

Relation entre la composition botanique de végétations de montagne et leur composition en composés volatils

C. Bugaud¹, A. Bornard², A. Hauwuy³,
B. Martin⁴, J.C. Salmon¹, L. Tessier¹, S. Buchin¹

Dans la recherche de données objectives sur le lien fromage - terroir, il est nécessaire de comprendre comment les végétations influencent les caractéristiques sensorielles des fromages. Dans cette perspective, une étude conduite sur des prairies de montagne des Alpes du Nord met en lumière les relations entre composition botanique et composition en composés volatils.

RESUME

L'étude des relations entre les compositions botaniques et en composés volatils de 10 végétations de montagne (situées entre 850 et 1 800 m d'altitude) a permis de mettre en évidence plusieurs types de profils en composés volatils. Ces profils se distinguent par la richesse et la nature des composés volatils, notamment en terpènes. Ils ont pu être associés à des profils botaniques, en considérant les abondances respectives dans la végétation des graminées et des différentes familles de dicotylédones. Les végétations riches en graminées sont pauvres en composés volatils. En revanche, les végétations les plus riches en ombellifères sont les plus riches en terpènes.

MOTS CLES

Alpes, composé volatil, composition chimique, facteur milieu, foin, fourrage, maïs, montagne, pâturage de montagne, typologie de la végétation, végétation.

KEY-WORDS

Alps, chemical composition, environmental factor, forage, hay, highland, maize, upland grazing, vegetation, vegetation typology, volatile compound.

AUTEURS

1 : Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Station de Recherches en Technologie et Analyses Laitières, BP 89, F-39800 Poligny.

2 : Cemagref, BP 76, F-38402 Saint-Martin-d'Hères.

3 : Groupement d'Intérêt Scientifique des Alpes du Nord, 11, rue Métropole, F-73000 Chambéry.

4 : Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), Unité de Recherches sur les Herbivores, Theix, F-63122 Saint-Genès-Champagnelle.

CORRESPONDANCE

e-mail : buch@poligny.inra.fr

Introduction

Le fourrage, base de l'alimentation des animaux, est un élément important du lien entre le terroir et la typicité des fromages (Grappin et Coulon, 1996). Notamment, la composition botanique des végétations exploitées, qui dépend à la fois du milieu naturel et des pratiques fourragères, influence les caractéristiques sensorielles des fromages (Buchin *et al.*, 1999).

L'une des hypothèses invoquées dans la relation entre la végétation et le fromage est celle du transfert direct de composés volatils au fromage, via le lait. Cette hypothèse s'appuie sur les travaux de Bosset *et al.* (1994, 1999), Dumont *et al.* (1981), Dumont et Adda (1978) qui ont montré que les fromages d'alpage sont plus riches en terpènes volatils (mono et sesquiterpènes) que les fromages issus de végétations de basse altitude. Selon eux, ces composés spécifiques des fromages d'alpages proviennent directement des plantes consommées par les vaches. Récemment, sur des fourrages conservés, des travaux ont montré une relation étroite entre les compositions en terpènes des fourrages et des laits (Viallon *et al.*, 2000) ou des fromages (Viallon *et al.*, 1999). Ces composés pourraient être d'excellents " traceurs botaniques " dans les produits laitiers (Jeangros *et al.*, 1999).

Chung *et al.* (1993) ont noté que les terpènes extraits d'une plante (*Aster scaber*) présentent des notes de " fruité ", de " boisé ", de " floral " ou d'" herbacé ", alors que l'impact aromatique de ces composés présents dans les produits laitiers n'a pas été étudié. En revanche, d'autres composés volatils comme les composés carbonylés, les alcools ou les esters, également suspectés être transférés de l'herbe au lait, seraient responsables d'odeurs dans le lait (Woods et Auran, 1963 ; Honkanen *et al.*, 1964).

Si beaucoup de travaux ont caractérisé les composés volatils d'espèces végétales, seuls Mariaca *et al.* (1997) et Cornu *et al.* (2000) se sont intéressés aux espèces de montagne intervenant dans la filière de production du fromage. Par contre, aucune étude n'a tenté d'aborder cet aspect aromatique sur l'ensemble d'un peuplement végétal complexe regroupant de nombreuses espèces.

Notre objectif a été de mettre en évidence une relation entre la composition botanique de végétations de montagne et la teneur en composés volatils de l'ensemble du peuplement végétal. Pour cela, notre étude a été conduite dans la zone d'Appellation d'Origine Contrôlée du fromage d'Abondance en choisissant des végétations les plus diverses possibles couvrant différents types de milieu (en particulier en terme d'altitude) et de pratiques fourragères. Cette étude s'inscrit dans le cadre d'un travail qui a pour objectif de comprendre comment des végétations contribuent aux caractéristiques sensorielles des fromages et dont les premiers résultats ont déjà été présentés (Bugaud *et al.*, 2000a et 2000b). Nous nous intéressons en particulier à la relation entre la diversité en composés volatils des pâturages et la diversité aromatique des fromages.

Matériel et méthodes

1. Choix des végétations

L'expérimentation a été conduite dans la zone d'Appellation d'Origine Contrôlée du fromage d'Abondance (Haute-Savoie) sur des prairies de vallée (V) et des végétations d'alpage (M) exploitées par 3 producteurs au cours des périodes printanière et estivale de l'année 1998. Les végétations ont été choisies dans une gamme suffisamment diversifiée et variée pour couvrir différents types de milieu naturel (altitude, sol, exposition) et de pratiques fourragères (niveau de fertilisation, rythme d'utilisation). La localisation, le cycle végétal ainsi que les modes d'utilisation de ces surfaces fourragères sont présentés dans le tableau 1. Au total, 10 " secteurs de végétation " ont été pris en compte, chacun correspondant à des ensembles de végétation bien typés.

Par ailleurs, un maïs vert récolté au début de septembre et un foin récolté à 800-900 m d'altitude sur des végétations naturelles du sub-montagnard (Plateau des Bornes, Haute-Savoie) ont été également étudiés. Le foin était composé pour moitié d'un foin de première coupe, fauché entre le 1^{er} et le 10 Juin 1997 et séché en grange, et d'un foin de troisième coupe, séché au sol. Au moment de la récolte, le maïs vert a été broyé.

