

Table des matières

Résumé.....	ii
Tableaux.....	vi
Figures.....	vi
Abréviations.....	viii
Remerciements.....	ix
Avant-propos.....	x
Introduction.....	1
Chapitre 1 : Revue des travaux antérieurs	3
1.1 Utilisation des plantes fourragères par le ruminant.....	3
1.1.1 Nature de la ration	3
1.1.2 Ratio fourrages : concentrés	4
1.1.3 Qualité des fourrages	6
1.2 Attributs de valeur nutritive	8
1.2.1 Fibre.....	8
1.2.2 Glucides non structuraux	10
1.2.3 Acides gras	11
1.2.4 Protéine.....	13
1.3 Facteurs affectant la qualité des fourrages	16
1.3.1 Stade de développement	16
1.3.2 Conditions de récolte	18
1.3.3 Climat	20
1.4 Conclusion.....	25
Chapitre 2: Alfalfa and Timothy Nutritive Value in Contrasted Agroclimatic Regions. .	26
2.1 Résumé	26
2.2 Abstract	28
2.3 Introduction	29
2.4 Material and Methods.....	30
2.4.1 Species, Cultivar, Sites, and Fertilization.....	30
2.4.2 Forage Chemical Analysis.....	35

2.4.3 Data Analysis.....	37
2.5 Results and Discussion.....	38
2.5.1 Nutritive Value and Stages of Development	38
2.5.2 Nutritive Value and Dry Matter Yield.....	44
2.6 Summary and Conclusions.....	51
2.7 References	52
Conclusion générale.....	55
Bibliographie.....	56

Tableaux

Tableau 1.1 : Comparaison des attributs de valeur nutritive de trois espèces de légumineuses (luzerne, trèfle rouge et trèfle blanc) et d'une espèce de graminée (fléole des prés) au cours de la croissance printanière.	6
Table 2.1 : Soil properties for each experimental site at the beginning of the study in 2014.	31
Table 2.2 : Monthly temperatures [†] and rainfall during the growing season for the two years of data recording and sample collection (2015 and 2016), and the 30-yr average (1971-2000) at each site.	33
Table 2.3 : Harvest dates and accumulated growing degree-days [†] from April 1 (base 5°C; GDD) at each site for the two post-sowing years of forage sampling.	34
Table 2.4 : Regression-predicted dry matter (DM) yield and nutritive attributes of alfalfa and timothy at the recommended stage of development [‡] for harvest at three locations (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne)	41
Table 2.5 : Regression-predicted nutritive attributes [‡] , mean stage of development by weight (MSW), and accumulated growing degree-days above 5°C (GGD) for a given yield of 4 Mg DM ha ⁻¹ [§] at the three experimental locations (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne).....	49

Figures

Figure 1.1 : Valeur moyenne de pH ruminal chez la vache recevant une diète à base d'ensilage de luzerne (AS) ou d'ensilage de maïs (CS) dont la teneur en NDF était de 24 % (24) ou 32 % (32) de la MS (Weimer et al., 1999).	9
Figure 1.2 : Représentation schématique de l'effet de la maturité sur la composition d'une graminée fourragère (Beever et al., 2000).	17
Figure 1.3 : Concentration en glucides non structuraux durant la période de croissance printanière et estivale de la luzerne, du trèfle rouge et de la fléole des prés avec une coupe en avant-midi (8:00 à 10:00) et en après-midi (15:00 à 16:00) à la ferme expérimentale Normandin d'Agriculture et Agroalimentaire Canada. Moyenne de deux années de production (Bélanger et Tremblay, 2010).	18
Figure 1.4 : Variation de la teneur en glucides non structuraux (GNS) au cours de la journée (Morin et al., 2011)	19
Figure 1.5 : Effet du moment de la fauche du fourrage sur l'équilibre du rumen et la production laitière (Brito et al., 2009; Brito et al., 2008, cités par Berthiaume et Tremblay 2011)	20
Figure 1.6 : Évolution du taux de photosynthèse et de respiration des plantes C3 selon la température (Porter et al., 2005).	22

Figure 1.7 : Variation spatiale du nombre de jours à risque de dommages hivernaux dans les grandes régions agricoles du Québec au cours des années 1960 à 1990 (Bélanger et al., 2005). 24

Figure 2.1 : Observed values (symbols) and regression lines for alfalfa neutral detergent fiber assayed with a heat-stable amylase (aNDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* true digestibility of dry matter (DM), *in vitro* NDF digestibility, water-soluble carbohydrates, non-structural carbohydrates, N, and total fatty acids as a function of mean stage of development by weight (MSW, Mueller and Teuber, 2007) in forages grown at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended the stage of development at harvest (stage 4: early-flowering). 39

Figure 2.2 : Observed values (symbols) and regression lines for timothy neutral detergent fiber assayed with a heat-stable amylase (aNDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* true digestibility of dry matter (DM), *in vitro* NDF digestibility, water-soluble carbohydrates, non-structural carbohydrates, total nitrogen (N), and total fatty acids as a function of mean stage of development by weight (MSW, Moore et al., 1991) in forages grown at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended stage of development at harvest (stage 3.1: early-heading). 40

Figure 2.3 : Observed values (symbols) and regression lines for dry matter (DM) yield of (a) alfalfa and (b) timothy as a function of mean stage of development by weight (MSW, Mueller and Teuber, 2007; Moore et al., 1991) of forages cultivated at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended stage of development at harvest (stage 4: early-flowering for alfalfa; stage 3.1: early-heading for timothy). 45

Figure 2.4 : Observed values (symbols) and regression lines for the accumulation of degree-days above 5°C (GGD) as a function of mean stage of development by weight (MSW) of (a) alfalfa (Mueller and Teuber, 2007), and (b) timothy (Moore et al., 1991) cultivated at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended the stage of development at harvest (stage 4: early-flowering for alfalfa; stage 3.1: early-heading for timothy). 47

Abréviations

ADF : Fibre insoluble au détergeant acide

AG : Acide gras

CVMS : Consommation volontaire de matière sèche

NDFd : Digestibilité de la fibre insoluble au détergent neutre

F:C : Ratio fourrages:concentrés

F:T : Ratio feuilles:tiges

GNS : glucides non structuraux

IVTD : Digestibilité *in vitro* de la matière sèche

NDF : Fibre insoluble au détergent neutre

PB : Protéine brute

PND : Protéine non dégradable

PD : Protéine dégradable

VNIRS : Spectroscopie dans le visible et proche infra-rouge

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Rachel Gervais, ma directrice de recherche. Merci pour ta patience et tes conseils, ainsi que ta disponibilité malgré la distance. Merci de m'avoir donné la chance de faire cette maîtrise et de m'avoir accompagné tout au long de ce processus, c'est en très grande partie grâce à toi si j'y suis arrivé.

Merci aussi à mon codirecteur, Gaëtan Tremblay, ainsi qu'à Gilles Bélanger et toute l'équipe du centre de recherche Agriculture et Agroalimentaire Canada, vous avez été de précieux guides dont je n'aurais su me passer. Un clin d'œil spécial pour Andrée-Dominique Baillargeon, ton aide m'a été très précieuse, je dirais même absolument indispensable.

Je tiens à remercier aussi l'équipe de Julie Lajeunesse du centre de recherche Agriculture et Agroalimentaire Canada de Normandin et ainsi que l'équipe de Philippe Séguin de l'Université McGill pour leur grande contribution au projet.

Un énorme merci à ma famille; ma mère, mon père et ma sœur. Merci de votre soutien infailible à travers les hauts et les bas de cette aventure. Merci de croire en mes réussites académiques et professionnelles depuis mon premier jour à Québec. Merci aussi à mon conjoint, pour ta compréhension et tes encouragements face à toutes ces journées et soirées passées devant mon ordinateur, tu fais aussi partie de cette réussite. Vous êtes ce que j'ai de plus précieux.

Avant-propos

Ce mémoire contient un chapitre rédigé sous forme d'article scientifique. Je suis l'auteure principale et les coauteurs sont Gaëtan Tremblay, Gilles Bélanger, Rachel Gervais, Philippe Séguin et Julie Lajeunesse. L'article sera soumis pour publication dans la revue « Agronomy Journal » sous le titre « Alfalfa and Timothy Nutritive Value in Contrasted Agroclimatic Regions ».

Rapport-Gratuit.com

Introduction

Au Québec, les plantes fourragères occupent plus de la moitié de la superficie en grande culture, c'est-à-dire 57% des 2 millions d'hectares (CQPF, 2012). Selon les données du Conseil québécois des plantes fourragères (CQPF, 2012), ce sont 63% des exploitations agricoles du Québec qui cultivent des plantes fourragères. Ces fourrages sont utilisés principalement dans l'alimentation des vaches laitières, celles-ci consommant 63% de la production de fourrage du Québec (CQPF, 2012). Parmi les nombreuses espèces de plantes fourragères recommandées pour l'alimentation des vaches laitières, la luzerne (*Medicago sativa* L.) est l'espèce la plus cultivée dans l'est du Canada depuis de nombreuses années. Il s'agit d'une légumineuse dont la teneur élevée en protéine et en énergie contribue à sa popularité auprès des producteurs. Parmi les plantes fourragères les plus utilisées par les producteurs, on retrouve aussi la fléole des prés (*Phleum pratense* L.). Cette dernière est par contre plus souvent semée en mélange avec d'autres espèces fourragères (Berg et al., 1996; Statistique Canada, 2017).

Les températures moyennes annuelles augmenteront de 2,8 °C au cours des 50 prochaines années, selon Ouranos (DesJarlais et al., 2010). Ce réchauffement climatique pourrait avoir des répercussions importantes sur les superficies cultivées au Québec. En effet, selon Charbonneau et al. (2013), il sera possible de cultiver certaines plantes plus exigeantes en unités thermiques comme le maïs ou le soya dans des régions agricoles du Québec où cela est actuellement difficile, voire impossible. Les superficies destinées aux plantes fourragères risquent donc de diminuer dans ces régions, d'autant que l'augmentation des températures pourrait nuire au rendement, au regain ou encore au potentiel de survie à l'hiver des plantes fourragères. Les régions plus nordiques pourraient donc devenir les principales sources de plantes fourragères au Québec.

Par ailleurs, selon quelques études menées en atmosphère contrôlée, il semblerait que certains aspects du climat, comme la température, aient une influence sur la valeur nutritive des plantes fourragères, au-delà de leurs effets sur la vitesse de croissance (Thorvaldsson,

1992). En considérant que, dans une ration alimentaire destinée aux vaches laitières, les fourrages peuvent constituer jusqu'à 90 % des aliments, leur valeur nutritive a une grande influence sur les coûts d'alimentation et les performances des animaux.

Ce mémoire présente tout d'abord une revue des travaux antérieurs portant sur les principaux attributs de valeurs nutritives (p. ex. glucides, acide gras, protéines et digestibilité) des plantes fourragères et leur impact sur les performances des ruminants, suivis de travaux sur les facteurs influençant la valeur nutritive des fourrages (p. ex. stade de développement, conditions de récolte et climat).

Un autre chapitre présentera une étude ayant permis d'évaluer la valeur nutritive des plantes fourragères cultivées dans différentes régions agricoles du Québec aux conditions climatiques variées et d'émettre des conclusions sur la qualité et la valorisation des fourrages cultivés en région nordique.

Chapitre 1 : Revue des travaux antérieurs

1.1 Utilisation des plantes fourragères par le ruminant

1.1.1 Nature de la ration

Les plantes fourragères ont une teneur en éléments nutritifs suffisante pour combler les besoins d'entretien des ruminants. Par contre, selon le stade physiologique de l'animal (croissance, production laitière, gestation), les besoins peuvent être plus élevés et il est souvent nécessaire d'ajouter des concentrés à la ration (INRA, 2007; NRC, 2001). Ainsi, on retrouve, dans la grande majorité des rations pour ruminants, une forte proportion de fourrages, complétée d'une certaine quantité de concentrés, ceux-ci étant constitués entre autres de céréales et de graines oléagineuses, entières ou sous forme de sous-produits, ainsi que de suppléments de minéraux et vitamines. Les aliments fournis au ruminant entre en premier lieu dans le réticulo-rumen. Ce compartiment gastrique contient une grande variété de microorganismes dont le développement dépend de la nature de la ration fournie au ruminant (Metzler-Zebeli et al., 2015). La présence de ces microorganismes influence la nature des nutriments qui seront par la suite disponibles pour absorption par l'animal. Le microbiote du rumen se développe lors de la croissance du ruminant, et évolue avec les changements d'alimentation. Par exemple, lors du passage du sevrage à une ration principalement à base de plante fourragère fermentée, ou encore lors d'un changement dans le ratio fourrages : concentrés (F:C) de la ration des animaux (Jami et al., 2013; DeVries et al., 2009).

Plusieurs éléments d'une ration peuvent en effet influencer la population microbienne du rumen. En effet, une disponibilité adéquate en azote synchronisée à un apport énergétique est essentielle pour maximiser la croissance microbienne. Des études ont conclu qu'un apport réduit en azote dans le rumen limite la croissance microbienne, tout comme une présence excessive d'azote ammoniacal avec une déficience énergétique (Stern et al.,

1979). Les microorganismes du rumen obtiennent l'énergie nécessaire principalement en fermentant les glucides structuraux et non structuraux (par exemple : hémicelluloses, cellulose, sucres solubles et amidon). Les microorganismes peuvent être classés, entre autres, selon leur substrats énergétiques favoris, soit les glucides structuraux (microorganismes à croissance lente ayant une préférence pour l'azote ammoniacal) et les glucides non structuraux (microorganismes à croissance rapide, préférant l'utilisation d'acides aminés) (Russell et al., 1992). Les sources d'azote peuvent aussi influencer le développement des microbes du rumen. Par exemple, la protéine présente dans le maïs est très résistante à la dégradation microbienne, contrairement à l'urée, qui par contre induit un apport limité en acides aminés aux microorganismes, ce qui peut réduire la croissance des microorganismes (Stern et al., 1979). Une augmentation du taux de dilution du rumen engendre aussi une augmentation de la croissance de la population microbienne (Stern et al., 1979).

1.1.2 Ratio fourrages : concentrés

La contribution des fourrages dans l'alimentation des animaux en lactation a une influence marquée sur la production et la composition du lait. Il existe de nombreuses interactions entre la teneur en fourrage de la ration, la consommation volontaire de matière sèche (CVMS) et les performances laitières (Sterk et al., 2011; Kmicikewycz et al., 2015). En effet, une augmentation du ratio F:C peut entraîner une diminution de la prise alimentaire et du taux de passage des aliments dans le tractus digestif (Aguerre et al., 2011). L'augmentation du ratio F:C se traduit donc par une diminution linéaire de l'efficacité alimentaire et de la production laitière, car la diminution de la CVMS entraîne une baisse d'apport en énergie disponible pour la production laitière (Aguerre et al., 2011). Par contre, l'étude d'Aguerre et al. (2011) a démontré une augmentation du temps consacré à la rumination et une augmentation du taux de gras du lait chez les vaches recevant une ration dont la proportion de fourrages était plus élevée. Ces effets du ratio F:C peuvent toutefois varier selon la qualité nutritive des fourrages, puisque la teneur en fibre et sa digestibilité ont aussi un impact sur la CVMS, les performances laitières et sur la proportion de

concentrés requise pour combler les besoins des animaux en production (Hymoller et al., 2014).

De fait, des travaux ont démontré l'influence de la proportion de fourrages ayant une forte teneur en fibres peu digestibles (luzerne et ensilage de maïs) d'une ration sur les performances de la vache laitière (Farmer et al., 2014). Selon cette étude, une diminution de 52% à 39% de la proportion de ces fourrages à fortes teneurs en fibres peu digestibles dans la ration a augmenté la CVMS de 6% par jour et la proportion d'acide propionique de 17%, mais sans affecter le pH du rumen, la production d'azote microbien et la production laitière (Farmer et al., 2014). Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de fibres insolubles au détergent neutre (NDF) avec une digestibilité élevée (provenant entre autres dans ce cas de la pulpe de betterave) dans les concentrés offerts aux animaux. Puisque la digestibilité de la NDF de la pulpe de betterave se rapproche de celle d'un fourrage de bonne qualité (Dairy One, 2018), cette étude met de l'avant les avantages qu'apporte l'amélioration de la digestibilité dans les fourrages d'une ration destinée aux ruminants.

Il est possible d'obtenir des résultats similaires à une ration avec un ratio F:C faible, mais sans les effets négatifs de ce dernier, avec des fourrages composés de NDF très digestible. La diminution des fourrages d'une ration à des proportions inférieures à 45% de la matière sèche entraîne la plupart du temps une baisse de pH du rumen pouvant conduire à une acidose ruminale. Cela est dû à une présence accrue de glucides rapidement fermentescibles (majoritairement des glucides non structuraux) qui entraîne des changements au sein des populations bactériennes et des patrons fermentaires dans le rumen. Ces derniers se traduiront par une augmentation de la charge acide de l'environnement ruminal. (DeVries et al., 2009). La proportion de glucides structuraux provenant des fourrages est donc essentielle pour le maintien du pH du rumen, en augmentant entre autres la rumination et donc l'apport par la salive de substances ayant un fort pouvoir tampon. Par contre la digestibilité de ces derniers reste un point important afin de ne pas diminuer les performances laitières avec un ratio F: C plus élevé (DeVries et al., 2009; Farmer et al., 2014).

