

# SÉLECTION D'ÉCOTYPES LOCAUX DE TRÈFLE SOUTERRAIN

D. MATTHÄUS

## 1. INTRODUCTION

Cette étude entre dans le cadre du sous-programme amélioration et sauvegarde des ressources génétiques du Projet INRA/GTZ - Culture de plantes fourragères. Elle s'étale sur 3 ans (1987-1990) et a pour objectif de créer des données de base pour la sélection de variétés mieux adaptées de *Trifolium subterraneum* à partir d'écotypes autochtones. Une première sélection préliminaire a été effectuée, au début de la campagne 1989/90, à partir des 840 écotypes collectés au Maroc en 1987/88 et observés une première fois en 1988/89. 187 écotypes ont été testés sur 5 sites.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1. Groupement en écotypes des plantes collectées en 1987/88

Les 2 200 plantes individuelles collectées ont été replantées au Guich. Les plantes d'une même espèce (*T. subterraneum*, *T. brachycalycinum*, *T. yanninicum*) à dessin foliaire et pilosité, caractéristiques de fleurs et de semences semblables (KATZ-NELSON & MORLEY, 1965 ; KATZNELSON, 1974) ont été groupées en un écotype.

### 2.2. Première évaluation, période de végétation 1988/89

#### 2.2.1. Dispositif expérimental

La surface expérimentale a été mise à notre disposition par la Station d'élevage de l'INRA à El Koudia. Un lattis balancé à 3 répétitions (nombre de parcelles : 28 x 28) y a été installé.

2.2.2. *Caractéristiques relevées* (tableau 1)

Tableau 1. Récapitulatif des plus importantes caractéristiques relevées

But	Date (jours après semis)	Caractéristiques relevées
<b>Développement et croissance</b>		
Développement (végétatif)	30,45, 70, 102 (à la floraison)	Stade de devel. atteint par ex. 1 feuille trifoliée 2-3 feuilles 3-7 feuilles rosette ramification 1er degré - - -
Développement (génératif)	75 - 165 80 - 165	ramification 9ème degré Début floraison (1ère fleur) Début pleine floraison (75% du peuplement en fleurs)
Croissance	161 - 214 70 102,135	Fin floraison (<10% en fleurs) Mesure du plus grand rayon de rosettes Mesure du long rameau (marqué)
<b>Caractéristiques agronomiques</b>		
Levée au champ	34,45	Nombre de plantes levées
Sensibilité aux maladies	133 - 150	Maladie % du peuplement attaqué Intensité de la maladie
Estimation du rendement Matière verte + Rendement en semences	Fin floraison	Longueur du rameau marqué No. de noeuds du rameau marqué No. de rejets latéraux No. noeuds du rameau 1er degré; No. de noeuds + rejets latéraux No. rameaux 1er degré gousses par capitule graines par gousse

### 2.2.2.1. Observations concernant le développement et la croissance

Les stades de développement atteints ont été relevés en tout à 5 dates à intervalle de 4 semaines. En ce qui concerne l'évolution du développement général, le début de floraison, le début de pleine floraison et la fin de floraison de chaque écotype ont été notés. L'évolution de la croissance a été relevée en mesurant à 4 reprises la longueur de rameaux marqués.

### 2.2.2.2. Observations concernant différentes caractéristiques agronomiques

La levée au champ et la sensibilité aux maladies ont été également notées. Une notation concernant la morphologie devait nous permettre de comparer la capacité des différents écotypes à former de la matière verte et des semences.

### 2.2.2.3. Observations concernant la teneur en formononétine

Des échantillons foliaires de chaque écotype ont été prélevés au stade pleine floraison dont les extraits d'éthanol (COLLINS & TAN, 1983) ont été analysés par H.P.L.C. (méthode selon SACHSE, 1984) et leur teneur en formononétine déterminée.

### 2.2.2.4. Observations concernant la dureté des semences

Des échantillons de semences ont été entreposés, fin juillet 1989, après la récolte, à l'extérieur dans des sachets en tissu pendant environ 2 mois. Ensuite, ils ont été soumis non scarifiés à un test de germination de 2 jours.