Tableau 1 : Caractéristiques générales des végétations : localisation, nature du milieu et pratiques fourragères.*Table 1 : General characteristics of the vegetations : location, environmental features, forage practices.*

Végétation	Lieu	Altitude (m)	Exposition	Surface pâturée*	Type de sol	Cycle végétal	Stade du dactyle**	Fertilisation*	Pâturage (p) & fauche (f)	Période d'étude
VZ1	Boège	850	sud-est	2	molasse	1	MM	20	3p + 1f + 1p	12-16 mai
VZ2	"	"	"	2	du	2	6 s	30	3f + 1p	12-17 juill.
VZ3	"	"	"	1	quaternaire	3	8 s	20	1f + 2p	4-10 sept.
VX1	Abondance	1060	nord-est	1	moraines du	1	PE	40	1p + 1f + 1p	23-26 mai
VX2	"	1020	nord	4	quaternaire	1	PE	0	1p + 1f + 1p	27-30 mai
MY2	Abondance	1700-1750	est	5	brèche	1	DE	0	1p	24-31 juill.
MY1	"	1700-1850	sud-est	18	calcaire	1	DE	0	1p	11-21 juill.
MX1	Abondance	1600	sud	3	flysch	1	PE	0	2p	21-25 juin
MX2	"	1550-1600	nord	11	du	1	DE	0	2p	10-17 juill.
MX3	"	1600-1800	nord-est	17	Chablais	1	PE	0	1p	1-5 août

* Unités : surface en ha ; fertilisation en m³ de lisier/ha

** PE = pleine épiaison, MM = mi-montaison, s = semaines ; DE = début épiaison

2. Caractérisation botanique des secteurs de végétation

La composition botanique des végétations a été déterminée en effectuant des relevés linéaires selon la méthode de Daget et Poissonet (1969) sur des transects de 20 m. Cette caractérisation a été complétée par un inventaire exhaustif des espèces supplémentaires rencontrées sur une aire de 50 m² autour des transects. Les relevés linéaires ont été réalisés sur des zones réputées les plus pâturées par les animaux. Le nombre de relevés a varié entre 1 et 3 selon l'homogénéité des secteurs de végétation. Pour la composition botanique, nous avons calculé les contributions des espèces en cumulant les fréquences spécifiques obtenues sur l'ensemble des relevés réalisés dans un même secteur de végétation. Les différentes végétations ont été reclassées par rapport aux typologies régionales existantes, de Fleury *et al.* (1988) pour les prairies de vallée, et de Bornard et Dubost (1992) pour les végétations d'alpage. Par ailleurs, pour caractériser la diversité spécifique d'un secteur de végétation, nous avons calculé le nombre moyen d'espèces par relevé, le nombre total d'espèces et de familles botaniques, ainsi que l'indice de Shannon (1949). Aucune caractérisation botanique n'a été réalisée sur le foin.

3. Composition en composés volatils des végétations

* Prélèvement des échantillons et mode de stockage

Sur chaque secteur de végétation, des échantillons d'herbe ont été prélevés à l'aide d'une cisaille à 3-5 cm du sol sur une surface de 10 cm² tous les 30 à 40 pas selon l'étendue de la parcelle. Sur les secteurs où la végétation était homogène, les prélèvements ont été effectués sur toute la superficie. Sur les autres secteurs, les prélèvements ont eu lieu autour des relevés botaniques.

Lors des prélèvements, toutes les plantes considérées comme généralement non consommées par les vaches laitières sur les pâturages étudiés ont été retirées. Des observations ont été faites sur les secteurs de végétation après le pâturage des animaux pour confirmer l'identité des espèces refusées par les animaux. Tous les échantillons d'un même secteur ont été mélangés pour ne former qu'un seul échantillon, pesant 1 à 2 kg. Ce choix a été fait compte tenu du mode de conduite du pâturage des vaches sur les alpages étudiés. Les animaux sont conduits plusieurs jours consécutifs sur de vastes secteurs (1 à 20 ha) pouvant couvrir plusieurs types de végétation.

Les échantillons d'herbe, de foin et de maïs ont été conservés pendant 2 à 3 heures dans une glacière à + 4°C jusqu'à l'arrivée au laboratoire. Ils ont été enveloppés dans du papier d'aluminium, puis scellés sous vide dans des sacs en polyéthylène et congelés à -20°C.

* Analyse des composés volatils

Les composés volatils ont été extraits par la technique d'espace de tête dynamique " Purge and Trap " (Tekmar LSC 3000), séparés par chromatographie en phase gazeuse (Hewlett Packard 6890) et identifiés par spectrométrie de masse (MSD Hewlett Packard 5973) dans les conditions décrites par Buchin *et al.* (1999). Dès la sortie du congélateur, tout l'échantillon a été broyé finement et homogénéisé. Deux grammes d'échantillon ont été introduits dans une cartouche de verre cylindrique (140 mm de hauteur, 30 mm de diamètre) connectée au système de " Purge and Trap ". Le temps de purge était de 10 minutes à 25°C. L'acquisition des ions par le détecteur de masse s'est faite entre 29 et 206 amu (unité de masse atomique). Les autres paramètres sont restés inchangés par rapport à la technique de Buchin *et al.* (1999). Les composés volatils ont été quantifiés par le courant ionique total excepté les monoterpènes non oxygénés (par l'ion 93) et les sesquiterpènes (par l'ion 161). Pour chaque composé volatil, les concentrations relatives ont été données par l'aire du pic correspondant. Le résultat est la moyenne calculée à partir de 3 répétitions réalisées sur des aliquots après broyage et homogénéisation. Le coefficient de variation moyen calculé à partir des 3 répétitions pour l'ensemble des composés volatils était de 10%.

4. Analyses statistiques

Pour visualiser les relations entre les espèces botaniques et les composés volatils, nous avons réalisé une régression PLS (Partial Least-Squares regression) à partir des 10 secteurs de végétations. La régression PLS consiste à décomposer en composantes principales (comme dans l'Analyse en Composantes Principales) les variables à expliquer d'une part, et les variables explicatives d'autre part, sous la contrainte que la covariance entre les composantes principales de même rang soient maximales (Tenenhaus *et al.*, 1995). Ainsi, les composantes principales des deux groupes de variables sont construites pour être aussi liées que possible. Nous avons utilisé comme variables explicatives les contributions spécifiques des espèces végétales consommées et comme variables à expliquer les concentrations relatives des composés volatils. Ainsi, les variables chimiques peuvent être expliquées à partir des variables botaniques. Pour simplifier la lecture du cercle des corrélations PLS, seules les variables chimiques appartenant aux familles chimiques les plus discriminantes ont été représentées (voir légende de la figure 2b).