1.1.3 Qualité des fourrages

Il est possible, comme expliqué précédemment lorsque les fourrages sont de très bonne qualité, de réduire la proportion des concentrés de la ration tout en maintenant les apports en éléments nutritifs et donc sans nuire aux performances de production (Hymoller et al., 2014). De plus, le fait de produire davantage de lait avec les fourrages plutôt qu'avec une forte proportion de concentrés permet de réduire le coût d'alimentation et donc d'obtenir une marge de profit plus élevée (Charbonneau et al., 2003; Delaby et Peyraud, 2009).

La qualité d'un fourrage peut être déterminée par ses attributs de valeur nutritive, comme la teneur en protéine, la dégradabilité de cette protéine, la teneur en glucides non structuraux et structuraux, ainsi que leurs digestibilités respectives (Allen, 1996). Ces attributs de valeur nutritive varient entre les espèces fourragères. La teneur en fibres insolubles au détergent neutre (NDF) est plus faible chez les légumineuses que chez la fléole, par contre ces fibres sont moins digestibles (Tableau 1.1).

Tableau 1.1 : Comparaison des attributs de valeur nutritive de trois espèces de légumineuses (luzerne, trèfle rouge et trèfle blanc) et d'une espèce de graminée (fléole des prés) au cours de la croissance printanière.

	Luzerne	Trèfle rouge	Trèfle Blanc	Fléole des prés
N total	33,1	32,8	42,7	21,0
NDF ¹	412	350	192	620
IVTD	809	843	956	848
NDFd	536	551	774	754

¹Adapté de Bélanger et Tremblay, 2011

²NDF : fibre insoluble au détergent neutre

³IVTD : digestibilité in vitro de la matière sèche

⁴NDFd : digestibilité in vitro de la NDF

Il n'existe toutefois pas seulement des différences entre les espèces de plantes fourragères. En effet, il est possible d'observer des inégalités dans la valeur nutritive à travers une même

espèce et un même cultivar, dépendamment des conditions dans lesquelles la plante évolue (température, précipitations, période de la journée). Comme il sera possible de le voir dans les sections suivantes, présents en plus ou moins grande quantité, les attributs de valeur nutritive comme la fibre, la protéine, les glucides non structuraux et les AG peuvent affecter positivement ou négativement les performances des ruminants.

1.2 Attributs de valeur nutritive

Dans une ration pour vaches laitières, il y a de nombreux attributs de valeur nutritive à considérer provenant de différents ingrédients de la ration. Les sections qui suivent traitent des attributs de valeur nutritive principaux des fourrages, c'est-à-dire la fibre, la protéine, les glucides non structuraux et les AG.

1.2.1 Fibre

Il est depuis longtemps reconnu que la présence de fibre dans l'alimentation des ruminants est essentielle au bon fonctionnement du rumen. En effet, les glucides structuraux constituent l'une des principales sources d'énergie pour plusieurs familles de microorganismes, la qualité des fibres variant entre autres avec leur fermentation, la longueur de hachage ainsi que leur pouvoir tampon dans le rumen (Van Soest et al., 1991).

Les extractions au détergent sont utilisées depuis plusieurs années selon la méthode de Peter J. Van Soest publiée en 1967 destinée à remplacer l'analyse des fibres brutes, une mesure jugée trop approximative. Les analyses au détergent développées par Van Soest sont basées sur le principe que la fibre ne peut pas être définie comme un élément chimiquement unique, par exemple la cellulose. Elle est en effet composée d'éléments très digestibles comme les hémicelluloses, et peu ou pas digestibles, comme la lignine (Van Soest, 1967). Les principales fibres contenues dans les fourrages sont la NDF (cellulose, hémicelluloses et lignine) et celle insoluble au détergent acide (ADF, cellulose et lignine). Il s'agit des composantes structurales des plantes fourragères dont la digestibilité varie selon la structure moléculaire. Les hémicelluloses sont plus digestibles que la cellulose, et celle-ci est plus digestible que la lignine. Cette dernière n'est pas digestible par le ruminant et les microorganismes du rumen, à l'exception de quelques champignons.

Les nutriments retrouvés dans le contenu des cellules des plantes fourragères (formé de sucres et autres glucides solubles, d'amidon, de protéines, d'azote non protéique et de

lipides) ainsi que les pectines sont presque entièrement digestibles par le microbiote du rumen et sont entièrement solubles au détergent neutre (Van Soest, 1967).

La fibre est une source de nutriments pour certains groupes de bactéries qui participe au maintien du pH du rumen. De plus, sa teneur et sa digestibilité influencent la vitesse de passage des aliments dans le système digestif, la motilité et l'environnement du rumen. Dans une étude de Weimer et al. (1999), il est possible de voir qu'une ration plus riche en NDF (32 % de la MS) a permis de maintenir davantage le pH du rumen qu'une teneur plus faible (24 % de la MS) pour des rations à base de luzerne et d'ensilage de maïs (Figure 1.1). En effet, les hémicelluloses et la cellulose sont une source d'énergie pour la flore fibrolytique du rumen. Certaines bactéries, protozoaires et champignons dépendent de l'apport en composants structuraux des fourrages pour obtenir l'énergie nécessaire à leur métabolisme et la présence de ces groupes de microorganismes permet de maintenir le pH du rumen (Russell et al., 1992).

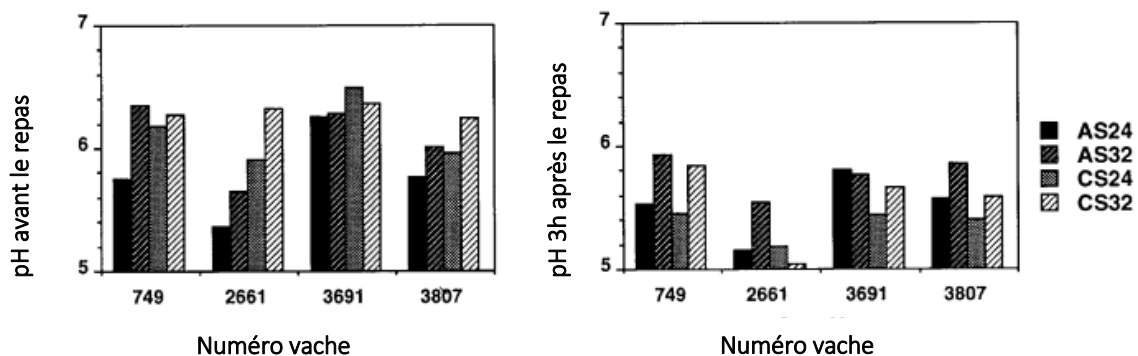


Figure 1.1 : Valeur moyenne de pH ruminal chez la vache recevant une diète à base d'ensilage de luzerne (AS) ou d'ensilage de maïs (CS) dont la teneur en NDF était de 24 % (24) ou 32 % (32) de la MS (Weimer et al., 1999).

Comme mentionné précédemment, la teneur en fibre peut aussi avoir une influence négative sur les performances des ruminants si présente en trop grande quantité, mais la digestibilité de la fibre est non négligeable. La digestibilité de la NDF (NDFd) ainsi que la digestibilité *in vitro* de la matière sèche (IVTD) sont des attributs de valeur nutritive qui

sont déterminés depuis de nombreuses années suivant la méthode de Goering et Van Soest (1970) qui consiste à récupérer le liquide ruminal de vaches fistulées et à reproduire en laboratoire, dans un rumen artificiel, la fermentation ruminale. Une mesure de la matière sèche restante est prise 48 h plus tard et la digestibilité est par la suite estimée avec les équations suivantes, adaptées de Goering et Van Soest (1970).

$$\text{IVTD} = [1 - (\text{poids sec de l'échantillon après fermentation et rinçage au détergent neutre} / \text{poids sec de l'échantillon avant la fermentation})] \times 1000$$

$$\text{NDFd} = [1 - (\text{poids sec de l'échantillon après fermentation et rinçage au détergent neutre} / \text{poids sec de fibre NDF avant la digestion})] \times 1000$$

Comme mentionné précédemment, la digestibilité élevée de la fibre permet d'obtenir des performances laitières comparables aux rations avec une proportion de fourrages plus faible. Une meilleure digestibilité de la fibre entraîne aussi une baisse de la prise alimentaire, sans toutefois nuire aux performances. Les travaux de Fustini et al. (2017) ont montré que des vaches ayant consommé un fourrage de luzerne dont la digestibilité de la NDF estimée après 24 heures était de 53% ont eu une baisse de consommation de matière sèche de 16% par jour comparativement à celles consommant la luzerne dont la digestibilité de la NDF était de 40%. De plus, le temps de rumination fut plus élevé et les chutes de pH ruminal sous 5,8 plus rares chez les vaches ayant reçu la ration plus digestible (Fustini et al., 2017).

1.2.2 Glucides non structuraux

Les glucides non structuraux (GNS) sont une source d'énergie rapidement fermentescible dans le rumen qui est essentielle à la bonne utilisation de l'azote par les bactéries du rumen (Moorby et al., 2006). Une étude de Berthiaume et al. (2010) démontre bien l'importance de la présence de GNS chez la luzerne par rapport à sa teneur élevée en protéine. En effet,

chez les vaches ayant consommé de la luzerne riche en PD ainsi qu'en GNS, la fermentation glucogénique de la ration a été favorisée par une augmentation des proportions molaires de propionate et de butyrate, ainsi qu'une diminution de la proportion molaire d'acétate, entraînant donc une diminution du ratio acétate:propionate et une plus grande synthèse de protéine microbienne. Une autre étude est venue à la conclusion que la teneur plus élevée en GNS des fourrages permet une plus grande utilisation de l'ammoniac (NH₃) par les bactéries du rumen, ce qui améliore la synthèse de protéine microbienne. De plus, dans cette étude, les vaches ont consommé en moyenne 1 kg de matière sèche de plus lorsqu'elles recevaient la luzerne riche en GNS, ce qui serait la principale cause de la hausse de leur production laitière (Brito et al., 2009).

L'extraction à l'eau des sucres solubles est l'une des méthodes d'analyse les plus populaires de la teneur en sucres des plantes fourragères. Cette méthode ne permet toutefois pas l'extraction de l'amidon, donc il ne s'agit pas de l'extraction des GNS totaux (Smith, 1971). La détermination de la teneur en amidon des fourrages est la plupart du temps effectué selon la méthode de Blakeney et Mutton (1980), qui consiste en la gélification et l'hydrolyse enzymatique de l'échantillon avec de l'amyloglucosidase.

1.2.3 Acides gras

Les AG forment jusqu'à 8% de la matière sèche des feuilles des plantes fourragères et sont principalement présents dans les chloroplastes (Harfoot et al., 1988). Les AG principaux retrouvés dans les plantes fourragères sont le C18:3 n-3 (51% des AG totaux), le C18:2 n-6 (18%) et le C16:0 (19%) et les fourrages représentent la principale source d'AG pour le ruminant (Dewhurst et al., 2006; Ouellette et al., 2003). Les lipides consommés par le ruminant peuvent subir de nombreuses transformations par l'action des microorganismes; les AG estérifiés (glycolipides et phospholipides principalement) sont d'abord hydrolysés par les bactéries du rumen, ce qui libère les AG et le glycérol. Ce dernier sera éventuellement fermenté en AG volatils (Stewart et al., 1997). Les AG subiront quant à eux, via l'action des microorganismes du rumen, une ou plusieurs étapes d'isomérisation et d'hydrogénation, regroupées sous le terme « biohydrogénation » (Harfoot and Hazlewood, 1997). Maximiser la présence d'AG polyinsaturés dans l'alimentation des

ruminants est un outil intéressant pour augmenter sa présence dans les produits laitiers, car les AG oméga-3 comme le C18:3 n-3 contribuent à diminuer les risques de maladies cardiovasculaires, et les acides linoléiques conjugués, issus de la biohydrogénation des AG polyinsaturés dans le rumen (C18:1 *cis*-9 *trans*-11) sont reconnus pour leurs effets anticancérigènes (Dewhurst et al., 2006).

La teneur en différents AG des fourrages varie selon de nombreux facteurs, comme l'espèce, le stade de développement et la méthode de conservation (Boufaïed et al., 2003). En effet, les teneurs en AG principaux comme les C16:0, C18:2 n-6 et C18:3 n-3 diminuent avec la maturité (Boufaïed et al., 2003). Aussi, le C18:3 n-3 est davantage présent dans les graminées que dans les légumineuses comme la luzerne (Bauchart et al., 1985). Cependant, d'autres études démontrent que les ruminants ayant consommé des rations riches en trèfle rouge ont eu une plus grande présence de C18:3 n-3 dans leur lait que ceux ayant consommé des rations à base de graminées, même si les deux rations avaient une composition similaire en AG (Dewhurst et al., 2006; Lourenço et al., 2008). La biohydrogénation dans le rumen du C18:3 n-3 était aussi plus faible dans les rations à base de trèfle rouge (Lourenço et al., 2008). Ce phénomène peut être expliqué par la présence de l'enzyme polyphénol oxydase dans le trèfle rouge, qui semble protéger les AG contre la lipolyse dans le rumen (Dewhurst et al., 2006).

Dans les fourrages, les AG sont majoritairement composés d'AG polyinsaturés et les ruminants consommant davantage de fourrage tendent à avoir une plus grande quantité d'AG polyinsaturés dans leur lait ou leur viande (Harfoot et al., 1988; Lourenço et al., 2008). Cependant, plusieurs éléments influencent la biohydrogénation des AG polyinsaturés dans le rumen et donc leur présence dans le lait, comme le taux de passage des aliments, la nature des aliments et le ratio F:C (Dewhurst et al., 2006).

L'extraction au solvant (principalement l'éther) reste une méthode populaire pour obtenir les lipides totaux, par contre certains composés de ces extractifs n'ont pas de valeur nutritive pour les ruminants, c'est pourquoi déterminer la teneur et le profil en AG est plus précis à des fins de nutrition animale (AOAC, 1990; Pritam et al., 1988).

1.2.4 Protéine

La protéine des fourrages peut être déterminée par l'analyse de l'azote contenu dans la plante. Plusieurs méthodes ont été utilisées au fil des années pour mesurer l'azote total, soit par digestion (Kjeldahl) ou par combustion (Dumas). Certaines études démontrent que ces méthodes sont équivalentes (Etheridge et al., 1998), alors que d'autres semblent démontrer que la méthode par digestion est plus précise (Simonne et al., 1995). Il s'agit aussi de la méthode qui est encore aujourd'hui reconnue par l'Association officielle des chimistes analytiques (AOAC) pour l'évaluation de la teneur en azote des plantes fourragères. La protéine ingérée par le ruminant, couplée à un apport adéquat en énergie, vitamines et minéraux, sera principalement utilisée par les microorganismes du rumen. Il s'agit de la PD (Westwood et al., 1998). Cette protéine sera alors disponible pour le ruminant lors de son arrivée dans la partie intestinale du tractus digestif sous forme de protéine microbienne (Westwood et al., 1998). Cette protéine favorise la production laitière, car son profil en acides aminés est similaire à celui de la protéine laitière (Charbonneau et al., 2007; Sok et al., 2017).

Une partie de la protéine ingérée peut toutefois passer directement dans le petit intestin, sans subir de transformation par les microorganismes du rumen, c'est la protéine non dégradable (PND; Westwood et al., 1998). La dégradabilité de la protéine peut être influencée par plusieurs éléments, comme le type d'aliments servis, la quantité d'azote non protéique présente, la vitesse de passage dans le rumen, la grosseur des particules alimentaires et le ratio F:C (Westwood et al., 1998). Par exemple, augmenter la présence de glucides dans le rumen permet une meilleure utilisation de la PD, puisque les microorganismes disposeront d'une source d'énergie pour permettre l'utilisation et la synthèse de protéine (Charbonneau et al., 2007).

Par contre, lorsque la quantité d'azote ammoniacal présent dans le rumen dépasse l'utilisation que peuvent en faire les microorganismes, une forte quantité de cet azote, sous forme gazeuse (NH_3), est absorbée par les parois du rumen et métabolisée sous forme d'urée (Westwood et al., 1998). Il est alors possible d'observer une augmentation de l'azote

urémique dans le plasma et dans le lait, il s'agit donc d'un bon indicateur de l'efficacité d'utilisation de l'azote par le ruminant (Westwood et al., 1998). Cette mauvaise utilisation peut être causée par une surconsommation de protéine, dégradable ou non, un manque d'énergie ou un manque de synchronisme entre l'énergie et la protéine dans le rumen et cela peut entraîner des pertes de production, de santé et de fertilité causées par la toxicité de l'azote sous forme ammoniacal (Westwood et al., 1998; Charbonneau et al., 2007).

