

## Éléments pour une amélioration génétique de la valeur énergétique de la luzerne

B. Julier, F. Guines, C. Ecalte, J.C. Emile, M. Lila, M. Briand, C. Huyghe

**La valeur alimentaire est une composante essentielle des fourrages. La luzerne, qui possède une forte teneur en protéines, a une valeur énergétique modérée. Le texte présente des études menées à l'INRA de Lusignan pour établir les possibilités de progrès génétique et les critères et méthodes pour y parvenir.**

### RESUME

La mise au point d'outils d'évaluation rapide de la digestibilité d'un grand nombre d'échantillons par spectrophotométrie dans le proche infra-rouge permet d'envisager la mesure en sélection de la digestibilité. Une importante variabilité génétique, entre cultivars ou entre plantes individuelles, a été mise en évidence, et l'hérédité de ce caractère est principalement additive. La corrélation génétique entre la digestibilité et le rendement en fourrage est négative mais elle est positive entre la digestibilité et la teneur en protéines. Des études des structures histologiques de la tige montrent que les variations génétiques de digestibilité sont liées à la proportion de xylème secondaire (tissu lignifié) et à la proportion des tissus non lignifiés (parenchyme médullaire et parenchyme cortical).

### MOTS CLES

Composition morphologique, digestibilité, luzerne, production fourragère, sélection variétale, valeur alimentaire, variabilité génétique.

### KEY-WORDS

Cultivar breeding, digestibility, feeding value, forage production, genetic variation, lucerne, morphological composition, quality.

### AUTEURS

INRA, Unité de Génétique et d'Amélioration des Plantes Fourragères, F-86600 Lusignan ;  
julier@lusignan.inra.fr

La luzerne (*Medicago sativa* L.) est une légumineuse fourragère de première importance dans le monde (32 millions d'hectares) et en France (700 000 hectares, en culture pure ou en association avec une graminée fourragère), car elle fournit la plus grande proportion de protéines à l'hectare en zone tempérée. Elle présente un bilan environnemental satisfaisant, car elle est économe en intrants (engrais azotés, pesticides) et améliore les bilans d'azote et de carbone (Thiébeau *et al.*, 2001) ; elle permet également une réduction importante de la lixiviation de nitrate à l'échelle de la rotation (Beaudoin *et al.*, 1992). De plus, la luzerne est un bon précédent car la libération en azote après son retournement est importante pour la culture suivante (Justes *et al.*, 2001a ; 2001b). La luzerne a une valeur énergétique parfois limitante pour être incorporée en grande proportion dans les rations des ruminants à fort niveau de production. Des études ont montré que des vaches laitières nourries avec un fourrage de luzerne de bonne digestibilité avaient une production de lait augmentée de 1 à 1,4 kg de lait par vache et par jour par rapport à des vaches nourries avec un fourrage de moindre digestibilité (Emile *et al.*, 1996 ; 1997). Au plan agronomique, la diminution de la digestibilité au cours de la croissance de la luzerne est bien connue. Lemaire et Allirand (1993) ont établi une relation négative entre la biomasse produite et la digestibilité de la plante entière. Deux phénomènes concomitants se déroulent au cours de la croissance : une diminution de la proportion de feuilles dans le fourrage au profit des tiges qui sont moins digestibles, et une diminution de la digestibilité des tiges.

Dans ce contexte, il sera profitable d'obtenir un progrès génétique pour la digestibilité, sans détérioration des autres composantes agronomiques. Aussi, des programmes visant à comprendre les bases génétiques de la digestibilité ont été élaborés. Ils ont porté (1) sur les méthodes de mesure, (2) sur la variabilité entre cultivars et à l'intérieur des cultivars, (3) sur les corrélations entre digestibilité et autres paramètres agronomiques, (4) sur l'hérédité de la digestibilité, (5) sur les caractéristiques histologiques explicatives de la digestibilité des tiges. Une synthèse de ces résultats est présentée ici.

## 1. Méthodes de mesure de la digestibilité

De longue date, des mesures de la digestibilité en laboratoire, permettant de traiter un grand nombre d'échantillons, ont été mises au point (Demarquilly et Jarrige, 1981). La méthode gravimétrique utilisant des enzymes, ou solubilité enzymatique, consiste à traiter les échantillons par de la pepsine puis des cellulases (Lila *et al.*, 1986). Elle est hautement répétable et corrélée avec la digestibilité *in vitro* utilisant du jus de rumen et la digestibilité *in vivo* mesurée par des animaux.

Par ailleurs, les dosages de la teneur en fibres (NDF pour *Neutral Detergent Fiber*, ADF pour *Acid Detergent Fiber*, ADL pour *Acid Detergent Lignin*) sont largement utilisés par la communauté scientifique (Goering et Van Soest, 1970). La fraction NDF comprend la cellulose, les hémicelluloses et la lignine. On l'appelle aussi " paroi ", bien que chez les dicotylédones, les parois soient aussi composées de pectines (15-20% ; Hatfield et Weimer, 1995), qui sont fortement digestibles. La fraction ADF comprend la cellulose et la lignine, alors que la fraction ADL ne comprend que la lignine.

Nous avons développé des équations de prédiction en spectrométrie dans le proche infra-rouge (SPIR) permettant, à partir d'échantillons de plantes séchées et broyées, de déterminer leur solubilité enzymatique ou leurs teneurs en NDF, ADF et ADL. Les caractéristiques des équations, basées sur un grand nombre de cultivars et de milieux (lieux, années de récoltes, coupes), sont présentées dans le tableau 1. Solubilité enzymatique, teneurs en NDF, ADF et ADL sont fortement corrélées ( $R^2$  supérieurs à 0,93) (Julier *et al.*, 1996). Sur l'ensemble de nos études, la teneur en NDF et la teneur en ADF sont les critères les plus héritables et présentent la plus faible variance d'erreur. Aux Etats-Unis, le NDF et l'ADF sont mesurés, et servent à calculer un indice de valeur alimentaire relatif, le RFV (Sheaffer *et al.*, 1995).

