dosage des phénols totaux .....	19

7.4.6.2	Dosage des composés phénoliques non-tanniques .....	19
7.4.6.3	Dosage des tanins condensés.....	20
7.5	Analyses statistiques .....	21
7.5.1	Facteurs influençant la richesse spécifique et la composition floristique des quadrats.....	21
7.5.2	Facteurs influençant le rendement des quadrats .....	22
7.5.3	Effet de l'abondance des espèces végétales sur la composition chimique des échantillons .....	22
7.5.4	Facteurs influençant la teneur en tanins condensés des échantillons.....	23
<b>8</b>	<b>RESULTATS .....</b>	<b>23</b>
8.1	Facteurs influençant la richesse spécifique et la composition floristique des quadrats .....	23
8.1.1	Effet du traitement et du sol sur la richesse spécifique des quadrats .....	23
8.1.2	Effet du traitement et du type de sol sur la composition floristique des quadrats .....	24
8.2	Facteurs influençant le rendement des quadrats .....	26
8.2.1	Effet du traitement et du type de sol sur le rendement .....	26
8.2.2	Effet des espèces végétales sur le rendement .....	27
8.3	Effet de l'abondance des espèces végétales sur la composition chimique des échantillons .....	29
8.4	Facteurs influençant la teneur en tanins condensés des échantillons.....	31
8.4.1	Effet du traitement et du type de sol sur la teneur en tanins condensés des différents échantillons .....	31
8.4.2	Effet des espèces végétales sur la teneur en tanins condensés des différents échantillons .....	32
<b>9</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>34</b>
9.1	Facteurs influençant la richesse spécifique et la composition floristique des quadrats .....	34
9.2	Facteurs influençant le rendement des quadrats .....	35
9.3	Effet de l'abondance des espèces végétales sur la composition chimique des échantillons : ...	35
9.4	Facteurs influençant la teneur en tanins condensés des échantillons.....	36
<b>10</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>38</b>
<b>11</b>	<b>PERSPECTIVES.....</b>	<b>39</b>
<b>12</b>	<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>40</b>

# LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structure chimique des tanins (source : Mc Sweeny et al., 2001) .....	8
Figure 2: Structure biochimique des tanins condensés (source: Aufrere et al., 2012) .....	8
Figure 3: Schéma des principaux effets des tanins condensés (Patra et Saxena, 2011) .....	11
Figure 4: Dépigmentation des échantillons.....	17
Figure 5: Séchage et refroidissement des échantillons.....	18
Figure 6: Echantillons calcinés.....	19
Figure 7: Dosage des tanins condensés.....	21
Figure 8: Projection des espèces et des quadrats dans le plan NMDS1-NMDS2 .....	24
Figure 9: Projection des quadrats dans le plan NMDS1-NMDS2 en fonction du traitement et du type de sol .....	25
Figure 10: Projection de l'espèce significative expliquant la variation de rendement .....	28
Figure 11: Projection des espèces significatives et des composants chimiques dans le plan RDA1-RDA2 .....	30

# LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition moyenne des engrais de ferme à action rapide (Knoden et al., 2007) .....	5
Tableau II: Composition moyenne des engrais de ferme à action lente (Knoden et al., 2007) .....	5
Tableau III: Coefficient de recouvrement d'abondance-dominance .....	16
Tableau IV: Données de base utilisées par les laboratoires du réseau Requasud pour les analyses des fourrages par SPIR .....	16
Tableau V: Richesse spécifique moyenne des quadrats et analyse de la variance en fonction du traitement et du type de sol .....	24
Tableau VI: Test ANOSIM de significativité des groupes.....	25
Tableau VII: Espèces différenciant les différents types de sol .....	26
Tableau VIII: Contribution des espèces différenciant les différents types de sol à la biomasse totale de ces sols.....	26
Tableau IX: Rendement moyen des quadrats en fonction du traitement et du type de sol et analyse de la variance à deux critères de classification .....	27
Tableau X: Effet de l'abondance des espèces sur le rendement des quadrats.....	27
Tableau XI: Espèce végétale significative dans la variation des rendements .....	27
Tableau XII: Significativité global de l'ACR sur le rendement à partir de l'espèce sélectionnée .....	28
Tableau XIII: Résultat de l'analyse canonique de redondance (ACR).....	29
Tableau XIV: Significativité global de l'ACR sur la composition chimique des échantillons à partir des espèces sélectionnées .....	29
Tableau XV: Synthèse de la composition chimique des échantillons.....	30
Tableau XVI: Synthèse de la composition chimique des échantillons.....	31
Tableau XVII: Synthèse de la teneur en minéraux des échantillons .....	31
Tableau XVIII: Moyenne de tanins condensés dans les échantillons en fonction du traitement et du type de sol .....	32
Tableau XIX: Résultat de la RDA sur la variation des TC en fonction de l'abondance des différentes espèces végétales.....	33
Tableau XX: Espèces significatives dans la variation de la teneur en tanins condensés des différents échantillons .....	33
Tableau XXI: Résultat de l'ACR avec les variables significatives.....	33

# LISTE DES ABREVIATIONS

ADF	Acid detergent fiber
ADL	Acid detergent lignin
CB	Cellulose brute
CEPA	Centre d'Essais des Productions Animales
CT	Cendres totales
dMO	Digestibilité de la matière organique
GPS	Global positioning system
MA	Marneux acide
MAT	Matières azotées totales
MB	Marneux basiques
MO	Matière organique
MS	Matières sèches
MSa	Matière sèche analytique
NDF	Neutral detergent fiber
PDI	Protéines digestibles dans l'intestin
PEG	Polyéthylène glycol
PVP	Polyvinylpyrrolidone
SFV	Sableux, fond de vallée
SGA	Schisto-gréseux acide
SPIR	Spectrométrie dans le proche infrarouge
TC	Tanins condensés
UFL	Unité fourragère lait

# 1 INTRODUCTION

Les prairies ont contribué considérablement à la conservation de la biodiversité dans les paysages ruraux en Europe (Nösberger & Rodriguez, 1996). Dans ces milieux semi-naturels, de nombreuses espèces animales et végétales se sont adaptées et ont évolué avec les pratiques agricoles traditionnelles extensives. Les prairies semi-naturelles comportent une importante richesse spécifique, avec des espèces endémiques à ces milieux (Schüpbach *et al.*, 2004).

Aujourd'hui, avec l'intensification de l'agriculture, l'Homme utilise des pratiques agricoles telles que le labour ou la fertilisation qui contribuent à la perte de la biodiversité. L'Homme par ses actions sur l'environnement a causé la disparition de nombreuses espèces à travers la perte, la fragmentation et la conversion des habitats (Foley *et al.*, 2011 ; Batary *et al.*, 2015).

En 2019, la surface en prairies permanentes en Europe était estimée à plus de 62 millions ha, soit environ 34% de la SAU. Au Grand-Duché du Luxembourg, on enregistrait plus de 68.000 ha de prairies permanentes, soit environ 51% de la SAU (Eurostat, 2020). Le maintien de ces prairies extensives encore existantes est nécessaire pour la survie des espèces adaptées aux conditions locales (Coudrain *et al.*, 2010).

La protection des prairies permanentes est devenue une priorité dans tous les Etats membres de l'Union européenne et les mesures agro-environnementales et climatiques (MAEC) constituent aujourd'hui un outil important pour la protection de la biodiversité dans ces milieux agricoles (Batary *et al.*, 2015).

Les agriculteurs disposant de prairies MAEC sont contraints de réduire ou même d'arrêter l'usage d'intrants dans les prairies pour protéger la biodiversité (Minns *et al.*, 2001). Par exemple, dans les prairies à haute valeur biologique, aucun apport de fumure n'est autorisé et aucune exploitation n'est acceptée avant le 15 juillet (Decruyenaere *et al.*, 2009).

Si ces mesures sont contraignantes pour les agriculteurs, les écologues eux y sont plutôt favorables car ils estiment que ces pratiques sont nécessaires pour la restauration de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique et pour le maintien des services écosystémiques qu'elles fournissent à la production agricole (Minns *et al.*, 2001).

C'est dans ce contexte que s'inscrit le présent travail qui cherche à étudier un compromis entre les agriculteurs et les écologues à travers la comparaison de deux mesures MAEC pour la préservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique au Grand-Duché du Luxembourg. D'une part, la mesure « P3B » qui autorise l'épandage de 50 Kg N/ha et d'autre part, la mesure « P4B » qui interdit tout usage de matières fertilisantes. Cette étude consistera essentiellement à étudier l'impact de l'apport 50 kg N/ha sur la préservation de la biodiversité dans ces prairies. L'étude s'oriente autour de trois axes principaux : étudier l'impact de l'apport de 50 Kg N/ha sur la composition floristique des prairies, la composition chimique du fourrage produit et la teneur en tanin condensé du fourrage.

## 2 PRAIRIES A HAUTE VALEUR BIOLOGIQUE

Les prairies à haute valeur biologique sont des milieux naturels présentant un grand intérêt pour la conservation et la protection de la biodiversité en milieu agricole. La préservation des habitats et la protection des espèces menacées et/ou protégées dans ces prairies contribuent à la conservation de la biodiversité floristique et faunique. Comme expliqué par Rouxhet *et al.* (2007), le maintien des prairies à haute valeur biologique dans le milieu agricole permet de conserver les paysages traditionnels à travers la présence des prairies extensives et fleuries, des parcelles de petite taille, des arbres isolés, des buissons, des bosquets, des haies et des mares. La gestion des prairies de haute valeur biologique permet également de diminuer les risques de pollution des eaux par la réduction de l'utilisation des fertilisants et des pesticides.

## 3 MESURES AGROENVIRONNEMENTALES DANS LE GRAND-DUCHE DE LUXEMBOURG

L'accent particulier qui est mis sur le Grand-Duché du Luxembourg dans cette partie du travail s'explique par le fait que ce pays constitue le site de cette étude.

L'intensification de l'agriculture et les monocultures sylvicoles sont les principales responsables de la perte de biodiversité dans le Grand-Duché de Luxembourg. Les anciennes exploitations agricoles extensives ont pratiquement toutes disparu au profit des exploitations plus grandes utilisant des pratiques intensives telles qu'une charge de bétail et des fréquences de coupe élevées, des dates de coupe précoces et une fertilisation élevée (Anon., 2018). L'état de conservation de certaines espèces et de leurs habitats naturels est préoccupant. Il constitue de grands défis pour la protection de l'environnement. En effet, 82% des espèces de la directive « Oiseaux » et 68% des habitats naturels de la directive « Habitats » sont dans des états de conservation non-favorable. Aussi, il faut noter que 2/3 des eaux souterraines sont polluées par des nitrates et des pesticides (Anon., 2019). Le gouvernement du Grand-Duché de Luxembourg a mis en place des mesures agroenvironnementales et climatiques (MAEC) qui visent à optimiser l'agriculture dans les zones à grand intérêt environnemental afin de lutter efficacement contre la perte de biodiversité. Ces mesures minimisent les pertes de nitrates, participent à la conservation et à l'amélioration de la qualité des eaux souterraines et de surface, et aussi à la réduction des émissions des gaz à effet de serre. Les MAEC servent d'outils pour l'extensification de l'agriculture dans les zones telles que les zones Natura 2000, les zones de protection des eaux et les zones de protection nationale. L'un des objectifs principaux du gouvernement pour l'année 2021 était de rétablir au moins 15% des habitats et biotopes dégradés, et aussi d'en créer 1900 ha sur les 132.140 ha de SAU que compte le pays, soit 1,4% de sa SAU. Aujourd'hui, les surfaces à haute valeur naturelle sont en progression grâce à l'augmentation des agriculteurs ayant adhéré aux mesures MAEC (Anon., 2018).

Les mesures MAEC mises en place sont :

- amélioration des techniques d'épandage ;
- bandes enherbées ;
- bordures des cours d'eau ;
- création de bordures extensives sur des labours ;
- diversification des cultures champêtres ;
- entretien des haies sur et en bordure des champs ;
- extensification de la fertilisation et de l'utilisation des prairies ;
- prime de mise en prairie de vaches laitières en lactation ;
- prévention de l'érosion et de lessivage de nitrates ;
- renonciation à l'emploi des produits phytopharmaceutiques ;
- réduction des fertilisants azotés dans certaines cultures arables.

Dans le cadre du présent mémoire, nous nous intéresserons aux mesures relatives à l'extensification de la fertilisation et de l'utilisation des prairies, mais plus particulièrement aux mesures P3B et P4B.

### 3.1 La mesure P3B

La mesure P3B est une mesure agroenvironnementale et climatique visant l'extensification de la fertilisation et de l'utilisation des prairies. Les zones éligibles à cette mesure sont les zones de protection des eaux, les zones de protection de la nature et d'intérêt écologique particulier (zones habitats, les vallons étroits, les prairies mésophiles, humides et sèches). L'adoption de la mesure P3B impose de fortes contraintes aux agriculteurs, notamment la limitation de l'utilisation de la fumure organique et la fertilisation minérale à respectivement 85 N kg/ha et 50 N kg/ha, et l'interdiction de faucher ou de faire pâturer la parcelle avant le 15 juin. Le respect de ces contraintes offre aux agriculteurs une rémunération pour récompenser leur effort à la préservation de l'environnement, mais aussi pour les biens et services environnementaux qu'ils fournissent à la société. Les agriculteurs reçoivent une subvention de 275 euros/ha pour compenser la baisse de rendement liée à la réduction de la fertilisation des prairies et des pâturages. Un supplément facultatif de 25 euros/ha peut être accordé pour les zones situées à une distance de moins de 200 m des cours d'eau et dans les zones inondables. Pour les pâturages situés dans les vallons étroits et sur des pentes arides à moins de 300 m de cours d'eau, l'agriculteur reçoit une aide supplémentaire de 75 euros/ha. Cette aide supplémentaire n'est pas cumulable avec le supplément facultatif (Anon., 2018).

### 3.2 La mesure P4B

La mesure P4B est une mesure agroenvironnementale et climatique qui vise l'extensification de la fertilisation et de l'utilisation des prairies. Les zones présentant un grand intérêt pour la conservation telles que les zones de protection des eaux, les zones de protection de la nature, les zones d'intérêt écologique particulier (zones habitats, les vallons étroits, les prairies mésophiles, humides et sèches) sont les zones éligibles à cette mesure. L'adoption de la mesure P4B est



beaucoup plus contraignante pour les agriculteurs que la mesure P3B. La mesure P4B interdit l'utilisation de la fumure organique et la fertilisation minérale, le fauchage ou le pâturage de la parcelle avant le 15 juin. Le respect de ces contraintes offre aux agriculteurs une subvention pour récompenser leurs efforts à la préservation de l'environnement, mais aussi pour les biens et services environnementaux qu'ils fournissent à la société. Les agriculteurs reçoivent une prime de 325 euros/ha pour compenser la baisse de rendement liée à la réduction de la fertilisation des prairies et des pâturages. Comme pour la mesure P3B, des suppléments de 25 euros/ha ou de 75 euros/ha peuvent être accordés aux mêmes conditions (Anon., 2018).

Au vue des conditions qui s'appliquent aux mesures P3B et P4B, la problématique de cette étude est donc de savoir laquelle de ces deux mesures contribue au mieux à la préservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique.

## 4 FERTILISATION DES PRAIRIES

La fertilisation des prairies est une pratique agricole consistant à apporter des engrais organiques ou minéraux pour répondre aux besoins des plantes et compenser les exportations des éléments (Knoden *et al.*, 2007). Ces apports ont pour objectif d'accroître la production et la qualité des fourrages afin d'améliorer leur utilisation par les ruminants et ainsi réduire les apports en supplément alimentaire (Barnes *et al.*, 2007).

### 4.1 Fertilisation organique des prairies

La fertilisation organique des prairies consiste à apporter des matières organiques (fumier, lisier, compost, fientes, purins, etc.) pour combler les besoins de la prairie en éléments nutritifs. Ce type de fertilisant doit être la base des apports. En fonction du moment (implantation, développement ou maturation) où la plante exprime des besoins pour des éléments nutritifs particuliers, l'agriculteur va opter soit pour des matières organiques à action rapide ou pour des matières organiques à action lente (Knoden *et al.*, 2007).

#### 4.1.1 Matières organiques à action rapide

Les matières organiques à action rapide sont des fertilisants constitués majoritairement de minéraux solubles ou facilement solubilisables et qui favorisent une activité biologique intense dans les sols (Petit, J., & Jobin, P., 2005). Les fertilisants appartenant à ce groupe sont entre autres les lisiers, les fientes, les fumiers de volailles, les purins (Knoden *et al.*, 2007). Le tableau I présente la composition moyenne de ces matières organiques en azote et autres éléments majeurs.

**Tableau I: Composition moyenne des engrais de ferme à action rapide (Knoden *et al.*, 2007)**

Types d'engrais	%MS	pH	Eléments majeurs (Kg/t)				
			N tot	P2O5	K2O	CaO	MgO
Lisier de bovins	12	7	4,4	2,5	6	2,4	0,7
Lisier de porcs	8	7,6	6	6	3	3,5	0,8
Fientes de volailles	26	7,1	15	10,4	7,2	40,5	3
Fumier de volailles	58	6,8	26,7	21,5	21,5	14,5	3,7
Purin de bovins	3	-	2,4	0,2	5,5	-	-

NB : Ces données ne sont pas des valeurs absolues car elles peuvent varier en fonction de la saison, du type de sol, la fertilisation, les cultivars, les modes d'échantillonnage, les techniques d'analyse.

