

*Acta Oecologica*  
*Oecol. Plant.*, 1989, Vol. 10, n° 2, p. 215-224.

## Choix des critères de sélection chez un arbre fixateur de $N_2$ : *Casuarina equisetifolia*

B. Sougoufara (\*), E. Duhoux (\*\*) et Y. R. Dommergues (\*\*\*)

(\*) *Direction de la conservation des sols et du reboisement et O.R.S.T.O.M.,  
 B.P. n° 1386, Dakar, Sénégal.*

(\*\*) *Université de Paris-VII et B.S.S.F.T.*

(\*\*\*) *B.S.S.F.T., Laboratoire commun O.R.S.T.O.M./C.T.F.T. (C.I.R.A.D.)/C.N.R.S.,  
 45 bis, avenue de la Belle-Gabrielle,  
 94736 Nogent-sur-Marne Cedex, France*

### RÉSUMÉ

Des boutures âgées de 3 mois de trois clones de *Casuarina equisetifolia* (S,  $\alpha$ ,  $\beta$ ) différant par leur aptitude à noduler, ont été plantées dans un sol stérilisé déficient en N, marqué avec de l'urée  $^{15}N$  afin de comparer les quantités d'azote de la plante provenant de la fixation de  $N_2$  ( $N_{dfs}$ ) et du sol ( $N_{dfs}$ ). Une moitié des plantes a été inoculée avec la souche de *Frankia* ORS021001, l'autre n'a pas été inoculée. Douze mois plus tard, on a procédé à la récolte des plantes. Les clones inoculés différaient les uns des autres non seulement par le poids de leurs nodules mais aussi par leur aptitude à fixer  $N_2$  ( $N_{dfs}$ ) et à absorber N du sol ( $N_{dfs}$ ). Les clones non inoculés différaient entre eux par leur  $N_{dfs}$ . Contrairement à ce que l'on pouvait attendre, les valeurs  $N_{dfs}$  n'étaient nullement reliées aux valeurs  $N_{dfs}$ . Les valeurs  $N_{dfs}$  des plantes inoculées étaient toujours plus élevées que celles des témoins non inoculés, ce qui explique que les chiffres de fixation de  $N_2$  fondés sur la « méthode de la différence » sont souvent surévalués. Une partie de la discussion a porté sur le problème du choix de critères de sélection des clones.

MOTS CLÉS: sélection clonale. *Frankia*, *Casuarina equisetifolia*,  
 fixation de  $N_2$ ,  $^{15}N$ , azote du sol.

### ABSTRACT

Three-month old cuttings of three clones of *Casuarina equisetifolia* (S,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), already known to differ by their mean nodule weight, were planted in a sterile N-deficient soil labelled with  $^{15}N$  urea to compare the amounts of plant N derived from  $N_2$  fixation ( $N_{dfs}$ ), and from soil ( $N_{dfs}$ ). One half of the cuttings was inoculated with *Frankia* strain ORS021001, the other half remained uninoculated. Twelve months later, plants were harvested. Inoculated clones appeared to differ from each other not only by their nodule weight, but also by their ability to fix  $N_2$  ( $N_{dfs}$ ) and to absorb soil N ( $N_{dfs}$ ). Uninoculated clones differed from each other by their  $N_{dfs}$ . Unexpectedly,  $N_{dfs}$  were not correlated with  $N_{dfs}$ .  $N_{dfs}$  of inoculated plants was significantly higher than that of uninoculated controls, which explains why figures of  $N_2$  fixation based on the "difference method" are often overestimated. The choice of criteria for selecting the clones is discussed.

KEY WORDS: clonal selection. *Frankia*, *Casuarina equisetifolia*,  
 $N_2$  fixation,  $^{15}N$ , soil N.