## 2.2.3. Critères de sélection

Les critères de la première sélection préliminaire ont été les suivants : teneur en formononétine, début de floraison, dureté des semences, attaque du Virus Read Leaf (la maladie la plus importante) et capacité de rendement. Un schéma par points a été élaboré, à partir duquel les meilleurs écotypes de l'année 1988/89 ont été sélectionnés.

## 3. RÉSULTATS

### 3.1. Collecte 1987/88

#### 3.1.1. Espèces rencontrées

Parmi les variétés collectées figuraient *T. subterraneum* (T.s.) (100 sites de collecte), *T. brachycalycinum* (T.b.) (577 sites de collecte) et probablement aussi *T. yanninicum*

(T.y.) (11 sites de collecte)(fig. 1). La variété la plus fréquente, T.s., a été rencontrée seule dans 54 % des cas, mais également très souvent accompagnée de T.b. (40 %).

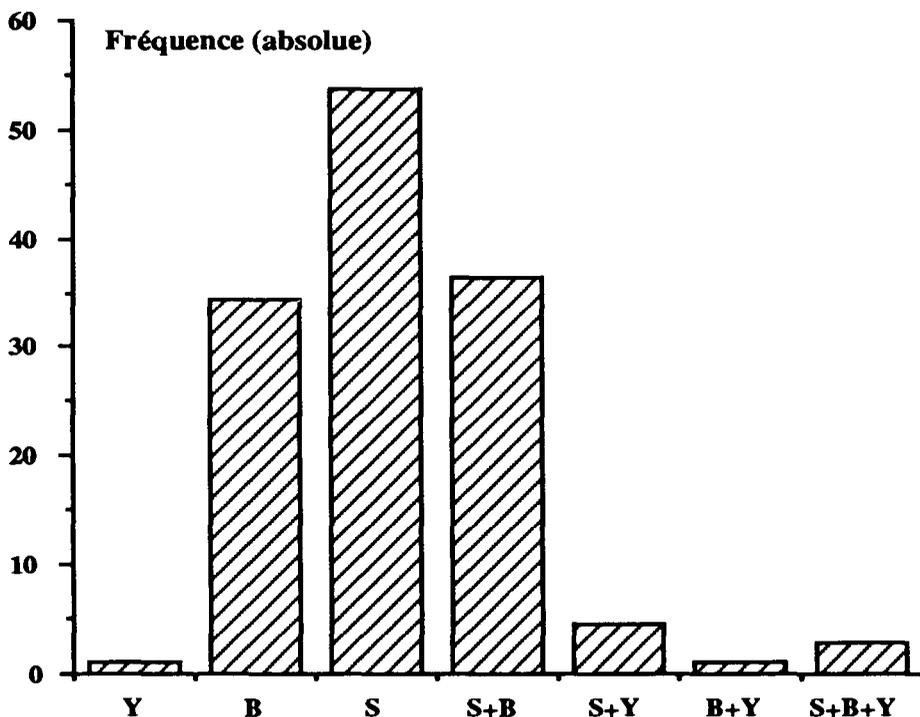


Figure 1. Fréquence (absolue) des associations d'espèces rencontrées

Associations : T. yannicum (Y) n = 1; T. brachycalycinum (B) n = 35; T. subterraneum (S) n = 54; (S + B) n = 37; (S + Y) n = 5; (B + Y) n = 1; (S + B + Y) n = 4

### 3.1.2. Distribution en fonction de la pluviométrie

Les sites de collecte se situaient dans une zone de pluviométrie annuelle moyenne de 250 à 1 370 mm (fig. 2). Ils ont été répartis, selon la classification de LE HOUÉROU, en zone aride, semi-aride, sub-humide et humide. T.s. a été trouvé dans 46 % des cas dans la zone semi-aride et dans 41 % des cas dans la zone sub-humide (soit 87 %). Dans 88,3 % des cas, T.b. a été rencontré dans les mêmes zones pluviométriques avec une préférence pour les sites sub-humides (54,5 %). T.y. préfère la zone sub-humide où sa fréquence est de 64 %.