#### 4.1.2 Matières organiques à action lente

Les matières organiques à action lente sont des fertilisants qui produisent des activités biologiques moins intenses et qui libèrent l'azote sur le long terme (Petit, J., & Jobin, P., 2005). Les différents types de fumiers en dehors des fumiers de volailles et les composts appartiennent à ce groupe de fertilisants (Knoden *et al.*, 2007). Le tableau II donne la composition moyenne de quelques fertilisants à action lente.

**Tableau II: Composition moyenne des engrais de ferme à action lente (Knoden *et al.*, 2007)**

Types d'engrais	%MS	pH	Eléments majeurs (Kg/t)				
			N tot	P2O5	K2O	CaO	MgO
Fumier de bovins	24	7,3	5,9	3,7	4	2,5	1,5
Fumier d'ovins	30	8,1	6,7	4,2	11,2	11,2	1,4
Fumier de porcs	21	-	6	6	4	6	2,5
Fumier de caprins	48	-	6,1	5,2	5,7	-	-
Fumier de chevaux	54	-	8,2	3,2	3,2	-	2
Compost de fumier de bovins	23,8	-	6,1	6,8	4	16,3	2,7

NB : Ces données ne sont pas des valeurs absolues car elles peuvent varier en fonction de la saison, du type de sol, la fertilisation, les cultivars, les modes d'échantillonnage, les techniques d'analyse.

## 4.2 Fertilisation minérale des prairies

Selon les objectifs de production et le mode gestion des prairies (pâturage ou fauche), les agriculteurs ont recours à des engrais minéraux pour compenser les pertes d'éléments par les exportations. Les apports sont le plus souvent azotés du fait que l'azote est l'élément majeur le plus limitant. La plupart des sols contiennent entre 0,03% et 0,4% d'azote total (Barnes *et al.*, 2007). Cependant, les apports azotés doivent être raisonnés en tenant compte des besoins des plantes mais aussi des différents apports par la minéralisation de la matière organique, les restitutions au pâturage, les légumineuses et les engrais organiques. Un apport excessif de fertilisants azotés peut être toxique pour la plante, polluant pour l'environnement et aussi causer une acidification du sol (Barnes *et al.*, 2007). De façon générale, le raisonnement de la fertilisation azotée minérale pour les prairies de fauche ainsi que de pâtures suit la formule suivante (Knoden *et al.*, 2007) : 
$$N_{compl} = \frac{N_{exp}}{CUA} - \left( \frac{N_0}{CUA} + N_{rest} + N_{lég} + N_{org} * C \right)$$

Ncompl.= Azote complémentaire à apporter par l'engrais minéral

Nexp= Azote exporté par la production de la prairie. Cette valeur représente les besoins en azote selon le mode d'exploitation

CUA= Coefficient d'utilisation apparent

N0= Azote fourni par la minéralisation de la matière organique du sol

Nrest= Azote restitué par les déjections animales au pâturage

Nlég= Azote fourni par les légumineuses

Norg= Azote fourni par les engrais de ferme

C= Coefficient d'équivalence de l'azote des engrais de ferme

### 4.3 Effet de la fertilisation azotée sur la production fourragère

La fertilisation minérale azotée des prairies permet d'une part d'optimiser le rendement fourrager, et d'autre part de réduire le temps nécessaire pour la production de la biomasse (Delaby, 2000). Ainsi, elle permet d'augmenter la capacité de charge de la prairie (Vasques *et al.*, 2019). Cependant, la réduction de la fertilisation azotée dans les prairies conduit à une réduction du chargement et une nécessité d'accroître la surface en herbe disponible (Delaby, 2000). La fertilisation azotée des prairies permet également d'accroître la teneur en azote dans la plante, facteur important de l'équilibre entre la croissance et la sénescence des feuilles (Cohen *et al.*, 2015 ; Duarte *et al.*, 2020). La fertilisation azotée favorise une croissance rapide de la végétation. Cela permet d'augmenter le nombre de cycles de coupe dans l'année et de réduire le temps nécessaire pour la repousse de l'herbe (Oliveira *et al.*, 2020). Pour produire 2t MO/ha avec des apports azotés de 50 et 100 Kg N/ha dans les prairies, Peyraud & Astigarraga (1998) ont observé chez les plantes fertilisées une réduction de 14 et 28 jours respectivement pour ces deux doses par rapport aux plantes non fertilisées. Selon Holmes (1968), la réponse des plantes à la fertilisation azotée reste linéaire jusqu'à 450 kg d'azote par hectare et par an. Delaby (2000) a observé qu'au-delà de cette quantité, la réponse de la plante atteint un plateau. Toutefois, ce seuil plateau semble plus élevé pour les fourrages tropicaux (Vicente-Chandler *et al.*, 1959 ; Johnson *et al.*, 2001).

### 4.4 Effet de la fertilisation azotée sur la valeur nutritive du fourrage

La fertilisation azotée des prairies est un facteur qui influence la composition chimique de l'herbe produite, par conséquent sa valeur alimentaire notamment sa valeur nutritive. Elle agit sur la digestibilité, l'UFL, le PDI et la teneur en minéraux de l'herbe (Demarquilly, 1970 et 1977). La fertilisation azotée agit également sur l'ingestibilité de l'herbe par les ruminants. D'une part, l'ingestion de l'herbe peut être réduite par une faible teneur en matière sèche dans la plante due à une forte dose d'azote (Van Vuuren *et al.*, 1992). D'autre part, l'ingestion peut être réduite par une faible teneur de l'herbe en protéine due à une importante réduction d'apport azoté (Peyraud & Astigarraga, 1998 ; Delagarde *et al.*, 1999). L'accroissement des apports azotés dans la prairie entraîne une augmentation de la teneur en protéine brute dans les plantes. Cependant, la teneur en fibre diminue avec les apports azotés et ceci a pour avantage d'augmenter la digestibilité de la matière sèche, de la matière organique et des fibres (Campos *et al.*, 2016). Par ailleurs, les fourrages peu fertilisés ont une faible digestibilité apparente des protéines et une faible teneur en protéines digestibles (Blaser, 1964 ; Demarquilly, 1977). En ce qui concerne les sucres solubles

des plantes, ils suivent évolution inverse à la teneur en protéine sous l'effet des apports azotés (Delaby, 2000).

#### 4.5 Effet de la fertilisation azotée sur les performances animales

Une réduction de la fertilisation azotée dans les prairies peut conduire à une baisse de la productivité individuelle des animaux, en rapport avec la quantité et la qualité de l'herbe produite (Delaby, 2000). Cependant, la productivité individuelle pourrait être maintenue avec un accroissement des surfaces en herbe disponible. Dans tous les cas, une réduction de la productivité par hectare sera observée (Delaby, 2000). La consommation par les animaux de fourrage peu fertilisé a pour conséquence une réduction de la quantité d'azote excrétée dans l'urine et une faible diminution de la quantité d'azote excrétée dans les matières fécales (Peyraud & Astigarraga, 1998).

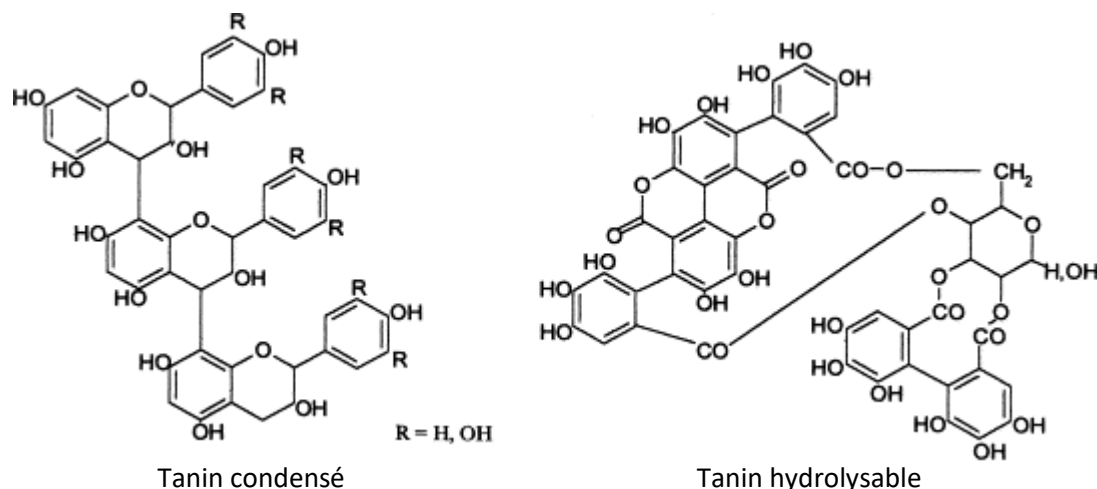
### 5 LES TANINS

La présence de composés chimiques tels que les tanins dans le fourrage représente un atout pour la valorisation de ce fourrage tant au niveau de la nutrition que de la santé animale (Aufrère *et al.*, 2012). Dans le cadre de ce travail, nous nous intéresserons particulièrement aux tanins et à leurs effets dans l'alimentation animale.

#### 5.1 Description et structure des tanins

Les tanins font partie des métabolites secondaires des plantes, c'est-à-dire des composés phytochimiques qui ne participent pas directement aux fonctions vitales de base (croissance, division cellulaire, respiration, photosynthèse, reproduction). Ils sont le groupe majoritaire des métabolites secondaires et représentent entre 5% à 10% de la matière sèche des feuilles des arbres (Barbehenn & Constabel, 2011). Les tanins sont des composés phénoliques. Grâce à la présence des groupements hydroxyles, à la bonne flexibilité de leur structure, et aussi avec leur poids moléculaire élevé, les tanins ont la capacité de former des complexes réversibles et irréversibles avec d'autres composés chimiques. Les tanins forment des complexes avec principalement les protéines. Cependant, les tanins forment aussi des complexes avec des polysaccharides, des alcaloïdes, des acides nucléiques et des minéraux (Makkar, 2003 ; Frutos *et al.*, 2004). Les tanins sont un groupe hétérogène de composés phénoliques (Frutos *et al.*, 2004). En tenant compte des différences dans la structure chimique des tanins, on peut les classer en deux grands groupes : les tanins condensés et les tanins hydrolysables (Figure 1). Les tanins hydrolysables sont des polyesters d'acide gallique ou d'acide ellagique et d'hydrate de carbone, généralement D-glucose. Les tanins hydrolysables sont responsables des propriétés toxiques des tanins et sont principalement trouvés dans les gousses des fruits et les galles des plantes (Min *et al.*, 2003). En ce qui concerne les tanins condensés ou proanthocyanidines, ce sont des polymères de flavonoïdes localisés dans les vacuoles des cellules des plantes qui en contiennent (Min *et al.*, 2003). Les tanins hydrolysables sont un type de tanins qu'on retrouve rarement dans les fourrages, mais ils sont souvent rencontrés dans les feuilles des arbres et arbustes des milieux tropicaux (Min *et al.*, 2003). De ce fait, une attention particulière sera portée sur les tanins

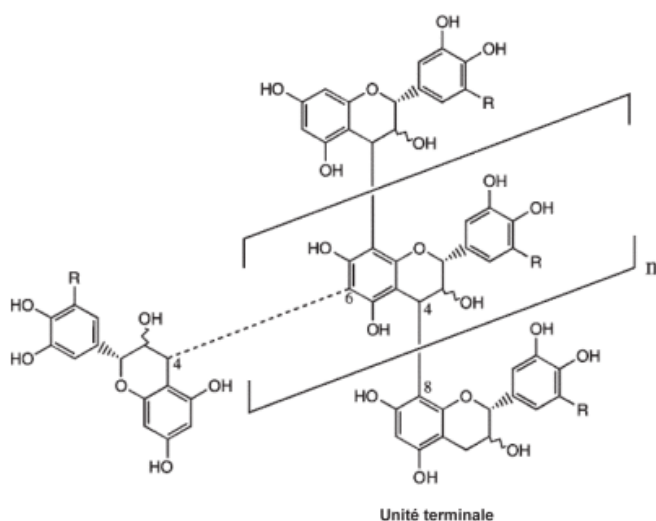
condensés dans la suite de ce travail qui s'intéresse à la valeur alimentaire de fourrage prélevés dans des prairies à haute valeur biologique.



**Figure 1: Structure chimique des tanins (source : Mc Sweeny et al., 2001)**

## 5.2 Les tanins condensés

Les tanins condensés ou proanthocyanidines sont des polymères de flavan-3-ols (catéchine et épicatechine) liés par des liaisons C-C. Les tanins condensés les plus abondants sont les procyanidines et les prodelphynidines. Ces deux groupes de tanins condensés sont obtenus respectivement en remplaçant les groupements R au niveau des monomères dans la structure des tanins condensés par de l'hydrogène (H) et de l'hydroxyde (OH) (Aufrère *et al.*, 2012). La figure 2 montre qu'il est possible d'avoir des liaisons C4-C8 ou C4-C6 entre les monomères. Ces liaisons modifient la chaîne de polymères.



**Figure 2: Structure biochimique des tanins condensés (source: Aufrère *et al.*, 2012)**

Chez les plantes contenant des tanins condensés, les tanins peuvent être rencontrés dans toutes les parties de la plante. Ils se retrouvent dans les vacuoles des feuilles, des tiges, des racines, des fleurs et des enveloppes des graines. Cependant, c'est dans les feuilles que les tanins condensés sont plus abondants (Aufrère *et al.*, 2012). La production de tanins condensés chez les plantes peut être induite par des facteurs exogènes tels que la prédation, le stress thermique, le stress hydrique, la qualité du sol et l'intensité lumineuse (Barbehenn & Constabel, 2011 ; Frutos *et al.*, 2004). Les tanins condensés participent aux interactions entre la plante et son environnement, par exemple, en les protégeant contre les rayons ultra-violets, la sécheresse et les prédateurs naturels (Waghorn, 2008 ; Aufrère *et al.*, 2012).

### 5.2.1 Méthodes de quantification des tanins condensés

La mesure des tanins condensés est rendue difficile par la grande variabilité de leur structure. Le dosage des tanins condensés est principalement réalisé par les méthodes colorimétriques ou les méthodes basées sur la précipitation des protéines. Au niveau des méthodes colorimétriques utilisées, on trouve la méthode du butanol-HCl (Porter *et al.*, 1986 ; Terrill *et al.*, 1992) et de la méthode à la vanilline (Broadhurst & Jones, 1978 ; Terrill *et al.*, 1992). Quant aux méthodes basées sur la précipitation des protéines, il s'agit de la méthode de diffusion radiale de Hagerman (1987). La méthode de dosage des tanins condensés à la vanilline est moins spécifique que la méthode avec le butanol-HCl. La méthode de diffusion radiale est plus adaptée pour la détermination de l'activité biologique. De ce fait, la détermination de la teneur en tanins condensés des plantes par la méthode de diffusion radiale reste moins précise que celle des méthodes colorimétriques. Ces méthodes de dosage des tanins condensés dosent différentes entités et nécessitent un standard. Le manque de standard approprié et la non spécificité de ces méthodes de dosage les rendent imparfaites. La méthode par la thiolysé décrite par Gea *et al.* (2011) est une méthode plus spécifique qui permet non seulement de mesurer la teneur en tanins condensés des plantes, mais aussi d'avoir des informations sur la structure de ces tanins. Cependant, la méthode par la thiolysé n'est pas encore adaptée à tous les types de fourrage, par exemple aux ensilages. La teneur en tanins condensés d'une plante et la capacité de ces tanins à se fixer aux protéines, c'est-à-dire leur activité biologique dépendent de plusieurs facteurs tels que l'espèce de la plante, son stade de développement, son mode de conservation, son environnement et aussi la méthode de dosage utilisée (Aufrère *et al.*, 2012).

