

Amélioration génétique de la valeur alimentaire des espèces fourragères pérennes et innovation variétale

C. Huyghe¹, C. Tabel²

L'amélioration génétique de la valeur alimentaire des graminées et légumineuses fourragères pérennes est un enjeu important pour la sélection et l'utilisation de ces espèces, à la fois en culture pure et en mélanges ; elle est prise en compte en sélection et lors de l'inscription des variétés. L'article se concentre sur les valeurs protéique et énergétique, composantes majeures de la valeur alimentaire.

RÉSUMÉ

La teneur en protéines est très dépendante du stade de développement, mais des progrès ont été observés. La dégradabilité des protéines peut être réduite par la présence de tanins condensés ou de polyphénol oxydase, enzyme qui a une activité importante chez le trèfle violet et qui est également détectée chez des graminées fourragères. Une variabilité génétique importante de la valeur énergétique a été décrite entre et au sein des populations et variétés, conduisant à des innovations variétales. En France, la digestibilité est prise en compte pour l'inscription des variétés de luzerne. La teneur en sucres solubles influence le ratio énergie rapidement disponible/protéines et, ainsi, les performances animales ; une diversité importante, potentiellement exploitable, existe chez des espèces naturellement riches (les ray-grass) et chez des espèces à teneur faible comme le dactyle.

MOTS CLÉS

Fourrage, graminée, légumineuse, sélection variétale, tanin, valeur azotée, valeur énergétique.

KEY-WORDS

Cultivar breeding, energy value, forage, grass, legume, nitrogen value, tannin.

AUTEURS

1 : INRA, SDAR Centre Inra Poitou-Charentes, BP6, F-86600 Lusignan ;
Christian.Huyghe@lusignan.inra.fr

2 : R2n, rue Emile Singla, BP 3336, F-12033 Rodez cedex 9

L'amélioration génétique et l'innovation variétale sur les espèces fourragères pérennes ont connu de grands développements au cours des 50 dernières années (TABEL et ALLERIT, 2005) conduisant à la mise en place d'une filière active de création et de production de semences. Cette activité se déploie en France sur de nombreuses espèces dont les principales sont le ray-grass anglais, le ray-grass d'Italie, le dactyle et la fétuque élevée pour les graminées, la luzerne, le trèfle violet et dans une moindre mesure le trèfle blanc parmi les légumineuses.

Les objectifs de sélection et les critères d'inscription ont principalement concerné l'amélioration de la productivité fourragère et de sa répartition sur l'année, ainsi que la résistance aux maladies et aux parasites. La valeur alimentaire des fourrages n'a été prise en compte qu'occasionnellement ou récemment parmi les critères d'inscription des variétés. Ce fut le cas de façon temporaire pour l'adaptation au pâturage. Aujourd'hui, la composition biochimique du fourrage est prise en compte chez la luzerne, au travers de la teneur en protéines et en parois cellulaires. Prochainement, une évolution semblable devrait voir le jour chez les graminées fourragères.

Les bases de l'amélioration des espèces fourragères ont été élaborées dans un contexte agronomique où les espèces étaient majoritairement cultivées en culture pure avec des apports d'intrants importants. Les évolutions récentes du marché conduisent à une augmentation forte des semis en mélanges, avec des lots conditionnés ou des préparations faites par l'éleveur. L'analyse de la composition biochimique et de la valeur alimentaire de couverts à flore complexe démontre que ces couverts suivent les mêmes relations générales entre biomasse disponible et traits biochimiques que les couverts mono-spécifiques (HUYGHE *et al.*, 2008). Ainsi, on peut attendre qu'une amélioration génétique de la qualité des différentes composantes d'une prairie à flore complexe améliore sa valeur agronomique, l'abondance relative des espèces étant un facteur déterminant de l'effet net de la diversité sur la biomasse et la valeur alimentaire (POLLEY *et al.*, 2007).

L'amélioration et l'analyse du progrès génétique du rendement et de la résistance ont fait l'objet de différentes synthèses sur plusieurs espèces (trèfle blanc, luzerne) et des études sont en cours en France pour quantifier le progrès génétique, principalement sur la production de biomasse et la résistance aux maladies chez le ray-grass anglais. En conséquence, nous avons choisi de concentrer ce travail sur les aspects relatifs à la composition biochimique, en analysant deux des composantes importantes de la valeur alimentaire, à savoir la valeur protéique et la valeur énergétique. D'autres composantes importantes comme, par exemple, l'adaptation au pâturage ou la présence de facteurs antinutritionnels, conséquence de certaines races d'endophytes, ne seront pas traités ici. Nous détaillerons les connaissances récentes relatives à la diversité génétique disponible, aux bases génétiques et au progrès génétique obtenu.

1. La valeur protéique des fourrages

La valeur protéique des fourrages inclut différentes dimensions que sont la teneur en protéines, leur composition en acides aminés et leur dégradabilité.

■ La teneur en protéines

Il est **relativement difficile de modifier la teneur en protéines** des espèces fourragères **à biomasse produite constante et sous un niveau donné de fertilisation**. En effet, on récolte l'ensemble de la biomasse aérienne produite et de nombreuses études ont démontré l'existence d'une loi de dilution : l'augmentation de la biomasse aérienne conduit à une diminution de la teneur en protéines, par dilution du compartiment métabolique (feuilles et limbes) dans le compartiment structurel (tiges et gaines) (LEMAIRE et ALLIRAND, 1993). Dans le cas de cultures de graminées, la réduction de l'alimentation azotée va en outre conduire à une réduction de la teneur en azote (GASTAL et DURAND, 2000). De ce fait, les cultures en association permettent de maintenir des teneurs en azote proches de la courbe de dilution en assurant une meilleure alimentation azotée des graminées soit par l'utilisation privilégiée de l'azote minéral, soit, dans une prairie bien établie, par transfert d'azote depuis les légumineuses vers les graminées (HOGH-JENSEN et SCHJOERRING, 2001).

Les études conduites **en génétique moléculaire** identifient des zones du génome (QTL, *Quantitative Trait Loci*) impliquées dans les variations quantitatives de teneurs. Ainsi, sur le ray-grass, dans un croisement à base génétique large, XIONG *et al.* (2006) détectent des QTL pour la teneur en protéines, dont un QTL majeur sur le groupe de liaison 2. Toutefois, ce dispositif ne permet pas de dire si ce QTL est généré par des différences de croissance et d'accumulation de biomasse.