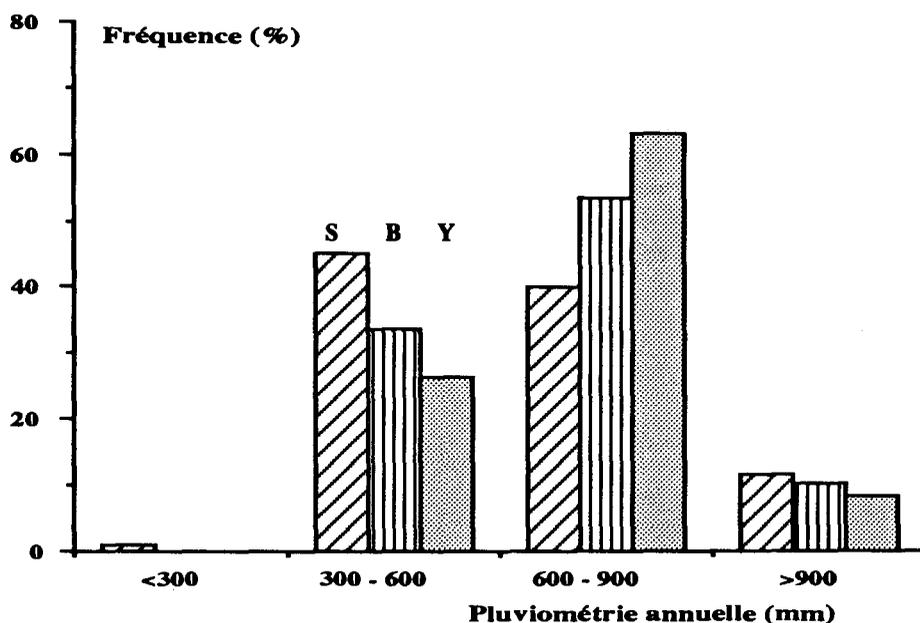


Figure 2. Distribution des 3 espèces selon la pluviométrie annuelle

*T. subterraneum* (S) n = 94 ; *T. brachycalycium* (B) n = 71 ; *T. yannicum* (Y) n = 11

### 3.1.3. Distribution en fonction de l'altitude

Les sites de collecte étaient situés à une altitude de 0 à 2 000 m (fig.3). Toutes les variétés ont été rencontrées le plus souvent (57 sites de collecte) à moins de 200 m (T.s. 32,2 %, T.b. 36,8 %, T.y. 55,6 %). La fréquence de T.s. diminue continuellement avec l'altitude ; il est toutefois assez fréquent entre 200 -500 m (20 %) et 500-1 000 m (19 %). Son site de collecte le plus élevé se trouvait à 2 000 m. T.b. a également été trouvé à toutes les altitudes ; sa présence est la plus fréquente à moins de 200 m et ensuite entre 500 et 1 000 m (28 %). T.y. se trouve surtout à moins de 200 m ; sa limite d'altitude semble être inférieure à 1 000 m étant donné que le site de collecte le plus élevé était de 680 m.

### 3.1.4. Distribution en fonction du pH du sol

Les valeurs pH (pH-KCl) des sites de collecte s'échelonnaient de 4,06 à 7,96. Le pH optimal de T.s. se situe apparemment dans la zone acide. Dans 85 % des cas, ses écotypes ont été rencontrés sur des sites à pH fortement à faiblement acide, 16 % seulement sur des sites d'un pH > 7 (fig. 4).

