

Contribution potentielle du lotier corniculé et du trèfle hybride à la productivité de prairies multispécifiques en sols limoneux

J. Fustec, F. Bernard, G. Corre-Hellou

Le lotier corniculé (*Lotus corniculatus* L.) et le trèfle hybride (*T. hybridum* L.) sont mieux adaptés que le trèfle blanc aux terres limoneuses avec alternances de phases d'hydromorphie et de sécheresse, fréquentes en région Pays de la Loire, mais peu d'informations sont disponibles sur leur capacité à fixer l'azote atmosphérique. Une expérimentation sous serre apporte des éléments de réponse.

RÉSUMÉ

Dans des pots contenant de la terre de 3 sols limono-argileux et 2 sablo-limoneux, 4 variétés de lotier corniculé et 4 variétés de trèfle hybride ont été semées. La biomasse a été mesurée 9 semaines après le semis ; des caractéristiques morphologiques ont été relevées et la fixation symbiotique estimée par la méthode de l'abondance naturelle. Les niveaux de fixation symbiotique des 2 espèces diffèrent de manière très significatives d'un sol à l'autre. La fixation symbiotique et la production du trèfle hybride paraissent plus affectées par les caractéristiques chimiques du sol que celles du lotier corniculé. La fixation (de 30 à 60%) peut atteindre 70% chez le trèfle hybride. Elle est liée à la teneur en P et K du sol, au pH du sol et au pourcentage d'argile ; on note un effet variétal important.

SUMMARY

Potential contribution of Bird's-foot trefoil and of Alsike clover to the productivity of multispecific pastures on silt soils

Bird's-foot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) and Alsike clover (*Trifolium hybridum* L.) are better adapted than White clover to silt soils with hydromorphous periods alternating with dry spells, but there is little information available on their capacity to fix atmospheric nitrogen. This greenhouse trial with 4 cultivars of Bird's-foot trefoil and 4 cultivars of Alsike clover sown on 3 silt/clay soils and 2 sand/silt soils throws some light on the question. The bio-mass was measured 9 weeks after sowing, and some morphological characters were noted. The levels of symbiotic fixation of both species were very significantly different from one soil to the other. The symbiotic fixation and the production of Alsike clover seem to be more influenced by the chemistry of the soil than those of Bird's-foot trefoil. This fixation (from 30 to 60%) may reach 70% with Alsike clover. It is linked with the P and K contents of the soil, to the soil pH, and to the percentage of clay; there is also an important effect of the cultivar.

Dans les prairies multispécifiques, l'utilisation de légumineuses permet d'améliorer la productivité du couvert végétal ainsi que ses qualités zootechniques tout en réduisant les apports d'engrais azotés (PFLIMLIN *et al.*, 2003 ; LORGEOU *et al.*, 2007 ; DURU, 2008 ; HUYGHE et LITRICO, 2008). Ceci est dû à leur aptitude particulière à s'associer avec des bactéries de la famille des Rhizobiacées, pour former des nodosités (ou nodules) capables de fixer l'azote atmosphérique. Lorsque cette symbiose fonctionne, les légumineuses ne manquent jamais d'azote, et elles sont plus riches en cet élément que les graminées qui n'ont pas la capacité d'utiliser l'azote de l'air. Dès que les nodosités sont fonctionnelles, ce qui intervient quelques jours après le début du développement des racines, **les légumineuses**

peuvent intégrer de l'azote atmosphérique dans l'agrosystème avec beaucoup d'efficacité. En effet, non seulement elles ne concurrencent plus les graminées pour l'azote minéral du sol mais, à court ou moyen terme, elles fournissent des quantités non négligeables d'azote assimilable aux plantes voisines, voire à la culture suivante (HØGH-JENSEN et SCHJOERRING, 1997 ; SPEHN *et al.*, 2002 ; TEMPERTON *et al.*, 2007). Ainsi, dans une association graminée - trèfle blanc, 47% de l'azote du trèfle est déposé au sol par différents processus d'exsudation et de renouvellement de son système racinaire (GYLFADÓTTIR *et al.*, 2007 ; FUSTEC *et al.*, 2010). Certains de ces composés azotés ainsi "rhizodéposés" au sol peuvent être absorbés directement par les plantes voisines et d'autres, après

AUTEURS

Ecole Supérieure d'Agriculture, UP Laboratoire d'Ecophysiologie Végétale & Agroécologie, F-49007 Angers ; j.fustec@groupe-esa.com

MOTS CLÉS : Composition morphologique, cultivar, facteur édaphique, fixation symbiotique de l'azote, légumineuse, lotier, *Lotus corniculatus*, mélange fourrager, Pays-de-la-Loire, phosphore, potassium, prairie, sol limoneux, *Trifolium hybridum*.

KEY-WORDS : Alsike clover, Bird's-foot trefoil, forage mixture, grassland, *Lotus corniculatus*, morphological composition, cultivar, edaphic factor, legume, Pays-de-la-Loire, Phosphorus, Potassium, silt soil, symbiotic nitrogen fixation, *Trifolium hybridum*.