### 5.2.2 Effets des tanins condensés dans l'alimentation animale

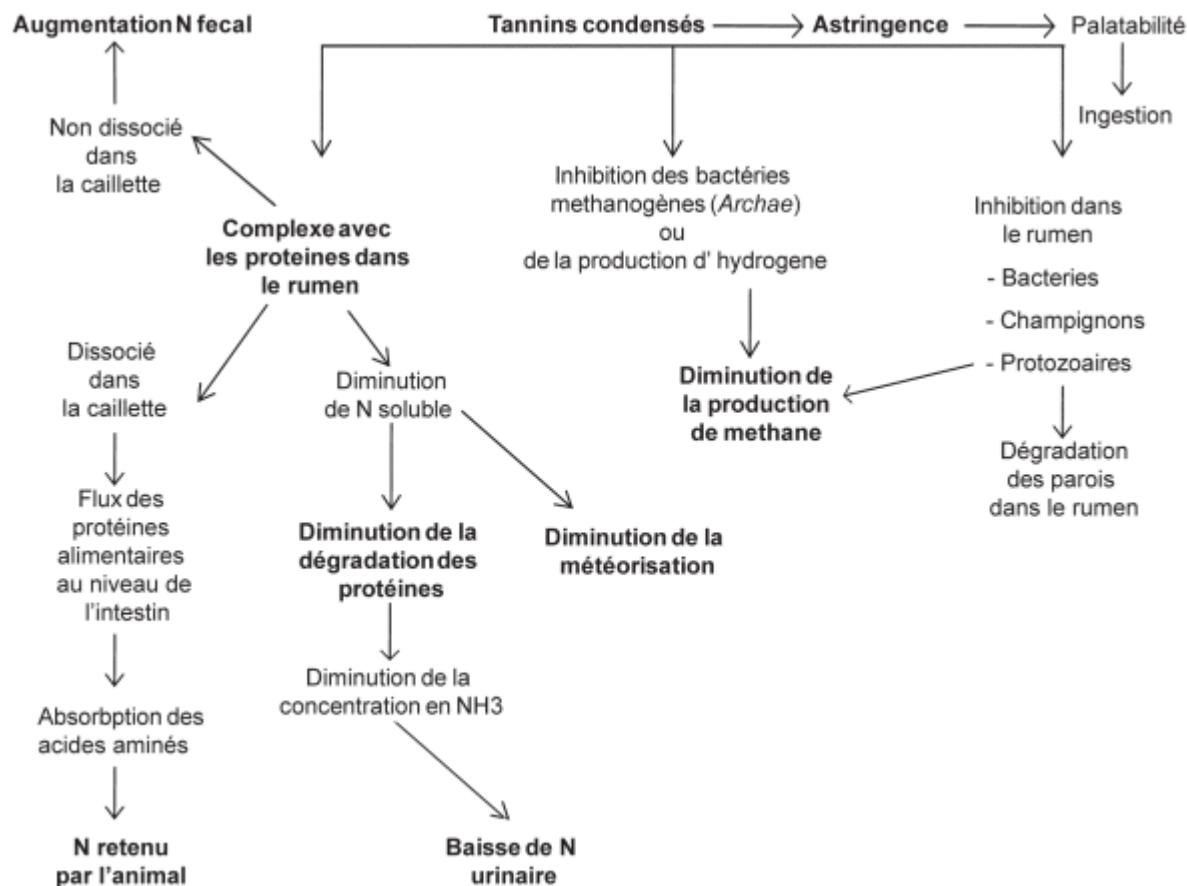
L'alimentation des animaux par des aliments riches en tanins condensés présente de nombreux avantages potentiels (Figure 3). L'effet bénéfique des tanins condensés dépend de leur structure chimique, du poids moléculaire, de la quantité ingérée et de l'espèce animale impliquée (Hagerman & Butler, 1991).

Les tanins condensés par leur affinité avec les protéines, forment des complexes tanin-protéine stable à pH compris entre 3,5-8. Ces complexes stables au pH du rumen rendent les protéines moins accessibles aux bactéries protéolytiques, ce qui permet de réduire la protéolyse au niveau du rumen (Mueller-Harvey & McAllan, 1992). La réduction de la dégradation des protéines au

niveau du rumen permet d'améliorer le flux de protéines alimentaires au niveau de l'intestin grêle par la destruction du complexe au niveau de la caillette. La part d'azote excrétée dans l'urine est ainsi réduite et celle excrétée dans les fèces est augmentée. Ceci permet d'augmenter la quantité d'azote retenue par l'animal (Aufrère *et al.*, 2012). A faible concentration dans l'alimentation, les tanins condensés réduisent la fermentation au niveau du rumen, conduisant ainsi à une réduction de la production de gaz tels que le méthane et de produits de dégradation des acides aminés comme l'ammoniac (Makkar, 2003 ; Tavendale *et al.*, 2005). Cette réduction de la production de gaz présente un intérêt pour l'environnement avec une réduction des émissions de gaz à effet de serre, mais aussi permet de prévenir le météorisme chez les ruminants dû à l'accumulation de gaz dans des mousses stables (McMahon *et al.*, 2000). En 2019, les activités dans les fermes produisaient 7,2 Gt CO<sub>2</sub> eq de gaz à effet de serre dans l'atmosphère. Les gaz issus de la fermentation entérique des ruminants étaient estimés à 2,8 Gt CO<sub>2</sub> eq, soit 40% des émissions totales de gaz à effet de serre attribuable aux activités de ferme (FAO, 2021). Pour lutter efficacement contre le ballonnement, Li *et al.* (1996) propose une concentration minimale de 5g TC/ Kg MS dans la plante.

La présence de tanins condensés dans le fourrage améliore aussi la production de lait, viande et laine chez les ruminants (Makkar, 2003). Min *et al.* (2003) ont trouvé que la consommation de *Lotus corniculatus* à une concentration de 30-35g TC/ Kg MS permet d'augmenter la production de laine de 10-14% chez les animaux. Ces auteurs ont trouvé que les effets bénéfiques liés à la consommation de l'espèce végétale *Lotus corniculatus* sont observés à une concentration en tanin condensé de 22-38 g / Kg MS. Montossi *et al.* (1996) ont aussi observé une augmentation de la production de laine de 10% avec la consommation de *Holcus lanatus* à une concentration en tanin condensé de 4,2 g /Kg MS. Min *et al.* (2003) ont également observé avec la consommation de *Lotus corniculatus* une amélioration du taux d'ovulation de 22% chez les brebis, une amélioration de la production de lait de 60% et une augmentation de la teneur en protéine du lait de 10% chez les vaches.

Les tanins condensés représentent un moyen efficace de lutte contre les parasites gastro-intestinaux chez les animaux (Butter *et al.*, 2000). Molan *et al.* (2000) ont trouvé que des plantes riches en tanins condensés telles que de *L. pedunculatus*, *L. corniculatus*, *H. coronarium* et *O. viciifolia* permettent de lutter efficacement contre le nématode *Trichostrongylus colubriformis*. Ces auteurs ont montré que les extraits de ces plantes permettent de réduire le taux de développement larvaire, le nombre d'œufs éclos et la mobilité des larves infectieuses L3 respectivement de 91%, 34% et 30% chez *Trichostrongylus colubriformis*. Min & Hart (2003) ont aussi montré que le fourrage riche en tanins condensés avec une concentration de 45-55g TC/ Kg MS permet de réduire le nombre d'œufs de parasites gastro-intestinaux de 50% chez les moutons et les chèvres. Cette action des tanins condensés sur les parasites gastro-intestinaux présente un grand intérêt pour les éleveurs en ce sens que les tanins condensés pourraient réduire leur dépendance aux vermifuges et limiter aussi la résistance des nématodes.



**Figure 3: Schéma des principaux effets des tanins condensés (Patra et Saxena, 2011)**

Outre les effets bénéfiques présentés plus haut, les tanins sont le plus souvent associés à des facteurs anti-nutritionnels (Frutos *et al.*, 2004). L'effet néfaste des tanins dépend du type de tanin, de sa structure, de son poids moléculaire, de la quantité ingérée et de l'espèce impliquée. Ainsi, McSweeney *et al.* (2001) indique que les effets toxiques des tanins sont principalement dû aux tanins hydrolysables qui sont dépolymérisés dans le rumen par les bactéries telles que *Selenomonas ruminantium* et *Streptococcus spp.* Par contre, la dépolymérisation des tanins condensés en milieu anaérobie, donc dans le rumen n'a pas encore été observée (McSweeney *et al.*, 2001). Les intoxications dues aux tanins hydrolysables se manifestent par de l'anorexie, des ulcères le long du tube digestif, des insuffisances rénales et hépatiques, des gastroentérites (Frutos *et al.*, 2004). La dépolymérisation des tanins hydrolysables produit des composés toxiques pour les ruminants tels que le pyrogallol (Dollahite *et al.*, 1962). Au niveau des tanins condensés, l'effet toxique est perceptible après l'ingestion d'une très forte quantité (Hervas *et al.*, 2003). Les tanins ont des actions directes sur les micro-organismes du rumen, ce qui inhibe leurs activités (Barry & Manley, 1984). Pour pallier les effets des tanins, certaines espèces de micro-organismes



telles que *S. gallolyticus*, *S. bovis*, *Clostridium sp* ont développé des tolérances à des doses élevées de tanins condensés et hydrolysables (Brooker *et al.*, 1994 ; McSweeney, 2001).

La consommation des tanins réduit l'ingestion alimentaire chez les animaux en fonction de l'espèce animale impliquée, du type de tanin consommé et de la quantité ingérée. Barry & Manley (1984) ont par exemple observé une réduction de l'ingestion avec une consommation de plantes très riche en tanins condensés (> 50 g TC/ Kg MS). Pour une concentration de tanins condensés moyenne ou faible dans les plantes, ces auteurs n'ont cependant pas trouvé d'effet sur l'ingestion. Chez les moutons par exemple, une consommation de *Lotus pedunculatus* à forte concentration en tanins condensés (63-106 g TC/ Kg MS) conduit à une diminution de l'ingestion, de la digestibilité et de la production animale (Barry et Duncan, 1984 ; Waghorn *et al.*, 1994). La réduction de l'ingestion liée à la consommation de tanins peut être expliquée par une réduction de la palatabilité due à la sensation d'astringence que provoque les tanins chez l'animal (Frutos *et al.*, 2004). Pour pallier cet effet, certains herbivores tels que les chèvres produisent beaucoup de protéines riches en proline dans leur salive. Ces protéines riches en proline ont une forte capacité de liaison avec les tanins et elles forment avec eux des complexes qui sont stables dans tout le tube digestif. Ceci permet d'améliorer la digestion des plantes riches en tanins (McArthur *et al.*, 1995). En donnant une alimentation riche en tanin condensé à des chèvres et des brebis, Lamy *et al.* (2011) n'ont pas observé la présence de protéines riches en proline dans la salive de ces animaux. Par contre, ils ont observé une importante augmentation de la concentration des protéines salivaires chez les chèvres et les brebis. Ces protéines seraient donc produites pour protéger ces animaux contre les effets nocifs potentiels des tanins (Lamy *et al.*, 2011). Yisehak *et al.* (2012) ont quant à eux observé dans la salive des bovins, particulièrement chez les zébus (*Bos indicus*), une élévation de la production de protéines riches en proline en réponse à une alimentation riche en tanins. Il existe d'autres méthodes de détannification que la production de protéine salivaire pour inhiber les effets des tanins. Il s'agit par exemple de l'utilisation de cendre de bois, accessible à tous ou la supplémentation en PEG (polyéthylène glycol) et PVP (polyvinylpyrrolidone). Makkar & Singh (1992) ont montré qu'une solution contenant 10% de cendre de bois de chêne permet de diminuer les phénols totaux, les tanins condensés et la capacité de précipitation des protéines respectivement de 66, 80 et 75% dans les feuilles du chêne. Makkar (2001) a montré que l'ajout de PEG dans la ration inhibe l'action des tanins à travers la formation de complexes avec ces derniers.

La consommation de plantes riches en tanins a aussi un impact sur la digestion des hydrates de carbone. Lorsque les tanins sont consommés à forte dose, ils réduisent la digestion des fibres par des mécanismes tels que l'inhibition des enzymes et des actions directes sur les micro-organismes du rumen (Barry & Manley, 1984 ; Leinmüller *et al.*, 1991). Par exemple, les tanins peuvent former soit un complexe avec les lignocelluloses, empêchant ainsi leur digestion par les micro-organismes, soit inhiber directement les micro-organismes cellulolytiques (McSweeney *et al.*, 2001). McSweeney *et al.* (1998) ont observé qu'avec un apport de 30% de calliandra dans la ration, il y a une diminution des bactéries cellulolytiques du rumen tels que : *F. succinogenes* et *Ruminococcus spp*. Min *et al.*, 2003 ont quant à eux montré que les tanins condensés réduisent la croissance des bactéries protéolytiques dans le rumen.

## 6 OBJECTIFS

Ce travail de fin d'études poursuit l'objectif de savoir laquelle des mesures P3B et P4B contribue au mieux à la préservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique. La question de recherche associée à cet objectif est : quel est l'impact de l'apport de 50 Kg N/ha sur l'état de conservation de la biodiversité dans ces prairies ?

La réponse à cette question se fera par la vérification de trois hypothèses de recherche au moyen de données de terrain et des analyses en laboratoire.

La première hypothèse s'intéresse à l'impact de l'apport de 50 Kg N/ha sur la composition floristique de ces prairies. Cette hypothèse sera vérifiée à partir des données de relevés floristiques effectuées dans les parcelles fertilisées et non fertilisées.

La deuxième hypothèse examine l'impact de cette dose sur la composition chimique du fourrage. Cette hypothèse sera vérifiée par une analyse par spectrométrie proche infrarouge sur des échantillons de fourrage issus de parcelles fertilisées et non fertilisées.

La troisième hypothèse étudie l'impact des 50 Kg N/ha sur la teneur en tanins condensés du fourrage obtenu. Cette hypothèse sera vérifiée par une analyse en laboratoire consistant à doser les échantillons de fourrage issus des parcelles fertilisées et non-fertilisées par la méthode butanol-HCl.

## 7 MATERIEL ET METHODES

### 7.1 Site de l'étude

L'étude a été conduite au Grand-Duché du Luxembourg, un pays de l'Europe de l'ouest qui a une superficie de 2586 Km<sup>2</sup> et qui fait frontière avec l'Allemagne, la Belgique et la France. La population est estimée à 645.400 habitants en 2022. La structure de sa population présente 15,9% d'enfants ayant un âge compris entre 0 et 14 ans, 69,3% de personnes en âge actif (15 à 64 ans) et 14,8% de personnes âgées de 65 ans et plus (Anon., 2022). Durant ces 20 dernières années, le nombre d'exploitations agricoles et la main-d'œuvre familiale ont fortement baissé dans le Grand-Duché du Luxembourg, passant respectivement de 2.728 exploitations et 5.554 personnes en 2000 à 1.881 exploitations et 3.608 personnes en 2020 (Anon., 2022). Au niveau de la taille des exploitations, la tendance d'évolution montre une augmentation des surfaces moyennes des exploitations, celle-ci passant de 53,2 ha en 2000 à 78,5 ha en 2021. La surface agricole utile dans le Grand-Duché de Luxembourg était en 2021 de 132.811 ha. Sa répartition est la suivante : 19,8% pour la culture des céréales, 23,2% pour la culture des plantes fourragères, 9,1% pour les prairies à faucher, 42,2% pour les pâturages, 1% pour les vignobles et 4,7% pour les autres cultures (Anon., 2022). De l'an 2000 à l'an 2021, le rendement des prairies et des pâturages a beaucoup diminué, il est passé de 639.715 tonnes de matière sèche en 2000 à 573.747 tonnes de matière sèche en 2021. Dans le Grand-Duché du Luxembourg, les chiffres pour 2021 montre que le cheptel est principalement composé de bovins (189.543 têtes), et de poules et poulets (170.591 têtes), ensuite viennent les porcins (82.367 têtes), les ovins (9.956 têtes) et les chevalins (4.007 têtes) (Anon., 2022). En 2021, le cheptel bovin était constitué de 54.828 vaches laitières, 23.974 vaches allaitantes et de 49.704 bovins jeunes (<1 an) (Gouvernement, 2022). En 2021, 84,6% du sol servait de surfaces agricoles, sylvicoles et viticoles (Anon., 2022).

### 7.2 Choix des parcelles expérimentales

Les parcelles expérimentales ont été sélectionnées en 2019 sur base de leur cortège floristique et de leur correspondance à l'habitat 6510. Ce sont au total 21 parcelles qui ont été retenues sur l'ensemble du pays et elles feront l'objet d'un suivi sur le terrain pendant une durée de 4 ans, de 2020 à fin 2023. Les parcelles sont réparties sur les 4 différentes zones géographiques du pays et sur des sols différents. Dans le nord du pays, les sols sont schisto-gréseux acide (SGA) et au sud, ils sont marneux acide (MA). A l'est et au sud-est, les sols sont basiques (MB), tandis qu'à l'ouest, ils sont sableux, fond de vallée (SFV). Au niveau de la mise en place du suivi sur le terrain, une partie homogène a été identifiée au sein de chaque parcelle, puis subdivisée en deux zones comparables. Parmi les deux zones, une a été fertilisée (ZF) et l'autre n'a pas reçu de traitement (Z0). Les zones fertilisées ont reçu à la fin du mois de mars ou au début du mois d'avril un engrais minéral du type N-P-K et de formule 14-9-24. Les quantités d'engrais appliquées à l'hectare sont de 50 unités de N, 32 unités de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> et 86 unités de K<sub>2</sub>O.

## 7.3 Matériel d'étude

Pour ce travail, des échantillons mixtes composés de plusieurs espèces de plantes fourragères prélevées à des points fixes dans des prairies à haute valeur biologique ont constitué le matériel d'étude. Dans chaque sous-parcelle (ZF ; Z0), l'herbe a été coupée à l'aide d'une motofaucheuse sur une surface comprise entre 6 et 10 m<sup>2</sup> autour d'un point GPS enregistré. Ensuite, l'herbe récoltée a été mise dans un sac, puis pesée. Après la pesée, un échantillon d'herbe a été prélevé à l'aide d'une sonde à fourrage. Les échantillons récoltés ont été conservés au frais puis congelés afin de préserver la nature et le niveau de composés phénoliques. Les échantillons ont été séchés par lyophilisation à l'aide du lyophilisateur « CHRIST, modèle Delta 1-24 LSC », puis moulus au Centre d'Essais des Productions Animales (CEPA, Gembloux Agro Bio-Tech) à l'aide d'un moulin Cyclotec (FOSS, Hillerød, Danemark, CT 293 Cyclotec) équipé d'un tamis dont les mailles mesurent 1 mm de côté.