Résultats et discussion

1. Caractéristiques botaniques des végétations

* Des prairies de vallée riches en graminées : VZ1, VZ2 et VZ3

Les caractéristiques botaniques des secteurs de végétation sont présentées dans le tableau 2. Les 3 prairies de vallée VZ1 à VZ3, situées à 850 m d'altitude, sont les plus riches en graminées (entre 50 et 68%). Elles correspondent aux prairies de fauche du montagnard du type " dactyle en touffes et trèfle blanc " (Fleury *et al.*, 1988). *Trifolium pratense*, *Trifolium repens* et *Taraxacum officinale* constituent l'essentiel des dicotylédones de ces végétations. Ces végétations sont les moins diversifiées ($2,7 < \text{indice de Shannon} < 3,7$) des végétations étudiées. Le rythme d'utilisation intensif (3 à 5 passages par an) et la fertilisation élevée (20 à 30 m³ de lisier/ha/an) expliquent en grande partie la composition floristique de ce type de végétation (Jeangros *et al.*, 1994 ; Fleury *et al.*, 1988).

* Des prairies de vallée riches en ombellifères et autres dicotylédones de milieu frais : VX1, VX2

Les prairies de vallée VX1 et VX2 présentent une forte proportion d'ombellifères et d'autres dicotylédones de milieu frais (essentiellement *Geranium sylvaticum* et *Vicia cracca*) au détriment des graminées. Ces prairies correspondent aux prairies de fauche du montagnard du type " ombellifères et dactyle en touffes " (Fleury *et al.*, 1988). Les 2 ombellifères, *Anthriscus sylvestris* et *Heracleum sphondylium* représentent respectivement 9 et 8% dans VX1 qui possède également 7% de *Geranium sylvaticum* et 5% de *Vicia cracca*. VX2 diffère de VX1 par une proportion plus importante de renonculacées (8% vs 5%) et de rosacées (9% vs 3%). La diversité de ces végétations, situées entre 1 000 et 1 100 m d'altitude, est comparable à celle des végétations d'alpage, situées au-dessus de 1 550 m d'altitude ($4,2 < \text{indice de Shannon} < 4,7$), montrant ainsi que la diversité

floristique n'est pas toujours corrélée à l'altitude comme le soulignent Jeangros *et al.* (1999). Les différences botaniques observées entre VX1 et VX2 sont probablement liées aux pratiques fourragères, notamment le niveau de fertilisation (Dietl, 1988) et la précocité dans la conduite en pâture (Fleury *et al.*, 1988).

Tableau 2 : Type de végétation, composition botanique et diversité des "secteurs de végétation".

Table 2 : Vegetation type, botanical composition, and diversity of the 'vegetation sectors'.

a) Types de prairies de vallée⁽¹⁾

	VZ1	VZ2	VZ3	VX1	VX2
	Prairies de fauche du montagnard "dactyle en touffes et trèfle blanc"			Prairies de fauche du montagnard "ombellifères et dactyle en touffes"	
Les 10 espèces dominantes⁽²⁾ (contribution spécifique en %)	<i>Taraxacum of.</i> 12 <i>Poa pratensis</i> 12 <i>Trifolium repens</i> 12 <i>Dactylis glom.</i> 10 <i>Poa trivialis</i> 10 <i>Lolium perenne</i> 9 <i>Trifolium prat.</i> 6 <i>Anthoxanth. od.</i> 6 <i>Ranunc. acris*</i> 5 <i>Bromus hord.</i> 5	<i>Lolium perenne</i> 27 <i>Trifolium repens</i> 22 <i>Dactylis glom.</i> 17 <i>Taraxacum of.</i> 14 <i>Trifolium prat.</i> 10 <i>Poa pratensis</i> 5 <i>Ranunc. acris*</i> 2 <i>Alchemilla xan.*</i> 1 <i>Holcus lanatus</i> 1 <i>Achillea millefol.</i> 1	<i>Trifolium repens</i> 15 <i>Lolium perenne</i> 14 <i>Dactylis glom.</i> 13 <i>Taraxacum of.</i> 13 <i>Poa pratensis</i> 10 <i>Poa trivialis</i> 7 <i>Trifolium prat.</i> 7 <i>Anthoxanth. od.</i> 4 <i>Ranunc. acris*</i> 4 <i>Bromus hord.</i> 4	<i>Dactylis glom.</i> 14 <i>Anthriscus sylv.</i> 9 <i>Taraxacum of.</i> 8 <i>Trifolium repens</i> 8 <i>Heracleum sph.</i> 8 <i>Geranium sylv.</i> 7 <i>Vicia cracca</i> 4 <i>Ranunc. acris*</i> 4 <i>Trifolium prat.</i> 4	<i>Poa trivialis</i> 13 <i>Ranunc. acris*</i> 8 <i>Taraxacum of.</i> 8 <i>Dactylis glom.</i> 7 <i>Alchemilla xan.*</i> 7 <i>Trifolium prat.</i> 7 <i>Trifolium repens</i> 6 <i>Heracleum sph.</i> 6 <i>Geranium sylv.</i> 5 <i>Rhinanthus mi.*</i> 5
Familles botaniques principales (contribution exprimée en %)					
Graminées	61	50	68	26	31
Légumineuses	18	32	18	21	19
Ombellifères	0	0	0	21	8
Géraniacées	0	0	0	7	5
Composées	14	15	11	9	8
Plantaginacées	1	0	0	0	0
Renonculacées	5	2	2	5	8
Rosacées	1	1	1	3	9
Autres familles	0	0	0	8	12
Nb. moyen d'espèces⁽³⁾	16	12	15	29	21
Nb. familles botaniques⁽⁴⁾	7	6	7	17	12
Nombre total d'espèces⁽⁵⁾	18	12	19	53	34 ⁽³⁾
Diversité spécifique H^(4,6)	3,7	2,7	3,6	4,3	4,4
Nb. relevés	2	1	2	3	3

Notes : cf en bas du tableau 2b

*** Des végétations d'alpage diversifiées et variées :
MY2, MY1, MX1, MX2 et MX3**

Les 5 secteurs de végétations d'alpage MY2, MY1, MX1, MX2 et MX3 sont très différents les uns des autres.

Le secteur MY2 est une pelouse grasse fraîche (Bornard et Dubost, 1992), en bas de versant surmonté de falaises calcaires, dominée par *Dactylis glomerata* (15%), *Chaerophyllum hirsutum* (9%) et *Carex sp.* (9%). *Centaurea montana* (9%) et *Vicia cracca* (4%), deux dicotylédones de milieu frais, sont également bien représentées. Les contributions en graminées (27%) et en ombellifères (13%) de MY2 sont similaires à celles des prairies de vallée VX1 et VX2, bien que des espèces spécifiques à chacun de ces milieux différencient nettement ces végétations.