RÉFÉRENCE DE L'ARTICLE : Fustec J., Bernard F., Corre-Hellou G. (2010) : "Contribution potentielle du lotier corniculé et du trèfle hybride à la productivité de prairies multispécifiques en sols limoneux", *Fourrages*, 204, 247-253

minéralisation par les micro-organismes du sol. Par ailleurs, HØGH-JENSEN et SCHJØERRING (2001) ont calculé que jusqu'à 92% de l'azote rhizodéposé au sol par le trèfle blanc (*Trifolium repens* L.) peut provenir de la fixation symbiotique. En situation de faible disponibilité en azote du sol, l'intensité de la fixation symbiotique est plus élevée (MCAULIFFE et al., 1958).

Dans les prairies d'Europe tempérée, le trèfle blanc et le trèfle violet (*T. pratensis* L.) sont les légumineuses les plus utilisées dans les prairies comprenant au moins deux espèces, et les plus étudiées du point de vue de leur rôle dans le cycle de l'azote et de leur comportement en association avec les graminées (LOISEAU et al., 2001). D'autres espèces comme le **lotier corniculé** (*Lotus corniculatus* L.) et le **trèfle hybride** (*T. hybridum* L.) **sont parfois utilisées sans que l'on dispose d'autant d'informations sur leurs capacités à fixer l'azote atmosphérique** et leur rôle dans le fonctionnement des prairies multispécifiques. Pourtant, ces deux légumineuses ne sont pas dénuées d'intérêt pour l'alimentation animale (MIN et al., 2005) et **sont mieux adaptées aux conditions édaphiques limitantes que le trèfle blanc**. Le lotier corniculé prospère mieux que le trèfle blanc sur les sols peu profonds (JONES et TURKINGTON, 1986 ; BARLAN et al., 2002 ; FUSTEC et al., 2008), tandis que le trèfle hybride peut avoir un grand intérêt pour valoriser les sols trop acides et/ou trop humides pour le trèfle violet (FRAME et al., 1998 ; GROUPE PRAIRIE DES PAYS DE LOIRE, 2007).

Les terres limoneuses et argilo-limoneuses avec alternance de phases d'hydromorphie et de sécheresse sont courantes dans la Région des Pays de la Loire (France). Nous avons mené une expérimentation sous serre avec quelques uns de ces sols, dans le but de comparer le développement de différentes variétés de lotier corniculé et de trèfle hybride, ainsi que l'intensité de leur fixation symbiotique.



FIGURE 1 : Localisation des parcelles de la région Pays de la Loire dans lesquelles les sols ont été prélevés.

FIGURE 1 : Location of the field plots in the Pays de la Loire region from where the soil samples were taken.

1. Présentation de l'essai

■ Origine des sols utilisés

Les expérimentations ont été réalisées en utilisant les **sols de 5 parcelles limoneuses** choisies dans différentes exploitations **de la Région des Pays de la Loire** (figure 1). Au printemps 2006, un volume d'environ 700 litres de sol a été prélevé dans les 25 cm supérieurs à différents endroits de chaque parcelle. Chaque sol a été mélangé, parfois tamisé (sols de Vendée et de Sarthe), de façon à détruire les mottes les plus grosses.

Les sols des fermes expérimentales de Derval (Loire-Atlantique, 44) et des Etablières (Vendée, 85) provenaient de prairies permanentes. Dans le Maine-et-Loire (49), à la ferme expérimentale de Thorigné d'Anjou, la parcelle de prélèvement avait été semée avec une prairie multispécifique en 2002, puis avec une association triticales - pois de 2005 à 2006. En Mayenne (53), le sol a été prélevé chez des agriculteurs, après une culture de maïs faisant suite à une prairie. Le sol de la Sarthe (72), provenait d'une parcelle dans laquelle de la luzerne était cultivée depuis 2001.

■ Caractéristiques des sols

Les analyses effectuées par le SAS (France Analyse®) ont révélé des textures semblables pour les **sols 53 et 49** (tableau 1), mais ces **sables limoneux** comprenant environ 50% de sables diffèrent par leur teneur en matière organique et leurs caractéristiques chimiques (P et Ca). **Les sols des départements 44, 85 et 72 sont des limons argileux**. Tous ces sols sont acides, avec des pH KCl situés autour de 5. Les sols de la Mayenne et de la Sarthe sont les plus pauvres en phosphore assimilable et en potassium. C'est dans le sol du Maine-et-Loire que la valeur de P Olsen est la plus élevée, tandis que la disponibilité en

	Département de provenance du sol				
	Sol 49	Sol 53	Sol 44	Sol 85	Sol 72
Analyse physique					
Argiles (%)	10,0	10,4	19,4	13,3	15,9
Limons fins (%)	19,7	17,0	20,9	24,4	27,1
Limons grossiers (%)	19,8	18,6	27,0	25,0	39,5
Sables fins (%)	11,7	13,0	16,7	21,9	10,4
Sables grossiers (%)	36,3	37,0	14	12,6	5,2
Matière organique (% MS)	2,5	4,0	1,9	2,8	2,0
CEC* (mEq/100 g)	6,2	13,2	8,3	10,0	9,8
Analyses chimiques					
pH _{KCl} et (pH _{H2O})	5,0 (5,8)	5,3 (6,2)	5,9 (6,6)	4,7 (5,8)	5,2 (6,1)
N (mg/kg)	0,7	1,4	0,8	1,1	0,7
P Olsen (mg/kg)	53,6	21,3	37,9	40,5	20,5
K (mg/kg)	166	141,1	572	273,9	107,9
Mg (mg/kg)	60,3	72,4	108,5	102,5	78,3
Ca (mg/kg)	786,5	1 708,0	1 101,0	1 058,2	1 780,3