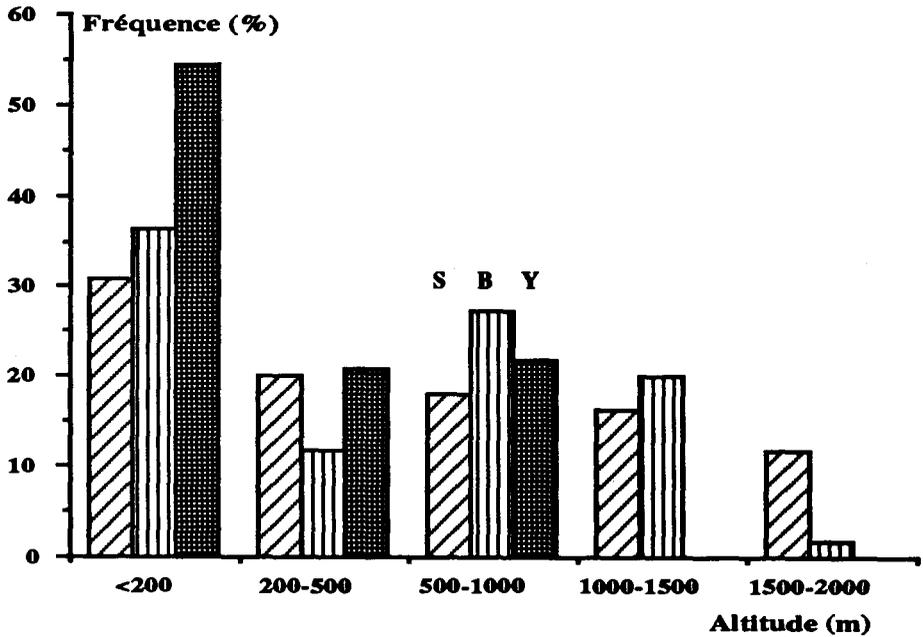


Figure 3. Distribution des 3 espèces en fonction de l'altitude  
*T. subterraneum* (S), n = 90; *T. brachycalycinum* (B), n = 68; *T. yannicum* (Y), n = 9

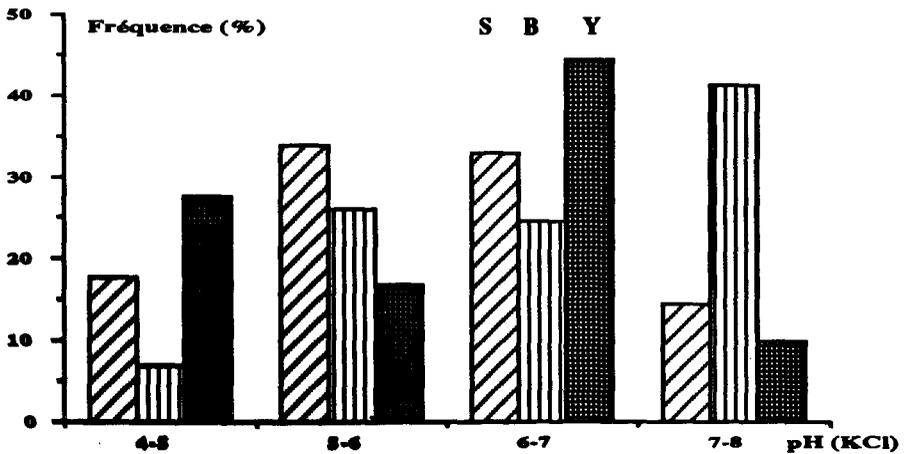


Figure 4. Distribution des 3 espèces en fonction du pH  
*T. subterraneum* (S), n = 90; *T. brachycalycinum* (B), n = 68; *T. yannicum* (Y), n = 9

T.b. est moins fréquent (seulement 7 %) dans la zone fortement acide. Il préfère plutôt des sols faiblement acides (26 %) à neutres (25 %) et apparaît le plus souvent dans la zone alcaline de pH 7-8. T.y. se comporte comme T.s. et se rencontre plutôt sur des sols acides. Il a été rencontré le plus souvent à pH 6-7 (45,4 %).

### 3.2. Période de végétation 1988/89

#### 3.2.1. Formononétine

Les pertes économiques élevées par "clover disease" dans l'élevage ovin en Australie ont été attribuées au phyto-oestrogène Formononétine contenu dans les espèces de *Trifolium*. Par conséquent, la teneur en formononétine (en % de la M.S.) constitue le critère principal de la présente sélection.