Il est aussi possible de mesurer la digestibilité des parois (ou digestibilité du NDF). Pour cela, la méthode la plus précise consiste à extraire le NDF, puis à en mesurer la solubilité par une attaque enzymatique (Julier *et al.*, 1999a). Ce critère permet de quantifier directement la solubilité de la partie de la plante qui est faiblement digestible, la paroi cellulaire.

La cinétique de dégradation de la matière sèche et des parois (NDF) dans le rumen de vaches fistulées suit une courbe logistique (figure 1), qui se caractérise par (1) une phase de latence, lié au délai nécessaire de l'attaque du fourrage par les microorganismes du rumen, (2) une phase linéaire, dont la pente mesure la vitesse de dégradation, (3) un plateau, dont le niveau mesure la dégradation potentielle (ou digestibilité potentielle). Des différences entre variétés ont été observées de manière indépendante pour la vitesse de dégradation et pour la

**Tableau 1 : Caractéristiques des équations de prédiction de la valeur énergétique de la luzerne, par spectrophotométrie dans le proche infra-rouge (SPIR).**

*Table 1 : Characteristics of the prediction equations of the energy value of lucerne, using near infra-red spectrophotometry (NIRS).*

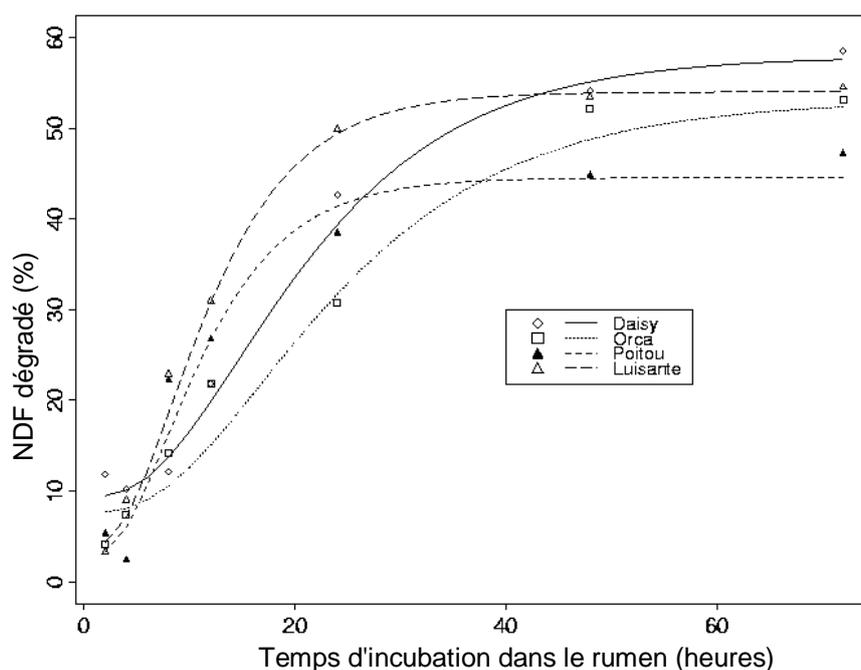
Caractère	Nombre d'échantillons	Valeur moyenne	E.T.*	R <sup>2</sup> *	SECV*
<b>Solubilité enzymatique</b> (% MS)	754	64,96	5,95	0,91	1,74
<b>NDF</b> (% MS)	650	42,36	6,31	0,96	1,27
<b>ADF</b> (% MS)	616	31,36	5,35	0,96	1,13
<b>ADL</b> (% MS)	626	7,06	1,78	0,85	0,46

\* E.T. : Ecart-type des valeurs manuelles ;  
R<sup>2</sup> : Moyen en validation croisée ; SECV : Erreur standard de la validation croisée

dégradation potentielle : ainsi Daisy et Poitou ont des vitesses de dégradation semblables mais des digestibilités potentielles différentes, alors que Orca et Luisante ont des digestibilités potentielles similaires mais des vitesses de dégradations différentes (figure 1). La dégradation potentielle de la matière sèche après 48h d'incubation dans le rumen est bien corrélée à la solubilité enzymatique et à la teneur en NDF ( $r = 0,92$  et  $r = -0,87$ ,  $P < 0,001$ , respectivement) (Julier *et al.*, 2001). Cependant, la vitesse de dégradation de la matière sèche ou du NDF n'est pas expliquée par ces critères de composition biochimique. Si on définit la digestibilité effective par la dégradation obtenue après un temps limité de séjour du fourrage dans le rumen (moins de 20 heures), on constate que ce caractère résulte d'une combinaison de la digestibilité potentielle et de la vitesse de dégradation. Il n'y a actuellement pas de critère biochimique décrivant cette digestibilité effective.

**Figure 1 : Variabilité phénotypique pour la cinétique de dégradation du NDF dans le rumen de vaches fistulées, pour quatre cultivars contrastés de luzerne.**

*Figure 1 : Phenotypic variation for dry NDF degradation kinetics in the rumen of fistulated cows, for four contrasted cultivars of lucerne.*



## 2. Variabilité génétique pour la digestibilité

La luzerne appartient au complexe d'espèces *Medicago sativa*. Ce complexe comprend deux sous-espèces principales, *ssp sativa* (fleurs violettes, racines pivotantes, gousses spiralées, faible dormance automnale) et *ssp falcata* (fleurs jaunes, racines fasciculées, gousses droites, dormance automnale prononcée). Dans les deux sous-espèces, on trouve des populations diploïdes ou tétraploïdes, sauvages ou cultivées. La luzerne cultivée est tétraploïde, de type *sativa* plus ou moins introgressée par le type *falcata*. La luzerne est répandue sous toutes les latitudes et supporte une grande variété de conditions pédoclimatiques. La variabilité génétique disponible est large, à la fois dans le complexe d'espèces, entre populations de luzerne cultivée et entre individus d'une population (Crochemore *et al.*, 1996 et 1998 ; Jenczewski *et al.*, 1999a et 1999b).