*Capacité d'échange cationique Metson

TABLEAU 1 : Caractéristiques principales des sols utilisés dans l'étude (BERNARD et FUSTEC, 2007).

TABLE 1 : Main characteristics of the soils used in the trial (BERNARD and FUSTEC, 2007).

potassium est nettement supérieure dans les sols de Loire-Atlantique et de Vendée par rapport aux autres sols.

■ Dispositif expérimental et mesures

Quatre variétés de lotier corniculé (*L. corniculatus* L. cv. Albena, Leo, Gran San Gabriele et Lotanova) ainsi que **quatre variétés de trèfle hybride** (*T. hybridum* L. cv. Dawn, Dixon, Buffalo et Ermo) ont été **semées séparément dans des pots** de 4 litres pour chacun des 5 sols (12 graines par pot). Après germination et développement de la première feuille assimilatrice, les semis ont été éclaircis de manière à ne conserver que les 3 plantules les plus développées. Chacune des 40 modalités a été répétée 4 fois. Des pots d'un mélange avec 50% de fétuque élevée (*Festuca arundinacea* Schreber cv. Flexy) et 50% de ray-grass anglais (*Lolium perenne* L. cv. Aberavon) ont été cultivés à titre de modalité "témoin non fixateur d'azote atmosphérique" pour chacun des sols ; la mesure de l'enrichissement en ¹⁵N de ces plantes à la récolte donne une estimation de celui des différents sols (GOH et BRUCE, 2005). Les 180 pots ont été répartis au hasard sur trois tables de culture, **sous serre** (température moyenne 24,3°C ± 0,6 ; hygrométrie 67,4% ± 1,5). Pendant toute la durée de l'expérimentation, l'eau du réseau a été apportée aux plantes par sub-irrigation deux fois par semaine.

La fructification pouvant avoir un impact sur l'intensité de la fixation symbiotique, l'expérimentation a été interrompue dès l'apparition des premières fleurs. Ainsi, neuf semaines après le semis, la **hauteur des plantes** a été mesurée et les parties aériennes ont été récoltées. Pour les lotiers, nous avons compté le **nombre de feuilles** et de ramifications par plante. Pour les trèfles hybrides, nous avons dénombré les feuilles et évalué la **surface totale de l'ensemble des limbes** à l'aide d'un planimètre. Les parties aériennes des plantes de chaque pot ont été regroupées et séchées à l'étuve à 60°C jusqu'à masse constante. Après broyage (grille de 0,12 mm), la fine poudre obtenue à partir des parties aériennes a été échantillonnée pour estimer l'**enrichissement en ¹⁵N des plantes**, par rapport au ¹⁴N (dosage au spectromètre de masse, INRA de Laon).

Le ¹⁵N est un isotope stable du ¹⁴N présent en proportion faible et constante dans l'air (0,3663%). Cette proportion de ¹⁵N par rapport au ¹⁴N est plus élevée dans les sols, avec une hétérogénéité spatiale importante. De ce fait, chez les légumineuses, plus l'intensité de la fixation symbiotique est élevée, plus l'abondance en ¹⁵N des tissus végétaux est proche de celle de l'air. En revanche, chez les espèces non fixatrices (ici les graminées), on considère que l'abondance en ¹⁵N de la plante est représentative de celle du sol (McAULIFFE *et al.*, 1958 ; HANSEN et VINTHER, 2001). Ainsi, les écarts de valeurs d'abondance en ¹⁵N des parties aériennes de légumineuses et de graminées peuvent permettre d'estimer la contribution de la fixation à la teneur en azote total des légumineuses. Compte tenu du fait que chacun des sols que nous avons utilisés pour remplir les pots a été mélangé plusieurs fois, nous avons considéré que leur abondance naturelle en ¹⁵N était relativement homogène ; c'est pourquoi nous avons utilisé la formule développée par McAULIFFE *et al.* (1958) pour nos calculs.

Au moment de la récolte, **les racines ont été examinées pour apprécier la nodulation** ; une note qualitative comprise entre 0 (pas de nodosités visibles) et 5 (nodosités de couleur rose, bien développées sur l'ensemble du système racinaire) a été appliquée à chaque plante.

2. Résultats

■ Comparaison du développement des plantes

Notre expérimentation ne permet pas de mettre en évidence de différences de développement significatives d'un sol à l'autre pour une variété donnée (nombre de répétitions trop faible, N=4). En revanche, toutes variétés confondues, **pour chaque espèce, des différences très significatives sont mises en évidence entre les différents sols** (tableau 2).