Chez certaines graminées fourragères, il existe des mutants *stay-green* où la remobilisation des protéines dans les tissus foliaires sénescents est limitée. Ce caractère a fait l'objet d'étude sur le ray-grass anglais pour savoir dans quelle mesure il pourrait améliorer la teneur moyenne des fourrages, et ceci sous pâturage. Les travaux de KINGSTON-SMITH *et al.* (2002) n'ont montré aucun effet de ce caractère sur la teneur en protéines du fourrage et ceci sous différents rythmes de défoliation, vraisemblablement en raison de la faible proportion de tissus sénescents dans les conditions usuelles d'utilisation. Cette mutation pourrait peut-être avoir un intérêt dans le cas de couverts avec une plus grande proportion de tissus de ce type, par exemple lors de reports sur pied.

■ La dégradabilité des protéines

Les protéines fourragères récoltées ou pâturées sont des **protéines foliaires**. De ce fait, elles sont hautement solubles. Après ingestion par l'animal, elles sont **rapidement métabolisées par la flore du rumen** et ceci peut conduire à une valorisation assez

médiocre des protéines traduite par les valeurs PDI et à des rejets nuisibles pour l'environnement. La dégradabilité des protéines mesurée sur animaux fistulés diminue avec l'avancement du stade des couverts, simultanément à la diminution de la digestibilité de la matière sèche (BALDE *et al.*, 1993).

Chez la luzerne, espèce caractérisée par une très forte dégradabilité des protéines, BRODERICK et BUXTON (1991) ont identifié une variation génétique faible mais significative notamment en provenance de *M. falcata*, ceci étant confirmé par les travaux de TREMBLAY *et al.* (2002) tandis que ROONEY *et al.* (1997) ont démontré que cette variation génétique était essentiellement additive, donc "facilement" exploitable en sélection.

Chez le trèfle violet, espèce où la dégradabilité des protéines est en moyenne plus faible que chez la luzerne, BRODERICK *et al.* (2004) ont analysé la variation au sein d'un ensemble de 133 variétés et populations et ont montré une gamme de variation considérable. Ces auteurs ont estimé que la quantité de protéines non dégradées en sortie de rumen variait de 287 à 409 g protéines/kg protéines ingérées. En comparaison, les valeurs pour la luzerne sont comprises entre 171 et 212 g/kg protéines (BRODERICK et BUXTON, 1991). Ceci montre l'ampleur de la gamme de variation exploitable chez le trèfle violet pour réduire la dégradabilité des protéines et ainsi améliorer la valeur alimentaire.

Comment expliquer les variations observées et donc comment réduire génétiquement la dégradabilité des protéines ?

La principale explication réside dans la présence de composés qui vont limiter la solubilité des protéines en se liant avec elles. Deux types de composés peuvent ainsi être concernés. Il s'agit d'une part des **tanins condensés** présents chez certaines légumineuses fourragères, et en particulier le lotier où la teneur en tanins condensés influence la dégradabilité des protéines (HEDQVIST *et al.*, 2000), et d'autre part d'une enzyme, la **polyphénol oxydase** (PPO).

L'effet des tanins a été souvent documenté, notamment sur la base de différences entre espèces et parfois de différences entre variétés ou populations, comme dans le cas du lotier.

La PPO est l'enzyme impliquée dans la réaction de brunissement des feuilles de **trèfle violet** lorsqu'elles sont coupées ou broyées en environnement aérobie. Dans cette configuration, la PPO interagit avec les molécules de phénol. En comparant un mutant génétique naturel (une seule plante) ayant une faible activité PPO, identifié dans le cultivar Milvus, un type "normal" issu du même cultivar, et le type "normal" en présence d'ascorbate, un inhibiteur de l'activité PPO, LEE *et al.* (2004) ont montré que **la protéolyse et la lipolyse étaient inhibées par une importante activité PPO**. La sélection de fourrages avec une activité PPO importante pourrait être une voie très intéressante pour réduire les pertes protéiques et lipidiques soit durant l'ensilage (SULLIVAN et HATFIELD, 2006), soit dans le rumen.

L'activité PPO a été mesurée dans 24 variétés ou populations de trèfle violet par JONES *et al.* (1995) qui ont montré des différences significatives, mais la répartition de la variation génétique inter-

intra-population n'est pas connue. Cette variation intra-population existe bien car c'est celle exploitée dans l'étude de LEE *et al.* (2004) ou d'autres études de la même équipe.

Pour les espèces de légumineuses où l'activité PPO s'est révélée particulièrement faible, voire n'a jamais été détectée, une possibilité est offerte par **la création de matériel transgénique**. Ceci a été réussi par SULLIVAN *et al.* (2004) avec la luzerne en utilisant trois gènes codant pour la PPO et clonés chez le trèfle violet. Même si l'activité PPO chez les transformants est plus faible que chez le trèfle, une réduction de 80% de la protéolyse post-récolte a été observée dans du matériel foliaire de plantes ayant intégré le gène PPO1. Ceci suggère qu'une activité PPO, même nettement plus faible que chez le trèfle violet, pourrait avoir des applications pratiques importantes. Il faudrait se poser la question de savoir si cette activité PPO pourrait également jouer un rôle dans la maîtrise de la météorisation, ce phénomène étant également lié au comportement des protéines issues de fourrages frais dans le rumen.

Parmi **les graminées**, l'activité PPO la plus forte a été détectée chez le dactyle et la plus faible chez la fêtuque élevée, avec respectivement 740 et 6,5 U/g poids frais (LEE *et al.*, 2006b).

Si des cultivars avec une activité PPO élevée étaient créés, réduisant la protéolyse et la lipolyse en culture et en utilisation en pure, on ignore quelles seraient les conséquences pour des utilisations en prairies multispécifiques ou en rations complexes, car on ne dispose d'aucun élément sur les interactions entre l'activité PPO d'une espèce et les protéines et lipides de l'ensemble du couvert végétal.

Cependant, les expérimentations conduites par LOURENCO *et al.* (2005) avec des mélanges de trèfle blanc et violet et de ray-grass anglais ont montré des modifications de la lipolyse, suggérant effectivement **une interaction entre les composés** de toutes les espèces et organes présents.