*Acta Oecologica/Oecologia Plantarum*. 0243-7651/89/02/215/10/\$ 3.00. © Gauthier-Villars

Fonds Documentaire ORSTOM



010014193

039 Souf

Fonds Documentaire ORSTOM

Cote : B\* 14193 Ex : 1

## 1. INTRODUCTION

Les espèces ligneuses sont souvent caractérisées par une grande variabilité. Depuis plus d'une décennie, on a commencé à exploiter cette variabilité naturelle pour accroître la productivité de plusieurs espèces d'Eucalyptus (DELWAULLE, 1985) et de Pins (FRANCO & SCHWARZ, 1985) en faisant notamment appel à la sélection clonale.

Mais jusqu'à présent, à part le cas des aulnes (HUSS-DANELL, 1980; TREMBLAY *et al.*, 1984), cette approche n'a pas encore été utilisée pour augmenter la fixation de  $N_2$  chez les espèces ligneuses.

Au cours d'une expérience préliminaire effectuée en 1985, nous avons identifié deux clones de *Casuarina equisetifolia* appelés clones  $\alpha$  et  $\beta$ , qui à l'âge de 7 mois présentaient des différences significatives en ce qui concerne la biomasse de leurs parties aériennes, leur nodulation et leur aptitude à fixer  $N_2$  mesurée par la méthode de réduction à l'acétylène (SOUGOUFARA *et al.*, 1986 et 1987). Ces premiers résultats ont montré clairement que ces plants de *Casuarina equisetifolia* âgés de 7 mois présentaient de grandes différences dans leur aptitude à fixer  $N_2$ . C'est pourquoi nous avons décidé d'étendre cette étude à trois clones plus âgés (1 an au lieu de 7 mois) en comparant les caractéristiques suivantes: nodulation et fixation de  $N_2$  mesurée par différentes méthodes; absorption de l'azote du sol; biomasse des plantes exprimée en poids sec ou N total.

Cette comparaison a permis de proposer, parmi ces différentes caractéristiques, celles qui pourraient être utilisées pour identifier les individus à la fois bons fixateurs de  $N_2$  et bons producteurs de biomasse.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les trois clones utilisés ont été les deux clones,  $\alpha$  et  $\beta$ , qui avaient fait l'objet de l'étude préliminaire déjà citée (SOUGOUFARA *et al.*, 1986 et 1987) et un troisième clone, S, choisi en raison de sa nodulation médiocre. La souche de *Frankia* utilisée pour l'inoculation a été la souche ORS 021001 (DIEM *et al.*, 1982 et 1983).

On a rempli 54 seaux en plastique de 15 l chacun avec un sol dunaire dit sol de Cambérène préalablement stérilisé au bromure de méthyle. Ce sol est très sableux (98% de sable), acide (pH eau = 5,0) et très pauvre en N (0,01%) et en C (0,12%). Les seaux ont été installés en plein champ avec un espacement de 1,5 x 1,5 m. On les a enfoncés dans le sol en veillant à ce que le bord de chaque récipient dépasse la surface du sol de 5 à 10 cm. Les boutures des trois clones choisis (S,  $\alpha$ ,  $\beta$ ), obtenues par la méthode usuelle de bouturage, ont été mises en place dans les seaux, lorsqu'elles avaient 3 mois, à raison d'une bouture par seau. Étant donné que le sol de Cambérène est très pauvre en éléments minéraux (somme des bases échangeables: 0,17 meq/100 g), on a apporté au début de l'expérience 5 g de  $K_2HPO_4$  par récipient. Toutes les 2 semaines, on a apporté à chaque arbre 50 ml de la solution nutritive de Hewitt (1966) contenant par litre:  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ : 2,230g;  $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ : 0,250g;  $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ : 0,290g;  $H_3BO_3$ : 3,100g;  $NaCl$ : 5,850g;  $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$ : 0,121g.

L'expérience a comporté trois traitements avec six répétitions:

- *Traitement 1*: arbres non inoculés; application d'urée marquée  $^{15}N$  (excès isotopique 9,19%) à raison de 0,234 g N-urée par seau.
- *Traitement 2*: arbres non inoculés; application d'urée marquée  $^{15}N$  (excès isotopique 1,89%) à raison de 1,400 g N-urée par seau.

