

RESUME

Les légumineuses fourragères ont deux avantages sur les autres plantes fourragères. Elles sont riches en protéines et nécessitent peu ou pas de fertilisation azotée. Les légumineuses offrent également d'autres bénéfices lorsqu'elles sont ingérées par les ruminants. Certaines, comme le sainfoin ou le lotier corniculé, contiennent des tannins bioactifs qui peuvent i) assurer une meilleure utilisation des protéines, ii) réduire les émissions de méthane entérique, iii) contrôler les parasites gastro-intestinaux comme les nématodes, et iv) améliorer la qualité des produits animaux. Le trèfle violet contient la polyphénol oxydase, une enzyme qui peut également permettre une meilleure utilisation des protéines alimentaires par les ruminants. Le projet LegumePlus a mené des recherches innovantes dans tous ces champs d'action.

Cet article décrit les résultats clés de LegumePlus. Il résume les contributions de 17 doctorants et post-doctorants, 10 partenaires à part entière, 5 partenaires associés, provenant de 6 pays européens et de deux chercheurs visiteurs de Nouvelle Zélande et des Etats-Unis.

Objectifs du projet

LegumePlus a apporté à 15 jeunes chercheurs et 2 chercheurs plus expérimentés une formation professionnelle à la recherche dans le domaine des légumineuses bioactives. Les objectifs et contributions de LegumePlus ont couvert les mécanismes d'action des composés bioactifs présents dans les légumineuses fourragères afin de:

- Augmenter l'efficacité d'utilisation des protéines (**Objectif 1**);
- Réduire les émissions de méthane entérique (**Objectif 2**);
- Améliorer la qualité des produits laitiers et carnés (**Objectif 3**);
- Inhiber les parasites gastro-intestinaux (**Objectif 4**);
- Générer et intégrer des connaissances pour améliorer les légumineuses sélectionnées au niveau européen (**Objectif 5**).

Description du travail réalisé et principaux résultats

La recherche des étudiants a extrêmement bien progressé et ils ont fait des découvertes très intéressantes. Les parcelles contenant du sainfoin, du lotier corniculé et du trèfle violet ont été utilisées pour des évaluations agronomiques, le développement de marqueurs moléculaires, des études *in vitro* et des essais d'alimentation animale.

Dans le **volet 1**, des parcelles implantées avec les trois légumineuses fourragères, le sainfoin, le lotier corniculé et le trèfle violet, ont fourni le matériel végétal pour des études de conservation sous forme d'ensilage et des essais d'alimentation animale. Les ensilages se sont caractérisés par une bonne qualité de fermentation et les essais d'alimentation ont révélé que les tannins du sainfoin pouvaient augmenter la proportion d'acides gras bénéfiques de type 18 :3n-3 et autres acides gras polyinsaturés dans le lait de vache et le fromage de type gruyère. Le gras intramusculaire d'agneaux alimentés avec du sainfoin et du lotier corniculé contenait également moins d'acides gras saturés et davantage des acides gras polyinsaturés bénéfiques. Cependant les performances de croissance étaient plus faibles qu'avec les ensilages de luzerne ou de trèfle violet. Il est également important de noter que ces animaux ont émis moins de méthane et excrété moins d'azote urinaire en comparaison des régimes contrôle standards. Les analyses de laboratoire ont révélé que le processus d'ensilage et la digestion augmentaient fortement les tannins liés mais diminuaient leur réactivité et leur concentration totale. Cela pourrait expliquer pourquoi les nématodes dans l'intestin sont particulièrement difficiles à contrôler (voir ci-dessous). Des résultats particulièrement intéressants : l'ensilage de sainfoin a permis de réduire le stress métabolique, d'augmenter le rendement laitier et de modifier le métabolisme des vaches laitières vers la synthèse de protéines plutôt que vers le gras corporel.

Le sainfoin et le trèfle violet ont tous deux amélioré la synchronisation de l'utilisation des nutriments dans le rumen en comparaison des régimes conventionnels.

Dans le **volet 2**, des granulés de sainfoin fournis par la société française MG2Mix ont été testés pour leurs effets contre les nématodes chez des bovins et des agneaux. Les tannins bioactifs ont réduit le nombre de vers, le nombre d'œufs dans les fèces et amélioré la résilience de l'hôte. De plus, les effets *in vitro* de tannins de types contrastés (issus du volet 3) ont été testés sur les larves de 4 espèces de vers parasites : *Ostertagia ostertagi*, *Cooperia oncophora*, *Haemonchus contortus* et *Trichostrongylus colubriformis*. Cela a permis d'établir les relations structure-activité pour les tannins condensés et les ellagitannins. Des effets synergiques ont été observés pour la première fois entre certains tannins et des monomères de flavonoïdes, ce qui représente une information précieuse pour la sélection variétale. Il est intéressant de noter que le mode d'action des tannins était différent de celui des anthelminthiques conventionnels.