Ceci rejoint les observations faites sur les interactions alimentaires générées par la présence de tanins condensés du lotier ou du sainfoin lors d'incubation avec d'autres légumineuses (JULIER *et al.*, 2002 ; AUFRÈRE *et al.*, 2005). En ayant à l'esprit qu'une faible activité PPO chez une luzerne transgénique permet une réduction forte de la protéolyse, **les couverts combinant des espèces avec et sans activité PPO pourraient être une voie à explorer** pour une meilleure valorisation des protéines et des lipides des prairies.

■ La composition des protéines

Il existe peu d'éléments relatifs à la composition en acides aminés des protéines fourragères. Cette composition a fait l'objet de **peu d'études** et ceci pour plusieurs raisons : i) les protéines étant profondément "remaniées" dans le rumen, leur composition initiale en acides aminés joue de façon limitée, ii) on a peu de données sur leur composition et iii) on a peu de moyens de la modifier.

Les études de la composition en acides aminés des protéines montrent que celle-ci varie en fonction du stade de développement des couverts. Ainsi DJUKIC *et al.* (2008) ont montré que sur des couverts

de luzerne jeunes, à teneur élevée en protéines, la teneur en lysine était plus élevée, les acides aminés soufrés montrant une teneur constante. *A contrario*, BALDE *et al.* (1993) sur luzerne et dactyle n'ont observé aucun changement avec le stade de développement.

Les variations entre variétés et populations sont mal connues.

Devant la faible teneur moyenne en acides aminés soufrés et la difficulté d'identifier des variations entre populations, au cours des années 1990, une équipe australienne a utilisé la transgénèse pour chercher à créer des populations à teneur enrichie en méthionine et cystéine et ceci en introduisant un gène codant pour une protéine de tournesol, riche en acides aminés soufrés, la SFA8. Les plantes transgéniques obtenues avaient effectivement une teneur accrue ce qui permettait un apport d'acides aminés soufrés importants aux animaux (TABEL *et al.*, 1995), dans le cas présent des ovins, permettant une augmentation de la production de laine, mais ce programme n'a pas été poursuivi. Cette voie offre toutefois peu de perspectives, car peu d'études soulignent que la composition en acides aminés des fourrages soit un facteur limitant.

2. La valeur énergétique des fourrages

La valeur énergétique des fourrages produits est un caractère essentiel de la valeur agronomique des variétés, car elle est une composante importante pour la valorisation par les animaux.

■ La digestibilité des parois cellulaires

Des efforts importants ont été consacrés à l'amélioration de la digestibilité, chez différentes espèces, et en particulier **chez la luzerne où ce caractère est un réel facteur limitant**, pour une utilisation en grandes quantités dans les rations d'animaux laitiers à hautes performances. Ce caractère a notamment été longuement travaillé au niveau génétique à l'Inra de Lusignan. La synthèse de JULIER *et al.* (2003) montre les liens chez cette espèce entre la teneur en parois et la digestibilité de la plante entière et des parois cellulaires, avec en conséquence une forte liaison négative entre accumulation de biomasse et digestibilité, l'absence de liaison entre résistance à la verse et digestibilité, et **la possibilité de modifier la structure des tiges pour parvenir à améliorer la digestibilité**. Ceci a été confirmé par JUNG et LAMB (2006) qui ont conduit une sélection divergente pour la digestibilité *in vitro* des parois mesurée soit rapidement (16 h), soit en fin de traitement (96 h). Pour les sélections faites à 16 h, la sélection positive pour la digestibilité conduit à une réduction des teneurs en parois. Pour les sélections à 16 et 96 h, l'augmentation de la digestibilité s'accompagne d'une diminution de la teneur en lignine et d'une augmentation de la teneur en pectines. Une sélection sur les fractions pariétales a été entreprise par TECLÉ *et al.* (2008) qui montrent qu'en réduisant la teneur en ADF et en lignine, il est possible d'augmenter la digestibilité. Toutefois, cette étude ne fournit pas d'éléments sur les conséquences quant à la biomasse produite. La même démarche a été mise en œuvre par

rapport à la teneur en pectines (composés pariétaux spécifiques des dicotylédones). Une sélection pour une augmentation de la teneur en pectines s'est traduite par une diminution de la teneur en parois (NDF et ADF) et une amélioration de la digestibilité (TECLE *et al.*, 2006).

Un travail similaire de sélection clonale divergente a été entrepris par CASLER *et al.* (2008) sur trois graminées fourragères (brome inerme, dactyle et phalaris), en se focalisant sur la teneur en lignine et certains composés phénoliques, avec la réponse attendue d'une corrélation négative entre la teneur en lignine et en acide férulique étherifié d'une part et la digestibilité des parois d'autre part.

L'analyse des bases génétiques des variations observées entre populations et entre clones est possible grâce à la recherche de QTL. Un tel travail a été entrepris sur différentes graminées et légumineuses fourragères, la condition préalable étant l'existence de cartes génétiques denses avec un grand nombre de marqueurs co-dominants, par exemple des micro-satellites. Un tel travail a été mené à bien sur la luzerne en s'appuyant sur l'espèce modèle diploïde, *M. truncatula* (JULIER *et al.*, 2007), sur le ray-grass anglais (COGAN *et al.*, 2005 ; VAN DEALE *et al.*, 2008 ; SKOT *et al.*, 2007), sur la fétuque élevée (SAHA *et al.*, 2005).

L'analyse des gènes responsables de ces variations est complexe en raison de la complexité des voies métaboliques impliquées. Les principaux travaux dans ce domaine s'inspirent de ceux menés sur le maïs et concernent donc la voie de synthèse des lignines. Ils n'ont pas encore conduit à valider des gènes candidats chez les espèces fourragères pérennes. Cependant, le rôle des gènes contrôlant la voie de synthèse de la lignine est confirmé par les travaux de transgénèse. Ainsi, sur la fétuque élevée, CHEN *et al.* (2004) en réduisant l'expression de la caffeic acid O-méthyltransférase et BUANAFINA *et al.* (2008) en surexprimant la ferulic-acid-estérase sont parvenus à augmenter la digestibilité des parois. Toutefois, à ce jour, ces travaux de transgénèse restent du domaine du laboratoire. Dans ce cadre, le sélectionneur R2n est allé jusqu'à tester des fétuques élevées à teneur limitée en lignine au champ, mais la situation actuelle sur la transgénèse n'a pas permis à ce jour d'aller au bout de la démonstration.