## 7.4 Méthodologie appliquée

### 7.4.1 Echantillonnage

Les échantillons ont été obtenus à partir de prélèvements floristiques effectués sur chacune des parcelles expérimentales avant la première coupe. Au niveau de chaque parcelle et dans chaque sous-parcelle (ZF ; Z0), 3 points de prélèvement (quadrats) ont été identifiés avec leurs coordonnées GPS enregistrés pour faciliter le suivi des parcelles durant la période d'étude. Au total, ce sont 6 quadrats qui ont été enregistrés par parcelle expérimentale.

Le schéma expérimental était donc le suivant :

$$4 \text{ zones géographiques} \times 6 \text{ parcelles} \times 2 \text{ traitements} \times 3 \text{ quadrats}$$

### 7.4.2 Caractérisation de la composition floristique

La composition floristique de chaque parcelle a été déterminée suivant le protocole décrit par Braun-Blanquet (1919). D'abord, une aire minimale de 5 m<sup>2</sup> a été délimitée au niveau de chaque point de prélèvement. Pour rappel, en écologie, une aire minimale est une surface à partir de laquelle on considère qu'une augmentation de surface n'entraîne pas nécessairement un gain d'espèces. Après la délimitation des aires minimales, toutes les espèces contenues dans ces aires ont été recensées, et chaque espèce a été affectée d'un coefficient d'abondance-dominance pour indiquer son abondance relative et son degré de recouvrement. L'échelle utilisée est celle proposée par Braun-Blanquet (Tableau III). Afin de faciliter l'analyse des données, les coefficients de Braun-Blanquet ont été convertis selon la méthode de Van Der Maarel (Tableau III). Avant la première coupe, le rendement de chaque quadrat a été mesuré.

**Tableau III: Coefficient de recouvrement d'abondance-dominance**

Coefficients Braun- Blanquet	Recouvrement (x)*	Coefficient Van Der Maarel
+	$x < 1\%$	2
1	$1\% < x < 5\%$	3
2a	$5\% < x < 15\%$	5
2b	$15\% < x < 25\%$	6
3	$25\% < x < 50\%$	7
4	$50\% < x < 75\%$	8
5	$x > 75\%$	9

\*X représente le niveau de recouvrement d'une espèce.

### 7.4.3 Détermination de la composition chimique du fourrage par SPIR

Les analyses ont été réalisées dans les laboratoires du réseau Requasud au Luxembourg.

Les échantillons moulus ont été conduits dans les laboratoires de l'ASTA (Administration et Services Techniques de l'Agriculture à Ettelbrück (G.D. Luxembourg), pour la détermination de leur composition chimique par la méthode de spectrométrie d'absorption dans le proche infrarouge (SPIR). A l'aide d'un spectromètre de la marque Foss et de modèle XDS, la composition chimique des échantillons a été déterminée dans une gamme de longueur d'onde de 400 à 2500 nm (visible + proche infrarouge). Le spectre de réflectance des échantillons a permis d'avoir la teneur des échantillons en matières azotées totales (MAT), fibres (NDF, ADF et ADL), cellulose brute (CB), protéines brutes digestibles (PBD), unité fourragère lait (VEM), protéines digestibles dans l'intestin (DVE). Les analyses de minéraux (Ca, P, K, Na, Mg) ont été réalisées par le laboratoire du Centre de Michamps ASBL. La calibration de l'appareil d'analyse s'est faite à partir d'une base de données sur les fourrages tempérés utilisée par les laboratoires du réseau Requasud (Tableau IV).

**Tableau IV: Données de base utilisées par les laboratoires du réseau Requasud pour les analyses des fourrages par SPIR**

Paramètres (%MS)	N	Min	Max	Moyenne	Ecart-type	R <sup>2</sup>	SEC
MSa	1877	88,84	97,49	93,16	1,44	0,78	0,68
MAT	1877	4,45	31,26	15,49	5,26	0,98	0,76
CB	1465	11,27	41,10	26,18	4,97	0,95	1,11
CT	1989	3,44	16,66	10,05	2,20	0,85	0,86
NDF	806	26,00	70,18	48,09	7,36	0,95	1,61
ADF	539	11,47	43,16	27,31	5,28	0,95	1,13
ADL	530	0,00	5,88	2,76	1,04	0,87	0,37
dMS	1156	50,19	108,28	79,23	9,68	0,96	1,89
dMO	1291	46,02	108,06	77,04	10,34	0,96	1,97
SSt	629	0,12	36,12	11,47	8,22	0,97	1,35

N : nombre de spectres dans la base de données ; Min : valeur minimale dans la base de données, Max : valeur maximale dans la base de données ;  $R^2$  : coefficient de détermination ; SEC : erreur standard d'étalonnage.  
 MS : matière sèche ; MAT : matières azotées totales ; CT : cendres totales ; CB : cellulose brute ; NDF : neutral detergent fiber (correspond à la fraction d'hémicellulose, de la cellulose et de la lignine) ; ADF : acid detergent fiber (correspond à la fraction de cellulose et de lignine) ; ADL : acid detergent lignin (correspond à la fraction de lignine) ;  
 dMS : digestibilité de la matière sèche ; dMO : digestibilité de la matière organique ; SSt : sucres solubles totaux.

#### 7.4.4 Préparation des échantillons pour les analyses de tanins

La présence de pigment dans les échantillons interfère avec le dosage des tannins. Pour éviter cette situation, une dépigmentation a été réalisée au préalable sur les échantillons avec un appareil Soxhlet constitué de trois parties : un ballon à col rodé, un extracteur recevant une cartouche et un réfrigérant à reflux. Pour la dépigmentation, 3g d'échantillon ont été pesés dans des cartouches en carton poreux et les ballons à col rodé ont reçu 180 ml d'une solution de diéthyléther contenant 1% d'acide acétique. La solution après plusieurs passages dans le système a permis en fin de journée d'extraire les pigments contenus dans l'échantillon (Figure 4). Les cartouches ont été séchées à l'air libre afin d'avoir des échantillons prêts pour les analyses le lendemain.



**Figure 4: Dépigmentation des échantillons**

#### 7.4.5 Détermination de la matière sèche analytique (%MSa), la teneur en cendres totales (%CT) et la teneur en matière organique (%MO) des échantillons

La matière sèche analytique de chaque échantillon a été déterminée afin de pouvoir exprimer les résultats des analyses chimiques en fonction de la matière sèche. La détermination du taux de matières sèches contenu dans chaque échantillon a été faite selon la méthode officielle AOAC, 934.01 (1990). Elle a consisté à peser 3g d'échantillons frais dans des creusets et à les faire sécher pendant 15h dans une étuve à 105°C pour en extraire toute l'eau qu'ils contiennent afin d'avoir un poids constant des échantillons (Figure 5A). Après le séchage, les échantillons sont refroidis dans des dessiccateurs avant d'être pesés à nouveau (Figure 5B). Le calcul de la matière sèche analytique de chaque échantillon a été fait selon la formule suivante :

$$\%MSa = [(T + PS) - T] \times 100 / [(T + PF) - T]$$

T : poids du creuset vide ; T+PF : poids du creuset + échantillon frais ; T+PS : poids du creuset + échantillon sec



**Figure 5: Séchage et refroidissement des échantillons**

La détermination des cendres totales (%CT) s'est faite sur la prise d'essai déjà utilisée pour la détermination de la matière sèche analytique (%MSa). Après la dessiccation des échantillons, ils ont été ensuite calcinés pendant 15h dans un four à 550°C selon la méthode officielle AOAC, 942.05 (1990) (Figure 6). Le calcul de la teneur de cendres totales dans les échantillons a été fait suivant la formule :

$$\%CT = [(T + PC) - T] \times 100 / [(T + PS) - T]$$

CT : cendres totales ; T : poids du creuset vide ; T+PC : poids du creuset + échantillon calciné ; T+PS : poids du creuset + échantillon sec.

La teneur en matière organique (%MO) des échantillons a été obtenue par la formule suivante :

$$\%MO = 100 - \%CT$$

MO : matière organique ; CT : cendre totale.



**Figure 6: Echantillons calcinés**

## 7.4.6 Quantification des tanins dans le fourrage

### 7.4.6.1 Dosage des phénols totaux

La quantification des tannins dans les échantillons a débuté par le dosage des phénols totaux en utilisant le protocole de Folin et Ciocalteu (1927). L'extraction des polyphénols s'est faite par macération en ajoutant 10 ml d'acétone 70% dans 200 mg d'échantillons moulus et dépigmentés. Les échantillons contenant l'acétone 70% ont été placés dans un bain à ultrasons pendant 20 minutes pour accélérer la dissolution des échantillons dans l'acétone 70%. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 3000 G pendant 10 minutes, puis refroidis à 4°C pour empêcher la dégradation des composés phénoliques. Après la centrifugation, le surnageant contenant les polyphénols est récupéré dans un autre tube. Une deuxième extraction pareille à la précédente est réalisée sur le culot de la première extraction pour extraire les polyphénols supplémentaires. La quantité de polyphénols dans la deuxième extraction est moindre par rapport à celle de la première extraction. Les deux surnageant sont mis ensemble, puis centrifugés. Une courbe standard a été tracée en prenant l'acide tannique comme étalon. Pour la réalisation de cette courbe, 8 volumes différents (0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1, 0.12 et 0.14 ml) de la solution d'acide tannique standard (0,1 mg/ml) ont été utilisés. Pour doser les polyphénols totaux, 100µl de surnageant de chaque échantillon ont été mélangé avec 400 µl d'eau distillée, 250 µl de folin et 1250 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans des tubes eppendorfs de 2 ml. Le mélange est ensuite vortexé, puis mis dans des cupules pour la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre (spectrophotomètre Nanocolor UV/VIS, Macherey-Nagel) après 45 minutes et à une longueur d'onde de 725 nm. Il y a eu deux répétitions pour chaque échantillon. La quantité de phénols totaux a été exprimée en mg d'équivalents d'acide tannique par 1g de matière sèche de l'échantillon extrait.

### 7.4.6.2 Dosage des composés phénoliques non-tanniques

Le dosage des phénols totaux représente la première étape pour le dosage des tanins totaux. Après l'étape de dosage des phénols totaux, les composés phénoliques non-tanniques ont été dosés avec le polyvinylpolypyrrolidone. Pour réaliser le dosage, 100mg de polyvinyl ont été pesés dans des flacons de 15ml. Ensuite, 1 ml d'eau distillée et 1 ml de surnageant ont été ajoutés aux



flacons. Après avoir vortexé les flacons, ils ont été centrifugés à 3000 G pendant 10 minutes et refroidis à 4°C. Deux cents µl de surnageant de chaque échantillon sont ensuite mélangés avec 300 µl d'eau distillée, 250 µl de folin et 1250 µl de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> dans des tubes Eppendorfs de 2 ml. Le mélange est ensuite vortexé, puis mis dans des cupules pour la lecture de l'absorbance au spectrophotomètre (spectrophotomètre Nanocolor UV/VIS, Macherey-Nagel) après 45 minutes et à une longueur d'onde de 725 nm. Il y a eu deux répétitions pour chaque échantillon. La quantité de composés phénoliques non tanniques a été exprimée en mg d'équivalents d'acide tannique par 1g de matière sèche de l'échantillon extrait.

- **Détermination des tanins totaux**

La quantité de tanins totaux contenus dans les échantillons est déterminée en faisant la différence entre les phénols totaux et les composés phénoliques non-tanniques.

#### 7.4.6.3 Dosage des tanins condensés

Le dosage des tanins condensés contenus dans les échantillons de plantes a été réalisé par la méthode du butanol-HCl mise au point par Porter *et al.* (1986) et décrite par la FAO/IAEA (2000). Les réactifs utilisés pour le dosage des tanins condensés sont le butanol-HCl et le réactif ferrique. La préparation du butanol-HCl a nécessité du n-butanol et du HCl concentré (37%) dans les proportions 95:5 (v/v). En ce qui concerne le réactif ferrique, sa préparation a nécessité un volume de 16.6 ml de HCl concentré (37%) porté à 100 ml avec de l'eau distillée pour faire du 2N HCl. Ensuite, 2 g de sulfate d'ammonium ferrique ont été dissous dans la solution de 2N HCl préparée précédemment. Ces réactifs ont été conservés à l'abri de la lumière afin d'éviter leur dégradation.

Dans des tubes en verre, un mélange constitué de 0,5 ml de l'extrait d'échantillon contenant du tanin, 3 ml du réactif butanol-HCl et 0.1 ml du réactif ferrique est réalisé. Il y a eu deux répétitions pour chaque échantillon. Les tubes en verre sont ensuite mélangés et chauffés dans un bain-marie à 97-100°C pendant 1h (Figure 7). Dans notre cas, la température maximale atteinte par le bain-marie était de 94°C. Les tubes ont donc été chauffés pendant 1h15min. Après chauffage, les tubes sont refroidis dans de la glace pendant 15 min et ensuite mélangés avant de les mettre dans des cupules pour la lecture au spectrophotomètre réglé à une longueur d'onde de 550 nm (spectrophotomètre Nanocolor UV/VIS, Macherey-Nagel). Pour la lecture au spectrophotomètre, il faut avoir un blanc non chauffé auquel on retranche l'absorbance des échantillons chauffés. Dans notre cas, le blanc a été constitué en prenant 0,5 ml d'acétone 70%, 3 ml de butanol-HCl et 0,1 ml de réactif ferrique. Il est important de veiller à ce que l'absorbance n'excède pas 0,6. Si cela arrive, l'extrait doit être dilué avec de l'acétone 70% pendant la préparation du mélange avant d'être chauffé au bain-marie. Ceci permet de corriger les absorbances beaucoup élevées. En cas de coloration rose du mélange non chauffé, il ressort que l'extrait contient du flavan-4-ols. Dans ce cas, il faut utiliser un blanc chauffé pour chacun des échantillons.

La teneur en tanins condensés, en équivalent leucocyanidine est obtenue par la formule suivante :

$$\text{Tanin condensé} = \frac{\text{Absorbance (550 nm)} \times 78,26 \times \text{facteur de dilution}}{\% \text{ matière sèche}}$$

NB : le facteur de dilution est égal à 1 s'il n'y a pas eu d'ajout d'acétone 70% pour corriger l'absorbance et si l'extrait contenant les tanins a été obtenu à partir de 200 mg d'échantillon dans un volume de 10 ml de solvant (ici acétone 70%). Lorsqu'il y a ajout d'acétone pour corriger l'absorbance, le facteur de dilution est obtenu par le calcul suivant :

$$\text{facteur de dilution} = \frac{0,5 \text{ (ml)}}{\text{Volume d'extrait prélevé (ml)}}$$



Figure 7: Dosage des tanins condensés

## 7.5 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique R (R Development Core and Team 2010). L'unité expérimentale utilisée pour les analyses statistiques est le quadrat, une zone au niveau de chaque sous-parcelle (ZF ; Z0) dont les coordonnées GPS ont été enregistrées et qui sert pour le prélèvement des différentes données sur le terrain. Dans chaque parcelle, il y a 6 quadrats dont 3 par sous-parcelle. Avant d'effectuer les analyses, les données sur l'abondance des espèces définies à partir de l'échelle de Braun-Blanquet ont été transformées en coefficients ordinaux selon l'échelle de Van Der Maarel afin de permettre une comparaison des données. Une transformation  $\log(x)$  a été appliquée aux données lorsque cela était nécessaire pour homogénéiser les variances.

### 7.5.1 Facteurs influençant la richesse spécifique et la composition floristique des quadrats

Une analyse statistique descriptive a d'abord permis de décrire et résumer les informations sur la richesse spécifique des différents quadrats. Ensuite, une analyse de la variance à deux facteurs croisés fixes a permis de vérifier l'effet significatif du traitement (i.e. fertilisation) et du type de sol (i.e. zone géographique) sur la richesse spécifique des quadrats. Enfin, une ordination multidimensionnel non-métrique (nMDS) à trois dimensions a été réalisé en utilisant la matrice de similarité de Bray-Curtis via le package « vegan » du logiciel statistique R pour visualiser et

interpréter l'effet du traitement et du type de sol sur la composition floristique des quadrats (Pitz *et al.*, 2018). Pour la réalisation de la nMDS, nous avons utilisé la matrice de données sur l'abondance des espèces végétales dans chaque quadrat. Le test ANOSIM a permis de tester la significativité de la différence de composition floristique entre les groupes formés à partir du type de sol. Une analyse canonique de redondance (ACR) a quant à elle permis de vérifier dans chaque type de sol, la contribution des différentes espèces végétales qui leur sont inféodées à la production de biomasse totale. L'ACR est une méthode d'ordination sous contrainte qui utilise deux matrices de données (Glele Kakaï *et al.*, 2016). Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé pour chaque type de sol, une matrice avec les rendements fourragers des quadrats et une autre matrice avec l'abondance des différentes espèces identifiées dans les quadrats. La deuxième matrice avec l'abondance des espèces a été utilisée comme contrainte au cours de l'analyse.