— *Traitement 3*: arbres inoculés avec *Frankia*; application d'urée marquée suivant les mêmes modalités que dans le traitement 1.

Le marquage du sol à l'aide de  $^{15}\text{N}$  avait pour objet de calculer d'une part la quantité de  $\text{N}_2$  fixé par les plantes inoculées, d'autre part la quantité de N du sol absorbé par les plantes inoculées et non inoculées.

La souche de *Frankia* ORS 021001 (DIEM *et al.*, 1982) a été cultivée sur milieu Q mod (LALONDE & CALVERT, 1979).

L'inoculation des boutures (traitement 3) a eu lieu au moment de leur mise en place dans les seaux en apportant à chaque plante une quantité de culture de *Frankia* ORS 021001 âgée de 3 semaines équivalente à 20  $\mu\text{g}$  de protéines. Pendant toute la durée de l'expérience, les plantes ont été arrosées régulièrement à l'eau du robinet.

Neuf mois après leur transplantation dans les seaux, les plantes ont été sacrifiées et l'on a récolté séparément les rameaux assimilateurs, les tiges, les racines et les nodules dans le cas des plantes inoculées. Aucune des plantes non inoculées n'a été contaminée par *Frankia*.

Pour chacun des différents organes des plantes (rameaux assimilateurs, tiges, racines, nodules) on a déterminé le poids sec, la teneur en N total et l'excès isotopique, cette dernière analyse ayant été effectuée au laboratoire de l'A.I.E.A. à Seibersdorf, Autriche.

A partir des excès isotopiques ainsi déterminés et du poids de chacun des différents organes, on a calculé l'excès isotopique pondéré de chaque plante. La fixation de  $\text{N}_2$  et de la quantité d'azote provenant du sol ont été estimées en utilisant la méthode isotopique directe et la méthode de la valeur A, le principe de ces deux méthodes ayant été rappelé par ailleurs par différents auteurs (FRIED *et al.*, 1983; RENNIE & RENNIE, 1983; CORNET *et al.*, 1985; HAUCK & WEAVER, 1986).

### 3. RÉSULTATS

#### 3. 1. BIOMASSE DES NODULES EXPRIMÉE EN POIDS SEC OU N TOTAL

Le poids sec des nodules diffère très significativement entre les trois clones, les valeurs moyennes étant les suivantes:  $S=11,5$ ;  $\alpha=17,3$ ;  $\beta=27,5$  g par plante. La biomasse des nodules exprimée en N total diffère également très significativement entre les trois clones, les valeurs moyennes étant les suivantes:  $S=0,128$ ;  $\alpha=0,227$ ;  $\beta=0,440$  g N par plante (tableau I):

Le classement des clones en fonction du critère « biomasse des nodules » est le suivant:

$$S < \alpha < \beta.$$

#### 3. 2. QUANTITÉ DE $\text{N}_2$ FIXÉ

##### 3. 2. 1. Quantité de $\text{N}_2$ fixé exprimée en valeur absolue

Quelle que soit la méthode d'estimation utilisée (méthode isotopique ou méthode de la valeur A) les clones diffèrent significativement les uns des autres mais le classement n'est plus le même que le classement fondé sur la biomasse des nodules (tableau I):  $\alpha < S < \beta$ .

Si l'on regroupe l'ensemble des données correspondant aux trois clones et aux deux méthodes d'estimation et que l'on effectue une analyse factorielle de toutes ces données, on obtient le même classement des clones:  $\alpha < S < \beta$ , les valeurs

TABLEAU I. — Biomasse des nodules des trois clones (S,  $\alpha$ ,  $\beta$ ) de *Casuarina equisetiolia* âgés de 12 mois et quantité de  $N_2$  fixé estimée suivant la méthode isotopique directe ou la méthode de la valeur A.