De fait, une ration composée de 23% de protéine brute (PB) dont 5,8% PND a été associée à un taux de gestation de 53% comparativement à des vaches nourries avec une ration à 17,2% de PB dont 6,8% de PND avec un taux de gestation de 75% (McCormick et al., 1999). Une présence excessive d'azote ammoniacal inutilisé dans le rumen peut aussi être observée lorsque les conditions ruminales sont sous-optimales pour la croissance microbienne, par exemple lors d'une chute du pH, pouvant être causée comme décrit précédemment, par une ration trop riche en concentré, faible en fibre efficace, ou lors d'un manque de synchronisme dans la disponibilité des nutriments dans le rumen (Wattiaux et Karg, 2004). De plus, la teneur en protéine de la ration peut être un élément limitant pour la production suite au vêlage, comme le montre l'étude de Dhiman et Salter (1993). Les vaches y ont reçu une ration avec une teneur similaire en protéine brute, mais un apport différent en PND et en énergie (gras et glucose). Les vaches ayant reçu une ration plus riche en PND ont eu une production laitière supérieure de 18% par rapport au témoin, alors que celles supplémentées en différentes formes d'énergie (gras et glucose) n'ont pas eu de changement significatif sur leur production (Dhiman et Salter, 1993).

La teneur en protéine des fourrages et la proportion de PD sont variables selon l'espèce, le stade de croissance lors de la récolte et s'il est entreposé frais, séché ou fermenté (Mitchell et al., 1997). Les fourrages dont la croissance est favorisée dans des climats frais (par exemple le brome des prés) semblent avoir une dégradabilité ruminale plus rapide que les fourrages profitant davantage d'un climat chaud comme par exemple le panic érigé (Mitchell et al., 1997). En moyenne, seulement 25% de la protéine des fourrages échappent à la dégradation ruminale (Buxton et al., 1995). Cette proportion de PD semble par contre être corrélée au stade de développement de la plante, mais cette corrélation est très variable

d'une espèce à l'autre (Mitchell et al., 1997). La concentration en protéine brute est par contre fortement influencée par le stade de développement, celle-ci diminuant avec la maturité des plantes fourragères (Beever et al., 2000).

1.3 Facteurs affectant la qualité des fourrages

1.3.1 Stade de développement

On retrouve dans la littérature plusieurs études démontrant que la maturité du fourrage a un effet sur la valeur nutritive de ce dernier, autant chez la graminée que chez la légumineuse (Beever et al., 2000; Persson et al., 2014; Thorvaldsson et al., 2007; Wheeler et Reynolds, 2012). L'étude de Bélanger et al. (2001) sur la relation entre la valeur nutritive et le rendement en matière sèche de la fléole des prés permet de voir comment la maturité du fourrage influence sa valeur nutritive. Les auteurs concluent que la diminution en composants métaboliques, principalement présents dans les feuilles (par exemple GNS, AG et azote) et l'augmentation en composants structuraux, principalement présents dans les tiges (par exemple la lignine) contribuent grandement à la baisse de valeur nutritive observée avec l'augmentation de la maturité de la fléole.

Tremblay et al. (2002) ont évalué la teneur en PND et l'IVTD des feuilles et des tiges de différents cultivars de luzerne. Selon cette étude, les feuilles ont une plus grande IVTD et une plus grande teneur en PND que les tiges (Tremblay et al., 2002). Cela signifie que lorsque le ratio feuilles:tiges (F:T) diminue, la concentration en PND et l'IVTD du fourrage diminuent aussi, ce qui contribue à réduire sa valeur nutritive.

L'un des changements physiologiques importants de la plante entraînés par la maturité est le changement dans le ratio F:T. En effet, au cours de la saison de croissance, ce ratio diminue, c'est-à-dire qu'on retrouve une plus grande proportion de tiges que de feuilles (Wheeler et Reynolds., 2012; Bélanger et Tremblay, 2011; Van Soest, 1994). De plus, il est maintenant reconnu que la plante fourragère est presque entièrement digestible à un jeune stade de développement, mais que la digestibilité des tiges diminue au fur et à mesure que la plante gagne en maturité. Ce phénomène est principalement dû aux plus fortes proportions de lignine et de cellulose par rapport à celle des hémicelluloses (Thorvaldsson, 1988). Cette baisse de digestibilité des tiges, combinée à une diminution de la proportion

de feuilles (qui restent très digestibles par rapport au stade de développement), nuit à la valeur nutritive des plantes fourragères matures.

La figure 1.2 est un résumé schématique de la variation des composantes métaboliques (contenu cellulaire) et structurales (parois cellulaires) dans une graminée fourragère. On peut voir qu'avec l'avancement des stades de maturité, la proportion des composants du contenu cellulaire (protéine, glucides non structuraux et minéraux) diminue par rapport à ceux des parois cellulaires (hémicelluloses, cellulose et lignine). La proportion du contenu cellulaire passe en effet de 65% à 40%. Les travaux de Boufaïed et al. (2003) rapportent aussi une diminution de 23% dans la teneur en AG totaux entre le stade début montaison et début floraison chez la fléole des prés.

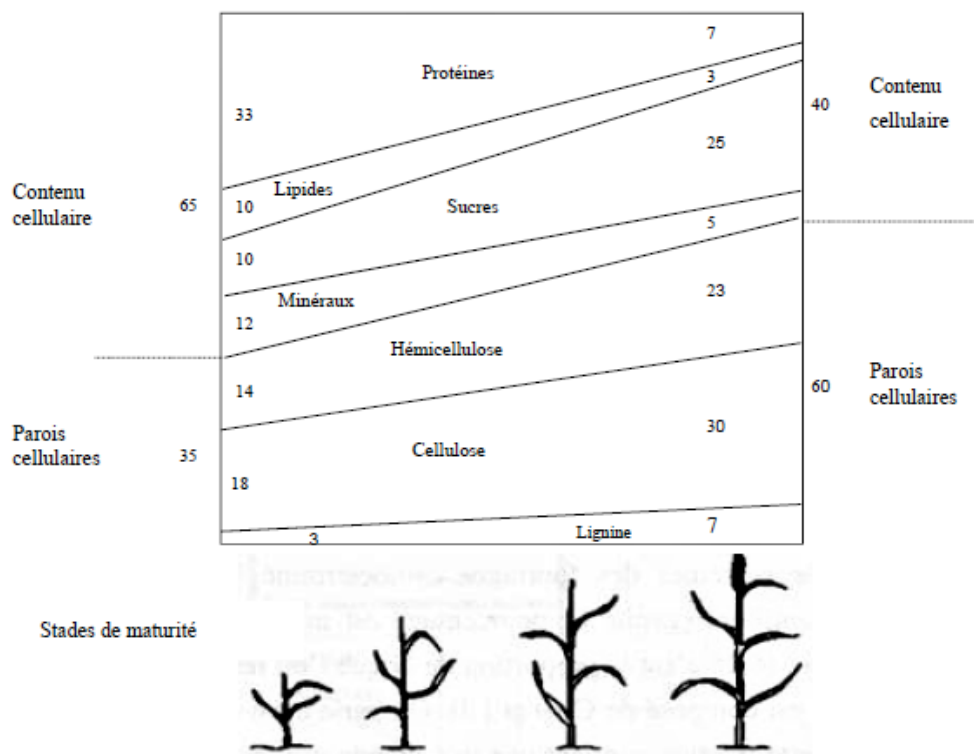


Figure 1.2 : Représentation schématique de l'effet de la maturité sur la composition d'une graminée fourragère (Beever et al., 2000).

1.3.2 Conditions de récolte

Le moment de coupe dans une journée a une influence sur la qualité nutritive des fourrages (Bélanger et Tremblay, 2010). Comme le montre la figure 1.3, la concentration en GNS varie de façon significative entre la fauche en avant-midi et en après-midi.

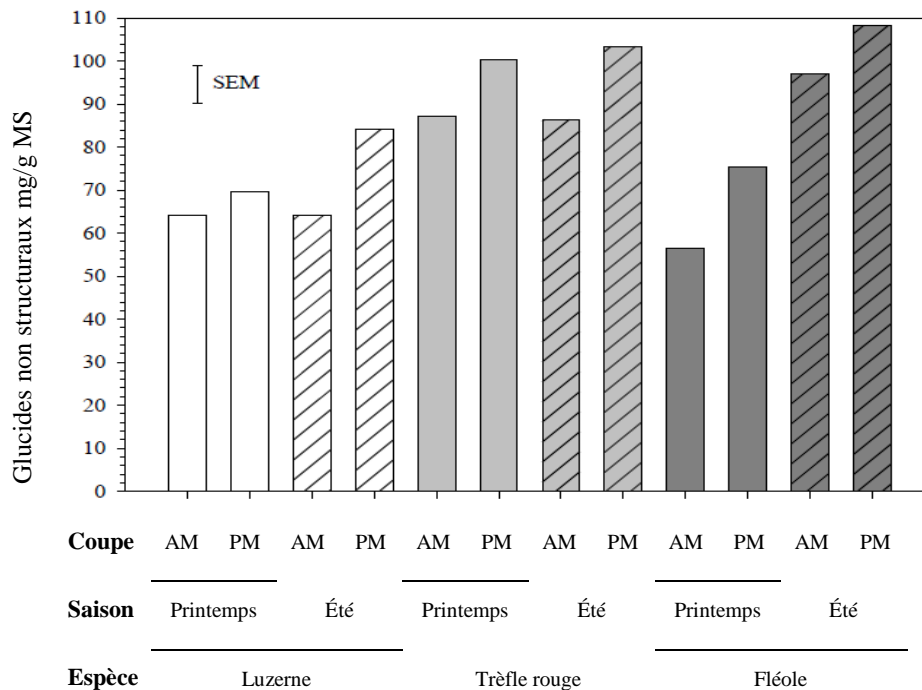


Figure 1.3 : Concentration en glucides non structuraux durant la période de croissance printanière et estivale de la luzerne, du trèfle rouge et de la fléole des prés avec une coupe en avant-midi (8:00 à 10:00) et en après-midi (15:00 à 16:00) à la ferme expérimentale Normandin d’Agriculture et Agroalimentaire Canada. Moyenne de deux années de production (Bélanger et Tremblay, 2010).

En effet, les fourrages récoltés en après-midi contiennent davantage de GNS, que ce soit durant la saison de croissance printanière ou estivale, et pour les trois espèces étudiées. Ceci peut être expliqué, comme le montre la figure 1.4, par le fait que durant l’exposition au soleil la plante produit davantage de glucides (via le processus de photosynthèse) qu’elle n’en utilise, alors elle en accumule dans ses parties aériennes. Une fois la nuit tombée, la plante utilise les glucides produits durant la journée pour la respiration cellulaire. Plus

précisément, le moment de la journée où la plus haute teneur en GNS est observée est environ 11 à 13 h après le lever du soleil (Morin et al., 2011)

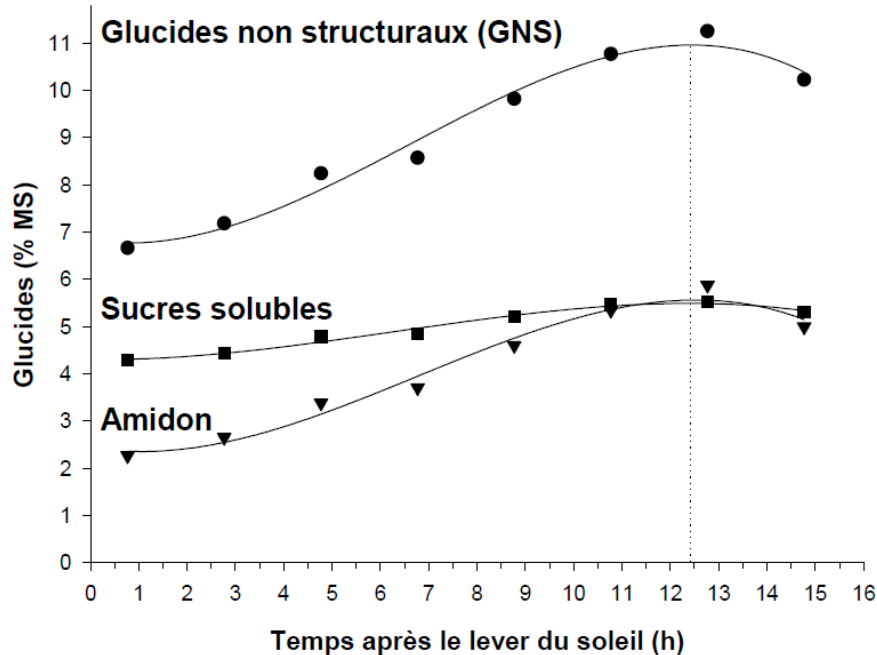


Figure 1.4 : Variation de la teneur en glucides non structuraux (GNS) au cours de la journée (Morin et al., 2011).

La figure 1.5 publiée par Berthiaume et Tremblay (2011) et tirée des résultats de Brito et al. (2008, 2009) montre cette fois l'effet d'une fauche le matin (plus faible teneur en GNS) comparativement à une fauche en après-midi (teneur plus élevée en GNS) sur la CVMS, le lait produit et la concentration en urée du lait (marqueur de l'efficacité d'utilisation de la protéine alimentaire). Ces résultats confirment qu'une teneur plus élevée en GNS favorise un bon équilibre du rumen, puisqu'il y a moins d'azote ammoniacal non utilisé dans le rumen se retrouvant sous forme d'urée dans le plasma et dans le lait (Berthiaume et Tremblay, 2011). Ce phénomène peut être expliqué par le fait que les GNS des fourrages contribue à augmenter l'énergie disponible au microbiote pour une utilisation optimale de l'azote et la protéine alimentaire pour la synthèse de protéine microbienne (Berthiaume et Tremblay, 2011; Brito et al., 2009; Brito et al., 2008; Westwood et al., 1998).

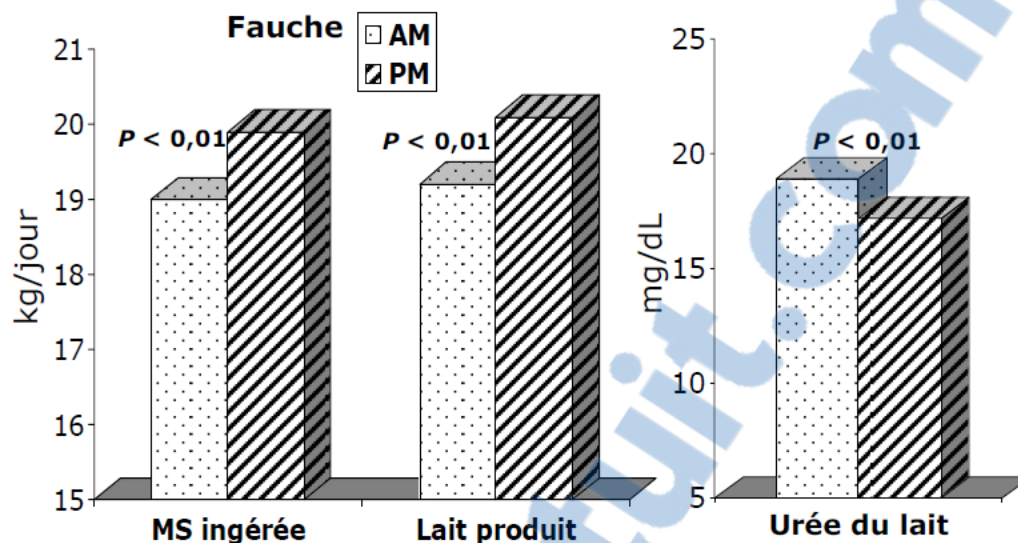


Figure 1.5 : Effet du moment de la fauche du fourrage sur l'équilibre du rumen et la production laitière (Brito et al., 2009; Brito et al., 2008, cités par Berthiaume et Tremblay 2011)

1.3.3 Climat

Il est reconnu que le climat peut avoir une influence sur la croissance des plantes. Certaines bénéficient d'une augmentation des températures, alors que d'autres, moins adaptées au climat chaud et sec s'en trouvent négativement affectées (Mäkinen et al., 2015). Jusqu'à un certain stade de stress thermique, le rendement des cultures peut donc augmenter chez les plantes fourragères, mais cette augmentation de rendement peut aussi contribuer à une baisse de la valeur nutritive (Bélanger et al., 2001). De fait, les changements climatiques prévus pourraient améliorer le rendement de certaines espèces fourragères comme la fléole des prés via l'ajout d'une 3^e coupe durant la saison estivale (Jing et al., 2014). Cela permettrait aussi de diminuer la teneur en NDF, mais entraînerait toutefois une baisse de sa digestibilité (Jing et al., 2014).

Les graminées fourragères réagissent rapidement à un changement de température, surtout à un jeune stade de développement. Il a été démontré que la température est l'aspect du climat qui induit le plus de variation dans les changements physiologiques chez les plantes fourragères (Thorvaldsson et al., 2007).