### 7.5.2 Facteurs influençant le rendement des quadrats

Afin d'avoir une bonne visualisation des informations sur le rendement fourrager des différents quadrats, une analyse statistique descriptive a été réalisée. Une analyse de la variance à deux facteurs croisés fixes a permis de tester la significativité des facteurs « traitement » (i.e. fertilisation) et « type de sol » (i.e. zone géographique) sur le rendement fourrager des quadrats. Une analyse canonique de redondance (ACR) a quant à elle permis de vérifier l'effet des différentes espèces végétales identifiées sur le rendement fourrager des différents quadrats. Dans le cadre de ce travail, nous avons utilisé une matrice avec les rendements fourragers des quadrats et une autre matrice avec l'abondance des différentes espèces identifiées dans les quadrats. La deuxième matrice avec l'abondance des espèces a été utilisée comme contrainte au cours de l'analyse. La fonction « ordiR2step » du package « vegan » a permis d'identifier les espèces végétales significatives dans la variation de rendement entre les différents quadrats. La projection de l'espèce significative dans le plan formé par les axes RDA1 et RDA2 a permis de voir l'axe significatif dans l'explication de la variation de rendement dans les différents quadrats.

### 7.5.3 Effet de l'abondance des espèces végétales sur la composition chimique des échantillons

Une analyse canonique de redondance (ACR ou RDA) a permis de vérifier l'effet de l'abondance des différentes espèces végétales identifiées dans les quadrats sur la composition chimique du fourrage. Pour réaliser cette analyse, une première matrice avec la composition chimique des différents échantillons de fourrage issus des quadrats a été utilisée. Puis, une deuxième matrice avec l'abondance des espèces a été utilisée comme contrainte au cours de l'analyse. La fonction « ordiR2step » du package « vegan » a permis d'identifier les espèces végétales significatives dans la variation de la composition chimique des différents échantillons. La projection des espèces significatives dans le plan formé par les axes RDA1 et RDA2 a permis de voir l'axe significatif dans l'explication de la variation de la composition chimique des échantillons. Une analyse multivariée avec le test de Tukey a aussi permis de faire une comparaison multiple des moyennes des constituants chimiques des échantillons.

#### 7.5.4 Facteurs influençant la teneur en tanins condensés des échantillons

Une analyse statistique descriptive a d'abord été réalisée afin d'avoir une bonne visualisation des informations sur la teneur en tanins condensés des différents échantillons en fonction du traitement appliqué et du type de sol de la parcelle. Ensuite, une analyse de la variance à deux facteurs croisés fixes a permis de tester la significativité des facteurs « traitement » (i.e. fertilisation) et « type de sol » (i.e. zone géographique) sur la teneur en tanins condensés des différents échantillons. Enfin, une analyse canonique de redondance (ACR) a quant à elle permis de vérifier l'effet des différentes espèces végétales identifiées sur la teneur en tanins condensés des échantillons. Pour ce travail, nous avons utilisé une matrice avec la teneur en tanins condensés des échantillons et une autre matrice avec l'abondance des différentes espèces identifiées dans les quadrats. La deuxième matrice avec l'abondance des espèces a été utilisée comme contrainte au cours de l'analyse. La fonction « ordiR2step » du package « vegan » a permis d'identifier les espèces végétales significatives dans la variation de la teneur en tanins condensés entre les échantillons. La projection des espèces significatives dans le plan formé par les axes RDA1 et RDA2 a permis de voir l'axe significatif dans l'explication de la variation de la teneur en tanins condensés dans les différents échantillons.

## 8 RESULTATS

### 8.1 Facteurs influençant la richesse spécifique et la composition floristique des quadrats

#### 8.1.1 Effet du traitement et du sol sur la richesse spécifique des quadrats

Le tableau V montre qu'en moyenne, la richesse spécifique des quadrats est plus importante sur les sols marneux basiques (MB) quel que soit le type de traitement (fertilisé (ZF) ou non fertilisé (Z0)). Ce tableau permet également de voir qu'il y a une variation de la richesse spécifique des quadrats dans chaque type de sol en fonction du traitement. La variation observée n'est cependant pas significative selon les résultats de l'analyse de la variance (Tableau V). Malgré une transformation logarithmique effectuée sur la variable réponse « richesse spécifique », les conditions d'application du test Anova n'ont pas été respectées. Toutefois, avec une  $p.value < 0,1$  pour le facteur « sol », les résultats présentés dans le tableau V permettent de conclure qu'il y a une tendance à avoir une différence de richesse spécifique entre les quadrats en fonction des différents types de sol. Cela est d'autant plus vrai avec la valeur du test de Fisher ( $F=2.15$ ) pour ce facteur qui montre qu'il y a 2 fois plus de différence de richesse spécifique entre les différents types de sol qu'à l'intérieur de chaque type de sol. Ceci montre que le type de sol peut avoir une influence sur la richesse spécifique des quadrats.

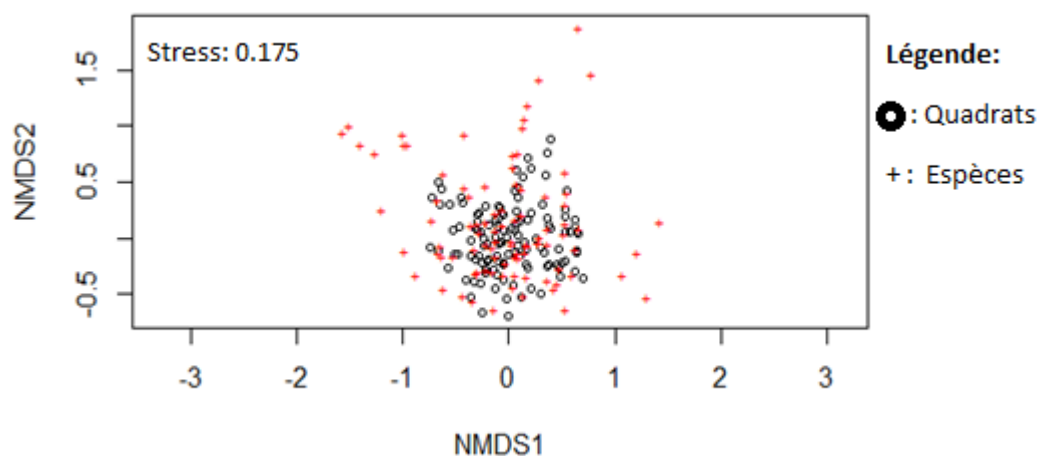
**Tableau V: Richesse spécifique moyenne des quadrats et analyse de la variance en fonction du traitement et du type de sol**

Traitement	Sol			
	MA	MB	SFV	SGA
Z0	21,1	23,4	20,89	19,15
ZF	19,9	21,56	20	21,58
	SCE	Df	F	p.value
Intercept	965,81	1	29907,9838	<2e-16***
Traitement	0,00	1	0,1455	0,70360
Sol	0,21	3	2,1478	0,09832 (.)
Traitement*Sol	0,19	3	1,9439	0,12671
Résidus	3,55	110		

Z0 : Zone non-fertilisée ; ZF : Zone fertilisée ; MA : marneux acide ; MB : marneux basique ; SFV : sableux fond de vallée ; SGA : schisto-gréseux acide. Signification des codes : « \*\*\* » p.value<0,001 ; « . » p.value<0.1.

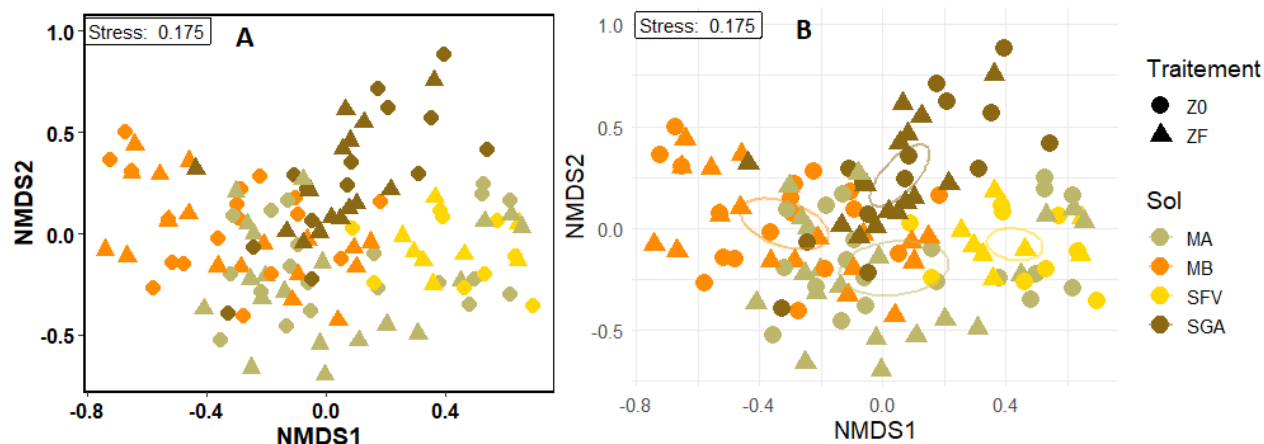
### 8.1.2 Effet du traitement et du type de sol sur la composition floristique des quadrats

Le positionnement multidimensionnel non-métrique (nMDS) a été utilisé pour réaliser une ordination des informations sur les espèces de plantes et les différents quadrats. La fonction « metaMDS » a été utilisée pour concentrer le plus de variabilité dans les deux premiers axes. Ainsi, la projection des espèces et des quadrats dans le plan formé par les axes NMDS1 et NMDS2 reprend la plus grande variabilité des informations (Figure 8). Le stress de cette projection est de 0,175. La valeur du stress dans une ordination NMDS est importante car elle renseigne sur la qualité de la représentation. Idéalement, le stress doit être inférieur à 0,05 mais un stress inférieur à 0,2 est acceptable.



**Figure 8: Projection des espèces et des quadrats dans le plan NMDS1-NMDS2**

La projection des quadrats dans le plan formé par les axes NMDS1 et NMDS2 montrent que les quadrats sont assez proches. Ceci se traduit par plus de similarité entre les quadrats du fait qu'ils partagent beaucoup d'espèces entre eux. Afin d'avoir une vue de l'effet du traitement et du type de sol sur la composition floristique des quadrats, une nouvelle projection a été réalisée dans le même plan (Figure 9).



**Figure 9: Projection des quadrats dans le plan NMDS1-NMDS2 en fonction du traitement et du type de sol**

La figure 9A renforce l'observation précédente sur la diversité. La composition floristique des quadrats est moins influencée par le traitement que par le type de sol. Ce résultat est soutenu par le test ANOSIM de significativité des groupes présenté dans le tableau VI. Il n'existe pas de différence ( $p.value=0,191$ ) entre les groupes formés avec le facteur « traitement », tandis qu'une différence très hautement significative ( $p.value<0,001$ ) a été observée pour les groupes formés avec le facteur « sol ». En se basant sur le facteur « sol », on peut former quatre groupes distincts de composition floristique en fonction des types de sol (Figure 9B). Le tableau VII présente les espèces inféodées à chaque type de sol et qui participent à la formation des différents groupes. Quant au tableau VIII, il permet de voir que les espèces inféodées aux différents types de sol ne participent pas significativement à la production totale de biomasse dans ces milieux.

**Tableau VI: Test ANOSIM de significativité des groupes**

Facteurs	Statistique R	Significativité
Traitement	0,008456	0,1906
Sol	0,3726	1,00E-04***

Significativité < 0,05 traduit une différence statistiquement significative. Statistique R : compare la moyenne des dissimilarités classées entre les groupes à la moyenne des dissimilarités classées au sein des groupes. Plus la valeur de la Statistique R est élevée, plus les groupes sont dissemblables.

**Tableau VII: Espèces différenciant les différents types de sol**

Type de sol							
MA		MB		SFV		SGA	
Espèces	p.value	Espèces	p.value	Espèces	p.value	Espèces	p.value
<i>Crepis biennis</i>	0,0031**	<i>Medicago lupulina</i>	0,0001***	<i>Holcus lanatus</i>	0,0001***	<i>Veronica agrestis</i>	0,0001***
<i>Ajuga reptans</i>	0,0038**	<i>Bromus erectus</i>	0,0001***	<i>Festuca pratensis</i>	0,0003***	<i>Geranium molle</i>	0,0001***
<i>Trifolium dubium</i>	0,0115*	<i>Potentilla reptans</i>	0,0002***	<i>Alchemilla xanthochlora</i>	0,0001***	<i>Saxifraga granulata</i>	0,0001***
		<i>Bellis perennis</i>	0,0002***	<i>Rumex acetosa</i>	0,0006***	<i>Myosotis discolor</i>	0,0002***
		<i>Tragopogon pratensis</i>	0,0017**	<i>Plantago lanceolata</i>	0,0011***	<i>Hypericum perforatum</i>	0,0002***
		<i>Colchicum autumnale</i>	0,0020**	<i>Cirsium palustre</i>	0,0025**	<i>Carex caryophylla</i>	0,0161*
		<i>Arrhenatherum elatius</i>	0,0077**	<i>Filipendula ulmaria</i>	0,0020**	<i>Cerastium glomeratum</i>	0,0319*
				<i>Pimpinella major</i>	0,0089**		

Codes de signification : « \* » p.value<0,05 ; « \*\* » p.value<0,01 ; « \*\*\* » p.value<0,001.

**Tableau VIII: Contribution des espèces différenciant les différents types de sol à la biomasse totale de ces sols**

Type de sol							
MA		MB		SFV		SGA	
Espèces	p.value	Espèces	p.value	Espèces	p.value	Espèces	p.value
<i>Crepis biennis</i>	0,778	<i>Medicago lupulina</i>	0,786	<i>Holcus lanatus</i>	0,401	<i>Veronica agrestis</i>	0,079(.)
<i>Ajuga reptans</i>	0,232	<i>Bromus erectus</i>	0,288	<i>Festuca pratensis</i>	0,529	<i>Geranium molle</i>	0,475
<i>Trifolium dubium</i>	0,497	<i>Potentilla reptans</i>	0,245	<i>Alchemilla xanthochlora</i>	0,99	<i>Saxifraga granulata</i>	0,042 (*)
		<i>Bellis perennis</i>	0,083 (.)	<i>Rumex acetosa</i>	0,419	<i>Myosotis discolor</i>	0,124
		<i>Tragopogon pratensis</i>	0,025 (*)	<i>Plantago lanceolata</i>	0,606	<i>Hypericum perforatum</i>	0,748
		<i>Colchicum autumnale</i>	0,571	<i>Cirsium palustre</i>	0,892	<i>Carex caryophylla</i>	0,609
		<i>Arrhenatherum elatius</i>	0,399	<i>Filipendula ulmaria</i>	0,971	<i>Cerastium glomeratum</i>	0,462
				<i>Pimpinella major</i>	0,826		

Codes de signification : « . » p.value<0,1 ; « \* » p.value<0,05.

## 8.2 Facteurs influençant le rendement des quadrats

### 8.2.1 Effet du traitement et du type de sol sur le rendement

Selon le tableau IX, le rendement des différents quadrats est influencé par le traitement, c'est-à-dire l'apport ou non de fertilisant, mais aussi par le type de sol. Le rendement des quadrats augmente avec l'apport d'engrais minéral et il est plus important sur les sols marneux basiques (MB). L'analyse de la variance présentée dans le tableau IX montre que la différence de rendement observée entre les différents traitements et types de sol est très hautement significative.

**Tableau IX: Rendement moyen des quadrats en fonction du traitement et du type de sol et analyse de la variance à deux critères de classification**

Traitement	Sol			
	MA	MB	SFV	SGA
ZO	3297,724	3661,592	2262,378	2609,828
ZF	4976,706	5281,746	3675,67	3584,664
	SCE	Df	F	p.value
Intercept	1507521059	1	1996,082	<2,2e-16***
Traitement	56603713	1	74,948	3,433e-14***
Sol	47478833	3	20,955	6,694e-11***
Traitement*Sol	2424416	3	1,070	0,3647
Résidus	86852598	115		

NB : les rendements sont exprimés en Kg MS/ha. Code de signification : « \*\*\* » p.value<0,001.

## 8.2.2 Effet des espèces végétales sur le rendement

Selon les résultats de l'analyse canonique de redondance (ACR ou RDA) présentés dans le tableau X, 84,22% du rendement est expliquée par l'abondance des espèces végétales. La sélection progressive des espèces significatives dans l'explication de la variation de rendement dans les quadrats a permis d'identifier une espèce végétale (Tableau XI) sur les 92 espèces présentes dans l'ensemble des quadrats qui explique selon un modèle très hautement significatif (p.value<0,001) 27,18% de la variation totale du rendement dans les quadrats (Tableau XII).

