Fourrages (1993) 136, 537-546

Les recherches sur le trèfle blanc en Bulgarie. Particularités biologiques et morphologiques

T. Mihovsky

Le déficit de fourrages et de protéines de l'agriculture bulgare a imposé de trouver des ressources nouvelles et non traditionnelles dans le pays. De ce point de vue, le trèfle blanc est tout à fait intéressant. C'est pourquoi les instituts et les stations expérimentales ont dû étudier en détail sa biologie et ses exigences et élaborer une technique de culture, en tenant compte des conditions climatiques du pays. Les régions de dissémination naturelle du trèfle blanc sont surtout les montagnes (plus de 700 m d'altitude) et les contreforts (de 100 à 700 m d'altitude), où le déficit hydrique du sol en été et en automne est minimal. Sa dissémination dans les autres régions est limitée.

Rappelons que, du point de vue botanique, l'espèce est subdivisée en 3 types : le type nain, à petites feuilles (f. silvestre Alef.) ; le type hollandicum (Hort.), à feuilles moyennes ; le type Ladino, à grandes feuilles (f. giganteum Lagr.-Foss.).

En Bulgarie, on a créé une variété de trèfle blanc (type hollandicum), nommée "Targovishte-40", et on en a proposé une seconde, "Debut", de type Ladino, à la Commission du standard bulgare.

MOTS CLÉS
Bulgarie, composition morphologique, cultivar, fixation symbiotique de l'azote, trèfle blanc.

KEY-WORDS
Bulgaria, cultivar, morphological composition, symbiotic nitrogen fixation, white clover.

AUTEUR
Institut d'Agronomie de Haute Montagne, 5 600 Troyan, Bulgarie.

Le but de cet essai est de comparer les particularités phénologiques et morphologiques de 15 variétés de trèfle blanc en culture pure :

— 1. Aberystwyth S-184	Angleterre	type nain
— 2. Donna	Angleterre	type hollandicum
— 3. Grasslands Huia	Nouvelle-Zelande	type hollandicum
— 4. Lirepa	Allemagne	type hollandicum
— 5. Menna	Angleterre	type hollandicum
— 6. Milka	Yougoslavie	type hollandicum
— 7. Milka Pajbjerg K et V	Danemark	type hollandicum
— 8. Nesta	Angleterre	type hollandicum
— 9. Olwen	Angleterre	type hollandicum
— 10. Targovishte-40	Bulgarie	type hollandicum
— 11. Arcadia	Etats-Unis	type Ladino
— 12. California	Etats-Unis	type Ladino
— 13. Debut	Bulgarie	type Ladino
— 14. NFG-Gigant	Allemagne	type Ladino
— 15. Titan	Etats-Unis	type Ladino

Climat et sol de la région d'expérimentation

Les données climatiques de la région sont présentées tableau 1. Le terrain de l'essai est situé à 400 m d'altitude, sur un sol avec un pH en KCl de 4,85 (pour la couche 0-20 cm.)

Mois		janvier	février	mars	avril	mai	juin	juillet	août	sept.	oct.	nov.	déc.	Total annuel	Total mars-octobre
1986	- P	102,4	63,2	28,7	28,9	29,0	58,3	118,1	49,2	12,0	51,5	6,2	46,5	594,0	375,7
	- T	0,2	2,2	3,4	12,2	15,0	18,1	18,7	20,7	16,8	9,5	2,5	0,2	9,5	14,3
1987	- P	92,1	41,7	30,1	135,0	96,8	53,1	82,1	61,6	21,3	54,2	101,7	66,8	836,5	534,2
	- T	2,3	1,0	1,0	9,2	10,9	19,8	23,1	19,5	18,7	9,7	7,3	2,0	10,0	14,0
1988	- P	6,5	82,1	98,0	46,1	60,0	101,3	13,2	32,2	45,0	43,7	115,0	43,6	686,7	439,5
	- T	2,7	1,3	5,2	9,3	15,4	18,9	23,2	22,0	16,6	8,6	0,3	1,3	10,4	14,9
Moyenne (1987-1988)	- P	40,7	38,0	38,0	72,4	114,7	118,1	91,0	63,5	59,5	42,5	45,0	47,0	770,4	599,7
	- T	1,9	1,3	3,8	10,6	14,9	18,0	19,8	15,6	15,8	10,7	6,5	1,2	11,6	13,6