Chez le lotier corniculé, les plantes ayant produit le plus de matière sèche (MS) sont aussi celles qui

Département de provenance du sol	Sol 49	Sol 53	Sol 44	Sol 85	Sol 72	P
Lotier corniculé						
Nombre de ramifications par plante	7,79bc	8,47b	6,80c	10,92a	5,63d	***
Nombre de feuilles par plante	77,80b	83,11b	63,90c	104,96a	55,56c	***
Axe le plus long (cm)	44,70b	51,39a	39,23c	52,09a	42,68bc	***
Masse par plante (g MS)	0,86bc	0,89b	0,74c	1,25a	0,54d	***
Trèfle hybride						
Nombre de feuilles par plante	20,96b	18,40c	25,91a	27,47a	15,11d	***
Surface foliaire par plante (cm ²)	136,84c	123,24c	158,36b	186,34a	86,17d	***
Hauteur maximum (cm)	22,38b	31,67ab	22,60b	27,67a	20,60c	***
Masse par plante (g MS)	0,72c	0,59d	0,84b	1,08a	0,46e	***
Graminées de référence						
Masse par pot (g MS)	4,3bc	8,0a	5,9a	5,2ab	4,3c	**

N = 16 (moyenne des 4 variétés et des 4 répétitions) pour le lotier corniculé et pour le trèfle hybride
a, b, c, d et e : sur une même ligne, des lettres différentes indiquent des différences significatives entre sols (p < 0,05)
*** p < 0,0001

TABLEAU 2 : **Caractéristiques morphologiques et biomasses moyennes du lotier et du trèfle hybride récoltés en fonction des sols.**

TABLE 2 : *Morphological characteristics and mean bio-masses of Bird's-foot trefoil and of Alsike clover harvested, according to the soils.*

présentaient le plus grand nombre de ramifications et de feuilles. Chez le trèfle hybride, les plantes dont la masse de matière sèche était élevée ont produit le plus grand nombre de feuilles et la surface foliaire la plus développée.

Les deux espèces ont été nettement plus productives dans le sol de Vendée que dans les sols des autres départements. La masse de matière sèche y a été deux fois plus élevée que dans le sol de la Sarthe. Pour le lotier comme pour le trèfle, les plantes étaient plus hautes, avec un nombre de ramifications et de feuilles plus élevé, et surtout une surface foliaire deux fois plus développée dans le 85 comparé au 72. Pour les deux espèces, les sables limoneux du Maine-et-Loire et de la Mayenne ont permis d'obtenir des rendements en légumineuses compris entre ceux du 85 et du 72. Dans le 49, le trèfle hybride présente un avantage en comparaison du 53.

■ Acquisition de l'azote par les plantes

Les teneurs en azote du lotier corniculé et du trèfle hybride diffèrent de manière très significative d'un sol à l'autre (figure 2a ; $P < 0,0001$). Cette différence n'est pas aussi marquée pour les graminées de référence ($P < 0,05$). C'est encore **dans le sol de Vendée** que les teneurs en azote des plantes **sont les plus élevées**. Celles des plantes cultivées dans les sables limoneux du Maine-et-Loire et de la Mayenne sont supérieures à celles mesurées dans les limons argileux de la Sarthe. Notons que dans les sols du 85 et surtout du 44, la teneur en azote du trèfle hybride est supérieure à celle du lotier (respectivement $P < 0,005$ et $P < 0,0001$).

La fixation symbiotique a été effective dans tous les sols, excepté dans celui de la Mayenne (figure 2b), où les nodosités ont été moins nombreuses et plus petites que dans les autres sols. L'intensité de la fixation biologique a été faible dans le sol de la Sarthe ($< 25\%$ de l'azote total des parties aériennes). **Dans les sables**

limoneux du Maine-et-Loire, la part d'azote issu de la fixation représente **environ 60% de l'azote total** des parties aériennes, tant pour le lotier corniculé que pour le trèfle hybride. Dans les limons argileux de Loire-Atlantique, la contribution de la fixation à l'azote total de la plante a été presque deux fois plus élevée chez le trèfle hybride (70%) que chez le lotier corniculé.

■ Influence des caractéristiques variétales sur la fixation symbiotique

Lorsqu'on examine les résultats plus en détail, on remarque que **l'intensité de la fixation symbiotique du lotier corniculé dans le sol de la Sarthe** et dans une moindre mesure, celui de la Vendée, **dépend beaucoup de la variété**. Le tableau 3 montre que, dans la Sarthe, la part de la fixation symbiotique a été nulle pour Lotanova et Gran San Gabriele, mais dépasse 40% de l'azote total de la plante pour Albena et Léo. Le même phénomène peut être observé sur le même sol pour le trèfle hybride, dont la part de l'azote issu de la fixation atteint 43% pour Ermo, 23% pour Dixon et seulement 7% pour Buffalo et Dawn.

