

Relations entre quelques critères de qualité des parois et la digestibilité des fourrages

J.M. BESLE (1), E. GRENET (1), A. CORNU (1), M.A. BERNARD VAILHE (2), N. BALLETT (3)

(1) SRNH, INRA de Clermont Ferrand-Theix, 63122, St Genès Champanelle, (2) 53, rue Pélissier, 63000, Clermont Ferrand,

(3) 2 rue du Collombier, 63370, Lempdes.

RÉSUMÉ – La valeur énergétique des fourrages dépend à la fois de la teneur en lignines et de l'organisation des constituants aromatiques dans les parois. Afin de découpler ces deux facteurs, des plantes modèles de tabac transgénique régulées sur deux enzymes de lignification (cinnamoyl alcool deshydrogénase, O-méthyltransférase) ont été utilisées. Dans les deux cas, la dégradabilité des parois a été augmentée sans modification de teneur en lignines. Ces modifications ont été associées, notamment à la proportion en unités syringyle des lignines. La digestibilité des parois de luzerne et de fétuque dépend de l'alcalisolubilité, de la composition des lignines, et des liaisons entre acides phénoliques, lignines et glucides, ces dernières subissant une hydrolyse partielle dans le rumen. L'augmentation de la digestibilité des parois des fourrage chez les ruminants peut être obtenue en jouant à la fois sur la qualité des parois et sur la capacité des microorganismes du rumen à dégrader les aromatiques pariétaux.

Relationships between some criteria of cell wall quality and the digestibility of the forages

J.M. BESLE (1), E. GRENET (1), A. CORNU (1), M.A. BERNARD VAILHE (2), N. BALLETT (3)

(1) SRNH, INRA de Clermont Ferrand-Theix, 63122, St Genès Champanelle, (2) 53, rue Pélissier, 63000, Clermont Ferrand,

SUMMARY – The energetic value of the forages depends both on lignin concentration and on the organisation of cell wall aromatics. To avoid confounding effects between these two factors, transgenic tobacco, down-regulated on cinnamoyl alcohol dehydrogenase and on O-methyl transferase was used. In both cases, the degradability of the cell walls was increased without changes in lignin content. These modifications were associated in particular to the proportion of syringyl units in lignins. The digestibility of cell walls from lucerne and fescue was linked to their alkali-solubility, the lignin composition and to the linkages between phenolic acids, lignins and polysaccharides, which are partially hydrolysed in the rumen. Thus, an increase of cell wall digestibility in ruminants may be reached by improving both the cell wall quality and the ability of the rumen microbes to degrade the aromatics.

INTRODUCTION

Les parois végétales renferment l'essentiel de l'énergie fournie aux ruminants par leurs rations de base. Alors que les parois des fourrages jeunes sont presque entièrement digestibles, celles des plantes âgées ne peuvent l'être qu'à 40%. Depuis les travaux de Jarrige (1981) on sait que le facteur principal limitant la digestibilité est la teneur en lignines. L'effet des lignines n'est cependant pas uniforme entre familles ou espèces botaniques, ou même entre tissus. Des facteurs qualitatifs, liés à la composition et à l'organisation des composés aromatiques dans les plantes auraient un effet sur la valeur énergétique des fourrages.

Afin d'augmenter la part des fourrages dans l'alimentation des ruminants, on cherche à améliorer la qualité des parois végétales. Afin de mettre en évidence le rôle de critères de composition ou d'organisation, il a fallu les découpler du facteur «teneur» en lignines. Ceci a été obtenu avec des plantes modèles dont la lignification a été modulée par transgénèse, ou des fractions de plante représentant des tissus différents. Une autre approche a consisté à étudier le devenir des constituants aromatiques dans le rumen.

HÉTÉROGÉNÉITÉ D'ORGANISATION DES PAROIS

Les lignines se forment en fin de croissance de la cellule par polymérisation des alcools p-coumarique, coniférylique (unité G) et sinapylique (unité S). Ces alcools sont synthétisés à partir des trois acides phénoliques correspondants (p-coumarique, férulique, sinapylique), par plusieurs enzymes, certaines ayant des isoenzymes qui ont certainement un rôle régulateur. Les acides phénoliques participent, de plus à l'organisation pariétale en formant des ponts éther-esters entre les lignines et les polysides (Besle et al, 1994).