Pour la digestibilité, la variabilité génétique a été étudiée à trois niveaux : entre populations du complexe d'espèces *Medicago sativa*, entre cultivars et entre génotypes à l'intérieur de cultivars. Ces différents niveaux d'approches permettent de couvrir la gamme de variation disponible en sélection.

### \* Variabilité entre populations du complexe d'espèces *Medicago sativa*

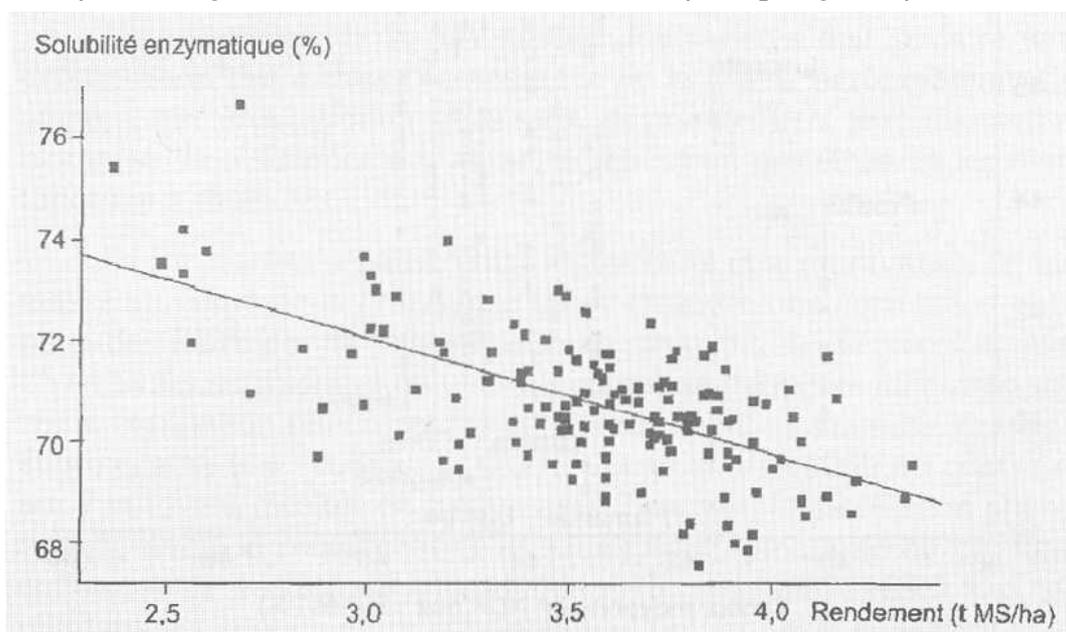
Dans une étude comprenant 25 populations *sativa* ou *falcata*, sauvages et cultivées, toutes récoltées à la même date, nous avons montré que les populations *falcata* étaient en moyenne plus digestibles que les *sativa*, même en tenant compte de leur moindre production de biomasse (Julier *et al.*, 1996). Les populations *falcata* étant toutes sauvages, on peut penser que la domestication de la luzerne, pour les caractères de productivité en biomasse et de port érigé, a conduit à une moindre digestibilité. A des stades phénologiques semblables, Buxton *et al.* (1987) et Lenssen *et al.* (1991) ont trouvé que la digestibilité des tiges des populations *falcata* était équivalente ou plus faible que celle des *sativa*, en partie à cause de leur âge.

### \* Variabilité entre cultivars

L'étude s'est concentrée sur des cultivars de dormance comprise entre 3 et 5 sur l'échelle américaine, ce qui correspond au matériel cultivé en France. Un total de 144 cultivars provenant de nombreux pays a été étudié en essais en parcelles, dans deux lieux en France (Lusignan dans la Vienne et Connantre dans la Marne). Six coupes par lieu ont été analysées au cours de trois années. Sur une coupe en un lieu, la gamme de variation génétique a atteint 8 points de digestibilité (figure 2). On retrouve une corrélation négative entre la production de la biomasse et la digestibilité établie au cours de la croissance (Lemaire et Allirand, 1993 ; Julier et Huyghe, 1997). Indépendamment du rendement, les différences entre variétés atteignent 4 points. Les interactions entre cultivars et milieu sont importantes, mais on identifie des cultivars dont le classement pour la digestibilité est stable. Pour la digestibilité, stabilité de classement et valeur moyenne des variétés ne sont pas corrélées (Julier *et al.*, 1999b). Sheaffer *et al.* (1998) ont aussi identifié des variétés stables pour leur digestibilité, et d'autres instables.