TABLEAU 1 : **Pluviométries et températures mensuelles sous abri à Troyan.**

*TABLE 1 : **Monthly rainfall and temperatures at Troyan.***

Matériel et méthodes

La préparation de la terre pour le semis s'effectue selon la technique admise pour la création des prairies temporaires. Le semis est réalisé le 17 avril 1986, en culture pure, avec une densité de 800 graines/m². Le sol est fertilisé chaque année avec 100-100-60 unités/ha de N-P-K ; l'azote est apporté au printemps ; la potasse et le phosphore, en automne. La récolte est réalisée en phase de mise à fleur - début de floraison. Les parcelles ont une surface de 5 m² et il y a 5 répétitions. Diverses mesures et observations ont été réalisées, la plupart de 1986 à 1988 :

— Les contrôles du développement du trèfle blanc ont été effectués aux stades germination, première foliole simple, première feuille trifoliée, ramification, boutons floraux et début de floraison des plantes ont été relevées (en jours depuis le semis).

— La hauteur des plantes a été enregistrée aux différents stades et au moment de chaque fauche, en mesurant la longueur de 100 pétioles et de 100 pédoncules floraux, choisis au hasard.

— L'analyse morphologique est effectuée à chaque coupe en séparant dans la biomasse fauchée feuilles, fleurs et stolons.

— La surface des feuilles est enregistrée à l'aide d'un planimètre en mesurant 60 feuilles choisies au hasard pour chaque variété et chaque coupe.

— La composition du couvert est enregistrée en pesant séparément le trèfle blanc et les autres espèces.

— Le nombre et le volume des nodosités ont été mesurés en les séparant des racines, en les comptant, et en mesurant le volume d'eau déplacé par les nodosités de 5 plantes de chaque variété. Les mesures ont été effectuées à la mise à fleur des stolons principaux pendant la 2^{e} année.

— L'activité de fixation d'azote par les bactéries *Rhizobium trifolii*, naturellement répandues, est enregistrée par la méthode de la réduction d'acétylène par chromatographie en phase gazeuse sur 5 plantes de chaque variété, à la mise à fleur des stolons principaux la 2^{e} année.

Présentation des résultats

1. Développement du trèfle blanc

Tableau 2 sont présentées les dates de réalisation des stades habituels de développement. Il n'y a presque aucune différence entre les variétés jusqu'à la ramification. Les plantes, semées le 17 avril 1986, germent en 2 semaines environ. La première foliole simple apparaît environ 20 jours plus tard et la première feuille trifoliée, au bout de 28-29 jours.

Variété	Germination	1ère foliole	1ère feuille	Ramification	Boutons floraux	Début de floraison
Targoviste	1er mai	7 mai	17 mai	16 juin	16 juil.	20 juil.
Arcadia	1er mai	8 mai	18 mai	25 juin	17 juil.	22 juil.
Titan	3 mai	10 mai	20 mai	23 juin	16 juil.	20 juil.
Lirepa	2 mai	8 mai	16 mai	20 juin	14 juil.	18 juil.
Gigant	3 mai	8 mai	17 mai	24 juin	17 juil.	21 juil.
Début	3 mai	9 mai	20 mai	25 juin	18 juil.	22 juil.
Donna	3 mai	8 mai	19 mai	25 juin	19 juil.	24 juil.
Menna	2 mai	8 mai	17 mai	21 juin	19 juil.	23 juil.
Nesta	3 mai	9 mai	20 mai	20 juin	17 juil.	22 juil.
Olwen	3 mai	8 mai	17 mai	28 juin	20 juil.	24 juil.
Huia	2 mai	8 mai	17 mai	22 juin	19 juil.	23 juil.
Pajbjerg	2 mai	8 mai	19 mai	19 juin	17 juil.	20 juil.
California	1er mai	7 mai	16 mai	24 juin	15 juil.	19 juil.
S-184	3 mai	8 mai	19 mai	20 juin	19 juil.	22 juil.
Milka	2 mai	7 mai	17 mai	18 juin	15 juil.	19 juil.
Délai après la germination (jours)		**5-7**	**4-17**	**46-55**	**72-77**	**76-81**

TABLEAU 2 : **Dates de réalisation des stades de développement des différentes variétés de trèfle blanc** semées le 17 avril 1986 à Troyan.