Clones	Biomasse des nodules (g/plante)		Quantité de $N_2$ fixé (g/plante)	
	Poids sec	N total	Méthode isotopique directe	Valeur A
S	11,5a	0,128 a	2,51 a (54)	2,73 (62)
$\alpha$	17,3b	0,227 b	1,87 (32)	1,54 (30)
$\beta$	27,5c	0,440 c	3,27 c (37)	3,85 (47)

(<sup>1</sup>) Entre parenthèses % de  $N_2$  fixé.

Dans chaque colonne les données suivies de la même lettre ne diffèrent pas significativement ( $P < 0,01$ ).

moyennes ainsi calculées étant les suivantes: clone S = 2,62; clone  $\alpha$  = 1,70; clone  $\beta$  = 3,56 g  $N_2$  fixé par plante.

Cette analyse factorielle montre en outre que les deux méthodes d'évaluation donnent des résultats non significativement différents, les valeurs moyennes calculées étant assez proches: méthode isotopique directe = 2,55 et méthode de la valeur A = 2,70 g  $N_2$  fixé par plante.

### 3. 2. 2. Pourcentage de $N_2$ fixé

Quelle que soit la méthode d'estimation utilisée (méthode isotopique ou méthode de la valeur A), les clones diffèrent significativement les uns des autres, le classement étant toutefois différent du classement fondé sur les valeurs absolues de quantité d'azote fixé (tableau I):  $\alpha < \beta < S$ . L'analyse factorielle de l'ensemble des données confirme ce classement; les trois clones diffèrent significativement, les pourcentages moyens calculés étant les suivants: clone S = 58,2%; clone  $\alpha$  = 31,3%; clone  $\beta$  = 42,5%. Les deux méthodes d'évaluation du pourcentage de  $N_2$  fixé donnent des résultats non significativement différents.

### 3. 3. QUANTITÉ DE N PROVENANT DU SOL

Dans le cas des plantes non inoculées (traitement 1), la quantité de N provenant du sol dans les tissus de la plante, est pratiquement égale à la quantité de N total (biomasse exprimée en N total) puisque le pourcentage de N provenant de l'engrais est faible: 1,5 à 2,3% (tableau II). C'est ainsi que pour le clone S la quantité de N provenant du sol est 1,48 g par plante et la quantité de N total (biomasse exprimée en N total) est de 1,51 g par plante. Les quantités de N provenant du sol pour chacun des clones non inoculés diffèrent très significativement: S = 1,48;  $\alpha$  = 2,14;  $\beta$  = 3,25 g N par plante.

Si l'on considère l'ensemble des données correspondant aux traitements 1 (plantes non inoculées) et 3 (plantes inoculées ayant reçu le même apport d'urée) et que l'on effectue une analyse factorielle de ces données, l'on observe que les clones diffèrent très significativement, les valeurs moyennes calculées étant les suivantes: S = 1,73;  $\alpha$  = 2,91;  $\beta$  = 4,20 g N du sol par plante et que l'effet de l'inoculation est très significatif: plantes non inoculées = 2,29 plantes inoculées = 3,60 g N du sol par plante.

Si l'on considère maintenant l'ensemble des données correspondant aux traitements 2 (plantes non inoculées ayant reçu un apport d'urée relativement élevé) et 3 (plantes inoculées avec un faible apport d'urée) et que l'on effectue une analyse factorielle portant sur ces données, l'on observe que les clones diffèrent significativement ( $\alpha$  versus  $\beta$ ) ou très significativement (S versus  $\beta$ ; S versus  $\alpha$ ) les uns des autres, les valeurs moyennes calculées étant les suivantes:  $S=1,83$ ;  $\alpha=3,27$ ;  $\beta=3,76$  g N du sol par plante et que l'effet de l'inoculation est très significatif: plantes non inoculées = 2,46; plantes inoculées = 3,45 g N du sol par plante.

Dans tous les cas, le classement des clones est le suivant:  $S < \alpha < \beta$ .