**Figure 2 : Relation entre la digestibilité de la plante entière et le rendement, pour 144 cultivars de luzerne, cultivés à Connantre (Marne) en première coupe de printemps de 1997.**

**Figure 2 : Relationship between whole plant digestibility and forage yield, for 144 cultivars of lucerne grown at Connantre (Marne) in the first spring cut of 1997.**



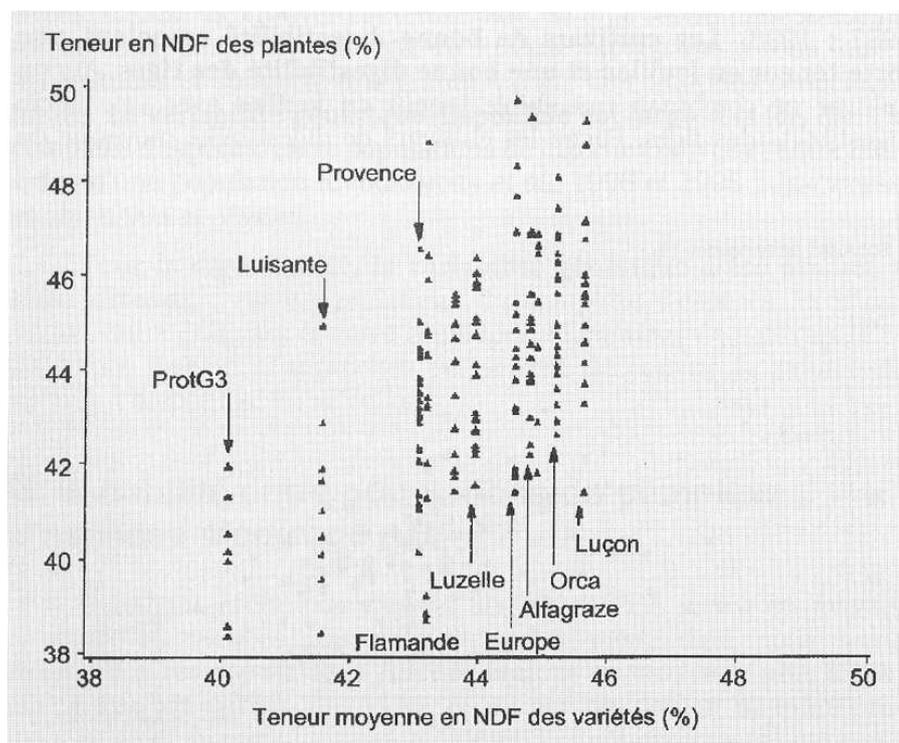
La variabilité pour la digestibilité de la plante entière résulte d'une variabilité pour la teneur en feuilles et pour la digestibilité des tiges que ce soit dans du matériel issu de sélection divergente (Shenk et Elliott, 1970) ou dans un ensemble de variétés (Julier et Huyghe, 1997 ; 1998). Les cultivars de bonne digestibilité associent une forte teneur en feuilles et une bonne digestibilité des tiges. Aucun cultivar ne combinait une faible teneur en feuilles avec une faible digestibilité des tiges. Parmi les cultivars de digestibilité moyenne ou faible, certains avaient une forte teneur en feuilles mais une faible digestibilité des tiges, ou la réciproque.

### \* Variabilité à l'intérieur des cultivars

Les variétés de luzerne sont des populations synthétiques à base génétique large, obtenues après 3 ou 4 générations d'intercroisement des individus ou familles parentaux. L'existence d'une variabilité génétique intra-cultivar est connue, et nous l'avons mesurée pour les caractères de digestibilité. Onze cultivars, chacun représenté par 7 à 20 géotypes qui ont été préalablement bouturés en plusieurs exemplaires, ont été implantés dans un dispositif en blocs randomisés. Six coupes ont été réalisées au cours de 3 années. La teneur en NDF a été mesurée. La variabilité génétique à l'intérieur des cultivars est importante, puisqu'elle atteint 11 points de NDF. La différence moyenne entre cultivars était de moins de 6 points pour une coupe (figure 3). Les variances génétiques entre cultivars ou à l'intérieur des cultivars étaient sensiblement équivalentes (Julier *et al.*, 2000). Ces résultats montrent que les programmes de sélection visant à améliorer la digestibilité doivent utiliser la variabilité intra-population comme source de variation. L'avantage immédiat de cette méthode est de conserver le fonds génétique des variétés actuelles, déjà améliorées pour d'autres caractères agronomiques. L'inconvénient est la nécessité d'analyser des géotypes, c'est-à-dire des plantes individuelles. Cette multiplication du nombre d'analyses est gérable en utilisant la prédiction dans le proche infra-rouge.

**Figure 3 : Variabilité entre cultivars et à l'intérieur de cultivars de luzerne pour la teneur en parois (NDF).**

*Figure 3 : Variation among- and within-cultivars of lucerne for cell wall content (NDF).*



A titre d'illustration, une sélection divergente a été réalisée sur ce matériel. Trois polycross comprenant les géotypes les plus digestibles, et trois polycross comprenant les géotypes les moins digestibles ont été réalisés sur différentes bases génétiques, en conservant des potentialités de production de biomasse semblables. La

descendance a été implantée en pépinière de plantes isolées, et un second cycle de sélection a été réalisé. Ces six polycross du premier cycle de sélection ont été ensuite implantés en micro-essais de 2 lignes avec 4 répétitions, et ont permis de montrer l'efficacité de la sélection sur la digestibilité (tableau 2). Les polycross du second cycle de sélection, évalués en parcelles de 6 lignes avec 4 répétitions, montrent aussi une différence forte pour la digestibilité (tableau 2). L'augmentation de l'écart entre les sélections + et - du premier au second cycle de sélection montre qu'il restait une variabilité génétique après le premier cycle de sélection.