■ Influence des caractéristiques du sol sur la fixation symbiotique

Il est maintenant bien connu que l'intensité de la fixation symbiotique est diminuée par de fortes concentrations en azote minéral du sol (CARLSSON *et al.*, 2009) et que certains éléments minéraux comme le soufre ou le phosphore sont nécessaires au bon fonctionnement des nodosités. Dans notre essai, **pour le lotier corniculé comme pour le trèfle hybride, la part d'azote des plantes issu de la fixation est positivement corrélée à la teneur en P et K** (test de Spearman $r = 0,6178$ pour P et $0,6695$ pour K, $P < 0,0001$ dans les deux cas). De

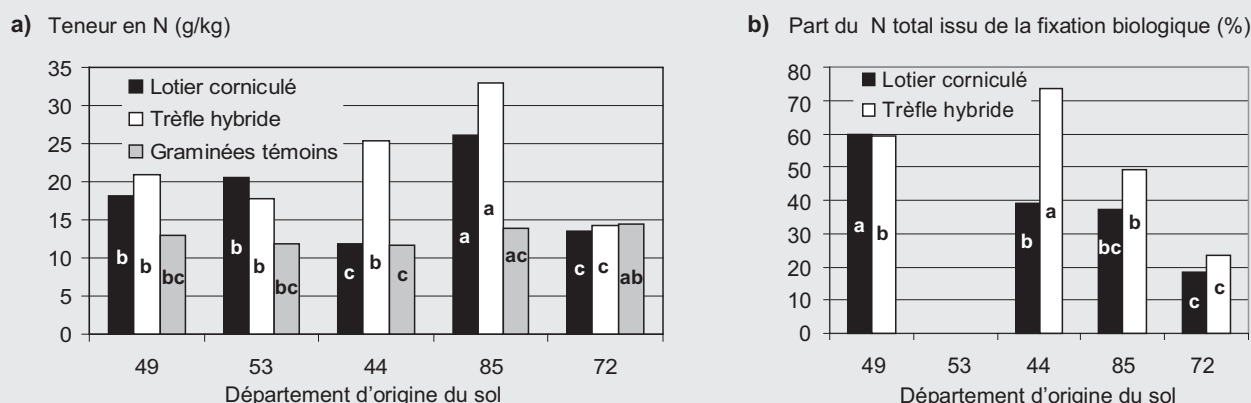


FIGURE 2 : Teneur en azote des parties aériennes des plantes (a) et part de l'azote fixé (b) (moyennes de 4 variétés pour chaque espèce de légumineuses (4 répétitions)). Des lettres différentes a, b et c indiquent des différences significatives entre sols pour chaque espèce. $P < 0,0001$ pour le lotier corniculé et le trèfle hybride, $P < 0,05$ pour le témoin (graminées) ; FUSTEC et BERNARD, 2008.

FIGURE 2 : Nitrogen contents of the above-ground parts of the plants (a), and (b) proportion of the symbiotically fixed nitrogen (means of 4 cultivars for each legume species; 4 replications). Different letters (a, b, c) indicate significant differences among soils for each species. $P < 0,0001$ for the trefoil and the clover, $P < 0,05$ for the control (grass) ; FUSTEC and BERNARD, 2008.

Variété	Lotier corniculé			
	Albena	Leo	Lotanova	San Gabriele
Sol 49	63,9 ± 3,6	65,4 ± 7,4	58,9 ± 3,8	53,3 ± 8,9
Sol 53	0	0	0	0
Sol 44	27,9 ± 0,9	48,1 ± 0,9	44,5 ± 2,9	37,7 ± 2,7
Sol 85	49,6 ± 3,7	38,3 ± 9,4	32,8 ± 17,6	15,8 ± 10,6
Sol 72	42,1 ± 11,4	44,7 ± 10,5	0	0
Variété	Trèfle hybride			
	Buffalo	Dawn	Dixon	Ermo
Sol 49	57,1 ± 2,1	61,2 ± 1,2	66,5 ± 7,9	54,5 ± 11,4
Sol 53	0	0	0	0
Sol 44	66,4 ± 3,9	65,5 ± 5,1	72,9 ± 3,1	87,4 ± 1,9
Sol 85	38,9 ± 7,0	42,9 ± 7,9	57,5 ± 3,6	63,2 ± 3,7
Sol 72	7,6 ± 4,0	6,7 ± 0,8	23,9 ± 10,8	43,2 ± 5,4

TABLEAU 3 : Part de l'azote issu de la fixation symbiotique (%) chez les différentes variétés de lotier corniculé et de trèfle hybride (moyenne et écart type ; N = 4).

TABLE 3 : Proportion of the nitrogen produced by the symbiotic fixation (%) in the different cultivars of Bird's-foot trefoil and of Alsike clover (average and standard deviation; N = 4).

plus, il existe une **corrélation négative entre le taux de fixation symbiotique et le pH du sol** ($r = -0,382$; $P < 0,0001$) ainsi qu'avec le pourcentage d'argile contenu dans le sol, en particulier pour Lotanova et Gran San Gabriele ($r = -0,396$; $P = 0,001$). En dehors des aspects de biologie des sols que nous n'avons pas pu caractériser dans cet essai, ces quelques résultats peuvent contribuer à expliquer le fait que la fixation symbiotique soit plus intense dans les sols des départements 49, 44 et 85, en particulier pour le trèfle hybride.