TABEAU II. — N provenant du sol et de l'engrais et biomasse des trois clones (S,  $\alpha$ ,  $\beta$ ) de *Casuarina equisetifolia* âgés de 12 mois non inoculés et inoculés avec la souche de Frankia ORS 021001.

Clone	N°	Traitements		N provenant ( <sup>1</sup> )		Biomasse	
		N-urée (g/plante)	Inoculat.	du sol (g/plante)	de l'engrais (%)	Poids sec (g/plante)	N total (g/plante)
S	1	0,232	0	1,48	2,3	204	1,51
	2	1,400	0	1,91	15,0	295	2,24
	3	0,232	+	1,99(I) 1,76(A)	1,0(I) 1,0(A)	417	4,54
$\alpha$	1	0,232	0	2,14	1,5	379	2,18
	2	1,400	0	2,52	8,2	421	2,28
	3	0,232	+	3,69(I) 4,02(A)	1,0(I) 1,0(A)	534	5,62
$\beta$	1	0,232	0	3,25	1,8	574	3,31
	2	1,400	0	2,95	11,7	764	3,35
	3	0,232	+	5,14(I) 4,57(A)	1,1(I) 1,1(A)	947	8,51

(<sup>1</sup>) Pour les données correspondant au traitement 3, les estimations peuvent être différentes suivant que l'on a utilisé la méthode isotopique directe (I) ou la méthode de la valeur A (A).

#### 3. 4. BIOMASSE DES PLANTES EXPRIMÉE EN POIDS SEC OU EN N TOTAL

En l'absence d'inoculation (traitement 1) les biomasses des trois clones diffèrent très significativement les uns des autres, avec les valeurs suivantes pour le poids sec: clone S=204; clone  $\alpha$ =379; clone  $\beta$ =574 g par plante et pour l'azote total: clone S=1,51; clone  $\alpha$ =2,18; clone  $\beta$ =3,31 g N par plante (tableau II).

Si l'on considère l'ensemble des données correspondant au traitement 1 (plantes non inoculées) et au traitement 3 (plantes inoculées ayant reçu le même apport d'urée) et que l'on effectue une analyse factorielle de ces données, l'on observe que les clones diffèrent très significativement. Les valeurs moyennes calculées pour les biomasses exprimées en poids sec sont les suivantes: clone S=310; clone  $\alpha$ =436; clone  $\beta$ =760 g par plante et pour les biomasses exprimées en N total: clone S=3,02; clone  $\alpha$ =3,90; clone  $\beta$ =5,91 g N/plante.

L'effet de l'inoculation est hautement significatif, les valeurs calculées des poids secs étant les suivantes: plantes non inoculées = 385; plantes inoculées = 612 g par plante et des biomasses exprimées en N total: plantes non inoculées = 2,33; plantes inoculées = 6,22 g par plante.

Si l'on considère maintenant l'ensemble des données correspondant aux traitements 2 (plantes non inoculées ayant reçu un apport d'urée relativement élevé) et 3 (plantes inoculées ayant reçu un faible apport d'urée) et que l'on effectue une analyse factorielle de ces données l'on observe que, là encore, les clones diffèrent très significativement. Les valeurs calculées pour les biomasses exprimées en poids sec étant les suivantes: clone S= 356; clone  $\alpha$ = 477; clone  $\beta$ = 855 g par plante et pour les biomasses exprimées en N total: clone S= 3,39; clone  $\alpha$ = 3,95; clone  $\beta$ = 5,93 g par plante.

L'effet de l'inoculation est hautement significatif, les valeurs calculées pour les biomasses exprimées en poids sec étant les suivantes: plantes non inoculées= 493; plantes inoculées= 632 g par plante et pour les biomasses exprimées en N total: plantes non inoculées: 2,62 plantes inoculées: 6,23 g N par plante.

Dans tous les cas, le classement des clones est le suivant:  $S < \alpha < \beta$ .