**Tableau 2 : Caractérisation de trois paires de polycross issus d'un et deux cycles de sélection divergente pour la digestibilité (A+ vs A-, B+ vs B-, C+ vs C-), en comparaison avec trois variétés témoin.**

**Table 2 : Characteristics of three pairs of polycrosses coming from one and two cycles of divergent selection for digestibility (A+ vs A-, B+ vs B-, C+ vs C-), compared to three control cultivars.**

Cultivar	Premier cycle				Second cycle			
	NDF* (%)	Biomasse* (g MS/ parcelle)	Protéines* (%)	Verse*	NDF* (%)	Rendement* (t/ha)	Protéines* (%)	Verse*
<b>Polycross A+</b>	44,9 cd**	413 a	14,8 b	3,3 ab	40,6 b	3,6 a	17,2 a	3,3 ab
<b>Polycross A-</b>	46,4 bc	411 a	14,1 c	2,0 abc	45,6 a	3,6 a	15,3 ab	3,5 ab
<b>Polycross B+</b>	43,9 d	391 a	15,5 a	2,8 abc	42,2 ab	3,5 a	17,5 a	3,7 ab
<b>Polycross B-</b>	45,8 bc	362 a	13,9 c	1,8 bc	44,3 ab	3,8 a	15,6 ab	3,0 abc
<b>Polycross C+</b>	44,1 d	386 a	15,4 a	2,3 abc	40,3 b	3,3 a	17,5 a	1,3 d
<b>Polycross C-</b>	47,5 a	382 a	13,1 d	1,3 c	45,4 a	3,8 a	14,7 b	1,8 cd
<b>Témoin ***</b>	45,8 bc	384 a	14,1 c	1,5 c	46,3 a	3,5 a	15,4 ab	2,5 bcd
<b>Luisante</b>	42,6 e	289 c	14,8 b	3,5 a	42,0 ab	3,4 a	17,2 a	4,3 a
<b>Natsuwakaba</b>	45,8 bc	326 b	13,9 c	2,8 abc	44,1 ab	3,3 a	15,8 ab	3,5 ab

\* La teneur en NDF, la biomasse et la teneur en protéines sont des moyennes issues de 5 coupes au cours de 2 ans pour le matériel issu du premier cycle de sélection, et de 2 coupes au cours d'une année pour le matériel issu du second cycle de sélection. La verse, notée de 1 (non versé) à 5 (versé), a été notée sur une seule coupe pour les 2 cycles

*NDF content, biomass and protein content are means over 5 cuts in 2 years for the material coming from the first cycle of selection, and over 2 cuts in one year for the material coming from the second cycle of selection. Lodging, assessed in one cut only, was scored from 1 (no lodging) to 5 (severe lodging).*

\*\* Pour chaque variable, les valeurs suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement

\*\*\* Cv. Europe au premier cycle, cv. Mercedes au second cycle

### 3. Corrélations entre digestibilité et valeur agronomique

L'amélioration de la digestibilité des variétés doit se faire sans détérioration des autres composantes de la valeur agronomique. Ces autres caractères agronomiques sont, en premier lieu, le rendement en biomasse, la résistance à la verse, la teneur en protéines, et les résistances aux maladies.

La corrélation négative entre digestibilité et accumulation en biomasse au cours de la croissance laisse craindre une corrélation entre potentiel fourrager et digestibilité au moment de la récolte. Avec 25 cultivars sauvages et cultivés du complexe d'espèces *Medicago sativa*, la corrélation phénotypique entre rendement et solubilité des tiges était négative ( $r = -0,445$ ,  $P < 0,001$ , Julier *et al.*, 1996). Au contraire, sur 7 cultivars récoltés en 5 lieux avec 2 coupes, la corrélation phénotypique entre le rendement et la solubilité enzymatique de la plante entière n'était pas significative (Julier et Huyghe, 1997, 1998). Les corrélations génétiques entre rendement et teneur en NDF étaient positives sur 144 cultivars implantés en 2 lieux et évalués sur 6 coupes ( $r = 0,55$ ,  $P < 0,001$ , figure 2) et dans une étude de la variabilité intra-cultivar ( $r = 0,31$ ,  $P < 0,001$ , Julier *et al.*, 2000).

La corrélation négative entre digestibilité et rendement (corrélation positive entre teneur en NDF et rendement) existe donc, mais elle n'est pas très forte. Il y a donc place pour un progrès génétique pour la digestibilité, sans détérioration du rendement fourrager, à condition de contrôler ce dernier au cours de la sélection.

La corrélation génétique entre la digestibilité (mesurée par la teneur en NDF) et la teneur en protéines est négative sur la base de 144 cultivars cultivés en deux lieux avec 6 coupes ( $r = -0,66$ ,  $P < 0,001$ ). Cette valeur est assez élevée, montrant que certains déterminants de ces deux paramètres de la qualité sont communs. En effet, la proportion de feuilles dans le fourrage contribue fortement à la teneur en protéines et à la digestibilité du fourrage.

La corrélation entre la digestibilité et la résistance à la verse est nulle. Il semble que la résistance à la verse soit liée à la grosseur des tiges, alors que cette dernière n'influence pas directement la digestibilité. Quelques cultivars à tiges épaisses possèdent une forte digestibilité, alors qu'inversement, certains cultivars à tiges fines ont une digestibilité moyenne à faible.

Après un ou deux cycles de sélection divergente pour la digestibilité et en sélectionnant des génotypes ayant une bonne production de biomasse, on n'observe pas de différence entre polycross pour le rendement. Les polycross améliorés pour la digestibilité ont aussi une plus forte teneur en protéines. En revanche, leur résistance à la verse est altérée, surtout après le premier cycle de sélection, moins sensiblement après le second cycle (tableau 2).