En effet, des études ont fait état de l'influence que peut avoir la température sur les graminées fourragères. Thorvaldsson et al. ont publié en 2004 une étude sur l'influence d'une température froide sur la croissance de sept graminées fourragères, dont la fléole des prés, en chambre sous conditions contrôlées. Plusieurs effets significatifs ont été observés, notamment qu'une température froide lors des premiers stades de développement a un effet plus marqué sur la vitesse de croissance que lorsque la plante est à un stade plus avancé de son développement. L'effet d'une température froide sur le développement racinaire a cependant été très marqué pour tous les stades de croissance, celui-ci étant beaucoup moins élaboré sous des températures froides. La hausse des températures a quant à elle grandement stimulé l'élongation des feuilles lors des premiers stades de développement (Thorvaldsson et al., 2004). Par contre, puisque la croissance des tiges augmente aussi rapidement avec l'augmentation de la température, la proportion de feuilles dans la plante est tout de même réduite (Thorvaldsson, 1988). En effet, une hausse de la température de croissance augmente la proportion de NDF des graminées fourragères de 7,8% pour chaque degré Celsius supplémentaire de 9 °C à 17°C et ces résultats se traduisent aussi par une baisse de l'IVTD des plantes fourragères de 0,05% en moyenne par degré Celsius (Thorvaldsson et al., 2007).

Porter et Semenov (2005) ont étudié la réponse physiologique de plusieurs espèces végétales face à des changements climatiques, et plus particulièrement de la température. La figure 1.6 illustre que sous des températures basses, le taux de photosynthèse est beaucoup plus élevé que la respiration. Cependant, au-delà de 10°C, la différence entre la photosynthèse et la respiration diminue, ce qui signifie que de plus en plus des sucres solubles produits via la photosynthèse sont utilisés simultanément par la plante (via la respiration). Il en reste donc moins en circulation dans les parties aériennes, ce qui diminue la valeur nutritive du fourrage.

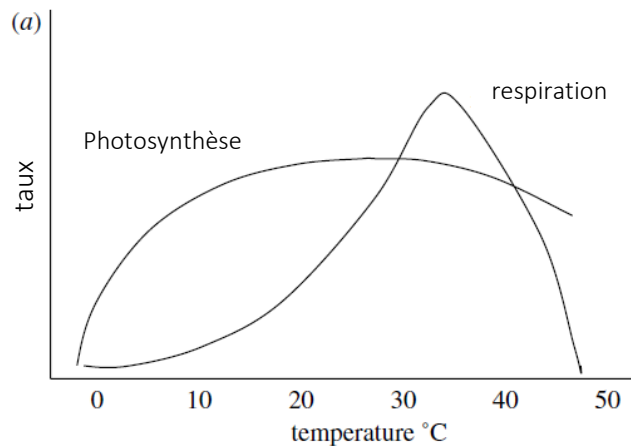


Figure 1.6 : Évolution du taux de photosynthèse et de respiration des plantes C3 selon la température (Porter et al., 2005).

Une étude récente conclut que la saison de coupe a une influence sur la teneur et le profil en AG des plantes fourragères, ce qui laisserait croire que la température, mais aussi le climat en général, aurait une influence sur cet attribut de valeur nutritive (Garcia et al., 2016). De fait, la teneur en AG totaux était plus élevée au milieu de l'été comparativement au printemps. Une étude de Gilliland et al. (2002) a par contre montré que la teneur en C18:3 n-3 des AG totaux des fourrages diminue graduellement de mai à août et augmente de nouveau d'août à septembre.

Certaines études ont aussi été menées afin de déterminer l'influence des changements climatiques globaux (augmentation de la température et de la concentration atmosphérique en CO₂) sur les attributs de valeur nutritive de la luzerne. En effet, Sanz-Saez et al. (2012) ont constaté qu'une atmosphère riche en CO₂ et des températures élevées diminuent la teneur en PB ainsi que l'IVTD et augmentent la concentration en fibre (ADF et NDF) de la luzerne. La réduction de la quantité de PB présente dans la plante peut provenir de la diminution de l'absorption de l'azote par les racines à des teneurs élevées en CO₂ atmosphérique (Sanz-Saez et al., 2012). Ces résultats sont en accord avec d'autres études antérieures portant sur le même sujet et touchant davantage d'espèces de plantes

fourragères (Seligman et Sinclair, 1995). D'autres travaux ont montré qu'il est possible d'identifier des souches rhizobiales permettant d'améliorer les performances des plantes fourragères comme la luzerne, sans nuire à sa valeur nutritive, sous une atmosphère où la teneur en CO₂ est plus élevée (Bertrand et al., 2007). D'autres études, par contre, semblent montrer qu'une atmosphère enrichie en CO₂ (475 μmol mol⁻¹ comparativement à une teneur ambiante d'environ 360 μmol mol⁻¹) aurait plutôt un effet inverse sur certaines légumineuses, où la teneur en azote serait 45% plus élevée que pour la graminée (Allard et al., 2003). Dans les mêmes conditions, la teneur en GNS des plantes fourragères était plus élevée sous une atmosphère riche en CO₂, alors que les concentrations en fibres ADF et NDF n'étaient pas significativement affectées (Allard et al., 2003).

En plus d'avoir un impact sur la physiologie des plantes, la hausse des températures annuelles peut avoir une influence indirecte sur les plantes fourragères cultivées dans les régions nordiques comme celles du Canada. Malgré le fait que certaines espèces de plantes fourragères puissent bénéficier de meilleurs rendements avec l'augmentation de la température, des températures hivernales douces peuvent avoir des conséquences néfastes sur la survie des plantes fourragères dues à une couverture plus faible des champs par la neige lors d'une saison très froide, une augmentation de l'humidité du sol au printemps et à l'automne, la présence de glace à la surface des champs et une plus grande incidence de maladies (Bélanger et al., 2006; Mäkinen et al., 2015). La neige ayant un fort pouvoir isolant, elle permet aux plantes fourragères pérennes de mieux survivre à l'hiver et donc assure une meilleure croissance au printemps. Les plantes fourragères, et particulièrement la luzerne, sont sensibles à l'accumulation de glace dans les champs dû entre autres à un phénomène d'anoxie à la surface du sol (Bélanger et al., 2006).

La figure 1.7 présente la variation spatiale du nombre de jours à risque de dommages hivernaux des régions causés par une faible couche de neige à travers les régions agricoles du Québec. On remarque qu'entre les années 1960 et 1990, les régions plus au sud du Québec comme la Montérégie étaient plus affectées que celles plus au nord comme le Bas-Saint-Laurent et le Saguenay-Lac-Saint-Jean.

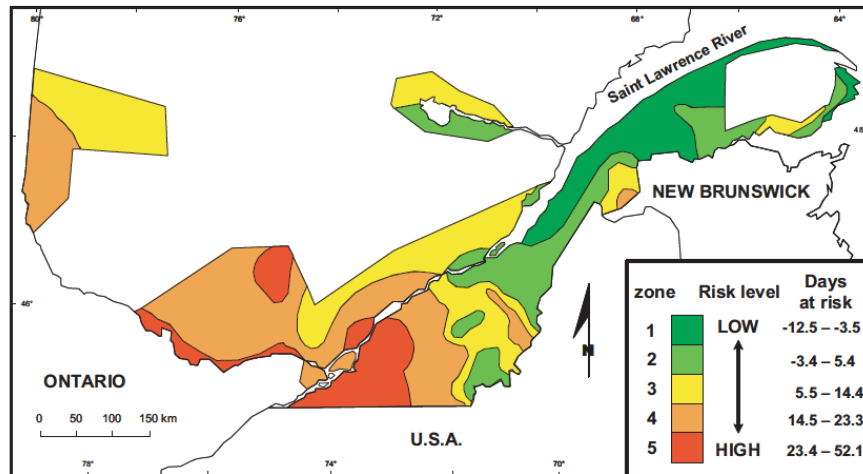


Figure 1.7 : Variation spatiale du nombre de jours à risque de dommages hivernaux dans les grandes régions agricoles du Québec au cours des années 1960 à 1990 (Bélanger et al., 2005).

Les dommages hivernaux ne semblent pas avoir de conséquence directe sur la valeur nutritive des fourrages. Par contre, cela peut inciter les producteurs de certaines régions du Québec à transférer plusieurs hectares de culture de plantes fourragères pérennes à la culture de plantes annuelles, comme le maïs et le soya, qui bénéficient davantage d'une hausse des températures (Charbonneau et al., 2013).

1.4 Conclusion

Les plantes fourragères jouent un rôle de premier plan dans l'alimentation des ruminants et plus particulièrement pour les vaches laitières du Québec. Leur qualité nutritive est très variable et les conditions climatiques sont un des facteurs pouvant influencer cette qualité. Les études effectuées en conditions contrôlées ont montré que la valeur nutritive des fourrages diminue avec l'augmentation de la température. Cette dernière contribue entre autres à augmenter la vitesse de croissance des fourrages et à diminuer le ratio F:T. De plus des températures basses sont aussi associées à une teneur plus élevée de GNS dans la plante. Toutefois, on ignore si ces variations sont perceptibles lorsque les plantes fourragères sont cultivées en champ. On ignore également si les variations de conditions climatiques entre les différentes régions du Québec sont suffisantes pour influencer significativement la valeur nutritive des fourrages. L'objectif du projet présenté dans les pages qui suivent est donc de comparer la valeur nutritive de fourrages produits sous des conditions d'agriculture nordique à celle de fourrages produits dans deux autres régions situées plus au sud du Québec, en fonction du stade de développement de la plante et du rendement, au cours de la croissance printanière. L'hypothèse principale sous-tendant ces travaux est que les plantes fourragères cultivées en région nordique ont une meilleure valeur nutritive que celles cultivées dans les régions plus au sud, et ce, pour un même stade de développement.

Chapitre 2: Alfalfa and Timothy Nutritive Value in Contrasted Agroclimatic Regions.

2.1 Résumé

Il est déjà connu que la température influence la valeur nutritive des fourrages. Cependant, très peu d'information est disponible en ce qui a trait aux différences de valeur nutritive des fourrages cultivés dans des régions climatiques variées. Nous avons mesuré l'évolution de la valeur nutritive de la luzerne (*Medicago sativa* L.) et de la fléole des prés (*Phleum pratense* L.) cultivées dans trois régions du Québec aux conditions climatiques contrastées : Normandin, 1359 degrés-jours; Saint-Augustin-de-Desmaures, 1712 degrés-jours; et Sainte-Anne-de-Bellevue, 2098 degrés-jours.

À chacun des sites, le rendement en matière sèche (MS) et le stade de développement ont été estimés et des échantillons prélevés, une fois par semaine pendant quatre à sept semaines au cours de la croissance printanière des années 2015 et 2016. Pour chaque attribut de valeur nutritive, les données ont d'abord servi à construire des courbes de régressions linéaire ou quadratique en fonction du stade de développement, permettant ensuite de prédire la valeur au stade recommandé pour la récolte, à chacun des sites. Au stade début floraison, la concentration en fibres insolubles au détergent neutre (aNDF) de la luzerne était plus faible (428 contre 480 et 466 g kg⁻¹ MS) et la digestibilité de sa MS mesurée *in vitro* plus élevée (765 contre 729 et 726 g kg⁻¹ MS) lorsque cultivée à Normandin plutôt qu'à Saint-Augustin-de-Desmaures ou Ste-Anne. Par contre, le rendement en MS était plus faible à Normandin (3,86 Mg ha⁻¹) qu'aux deux autres régions (Saint-Augustin-de-Desmaures: 6,38 Mg ha⁻¹; Ste-Anne : 6,15 Mg ha⁻¹).

Pour ce qui est de la fléole des prés, au stade début épiaison, la teneur en aNDF était moindre lorsque cultivée à Normandin, comparativement à Saint-Augustin-de-Desmaures-de-Desmaures ou Ste-Anne-de-Bellevue (613 contre 650 et 652 g kg⁻¹ MS). La digestibilité de ce fourrage était plus élevée à Normandin qu'à Saint-Augustin-de-Desmaures (829 contre 786 g kg⁻¹ MS), mais similaire à celle mesurée à Ste-Anne (817 g kg⁻¹ MS).

¹ MS). Tout comme pour la luzerne, le rendement en MS était plus faible pour la fléole des prés cultivée à Normandin (4,02 Mg ha⁻¹) qu'aux deux autres sites (Saint-Augustin-de-Desmaures : 6,14; Ste-Anne : 5,00 Mg ha⁻¹). La plus grande valeur nutritive des fourrages cultivés à une latitude plus élevée (Normandin) s'explique principalement par la relation négative bien établie entre celle-ci et le rendement en MS.

2.2 Abstract

Forage nutritive value is known to be affected by temperature but little information exists on effects of climatically-contrasted regions on forage nutritive value. Developmental stage, dry matter (DM) yield, and nutritive value of forage alfalfa (*Medicago sativa* L.) and timothy (*Phleum pratense* L.) were measured for four to seven weeks during the primary growth of 2015 and 2016 at three contrasted sites in the province of Quebec, Canada [Normandin, 1359 growing degree days (GDD); St-Augustin-de-Desmaures, 1712 GDD; and Ste-Anne-de-Bellevue, 2098 GDD]. Nutritive attributes were fitted to developmental stages by linear or quadratic functions and predicted for a given developmental stage.

At early-flowering for alfalfa, the neutral detergent fiber (aNDF) concentration was less (428 vs 480 and 466 g kg⁻¹ DM) and the in vitro true digestibility of DM was greater (765 vs 729 and 726 g kg⁻¹ DM) at Normandin than at Saint-Augustin-de-Desmaures and Ste-Anne-de-Bellevue e, whereas forage DM yield was lowest at Normandin (3.86 vs 6.38 and 6.15 Mg ha⁻¹). At early heading for timothy, the forage aNDF concentration was less at Normandin than at Saint-Augustin-de-Desmaures and Ste-Anne-de-Bellevue (613 vs 650 and 652 g kg⁻¹ DM), the in vitro true DM digestibility was greater at Normandin than at Saint-Augustin-de-Desmaures and similar at Ste-Anne-de-Bellevue (829 vs 786 and 817 g kg⁻¹ DM), but the forage DM yield was less at Normandin (4.02 vs 6.14 and 5.00 Mg ha⁻¹). The greater nutritive value of forages grown at the northernmost site (Normandin) was mainly explained by the well-established negative relationship between nutritive value and DM yield.

2.3 Introduction

Forage nutritive value is highly influenced by plant maturity, but also by environmental drivers, which are the cause of geographical variation, even when forages are harvested at a similar stage of development (Buxton, 1996). Under controlled conditions, cool growth temperatures are associated with lower forage fiber concentration and increased digestibility, due to a lower degree of lignification (Thorvaldsson et al., 2007). Thorvaldsson et al. (2007) reported that the rate of decline of *in vitro* true digestibility of dry matter (IVTD) of seven grass species increased, whereas neutral detergent fiber (NDF) concentration decreased, with increasing growth temperature. Photosynthesis is less sensitive to temperature than growth (Buxton and O’Kiely, 2003). Therefore, at temperatures below the optimum for growth, plants accumulate higher concentration of soluble sugars in their tissues (Buxton et Fales, 1994). We hypothesized that forages grown in a region with lower temperatures would have a better nutritive value.

Studies on the effects of regions with different air temperatures on forage nutritive value remain scarce. Because experimental sites in different regions differ in many aspects, it is often difficult to establish the relative contribution of the soil, climate, and management practices. With forage crops, the timing of harvest at different sites is another important confounding factor. To address this question, we proposed using sequential sampling during the primary growth and regression analyses to compare nutritive attributes at similar stages of development or dry matter yield at sites in different regions under non-limiting nutrient conditions. The objective of the current study was to compare the forage nutritive value of alfalfa (*Medicago sativa* L.) and timothy (*Phleum pratense* L.) grown at three climatically contrasted sites along a North-South gradient in the province of Québec, Canada.

2.4 Material and Methods

2.4.1 Species, Cultivar, Sites, and Fertilization

The study was conducted with alfalfa (cv. Calypso, 12 kg seed ha⁻¹) and timothy (cv. AC Alliance, 10 kg seed ha⁻¹) sown at three sites in different agroclimatic regions in 2014: (i) Normandin Research Farm of Agriculture and Agri-Food Canada, Normandin, QC, Canada (48°49' N, 72°31' W; mean elevation: 137 m; soil type: Labarre silty clay, fine, mixed, frigid, Humic Crayquept; 1359 accumulated growing degree-days base 5 °C, GDD); (ii) Research farm of Université Laval, Saint-Augustin-de-Desmaures (hereafter called St-Augustin), QC, Canada (46°48' N, 71°23' W; mean elevation: 43 m; soil type: Saint-Aimé fine sandy loam, a fine-loamy, mixed, frigid, Typic Humaquept; 1712 GDD); and (iii) Macdonald Campus, McGill University, Sainte-Anne-de-Bellevue (hereafter called Ste-Anne), QC, Canada (45°26' N, 73°55' W; mean elevation: 36 m; soil type: fine sandy loam, Chicot; 2098 GDD).

Two series of experimental plots for each forage species were sown at each site: one series to be sampled in the first post-sowing year (2015) and the other to be sampled in the second post-sowing year (2016). The sowing dates were 29, 21, and 23 May 2014 at Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne, respectively. For both species and at each location, series of plots were constituted of 12 to 21 experimental units (four to seven sampling times) arranged in a randomized complete block design with three replications. The minimal plot size was 3 × 5 m and varied among sites. To characterise each site at the beginning of the study (Table 2.1), prior to seeding in the spring of 2014, 10 random soil cores per block were taken at a depth of 15 cm, and pooled. Soil samples were air-dried and sieved to 2 mm prior to analysis. Soil pH was measured in a 1:1 soil:water ratio (Hendershot et al., 1993).