*TABLE 2 : **Dates of the various developmental stages of the white clover cultivars** sown on 17 April 1986 at Troyan.*

Des différences sensibles entre variétés sont enregistrées au stade de ramification quand les plantes ont déjà formé des racines latérales à la base du pivot. Ainsi, elles peuvent mieux utiliser les substances nutritives et grandir plus rapidement. Les variétés qui se ramifient le plus tardivement (Arcadia, Titan, Gigant, Donna, Olwen et California) ont à ce stade une croissance importante et un port dressé. La plupart d'entre elles appartiennent au type Ladino (à grandes feuilles), tandis que la plupart des variétés des types hollandicum et nain (Targovishte-40, Lirepa, Menna, Nesta, Pajbierg, S-184 et Milka) se ramifient quelques jours plus tôt et n'ont pas un port aussi dressé.

L'apparition des boutons floraux et la floraison s'effectuent respectivement 72-77 jours et 76-81 jours après la germination.

Les années suivantes (1987-1988), les différences entre variétés sont minimes : mise à fleur et floraison n'ont qu'un retard de 1 à 3 jours chez les variétés Arcadia, Titan, Gigant, Olwen et California. Cela montre que le développement des organes reproducteurs est plus fortement influencé par les conditions de milieu que par la détermination génétique.

2. Hauteur des plantes

Jusqu'au moment de la formation de la première feuille trifoliée, les plantes ont presque toutes la même hauteur, en rapport avec les réserves de substances nutritives de la graine et le système radiculaire encore faiblement développé. Aux stades suivants, les plantes appartenant au type Ladino se caractérisent par leur plus grande hauteur (figure 1).

Chez toutes les variétés étudiées, la hauteur des pédoncules floraux et des pétioles diminue de la 1re coupe à la 3e. Cette diminution est plus remarquable entre la 1re et la 2e coupe. Ceci confirme RADEJ (1983) qui affirme que la hauteur des pétioles du trèfle blanc dépend des conditions climatiques.

3. Analyse morphologique

Durant la période de suivi, les feuilles constituent la plus grande part de la biomasse verte du trèfle blanc (78,5 % en moyenne, figure 2). Les variétés Menna, Donna, Olwen, Huia et Milka ont plus de 80 % de feuilles dans la biomasse aérienne.

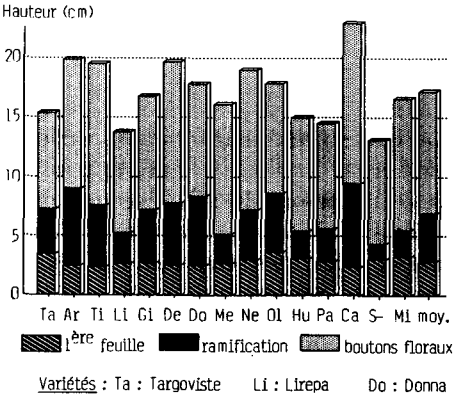


FIGURE 1 : **Evolution de la hauteur du trèfle blanc l'année du semis, en fonction de la variété et du stade.**

*FIGURE 1 : **Evolution of white clover height during the seeding year, according to cultivar and stage.***

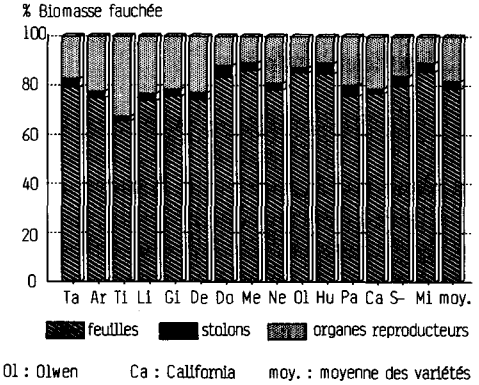


FIGURE 2 : **Composition morphologique de la biomasse fauchée selon la variété de trèfle blanc** (moyenne 1986-1988).