Le secteur de végétation MY1 est composé d'une pelouse pré-nivale (Bornard et Dubost, 1992), dominée par des espèces indicatrices d'un enneigement assez long (*Leontodon sp.*, *Crepis aurea*, *Plantago alpina*, *Ligusticum mutellina*) et d'une lande ouverte à myrtilles. La végétation de MY1 est la plus diversifiée des végétations étudiées.

Le secteur MX1 est composé pour les deux tiers d'une pelouse grasse nitrophile (Bornard et Dubost, 1992), dominée par *Rumex alpinus* (20%), *Dactylis glomerata* (8%) et *Poa trivialis* (12%). Le reste est couvert par des pelouses moyennes (Bornard et Dubost, 1992), à *Festuca rubra* (11%) et *Agrostis capillaris* (8%).

Tableau 2 : Type de végétation, composition botanique et diversité des "secteurs de végétation".

Table 2 : Vegetation type, botanical composition, and diversity of the 'vegetation sectors'.

b) Types des végétations d'alpage⁽³⁾

	MY2	MY1	MX1	MX2	MX3
	Pelouse grasse fraîche	Pelouse pré-nivale + lande à myrtille	Pelouse grasse nitrophile + pelouse moyenne neutre	Pelouse moyenne neutre	Lande à myrtille + pelouse moyenne humide
Les 10 espèces dominantes⁽²⁾	<i>Dactylis glom.</i> 15	<i>Nardus stricta</i> * 13	<i>Rumex alpinus</i> * 20	<i>Festuca rubra</i> 12	<i>Carex sp</i> * 13
(contribution spécifique en %)	<i>Chaerophyll. h.</i> 9	<i>Leontodon sp</i> 9	<i>Poa trivialis</i> 12	<i>Agrostis capill.</i> 9	<i>Nardus stricta</i> * 12
	<i>Trollius europ.*</i> 9	<i>Vaccinium ulig.*</i> 7	<i>Festuca rubra</i> 11	<i>Lotus cornic.</i> 8	<i>Alchemilla xan.*</i> 9
	<i>Centaurea mont.</i> 9	<i>Phleum alpinum</i> 7	<i>Dactylis glom.</i> 8	<i>Trifolium prat.</i> 8	<i>Ranunc. aco.*</i> 8
	<i>Carex sp</i> * 9	<i>Festuca rubra</i> 7	<i>Agrostis capill.</i> 8	<i>Alchemilla xan.*</i> 7	<i>Deschamp. ca.*</i> 8
	<i>Alchemilla xan.*</i> 6	<i>Plantago alpin.</i> 5	<i>Alchemill. xan.*</i> 5	<i>Carex sp</i> * 5	<i>Vaccinium myrt.*</i> 6
	<i>Festuca rubra</i> 6	<i>Crepis aurea</i> 4	<i>Trifolium rep.</i> 3	<i>Nardus stricta</i> * 4	<i>Festuca rubra</i> 5
	<i>Vicia cracca</i> 4	<i>Arnica mont.*</i> 4	<i>Veratrum alb.*</i> 3	<i>Poa trivialis</i> 4	<i>Arnica mont.*</i> 4
	<i>Agrostis capill.</i> 4	<i>Ligusticum mu.</i> 3	<i>Ranunc. aco.*</i> 2	<i>Crepis aurea</i> 4	<i>Leontodon sp</i> 4
	<i>Rumex acetos.</i> 4	<i>Vaccinium myrt.*</i> 3	<i>Crocus vernus</i> * 2	<i>Potentill. aurea*</i> 4	<i>Agrostis capill.</i> 3

Familles botaniques principales (contribution exprimée en %)

Graminées	27	33	42	40	32
Légumineuses	8	1	3	19	2
Ombellifères	13	3	2	3	3
Géraniacées	2	0	2	3	2
Composées	9	19	6	9	9
Plantaginacées	0	7	0	3	1
Renonculacées	10	2	4	2	8
Rosacées	9	7	6	11	12
Autres familles	22	28	35	10	31
Nb. moyen d'espèces	25	26	23	23	25
Nb. familles botaniques⁽⁴⁾	18	16	19	15	21
Nombre total d'espèces⁽⁵⁾	47	60	47	57	50
Diversité spécifique H^(4,6)	4,2	4,7	4,3	4,5	4,4
Nb. relevés	2	3	3	3	2

(1) d'après Fleury et al (1988) ;

(2) les noms des espèces correspondent à la nomenclature de la Flore Europea ;

(3) par relevé linéaire ;

(4) sur l'ensemble des relevés du secteur de végétation ;

(5) à partir des relevés linéaires + aire de 50m² ;

(6) indice de Shannon : $H = - \sum [(C_{si}/100) \times \log_2(C_{si}/100)]$ où C_{si} = contribution spécifique de l'espèce i ;

(7) d'après Bornard et Dubost (1992) ; * espèces retirées des échantillons d'herbe pour l'analyse des composés volatils car considérées comme non consommées dans les pâturages étudiés

Le secteur de végétation MX2 est semblable au deuxième sous-secteur de MX1. Il correspond à une pelouse moyenne dominée par *Festuca rubra* (12%) et *Agrostis capillaris* (9%). MX2 est parmi les cinq secteurs d'alpage le plus riche en légumineuses (19%). L'abondance de graminées dans les végétations de MX1 et MX2 (respectivement 42 et 40%) peut s'expliquer par le mode d'exploitation de ces secteurs. Ces deux pelouses d'alpage sont exploitées précocement (mi-juin à juillet), pâturées très régulièrement (pelouses proches du chalet) et au moins deux fois pendant l'estive (début et fin d'été).

Le secteur de végétation MX3 est très hétérogène. Il est composé d'une pelouse moyenne humide (Bornard et Dubost, 1992), dominée par *Ranunculus aconitifolium* (8%) et *Deschampsia flexuosa* (8%) et d'une lande ouverte à myrtille où la strate herbacée est constituée de pelouses maigres acidophiles à *Nardus stricta* (12%). *Leontodon* sp. (4%) et *Carum carvi* (3%) représentent les rares dicotylédones appétentes de ce sous-secteur.