### 3. 5. CORRÉLATIONS

Dans le cas des plantes inoculées, on a construit une matrice de corrélation entre les huit variables étudiées (tableau III).

TABLEAU III. — Matrice des corrélations entre les huit variables étudiées (plantes inoculées).

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	1.000	0.950	0.886	0.851	0.385	0.407	0.869	0.888
2	0.950	1.000	0.850	0.753	0.535	0.587	0.873	0.912
3	0.886	0.850	1.000	0.962	0.010	0.339	0.769	0.761
4	0.851	0.753	0.962	1.000	-0.112	0.131	0.694	0.678
5	0.385	0.535	0.010	-0.112	1.000	0.566	0.426	0.512
6	0.407	0.587	0.339	0.131	0.566	1.000	0.554	0.540
7	0.869	0.873	0.769	0.694	0.426	0.554	1.000	0.977
8	0.888	0.912	0.761	0.678	0.512	0.540	0.977	1.000

1. Biomasse des plantes exprimée en poids sec.
2. Biomasse des plantes exprimée en N total.
3. N provenant du sol déterminé par la méthode isotopique directe.
4. N provenant du sol déterminé par la méthode de la valeur A.
5. N<sub>2</sub> fixé déterminé par la méthode isotopique directe.
6. N<sub>2</sub> fixé déterminé par la méthode de la valeur A.
7. Biomasse des nodules exprimée en poids sec.
8. Biomasse des nodules exprimée en N total.

On a indiqué en italique les corrélations correspondant à  $P < 0,01$ .

### 4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les trois clones étudiés diffèrent significativement les uns des autres, mais les classements varient en fonction des paramètres considérés.

Le classement  $\alpha < S < \beta$  correspond au paramètre « quantité de N<sub>2</sub> fixé en valeur absolue ». Le classement  $\alpha < \beta < S$  correspond au paramètre « pourcentage de N<sub>2</sub> fixé ».

Le classement  $S < \alpha < \beta$  s'observe pour les paramètres « biomasse des plantes (poids sec et N total) », « N provenant du sol », « biomasse des nodules (poids sec et N total) ».

Ces résultats suggèrent que l'aptitude à fixer  $N_2$  est indépendante de l'aptitude à utiliser N du sol. Ce fait est très bien mis en évidence sur la figure 1, où l'on voit que le clone S, bien que bon fixateur de  $N_2$ , utilise moins bien N du sol de sorte que sa biomasse totale est inférieure à celle du clone  $\alpha$ .

L'existence d'une variabilité intraspécifique en ce qui concerne l'aptitude à fixer  $N_2$  est bien connue depuis longtemps chez les légumineuses (CALDWELL & VEST, 1977; HEICHEL & VANCE, 1983; GRAHAM, 1984). Mais il semble que jusqu'à présent, on n'ait pas attaché assez d'importance à la variabilité intraspécifique que les plantes fixatrices d'azote peuvent présenter en ce qui concerne leur aptitude à assimiler l'azote du sol. Cette variabilité a été rapportée récemment par PHILLIPS *et al.* (1986), qui ont observé que, chez certaines lignées de *Cicer arietinum* et *Vigna unguiculata*, le pourcentage de N provenant du sol pouvait varier entre 30 et 190% dans 4 graines. Malheureusement cette étude diffère de la nôtre par le fait qu'elle porte seulement sur les graines et non sur l'ensemble du végétal. Il est donc probable que les pourcentages considérés par PHILLIPS *et al.* sont la résultante de deux processus distincts : l'absorption de N du sol et distribution de N dans les différentes parties de la plante.

Lorsque les clones  $\alpha$  et  $\beta$  sont inoculés, on remarque, en outre, qu'ils utilisent mieux N du sol, probablement (mais peut être pas exclusivement) grâce à une extension de leur système racinaire. Cet effet de l'inoculation a pour conséquence d'entraîner une surestimation parfois importante de fixation de  $N_2$  lorsqu'elle utilise la méthode de la différence (DOMENACH & CORMAN, 1985). C'est pourquoi, il est indispensable de faire appel à une méthode isotopique pour évaluer le potentiel fixateur d'un arbre.