*FIGURE 2 : **Morphological make-up of mown bio-mass, according to white clover cultivar (mean 1986-1988).***

Les stolons du trèfle blanc sont des organes de reproduction végétative et de réserves de substances nutritives (Nosberger, 1983). C'est pourquoi la longévité des plantes dépend de la conservation des stolons au moment de la fauche. Il y a une plus grande quantité de stolons dans la 3e repousse, parce que l'enracinement des stolons avec les racines adventives est gêné par les conditions climatiques plus sèches. La part des stolons dans la biomasse aérienne pour la période 1986-1988 est en moyenne de 3,3% (figure 2). Elle est minimale chez les variétés du type Ladino (Titan : 1,7%, California : 2,2% et Arcadia : 2,6%) et maximale chez les variétés Donna (4,7%), Pajbjerg (4,7%), Huia (4,4%) et S-184 (4,1%).

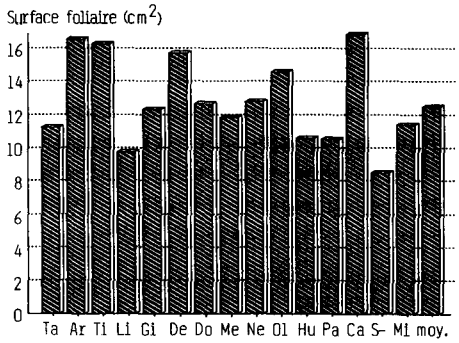
La contribution des organes reproducteurs (inflorescences) à la biomasse aérienne varie peu d'une année à l'autre dans notre étude. Comme observé habituellement, leur part est plus importante dans la 3e repousse, en rapport avec les conditions climatiques. D'après Thomas (1981) et Norris (1987), lorsque la température et l'intensité de la lumière sont élevées (comme c'est le cas pour la 3e repousse), elles accroissent la formation d'inflorescences. La floraison est aussi accentuée par le dessèchement, accompagné de températures élevées (Erith, 1924). En l'absence de ces conditions à la 1re pousse, le nombre de fleurs est minimal ; le trèfle a alors une forte croissance végétative, qui augmente la participation des feuilles dans la masse verte. En moyenne pour la période d'observation, les organes reproducteurs représentent 18,2% de la biomasse aérienne (de 10,6% chez la variété Milka à 32,8% chez Titan ; plus de 20% chez les variétés de type Ladino ; figure 2).

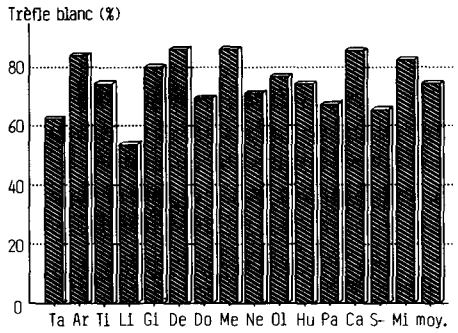
4. Surface foliaire

La surface foliaire varie considérablement, décroissant pour toutes les variétés de la 1re à la 3e pousse : dans un rapport 2 à 4 entre les deux premières pousses et dans un rapport 1 à 2 entre la 2e et la 3e. Wolton (1986) l'explique par l'influence des conditions climatiques sur la formation de la feuille : les 2e et 3e pousses se formant sous des conditions climatiques comparables, contrairement à la 1re. La diminution de la surface foliaire à chaque coupe est nettement moindre pour les variétés de type Ladino que pour les autres. Ce type est probablement plus résistant aux fortes températures de l'été et à la sécheresse.