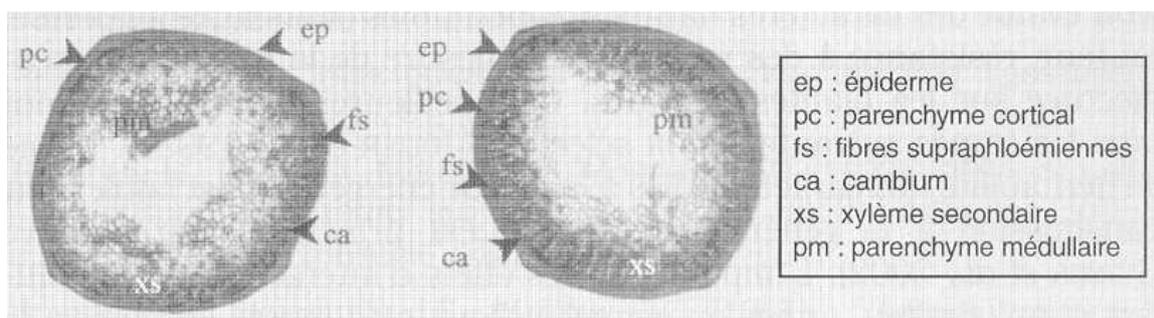
Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la digestibilité et la résistance des cultivars à la verticilliose (*Verticillium albo-atrum*), l'antrachnose (*Colletotrichum dipsaci*) ou au nématode des tiges (*Ditylenchus dipsaci*) (Julier *et al.*, 1996).

#### 4. Paramètres histologiques explicatifs de la digestibilité des tiges

Comme la digestibilité de la plante entière est pour partie conditionnée par la digestibilité des tiges, une étude de l'anatomie des tiges et de leur digestibilité a été entreprise. En effet, outre la composition biochimique des fourrages, l'anatomie et la proportion des différents tissus influencent la digestion par les microorganismes du rumen (Akin, 1989 ; Wilson et Mertens, 1995). La tige de la luzerne est un organe hétérogène. D'une part, on peut distinguer deux zones distinctes depuis le haut vers le bas de la tige : une zone d'élongation cellulaire caractérisée par la croissance de tissus primaires, et une zone mature caractérisée par la mise en place et la croissance de tissus secondaires. Ainsi Vallet (1997) a montré que la croissance de la tige pouvait être modélisée par un empilement de nœuds de plus en plus matures en allant vers le bas de la tige. D'autre part, la tige comprend différents tissus dont la lignification est variable. Le parenchyme médullaire au centre de la tige et l'écorce en périphérie sont des tissus non lignifiés. Xylème, phloème et fibres supraphloémiennes sont lignifiés. Le xylème secondaire représente la majeure part des tissus lignifiés, mais sa proportion dans la tige est génétiquement variable (figure 4, Guines *et al.*, 2003). Au niveau génétique, la digestibilité des tiges est négativement liée à la proportion de xylème dans la tige et positivement corrélée à la proportion de tissus non lignifiés (parenchyme médullaire et parenchyme cortical) (Guines, 2002). Du haut vers le bas de la tige, avec l'augmentation de la surface de la section de tige, on observe une augmentation de la proportion de xylème et d'écorce, et une stagnation de la surface de parenchyme médullaire (figure 5).

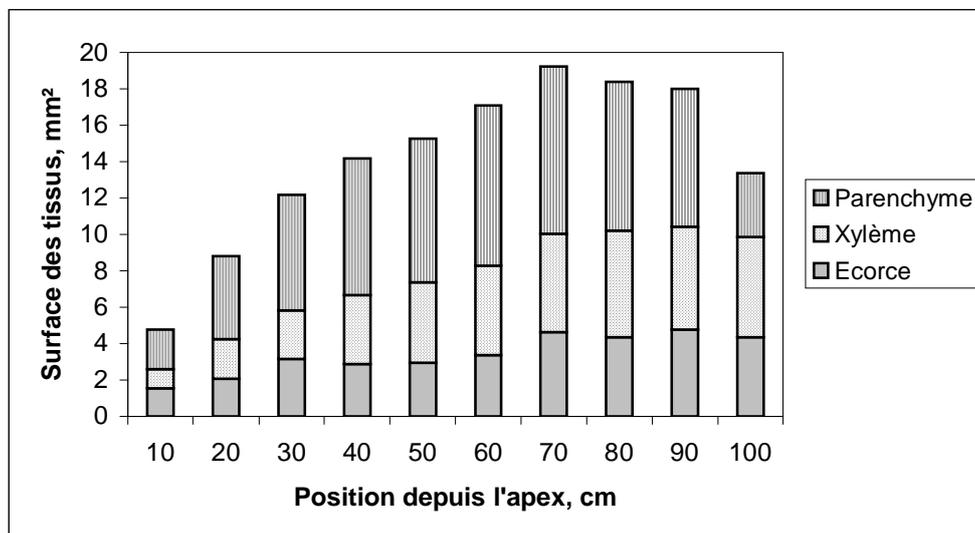
**Figure 4 : Coupe transversale d'une portion basale de tige de luzerne pour deux génotypes.**

*Figure 4 : Cross-section of a basal portion of lucerne stem for two genotypes.*



**Figure 5 : Evolution de la proportion de parenchyme médullaire, de xylème et d'écorce le long de la tige de luzerne.**

*Figure 5 : Variations of the proportion of pith parenchyma, xylem and cortex along a lucerne stem.*



## 5. Conséquences en sélection

Ces travaux ont permis de proposer des modifications dans les schémas de sélection, pour inclure la digestibilité comme critère de sélection.