Les graminées ont des lignines plus riches en unités S et contiennent plus d'acides phénoliques que les légumineuses. Au cours de la lignification, la paroi secondaire s'enrichit en unités S, les acides phénoliques se lient aux lignines et aux glucides, et se dimérisent.

EXPÉRIMENTATIONS RÉALISÉES

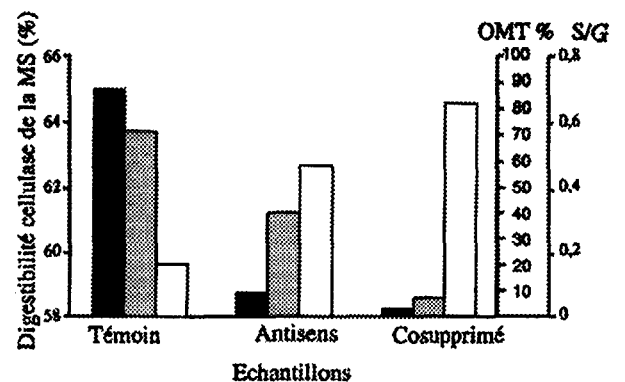
Dans le cadre d'un programme européen ECLAIR OPLIGE, nous avons disposé de plantes de tabac transgéniques, modulées sur la cinnamoyl alcool deshydrogénase (CAD) ou l'O-méthyltransférase (OMT), enzymes impliquées dans la lignification des plantes. La réduction d'activités CAD ou OMT devait théoriquement limiter respectivement la teneur en lignines ou celle en unités O-méthylées comme les syringyles. En réalité, les plantes transgéniques obtenues n'ont pas eu une teneur en lignines différente de celle des témoins, elles ont constitué un bon modèle pour étudier l'effet spécifique de la qualité des lignines.

Sur les 4 lots de tabac les plus inhibés sur la CAD (> 80%) la dégradation *in situ* (48 h) des parois de tiges transgéniques a augmenté (au plus de 7 points), parallèlement à l'alcali-solubilité et à la diminution du rapport syringyle/guaiacyle (S/G). Le xylème était coloré en brun-rouge comme celui du maïs bm1. Les lignines, ayant des teneurs identiques, pourraient être modifiées par incorporation directe de cinnamaldehydes (Bernard Vailhé et al, 1996a).

La digestibilité cellulase des tabacs modulés sur l'OMT a été augmentée de 3,5 et 5,6 points, respectivement pour les lots

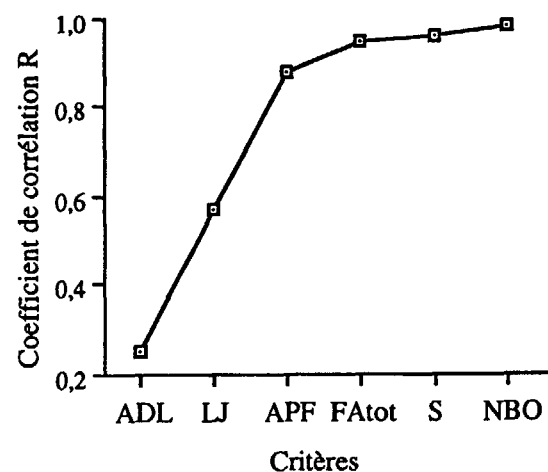
régulés par stratégie antisens et sens cosupprimé (SC). Elle a varié parallèlement à la diminution de la teneur en unités S (de 40 et 90%) (Figure 1). L'observation au microscope électronique de coupes de tiges mises à incuber dans le rumen a montré que le tabac SC était digéré plus rapidement que le témoin (Bernard Vailhé et al, 1996b). Par comparaison, chez les mutants bm3 du maïs, le gène de l'OMT est non fonctionnel, ce qui entraîne, de même, une forte diminution de la teneur en unités S, et un accroissement de digestibilité mais aussi une teneur en lignine moindre.