Table 2.1 Soil properties for each experimental site at the beginning of the study in 2014.

	Normandin	St-Augustin	Ste-Anne
pH	6.14	6.70	6.00
C/N	11.7	10.1	10.0
Organic matter, g kg ⁻¹	46.3	38.8	20.1
P, kg ha ⁻¹	126	110	202
K, kg ha ⁻¹	283	250	394
Ca, kg ha ⁻¹	3724	5304	2628
Mg, kg ha ⁻¹	390	431	283

Soils were extracted for P, K, Ca, and Mg using Mehlich-3 method (Mehlich, 1984) and determined with an Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer (Optima 4300 DV, PerkinElmer Corp., Norwalk, CT). Total soil C and N concentrations were determined by dry combustion with an Elementar CN analyzer (Elementar, model Varian Macro CN, Hanau, Germany).

For both species, no N fertilizer was applied at the establishment. After the first cut in 2014, 40 kg N ha⁻¹ was applied on the timothy plots. In the spring of 2015 and 2016, all timothy plots received 90 kg N ha⁻¹ before the start of growth. After the first cut of 2015, 40 kg N ha⁻¹ was applied exclusively on the timothy plot series to be sampled in 2016. Additionally, in the spring of 2015, 25, 20, and 1 kg ha⁻¹ of P, K, and B were applied at Normandin, 25, 25, and 1 kg ha⁻¹ of P, K, and B were applied at St-Augustin, and 20, 25, and 1 kg ha⁻¹ of P, K, and B were applied at Ste-Anne. The series of plots to be sampled in 2016 were cut twice in 2015 at around the early-flowering stage of development (Mueller and Teuber, 2007) for alfalfa, and at the early-heading stage of development (Moore et al., 1991) for timothy, but no data were taken. Weather conditions during the growing season of the two years of data recording and sample collection (2015 and 2016), as well as the 30-yr average (1971-2000) were retrieved for each site from a weather station located less than 15 km away (Table 2.2).

At each experimental site, forage sampling occurred once a week from May to July, for 4 to 7 wks during the spring growth of 2015 and 2016, to obtain a full range of stage of development for both species (Table 2.3). At each sampling, a 50 × 50-cm quadrat representative of the plot was harvested at 7 cm from the ground with electric pruning shears. A botanical separation was performed for each forage sample to isolate alfalfa or timothy from weeds. Samples of alfalfa, timothy, and their respective weeds were then dried at 55 °C, weighed to determine the dry matter (DM) yield, and ground to 1 mm using a Wiley mill (Standard model 4, Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, PA) for laboratory analyses.

Table 2.2 Monthly temperatures[†] and rainfall during the growing season for the two years of data recording and sample collection (2015 and 2016), and the 30-yr average (1971-2000) at each site.

	Normandin			St-Augustin			Ste-Anne		
	2015	2016	30-yr	2015	2016	30-yr	2015	2016	30-yr
	Air temperature (°C)								
April	1.3	-4.7	0.9	3.8	1.6	3.3	5.9	4.0	5.7
May	10.7	10.1	9.3	14.2	12.6	11.2	16.2	14.2	13.4
June	13.9	14.7	14.4	15.8	17.1	16.5	17.0	18.5	18.2
July	17.6	17.1	17.1	19.3	20.0	19.2	20.9	21.3	20.9
Aug.	17.7	17.5	15.8	20.0	20.5	17.9	20.4	21.9	19.6
Sept.	14.6	13.0	10.3	17.1	15.2	12.5	18.1	16.7	14.6
Oct.	3.1	6.2	4.1	5.7	7.9	6.2	7.6	9.3	8.1
Nov	-0.4	1.5	-3.5	2.5	3.0	-0.7	4.5	3.7	1.6
Mean	9.8	9.4	8.6	12.3	12.2	10.8	13.8	13.7	12.8
	Rainfall (mm)								
April	130	78	39	118	59	60	72	83	64
May	51	81	84	131	75	106	64	28	76
June	62	135	78	128	104	114	131	53	83
July	146	125	108	127	107	128	140	59	91
Aug.	101	94	94	123	107	117	57	169	93
Sept.	69	130	87	102	88	126	91	24	93
Oct.	96	190	59	176	191	100	91	143	75
Nov	61	72	30	92	95	68	50	54	71
Mean	89	113	72	125	103	102	87	77	81

[†]Reported temperatures and rainfall were retrieved from weather stations at Normandin Research Farm for the site at Normandin, Québec/Jean-Lesage Airport for the site at St-Augustin, and Montréal/Pierre-Elliot-Trudeau Airport for the site at Ste-Anne; weather stations were less than 15 km from the experimental sites.

Table 2.3 Harvest dates and accumulated growing degree-days[†] from April 1 (base 5°C; GDD) at each site for the two post-sowing years of forage sampling.

Year Sampling	2015						2016						
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7
<u>Normandin</u>													
Date	4 Jun.	11 Jun.	18 Jun.	25 Jun.			2 Jun.	9 Jun.	16 Jun.	23 Jun.	30 Jun.	7 Jul.	
GDD	207	267	340	405			180	238	284	368	450	532	
Stage of development [‡]													
Alfalfa	1.6	1.8	3.2	3.9			1.0	2.3	2.7	3.1	3.9	4.6	
Timothy	1.6	2.1	2.8	3.3			1.5	1.8	2.7	3.0	3.2	3.5	
<u>St-Augustin</u>													
Date	26 May	2 Jun.	12 Jun.	16 Jun.	23 Jun.	30 Jun.	19 May	26 May	2 Jun.	9 Jun.	16 Jun.	23 Jun.	
GDD	246	332	421	474	553	632	103	189	272	352	414	509	
Stage of development													
Alfalfa	1.8	2.3	2.7	3.3	4.2	5.9	0.3	1.3	1.9	2.3	2.7	3.9	
Timothy	2.1	2.4	2.8	3.1	3.3	3.4	1.5	1.8	2.3	2.8	3.1	3.3	
<u>Ste-Anne</u>													
Date	26 May	4 Jun.	10 Jun.	15 Jun.			16 May	20 May	27 May	6 Jun.	9 Jun.	16 Jun.	22 Jun.
GDD	342	437	506	572			133	152	242	395	428	495	594
Stage of development													
Alfalfa	2.3	3.2	4.0	5.5			0.7	1.5	2.1	2.9	3.6	4.1	6.3
Timothy	2.1	2.7	3.1	3.3			1.6	1.7	2.0	2.5	2.9	3.2	3.3

[†]Reported temperatures for the calculation of GDD were retrieved from weather stations at Normandin Research Farm for the site at Normandin, Québec/Jean-Lesage Airport for the site at St-Augustin, and Montréal/Pierre-Elliot-Trudeau Airport for the site at Ste-Anne; weather stations were less than 15 km from the experimental sites.

[‡]Mean stage of development by weight established according to Mueller and Teuber (2007) for alfalfa, and according to Moore et al. (1991) for timothy.

At each sampling time, another sample of approximately 30 to 40 alfalfa stems or timothy tillers were taken from the outside proximity of the sampling quadrat to precisely determine the stage of development of each forage species. The stage of development of each stem and tiller was individually determined based on Mueller and Teuber (2007) for alfalfa and Moore et al. (1991) for timothy. Stems or tillers were then grouped by stage of development, counted, dried at 55°C, and weighed. For each sampling, the stage of development of each group of stems or tillers contributed proportionally to the mean stage by weight (MSW) based on its dry weight (Moore et al., 1991).

2.4.2 Forage Chemical Analysis

All alfalfa and timothy forage samples were scanned by visible near-infrared reflectance spectroscopy (VNIRS) measuring their absorbance [$\log (1/R)$, where R is reflectance] in the visible and near-infrared regions between 400 and 2500 nm at 0.5-nm intervals using a VNIRS DS2500 monochromator instrument (Foss NIRSystems Inc. Eden Prairie, MN) with a small cup containing approximately 50 mL of ground forage sample. All samples collected in 2015 (n = 84) and 50 % of the samples collected in 2016 (n = 57) selected using the WinISI IV software (version 4.5.0.14017, Foss and Infrasoft International) and representative of both forage species were used as a calibration set. These samples were chemically analysed for NDF assayed with a heat stable α -amylase and sodium sulfite (aNDF; Mertens, 2002), and acid detergent fibre (ADF; method 973.18; AOAC, 1990) concentrations, using an ANKOM220 Fiber Analyzer (ANKOM Technology 05/03, Macedon, NY) with F57 filter bags (25-mm porosity). The extraction and dosage of water-soluble carbohydrates (WSC) was based on the Smith (1981) method, and the starch concentration was quantified after its gelatinization and enzymatic hydrolysis by amyloglucosidase, and as glucose equivalent with the p-hydroxybenzoic acid hydrazide method of Blakeney and Mutton (1980). Both WSC and starch were measured using this last colorimetric method. For the determination of total N and neutral-detergent insoluble N (NDIN), N was extracted using a method adapted from Isaac and Johnson (1976) and an autoanalyzer (QuikChem 8000, Lachat Zellweger Analytics) according to method 13-107-

06-2-D (Lachat Instruments, 2013). The *in vitro* true digestibility of DM (IVTD) was determined using the Goering and Van Soest (1970) method with a 48-h incubation in buffered rumen fluid. This analysis was followed with the determination of aNDF concentration of the postdigestion residues. The incubation was done with an ANKOM Daisy II incubator, using the F57 filter bags and the batch incubation procedures of ANKOM technology Corp. The rumen fluid was taken from two ruminally fistulated dairy cows fed the same diet constituted of 37% grass silage, 15% corn (*Zea mays* L.) silage, 8% hay, 30% corn grain, and 10% concentrate mix. This diet was formulated to meet the nutritional requirements of a lactating dairy cow expected to produce 10,200 kg milk yr⁻¹, according to NRC (2001). Each sample was analyzed in duplicate, with a 5% maximum coefficient of variation between duplicates. The IVTD (g kg⁻¹ DM) and the NDFd (g kg⁻¹ aNDF) were calculated as follows:

$$\text{IVTD} = \left(1 - \frac{\text{postdigestion dry weight following aNDF wash}}{\text{predigestion dry weight}} \right) \times 1000$$

$$\text{NDFd} = \left(1 - \frac{\text{postdigestion dry weight following aNDF wash}}{\text{predigestion dry weight of aNDF}} \right) \times 1000$$

The modified partial least squares regression method (PLSR) of the WinISI IV software was used to develop calibration equations for each forage nutritive attribute. The predictions were classified successful when the ratio of standard error of prediction to standard deviation [RPD = SD/SEP(C)], equal to the standard deviation of samples in the validation set (SD) divided by the standard error of prediction corrected for the bias [SEP(C)], was greater than 3. Prediction equations were then used to determine the different nutritive attributes of all forage samples, except for fatty acid composition, which was chemically determined in all forage samples using a gas chromatograph equipped with a flame ionization detector according to the procedure described by Fauteux et al. (2016).

2.4.3 Data Analysis

For each species, nutritive attributes were analyzed as a randomized complete block design with stage of development used as a covariate, with the MIXED procedure of SAS (version 9.3; SAS Institute Inc., Cary, NC). The model used was

$$Y_{ijk} = \beta_0 + \beta_1 x_{ijk} + \tau_i + \rho:\tau_{i:j} + \alpha_k + \varepsilon_{ijk},$$

where Y_{ijk} = variable observed, β_0 = intercept, β_1 = regression coefficient, x_{ijk} = stage of development (covariate), τ_i = agroclimatic region i ($i = 1$ to 3), $\rho:\tau_{i:j}$ = block j ($j = 1$ to 3) within agroclimatic region i , α_k = random effect of year ($k = 1$ to 2), and ε_{ijkl} = residual error. Regression slopes were compared at a given forage stage of development using *a priori* contrasts to compare data obtained at Normandin with those from the two other regions of lower latitudes (St-Augustin and Ste-Anne). The model was used to estimate the forage DM yield at the recommended stage of development for harvest (MSW = 4.0 for alfalfa, and 3.1 for timothy) at the northernmost agroclimatic region (Normandin). Attributes of forage nutritive value were then compared at this specific DM yield using inverse regression (Draper and Smith, 1998) at each of the three agroclimatic regions.

2.5 Results and Discussion

As expected, air temperature differences were observed among the three sites (Table 2.2). Across the two years of measurements and sample collection, air temperature at Normandin averaged 10.4°C in May and 14.3°C in June. Temperatures were warmer by 3.0 and 4.8°C in May, and 2.2 and 3.5°C in June at St-Augustin and Ste-Anne than at Normandin, respectively. This variation in air temperature among the three sites in 2015 and 2016 along a north-south gradient was representative of the 30-year average temperatures. The variation in rainfall between Normandin (83 mm), St-Augustin (110 mm), and Ste-Anne (69 mm) reflected the 30-yr average at those three sites (Table 2.2). The daily rate of GDD accumulation throughout the collection periods increased from North to South with average values across the two years of 9.9, 11.3, and 12.0 GDD per day at Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne, respectively.

2.5.1 Nutritive Value and Stages of Development

Most nutritive attributes of alfalfa and timothy, expressed as a function of the stages of development, evolved differently during the regrowth at the three locations (Figures 2.1 and 2.2). When compared at the early-flowering stage of development (MSW = 4), alfalfa grown at Normandin had lower concentrations of aNDF (-11%, tendency) and ADF (-12%) as compared with St-Augustin (Figure 2.1; Table 2.4). Similarly, at the early-heading stage of development (MSW = 3.1), the aNDF concentration of timothy was 6% lower at Normandin than at St-Augustin or Ste-Anne (Figure 2.2; Table 2.4). In accordance with the observations from the current study, Buxton and Fales (1994) have reported that temperature can modify plant morphology, which affects its nutritive value.

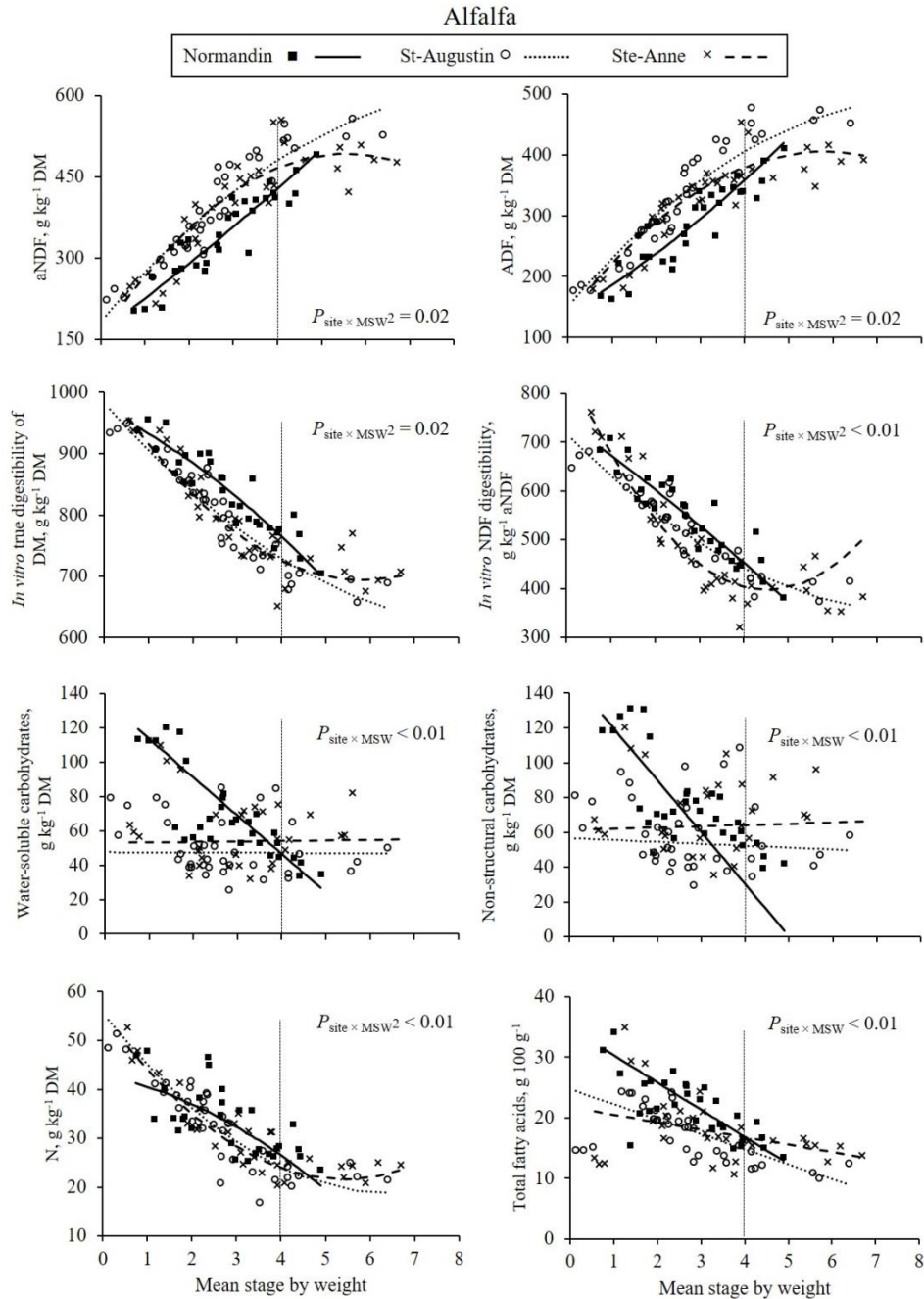


Figure 2. 1 Observed values (symbols) and regression lines for alfalfa neutral detergent fiber assayed with a heat-stable amylase (aNDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* true digestibility of dry matter (DM), *in vitro* NDF digestibility, water-soluble carbohydrates, non-structural carbohydrates, N, and total fatty acids as a function of mean stage of development by weight (MSW, Mueller and Teuber, 2007) in forages grown at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended the stage of development at harvest (stage 4: early-flowering).