La digestibilité est prise en compte de façon courante dans les programmes de sélection chez les différents sélectionneurs français et européens des espèces fourragères soit en mesurant la digestibilité, soit en mesurant différents composés pariétaux, et en général par utilisation de la spectrométrie proche infrarouge.

La teneur en ADF est utilisée depuis janvier 2007 comme critère d'inscription des variétés de luzerne sur le catalogue français avec le même poids dans la cotation que la teneur en protéines, ces deux caractères apparaissant très corrélés. Sur la base de l'expérience des premières années, il paraît possible de créer et inscrire des variétés apportant un gain à la fois en productivité et en qualité ; la figure 1 illustre la relation entre la cotation finale, fortement influencée par le rendement et les maladies, et la

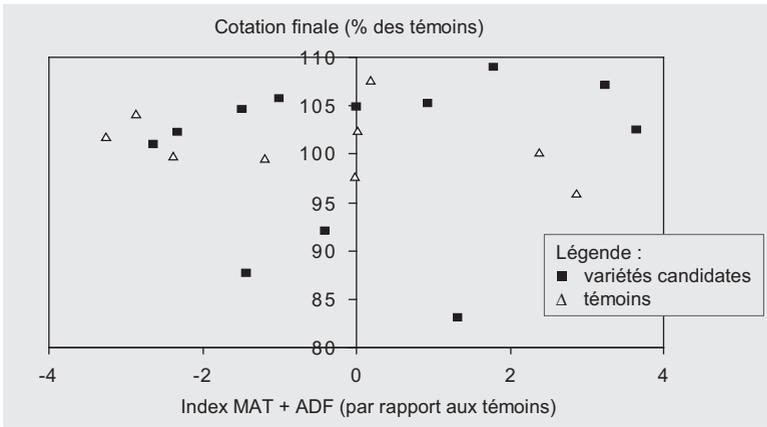


FIGURE 1 : Relation entre l'index de composition biochimique et la cotation finale des luzernes.

FIGURE 1 : Relationship between the biochemical composition index and the final quotation of lucerne cultivars.

contribution de la qualité à l'index. Une approche similaire en vue d'intégrer la composition biochimique dans les critères d'inscription est en cours d'étude chez les graminées fourragères.

■ Les sucres solubles

Chez les **graminées pérennes**, la fraction "sucres" a été largement étudiée, en raison d'une part de sa **contribution à la valeur alimentaire**, même si ceci est parfois l'objet de controverses, et en raison de sa contribution à la croissance et à la pérennité des couverts.

Comme montré par LEE *et al.* (2001) sur agneaux et par MILLER *et al.* (2001) sur bovins viande, les variétés de ray-grass anglais riches en sucres, cultivées en pur, améliorent la performance animale grâce à un apport énergétique accru. Ceci contribue à une augmentation du ratio entre l'énergie rapidement disponible et les protéines (MARAIS *et al.*, 2003). L'augmentation de la teneur en sucres influence aussi positivement l'ingestion (SMIT *et al.*, 2006). Il a également été montré que l'augmentation de la teneur en sucres solubles modifie la cinétique de dégradation de la matière sèche (LEE *et al.*, 2002), augmente l'efficacité de la synthèse protéique microbienne et semble modifier la composition de la population bactérienne ruminale (LEE *et al.*, 2003).

Lors d'alimentation d'animaux avec des mélanges ray-grass anglais - trèfle violet, un cultivar de ray-grass anglais riche en sucres a conduit à une augmentation de 20% de la valorisation de l'azote (MERRY *et al.*, 2006). De même, cette situation modifie les flux intestinaux de lipides, avec une teneur plus élevée d'acides gras totaux ramifiés (LEE *et al.*, 2006a). Ceci est cohérent avec une modification de la population microbienne.

La teneur en sucres solubles influence positivement la survie au niveau des variétés (BOSCHMA *et al.*, 2003) et au niveau des individus comme l'a montré STRAUB (2006) sur des plantes individuelles de ray-grass anglais. HISANO *et al.* (2004) ont plus précisément analysé la **résistance au gel** en utilisant des plantes transgéniques surexprimant les gènes de fructosyltransférases du blé, les génotypes enrichis en sucres supportant mieux les dommages liés au gel. Le rôle des sucres

dans la tolérance au gel et à la sécheresse a également été démontré par HENDRY et WALLACE (1993) ou DE ROOVER *et al.* (2000).

Les réserves en sucres, abondantes au niveau du collet des graminées, jouent un **grand rôle dans la repousse** après une coupe (DONAGHY et FULKERSON, 1997). En comparant des variétés riches et pauvres en sucres solubles, LASSEUR *et al.* (2007) ont montré que la repousse après défoliation était plus rapide pour les variétés riches en sucres, ayant plus de réserves et les remobilisant pour restaurer la surface foliaire.

Le criblage de la diversité génétique pour la teneur en sucres solubles est possible car ce caractère est précisément prédit par la spectrométrie proche infrarouge pour les différentes espèces de graminées. L'analyse des composés, et notamment les mono- et les disaccharides, est possible par HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*).

La teneur en sucres solubles montre de grandes variations au cours de l'année et de la saison, et des interactions génotype x milieu sont parfois observées. En conséquence, les héritabilités au sens large sont assez modérées, comprises entre 0,42 et 0,64 chez le ray-grass anglais selon la saison d'observation et l'organe considéré (feuilles ou bases de talles ; TURNER *et al.*, 2006). La sélection sur ce caractère a été efficace avec l'inscription de variétés telles que Aberavon (WILKINS et LOVATT, 2003). La compréhension des bases génétiques est nécessaire pour systématiser une telle sélection, l'étape intermédiaire étant la recherche de QTL.