L'analyse de la teneur en formononétine chez les écotypes marocains a abouti à des résultats positifs (fig. 5). En effet, 90,1 % des écotypes analysés avaient une teneur inférieure à la valeur limite de 0,2 % de formononétine dans la matière sèche. Dans la ration fourragère, cette teneur est considérée comme absolument inoffensive pour les ovins (COLLINS *et al.*, 1984 ; MARSHALL, 1973). 70,2 % de tous les écotypes avaient

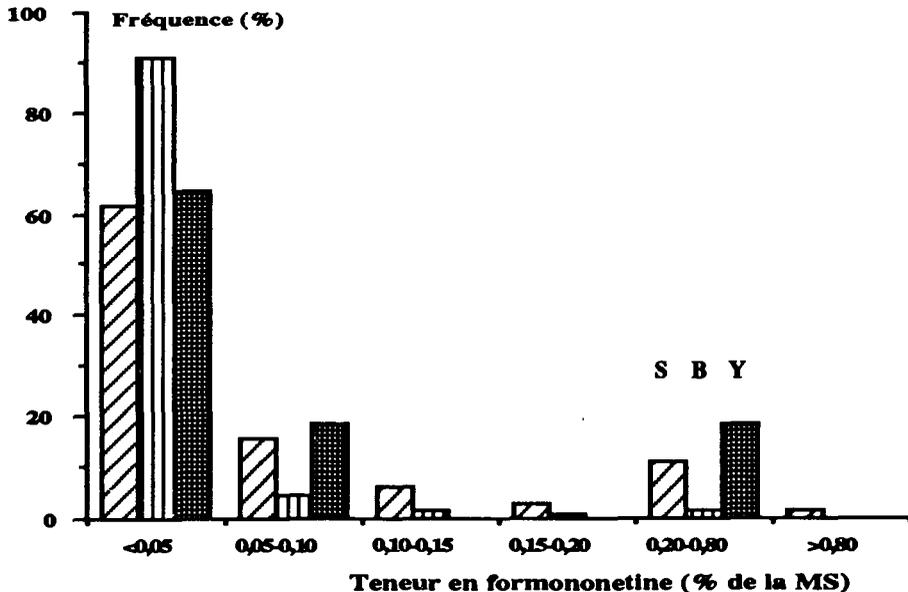


Figure 5. Distribution des écotypes en fonction de teneur en formononétine (%) de la MS)

*T. subterraneum* (S), n = 569 ; *T. brachycalycinum* (B), n = 238 ; *T. yannanicum* (Y), n = 11

une teneur en formononétine inférieure à 0,05 % dans la M.S.. Il est, par ailleurs, intéressant de signaler que seule l'espèce *subterraneum* a atteint chez 13 écotypes (1,5 % de tous les écotypes) une teneur en formononétine dans la M.S supérieure à 0,8 %. Cette valeur limite interdit son emploi comme plante fourragère (MARSHALL, 1973).

La teneur moyenne de tous les espèces et types s'élève à 0,079 % de la matière sèche Elle est de 0,103 % chez l'espèce *subterraneum*, 0,091 % chez *yannicum* et 0,023 % chez *brachycalycinum*. Cet ordre de teneurs décroissantes est en accord avec la littérature dans la mesure où l'espèce *brachycalycinum* est toujours l'espèce aux plus basses teneurs en formononétine (MORLEY & FRANCIS, 1967 ; RITTER, 1978).

### 3.2.2. Dureté des semences

Un autre critère de sélection est la dureté des semences en relation avec le début de la floraison (fig. 6). En ce qui concerne l'adaptation à certains sites, les types à floraison précoce et à semences à dureté élevée (> 60 %), les types à floraison moyenne et à semences à dureté moyenne (40 - 60 %) et les types tardifs à semences à faible dureté (< 40 %) ont été classés pareillement.