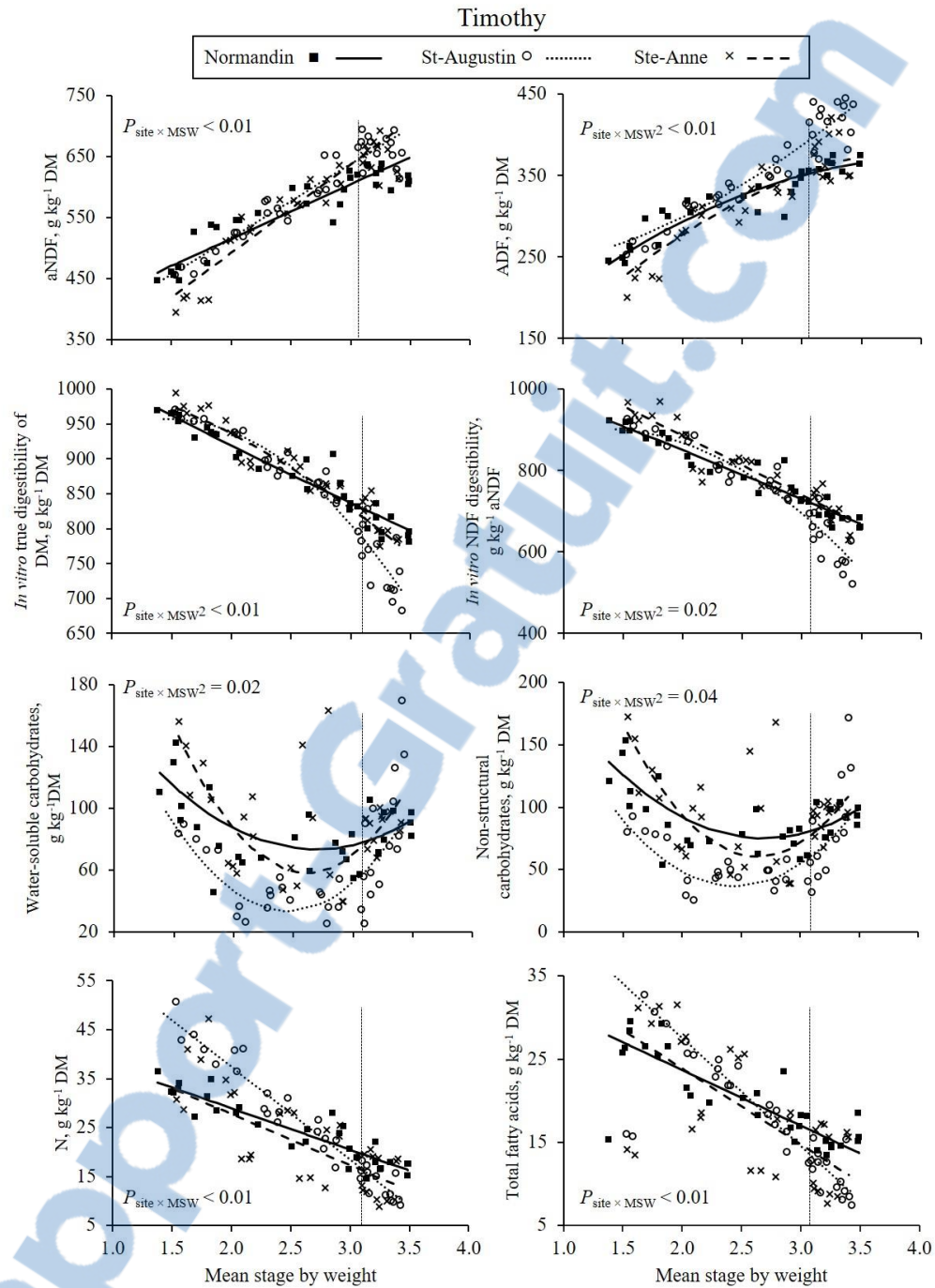


Figure 2.2 Observed values (symbols) and regression lines for timothy neutral detergent fiber assayed with a heat-stable amylase (aNDF), acid detergent fiber (ADF), *in vitro* true digestibility of dry matter (DM), *in vitro* NDF digestibility, water-soluble carbohydrates, non-structural carbohydrates, total nitrogen (N), and total fatty acids as a function of mean stage of development by weight (MSW, Moore et al., 1991) in forages grown at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended stage of development at harvest (stage 3.1: early-heading).

Table 2.4 Regression-predicted dry matter (DM) yield and nutritive attributes of alfalfa and timothy at the recommended stage of development[‡] for harvest at three locations (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne)

Location	Yield Mg DM ha ⁻¹	Nutritive attributes [§]								GDD [¶] °C d
		aNDF	ADF	IVTD	NDFd	WSC	NSC	Total N	FA	
		g kg ⁻¹ DM			g kg ⁻¹ aNDF	g kg ⁻¹ DM				
<u>Alfalfa</u>										
Normandin	3.86	428	358	765	453	46.6	54.1	26.5	16.9	431
St-Augustin	6.38*	480 [†]	405*	729 [†]	442	47.2	52.3	24.0	14.8	525*
Ste-Anne	6.15*	466	379	726 [†]	404 [†]	54.2	64.2	23.9	16.8	481*
SE [#]	0.557	15.3	12.1	12.0	16.1	7.53	9.17	2.92	1.08	11.2
<u>Timothy</u>										
Normandin	4.02	613	354	829	718	78.3	81.0	19.6	16.3	382
St-Augustin	6.14 [†]	650*	397	786*	671*	59.1	61.3	16.5	13.2	454*
Ste-Anne	5.00	652*	357	817	726	76.6	77.9	16.3	13.8	526*
SE	0.572	7.1	14.2	6.9	9.5	10.47	10.90	2.99	2.80	17.2

*Denotes a significant difference with Normandin ($P \leq 0.05$).

[†]Denotes a tendency for a difference with Normandin ($0.05 < P < 0.10$).

[‡]The recommended stage of development at harvest was established to be early-flowering for alfalfa (stage 4; Mueller and Teuber, 2007) and early-heading for timothy (stage 3.1; Moore et al., 1991).

[§]aNDF, neutral detergent fiber assayed with a heat-stable amylase; ADF, acid detergent fiber; IVTD, *in vitro* true digestibility of dry matter; NDFd, *in vitro* NDF digestibility; WSC, water-soluble carbohydrates; NSC, non-structural carbohydrates; FA, total fatty acids.

[¶]Growing degree-days above 5°C.

[#]SE, standard error.

Differences observed in fiber concentration when forages were grown at the highest latitude could reflect a change in leaf-to-stem ratio. Stems of both alfalfa and timothy have higher concentrations of fibers than leaves (Bélanger and McQueen, 1997; Buxton, 1996). Although not evaluated in the current study, previous research demonstrated that the leaf-to-stem ratio was negatively correlated with growth temperature and that this relationship was more prominent at earlier stages of development (da Silva et al., 1987).

This latitude effect on fiber concentration was reflected in greater IVTD and NDFd for alfalfa and timothy grown at Normandin compared with the southern locations. More specifically, at the recommended stage of development for harvest, IVTD of alfalfa tended to be greater (+5%) at Normandin than St-Augustin and Ste-Anne. A similar increase was observed in IVTD of timothy grown at Normandin compared with St-Augustin. Dry matter digestibility of a forage sample is not only influenced by its fiber concentration but by the composition of this fiber as well. Buxton and Fales (1994) have reported that forages grown under lower temperatures had a decreased lignification. A higher degree of lignification could therefore explain the 12% decrease in NDFd of alfalfa harvested at early-flowering at Ste-Anne, and the 7% decrease in timothy harvested at early-heading at St-Augustin, when compared with Normandin.

Contrary to fiber concentrations, IVTD as well as NDFd, and as opposed to previous studies, when alfalfa and timothy were harvested at the recommended stage of development, no difference was observed among locations for any other nutritive attributes. Deinum et al. (1968) and Chatterton et al. (1989) have observed that cool-season grasses had higher NSC concentration when grown at temperature below the optimum for growth. In another study, Thorsteinson et al. (2002) found that a pronounced accumulation of NSC was observed when timothy was grown at 10 °C compared with 20 °C due to the lowest temperature sensitivity of photosynthesis as opposed to growth. However, in an experiment where timothy was grown under controlled conditions, where day/night temperature regimes varied from 17°C/5°C to 28°C/15°C, Bertrand et al. (2008) did not observe greater forage NSC concentration at lower temperature. In contrast, NSC

concentrations were greater with the regime with higher temperatures. The authors argued that the accumulation of NSC in timothy grown at the highest temperature could be related to a stress response. Also, Bertrand et al. (2008) hypothesized that the lowest day/night temperature regime (17°C/5°C) used in their controlled experiment was not low enough to induce the accumulation of NSC that was observed in previous studies. In agreement with this, when looking at the evolution of both WSC and NSC concentrations in alfalfa as a function of stage of development, the only significant decrease was observed at Normandin. Indeed, concentrations of carbohydrates were elevated in alfalfa harvested at Normandin at the earliest stages of development and decreased rapidly to concentrations similar to those observed at the other southern locations when forages reached their recommended stage of development for harvest. However, this difference was not observed with timothy, where WSC and NSC concentrations followed a quadratic response to stage of development at the three locations. As expected, and according to previous studies, N concentration decreased with stage of development in both forage species, most probably related to dilution of N in the increasing amount of DM yield. Thorvaldsson and Kunelius (2005) reported that increased growth temperature was associated with increased N concentration in shoots of grass species at early stage of development, this difference being less prominent as stage of development increased. These findings appear to be confirmed by the current experiment where N concentration tended to be greater for timothy grown at St-Augustin at the beginning of the collection period. However, when harvested at the recommended stage of development, concentrations were similar among locations for both species. For both species, total fatty acid concentration decreased linearly with stage of development. Despite a different rate of decrease, at the recommended stage of development for harvest, total fatty acid concentrations of alfalfa and timothy grown at Normandin were similar to those at St-Augustin or Ste-Anne.

2.5.2 Nutritive Value and Dry Matter Yield

A clear interaction was observed between location and stage of development for the DM yield of both species; the slope of increase being lower for forages grown at Normandin compared with southern locations (Figure 2.3). Consequently, at the recommended stage of development for harvest, DM yield of alfalfa was 39 and 37% less at Normandin than St-Augustin and Ste-Anne, respectively (Table 2.4). This decrease was also observed for timothy as DM yield was 35% lower (tendency) at Normandin than St-Augustin. For both species, forage DM yield was negatively correlated with IVTD (data not shown). The negative relationship between forage yield and quality is widely recognized (Kalu and Fick, 1983). In the light of these observations, nutritive attributes were compared at the three contrasted climatic regions, for a similar DM yield of 4 Mg ha⁻¹, which corresponds to DM yield measured at Normandin for alfalfa as well as timothy at the recommended stage of development for harvest. No effect of location was observed on forage concentrations of WSC, NSC, or total FA. In contrast, aNDF and ADF concentrations were 16 and 19% greater, respectively, in alfalfa grown at Normandin than Ste-Anne.

Accordingly, when compared at a similar DM yield of 4 Mg ha⁻¹, IVTD was lower in alfalfa grown at Normandin than St-Augustin (-5%; tendency; Table 2.5) and Ste-Anne (-7%). Timothy grown at the three locations, when reaching a yield of 4 Mg ha⁻¹, had comparable fiber concentrations, except for aNDF which was 33% greater at Normandin than St-Augustin. Timothy IVTD was also lower at Normandin than St-Augustin (-6%) or Ste-Anne (-4%; tendency). The most significant effect of location was observed on NDFd of both species. Indeed, for a similar DM yield of 4 Mg ha⁻¹, a decrease of 13 to 14% in NDFd was observed when alfalfa was grown at Normandin as compared with southern locations, whereas this decrease in NDFd was estimated to be 8 to 10% for timothy.

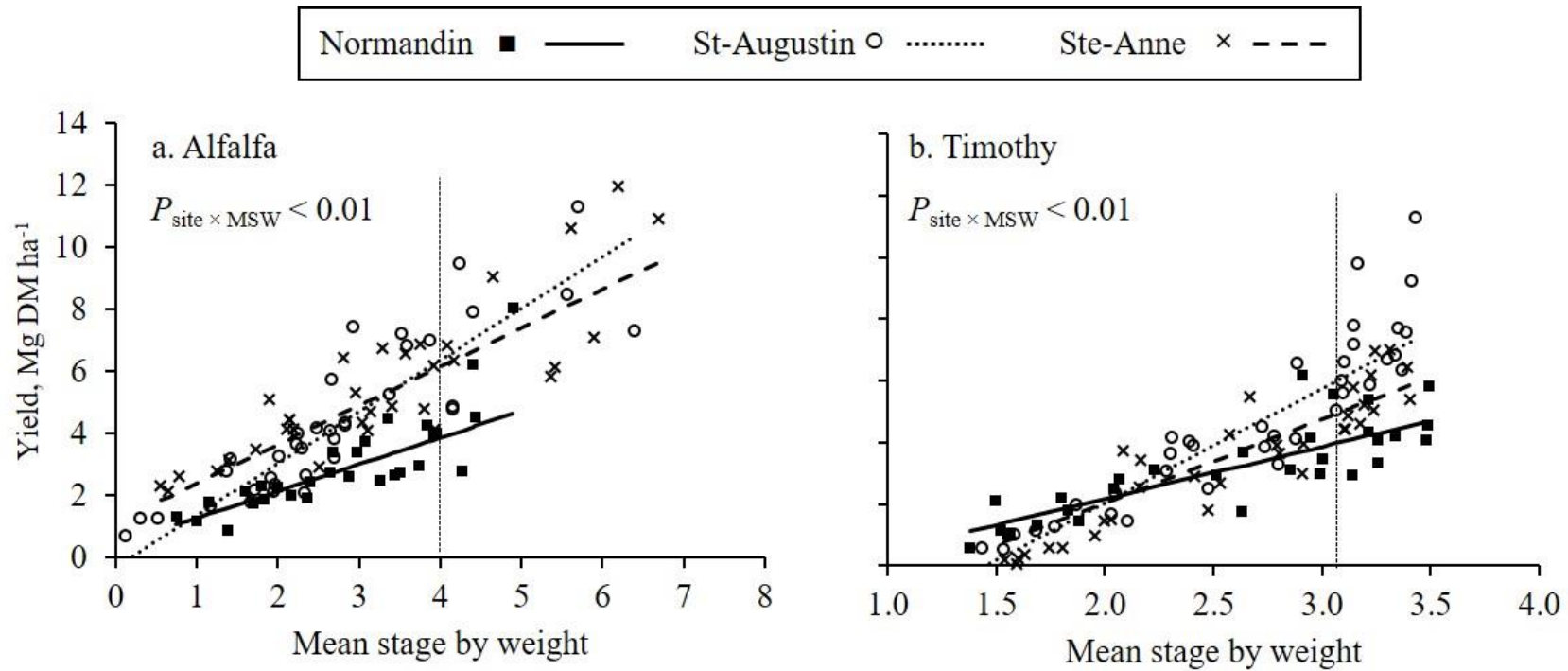


Figure 2.3 Observed values (symbols) and regression lines for dry matter (DM) yield of (a) alfalfa and (b) timothy as a function of mean stage of development by weight (MSW, Mueller and Teuber, 2007; Moore et al., 1991) of forages cultivated at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended stage of development at harvest (stage 4: early-flowering for alfalfa; stage 3.1: early-heading for timothy).

When alfalfa and timothy reached the recommended stage of development for harvest, the accumulated GDD were greater at St-Augustin and Ste-Anne than Normandin (Table 2.4). Plant life cycle and its phenology are linked to environmental drivers, and most specifically the accumulated temperature, measured as GDD (Larcher, 2003). For this reason, GDD have been widely used to estimate the timing of specific crop development stages and, consequently, to formulate recommendations on cutting management, forecast forage nutritive value, and evaluate forage production potential (Wood et al., 2018). However, in the current study, the relationships between stage of development and GDD were specific to each location for both forage species (Figure 2.4). These findings are in accordance with Bootsma (1984) who reported a lower GDD requirement for reaching specified developmental stages in Newfoundland as compared with other North American Atlantic regions of lower latitude.