**Tableau X: Effet de l'abondance des espèces sur le rendement des quadrats**

	Variance	Proportion
Total	1	1
Expliquée	0,8422	0,8422
Non-expliquée	0,1578	0,1578

**Tableau XI: Espèce végétale significative dans la variation des rendements**

	Df	Variance	F	Pr(>F)
<i>Poa trivialis</i>	1	0,27183	44,423	0,001***
Résidus	119	0,72817		
R <sup>2</sup> .adjusté				
Espèces totales	0,3469			
<i>Poa trivialis</i>	0,2657			

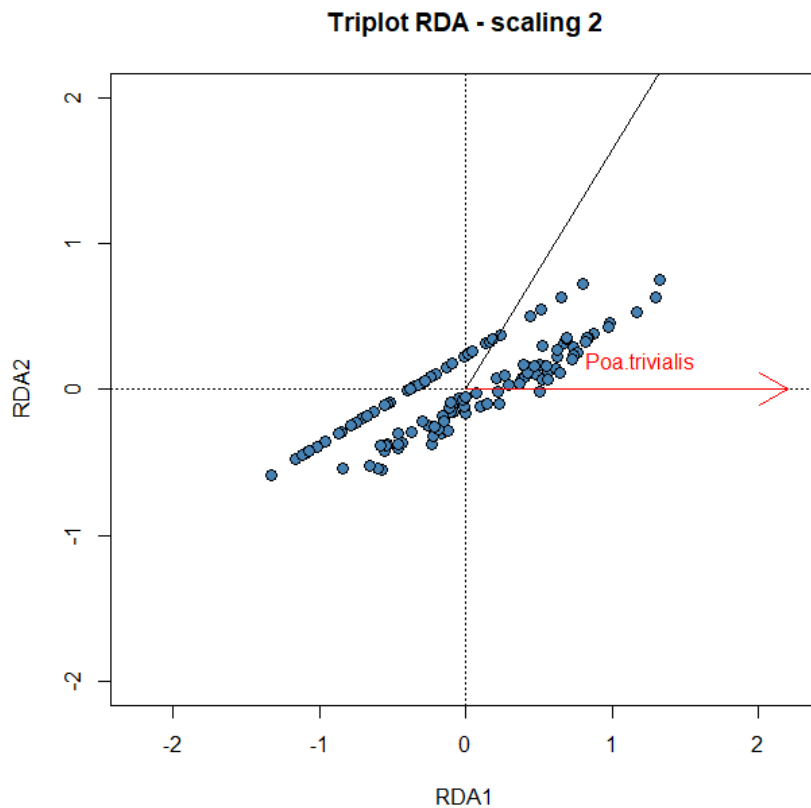
R<sup>2</sup>.adjusté: mesure la force de la relation entre la variable réponse et la variable explicative.



**Tableau XII: Significativité global de l'ACR sur le rendement à partir de l'espèce sélectionnée**

	Variance		Proportion	
Total	1		1	
Expliquée	0,2718		0,2718	
Non-expliquée	0,7282		0,7282	
	Df	Variance	F	Pr(>F)
Modèle	1	0,27183	44,423	0,001***
Résidus	119	0,72817		

La projection de l'espèce sélectionnée *Poa trivialis* dans le plan RDA1-RDA2 présentée à la figure 10 montre que l'axe RDA1 est l'axe significatif dans l'explication de la variation de rendement des quadrats par cette espèce. Les quadrats sont représentés sur cette figure par les points. Comme on peut le voir sur la projection, l'espèce *Poa trivialis* n'a pas été observée dans tous les quadrats.



**Figure 10: Projection de l'espèce significative expliquant la variation de rendement**

### 8.3 Effet de l'abondance des espèces végétales sur la composition chimique des échantillons

A l'instar du rendement, les résultats de l'analyse canonique de redondance (ACR ou RDA) présentés dans le tableau XIII montrent que 96,48% de la variation de la composition chimique des échantillons est expliquée par l'abondance des espèces végétales dans les différents quadrats.

**Tableau XIII: Résultat de l'analyse canonique de redondance (ACR)**

	Variance	Proportion
Total	18	1
Expliquée	17,3659	0,96477
Non-expliquée	0,6341	0,03523

Sur les 92 espèces identifiées dans les quadrats, 24 espèces se sont révélées plus significatives dans l'explication de la variation de la composition chimique des échantillons : *Saxifraga granulata*, *Bromus erectus*, *Carex caryophyllea*, *Potentilla reptans*, *Sanguisorba minor*, *Veronica agrestis*, *Trifolium repens*, *Poa trivialis*, *Rumex acetosella*, *Dactylis glomerata*, *Lotus corniculatus*, *Vicia cracca*, *Holcus lanatus*, *Taraxacum sp.*, *Myosotis arvensis*, *Plantago lanceolata*, *Festuca rubra*, *Anthriscus sylvestris*, *Geranium dissectum*, *Silaum silaus*, *Rumex acetosa*, *Cynosurus cristatus*, *Galium mollugo*, *Alopecurus pratensis*. Elles expliquent à elles seules 64,66% de la variation chimique des échantillons (Tableau XIV).

**Tableau XIV: Significativité globale de l'ACR sur la composition chimique des échantillons à partir des espèces sélectionnées**

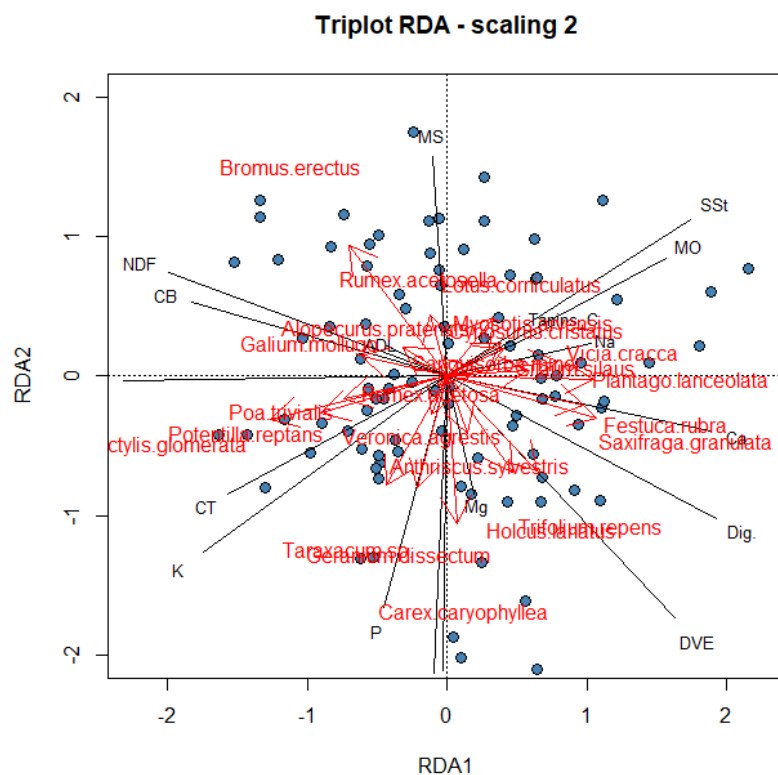
	Variance	Proportion
Total	18	1
Expliquée	11,639	0,6466
Non-expliquée	6,361	0,3534

	Df	Variance	F	Pr(>F)
Modèle	24	11,6391	5,032	0,001***
Résidus	66	6,3609		

La figure 11 présente les corrélations entre les différentes espèces sélectionnées et les composants chimiques des échantillons. Comme on peut le voir sur cette figure, certaines espèces sont plus corrélées à des composantes chimiques spécifiques. Par exemple, l'espèce végétale *Geranium dissectum* a une bonne corrélation avec le phosphore (P), tandis que les espèces *Trifolium repens* et *Holcus lanatus* sont bien corrélées avec la DVE. Quant aux espèces *Galium mollugo* et *Alopecurus pratensis*, elles ont une forte corrélation avec les fibres (NDF, CB, ADL). Les espèces *Myosotis arvensis* et *Cynosurus cristatus* sont fortement corrélées à la teneur en tanins condensés (TC) et en matière organique (MO). Les différentes corrélations entre les espèces et

les composants chimiques indiquent que les différentes espèces jouent différents rôles dans la qualité du fourrage produit pour l'alimentation des animaux : apports en minéraux, apports protéiques, apports énergétiques. Les points à la figure 11 représentent les quadrats. Les tableaux XV, XVI et XVII présentent quant à eux la synthèse des informations sur les composants chimiques des échantillons. Dans ces tableaux, on observe avec l'effet de la fertilisation une diminution de la digestibilité et de la teneur en énergie du fourrage. Cependant, un effet contraire est observé au niveau des parois cellulaires et des matières azotées qui croissent avec la fertilisation.



**Figure 11: Projection des espèces significatives et des composants chimiques dans le plan RDA1-RDA2**

**Tableau XV: Synthèse de la composition chimique des échantillons**

Type sol	Traitement	MS(%)	MO(%)	VEM(g/Kg MS)	DVE(g/Kg MS)	MAT(%MS)	PBD(g/Kg MS)	TC(g/Kg MS)
MA	Z0	27,5±2,3 <sup>abcd</sup>	93,5±0,9 <sup>ab</sup>	811±35,6 <sup>a</sup>	57,4±4,4 <sup>ab</sup>	8,5±0,8 <sup>b</sup>	44,3±7,6 <sup>b</sup>	1,0±0,8 <sup>a</sup>
	ZF	24,1±1,5 <sup>d</sup>	92,5±1,1 <sup>ab</sup>	773±31,3 <sup>bc</sup>	54,6±4,8 <sup>ab</sup>	8,9±0,9 <sup>b</sup>	49,1±8,8 <sup>b</sup>	0,6±0,3 <sup>ab</sup>
MB	Z0	30,2±4,9 <sup>a</sup>	91,3±4,6 <sup>b</sup>	800±49,9 <sup>ab</sup>	56,4±6,9 <sup>ab</sup>	8,5±0,9 <sup>b</sup>	44,6±8,2 <sup>b</sup>	0,6±0,5 <sup>ab</sup>
	ZF	28,4±5,7 <sup>abc</sup>	91,4±1,9 <sup>b</sup>	753±41,7 <sup>c</sup>	51,9±4,9 <sup>b</sup>	8,7±0,8 <sup>b</sup>	46,9±7,3 <sup>b</sup>	0,4±0,1 <sup>b</sup>
SFV	Z0	29,0±4,2 <sup>abc</sup>	93,0±1,7 <sup>ab</sup>	803±47,8 <sup>ab</sup>	54,6±7,4 <sup>ab</sup>	7,7±1,0 <sup>b</sup>	36,4±10,0 <sup>b</sup>	0,6±0,2 <sup>ab</sup>
	ZF	25,0±2,7 <sup>bcd</sup>	91,1±3,3 <sup>b</sup>	773±37,9 <sup>abc</sup>	54,0±6,2 <sup>ab</sup>	8,7±1,4 <sup>b</sup>	46,7±13,7 <sup>b</sup>	0,5±0,2 <sup>ab</sup>
SGA	Z0	29,2±3,6 <sup>ab</sup>	94,5±1,4 <sup>a</sup>	806±36,6 <sup>ab</sup>	58,0±7,6 <sup>ab</sup>	9,1±2,2 <sup>ab</sup>	49,4±21,3 <sup>ab</sup>	0,9±1,1 <sup>ab</sup>
	ZF	24,4±3,4 <sup>cd</sup>	93,5±0,9 <sup>ab</sup>	795±26,1 <sup>ab</sup>	60,4±5,2 <sup>a</sup>	10,4±1,8 <sup>a</sup>	62,9±17,7 <sup>a</sup>	0,7±0,4 <sup>ab</sup>

MS : matière sèche ; MO : matière organique ; VEM : unité fourragère lait ; DVE : protéines digestibles dans l'intestin ; MAT : matières azotées totales ; PBD : protéines brutes digestibles ; TC : tanins condensés. Pour une même série au sein d'une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (p.value>0,05).

**Tableau XVI: Synthèse de la composition chimique des échantillons**

Type sol	Traitement	CB(%MS)	NDF(%MS)	ADF(%MS)	ADL(%MS)	SSt(%MS)	Dig.(%MS)
MA	ZO	29,1±1,6 <sup>c</sup>	56,4±3,5 <sup>b</sup>	32,7±2,1 <sup>c</sup>	4,5±0,3 <sup>a</sup>	13,6±3,5 <sup>a</sup>	61,6±3,6 <sup>a</sup>
	ZF	31,4±1,2 <sup>ab</sup>	61,2±2,1 <sup>a</sup>	35,4±1,7 <sup>a</sup>	4,5±0,5 <sup>a</sup>	10,6±1,4 <sup>b</sup>	58,3±2,8 <sup>ab</sup>
MB	ZO	29,9±1,9 <sup>bc</sup>	56,8±3,4 <sup>b</sup>	33,5±2,1 <sup>bc</sup>	4,4±0,6 <sup>a</sup>	13,7±2,4 <sup>a</sup>	61,2±5,3 <sup>a</sup>
	ZF	31,8±1,2 <sup>a</sup>	61,4±2,6 <sup>a</sup>	35,5±1,3 <sup>a</sup>	4,4±0,5 <sup>a</sup>	10,5±2,3 <sup>b</sup>	56,8±4,4 <sup>b</sup>
SFV	ZO	29,4±1,9 <sup>bc</sup>	57,2±3,7 <sup>b</sup>	33,5±2,6 <sup>abc</sup>	4,4±0,6 <sup>a</sup>	15,4±1,2 <sup>a</sup>	61,1±5,3 <sup>ab</sup>
	ZF	30,5±1,7 <sup>abc</sup>	59,5±3,4 <sup>ab</sup>	34,9±1,7 <sup>abc</sup>	4,7±0,4 <sup>a</sup>	10,3±2,6 <sup>b</sup>	59,3±3,9 <sup>ab</sup>
SGA	ZO	29,5±2,4 <sup>c</sup>	57,2±3,7 <sup>b</sup>	33,9±1,6 <sup>abc</sup>	4,7±0,4 <sup>a</sup>	13,4±2,3 <sup>a</sup>	60,7±4,7 <sup>ab</sup>
	ZF	30,6±1,9 <sup>abc</sup>	58,8±3,1 <sup>ab</sup>	35,3±1,2 <sup>ab</sup>	4,7±0,3 <sup>a</sup>	9,8±2,6 <sup>b</sup>	60,8±2,9 <sup>ab</sup>

CB : cellulose brute ; NDF : neutral detergent fiber (correspond à la fraction d'hémicellulose, de la cellulose et de la lignine) ; ADF : acid detergent fiber (correspond à la fraction de cellulose et de lignine) ; ADL : acid detergent lignin (correspond à la fraction de lignine) ; SSt : sucres solubles totaux ; Dig. : digestibilité du fourrage. Pour une même série au sein d'une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (p.value>0,05).

**Tableau XVII: Synthèse de la teneur en minéraux des échantillons**

Type sol	Traitement	CT(%MS)	Ca(mg/KgMS)	P(mg/KgMS)	K(mg/KgMS)	Na(mg/KgMS)	Mg(mg/KgMS)
MA	ZO	6,5±0,9 <sup>ab</sup>	6717±1968 <sup>a</sup>	1999±325 <sup>c</sup>	15542±3703 <sup>b</sup>	705±426 <sup>a</sup>	1690±472 <sup>b</sup>
	ZF	7,5±1,1 <sup>ab</sup>	5545±1179 <sup>ab</sup>	2279±240 <sup>bc</sup>	20181±2542 <sup>a</sup>	696±329 <sup>ab</sup>	1558±260 <sup>b</sup>
MB	ZO	8,7±4,6 <sup>a</sup>	6924±2398 <sup>a</sup>	1935±558 <sup>c</sup>	17926±2576 <sup>ab</sup>	280±248 <sup>c</sup>	2212±452 <sup>a</sup>
	ZF	8,6±1,9 <sup>a</sup>	4939±1067 <sup>b</sup>	2170±509 <sup>bc</sup>	20579±2498 <sup>a</sup>	334±443 <sup>bc</sup>	1886±384 <sup>ab</sup>
SFV	ZO	7,0±1,7 <sup>ab</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
	ZF	8,9±3,3 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	ND	ND
SGA	ZO	5,5±1,4 <sup>b</sup>	5522±1308 <sup>ab</sup>	2457±481 <sup>ab</sup>	15184±3484 <sup>b</sup>	382±282 <sup>abc</sup>	1745±321 <sup>b</sup>
	ZF	6,5±0,9 <sup>ab</sup>	5432±1358 <sup>ab</sup>	2772±329 <sup>a</sup>	20658±3537 <sup>a</sup>	386±234 <sup>abc</sup>	1769±403 <sup>ab</sup>

CT : cendres totales ; Ca : calcium ; P : phosphore ; K : potassium ; Na : sodium ; Mg : magnésium ; ND : non disponible. Pour une même série au sein d'une même colonne, les moyennes suivies de la même lettre ne sont pas significativement différentes (p.value>0,05).

## 8.4 Facteurs influençant la teneur en tanins condensés des échantillons

### 8.4.1 Effet du traitement et du type de sol sur la teneur en tanins condensés des différents échantillons

Le tableau XVIII montre qu'il y a une variation de la teneur en tanins condensés entre les échantillons en fonction du traitement et du type de sol. De façon générale, la teneur en tanins

est plus importante chez les échantillons provenant des quadrats non fertilisés. La teneur de tanin la plus élevée (0,99 g/Kg MS) est observée au niveau des échantillons issus de quadrats situés sur les sols marneux acides (MA). Chez les échantillons issus de quadrats fertilisés, la teneur la plus élevée (0,69 g/Kg MS) de tanin est observée au niveau de ceux qui proviennent de quadrats situés sur des sols schisto-gréseux acides (SGA). Bien que toutes les conditions d'application du test Anova ne soient pas respectées malgré la transformation logarithmique effectuée sur la variable réponse « teneur en tanins », les résultats du test Anova présentés dans le tableau XVIII permettent de conclure qu'il y a une tendance à avoir une différence de teneur en tanins condensés dans les échantillons en fonction du facteur « Sol » ( $p.value < 0,1$ ). Selon la valeur du test de Fisher ( $F=2,68$ ) pour le facteur « sol », il y a 2 fois plus de différence de teneur en tanins condensés entre les échantillons issus de différents types de sol par rapport à ceux qui proviennent du même sol. Quant au facteur « Traitement », aucune différence de teneur en tanins condensés n'a été trouvée entre les échantillons provenant de quadrats fertilisés et ceux qui sont issus de quadrats non fertilisés. Toutefois, la valeur du test de Fisher ( $F=2.56$ ) indique que la teneur en tanins condensés des échantillons pourrait varier en fonction du traitement puisqu'il y a 2 fois plus de différence de teneur en tanins condensés entre les échantillons provenant de quadrats fertilisés et ceux qui sont issus de quadrats non fertilisés.