3. Discussion

Dans notre expérimentation, aucune des deux espèces n'atteint les 92% d'azote fixé comme le mentionne la bibliographie pour le trèfle blanc cultivé en situation agronomique optimale, ou encore le trèfle violet. Cependant, lorsque le trèfle blanc se trouve en conditions pédoclimatiques défavorables, non seulement l'intensité de sa fixation symbiotique diminue, mais sa contribution à la prairie au sein du peuplement végétal peut aussi se trouver très inférieure à celle que l'on peut obtenir en conditions favorables. Cet ensemble d'éléments fait qu'en conditions sub-optimales, la quantité d'azote qu'il apporte au sol et aux graminées de la prairie peut se trouver considérablement réduite. Ainsi, dans les prairies de Normandie, la part du trèfle blanc dans les associations avec du ray-grass anglais peut varier de 25% dans un contexte alternant sol séchant et hydromorphie à 45% dans un sol sain bien arrosé (LE GALL *et al.*, 1999). Dans ces conditions, l'apport d'azote par les légumineuses varie du simple au double (de 120 à 267 kg/ha).

Non seulement le lotier corniculé et le trèfle hybride se maintiennent mieux que le trèfle blanc et que le trèfle violet dans les conditions sub-optimales des sols étudiés

(FRAME *et al.*, 1998 ; FUSTEC *et al.*, 2008), mais nos résultats montrent que **la part d'azote de la plante issu de la fixation peut atteindre des niveaux de l'ordre de 60 à plus de 70% dans des sols limoneux acides**. La fixation symbiotique et le rendement du trèfle hybride paraissent plus affectés par les caractéristiques chimiques du sol que chez le lotier corniculé (SEGUIN *et al.*, 2000).

Par ailleurs, dans les limons argileux, le trèfle hybride, qui résiste bien aux périodes d'hydromorphie, est mieux adapté que le lotier corniculé. Comme pour les autres légumineuses, pour obtenir de bons niveaux de fixation symbiotique, une disponibilité suffisante en phosphore (DAVIS, 1991), ainsi qu'en potassium demeure nécessaire. Ainsi, **la faible teneur en phosphore du sol de la Mayenne peut expliquer que nous n'ayons pas pu mettre en évidence de fixation symbiotique** chez les légumineuses ; les nodosités de très petite taille et de couleur blanche suggèrent qu'elles n'étaient pas actives. Cependant, toutes nos plantes ont été récoltées 9 semaines après le semis, et il est possible que la faible disponibilité en phosphore du sol de la Mayenne ait induit un retard de développement des nodosités par rapport aux autres sols, comme QIAO *et al.* (2007) l'ont montré sur des plants de soja cultivés en conditions contrôlées.

En l'état actuel de nos résultats, nous ne pouvons cependant pas exclure la possibilité d'un problème de **compatibilité entre les bactéries rhizobiacées** du sol 53 et les variétés semées (WILLIAMS, 1988), d'autant que le couvert végétal précédent (maïs), comme sans doute la prairie antérieure, ne comportait pas de légumineuses. En effet, dans les sols présentant des caractéristiques physico-chimiques favorables au développement de rhizobiacées, **un précédent à base de légumineuses augmente les chances d'y trouver naturellement un inoculum bactérien compatible** avec les légumineuses que l'on plante. A Thorigné d'Anjou (49), on peut supposer que le sol contenait un inoculum bactérien favorable à la formation de nodosités efficaces chez les deux espèces étudiées, le précédent étant une prairie multispécifique contenant du lotier corniculé et du trèfle hybride (toutes variétés comprises, ce sol a obtenu une moyenne de 4 en utilisant notre échelle d'observation des nodules pour le lotier corniculé et de 3 pour le trèfle hybride). Dans ce sol, les rhizobiacées ont donc sans doute contribué aux bonnes performances de fixation symbiotique que nous avons mesurées. Dans le sol de la Sarthe, il est plus difficile de se prononcer sur la part des populations de rhizobiacées dans le résultat obtenu. En effet, des rhizobiacées compatibles avec la luzerne étaient certainement présentes dans ce sol (précédent luzerne), mais leur capacité à former des nodosités fonctionnelles avec le lotier corniculé et/ou le trèfle hybride était sans doute très faible, voire nulle. A titre d'information complémentaire, toutes variétés comprises, ce sol a obtenu pour chacune des espèces, une moyenne de 2 quant à la présence de nodules, comme pour le sol de Mayenne.