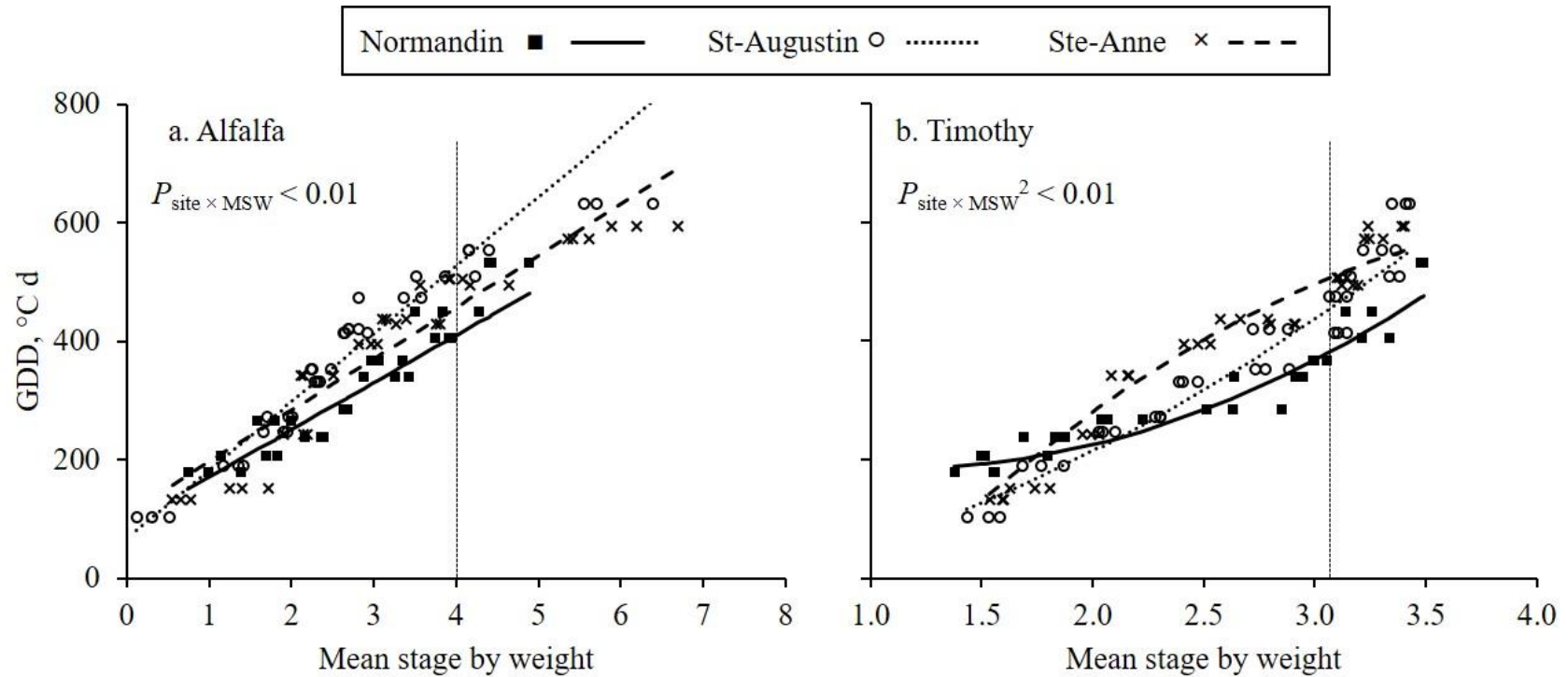


Figure 2.4 Observed values (symbols) and regression lines for the accumulation of degree-days above 5°C (GGD) as a function of mean stage of development by weight (MSW) of (a) alfalfa (Mueller and Teuber, 2007), and (b) timothy (Moore et al., 1991) cultivated at three sites (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne). The vertical dotted lines represent the recommended the stage of development at harvest (stage 4: early-flowering for alfalfa; stage 3.1: early-heading for timothy).

We hypothesized that forages grown in a region with lower temperatures would have a better nutritive value. To address this question, we compared the values of several nutritive attributes at similar developmental stages or DM yield using sequential sampling during the primary growth and regression analyses for three climatically contrasted sites, mostly for air temperature. Our results show clearly that, for a given stage of development, the ADF and aNDF concentrations of alfalfa and timothy were less and the IVTD and NDFd were greater at the northernmost site than at two sites at lower latitudes with air temperatures in May and June between 2.2 and 4.8°C greater. When producers harvest alfalfa and timothy at the recommended stage of development, forages in northern areas would have lower ADF and aNDF concentrations, and greater IVTD and NDFd than those from more southern areas. However, forages would not differ in sugar, N or fatty acid concentrations.

The greater nutritive value at the northernmost site in terms of fiber concentration and digestibility, however, was associated with a lower forage DM yield. When comparing those nutritive attributes at the three sites for a given DM yield, the nutritive value was similar or less at the northernmost site than at the other two sites. Differences in forage DM yield therefore explain to a large extent the differences in fiber concentration and digestibility observed at a given developmental stage. The positive relationship between ADF and aNDF concentrations and DM yield, and the negative relationship between DM yield and IVTD and NDFd are well established.

Table 2.5 Regression-predicted nutritive attributes[‡], mean stage of development by weight (MSW), and accumulated growing degree-days above 5°C (GGD) for a given yield of 4 Mg DM ha^{-1§} at the three experimental locations (Normandin, St-Augustin, and Ste-Anne).

Location	aNDF	ADF	IVTD	NDFd	WSC	NSC	Total N	FA	MSW	GGD	
	g kg ⁻¹ DM			g kg ⁻¹ aNDF		g kg ⁻¹ DM				°C d	
	<u>Alfalfa</u>										
Normandin	428	358	765	453	46.6	54.1	26.5	16.9	4.0	409	
St-Augustin	388	329	807 [†]	524 [*]	47.3	53.9	32.6	18.5	2.5 [*]	354	
Ste-Anne	368 [*]	300 [*]	821 [*]	523 [*]	53.6	62.9	33.7	19.1	2.2 [*]	298 [†]	
SE [¶]	15.3	12.1	12.0	16.1	7.44	8.78	2.92	1.08	0.62	26.6	
	<u>Timothy</u>										
Normandin	613	354	829	718	78.3	81.0	19.6	16.3	3.1	387	
St-Augustin	581 [*]	341	885 [*]	795 [*]	33.7 [*]	37.0 [†]	27.4	20.7	2.5	324 [*]	
Ste-Anne	599 [†]	336	861 [†]	778 [*]	59.4	61.2	20.1	17.1	2.7	451 [*]	
SE	6.1	14.2	7.4	9.9	10.97	11.25	3.01	2.80	0.34	16.4	

^{*}Denotes a significant difference with Normandin ($P \leq 0.05$).

[†]Denotes a tendency for a difference with Normandin ($0.05 < P < 0.10$).

[‡]aNDF, neutral detergent fiber assayed with a heat-stable amylase; ADF, acid detergent fiber; IVTD, *in vitro* true digestibility of dry matter; NDFd, *in vitro* NDF digestibility; WSC, water-soluble carbohydrates; NSC, non-structural carbohydrates; FA, total fatty acids.

[§]4 Mg ha⁻¹ corresponds to the yield measured at Normandin when the stage of development at harvest reached early-flowering for alfalfa (stage 4; Mueller and Teuber, 2007) and early-heading for timothy (stage 3.1; Moore et al., 1991).

[¶]SE, standard error.

For a given DM yield at the three sites, alfalfa and timothy at the northernmost site were at an earlier stage of development (Table 2.5), at which we could expect a greater leaf-to-stem ratio. The leaf-to-stem ratio was not measured in our study. Because lignification usually increases with air temperature and is linked to decreased fiber digestibility, it may be that this effect of temperature on potential reduced lignification at the northernmost site compensated to some extent the effect of a reduced leaf-to-stem ratio. Lignin concentration, however, was not measured and it is not possible to determine the relative contribution of the leaf-to-stem ratio and lignin concentration in the differences in fiber concentration and digestibility at a given level of DM yield. Future studies on this issue should include measurement of the leaf-to-stem ratio and lignin concentration.

2.6 Summary and Conclusions

In conclusion, at the recommended stage of development for harvest, alfalfa and timothy forages grown at the northernmost location (Normandin) had a superior nutritive value but a lower DM yield compared with forages grown at southern locations (St-Augustin and Ste-Anne). However, when compared at a similar forage DM yield, alfalfa and timothy grown at the northernmost site were of similar or even lower nutritive value. These data suggest that differences observed in forage nutritive value among locations were at least partly explained by the well-established negative relationship between nutritive value and DM yield. Moreover, data from the current study indicated that GDD requirements for reaching a specific stage of development were different among locations. Consequently, region-specific relationships between GDD and stage of development should be established.

2.7 References

- AOAC. 1990. Method 973.18: Determination of acid detergent fiber by refluxing. Official method of analysis, 15th ed. AOAC International, Gaithersburg, MC.
- Bertrand, A., G.F. Tremblay, S. Pelletier, Y. Castonguay, and G. Bélanger. 2008. Yield and nutritive value of timothy as affected by temperature, photoperiod and time of harvest. *Grass For. Sci.* 63:421–432.
- Bélanger, G., and R.E. McQueen. 1997. Leaf and stem nutritive value of timothy cultivars differing in maturity. *Can. J. Plant Sci.* 77:237–249.
- Blakeney, A.B., and L.L. Mutton. 1980. A simple colorimetric method for the determination of sugars in fruit and vegetables. *J. Sci. Food Agric.* 31:889–897.
- Bootsma, A. 1984. Forage crop maturity zonation in the Atlantic region using growing degree-days. *Can. J. Plant Sci.* 64:329–338.
- Buxton, D.R. 1996. Quality-related characteristics of forages as influenced by plant environment and agronomic factors. *Anim. Feed Sci. Technol.* 59:37–49.
- Buxton, D.R., and P. O’Kiely. 2003. Preharvest plant factors affecting ensiling. p. 199–250. In D.R. Buxton et al. (ed.) *Silage science and technology*. Agron. Monogr. 42. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI.
- Buxton, D.R., and S.L. Fales. 1994. Plant environment and quality In: G.C. Fahey, Jr., editor, *Forage quality, evaluation, and utilization*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI. p. 155–199.
- Chatterton, N.J., P.A. Harrison, J.H. Bennett, and K.H. Asay. 1989. Carbohydrate partitioning in 185 accessions of *Graminae* grown under warm and cool temperatures. *J. Plant Physiol.* 134:169–174.
- da Silva, J.H.S., W.L. Johnson, J.C. Burns, and C.E. Anderson. 1987. Growth and environment effects on anatomy and quality of temperate and subtropical forage grasses. *Crop Sci.* 27:1266–1273.
- Deinum, B., A.J. Van Es, and P.J. Van Soest. 1968. Climate, nitrogen and grass. II. The influence of light intensity, temperature and nitrogen on in vivo digestibility of grass and the prediction of these effects from chemical procedures. *Neth. J. Agric. Sci.* 16:217–223.
- Draper, N.R., and H. Smith. 1998. *Applied regression analysis*. 3rd ed. John Wiley & Sons, New York.

- Fauteux, M.C., R. Gervais, D.E. Rico, Y. Lebeuf, and P.Y. Chouinard. 2016. Production, composition, and oxidative stability of milk highly enriched in polyunsaturated fatty acids from dairy cows fed alfalfa protein concentrate or supplemental vitamin E. *J. Dairy Sci.* 99:4411-4426.
- Goering, H.K., and P.J. Van Soest. 1970. Forage fiber analysis: Apparatus reagents, procedures, and some applications. Agriculture handbook 379. US Gov. Print. Office, Washington, DC
- Harfoot, C. G., & Hazlewood, G. P. (1997). Lipid metabolism in the rumen. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 382-426). Springer, Dordrecht.
- Hendershot, W.H., H. Lalonde, and M. Duquette. 1993. Soil reaction and exchangeable acidity. In: Carter, M.R., Soil sampling and methods of analysis for Canadian society of soil science. Lewis Publ., Boca Raton, FL. p. 141–145.
- Isaac, R.A., and W.C. Johnson. 1976. Determination of total nitrogen in plant tissue, using a block digester. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 59:98–100.
- Kalu, B.A., and G.W. Fick. 1983. Morphological stage of development as a predictor of alfalfa herbage quality. *Crop Sci.* 23:1167–1172.
- Kmicikewyca, A. D., K. J. Harvatine and A.J. Heinrichs. 2015. Effects of corn silage particle size, supplemental hay and forage-to-concentrate ratio on rumen pH, feed preference, and milk fat profile of dairy cattle. *Journal of Dairy Science.* 98: 4850-4868.
- Lachat Instruments. 2013. Methods list for automated ion analyzers (flow injection analyses - ion chromatography). <http://www.lachatinstruments.com/download/LL022-Rev-7.pdf> (accessed 16 Apr. 2018).
- Larcher, W. 2003. *Physiological plant ecology: ecophysiology and stress physiology of functional groups.* Springer Science+Business Media, New York, NY.
- Mehlich, A. 1984. Mehlich 3 soil test extractant: A modification of Mehlich 2 extractant. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 15:1409–1416.
- Mertens, D.R. 2002. Gravimetric determination of amylase-treated neutral detergent fiber in feeds with refluxing in beakers or crucibles: Collaborative study. *J. AOAC Int.* 85:1217–1240.
- Moore, K.J., L.E. Moser, K.P. Vogel, S.S. Waller, B.E. Johnson, and J.F. Pedersen. 1991. Describing and quantifying growth stages of perennial forage grasses. *Agronomy J.* 83:1073–1077.

- Mueller, S.C, and L.R. Teuber. 2007. Alfalfa growth and development. In: Summers, C.G, and D.H. Putnam, Irrigated alfalfa management for Mediterranean and Desert zones. University of California Agriculture and Natural Resources. Publication 8289: 1-9.
- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th rev. ed. Natl. Academy Press, Washington, DC.
- Smith, D. 1981. Removing and analyzing total nonstructural carbohydrates from plant tissue. Wisc. Agric. Exp. Stn. Res. Rep. R2107.
- Thorvaldsson, G., and H.T. Kunelius. 2005. Growth temperature effects on nitrogen concentration in shoots and roots of seven temperate grass species. *Icel. Agric. Sci.* 18:3–9.
- Thorvaldsson, G., G.F. Tremblay, and H.T. Kunelius. 2007. The effects of growth temperature on digestibility and fibre concentration of seven temperate grass species. *Acta Agr. Scand. B.- SP Sci.* 57:322–328.
- Wood, S., P. Seguin, G. F. Tremblay, G. Bélanger, J. Lajeunesse, H. Martel, R. Berthiaume, and A. Claessens. 2018. Validation of predictive equations of pre-harvest forage nutritive value for alfalfa–grass mixtures. *Agron. J.* 110:950–960.

Conclusion générale

Les plantes fourragères occupent un grand pourcentage des superficies cultivées au Québec et elles jouent un rôle de premier plan dans l'alimentation des vaches laitières. La valeur nutritive des fourrages a un impact direct sur les performances de ces ruminants. Les conditions climatiques sont un des nombreux facteurs pouvant influencer leur qualité nutritive. Les études effectuées en conditions contrôlées ont montré que la valeur nutritive des fourrages diminue avec l'augmentation de la température. Cette dernière contribue entre autres à augmenter la vitesse de croissance des fourrages et à diminuer le ratio F:T. De plus des températures basses sont aussi associées à une teneur plus élevée de GNS dans la plante.

Selon l'étude présentée dans ce mémoire, la fléole des prés et la luzerne dont la croissance a eu lieu dans un climat nordique ont eu une meilleure valeur nutritive et un rendement inférieur pour un même stade de croissance comparativement à celles dont la croissance a eu lieu plus au sud du Québec. Cependant, lorsque la valeur nutritive était comparée entre les sites pour un même rendement (i.e. 4 Mg ha^{-1}), les espèces fourragères cultivées en région nordique présentaient des valeurs inférieures. Ces résultats sont explicables par la relation bien connue entre le rendement et la valeur nutritive. En revanche, les données de cette étude ont permis de découvrir que les degrés-jours requis pour l'atteinte d'un même stade de croissance varient selon les régions. Il serait donc nécessaire d'établir une relation entre les degrés-jours et les stades de développement de manière spécifique à chaque région. Les degrés-jours étant un outil fréquemment utilisé pour la récolte de fourrages, cela permettrait d'optimiser la valeur nutritive de ces derniers.