Figure 1
Variation de l'activité OMT (■), du rapport (S/G) (▨), et de la DMS (□) dans les tabacs régulés sur l'OMT



Chez la luzerne, étudiée à différents stades de maturité, la teneur en lignines des parois a peu varié. La diminution de digestibilité des parois avec l'âge, très mal expliquée par la teneur en lignines (de Jarrige, LJ ou de Van Soest, ADL), a été, en revanche, fortement liée à la proportion d'unités syringyles ou en monomères non condensés totaux (NBO, caractérisant le degré de condensation) des lignines, ainsi qu'à la teneur en acide férulique total (FAtot) et à l'alcali-solubilité (APF) (Figure 2) (Ballet, 1997).

Figure 2
Coefficients de corrélation (R) entre la digestibilité des parois de luzerne et plusieurs critères d'organisation



Chez une graminée, la fétuque, ces mêmes critères ont été mieux liés que la teneur en lignines, à la vitesse de dégradation mesurée *in situ* ou à l'ingestibilité (Bernard Vailhé, 1995). Des relations semblables mais plus nettes sont apparues pour les fractions de l'entre-nœud apical en élévation divisé en cinquièmes, modèle représentant les divers stades de maturité. En revanche, dans le cas du maïs plante entière

récolté à un même stade ensilage, mis à part peut être pour le rapport S/G, les liaisons entre les constituants aromatiques pariétaux et la digestibilité des parois ou de la plante entière étaient médiocres.

Lorsque des parois de fétuque et de luzerne ont été incubées dans le rumen, les acides phénoliques ont été partiellement hydrolysés mais les liaisons éther seraient un facteur limitant et pourraient avoir un rôle clé (Bernard Vailhé, 1995, Ballet, 1997). La disparition des lignines dans le rumen atteint 50 % pour la fétuque et 38 % pour la luzerne (stade pleine floraison). Ce mécanisme peut avoir un effet positif sur la digestion des glucides en diminuant la teneur en lignines des parois, ou négatif par l'effet des phénols sur les microorganismes.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les essais réalisés montrent, notamment sur les plantes transgéniques, que la composition et l'organisation des composés aromatiques ont un effet non négligeable sur la dégradation des parois. Les critères retenus sont tous liés à la qualité des

lignines dans la paroi secondaire et à la manière dont elles sont liées aux polyosides (via les acides phénoliques).

Aucune loi générale ne peut cependant être proposée actuellement. Des expériences récentes ont montré que, chez un mutant d'*Arabidopsis* dépourvu d'unités syringyles, la digestibilité n'était pas différente de celle du témoin (Jung et Chapple, 1996). Par ailleurs, de nombreux éléments de structure importants échappent à l'analyse.

Deux voies se dégagent pour augmenter la dégradation des parois dans le rumen, l'une viserait à potentialiser l'attaque microbienne des aromatiques, l'autre consisterait à modifier la qualité des parois par sélection ou par transgénèse. La prudence s'impose cependant dans cette seconde voie, à cause de possibles effets secondaires.

REMERCIEMENTS

Aux organismes qui ont cofinancé ce travail, Union Européenne, Syndicat National des Déshydrateurs de France, Limagrain Genetics International.

RÉFÉRENCES

- BALLET N., 1997. Thèse Univ. Blaise Pascal n° 891, 180 p.
BERNARD VAILHÉ M.A., 1995. Thèse Univ. Blaise Pascal n° DU736, 176 p.
BERNARD VAILHÉ M.A., CORNU A., ROBERT D., MAILLOT M.P., BESLE J.M., 1996a. *J. Agric. Food Chem.*, **44**, 1164-1169.
BERNARD VAILHÉ M.A., MIGNÉ C., MAILLOT M.P., CORNU A., GRENET E., BESLE J.M., ATANASSOVA R., MARTZ F., LEGRAND M., 1996b. *J. Sci. Food Agric.* **72**, 385-391, 1996b.
BESLE J.M., CORNU A., JOUANY J.P., 1994. *J. Sci. Food Agric.* **64**, 171-190.
JARRIGE R., 1981. In DEMARQUILLY C., ed INRA, Paris. *Prévision de la valeur nutritive des aliments des ruminants*, pp 13-40.
JUNG H. G., CHAPPLE C.C.S., 1996. *J. Dairy Sci.*, **79** (suppl 1), 151.