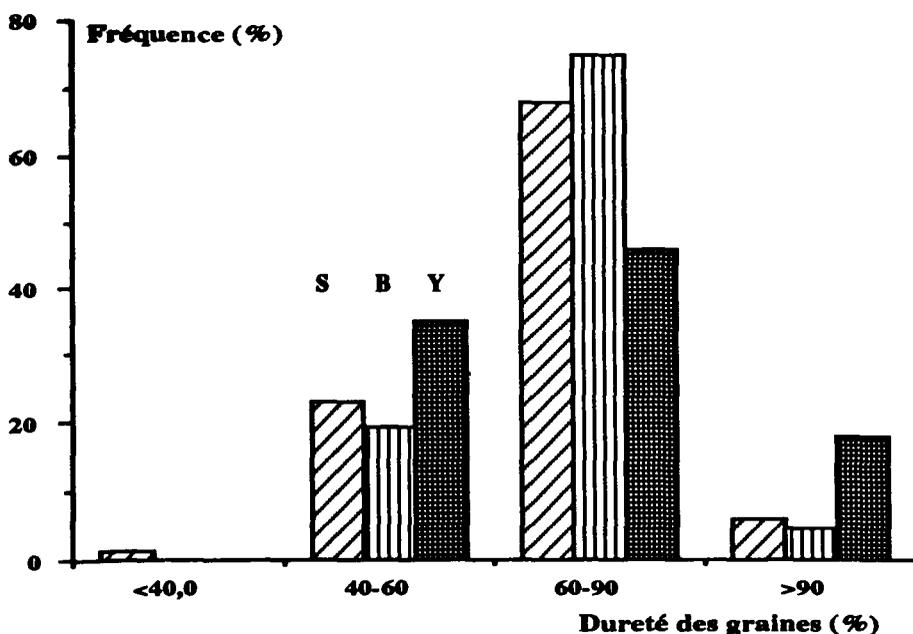


Figure 6. Distribution des écotypes en fonction de la dureté des graines (%)  
*T. subterraneum* (S), ;*T. brachycalycinum* (B), ;*T. yannicum* (Y)

Parmi les écotypes observés, 76,4 % avaient atteint une dureté de semences élevée, dont 6,2 % dépassaient 90 %. La valeur la plus élevée se situait à 97,9 %, la plus basse à 12,8 %. La moyenne de la totalité des espèces et types était de 69,6 % de dureté de semences. Bien que les moyennes des 3 espèces décèlent une légère augmentation dans l'ordre *subterraneum* (69,1 %) < *brachycalycinum* (70,1 %) < *yannicum* (71,1 %), les différences n'étaient pas nettes.

### 3.2.3. Début de floraison

Les écotypes observés (fig. 7) ont été classés d'après le début de leur floraison, mesuré en jours à partir du semis, en groupes à floraison précoce (70-90 jours), moyenne (90-120 jours) et tardive (> 120 jours).

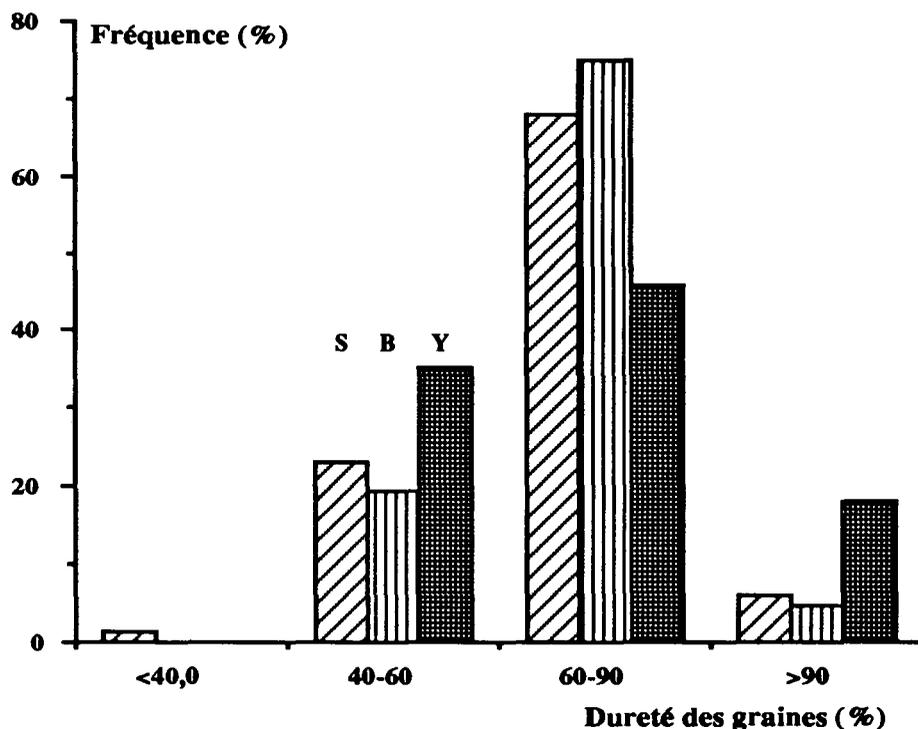


Figure 7. Distribution des écotypes en fonction du début de floraison

*T. subterraneum* (S), n = 537 ; *T. brachycalycinum* (B), n = 235 ; *T. yannicum* (Y), n = 11

60,5 % des écotypes ont été classés dans le groupe à floraison moyenne. 25 % seulement appartenait au groupe à floraison précoce et 14,5 % au groupe à floraison tardive.