Pour identifier les individus caractérisés à la fois par un bon potentiel fixateur de  $N_2$  et une productivité élevée, sur le plan de la biomasse, il est donc en principe nécessaire de déterminer :

(i) Le potentiel fixateur de  $N_2$  en utilisant une méthode isotopique, les résultats obtenus ici montrant qu'il n'y a pas de différence significative entre la méthode directe et la méthode de la valeur A.

(ii) La biomasse des plantes inoculées exprimée en N total, celle-ci reflétant à la fois le potentiel fixateur de  $N_0$  et l'aptitude de l'arbre à utiliser N du sol (fig. 1).

L'utilisation de ces deux critères n'est pas toujours facile si l'on cherche à effectuer un criblage rapide d'un nombre élevé d'individus. Puisqu'en pratique, la sélection des clones a pour objet l'accroissement de la production de biomasse, on peut se contenter de faire appel à deux critères simples « biomasse des plantes inoculées exprimée en N total » et « biomasse des nodules exprimée en poids sec et N total », le deuxième paramètre étant significativement ( $P < 0,01$ ) lié au premier (coefficients de corrélation 0,873 et 0,912). La biomasse des nodules est aussi significativement ( $P < 0,01$ ) liée à la quantité de  $N_2$  fixé déterminée par la méthode de la valeur A (coefficient de corrélation 0,554 et 0,540). Lorsque la biomasse des nodules est exprimée en N total (et seulement dans ce cas) la corrélation avec la quantité de  $N_2$  fixé déterminée par la méthode isotopique directe est moins étroite mais encore significative ( $P = 0,03$ ) avec un coefficient de corrélation de 0,512. Par

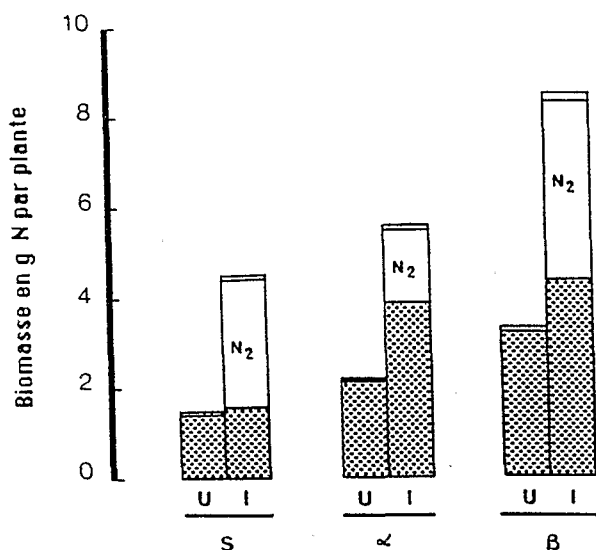


Fig. 1. — Biomasse (exprimée en g N par plante) des trois clones de *Casuarina equisetifolia* (S, α, β) 12 mois après leur transplantation. U: plants non inoculés; I: plants inoculés avec la souche de *Frankia* ORS 021001. La contribution du sol est représentée par les rectangles renfermant des points, celle de l'engrais azoté par les rectangles vides et celle de la fixation de N<sub>2</sub> par les rectangles avec l'indication « N<sub>2</sub> ». Cette figure a été établie à partir des résultats obtenus par la méthode de la valeur A. Ils auraient été légèrement, mais non significativement, différents si l'on avait fait appel à la méthode isotopique directe.