Dans leur étude QTL, COGAN *et al.* (2005) n'ont pas identifié de QTL stable entre lieux et années pour la teneur en sucres. A l'opposé, TURNER *et al.* (2006), en utilisant une population construite à partir de plantes parentales contrastées pour la teneur en sucres solubles (ce qui explique les différences de résultats avec ceux de COGAN *et al.* (2005)), ont identifié des QTL pour les différentes saisons et les organes, un seul QTL expliquant jusqu'à 38,7% de la variation génétique observée. Cette étude a également montré que les déterminants génétiques étaient différents selon l'organe considéré, avec un QTL majeur pour la teneur en sucres des feuilles sur le groupe de liaison 6. L'identification de gènes candidats comme la fructosyltransférase ou la fructan 1-exohydrolase (1-FEH) (LOTHIER *et al.*, 2007) et des allèles seront les étapes suivantes.

La teneur en sucres solubles peut également être modifiée par transgénèse et des travaux de ce type ont été réalisés au Danemark par le sélectionneur DLF, sans application variétale pour l'instant, à notre connaissance.

Grâce à la synténie existant entre les différentes espèces de graminées pérennes, les acquis récents chez le ray-grass anglais ouvrent des perspectives nouvelles chez les autres espèces. Ceci pourrait notamment être le cas pour le dactyle où la teneur moyenne en sucres est très basse, souvent sous le seuil d'une valorisation optimale du fourrage par les animaux ou pour obtenir une bonne fermentation en ensilage. En analysant un ensemble des 65 écotypes de dactyle, SANADA *et al.* (2007a) ont trouvé des différences

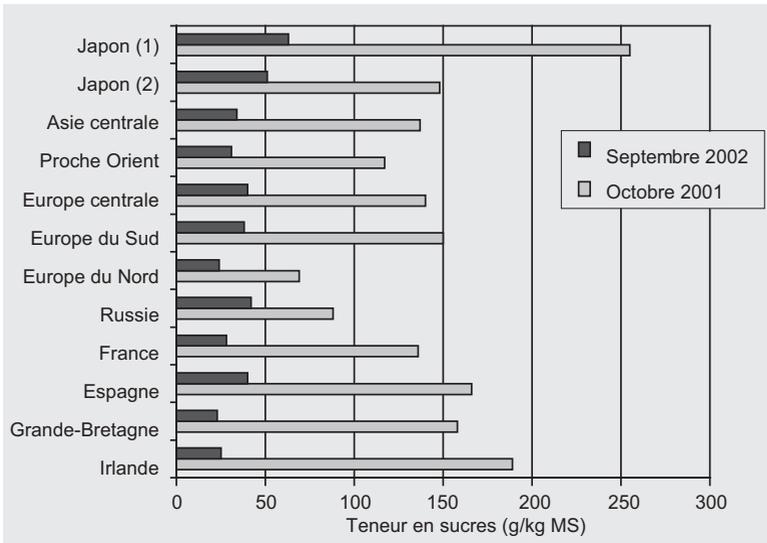


FIGURE 2 : Variations de la teneur en sucres solubles entre écotypes de dactyle de différentes régions du monde à deux dates d'observation (d'après SANADA *et al.*, 2007a).

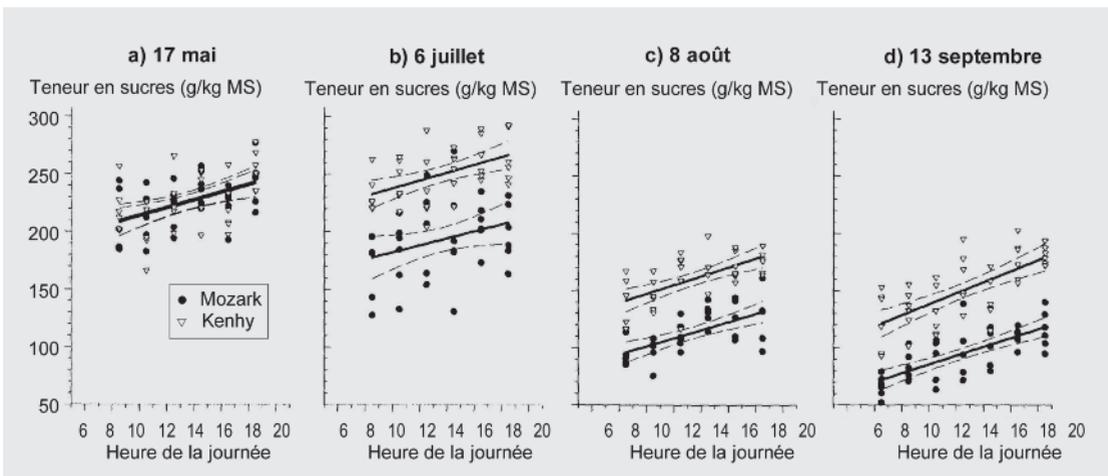
FIGURE 2 : Variations of the soluble carbohydrate content among cocksfoot ecotypes from various regions in the world at two dates of conservation (after SANADA *et al.*, 2007a).

significatives pour la teneur en sucres solubles, à la fois dans les feuilles et les bases des tiges, avec des variations du simple au double, malgré un effet année et date important (figure 2). En particulier, les écotypes japonais de l'île d'Hokkaïdo présentaient les teneurs les plus élevées (SANADA *et al.*, 2004). Au-delà de ces variations interpopulations, il serait utile de quantifier la variation intra-population, elle aussi exploitable en sélection. L'analyse génétique entreprise sur le dactyle par la même équipe montre une héritabilité au sens strict élevée (0,59 et 0,53 respectivement pour une étude en couverts denses ou en plantes isolées) démontrant une hérédité additive, "facilement" valorisable en sélection (SANADA *et al.*, 2007b).

De même, chez la fétuque élevée, une variation importante a été détectée entre variétés et populations en sélection, à l'exception des coupes de printemps (SHEWMAKER *et al.*, 2006), les différences entre cultivars étant significatives et constantes au long des journées d'étude (figure 3).

FIGURE 3 : Variation de la concentration en sucres totaux au long de la journée pour deux variétés de fétuque élevée à 4 dates différentes (d'après SHEWMAKER *et al.*, 2006).

FIGURE 3 : Variation of the total carbohydrate concentration during the day in two cultivars of Tall Fescue at 4 different dates (after SHEWMAKER *et al.*, 2006).