Bibliographie

- Aguerre, M. J., Wattiaux, M. A., Powell, J. M., Broderick, G. A., Arndt, C., 2011. Effect of forage-to-concentrate ratio in dairy cow diets on emission of methane, carbon dioxide, and ammonia, lactation performance, and manure excretion. *Journal of Dairy Science* 94: 3081-93.
- Allard, V., Newton, P. C. D., Lieffering, M., Clark, H., Matthew, C., Soussana, J. F., Gray, Y. S., 2003. Nitrogen cycling in grazed pastures at elevated CO₂: returns by ruminants. *Global Change Biology* 9: 1731-42.
- Allen, M. S., 1996. Relationship between forage quality and dairy cattle production. *Animal Feed Science and Technology* 59: 51-60.
- AOAC, 1990. Method 973.18: Determination of acid detergent fiber by refluxing. Dans: *Official Method of Analysis*, 15^{ème} édition. Association of Official Analytical Chemists Washington DC, États-Unis.
- Bauchart, D., Doreau, M., Legay-Carmier, F., 1985. Utilisation digestive des lipides et les conséquences de leur introduction sur la digestion du ruminant. *Bulletin Technique - Centre de Recherche en Zootechnie Vétérinaire de Theix, INRA*. 61: 65-77.
- Beever, D. E., Offer, N., Gill, M., 2000. The feeding value of grass products. Dans: *Grass - its production and utilization*, 3^{ème} édition. Hopkins, A. (Ed), Blackwell Science, Oxford, Royaume-Uni. Pages 140-95.
- Bélanger, G., Castonguay, Y., Bertrand, A., Dhont, C., Rochette, P., Couture, L., Drapeau, R., Mongrain, D., Chalifour, F. P., Michaud, R., 2006. Winter damage to perennial crops in eastern Canada: causes, mitigation and prediction. *Canadian Journal of Plant Science* 795: 33-47.
- Bélanger, G., Michaud, R., Jefferson, P. G., Tremblay, G. F., Brégard, A., 2001. The nutritive value of timothy and its improvement through management and breeding. *Canadian Journal of Plant Science* 81: 577-85.
- Bélanger, G., Tremblay, G. F., 2010. Fodder quality of legume-based pasture. Dans: *The potential of forage legumes to sustain a high agricultural productivity - A Nordic perspective*. Nordic Association of Agricultural Scientists. Hvanneyri, Islande. Pages 97-112.
- Berg, C. C., McElroy, A. R., Kunelius, H. T., 1996. Timothy. Dans: *Cool-season forage grasses*. L. E. Moser, D. R. B., and M. D. Casler (Ed), ASA, CSSA, SSSA, Madison, États-Unis. Pages 643-64.
- Berthiaume, R., Tremblay, G. F., 2011. Du fourrage sucré pour mieux performer. Dans : *Colloque sur les plantes fourragères*. Centre de référence en agriculture et agroalimentaire du Québec (CRAAQ). Québec, Canada. Pages 1-10.

- Bertrand, A., Prévost, D., Bigras, F. J., Lalande, R., Tremblay, G. F., Castonguay, Y., Bélanger, G., 2007. Alfalfa response to elevated atmospheric CO₂ varies with the symbiotic rhizobial strain. *Plant and Soil* 301: 173-87.
- Blakeney, A. B., L. L. Mutton, 1980. A simple colorimetric method for the determination of sugars in fruit and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 31: 889-97.
- Boufaïed, H., Chouinard, P. Y., Tremblay, G. F., Petit, H. V., Michaud, R., Bélanger, G., 2003. Fatty acids in forages - Factors affecting concentrations. *Canadian Journal of Animal Science* 83: 501-11.
- Brito, A. F., Tremblay, G. F., Bertrand, A., Castonguay, Y., Belanger, G., Michaud, R., Lapierre, H., Benchaar, C., Petit, H. V., Ouellet, D. R., Berthiaume, R., 2008. Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage improves milk yield of late-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 91: 3968-82.
- Brito, A. F., Tremblay, G. F., Lapierre, H., Bertrand, A., Castonguay, Y., Bélanger, G., Michaud, R., Benchaar, C., Ouellet, D. R., Berthiaume, R., 2009. Alfalfa cut at sundown and harvested as baleage increases bacterial protein synthesis in late-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science* 92: 1092-107.
- Buxton, D. R., 1995. Growing quality of forage under variable environmental conditions. Dans: *Western Canadian Dairy Seminar*. University of Alberta, Edmonton, Canada.
- Buxton, D. R., 1996. Quality related characteristics of forages as influenced by plant environmental and agronomic factors. *Animal Feed Science and Technology* 59: 37-49.
- Buxton, D. R., Mertens, D. R., Moore, K. J., Boyd, L. J., Oldfield, J. E., 1995. Forage quality for ruminants: Plant and animal considerations. *The Professional Animal Scientist* 11: 121-131.
- Charbonneau, E., Bregard, A., Allard, G., Lefebvre, D., Pellerin, D., 2003. Revisiting the prediction of milk from forage according to NRC 2001. *Canadian Society of Animal Science*. Saskatoon, Saskatchewan, Canada.
- Charbonneau, E., Chouinard, P. Y., Allard, G., Lapierre, H., Pellerin, D., 2007. Milk from Forage as affected by rumen degradable protein and corn grinding when feeding corn and alfalfa silage-based diets. *Journal of Dairy Science* 90: 823-832.
- Charbonneau, E., Moreno Padro, J. M., Pellerin, D., Bélanger, G., Côté, H., Bélanger, V., Parent, D., Allard, G., Audet, R., Chaumont, D., 2013. Première évaluation de l'impact potentiel des changements climatiques sur la durabilité technico-économique et agroenvironnementale des fermes laitières au Québec. Ouranos inc. Montréal, Canada. 62 pages.

- Conseil Québécois des Plantes Fourragères (CQPF), 2012. Soutenir le Québec fourrager: apporter performance, rentabilité, qualité et durabilité à l'agriculture québécoise. Secteur québécois des plantes fourragères - Planification stratégique 2012-2017 (Ed). Québec, Canada.
- Dairy One. 2018. Interactive feed and composition library. Disponible en ligne: <http://dairyone.com/analytical-services/feed-and-forage/feed-composition-library/interactive-feed-composition-library/> (consultée le 5 août 2018).
- Delaby, L., Peyraud J.-L., 2009. Valoriser les fourrages de l'exploitation pour produire du lait. *Fourrages* 198: 191-210.
- DesJarlais, C., Allard, M., Bélanger, D., Blondlot, A., Bouffard, A., Bourque, A., Chaumont, D., Gosselin, P., Houle, D., Larrivée, C., Lease, N., Pham, A. T., Roy, R., Savard, J.-P., Turcotte, R., Villeneuve, C., 2010. *Savoir s'adapter aux changements climatiques*. Ouranos inc. Montréal, Canada. 138 pages
- DeVries, T. J., Beauchemin, K. A., Dohme, F., Schwartzkopf-Genswein, K. S., 2009. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: feeding, ruminating, and lying behavior. *Journal of Dairy Science* 92: 5067-78.
- Dewhurst, R. J., Shingfield, K. J., Lee, M. R. F., Scollan, N. D., 2006. Increasing the concentrations of beneficial polyunsaturated fatty acids in milk produced by dairy cows in high-forage systems. *Animal Feed Science and Technology* 131: 168-206.
- Dhiman, T. R., Satter, L. D., 1993. Protein as the first-limited nutrient or lactating dairy cows fed high proportions of good quality alfalfa silage. *Journal of Dairy Science* 76: 1960-71.
- Etheridge, R. D., Pesti, G. M., Foster, E. H., 1998. A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory. *Animal Feed Science and Technology* 73: 21-8.
- Farmer, E. R., Tucker, H. A., Dann, H. M., Cotanch, K. W., Mooney, C. S., Lock, A. L., Yagi, K., Grant, R. J., 2014. Effect of reducing dietary forage in lower starch diets on performance, ruminal characteristics, and nutrient digestibility in lactating Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 97: 5742-53.
- Fustini, M., Palmonari, A., Canestrari, G., Bonfante, E., Mammi, L., Pacchioli, M. T., Sniffen, G. C. J., Grant, R. J., Cotanch, K. W., Formigoni, A., 2017. Effect of undigested neutral detergent fiber content of alfalfa hay on lactating dairy cows: Feeding behavior, fiber digestibility, and lactation performance. *Journal of Dairy Science* 100: 4475-83.

- Garcia, P. T., Pordomingo, A., Perez, C. D., Rios, M. D., Sancho, A. M., Volpi Lagreca, G., Casal, J. J., 2016. Influence of cultivar and cutting date on the fatty acid composition of forage crops for grazing beef production in Argentina. *Grass and Forage Science* 71: 235-44.
- Gilliland, T. J., Barrett P. D., Mann R. L., Agnew R. E., Fearon A. M. 2002. Canopy morphology and nutritional quality trait as potential grazing value indicators for *Lolium Perenne* varieties. *Journal of Agricultural Science* 139: 257-73.
- Goering, H. K., Van Soest, P. J., 1970. Forage Fiber Analysis - Apparatus, reagents, procedures and some applications. Dans: *Agriculture Handbook 379*. United States Department of Agriculture, 20 pages.
- Harfoot, C. G., Hazlewood, G. P., 1988. Lipid metabolism in the rumen. Dans: *The rumen microbial ecosystem*. Hobson, P. N. et Stewart, C. S. (Ed), Springer, Haarlem, The Netherlands. Pages 285-322
- Harfoot, C. G., & Hazlewood, G. P., 1997. Lipid metabolism in the rumen. Dans: *The rumen microbial ecosystem*. Hobson, P. N. et Stewart, C. S. (Ed), Springer, Dordrecht, The Netherlands. Pages 382-426.
- Hymoller, L., Alstrup, L., Larsen, M. K., Lund, P., Weisbjerg, M. R., 2014. High-quality forage can replace concentrate when cows enter the deposition phase without negative consequences for milk production. *Journal of Dairy Science* 97: 4433-43.
- Institut National de la Recherche Agronomique (INRA), 2007. Besoins des animaux - Valeurs des aliments. Dans : *Alimentation des bovins, ovins et caprins*. Quae, Paris, France.
- Jami, E., Israel, A., Kotser, A., Mizrahi, I., 2013. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *The ISME Journal* 7: 1069-79.
- Jing, Q., Bélanger, G., Qian, B., Baron, V., 2014. Timothy yield and nutritive value with a three-harvest system under the projected future climate in Canada. *Canadian Journal of Plant Science* 94: 213-22.
- Lourenço, M., Van Ranst, G., Vlaeminck, B., De Smet, S., Fievez, V., 2008. Influence of different dietary forages on the fatty acid composition of rumen digesta as well as ruminant meat and milk. *Animal Feed Science and Technology* 145: 418-37.
- Mäkinen, H., Kaseva, J., Virkajärvi, P., Kahiluoto, H., 2015. Managing resilience of forage crops to climate change through response diversity. *Field Crops Research* 183: 23-30.
- McCormick, M. E., French, D. D., Brown, T. F., Cuomo, G. J., Chapa, A. M., Fernandez, J. M., Beatty, J. F., Blouin, D. C., 1999. Crude protein and rumen undegradable protein effects on reproduction and lactation performance of holstein cows. *Journal of Dairy Science* 82: 2697-708.

- Metzler-Zebeli, B. U., Khol-Parisini, A., Gruber, L., Zebeli, Q., 2015. Microbial populations and fermentation profiles in rumen liquid and solids of Holstein cows respond differently to dietary barley processing. *Journal of Applied Microbiology* 119: 1502-14.
- Mitchell, R. B., Redfearn, D. D., Moser, L. E., Grant, R. J., Moore, K. J., Kirch, B. H., 1997. Relationships between in situ protein degradability and grass developmental morphology. *Journal of Dairy Science* 80: 1143-49.
- Moorby, J. M., Evans, R. T., Scollan, N. D., MacRae, J. C., Theodorou, M. K., 2006. Increased concentration of water-soluble carbohydrate in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). Evaluation in dairy cows in early lactation. *Grass and Forage Science* 61: 52-9.
- Morin, C., Bélanger, G., Tremblay, G. F., Bertrand, A., Castonguay, Y., Drapeau, R., Michaud, R., Berthiaume, R., Allard, M., 2011. Diurnal Variation of Non Structural Carbohydrates and Nutritive Value in Alfalfa. *Crop Science* 51: 1297-306.
- National Research Council (NRC), 2001. Nutrient requirement for dairy cattle (7^{ème} édition). National Academy Press, Washington DC, États-Unis. 408 pages.
- Ouellette, A. M., Tremblay, G. F., Chouinard, P. Y., 2003. Les acides gras dans les plantes fourragères. Disponible en ligne : <https://www.agrireseau.net/grandescultures/documents/Acides%20gras%20des%20fourrages.pdf> (consulté le 10 août 2018)
- Persson, T., Höglind, M., Gustavsson, A. M., Halling, M., Jauhiainen, L., Niemeläinen, O., Thorvaldsson, G., Virkajärvi, P., 2014. Evaluation of the LINGRA timothy model under nordic conditions. *Field Crops Research* 161: 87-97.
- Porter, J. R., Semenov, M. A., 2005. Crop responses to climatic variation. *Philosophical Transaction of the Royal Society B* 360: 2021-35.
- Pritam, S., Sukhija, D., Palmquist, L., 1988. Rapid method for determination of total fatty acid content and composition of feedstuffs and feces. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 36: 1202-06.
- Russell, J. B., O'Connor, J. D., Fox, D. G., Van Soest, P. J., Sniffen, C. J., 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets - Ruminant fermentation. *Journal of Animal Science* 70: 3551-61.
- Sanz-Saez, A., Erice, G., Aguirreolea, J., Munoz, F., Sanchez-Diaz, M., Irigoyen, J. J., 2012. Alfalfa forage digestibility, quality and yield under future climate change scenarios vary with *Sinorhizobium meliloti* strain. *Journal of Plant Physiology* 169: 782-8.

- Seligman, N. G., Sinclair, T. R., 1995. Climate change, interannual weather differences and conflicting responses among crop characteristics: the case of forage quality. *Global Change Biology* 1: 157-60.
- Simonne, E. H., McCrimmon, J. N., Scoggins-Mantero, H. L., Mills, H. A., Cresman, C. P., 1995. Adjustments of sufficiency ranges of selected ornamentals and turfgrasses for assessing nitrogen status with Dumas-N data. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 26: 2243-51.
- Smith, D., 1971. Efficiency of water for extraction of total nonstructural carbohydrates from plant tissue. *Science of Food and Agriculture* 22: 445-7.
- Sok, M., Ouellet, D. R., Firkins, J. L., Pellerin, D., Lapierre, H. 2017. Amino acid composition of the rumen bacteria and protozoa in cattle. *Journal of Dairy Science*. 100: 5241-9.
- Statistique Canada, 2017. Forage seed and usage by type of seed. Disponible en ligne : <https://www150.statcan.gc.ca/t1/tbl1/en/tv.action?pid=3210004301> (consulté le 22 août 2018).
- Sterk, A., Johansson, B. E., Taweel, H. Z., Murphy, M., van Vuuren, A. M., Hendriks, W. H., Dijkstra, J., 2011. Effects of forage type, forage to concentrate ratio, and crushed linseed supplementation on milk fatty acid profile in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 94: 6078-91.
- Stern, M. D., Hoover, H., 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: a review. *Journal of Animal Science* 49: 1590-603.
- Stewart, C. S., Flint, H. J., Bryant, M. P., 1997. The rumen bacteria. Dans: *The rumen microbial ecosystem*. Hobson, P. N. et Stewart, C. S. (Ed), Springer, Dordrecht, The Netherlands. Pages 10-72.
- Thorvaldsson, G., 1988. The morphological and phenological development of timothy as affected by weather, and its relation to nutritional value. *Acta Agriculturae Scandinavica* 38: 33-48.
- Thorvaldsson, G., 1992. The effects of temperature on digestibility of timothy (*Phleum Pratense* L.), tested in growth chambers. *Grass and Forage Science* 47: 306-8.
- Thorvaldsson, G., Martin, R. C., 2004. Growth response of seven perennial grass species to three temperature regimes applied at two growth stages. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Soil & Plant Science* 54: 14-22.
- Thorvaldsson, G., Tremblay, G. F., Tapani Kunelius, H., 2007. The effects of growth temperature on digestibility and fibre concentration of seven temperate grass species. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B - Plant Soil Science* 57: 322-8.

- Tremblay, G. F., Bélanger, G., McRae, K. B., Michaud, R., 2002. Leaf and stem dry matter digestibility and ruminal undegradable proteins of alfalfa cultivars. *Canadian Journal of Plant Science* 82: 383-93.
- Van Soest, P. J., 1967. Development of a comprehensive system of feed analyses and its application to forages. *Journal of Animal Science* 26: 119-28.
- Van Soest, P. J., 1994. *Nutritional ecology of the ruminant*. Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, Ithaca, United States. 476 pages.
- Van Soest, P. J., Robertson, J. B., Lewis, B. A., 1991. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism and nutritional implication in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-97.
- Wattiaux, M. A., Karg, K. L., 2004. Protein level for alfalfa and corn silage-based diets - Nitrogen balance and manure characteristics. *Journal of Dairy Science* 87: 3492-502.
- Weimer, P. J., Waghorn, C. L., Mertens, D. R., 1999. Effect of diet on population of three species of ruminal cellulolytic bacteria in lactating dairy cow. *Journal of Dairy Science* 82: 122-34.
- Westwood, C. T., Lean, I. J., Kellaway, R. C., 1998. Indications and implications for testing of milk urea in dairy cattle: a quantitative review. Part 1. Dietary protein sources and metabolism. *New Zealand Veterinary Journal* 46: 87-96.
- Wheeler, T., Reynolds, C., 2012. Predicting the risks from climate change to forage and crop production for animal feed. *Animal Frontiers* 3: 36-41.