La moyenne de la totalité des espèces et écotypes s'éleve à 102 jours. Les moyennes des espèces *subterraneum* et *yannicum* (96 et 93 jours, respectivement) sont très proches. La moyenne de l'espèce *brachycalycinum* de 115 jours reflète très bien la tardivité de cette espèce par rapport aux autres.

La variation entre la date de floraison la plus précoce et la plus tardive est grande à l'intérieur d'une espèce : 91 jours chez *T. subterraneum*, 83 jours chez *T. brachycalycinum*, 30 jours chez *T. yannicum*. Toutefois, cette affirmation est seulement fondée sur 11 écotypes disponibles.

#### 4. RELEVÉS PENDANT LA PÉRIODE DE VÉGÉTATION 1989/90

Il est prévu d'effectuer cette année les relevés suivants sur 5 sites : levée au champ, début floraison, rendement en hiver et au printemps, attaque de maladies et rendement en semences. Les résultats permettront une nouvelle réduction du nombre d'écotypes.

#### 5. CONCLUSION

Il ressort des résultats de la campagne 1988/89 qu'une grande variabilité génétique existe aussi bien entre les espèces qu'entre les écotypes d'une espèce. Par conséquent, nous disposons de suffisamment de matériel pour les sélections suivantes.

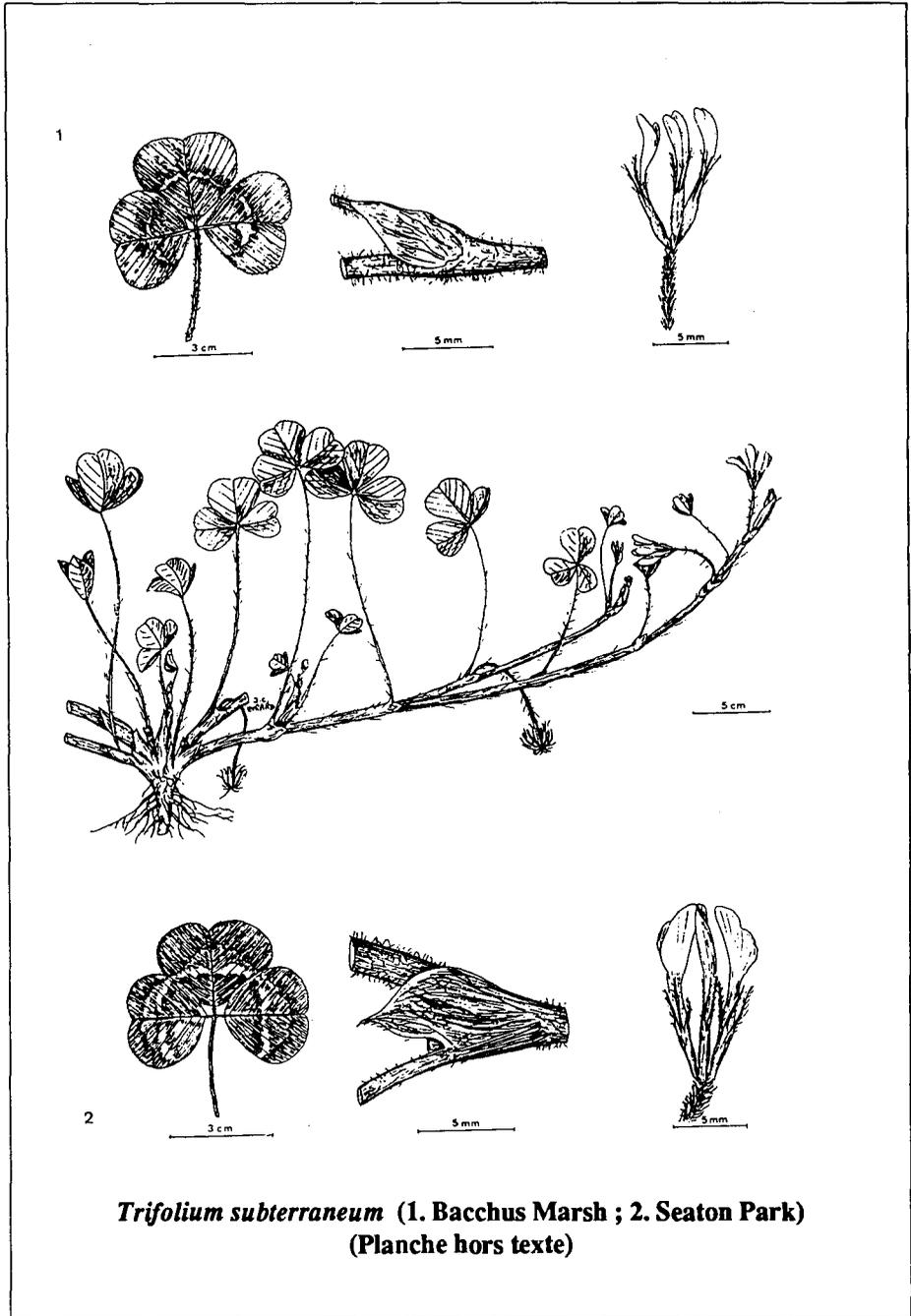
#### 6. PERSPECTIVES

L'ensemble du programme de sélection jusqu'à la proposition des premières variétés sera probablement conduit jusqu'en 1995.

À partir de 1989/90, les essais seront effectués sur 5 sites (Oulmès, Larache (plantation de thé de l'INRA, ferme Zouada), Had Ghoualem, El Koudia). Ceci sera réalisé avec le concours d'une nouvelle collaboratrice qui réunira les travaux effectués sur *Trifolium* et *Medicago* dans la campagne 1990/91. Ensuite, jusqu'en 1993, des études seront effectuées sur le rendement, la tolérance (pâturage, coupe, fertilisation, traitement chimique) qui permettront de tirer les premières conclusions en ce qui concerne la persistance des écotypes. Il est prévu de recueillir jusqu'en 1995 le plus de résultats pour proposer des variétés à l'inscription dans le catalogue variétal.

**RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

- COLLINS, W.J. & B. TAN (1983). *Isoflavone Analysis, Procedures Manual*. Institute of Agriculture, University of Western Australia.
- COLLINS, W.J. ; FRANCIS C.M. & QUINLIVAN (1984). Registered cultivars of subterranean clover - their origin, identification and potential use in Western Australia. *Bulletin 4083*, Western Australian Department of Agriculture.
- KATZNELSON, J. & F.H.W. MORLEY (1985). A taxonomic revision of sect. Calycormorphum of the genus *Trifolium* I. The geocarpic species. *Israel Journal of Botany* 14 : 112-134.
- KATZNELSON, J. (1974). Biological flora of Israel, 5. The subterranean clovers of *Trifolium* subsect. Calycormorphum Katzn. *Trifolium subterraneum* L. *Israel Journal of Botany*, 23 : 69-108.
- MARSHALL, T. (1973). Clover disease - what we know and what we can do. *Journal of Agriculture W.A.*, 14.
- MORLEY, F.H.W. & C.M. FRANCIS (1968). Varietal and environmental variation in isoflavone concentrations in subterranean clover. *Australian Journal of Agricultural Research*, 19 : 15-26
- SACHSE, J.C. (1984). Quantitative Hochdruckflüssigchromatographie von Isoflavonen in Rotklee (*T. pratense* L.). *Journal of Chromatography*, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 175-182
- RITTER, W. (1978). *Über die Isoflavongehalte (Formononetin, Genistein und Biochanin A) von bodenfrüchtigem Klee (Trifolium subterraneum) in Nordwest-Tunesien*. Dissertation, Universität Bonn, R.F.A.



*Trifolium subterraneum* (1. Bacchus Marsh ; 2. Seaton Park)  
(Planche hors texte)