L'augmentation de la teneur en sucres solubles des **légumineuses fourragères** constitue également un objectif très important, même s'il revêt une difficulté majeure. Défi important car l'absence de sucres solubles dans des espèces telles que la luzerne limite fortement leur valeur alimentaire et leur valorisation par l'animal. Sous réserve de confirmation au cours des années à venir avec la publication des travaux en cours, des perspectives originales et prometteuses semblent se dessiner chez le trèfle blanc (M. ABBERTON, comm pers.)

Conclusion

Cette courte analyse de la littérature et des résultats de recherche récents montre que des résultats importants ont été obtenus au cours de la dernière décennie, pour les deux composantes majeures de la valeur alimentaire. Au-delà de la teneur en protéines et de la digestibilité pour lesquelles des avancées significatives ont été réalisées et se traduisent aujourd'hui par des variétés améliorées, **de nouvelles pistes semblent se dessiner**, pour avoir des variétés de meilleure valeur alimentaire, utilisables en culture pure ou en mélange avec d'autres espèces. Ces pistes que sont la présence de composés secondaires et de polyphénol oxydase et la teneur en sucres solubles doivent être discutées au regard des potentiels de progrès possibles et des objectifs pertinents en termes de nutrition animale.

Sur l'ensemble des composantes de la valeur alimentaire, la transgénèse a été utilisée pour valider le rôle supposé de gènes. Mais à ce jour elle n'a pas pu démontrer une réelle application pour les éleveurs. La question reste donc posée de savoir si elle pourra apporter une diversité génétique originale. Il faut toutefois souligner l'existence d'une diversité génétique et les solutions offertes par l'utilisation des espèces en mélanges qui permettent de répondre aujourd'hui aux besoins des éleveurs.

Intervention présentée aux Journées de l'A.F.P.F.,
"Des fourrages de qualité pour des élevages à hautes performances
économiques et environnementales",
les 25-26 mars 2009.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AUFRÈRE J., DUDILIEU M., PONCET C., BAUMONT R. (2005) : "Effect of condensed tannins in sainfoin on in vitro protein solubility of lucerne", *Proc. 20th Int. Grassl. Congr.*, eds F.P. O'Mara *et al.*, Dublin, Irlande, Wageningen Academic Publishers, p. 248.
- BALDE A.T., VADERSALL J.H., ERDMAN R.A., REEVES J.B., GLENN B.P. (1993) : "Effect of stage of maturity of alfalfa and orchardgrass on in-situ dry matter and crude protein degradability and amino-acid composition", *Animal Feed Science and Technology*, 44, 29-43.
- BOSCHMA S.P., SCOTT J.M., HILL M.J., KING J.R., LUTTON J.J. (2003) : "Plant reserves of perennial grasses subjected to drought and defoliation stresses on the Northern Tablelands of New South Wales, Australia", *Australian J. Agric. Research*, 54, 819-828.
- BRODERICK G.A., BUXTON D.R. (1991) : "Genetic variation in alfalfa for ruminal protein degradability", *Canadian J. of Plant Sci.*, 71, 755-760.

- BRODERICK G.A., ALBRECHT K.A., OWENS V.N., SMITH R.R. (2004) : "Genetic variation in red clover for rumen protein degradability", *Animal Feed Science and Technology*, 113, 157-167.
- BUANAFINA M.M.D.O., LANGDON T., HAUCK B., DALTON S., MORRIS P. (2008) : "Expression of a fungal ferulic acid esterase increases cell wall digestibility of tall fescue (*Festuca arundinacea*)", *Plant Biotechnology J.*, 6, 264-280.
- CASLER M.D., JUNG H.G., COBLENTZ W.K. (2008) : "Clonal selection for lignin and etherified ferulates in three perennial grasses", *Crop Sci.*, 48, 424-433.
- CHEN L., AUH C.K., DOWLING P., BELL J., LEHMANN D., WANG Z.Y. (2004) : "Transgenic down-regulation of caffeic acid O-methyltransferase (COMT) led to improved digestibility in tall fescue (*Festuca arundinacea*)", *Functional Plant Biology*, 31, 235-245.
- COGAN N.O.I., SMITH K.F., YAMADA T., FRANCKI M.G., VECCHIES A.C., JONES E.S., SPANGENBERG G.C., FORSTER J.W. (2005) : "QTL analysis and comparative genomics of herbage quality traits in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.)", *Theor Appl Genet.*, 110, 364-380.
- DE ROOVER J., VAN DEN BRANDEN K., VAN LAERE A., VAN DEN ENDE W. (2000) : "Drought induces fructan synthesis and 1-SST (sucrose:sucrose fructosyltransferase) in roots and leaves of chicory seedlings (*Cichorium intybus* L.)", *Planta*, 210, 808-814.
- DJKIC D., STEVOVIC V., DJUROVIC D., ILIC O., JERKOV M. (2008) : "Yield, nutritional and medicinal properties of alfalfa", *Acta Agriculturae Serbica*, 13, 26, 85-95.
- DONAGHY D.J., FULKERSON W.J. (1997) : "The importance of water-soluble carbohydrate reserves on regrowth of *Lolium perenne* (L.)", *Grass and Forage Sci.*, 52, 401-407.
- GASTAL F., DURAND J.L. (2000) : "Effects of nitrogen and water supply on N and C fluxes and partitioning in defoliated swards", G. Lemaire, J. Hodgson, A. de Moraes, P.C. de F. Carvalho, *Grassland Ecophysiology and Grazing Ecology*, CAB, 15-39.
- HEDQVIST H., MUELLER-HARVEY I., REED J.D., KRUEGER C.G., MURPHY M. (2000) : "Characterisation of tannins and *in vitro* protein digestibility of several *Lotus corniculatus* varieties", *Animal Feed Science and Technology*, 87, 41-58.
- HENDRY G.A.F., WALLACE R.K. (1993) : "The origin, distribution and evolutionary significance of fructans", *Science and technology of fructans*, Suzuki M., Chatterton N.J., CRC Press, Boca Raton, 119-139.
- HISANO H., KANAZAWA A., KAWAKAMI A., YOSHIDA M., SHIMAMOTO Y., YAMADA T. (2004) : "Transgenic perennial ryegrass plants expressing wheat fructosyltransferase genes accumulate increased amounts of fructan and acquire increased tolerance on a cellular level to freezing", *Plant Sci.*, 167, 861-868.
- HOGH-JENSEN H., SCHJOERRING J.K. (2001) : "Rhizodeposition of nitrogen by red clover, white clover and ryegrass leys", *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 439-448.
- HUYGHE C., BAUMONT R., ISSELSTEIN J. (2008) : "Plant diversity in grasslands and feed quality", A. Hopkins et al. eds., *Biodiversity and animal feed, Grassland Science in Europe*, 13, 375-386.
- JONES B.A., HATFIELD R.D., MUCK R.E. (1995) : "Screening legume forages for soluble phenols, polyphenol oxidase and extract browning", *J. Sci. of Food and Agriculture*, 67, 109-112.
- JULIER B., LILA M., HUYGHE C., MORRIS P., ALLISON G., ROBBINS M. (2002) : "Effect of condensed tannin content on protein solubility in legume forages", *Grassland Science in Europe*, vol 7, 134-135.
- JULIER B., GUINES F., ECALLE C., EMILE J.C., LILA M., BRIAND M., HUYGHE C. (2003) : "Eléments pour une amélioration génétique de la valeur énergétique de la luzerne", *Fourrages*, 173, 49-61.
- JULIER B., HUGUET T., CHARDON F., AYADI R., PIERRE J.-B., PROSPERI J.-M., BARRE P., HUYGHE C. (2007) : "Identification of quantitative trait loci influencing aerial morphogenesis in the model legume *Medicago truncatula*", *Theor. Appl. Genet.*, 114, 1391-1406.