Il paraît indispensable d'évaluer la variabilité intra-population, en mesurant la digestibilité des plantes individuelles, pour avoir accès au maximum de variabilité génétique. La conséquence est une forte augmentation du nombre de mesures de digestibilité à réaliser, mais l'utilisation du SPIR en réduit les coûts. Comme chaque génotype ne peut être multiplié facilement à l'identique dans un schéma de sélection, il est préférable de n'avoir qu'une valeur par génotype par coupe, éventuellement sur deux coupes, et d'analyser un grand nombre de génotypes. Ainsi, dans une pépinière de sélection, après avoir évalué des caractères hautement héritables (résistance à la verse, hauteur, résistance à des maladies), la mesure de la digestibilité sera effectuée sur les plantes retenues. Ces meilleures plantes entreront dans les étapes suivantes de la sélection (Julier *et al.*, 1999b). Même si l'héritabilité des caractères liés à la valeur énergétique est faible, leur transmission à la génération suivante est principalement additive (Guines *et al.*, 2002). L'importance des effets d'interaction entre cultivars et milieu (lieu, année ou coupe) indique qu'à toutes les étapes, la digestibilité des familles doit être vérifiée. L'exploitation de la variabilité individuelle a montré son efficacité pour l'amélioration génétique du rendement en fourrage (Katepa-Mupondwa *et al.*, 2002).

Parmi les caractères agronomiques, seul le rendement est lié négativement à la digestibilité. On identifie des génotypes et même des cultivars qui combinent un rendement élevé et une bonne digestibilité. Les autres caractères sont indépendants de la digestibilité (résistances aux maladies) ou positivement corrélés (teneur en protéines). Cependant, si la corrélation entre digestibilité et verse est nulle lorsqu'on analyse des variétés d'origines variées, elle apparaît au cours de la sélection (tableau 2). La verse doit être contrôlée dès les premières étapes de la sélection.

Les analyses de la structure histologique des tiges ont permis de dégager des facteurs explicatifs des variations génétiques pour la digestibilité. La proportion de xylème dans la tige est un facteur clé. Cependant, la complexité de sa mesure est un frein à sa prise en compte dans un schéma de sélection.

Tous ces éléments permettent d'inclure désormais la valeur énergétique dans des programmes de sélection de la luzerne. Les outils (mesure de la digestibilité, prédiction par le SPIR), les connaissances (variabilité génétique, hérédité) et les réflexions sur les schémas de sélection sont disponibles pour créer volontairement des variétés combinant la digestibilité aux autres critères agronomiques.

La prise en compte de la digestibilité dans les procédures d'inscription des variétés de luzerne au Catalogue Officiel français est à l'étude. Sur un essai mené par le CTPS pour l'inscription de variétés, des échantillons ont été prélevés pour analyser leur digestibilité, pour 3 coupes par an pendant 2 ans sur 10 lieux d'essais. Les données vont permettre de déterminer 1/ la méthode de mesure la plus efficace (solubilité enzymatique, teneur en NDF ou teneur en ADF), 2/ le nombre de lieux à prendre en compte et le nombre de coupes à analyser, 3/ les cotations à appliquer au critère de digestibilité pour obtenir l'inscription de nouvelles variétés améliorées pour ce critère.

Accepté pour publication, le 11 février 2003

**Remerciements** : Les travaux présentés ici ont reçu le soutien du Ministère de l'Agriculture (contrats de branches 1994-1996 et 1997-1999), de l'ACVF (Association des Créateurs de Variétés Fourragères) et du SNDF (Syndicat National des Déshydrateurs de France). Nous remercions chaleureusement tous ceux qui ont participé aux études.

#### REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Akin D.E. (1989) : "Histological and physical factors affecting digestibility of forages", *Agron. J.*, 81, 17-25.
- Beaudoin N., Denys D., Muller J.C., Monbrun M.D. (1992) : "Influence d'une culture de luzerne sur le lessivage du nitrate dans les sols de Champagne crayeuse", *Fourrages*, 129, 45-57.
- Buxton D.R., Hornstein J.S., Marten G.C. (1987) : "Genetic variation for forage quality of alfalfa stems", *Can. J. Plant Sci.*, 67, 1057-1067.
- Crochemore M.L., Huyghe C., Kerlan M.C., Durand F., Julier B. (1996) : "Partitioning and distribution of RAPD variation in the *Medicago sativa* complex", *Agronomie*, 16, 421-432.
- Crochemore M.L., Huyghe C., Ecalle C., Julier B. (1998) : "Structuration of alfalfa genetic diversity using agronomic and morphological characteristics. Relationship with RAPD markers", *Agronomie*, 18, 79-94
- Demarquilly C., Jarrige R. (1981) : "*Panorama des méthodes de prévision de la digestibilité et de la valeur énergétique des fourrages*", *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, INRA Publications, Versailles, 41-59.
- Emile J.C., Barrière Y., Mauriès M. (1996) : "Effects of maize and alfalfa genotypes evaluated from experiments with dairy cows", *Ann. Zootech.*, 45, 17-27.
- Emile J.C., Mauriès M., Allard G., Guy P. (1997) : "Genetic variation in the feeding value of alfalfa genotypes evaluated from experiments with dairy cows", *Agronomie*, 17, 119-125.
- Goering H.K., Van Soest P.J. (1970) : *Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures, and some applications)*, USDA Agric. Handbook 379. (US Gov. Print Office: Washington D.C).
- Guines F. (2002) : *Bases génétiques des variations pour la structure histologique des tiges de luzerne (Medicago sativa L.)*, thèse de doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes, 99 p.
- Guines F., Julier B., Ecalle C., Huyghe C. (2002) : "Genetic control of quality traits of lucerne (*Medicago sativa* L.)", *Aust. J. Agric. Res.*, 53, 401-407.
- Guines F., Julier B., Ecalle C., Huyghe C. (2003) : "Among and within-cultivar variability for histological traits of lucerne (*Medicago sativa* L.) stem", *Euphytica*, sous presse.
- Hatfield R.D., Weimer P.J. (1995) : "Degradation characteristics of isolated and in situ cell all lucerne pectic polysaccharides by mixed microbes", *J. Sci. Food Agric.*, 69, 185-196.
- Jenczewski E., Prospero J.M., Ronfort J. (1999a) : "Evidence for gene flow between wild and cultivated *Medicago sativa* (*Leguminosae*) based on allozyme markers and quantitative traits", *Am. J. Bot.*, 86, 677-687.
- Jenczewski E., Prospero J.M., Ronfort J. (1999b) : "Differentiation between natural and cultivated populations of *Medicago sativa* (*Leguminosae*) from Spain: analysis with random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers and comparison to allozymes", *Mol. Ecol.*, 8, 1317-1330.
- Julier B., Huyghe C. (1997) : "Effect of growth and cultivar on alfalfa digestibility in a multi-site trial", *Agronomie*, 17, 481-489.
- Julier B., Huyghe C. (1998) : "Variabilité génétique pour la digestibilité de la luzerne: relation avec la production de matière sèche et la proportion de feuilles", *Fourrages*, 154, 261-268.