**Tableau XVIII: Moyenne de tanins condensés dans les échantillons en fonction du traitement et du type de sol**

Traitement	Sol			
	MA	MB	SFV	SGA
Z0	0,99	0,59	0,57	0,91
ZF	0,57	0,41	0,52	0,69
	SCE	Df	F	p.value
Intercept	43,421	1	121,34	<2,2e-16***
Traitement	0,918	1	2,5642	0,11203
Sol	2,878	3	2,6811	0,05011(.)
Traitement*Sol	0,401	3	0,3734	0,77236
Résidus	41,51	116		

Signification des codes : « \*\*\* »  $p.value < 0,001$  ; « . »  $p.value < 0,1$ .

#### 8.4.2 Effet des espèces végétales sur la teneur en tanins condensés des différents échantillons

Les résultats de l'analyse canonique de redondance (ACR ou RDA) présentés dans le tableau XIX indiquent que 88,83% de la variation de la teneur de tanins condensés dans les échantillons est expliquée par l'abondance des différentes espèces végétales identifiées dans les quadrats. Une sélection progressive des espèces significatives dans l'explication de la variation de la teneur en tanins condensés des différents échantillons a permis de sélectionner 10 espèces significatives parmi les 92 espèces identifiées (Tableau XX). Le tableau XXI montre que les 10 espèces

sélectionnées expliquent selon un modèle très hautement significatif ( $p.value < 0,001$ ) 52,36% de la variation totale de la teneur en tanins condensés dans les différents échantillons. Parmi les 10 espèces sélectionnées, *Saxifraga granulata* est très hautement significative ( $p.value < 0,001$ ) dans l'explication de la variation de la teneur en tanins condensés des différents échantillons.

**Tableau XIX: Résultat de la RDA sur la variation des TC en fonction de l'abondance des différentes espèces végétales**

	Variance	Proportion
Total	1	1
Expliquée	0,8883	0,8883
Non-expliquée	0,1117	0,1117

**Tableau XX: Espèces significatives dans la variation de la teneur en tanins condensés des différents échantillons**

	Df	Variance	F	Pr(>F)
<i>Rumex acetosella</i>	1	0,2155	50,2060	0,002**
<i>Poa pratensis</i>	1	0,05778	13,4602	0,002**
<i>Lotus corniculatus</i>	1	0,05352	12,4688	0,004**
<i>Saxifraga granulata</i>	1	0,05064	11,7986	0,001***
<i>Hieracium umbellatum</i>	1	0,03548	8,2661	0,026*
<i>Trifolium repens</i>	1	0,03056	7,1190	0,012*
<i>Sanguisorba minor</i>	1	0,02018	4,7024	0,032*
<i>Galium mollugo</i>	1	0,02318	5,4006	0,024*
<i>Stellaria graminea</i>	1	0,01813	4,2237	0,027*
<i>Plantago lanceolata</i>	1	0,01858	4,3297	0,033*
Résidus	111	0,47645		

**Tableau XXI: Résultat de l'ACR avec les variables significatives**

	Variance	Proportion
Total	1	1
Expliquée	0,5236	0,5236
Non-expliquée	0,4764	0,4764

	Df	Variance	F	Pr(>F)
Modèle	10	0,52355	12,197	0,001***
Résidus	111	0,47645		

## 9 DISCUSSION

### 9.1 Facteurs influençant la richesse spécifique et la composition floristique des quadrats

Les résultats présentés au niveau du tableau V montrent qu'il n'y a pas eu de variation significative ( $p.value=0,7$ ) de la richesse spécifique des quadrats en fonction du traitement appliqué (fertilisation ou non). Ceci pourrait être dû au temps relativement court entre la mise en place de l'essai (2020) et la collecte des données (2021). En effet, pour que les effets de la modification de pratique soient perceptibles sur la richesse spécifique des quadrats, il faudrait plus de temps. Ce constat est en accord avec les observations de Durant & Kerneis (2015) qui ont trouvé qu'il fallait plus de 7 années de suivi avant de voir les effets de la fertilisation sur la richesse floristique. Ces résultats ont surtout montré que le type de sol de la parcelle a tendance à avoir une influence sur la richesse spécifique des quadrats ( $p.value<0,1$ ). Ceci corrobore avec les observations de Janssen *et al.*, 1998. En effet, ces auteurs ont trouvé que la richesse spécifique des prairies pouvait être modifiée par les caractéristiques chimiques des sols. Selon la teneur du sol en macronutriments tels que le phosphore et le potassium, et aussi en fonction du pH et de la teneur en matière organique du sol, la richesse spécifique des prairies peut augmenter ou diminuer.

En ce qui concerne la composition floristique des quadrats, aucun effet significatif n'a été observé avec la variable « traitement ». Ceci voudrait dire que la dose de 50 Kg N/ha apportée sur les parcelles n'était pas assez importante pour induire un changement au niveau de la flore initiale. A cela s'ajoute aussi la durée d'application du traitement qui est assez courte et qui ne permet pas d'observer l'effet du traitement sur la dynamique de la flore (Durant & Kerneis, 2015). La dose de fertilisant apportée n'a donc pas d'impact sur le niveau de conservation des parcelles à court terme. Elle pourrait être un bon compromis pour les agriculteurs pour améliorer la production fourragère et préserver l'état de conservation des prairies. Concernant la variable « sol », elle a eu un effet très hautement significatif ( $p.Value<0,001$ ) sur la composition floristique des quadrats. En effet, selon le type de sol, il y a eu une différence au niveau de la composition floristique des parcelles. Les résultats présentés au tableau VII permettent de comprendre que certaines espèces sont inféodées à des types particuliers de sol. Cela pourrait s'expliquer par le fait que les caractéristiques chimiques de chaque type de sol favorisent de façon sélective le développement de ces plantes. Ainsi, en dehors des espèces caractéristiques de l'habitat 6510 (*Arrhenatherum elatius*, *Crepis biennis*, *Pimpinella major*, *Tragopogon pratensis*, *Alchemilla xanthochlora*), on retrouve de façon particulière les espèces indicatrices de chaque type de sol dans le tableau VII. Ces espèces sont soit nitrofuges (*Carex caryophylllea*, *Saxifraga granulata*), soit nitrophiles (*Trifolium dubium*, *Cerastium glomeratum*), soit basiphiles (*Medicago lupulina*, *Plantago lanceolata*, *Veronica agrestis*, *Géranium molle*, *Hypericum perforatum*), soit hygrophiles (*Ajuga reptans*, *Colchicum autumnale*, *Filipendula ulmaria*, *Cirsium palustre*, *Potentilla reptans*, *Holcus lanatus*), soit caractéristiques des pâturages (*Bellis perennis*), soit des espèces prairiales à large amplitude écologique (*Festuca pratensis*), soit acidiphiles (*Rumex acetosa*, *Myosotis discolor*) (Delescaille *et al.*, 2021). La présence des espèces de plante telles que *Colchium*

*autumnale* et *Myosotis discolor* dans les prairies indique une bonne conservation de ces dernières car ces deux espèces font parties respectivement des catégories « vulnérable » et « en voie de disparition » selon la liste rouge des plantes vasculaires du Luxembourg (Colling, 2005).

## 9.2 Facteurs influençant le rendement des quadrats

Le fait que les quadrats ayant reçu des doses de fertilisant présentent des rendements élevés par rapport à ceux qui n'ont pas reçu de fertilisant est un effet assez direct de l'optimisation de la croissance des plantes et plus particulièrement des graminées grâce entre autres à l'azote, ce qui conduit à une forte production de biomasse. Cependant, l'optimisation de la production de biomasse par l'apport de fertilisant azoté est conditionnée par le type de sol du quadrat. En effet, selon que l'on soit sur des sols riches ou pauvres en nutriments, un type particulier de végétation sera plus développé. Ainsi, sur les sols riches en nutriments, les graminées sont favorisées et elles produisent beaucoup de biomasse. Tandis que sur les sols pauvres en nutriments, ce sont les légumineuses qui sont favorisées.

Selon le tableau X, 84,22% du rendement est influencé par l'abondance des espèces présentes dans les quadrats, principalement par celle de *Poa trivialis*. Cette espèce explique à elle seule 27,18% de la variation totale de rendement entre les différents quadrats. Cela pourrait être dû au fait que *Poa trivialis* ait un développement un peu plus précoce que les autres espèces de plantes et avec ses stolons, elle occupe très rapidement les espaces vides dans les quadrats, talles fortement et prolifères. Ainsi, elle limite le développement des autres plantes. L'espèce *Poa trivialis* est une espèce basiphile et eutrophile qui se développe préférentiellement dans les milieux frais, humide et riche en nutriments.

## 9.3 Effet de l'abondance des espèces végétales sur la composition chimique des échantillons :

Les résultats présentés au tableau XIII indiquent que 96,48% de la variation de la composition chimique des échantillons est due à l'abondance des espèces végétales présentes dans les différents quadrats. Ceci voudrait dire qu'en fonction des espèces végétales présentes dans une prairie et en fonction de leur part dans le fourrage, la valeur alimentaire du fourrage produit pourrait être influencée. Ces résultats sont en accord avec ceux de Baumont *et al.* (2008) qui ont trouvé qu'à un même stade de développement, les différentes espèces fourragères d'une prairie ont des valeurs alimentaires différentes et elles influencent fortement la valeur alimentaire du fourrage. Cela est d'autant plus vrai avec les résultats présentés à la figure 11. En effet, cette figure montre que les 24 espèces significatives dans l'explication de la variation de la composition chimique entre les différents échantillons ont des corrélations différentes avec les constituants chimiques du fourrage. Ainsi, dans une prairie multispécifique, il y a des espèces qui contribuent majoritairement aux apports en minéraux, énergie et azote du fourrage en fonction de leur famille botanique, graminée ou légumineuse. De ce fait, l'agriculteur doit avoir une bonne pratique de gestion de sa prairie afin d'assurer la production de fourrage de qualité qui puisse satisfaire les besoins des animaux. En effet, il doit par exemple raisonner ses apports en fertilisant



azoté pour ne pas favoriser le développement des graminées au détriment des légumineuses qui sont plus riches en matières azotées et moins encombrant à cause de leur faible teneur en parois végétales (Baumont *et al.*, 2009).

La diminution de la digestibilité et de la valeur énergétique du fourrage observée sur les parcelles fertilisées serait due à l'augmentation de la teneur en parois végétales dans le fourrage selon Demarquilly & Andrieu (1988). En effet, avec la fertilisation les graminées croissent rapidement au détriment des légumineuses. Ceci a pour conséquence une augmentation de la teneur en parois végétales dans le fourrage car les graminées sont plus riches en parois que les légumineuses (Baumont *et al.*, 2008). La variation observée au niveau de la digestibilité et de la valeur énergétique du fourrage avec la fertilisation n'est cependant pas significative à court terme.

#### 9.4 Facteurs influençant la teneur en tanins condensés des échantillons

Les résultats de l'analyse de la teneur en tanins condensés des différents échantillons présentés au tableau XVIII ont montré que le traitement n'a pas permis d'avoir une variation significative de la teneur en tanins condensés. Ceci pourrait être dû à la courte durée de l'essai et de la fertilisation qui n'a pas permis d'avoir une importante croissance des plantes au moment de la récolte. En effet, Aufrère *et al.* (2012) ont émis l'hypothèse qu'avec l'évolution du stade de développement des plantes, la proportion de feuilles, plus riche en tanins condensés diminue et cela pourrait avoir pour conséquence une réduction de la teneur en tanins condensés dans la plante.

Par contre, une tendance à avoir une différence de teneur en tanins condensés a été observée avec le type de sol. La valeur la plus élevée de tanins condensés 0,99 g/Kg MS a été enregistrée au niveau des quadrats non fertilisés situés sur des sols marneux acides. Ce résultat corrobore avec ceux de Barry & Manley (1984) qui ont trouvé que la teneur en tanins condensés chez le *Lotus pedunculatus* est plus élevée sur des sols moins fertiles, et faible sur des sols riches en nutriments. Avec la fertilisation, une diminution de la teneur en tanins condensés a été observée dans les échantillons. Ce constat montre qu'avec la fertilisation des prairies, on peut diminuer la teneur en tanins condensés des plantes fourragères. Ceci présente un intérêt pour l'agriculteur au niveau de la valorisation du fourrage par les ruminants. En effet, s'il est reconnu que les tanins condensés présent dans le fourrage jouent d'important rôle au niveau de la digestion des protéines et la lutte contre les parasites gastro-intestinaux, il est aussi bien de noter que l'effet bénéfique de ces métabolites secondaires dépend de leur concentration dans le fourrage. Lorsque les tanins condensés sont à faible dose ou à dose moyenne dans le fourrage (20-45 g TC/Kg MS), ils participent efficacement à la nutrition et à la santé animale (Min *et al.*, 2003). Cependant, lorsqu'ils ont une forte concentration dans le fourrage (> 55g TC/Kg MS), ils réduisent l'ingestion, la digestibilité et le taux de croissance chez les ruminants (Min *et al.*, 2003).

Les 10 espèces expliquant une grande part de la variabilité (52,36%, Tableau XXI) semblent avoir une teneur plus élevée en tanins condensés par rapport aux autres espèces. En effet, la teneur

en tanins condensés varie beaucoup entre les différentes espèces végétales, les familles botaniques (graminées ou légumineuses) et aussi en fonction du stade de développement végétatif des espèces (Aufrère *et al.*, 2012). Parmi les 10 espèces sélectionnées, une d'entre elles a eu un effet très hautement significatif ( $p\text{-Value} < 0,001$ ) dans l'explication de la variabilité de la teneur en tanins condensés entre les échantillons. Ceci pourrait être dû à la différence de stade de développement végétatif entre les espèces et aussi à la différence de partie végétale récoltée. *Sanguisorba minor* par exemple est riche en tanins mais ses métabolites secondaires sont concentrés au niveau de ses racines. De ce fait, une exploitation foliaire désavantage cette espèce dans sa contribution à la teneur totale en tanins du fourrage. En connaissant les espèces riches en tanins condensés, l'agriculteur peut favoriser leur présence dans la prairie pour améliorer la valorisation alimentaire du fourrage produit. En effet, la présence des plantes riches en tanins condensés dans le fourrage permet d'améliorer la digestion des protéines en réduisant la part d'azote urinaire au profit de l'azote fécale (Min *et al.*, 2003). Aussi, la présence de tanins condensés dans le fourrage aide à lutter contre les nématodes gastro-intestinaux. L'agriculteur pourra bénéficier aussi d'une bonne conservation de l'ensilage sans ajout de conservateur car les tanins condensés se fixent aux protéines pour entraîner une moindre hydrolyse de ces derniers (Theodoridou *et al.*, 2012).

## 10 CONCLUSION

Ce travail de fin d'étude avait pour ambition de définir entre les deux mesures MAEC (P3B et P4B) celle qui contribue au mieux à la préservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique. Au moyen de la vérification des hypothèses de recherche : impact de l'apport de 50 Kg N/ha sur la composition floristique des prairies, la composition chimique et la teneur en tanin condensé des fourrages, il a été possible d'étudier l'impact de l'apport de cette dose de fertilisant azoté sur l'état de conservation de la biodiversité dans ces prairies.

Il ressort de ce travail que la dose de 50 Kg N/ha apportée dans les prairies est un bon compromis à court terme pour les agriculteurs pour augmenter leur production fourragère sans impacter l'état de conservation de la prairie. Cet apport pourrait aussi contribuer à améliorer la valorisation du fourrage par les ruminants en réduisant la teneur en tanins condensés.

La mesure P3B peut donc être conseillée aux agriculteurs pour accroître leur rendement en biomasse sans toutefois impacter l'état de conservation de leur prairie.

Toutefois, cette étude n'a porté que sur une seule coupe avec une période d'essai relativement courte et sur une région limitée, celle du Grand-Duché de Luxembourg. L'interprétation des résultats sur l'impact de cet apport de 50 Kg N/ha sur la conservation de la biodiversité dans les prairies à haute valeur biologique est faite avec beaucoup de prudence car les résultats pourraient être tout autre avec plusieurs cycles de coupe et dans un autre environnement. Il serait pertinent d'effectuer cette étude dans d'autres pays partageant les mêmes conditions pédoclimatiques et environnementales que le Grand-Duché de Luxembourg pour confirmer les résultats obtenus et les approfondir sur d'autres aspects.

## 11 PERSPECTIVES

Une première étape pour continuer ce travail serait d'analyser aussi le fourrage de la deuxième coupe pour voir la variation de tanins condensés et de composition chimique des différents échantillons, et aussi pour voir la variation de rendement dans les différents quadrats.