Cependant, la compatibilité légumineuse - rhizobiacées n'est pas le seul facteur nécessaire à l'obtention rapide de nodosités efficaces. Comme nous l'avons vu

précédemment, **le phosphore est d'une grande importance pour la formation des nodosités** et c'est dans le sol de la Sarthe, où la valeur de P Olsen est l'une des plus basses, que les deux espèces de légumineuses étudiées ont le moins fixé d'azote atmosphérique. A Thorigné d'Anjou (49), où les valeurs de P Olsen sont deux fois plus élevées que dans le sol de la Sarthe, la fixation symbiotique du lotier corniculé a été conséquente. Même si cette espèce est moins sensible aux facteurs chimiques du sol que le trèfle hybride, **la plus grande biodisponibilité du phosphore a pu favoriser une formation plus précoce des nodules** (QIAO *et al.*, 2007). **Dans les prairies multispécifiques, il est particulièrement important que les légumineuses puissent produire des nodules actifs le plus tôt possible.** En effet, le début de la fixation symbiotique correspond à la mise en place d'interactions positives entre graminées et légumineuses, réduisant la compétition entre espèces pour les ressources du sol, et favorisant l'implantation et le maintien des légumineuses au sein du couvert végétal (FUSTEC *et al.*, 2008). Cela peut aussi permettre de réduire le développement d'espèces indésirables dans le couvert prairial. Des mycorhizes, que nous n'avons pas abordées dans cette étude, sont présentes naturellement dans le sol et peuvent aussi contribuer à réduire la compétition pour le phosphore entre espèces ; là encore, même si la colonisation racinaire par ces organismes fongiques se fait en quelques jours, on peut imaginer que la fourniture du phosphore à la plante n'intervient qu'après un certain délai, et n'aide pas à une formation précoce des nodosités.

Pour un même sol, nos résultats montrent aussi que **la fixation symbiotique peut varier de manière importante entre les différentes variétés d'une même espèce.** Comme nous venons de le voir, cela peut provenir de capacités différentes des génotypes à résister à des stress d'origine édaphique, à former des nodosités actives en conditions plus ou moins limitantes, et de la qualité de la compatibilité entre le génotype de la plante et celui de la bactérie avec laquelle elle s'associe. Lorsque ce n'est pas le cas soit les nodosités ne peuvent pas se former, soit elles se développent mais ne sont pas fonctionnelles.

Conclusion

Le trèfle hybride et le lotier corniculé font partie des légumineuses oubliées par l'agriculture et la recherche agronomique des 60 dernières années. Pourtant, dans le contexte actuel de réduction des intrants et de changement global, **de telles espèces présentent un potentiel intéressant pour valoriser des "petites terres"**. La création de nouvelles variétés de ces espèces, mieux adaptées aux sols alternativement séchants et hydro-morphes, plus efficaces dans l'acquisition et l'utilisation de certains éléments comme le phosphore et, pourquoi pas, accompagnées de rhizobiacées compatibles, pourraient contribuer à améliorer la productivité et la robustesse des prairies multispécifiques.

Accepté pour publication,
le 2 novembre 2010.

Remerciements : Ce travail a été réalisé dans le cadre du Groupe Prairies des Pays de la Loire, en collaboration avec Jean-Paul Coutard, François Hubert, Patrice Pierre, Sylvie Halaca, Rémy Delagarde et Alain Besnard, et financé par la Chambre d'Agriculture Régionale des Pays de la Loire. Les semences ont été fournies par Michel Obtentions, Jouffray-Drillaud, Dif Trifolium et Gruel Fayer.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BARLAN M., BREAZU I., OPREA G., NEAGU M. (2002) : "Genetic diversity among accessions of perennial grasses and *Lotus corniculatus* varieties", *Multi-function grassland: Quality Forage, Animal Products and Landscapes*, Proc. 19th Gen. Meet. Europ. Grassl. Fed., La Rochelle (France), J.L. Durand, J.C. Emile, C. Huyghe, G. Lemaire éd., *Grassland Science in Europe*, 7, 400-401.
- BERNARD F., FUSTEC J. (2007) : "Comparison of the development of two grassland legumes grown in different silt soils", *Permanent and temporary Grassland : plant, environment and economy*, Proc. 14th Symp. Europ. Grassl. Fed., Gent (Belgium), A. De Vliegher, L. Carlier eds., *Grassland Science in Europe*, 12, 189-191.
- CARLSSON G., PALMBORG C., JUMPPONEN A., SCHERER-LORENZEN M., HÖGBERG P., HUSS-DANELL K. (2009) : "N₂ fixation in the three perennial *Trifolium* species in experimental grasslands of varied plant species richness and composition", *Plant Ecology*, 205, 87-104.
- DAVIS M.R. (1991) : "The comparative phosphorus requirements of some temperate perennial legumes", *Plant and Soil*, 133, 17-30.
- DURU M. (2008) : "Les prairies multispécifiques : vers la troisième révolution fourragère ? Bilan des journées AFFF et pistes de travail", *Fourrages*, 195, 331-342.
- FRAME J., CHARLTON J.F.L., LAIDLAW A.S. (1998) : *Temperate forage legumes*, CAB International Wallingford, UK, 327 p.
- FUSTEC J., BERNARD F. (2008) : "Comparison of yields and biological nitrogen fixation of two legumes grown in different silt soils", *Biodiversity and Animal Feed. Future Challenges for Grassland Production*, Proc. Symp. Europ. Grassl. Fed., Uppsala (Sweden), *Grassland Science in Europe*, 13, 245-250.
- FUSTEC J., GAYRAUD P., COUTARD J.P. (2008) : "Intérêt des mélanges et des associations en agriculture biologique", *Fourrages*, 194, 175-187.
- FUSTEC J., LESUFFLEUR F., MAHIEU S., CLIQUET S. (2010) : "Nitrogen rhizodeposition of legumes. A review", *Agronomy for Sustainable Development*, 30, 57-66.
- GOH K.M., BRUCE G.E. (2005) : "Comparison of biomass production and biological nitrogen fixation of multi-species pastures (mixed herb leys) with perennial ryegrass-white clover pasture with and without irrigation in Canterbury, New Zealand", *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 110, 230-240.
- GYLFADÓTTIR T., HELGADÓTTIR A., HØGH-JENSEN H. (2007) : "Consequences of including adapted white clover in northern. European grassland: transfer and deposition of nitrogen", *Plant and Soil*, 297, 93-104.
- GRUPE PRAIRIE DES PAYS DE LOIRE (2007) : *La prairie multi-espèces. Guide pratique du Groupe régional Prairie des Pays de Loire*, Arvalis, Chambre régionale d'Agriculture et Conseil Régional des Pays de la Loire, 21 p.
- HANSEN J.P., VINTHER F.P. (2001) : "Spatial variability of symbiotic N₂ fixation in grass-white clover pastures estimated by the ¹⁵N isotope dilution method and the natural ¹⁵N abundance method", *Plant and Soil*, 230, 257-266.
- HØGH-JENSEN H., SCHJOERRING J.K. (1997) : "Residual nitrogen effect of clover-ryegrass swards on yield and N uptake of a subsequent winter wheat crop as studied by use of ¹⁵N methodology and mathematical modelling", *European Journal of Agronomy*, 6, 235-243.