2. Composition en composés volatils des végétations, du foin et du maïs

* Familles chimiques, origine et rôle des composés volatils

451 composés volatils ont été répertoriés pour l'ensemble des fourrages analysés. Parmi les terpènes détectés, métabolites secondaires des plantes (Mariaca *et al.*, 1997), 47 sont des monoterpènes non oxygénés, 32 des monoterpènes oxygénés et 34 des sesquiterpènes. Parmi les 53 esters, 34 aldéhydes, 26 alcools et 23 cétones, la majorité sont des dérivés des acides gras des plantes (Hatanaka, 1993). Les 172 hydrocarbures linéaires trouvent leur origine soit dans le métabolisme des acides gras (revue de Knudsen *et al.*, 1993) soit probablement dans la dégradation des carotènes. 6 furanes dont 2 furanones ont été détectés. Les 4 composés soufrés identifiés, très aromatiques, proviennent essentiellement de la catalyse d'acides aminés soufrés (Derbali *et al.*, 1998). Les 20 composés benzéniques détectés sont supposés être des polluants ou, pour certains, des produits de dégradation des plantes (revue de Knudsen *et al.*, 1993). Certaines molécules sont connues pour exercer un pouvoir répulsif (composés soufrés) ou attractif (aldéhydes) sur les herbivores (Scehovic *et al.*, 1985) rendant ainsi la plante appétente ou non.

* Profils en composés volatils des végétations

Les profils en composés volatils des végétations ont été appréciés selon deux critères :

- la richesse en composés volatils (ou nombre de composés volatils),
- la concentration en composés volatils.

La richesse en terpènes présents dans les différentes végétations est variable (tableau 3). Certaines végétations en sont presque dépourvues (VZ1 et VZ2), d'autres en contiennent plus de 60 (VX1 et MY2). Pour VX1, il s'agit de monoterpènes et pour MY2 de sesquiterpènes. Par contre, certaines végétations (MX1, MX2 et VZ3) riches en terpènes se caractérisent par de faibles concentrations (figure 1).

Tableau 3 : Nombre de terpènes et d'aldéhydes détectés dans les fourrages.

Table 3 : Number of terpenes and aldehydes detected in the forage types.

	VZ1	VZ2	VZ3	VX1	VX2	MY2	MY1	MX1	MX2	MX3	Foin	Maïs
Mono-terpènes non oxygénés	2	6	26	34	30	31	31	26	20	26	3	3
Mono-terpènes oxygénés	1	2	5	20	12	11	7	7	8	15	0	1
Sesquiterpènes	0	0	0	22	12	24	15	17	9	11	0	0
Total terpènes	3	8	31	76	54	66	53	50	37	52	3	4
Aldéhydes	24	23	23	18	25	20	25	24	24	22	10	17

La diversité des composés volatils s'exprime aussi à travers les autres familles biochimiques (figure 1). Les composés soufrés sont en concentration plus forte dans MX3, les furanes dans MX1, MX2 et MY2, et les composés benzéniques dans les végétations MY1 et MY2. Les concentrations en alcools et en cétones sont maximales dans les végétations VZ2, MY2 et MX2 et minimales dans VX1. La famille des aldéhydes est représentée de façon homogène, tant par sa richesse que par sa concentration dans toutes les végétations (tableau 3).

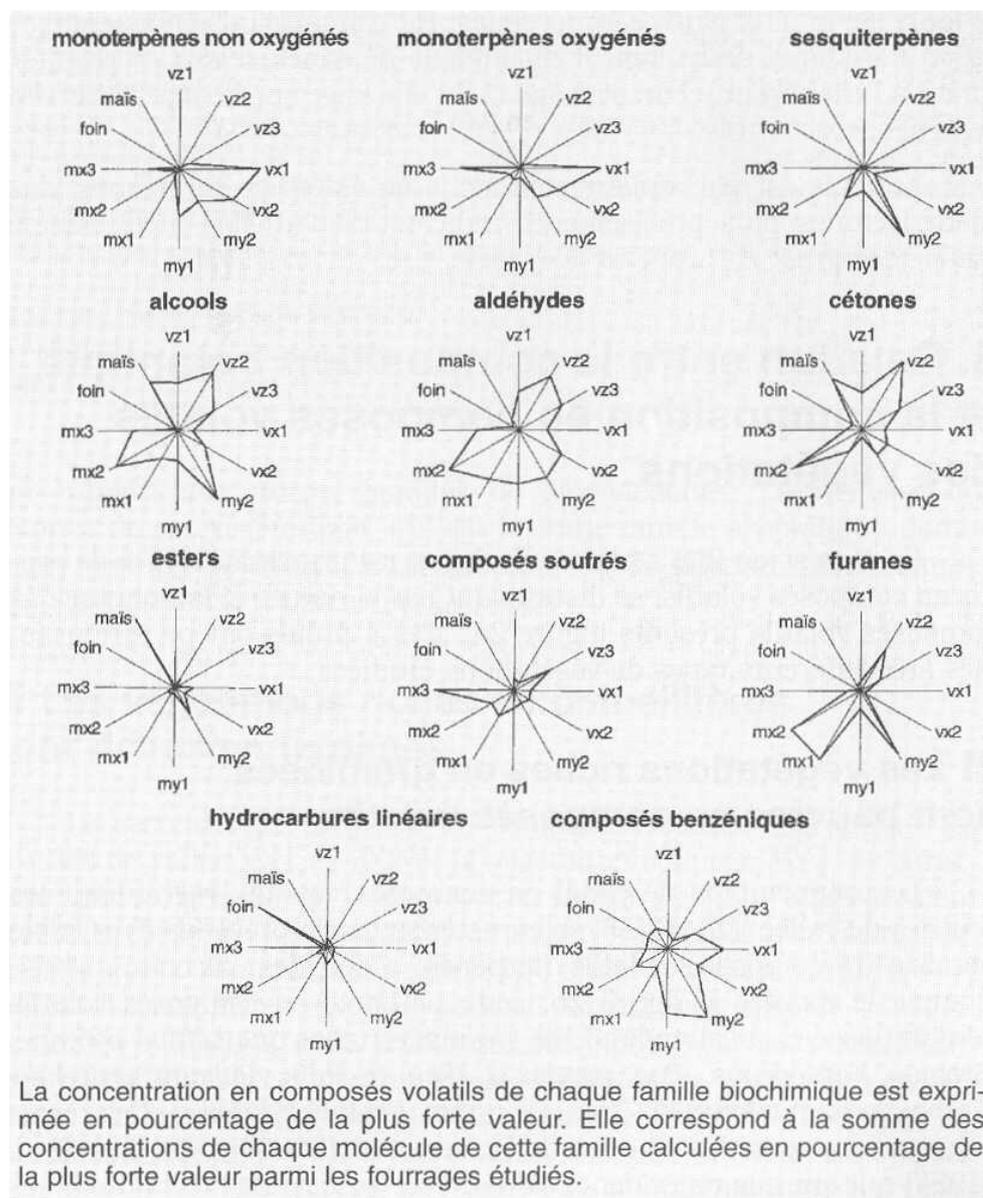
* Composition en composés volatils du foin et du maïs

L'essentiel des composés volatils du foin est constitué principalement de n-alcane ramifiés et de n-alcènes mono-insaturés issus probablement de la dégradation des carotènes. Le foin étudié est avec VZ1 le fourrage le plus pauvre en terpènes. Ne connaissant pas la composition floristique de ce foin, il est difficile de conclure sur ce résultat quant à l'effet éventuel du séchage et du stockage sur la déperdition en terpènes.