Julier B., Guy P., Castillo-Acuna C., Caubel G., Ecalle C., Esquibet M., Furstoss V., Huyghe C., Lavaud C., Porcheron A., Pracros P., Raynal G. (1996) : "Genetic variation for disease and nematode resistance and forage quality in perennial diploid and tetraploid lucerne populations (*Medicago sativa* L.)", *Euphytica*, 91, 241-250.

Julier B., Lila M., Furstoss V., Travers V., Huyghe C. (1999a) : "Measurement of cell-wall digestibility in lucerne using the filter bag technique", *Anim. Feed Sci. Technol.*, 79, 239-245.

Julier B., Ecalle C., Huyghe C. (1999b) : "Potential for including the digestibility in breeding of alfalfa", *Proc. XIII Eucarpia Medicago spp Group Meeting*, Perugia, Italie, 13-16 Septembre 1999, 125-133.

Julier B., Huyghe C., Ecalle C. (2000) : "Within- and among-cultivar genetic variation in alfalfa : forage quality, morphology and yield", *Crop Science*, 40, 365-369.

Julier B., Emile J.C., Lila M., Huyghe C. (2001) : "Phenotypic variation for in sacco dry matter and fibre degradation kinetics in lucerne", *Aust. J. Agric. Res.*, 52, 439-445.

Justes E., Thiébeau P., Cattin G., Larbre D., Nicolardot B. (2001a) : "Libération d'azote après retournement. Un effet sur deux campagnes", *Perspectives Agricoles*, 264, 22-28.

Justes E., Thiébeau P., Nicolardot B. (2001b) : "N release from lucerne residues: comparison of field and incubation data, 11th Nitrogen Workshop, Reims (France), 09-12/09/2001, 2 p.

Katepa-Mupondwa F., Christie B.R., Michaels T.E. (2002) : "An improved breeding strategy for autotetraploid alfalfa (*Medicago sativa* L.)", *Euphytica*, 123, 139-146.

Lemaire G., Allirand J.M. (1993) : "Relation entre croissance et qualité de la luzerne : interaction génotype - mode d'exploitation", *Fourrages*, 134, 183-198.

Lenssen A.W., Sorensen E.L., Posler G.L., Harbers L.H. (1991) : "Basic alfalfa germplasms differ in nutritive content of forage", *Crop Sci.*, 31, 293-296.

Lila M., Barrière Y., Traineau R. (1986) : "Mise au point et étude d'un test enzymatique de la digestibilité de fourrages pauvres ou riches en amidon", *Agronomie*, 6, 285-291.

Sheaffer C.C., Peterson M.A., McCaslin, M., Volenec J.J., Cherney, J.H., Johnson K.D., Woodward W.T., Viands D.R. (1995) : "Acid detergent fiber, neutral detergent fiber concentration, and relative feed value", *Standard tests to characterize alfalfa cultivars*, NAAIC, p A-6.

Sheaffer C.C., Cash D., Ehlke N.J., Henning, J.C., Jewett J.G., Johnson K.D., Petersen M.A., Smith M., Hansen J.L., Viands D.R. (1998) : "Entry x environment interactions for alfalfa forage quality", *Agron. J.*, 90, 774-780.

Shenk J.S., Elliott F.C. (1970) : "Two cycles of directional selection for improved nutritive value of alfalfa", *Crop Sci.*, 10, 710-712.

Thiébeau P., Justes E., Vanloot P. (2001) : "Filière luzerne en France – des atouts en faveur de l'environnement", *Perspectives Agricoles*, 266, 32-36.

Vallet C. (1997) : *Analyses des relations entre la croissance et la structure des parois des tiges de luzerne. Approches en conditions contrôlées et au champ*, thèse de doctorat de l'INAPG, 104p.

Wilson J.R., Mertens D.R. (1995) : "Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage", *Crop Sci.*, 35, 251-259.

## SUMMARY

### **Towards a genetic improvement of the energy value of lucerne**

Feeding value is an important trait in forages. Lucerne, which has a high protein content, has only a moderate energy value. Several studies were carried out to analyse the possibilities of genetic progress, and the methods to obtain it. Tools were developed for the analysis of a large number of samples, using NIRS (near infra-red spectrophotometry), making it possible to measure this trait in a breeding programme. A large genetic variation was evidenced among cultivars and among individual plants, and the inheritance of the trait proved mainly additive. The genetic correlation between digestibility and forage yield was negative, but between digestibility and protein content it was positive. The analysis of the histological structure of the stem showed that the genetic variations for digestibility are related to the proportion of secondary xylem (lignified tissue) and to the proportion of non-lignified tissue (pith parenchyma and cortical parenchyma).