- JUNG H.G., LAMB J.F.S. (2006) : "Stem morphological and cell wall traits associated with divergent in vitro neutral detergent fiber digestibility in alfalfa clones", *Crop Sci.*, 46, 2054-2061.
- KINGSTON-SMITH A.H., BOLLARD A.L., HUMPHREYS M.O., THEODOROU M.K. (2002) : "An assessment of the ability of the stay-green phenotype in *Lolium* species to provide an improved protein supply for ruminants", *Annals of Botany*, 89, 731-740.
- LASSEUR B., LOTHIER J., MORVAN-BERTRAND A., ESCOBAR-GUTTIEREZ A., HUMPHREYS M.O., PRUD'HOMME M.P. (2007) : "Impact of defoliation frequency on regrowth and carbohydrate metabolism in contrasting varieties of *Lolium perenne*", *Functional Plant Biology*, 34, 418-430.
- LEE M.R.F., JONES E.L., MOORBY J.M., HUMPHREYS M.O., THEODOROU M.K., MACRAE J.C., SCOLLAN N.D. (2001) : "Production responses from lambs grazed on *Lolium perenne* selected for an elevated water-soluble carbohydrate concentration", *Animal Research*, 50, 441-449.
- LEE M.R.F.; BROOKS A.E.; MOORBY J.M., HUMPHREYS M.O., THEODOROU M.K., MACRAE J.C., SCOLLAN N.D. (2002) : "In vitro investigation into the nutritive value of *Lolium perenne* bred for an elevated concentration of water-soluble carbohydrate and the added effect of sample processing: freeze-dried and ground vs. frozen and thawed", *Animal Research*, 51, 269-277.
- LEE M.R.F., MERRY R.J., DAVIES D.R., MOORBY J.M., HUMPHREYS M.O., THEODOROU M.K., MACRAE J.C., SCOLLAN N.D. (2003) : "Effect of increasing availability of water-soluble carbohydrates on in vitro rumen fermentation", *Animal Feed Science and Technology*, 104, 59-70.
- LEE M.R.F., WINTERS A.L., SCOLLAN N.D., DEWHURST R.J., THEODOROU M.K., MINCHIN F.R. (2004) : "Plant-mediated lipolysis and proteolysis in red clover with different polyphenol oxidase activities", *Journal of the Sci. of Food and Agriculture*, 84, 1639-1645.
- LEE M.R.F., CONNELLY P.L., TWEED J.K.S., DEWHURST R.J., MERRY R.J., SCOLLAN N.D. (2006a) : "Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 2. Lipids", *J. of Animal Sci.*, 84, 3061-3070.
- LEE M.R.F., COLMENERO J. DE J.O., WINTERS A.L., SCOLLAN N.D., MINCHIN F.R. (2006b) : "Polyphenol oxidase activity in grass and its effect on plant-mediated lipolysis and proteolysis of *Dactylis glomerata* (cocksfoot) in a simulated rumen environment", *Journal of the Sci. of Food and Agriculture*, 86, 1503-1511.
- LEMAIRE G., ALLIRAND J. M. (1993) : "Relation entre croissance et qualité de la luzerne: interaction génotype-mode d'exploitation", *Fourrages*, 134, 183-198.
- LOTHIER J., LASSEUR B., LE ROY K., VAN LAERE A., PRUD'HOMME M.P., BARRE P., VAN DEN ENDE W., MORVAN-BERTRAND A. (2007) : "Cloning, gene mapping, and functional analysis of a fructan 1-exohydrolase (1-FEH) from *Lolium perenne* implicated in fructan synthesis rather than in fructan mobilization", *J. Experimental Botany*, 58, 1969-1983.
- LOURENCO M., RANST G. VAN, FIEVEZ V. (2005) : "Differences in extent of lipolysis in red or white clover and ryegrass silages in relation to polyphenol oxidase activity", *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 70, 169-172.
- MARAIS J.P., GOODENOUGH D.C.W., FIGUEIREDO M. DE, HOPKINS C. (2003) : "The development of a *Lolium multiflorum* cultivar with a low moisture content and an increased readily digestible energy to protein ratio", *Australian J. of Agricultural Research*, 54, 101-106.
- MERRY R.J., LEE M.R.F., DAVIES D.R., DEWHURST R.J., MOORBY J.M., SCOLLAN N.D., THEODOROU M.K. (2006) : "Effects of high-sugar ryegrass silage and mixtures with red clover silage on ruminant digestion. 1. In vitro and in vivo studies of nitrogen utilization", *J. of Animal Sci.*, 84, 3049-3060.
- MILLER L.A., MOORBY J.M., DAVIES D.R., HUMPHREYS M.O., SCOLLAN M.D., MACRAE J.C., THEODOROU M.K. (2001) : "Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) : milk production from late-lactation dairy cows", *Grass and Forage Sci.*, 56, 383-394.