Le maïs est particulièrement riches en esters et en cétones (des méthylcétones plus précisément), indicateurs d'un fort métabolisme des acides gras.

Figure 1 : Concentrations en composés volatils des végétations, du foin et du maïs.

Figure 1 : Concentrations of volatile compounds in the vegetations, in hay, and in maize.

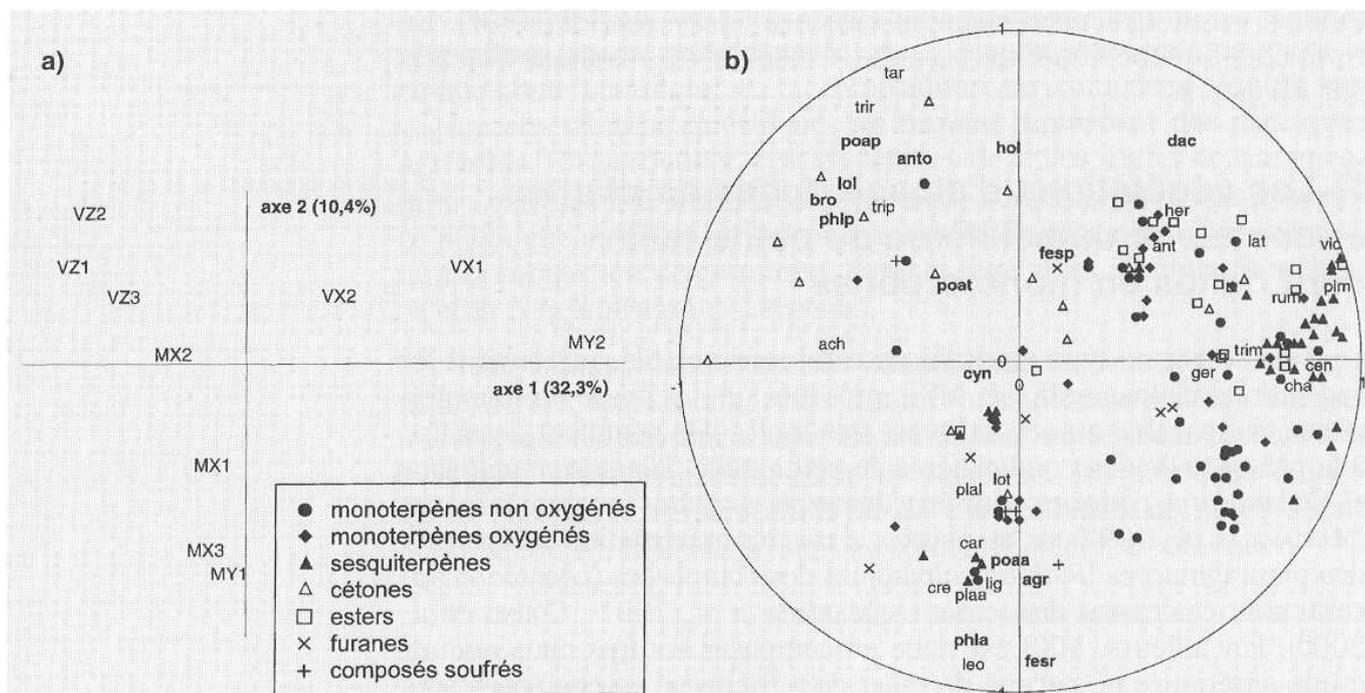


3. Relation entre la composition botanique et la composition en composés volatils des végétations

La régression PLS a permis de dégager 4 principaux types de profils en composés volatils, se distinguant par la nature et la richesse des composés volatils présents (figure 2a). Ces 4 profils ont pu être associés aux différents types de végétations étudiées.

Figure 2 : a) Projection des végétations dans le plan principal PLS, structuration en fonction des variables aromatiques, b) cercle des corrélations PLS des variables botaniques et aromatiques.

Figure 2 : a) Projection of the vegetations on the main PLS plane ; structuration according to the aromatic variables, b) circle of the PLS correlations between the botanic and aromatic variables.



Graminées : agr = *Agrostis capillaris* ; anto = *Anthoxanthum odoratum* ; bro = *Bromus hordeaceus* ; cyn = *Cynosorus cristatus* ; dac = *Dactylis glomerata* ; fesp = *Festuca pratensis* ; fesr = *Festuca rubra* ; hol = *Holcus lanatus* ; lol = *Lolium perenne* ; phla = *Phleum alpinum* ; phlp = *Phleum pratense* ; poaa = *Poa alpina* ; poap = *Poa pratensis* ; poat = *Poa trivialis* ;

Légumineuses : lat = *Lathyrus pratensis* ; lot = *Lotus corniculatus* ; trim = *Trifolium medium* ; trip = *Trifolium pratense* ; trir = *Trifolium repens* ; vic = *Vicia cracca* ;

Ombellifères : ant = *Anthriscus sylvestris* ; car = *Carum carvi* ; cha = *Chaerophyllum hirsutum* ; her = *Heracleum sphondylium* ; lig = *Ligusticum mutellina* ; pim = *Pimpinella major* ;

Composées : ach = *Achillea millefolium* ; cen = *Centaurea montana* ; cre = *Crepis aurea* ; leo = *Leontodon sp* ; tar = *Taraxacum officinale* ;

Plantaginacées : plaa = *Plantago alpina* ; plal = *Plantago lanceolata* ;

Géraniacées : ger = *Geranium sylvaticum* ;

Polygonacées : rum = *Rumex acetosa*

* Les végétations riches en graminées sont pauvres en composés volatils

Le premier type de profil en composés volatils, regroupant les prairies de vallée VZ1 à VZ3, se caractérise par la présence d'un faible nombre de composés volatils (terpènes, aldéhydes, alcools, esters). Comme le montre la figure 2b, cette pauvreté en composés volatils semble associée à l'abondance de graminées telles que *Lolium perenne*, *Bromus hordeaceus*, *Poa pratensis*, *Poa trivialis*, *Phleum pratense*, *Anthoxanthum odoratum*, *Holcus lanatus*, *Festuca pratense*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Cornu *et al.* (2000) et Mariaca *et al.* (1997) qui ont mis en évidence la pauvreté en terpènes des graminées par rapport aux autres familles de dicotylédones. La richesse en cétones de ces végétations, qui est la seule famille aromatique dominante, est certainement liée à l'abondance de légumineuses comme *Trifolium pratense* (Buttery *et al.*, 1984).