- HØGH-JENSEN H., SCHJOERRING J. K. (2001) : "Rhizodeposition of nitrogen by red clover, white clover and ryegrass leys", *Soil Biology and Biochemistry*, 33, 439-448.
- HUYGHE C., LITRICO I. (2008) : "Analyse de la relation entre la diversité spécifique des prairies et leur valeur agronomique", *Fourrages*, 194, 147-160.
- JONES D. A., TURKINGTON R. (1986) : "Biological flora of the British Isles. Lotus corniculatus L.", *Journal of Ecology*, 74, 1185-1212.
- LE GALL A., LE MEUR D., GRASSET M., FOUGÈRE M. (1999) : *Le trèfle blanc, un moyen économique d'assurer la nutrition azotée des prairies*, Journée technique *Fertilisation azotée des prairies dans l'ouest*, Rennes, 25 février 1999.
- LOISEAU P., SOUSSANA J.F., LOUNAU F., DELPY R. (2001) : "Soil N contributes to the oscillations of the white clover content in mixed swards of perennial ryegrass under condition that stimulate grazing over five years", *Grass and Forage Science*, 56, 205-217.
- LORGEU J., BATTEGAY S., PELLETIER P. (2007) : "Adaptations à la sécheresse par les choix techniques de conduite des cultures pour les prairies", *Fourrages*, 190, 207-221.
- McAULIFFE C., CHAMBLEE D.S., URIBE-ARANGO H., WOODHOUSE J.W.W. (1958) : "Influence of inorganic nitrogen on nitrogen fixation by legumes as revealed by ^{15}N ", *Agronomy Journal*, 50, 334-337.
- MIN B.R., ATTWOOD G.T., McNABB W., MOLAN A., BARRY T.N. (2005) : "The effect of condensed tannins from *Lotus corniculatus* on the proteolytic activities and growth of rumen bacteria", *Animal Feed Science & Technology*, 121, 45-58.
- PFLIMLIN A., LE GALL A., GAUTIER D., ARNAUD J.D. (2003) : "Les légumineuses fourragères, une voie pour concilier autonomie en protéines et environnement", *Fourrages*, 174, 183-203.
- QIAO Y.F., TANG C.Y., HAN X.Z., MIAO S.F. (2007) : "Phosphorus deficiency delays the onsets of nodule functions in soybean", *Journal of Plant Nutrition*, 30, 1341-1353.
- SEGUIN P., RUSSELLE M.P., SHEAFFER C.C., EHLKE N.J., GRAHAM P.H. (2000) : "Dinitrogen fixation in Kura clover and birdsfoot trefoil", *Agronomy Journal*, 92, 1216-1220.
- SPEHN E.M., SCHERER-LORENZEN M., SCHMID B., HECTOR A., CALDEIRA M. C., DIMITRAKOPOULOS P.G., FINN J.A., JUMPPONEN A., O'DONNOVAN G., PEIRERA J.S., SCHULZE E.D., TROUMBIS A.Y., KÖRNER C. (2002) : "The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biodiversity nitrogen", *Oikos*, 98, 205-218.
- TEMPERTON V.M., MWANGI P.N., SCHERER-LORENZEN M., SCHMID B., BUCHMANN N. (2007) : "Positive interactions between nitrogen-fixing legumes and four different neighbouring species in a biodiversity experiment", *Oecologia*, 151, 190-205.
- WILLIAMS G.H. (1988) : "L'intérêt des lotiers: un possible renouveau", *Fourrages*, 116, 329-345.