- POLLEY H.W., WILSEY B.J., TISCHLER C.R. (2007) : "Species abundances influence the net biodiversity effect in mixtures of two plant species", *Basic and Applied Ecology*, 8, 209-218.
- ROONEY W.L., SKINNER D.Z., FRITZ J.O. (1997) : "Combining ability for protein degradability in alfalfa", *Crop Sci.*, 37, 128-131.
- SAHA M.C., MIAN R., ZWONITZER J.C., CHEKHOVSKIY K., HOPKINS A.A. (2005) : "An SSR- and AFLP-based linkage map of tall fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.)", *Theor. Appl. Genet.*, 110, 323-336.
- SANADA Y., TAKAI T., YAMADA T. (2004) : "Genetic variation in water-soluble carbohydrate concentration in diverse cultivars of *Dactylis glomerata* L. during vegetative growth", *Australian J. Agric. Res.*, 55, 1183-1187.
- SANADA Y., TAKAI T., YAMADA T. (2007a) : "Ecotypic variation of water-soluble carbohydrate concentration and winter hardiness in cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.)", *Euphytica*, 153, 267-280.
- SANADA Y., TAKAI T., YAMADA T. (2007b) : "Inheritance of the concentration of water-soluble carbohydrates and its relationship with the concentration of fiber and crude protein in herbage of cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.)", *Grass and Forage Sci.*, 62, 322-331.
- SHEWMAKER G.E., MAYLAND H.F., ROBERTS C.A., HARRISON P.A., CHATTERTON N.J., SLEPER D.A. (2006) : "Daily carbohydrate accumulation in eight tall fescue cultivars", *Grass and Forage Sci.*, 61, 413-421.
- SKOT L., HUMPHREYS J., HUMPHREYS M.O., THOROGOOD D., GALLAGHER J., SANDERSON R., ARMSTEAD I.P., THOMAS I.D. (2007) : "Association of candidate genes with flowering time and water-soluble carbohydrate content in *Lolium perenne* (L.)", *Genetics*, 177, 535-547.
- SMIT H.J., TAMMINGA S., ELGERSMA A. (2006) : "Dairy cattle grazing preference among six cultivars of perennial ryegrass", *Agronomy J.*, 98, 1213-1220.
- STRAUB C. (2006) : *Evolution génétique de prairies monovariétales de ray-grass anglais*, thèse, AgroCampus Rennes.
- SULLIVAN M.L., HATFIELD R.D. (2006) : "Polyphenol oxidase and o-diphenols inhibit postharvest proteolysis in red clover and alfalfa", *Crop Sci.*, 46, 662-670.
- SULLIVAN M.L., HATFIELD R.D., THOMA S.L., SAMAC D.A. (2004) : "Cloning and characterization of red clover polyphenol oxidase cDNAs and expression of active protein in *Escherichia coli* and transgenic alfalfa", *Plant Physiology*, 136, 3234-3244.
- TABE L.M., WARDLEY-RICHARDSON T., CERIOTTI A., ARYAN A., McNABB W., MOORE A., HIGGINS T.J. (1995) : "A biotechnological approach to improving the nutritive value of alfalfa", *Journal of Animal Sci.*, 73, 2752-2759.
- TABEL C., ALLERIT R. (2005) : "Bilan du progrès génétique obtenu pour différents caractères et différentes espèces", *Fourrages*, 183, 365-376.
- TECLE I.Y., VIANDS D.R., HANSEN J.L., PELL A.N. (2006) : "Response from selection for pectin concentration and indirect response in digestibility of alfalfa", *Crop Sci.*, 46, 1081-1087.
- TECLE I.Y., HANSEN J.L., PELL A.N., VIANDS D.R. (2008) : "Divergent phenotypic selection for alfalfa cell wall fractions and indirect response in digestibility", *Canadian J. of Plant Sci.*, 88, 891-898.
- TREMBLAY G.F., BÉLANGER G., McRAE K.B., MICHAUD R. (2002) : "Leaf and stem dry matter digestibility and ruminal undegradable proteins in alfalfa cultivars", *Canadian J. of Plant Sci.*, 82, 383-393.
- TURNER L.B., CAIRNS A.J., ARMSTEAD I.P., ASHTON J., SKOT K., WHITTAKER D., HUMPHREYS M.O. (2006) : "Dissecting the regulation of fructan metabolism in perennial ryegrass (*Lolium perenne*) with quantitative trait locus mapping", *New Phytologist*, 169, 45-58.
- VAN DAELE I., MUYLLE H., VAN BOCKSTAELE E., ROLDAN-RUIZ I. (2008) : "Mapping of markers related to self-incompatibility, disease resistance, and quality traits in *Lolium perenne* L.", *Genome*, 51, 644-656.
- WILKINS P.W., LOVATT J.A. (2003) : "Progress in improving the ratio of water-soluble carbohydrate to crude protein in perennial ryegrass", *Aspects of Applied Biology*, 70, 31-35.

XIONG Y.W., FEI S.Z., BRUMMER E.C., MOORE K.J., BARKER R.E., JUNG G.H., CURLEY J., WARNKE S.E. (2006) : "QTL analyses of fiber components and crude protein in an annual x perennial ryegrass interspecific hybrid population", *Molecular Breeding*, 18, 327-340.

SUMMARY

Genetic improvement of the feeding value of perennial forage plants and innovation in the cultivars

The genetic improvement of the feeding value of perennial forage grasses and legumes is of great importance in the breeding and the utilization of these species, both as pure crops and in mixtures; account is taken of it by the breeders and in the process of cultivar registration. This paper is focused on the protein value and the energy value, which are the major components of the feeding value.

The protein content depends much on the stage of development, but improvements have been observed. The degradability of the proteins can be reduced by the presence of condensed tannins or of polyphenol oxyadse, an enzyme that is very active in Red Clover, and has also been detected in some forage grasses. A large genetic variability of the energy value has been shown to exist within and among populations and varieties, so that innovating cultivars can be expected on that point. In France, the registration of lucerne cultivars takes into account their digestibility. There is an influence of the soluble carbohydrate content on the ratio : rapidly available energy/protein, and therefore on the animal performances : a large diversity, potentially usable by the breeders, exists among the species that are naturally rich (such as the ryegrasses) and the poor ones, such as cocksfoot.