Pour la période 1986-1988 et pour l'ensemble des variétés, la surface moyenne de la feuille trifoliée est de 1 274 mm^2 (figure 3). D'après Smetham (1986), la surface de limbe des variétés appartenant au type Ladino est supérieure à celle du type hollandicum de 70 à 100% ; ce n'est pas confirmé par nos essais où l'écart n'est que de 50%.

Chez toutes les variétés, la forme des folioles est surtout ovoïde, ou bien ovale. Certaines plantes n'ont pas la tache caractéristique du trèfle blanc.





Variétés : Ta : Targoviste Li : Lirepa Do : Donna Ol : Olwen Ca : California moy. : moyenne des variétés
Ar : Arcadia Gi : Gigant Me : Menna Hu : Huia S- : S-184
Ti : Titan De : Debut Ne : Nesta Pa : Pajbjerg Mi : Milka

FIGURE 3 : **Surface foliaire moyenne du trèfle blanc selon la variété** (moyenne 1986-1988).

*FIGURE 3 : **Mean leaf areas of white clover, according to cultivar** (mean 1986-1988).*

FIGURE 4 : **Participation pondérale du trèfle blanc selon la variété** (moyenne 1986-1988).

*FIGURE 4 : **Weight contribution of white clover, according to cultivar** (mean 1986-1988).*

5. Participation et pérennité du trèfle blanc

Comme le laissent supposer les variations saisonnières de morphologie et de surface foliaire, la participation pondérale du trèfle blanc à la production diminue de la 1re à la 3e pousse parce que les conditions climatiques sont plus favorables au trèfle blanc lors de la 1re pousse. La participation des variétés du type Ladino (Debut, California et Arcadia) reste relativement grande aux 2e et 3e pousses et la répartition de la récolte annuelle y est de ce fait plus régulière. Ces variétés se caractérisent donc par un bon développement malgré les conditions relativement sèches de l'été - automne.

L'évolution interannuelle de la composition botanique et de la participation du trèfle donne une idée de la longévité des différentes variétés et de la qualité du fourrage produit. Pour la plupart des variétés, la participation du trèfle blanc est la plus importante l'année du semis et la plus faible la 3e année. En moyenne pour la période d'étude, les variétés du type Ladino mentionnées ci-dessus ont une participation supérieure, ainsi que les variétés Menna et Milka du type hollandicum (figure 4). Dans les conditions de l'expérimentation, le trèfle blanc se manifeste comme une espèce de durée moyenne, produisant principalement la 1re et la 2e année de culture. HOLLOWEL (1966) constate aussi une faible longévité de l'espèce qui, dans certaines conditions de milieu et d'exploitation, peut même se montrer annuelle.

6. Nombre, volume des nodosités et activité de fixation d'azote

Une des caractéristiques les plus importantes des légumineuses est leur capacité de former une liaison symbiotique avec les bactéries *Rhizobium*, visible par les nodosités formées sur les racines de la plante-hôte. Les bactéries, en association avec la légumineuse, sont capables de fixer l'azote de l'atmosphère (WOLTON, 1986).

Presque toutes les nodosités observées ici (tableau 3) sont formées à la base des ramifications latérales des racines (en moyenne 146 par ramification contre 3 nodosités sur le pivot). Il y a une prédominance des formes ronde et ovale-cylindrique et de la coloration rose-clair des nodosités. Chez toutes les variétés, les nodosités ont sensiblement la même taille. Dans le tableau 3 on peut voir que l'activité fixatrice d'azote des bactéries ne dépend pas directement du volume ou du nombre des nodosités. Les variétés Olwen, Donna, Pajbierg et Menna ont l'activité fixatrice d'azote la plus importante.