* Les végétations riches en ombellifères sont riches en terpènes

Le second type de profil en composés volatils, regroupant les prairies de vallée VX1 et VX2 et la végétation d'alpage MY2, se caractérise par sa richesse en terpènes et en esters. Ces molécules seraient liées à la présence d'ombellifères de milieu frais telles que *Heracleum sphondylium*, *Anthriscus sylvestris*, *Chaerophyllum hirsutum* et *Pimpinella major*. Ces résultats sont en accord avec ceux de Cornu *et al.* (2000) et Mariaca *et al.* (1997) qui ont montré que les ombellifères sont parmi les espèces de prairies de montagne les plus riches en terpènes. D'ailleurs, VX2, la moins riche en ombellifères des 2 végétations de vallée, est la moins concentrée en monoterpènes. *Geranium sylvaticum*, une autre dicotylédone de milieu frais abondante dans ces végétations, serait également riche en terpènes (Mariaca *et al.*, 1997). En revanche, aucune étude ne permet d'expliquer les résultats observés sur les esters.

* Les végétations d'alpage riches en plantes à rosettes et ombellifères de petite taille sont riches en monoterpènes

Le troisième type de profil en composés volatils, regroupant les végétations d'alpage MX3 et MY1, présente une richesse en monoterpènes comparable au second type. Ces molécules semblent associées à la présence de deux ombellifères de petite taille, *Ligusticum mutellina* et *Carum carvi*, connues pour être des espèces riches en monoterpènes (Mariaca *et al.*, 1997), et de plantes à rosette appartenant à la famille des plantaginacées (*Plantago alpina*) ou des composées (*Leontodon sp.*) contenant également des terpènes (Mariaca *et al.*, 1997 ; Cornu *et al.*, 2000). Par ailleurs, MX3 est riche en composés soufrés mais aucune étude antérieure ne permet de relier cette richesse en composés soufrés à une quelconque famille botanique présente dans MX3.

* Les végétations d'alpage riches en graminées sont peu concentrées en terpènes

Le quatrième profil en composés volatils, regroupant les végétations d'alpage MX1 et MX2 présente une richesse en monoterpènes semblable à celle du troisième profil (tableau 3) mais avec des concentrations faibles (figure 1). La concentration en terpènes dans ces végétations semble dépendre de l'abondance des graminées, qui conduit à une dilution des concentrations en composés volatils apportés par les autres espèces présentes. Cette dilution est illustrée dans la figure 2b par la présence de graminées comme *Festuca rubra* ou *Agrostis capillaris* (prédominantes dans MX1 et MX2) côtoyant des espèces riches en terpènes. En ce qui concerne la richesse en furanes de ces 2 végétations, aucune étude antérieure ne permet de l'expliquer.

Conclusions

Ces premiers résultats, obtenus sur des végétations de montagne de composition complexe mettent en évidence que la composition en composés volatils des végétations est variable, en terme de diversité et de concentration en composés. Cette variabilité peut être mise en relation avec la composition botanique des végétations, en tenant compte des familles de dicotylédones présentes et de leur proportion relative par rapport aux graminées. Ces résultats mériteraient toutefois d'être confortés par un plus grand nombre de types de végétations. Cependant, ce premier travail réalisé en prenant en compte l'ensemble du peuplement végétal confirme ceux déjà acquis espèce par espèce.

Compte tenu des effets connus du milieu et des pratiques sur la végétation, que ce soit en vallée ou en alpage, ces relations entre la composition botanique et la composition en composés volatils des végétations mettent en évidence un impact important des pratiques agricoles. En particulier, sur les prairies de vallée, l'effet de l'augmentation des doses de fertilisation organique combinée avec une fréquence de fauche ou de pâture et une précocité d'exploitation, en augmentant la proportion de graminées dans la végétation, diminue la richesse et la concentration en terpènes.

Par l'analyse des composés volatils dans les laits et les fromages issus de ces végétations, nous montrerons ultérieurement comment les végétations expriment leur diversité botanique dans l'arôme des fromages. Ceci permettrait alors de raisonner les pratiques fourragères, non pas seulement en terme de valeur alimentaire (digestibilité ou appétibilité), mais également en terme de valeur aromatique.

Accepté pour publication, le 20 juin 2000.

Remerciements

Ce travail a été cofinancé par le Groupement d'Intérêt Scientifique des Alpes du Nord et l'Institut National de la Recherche Agronomique. Nous remercions B. Bletton pour sa contribution, ainsi que X. Folliet (Chambre d'Agriculture de Haute-Savoie) et les trois producteurs B. Folliet, J.P. Grillet-Aubert et A. Gaget. Nous remercions J.B. Coulon pour sa relecture critique du manuscrit.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bornard A., Dubost M. (1992) : " Diagnostic agro-écologique de la végétation des alpages laitiers des Alpes du Nord humides : établissement et utilisation d'une typologie simplifiée ", *Agronomie*, 12, 581-599.

Bosset J.O., Bütikofer U., Gauch R., Sieber R. (1994) : " Caractérisation de fromages d'alpages subalpins suisses : mise en évidence par GC-MS de terpènes et d'hydrocarbures aliphatiques lors de l'analyse par " Purge and Trap " des arômes volatils de ces fromages ", *Schweiz. Milch. Forschung*, 23 (2), 37-41.

Bosset J.O., Jeangros B., Berger T., Buetikofer U., Collomb M., Gauch R., Lavanchy P., Scehovic J., Troxler J., Sieber R. (1999) : " Comparaison de fromages à pâte dure de type Gruyère produits en région de montagne et de plaine ", *Revue Suisse Agric.*, 31 (1), 17-22.