Dans le **volet 3**, les doctorants/post-doctorants ont développé plusieurs méthodes d'analyse des tannins basées sur la thiolysse, la spectrométrie de masse, la RMN (résonance magnétique nucléaire) et la spectroscopie dans le proche infrarouge. L'analyse de plus de 800 échantillons a révélé que les tannins variaient largement selon les variétés de sainfoin et que les feuilles contenaient plus de tannins et de prodelphinidines que les tiges. Par ailleurs, la déshydratation du sainfoin pour la fabrication de granulés et l'ensilage ont augmenté la proportion de tannins liés, ce qui pourraient impacter l'utilisation des protéines alimentaires. Les niveaux de tannins liés variaient le long du tractus digestif, ce qui pourrait expliquer les différences d'activité contre les parasites abomasaux et intestinaux. Malgré que la structure des tannins ne change pas le long du tractus digestif, d'importantes pertes de tannins ont été observées.

Le volet 4 a permis de montrer que la chicorée est la meilleure espèce d'accompagnement au Royaume-Uni pour l'implantation du sainfoin, mais qu'elle a besoin d'être contrôlée les années suivantes. En Suisse, *Lolium perenne* et *Festuca pratensis* étaient les espèces d'accompagnement optimales pour réduire les adventices et augmenter le rendement des parcelles. Cependant, il a pu être montré que les efforts de sélection réalisés dans le passé sur le sainfoin ont permis de meilleurs rendements mais ont également réduit les teneurs en tannins. Une découverte particulièrement intéressante était que deux variétés de sainfoin ont synthétisé plus de tannins en conditions de sécheresse. Ces deux variétés étaient également les seules qui n'ont pas perdu de biomasse sous ces conditions.

Des 'Marker-trait associations' ont été trouvés dans une population pour la hauteur de la plante, le moment de la floraison et le rendement en graines. Les marqueurs SSR ont montré un haut degré de polymorphisme et des différences génétiques ont permis de séparer les individus de sainfoin en deux groupes selon leur origine géographique. Les marqueurs SSR peuvent maintenant être utilisés pour des analyses de pédigrée dans des programmes de sélection. Des analyses génomiques ont généré une bibliothèque transcriptomique du sainfoin qui a permis une classification selon la fonction moléculaire, la localisation cellulaire, et des processus biologiques. Cela a également fourni une information quantitative des niveaux d'expression des gènes de biosynthèse des tannins. Plus de 75K SNPs sont désormais disponibles pour des GWAS (genome wide association studies) et pour de futurs programmes de sélection assistée par la génomique.

Impact potentiel et utilisation

La coopérative en agriculture biologique *Multifolia* en association avec le fournisseur d'aliments *MG2Mix*, sont restés en contact étroit avec notre réseau tout au long des projets HealthyHay et LegumePlus. Les surfaces semées en sainfoin par ces agriculteurs ont rapidement augmenté depuis 2000 pour couvrir 500 ha à ce jour. Au Royaume-Uni, il y a également un intérêt

croissant pour les légumineuses fourragères. La raison majeure est que le lotier corniculé, mais surtout le sainfoin, peuvent être utilisés pour améliorer la qualité du lait, du fromage et de la viande et pour diminuer les dommages environnementaux dus aux rejets d'azote et de méthane pour la production de ruminants. Néanmoins, les ensilages de trèfle violet permettent d'atteindre de meilleures performances de croissance.

L'impact scientifique viendra des nouveaux outils analytiques qui ont été développés pour le criblage rapide des tannins dans des programmes d'amélioration du sainfoin. Des relations structure-activité ont été découvertes entre tannins et effets anthelminthiques, qui avec les nouveaux marqueurs moléculaires identifiés, peuvent maintenant être utilisés pour sélectionner de nouvelles variétés européennes de sainfoin avec de meilleures propriétés nutritionnelles et antiparasitaires.

Impact socio-économique et implications du projet pour la société

LegumePlus a formé 17 jeunes chercheurs dans un projet multidisciplinaire, fourni un guide de la culture du sainfoin aux agriculteurs européens, fourni aux porteurs d'enjeux de l'information sur les bénéfices environnementaux qui peuvent être obtenus en alimentant les animaux avec du sainfoin, du lotier corniculé ou du trèfle violet, généré des calibrations NIRS pour les producteurs d'aliments, et offert de nouvelles techniques aux chercheurs et aux sélectionneurs.

Contact: Prof I. Mueller-Harvey ([i.mueller-harvey\(AT\)reading.ac.uk](mailto:i.mueller-harvey(AT)reading.ac.uk))

Site internet du projet: <http://legumeplus.eu>