	Nodosités (par plante)			Activité de fixation (10^{-9} mole C_2H_4/24h/plante)
	Nombre sur...		Volume (cm^3)	
	la racine centrale	les ramifications		
Targoviste	1,0	67	0,15	416,33
Arcadia	5,0	270	0,50	431,90
Titan	3,2	110	0,32	220,70
Lirepa	3,5	65	0,22	898,12
Gigant	4,0	179	0,38	256,60
Debut	4,0	155	0,35	440,88
Donna	3,7	142	0,43	9012,43
Menna	4,0	167	0,23	1140,21
Nesta	1,5	165	0,55	951,72
Olwen	2,0	258	0,38	9336,62
Huia	4,5	126	0,25	339,76
Pajbjerg	1,3	158	0,43	2034,91
California	4,0	157	0,77	469,39
S-184	4,3	70	0,10	663,86
Milka	0	96	0,13	165,39
Moyenne	**3,0**	**146**	**0,35**	**1785,25**

TABLEAU 3 : **Nombre et volume des nodosités, et activité de fixation d'azote selon la variété de trèfle blanc.**

*TABLE 3 : **Number and volume of root nodules, and nitrogen-fixing activity of the various white clover cultivars.***

Conclusions

La comparaison de 15 variétés de trèfle blanc en culture pure permet de tirer les conclusions suivantes sur la croissance et le développement du trèfle, dans les conditions de l'Institut d'agronomie de haute montagne de Troyan (Bulgarie). Les variétés ont le même comportement jusqu'à la phase de ramification. Habituellement, les variétés du type Ladino (qui sont de plus grande taille) se ramifient, forment des boutons et commencent à fleurir plus tard. L'analyse morphologique montre que plus des trois quarts de la biomasse aérienne sont constitués par les feuilles, les tiges ne représentant en moyenne que 3,3 % et les organes reproducteurs 18,2 % de la biomasse. La pérennité du trèfle est d'environ 2 ans ; la contribution pondérale de 3 des variétés de type Ladino et de 2 de type hollandicum est supérieure à celle des autres variétés les 2^{e} et 3^{e} années. La plupart des nodosités se développent à la base des ramifications racinaires ; leur volume et leur nombre ne conditionnent pas directement l'activité fixatrice d'azote des bactéries rhizobiales, naturellement répandues dans le sol.

Accepté pour publication, le 10 octobre 1993.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ERITH A.G. (1924) : *Monographs on agricultural plants*, J. Percival ed.

HOLLOWEL E. (1966) : *Proc. Xth Int. Grassl. Congr.*, Helsinki, 184-187.

NORRIS I. (1987) : *Ann. Bot.*, 59, 2, 197-202.

NOSBERGER J. (1983) : "Quelques aspects de la biologie et de la physiologie du trèfle blanc", *Fourrages*, 94, 6, 49-59.

RADEJ J. (1983) : "Pestovani jetele plaziveho na semeno", *Ustav vedec-kotechnickych informaci pro zemedelstvi*, Praha.

SMETHAM M.(1986) : *N. Z. J. Exp. Agr.*, 14, 4, 385-391.

THOMAS R. (1981) : *rass and Forage Sci.*, 31, 121-125.

WOLTON P.(1986) : *Proizvodstvo kormovih kultur*,Moskwa, Agropromizdat.

RÉSUMÉ

En Bulgarie, le développement et la composition morphologique de 15 variétés de trèfle blanc (types Ladino, hollandicum et nain) en culture pure sont observés à l'Institut d'agronomie de haute montagne à Troyan (400 m d'altitude, pH 4,85, pluviométrie et température moyennes de 770 mm/an et 11,6°C). Les mesures ont porté en particulier sur l'évolution comparée de la hauteur des plantes, la contribution pondérale des feuilles, des tiges et des organes reproducteurs dans la biomasse fauchée, la surface foliaire et la pérennité du trèfle, le nombre, le volume et l'activité fixatrice des nodosités sur les racines.

SUMMARY

Investigations on white clover in Bulgaria. Biological and morphological characteristics

The development and morphological make-up of pure sown cultivars of white clover (Ladino, hollandicum, and dwarf types) were observed in Bulgaria, at the Institute of Highland Agriculture, Troyan (altitude 400 m, pH 4.5, average rainfall 770 mm per year, average temperature 11.6°C). The main measurements were the following : comparative evolution of plant height, contribution by weight of leaves, stems, and reproductive parts to mown bio-mass ; number, volume, and nitrogen-fixing activity of root nodules.