Buchin S., Martin B., Dupont D., Bornard A., Achilleos C. (1999) : " Influence of composition of Alpine highland pasture on the chemical, rheological and sensory properties of cheese ", *J. Dairy Res.*, 66, 579-588.

Bugaud C., Hauwuy A., Martin B., Buchin S., Chamba J.F., Bornard A. (2000a) : La composizione del pascolo influenza le proprieta reologiche e sensoriali dei formaggi ", *Caseus*, V (1), 44-47.

Bugaud C., Hauwuy A., Martin B., Buchin S., Chamba J.F., Bornard A. (2000b) : " Influence of the composition of pasture on the rheological and sensory properties of cheese ", *Livestock farming systems – Integrating animal science advances in the search of sustainability*, Fribourg, Switzerland, 19-20 August 1999, EAAP Publication n°97.

Buttery R.G., Kamm J.A., Ling L.C. (1984) : " Volatile components of red clover leaves, flowers, and seed pods ", *J. Agric. Food Chem.*, 32, 254-256.

Cornu A., Carnat A.P., Martin B., Coulon J.B., Lamaison J.L., Berdagué J.L. (2000) : " Solid phase microextraction of volatile components from natural grassland plants ", *J. Agric. Food Chem.*, à paraître.

Chung T.Y., Eiserich J.P., Shibamoto T. (1993) : " Volatile compounds isolated from edible Korean Chamchwi (Aster scaber Thunb) ", *J. Agric. Food Chem.*, 41, 1693-1697.

Daget P., Poissonet J. (1969) : *Analyse phytologique des prairies, applications agronomiques*, document 48, CNRS-CEPE, Montpellier, 67 p.

Derbali E., Makhlof J., Vezina L.P. (1998) : " Biosynthesis of sulfur volatile compounds in broccoli seedlings stored under anaerobic conditions ", *Postharvest Biology & Tech.*, 13 (3), 191-204.

Dietl W. (1988) : " Standort und Verbreitung der Kräuter in unseren Dauerwiesen ", *Rech. agron. en Suisse*, 27 (2), 117-125.

Dumont J.P., Adda J. (1978) : " Occurrence of sesquiterpenes in mountain cheeses volatiles ", *J. Agric. Food Chem.*, 26, 364-367.

Dumont J.P., Adda J., Rousseaux P. (1981) : " Exemple de variation de l'arôme à l'intérieur d'un même type de fromage : le Comté ", *Lebensm. -Wiss. U. -Technol.*, 14, 198-202.

Fleury P., Jeannin B., Dorioz J.M. (1988) : *Typologie des prairies de fauche de montagne des Alpes du Nord humides*, doc. GIS Alpes du Nord, 130 p.

Grappin R., Coulon J.B. (1996) : " Terroir, lait et fromage : éléments de réflexion ", *Rencontres Rech. Rumin.*, 3, 21-28.

Hatanaka A. (1993) : " The biogeneration of green odour by green leaves ", *Phytochemistry*, 34 (5), 1201-1218.

Honkanen E., Karvonen P., Virtanen A.I. (1964) : " Studies on the transfer of some flavour compounds to milk ", *Acta chem. Scand.*, 18, 612-618.

Jeangros B., Berthier V., Scehovic J. (1994) : " Plantes herbacées dicotylédones : une contribution à la biodiversité des prairies permanentes ", *Revue suisse Agric.*, 26 (3), 151-154 et 163-166.

Jeangros B., Scehovic J., Troxler J., Bachmann H.J., Bosset J.O. (1999) : " Comparaison de caractéristiques botaniques et chimiques d'herbages pâturés "

en plaine et en montagne ", *Fourrages*, 159, 277-292.

Knudsen J.T., Tollsten L. Bergström L.G. (1993) : " Floral scents – a checklist of volatile compounds isolated by head-space techniques ", *Phytochemistry*, 33 (2), 253-280.

Mariaca R.G., Berger T.F.H., Gauch R., Imhof M.I., Jeangros B., Bosset J.O. (1997) : " Occurrence of volatile mono- and sesquiterpenoids in highland and lowland plant species as possible precursors for flavor compounds in milk and dairy products ", *J. Agric. Food Chem*, 45, 4423-4434.

Scehovic J., Poisson C., Gillet M. (1985) : " Appétibilité et caractéristiques organoleptiques des graminées. I. – Comparaison du ray-grass et de la féтуque élevée ", *Agronomie*, 5 (4), 347-354.

Shannon C.E. (1949) : *The mathematical theory of communication*, Université, Illinois Press, Urbana, 29-125.

Tenenhaus M., Gauchi J.P., Menardo C. (1995) : " Régression PLS et applications ", *Rev. Stat. Appl.*, XLIII (1), 7-63.

Viallon C., Verdier-Metz I., Denoyer C., Pradel P., Coulon J.B., Berdagué J.L. (1999) : " Desorbed terpenes and sesquiterpenes from forages and cheeses ", *J. Dairy Res.*, 66, 319-326.

Viallon C., Martin B., Coulon J.B., Berdagué J.L., Pradel P., Garel J.P. (2000) : " Transfer of monoterpenes and sesquiterpenes from forages into milk fat ", *Le Lait*, 80 (6).

Woods A.E., Auran L.W. (1963) : " Volatile compounds in ladino clover and off-flavored milk ", *J. Dairy Sci.*, 46, 656-659.

SUMMARY

Relationships between the botanical make up of mountain vegetation and the contents of volatile contents in the plants

In order to find objective data linking the quality of cheese to environmental conditions, we studied the relationships between the botanical composition of various mountain pastures and the contents of volatile compounds in the plants ; the idea was to understand how these compounds could influence the organoleptic properties of cheese. Ten samples of mountain vegetations (at from 850 to 1 800 m altitudes) were studied ; several type of aromatic profiles were thus revealed, differing by the contents and nature of volatile compounds, especially terpenes. These profiles were linked to botanical profiles, distinguished by the relative abundance of grasses and various families of dicotyledons. The vegetations of valleys, where grasses are abundant, had low contents of volatile compounds. Largest contents and concentrations of terpenes and esters were found in places where umbellifers and other dicotyledons of cool environment are abundant. Certain alpine pastures, with rosette plants and small umbellifers, contained large amounts of monoterpenes and sulphur-containing compounds. Other alpine pastures, with more abundant grasses, had lower monoterpene contents, but contained larger amounts of furans. These results show the influence of the botanical composition, itself affected by the natural conditions and by forage practices, on the contents of volatile compounds in plants.