Une comparaison de la proportion de graminées et de légumineuses entre les différents cycles de coupe et aussi entre les différents quadrats, fertilisés et non fertilisés pourrait être réalisée afin de voir l'effet de l'apport des 50 Kg N/ha sur l'évolution de la composition floristique dans les différents quadrats à plus long terme.

Il serait intéressant de déterminer chez chaque espèce, le type de tanins présent ainsi que sa structure chimique afin de l'utiliser comme standard pendant le dosage des tanins pour avoir des valeurs plus précises sur la teneur en tanins chez ces espèces. Aussi, la détermination du type de tanins présent dans les espèces végétales pourrait permettre de prévenir les risques de toxicité chez les animaux liés principalement à la consommation de plantes riches en tanins hydrolysables.

Pour ce travail, il est difficile de comparer les résultats de la teneur en tanins condensés et de la composition chimique des fourrages avec ceux de la littérature pour le simple fait que les échantillons proviennent de prairies multispécifiques. L'idéal serait de faire une analyse de la composition chimique et de la teneur en tanins condensés pour chaque espèce végétale afin d'avoir une vue plus claire de l'évolution de ces paramètres chez chaque espèce végétale après l'apport des 50 Kg N/ha.

## 12 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Anon., 2018. Luxembourg-Programme de développement rural. 2014-2020. Consulté le 17/09/2022. <https://agriculture.public.lu/dam-assets/publications/ma/pdr2014-2020/Programme-2014LU06RDNP001-3-1-fr.pdf>
- Anon., 2019. Luxembourg 2030. 3ème Plan National pour un Développement Durable. Consulté le 17/09/2022. <https://mint.gouvernement.lu/dam-assets/circulaires/2020/janvier-juin/3764-PNDD.pdf>
- Anon., 2022. Le Luxembourg en chiffres. Statec. Consulté le 30/09/2022. <https://luxembourg.public.lu/dam-assets/publications/le-luxembourg-en-chiffres/luxembourg-chiffres.pdf>
- Aufrere, J., Theodoridou, K., & Baumont, R. (2012). Valeur alimentaire pour les ruminants des légumineuses contenant des tannins condensés en milieux tempérés.
- Barbehenn, R. V., & Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant-herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551-1565.
- Barnes, R. F., Nelson, C. J., Moore, K. J., & Collins, M. (2007). Forages: the science of grassland agriculture Volume II. Forages: the science of grassland agriculture Volume II., (Ed. 6). 355-377.
- Barry, T. N., & Duncan, S. J. (1984). The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 1. Voluntary intake. *British journal of nutrition*, 51(3), 485-491.
- Barry, T. N., & Manley, T. R. (1984). The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep: 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *British Journal of Nutrition*, 51(3), 493-504.
- Batáry, P., Dicks, L. V., Kleijn, D., & Sutherland, W. J. (2015). The role of agri-environment schemes in conservation and environmental management. *Conservation Biology*, 29(4), 1006-1016.
- Baumont, R., Aufrere, J., & Meschy, F. (2009). La valeur alimentaire des fourrages: rôle des pratiques de culture, de récolte et de conservation. *Fourrages*, 198(198), 153-173.
- Baumont, R., Aufrere, J., Niderkorn, V., Andueza, J. D., Surault, F., Peccatte, J. R., ... & Pelletier, P. (2008). La diversité spécifique dans le fourrage: conséquences sur la valeur alimentaire. *Fourrages*, 194, 189-206.
- Blaser, R. E. (1964). Symposium on forage utilization: Effects of fertility levels and stage of maturity on forage nutritive value. *Journal of Animal Science*, 23(1), 246-253.
- Braun-Blanquet, J., & Thellung, A. (1919). Observations sur la végétation et sur la flore des environs de Zermatt. *Bulletin de la Murithienne*, (41), 18-55.

- Broadhurst, R. B., & Jones, W. T. (1978). Analysis of condensed tannins using acidified vanillin. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 29(9), 788-794.
- Brooker, J. D., O'donovan, L. A., Skene, I., Clarke, K., Blackall, L., & Muslera, P. (1994). *Streptococcus caprinus* sp. nov., a tannin-resistant ruminal bacterium from feral goats. *Letters in Applied Microbiology*, 18(6), 313-318.
- Butter, N. L., Dawson, J. M., Wakelin, D., & Buttery, P. J. (2000). Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. *The Journal of Agricultural Science*, 134(1), 89-99.
- Campos, F. P. D., Nicácio, D. R. O., Sarmiento, P., Cruz, M. C. P., Santos, T. M., Faria, A. F. G., ... & Lima, C. G. D. (2016). Chemical composition and in vitro ruminal digestibility of hand-plucked samples of Xaraes palisade grass fertilized with incremental levels of nitrogen. *Animal Feed Science and Technology*, 215, 1-12.
- Cohen, A. C., Bottini, R., Pontin, M., Berli, F. J., Moreno, D., Boccanlandro, H., ... & Piccoli, P. N. (2015). *Azospirillum brasilense* ameliorates the response of *Arabidopsis thaliana* to drought mainly via enhancement of ABA levels. *Physiologia Plantarum*, 153(1), 79-90.
- Colling, G. (2005). *Red list of the vascular plants of Luxembourg*. Musée national d'histoire naturelle.
- Coudrain, V., & Suisse, A. R. (2010). *Les prairies sèches du Bois de Chênes de Genolier: étude comparative de l'impact du mode de gestion sur la biodiversité*. A Rocha Suisse.
- Decruyenaere, V., Houba, Q., Stilmant, D., Philippe, A., & Bindelle, J. (2009). Ingestibilité et valeur alimentaire des foin issus de prairies de haute valeur biologique. *Filière Ovine et Caprine*, 29.
- Delaby, L. (2000). Effet de la fertilisation minérale azotée des prairies sur la valeur alimentaire de l'herbe et les performances des vaches laitières au pâturage. *Fourrages*, (164), 421-436.
- Delagarde, R., Peyraud, J. L., & Delaby, L. (1999). Influence of carbohydrate or protein supplementation on intake, behaviour and digestion in dairy cows strip-grazing low-nitrogen fertilized perennial ryegrass. In *Annales de Zootechnie (France)*.
- Delescaille L.-M., Wibail L., Claessens H., Dufrêne M., Mahy G., Peeters A. et Sérusiaux E. (éditeurs) (2021). Les Habitats d'Intérêt Communautaire de Wallonie. Publication du Département de l'Étude du Milieu Naturel et Agricole (SPW ARNE ), Série « Faune – Flore – Habitat » n° 10, Gembloux : 1011 p.
- Demarquilly C. (1970). Influence de la fertilisation azotée sur la valeur alimentaire des fourrages verts, *Ann. Zootech.*, 19, 423-437.
- Demarquilly C. (1977). Fertilisation et qualité du fourrage, *Fourrages*, 69, 61-84.
- Demarquilly, C., & Andrieu, J. (1988). Les fourrages.

- Dollahite, J. W., Pigeon, R. F., & Camp, B. J. (1962). The toxicity of gallic acid, pyrogallol, tannic acid, and *Quercus havardi* in the rabbit. *American journal of veterinary research*, 23, 1264-1267.
- Duarte, C. F. D., Cecato, U., Hungria, M., Fernandes, H. J., Biserra, T. T., Galbeiro, S., ... & da Silva, D. R. (2020). Morphogenetic and structural characteristics of *Urochloa* species under inoculation with plant-growth-promoting bacteria and nitrogen fertilisation. *Crop and Pasture Science*, 71(1), 82-89.
- Durant, D., & Kerneis, E. (2015). Effets de la fertilisation sur la production, la valeur nutritive et la diversité floristique d'une prairie de fauche en marais charentais. *Fourrages*, 222, 157-165.
- Eurostat. (2020). Crop production in EU standard humidity. In : Stat. Eurostat. Consulté le 15/09/2022.[https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/TAG00025\\_\\_custom\\_3378145/default/table?lang=en](https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/TAG00025__custom_3378145/default/table?lang=en)
- FAO. 2021. World Food and Agriculture – Statistical Yearbook 2021. Rome. <https://doi.org/10.4060/cb4477en>
- Foley, J. A., Ramankutty, N., Brauman, K. A., Cassidy, E. S., Gerber, J. S., Johnston, M., ... & Zaks, D. P. (2011). Solutions for a cultivated planet. *Nature*, 478(7369), 337-342.
- Folin, O., & Ciocalteu, V. (1927). On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *J. biol. Chem*, 73(2), 627-650.
- FOOD, O. N. T. I. Quantification of tannins in tree foliage.
- Frutos, P., Hervas, G., Giráldez, F. J., & Mantecón, A. R. (2004). Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2(2), 191-202.
- Gea, A., Stringano, E., Brown, R. H., & Mueller-Harvey, I. (2011). In situ analysis and structural elucidation of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) tannins for high-throughput germplasm screening. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(2), 495-503.
- Gouvernement du Grand-Duché de Luxembourg. 2022. Rapport d'activité 2021. Consulté le 25/09/2022.<https://gouvernement.lu/dam-assets/fr/publications/rapport-activite/minist-agriculture-viticulture-protection-consommateurs/2021-rapport-activite-ma/2021-rapport-activite-ma.pdf>
- Hagerman, A. E. (1987). Radial diffusion method for determining tannin in plant extracts. *Journal of Chemical Ecology*, 13(3), 437-449.
- Hagerman, A. E., & Butler, L. G. (1991). Tannins and lignins. *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*, 1, 355-388.
- Hervás, G., Pérez, V., Giráldez, F. J., Mantecón, A. R., Almar, M. M., & Frutos, P. (2003). Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. *Journal of Comparative Pathology*, 129(1), 44-54.

- Holmes, W. (1968). The use of nitrogen in the management of pasture for cattle. In *Herbage Abstracts* (Vol. 38, pp. 265-277).
- Janssens F., Peeters A., Tallowin J.R.B., Bakker J.P., Fillat F. and Oomes M.J.M. (1998) Relationship between soil chemical factors and grassland diversity. *Plant and Soil* 202 : 69-78.
- Johnson, C. R., Reiling, B. A., Mislevy, P., & Hall, M. B. (2001). Effects of nitrogen fertilization and harvest date on yield, digestibility, fiber, and protein fractions of tropical grasses. *Journal of animal science*, 79(9), 2439-2448.
- Knoden, D., Crémer, S., & Lambert, R. (2007). Fertilisation raisonnée des prairies.
- Lamy, E., Da Costa, G., Santos, R., Capela e Silva, F., Potes, J., Pereira, A., ... & Sales Baptista, E. (2011). Effect of condensed tannin ingestion in sheep and goat parotid saliva proteome. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 95(3), 304-312.
- Leinmüller, E., Steingass, H., & Menke, K. H. (1991). Tannins in ruminant feedstuffs. *Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research*, 33, 9-62.
- Li, Y. G., Tanner, G., & Larkin, P. (1996). The DMACA–HCl protocol and the threshold proanthocyanidin content for bloat safety in forage legumes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70(1), 89-101.
- Makkar, H. P. S. (2001, November). Chemical, protein precipitation and bioassays for tannins, effects and fate of tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. In *SEMINAR OF THE FAO-CIHEAM SUB-NETWORK ON SHEEP AND GOAT NUTRITION* (Vol. 9). Vienna: FAOIAEA.
- Makkar, H. P. S. (2003). Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small ruminant research*, 49(3), 241-256.
- Makkar, H. P. S., & Singh, B. (1992). Effect of wood ash on tannin content of oak (*Quercus incana*) leaves. *Bioresource technology*, 41(1), 85-86.
- McArthur, C., Sanson, G. D., & Beal, A. M. (1995). Salivary proline-rich proteins in mammals: roles in oral homeostasis and counteracting dietary tannin. *Journal of Chemical Ecology*, 21(6), 663-691.
- McMahon, L. R., McAllister, T. A., Berg, B. P., Majak, W., Acharya, S. N., Popp, J. D., ... & Cheng, K. J. (2000). A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80(3), 469-485.
- McSweeney, C. S., Palmer, B., Kennedy, P. M., & Krause, D. O. (1998). Effects of Calliandra tannins on rumen microbial function.
- McSweeney, C. S., Palmer, B., McNeill, D. M., & Krause, D. O. (2001). Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal feed science and technology*, 91(1-2), 83-93.



- Min, B. R., & Hart, S. P. (2003). Tannins for suppression of internal parasites. *Journal of Animal Science*, 81(14\_suppl\_2), E102-E109.
- Min, B. R., Barry, T. N., Attwood, G. T., & McNabb, W. C. (2003). The effect of condensed tannins on the nutrition and health of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Animal feed science and technology*, 106(1-4), 3-19.
- Minns, A., Finn, J., Hector, A., Caldeira, M., Joshi, J., Palmborg, C., ... & Andreas Troumbis and the BIODEPTH project. (2001). The functioning of European grassland ecosystems: potential benefits of biodiversity to agriculture. *Outlook on AGRICULTURE*, 30(3), 179-185.
- Molan, A. L., Waghorn, G. C., Min, B. R., & McNabb, W. C. (2000). The effect of condensed tannins from seven herbages on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration in vitro. *Folia parasitologica*, 47(1), 39-44.
- Montossi, F., Hodgson, J., Morris, S. T., & Risso, D. F. (1996). Effects of condensed tannins on animal performance in lambs grazing Yorkshire fog (*Holcus lanatus*) and annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) dominant swards. In *PROCEEDINGS-NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PRODUCTION* (Vol. 56, pp. 118-121). NEW ZEALAND SOCIETY OF ANIMAL PROD PUBL.
- Mueller-Harvey, I., & McAllan, A. B. (1992). Tannins: their biochemistry and nutritional properties. *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*, 1, 151-217.
- Nösberger, J., & Rodriguez, M. (1996). Increasing biodiversity through management. *Grassland science in Europe*, 1, 949-956.
- Oliveira, J. K. D., Corrêa, D. C. D. C., Cunha, A. M., Rêgo, A. C. D., Faturi, C., Silva, W. L. D., & Domingues, F. N. (2020). Effect of nitrogen fertilization on production, chemical composition and morphogenesis of guinea grass in the humid tropics. *Agronomy*, 10(11), 1840.
- Patra, A. K., & Saxena, J. (2011). Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 24-37.
- Petit, J., & Jobin, P. (2005). *La fertilisation organique des cultures: les bases*. Fédération d'agriculture biologique du Québec.
- Peyraud, J. L., & Astigarraga, L. (1998). Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: consequences on animal nutrition and N balance. *animal Feed science and technology*, 72(3-4), 235-259.
- Porter, L. J., Hrstich, L. N., & Chan, B. G. (1986). The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*, 25(1), 223-230.
- Rouxhet, S., Halford, M., Goret, T., Walot, T., Le Roi, A., Thirion, M., & Mulders, C. (2007). Programme Agro-environnemental en Région Wallonne. Vade-mecum relatif à l'avis technique dans le cadre du programme agro-environnemental. Méthode 8: Prairie de haute valeur biologique.

- Schüpbach, B., Grünig, A., & Walter, T. (2004). Grassland and landscape aesthetics. *Grassland and landscape aesthetics*, 186-188.
- Szumacher-Strabel, M., & Cieślak, A. (2012). Dietary possibilities to mitigate rumen methane and ammonia production. In *Greenhouse Gases-Capturing, Utilization and Reduction*. IntechOpen.
- Tavendale, M. H., Meagher, L. P., Pacheco, D., Walker, N., Attwood, G. T., & Sivakumaran, S. (2005). Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology*, 123, 403-419.
- Terrill, T. H., Rowan, A. M., Douglas, G. B., & Barry, T. N. (1992). Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(3), 321-329.
- Theodoridou, K., Aufrere, J., Andueza, D., Le Morvan, A., Picard, F., Pourrat, J., & Baumont, R. (2012). Effects of condensed tannins in wrapped silage bales of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Animal*, 6(2), 245-253.
- Van Vuuren, A. M., Krol-Kramer, F., Van der Lee, R. A., & Corbijn, H. (1992). Protein digestion and intestinal amino acids in dairy cows fed fresh *Lolium perenne* with different nitrogen contents. *Journal of dairy science*, 75(8), 2215-2225.
- Vasques, I. C., Souza, A. A., Moraes, E. G., Benevenuto, P. A., da Silva, L. D. C., Homem, B. G., ... & Silva, B. M. (2019). Improved management increases carrying capacity of Brazilian pastures. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 282, 30-39.
- Vicente-Chandler, J., Silva, S., & Figarella, J. (1959). The Effect of Nitrogen Fertilization and Frequency of Cutting on the Yield and Composition of Three Tropical Grasses 1. *Agronomy Journal*, 51(4), 202-206.
- 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(1-3), 116-139.
- Waghorn, G. C., Shelton, I. D., McNabb, W. C., & McCutcheon, S. N. (1994). Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *The journal of agricultural science*, 123(1), 109-119.
- Yisehak, K., Becker, A., Rothman, J. M., Dierenfeld, E. S., Marescau, B., Bosch, G., ... & Janssens, G. P. J. (2012). Amino acid profile of salivary proteins and plasmatic trace mineral response to dietary condensed tannins in free-ranging zebu cattle (*Bos indicus*) as a marker of habitat degradation. *Livestock Science*, 144(3), 275-280.