Fig. 1. — Biomass (expressed in terms of g N per plant) of the three clones of *Casuarina equisetifolia* (S, α, β) harvested 12 months after transplantation. U: uninoculated plants; I: plants inoculated with *Frankia* strain ORS 021001. N derived from soil is represented by rectangles with dots; N derived from nitrogen fertilizer by empty rectangles and N derived from N<sub>2</sub> fixation by rectangles with the indication "N<sub>2</sub>". The graph was drawn from the A value data; it would have been slightly, but not significantly different, if the direct isotope method data had been used.

contre, lorsque la biomasse des nodules est exprimée en poids sec, la corrélation n'est pas significative. Cette remarque suggère qu'il serait préférable d'exprimer la biomasse des nodules en N total. Il en est de même pour la biomasse des plantes pour laquelle l'idéal serait de se fonder sur la détermination de N total. Des expériences conduites par ailleurs ont montré que, contrairement à ce qui a été suggéré pour *Alnus* (HUSS-DANELL, 1980), le paramètre « hauteur » ne peut être substitué au paramètre « biomasse ».

Si l'on utilise le critère « biomasse des nodules », il est nécessaire de recourir, pour l'inoculation, à la même souche de *Frankia*. On peut toutefois objecter à cette façon de procéder le fait qu'il peut y avoir des interactions différentes entre les souches de *Frankia* et les clones, problème qui mériterait d'être exploré ultérieurement.

Il est probable que la sélection des clones sur la base des critères « biomasse totale des plantes » et « biomasse des nodules » pourrait être effectuée à un stade



précoce (6-7 mois). En effet, au cours de l'expérience préliminaire déjà citée (SOU-GOUFARA *et al.*, 1986 et 1987) et portant sur des plantes âgées de 7 mois, nous avons déjà montré que le clone  $\beta$  était bien plus performant que le clone  $\alpha$ . On pourrait alors envisager de multiplier en masse ces jeunes arbres à l'aide de techniques modernes de micropropagation (DUHOX *et al.*, 1986).

A la lumière des résultats présentés ici et de ceux obtenus par ailleurs (PHILLIPS *et al.*, 1986) chez des plantes annuelles, il apparaît que certains génotypes sont capables de fixer activement  $N_2$  atmosphérique et de présenter simultanément une grande capacité d'assimilation de N combiné du sol. Il serait donc intéressant de faire porter la sélection sur des génotypes associant ces deux caractéristiques.

Si la sélection des clones est un moyen commode d'accroître la productivité de *Casuarina equisetifolia*, il ne faut pas oublier que l'inoculation avec *Frankia* constitue un traitement indispensable dans tous les cas où le sol est dépourvu des *Frankia* spécifiques, ce qui est une situation très fréquente en Afrique pour les *Casuarinacées*. Dans le cadre de l'expérience rapportée ici, les augmentations de rendement consécutives à l'inoculation ont été spectaculaires: +200% pour le clone S, +158% pour le clone  $\alpha$ , et +157% pour le clone  $\beta$ .

Les progrès actuels de la technologie de la production des inoculums et de la micropropagation de la plante-hôte obtenus dans notre laboratoire nous permettent de penser que ces techniques pourront être transférées très prochainement au niveau des pépinières forestières.

#### BIBLIOGRAPHIE

- CALDWELL B. E. & VEST H. G., 1977. — Genetics aspects of nodulation and dinitrogen fixation by legumes: the macrosymbiont. In: *A treatise on dinitrogen fixation* HARDY R. W. F. & SILVER W. S. éd., Wiley, New York, 557-576.
- CORNET F., OTTO C., RINAUDO G., DIEM H. G. & DOMMERGUES Y., 1985. — Nitrogen fixation by *Acacia holosericea* grown in field-simulating conditions. *Oecol. Plant.*, 6, 211-218.
- DELWAULLE J. C., 1985. — Plantations clonales d'*Eucalyptus* hybrides au Congo. *Bois & Forêts des Tropiques*, 208, 37-42.
- DIEM H. G., GAUTHIER D. & DOMMERGUES Y., 1982. — Isolement et culture *in vitro* d'une souche infective et effective de *Frankia* isolée de nodules de *Casuarina* sp. *C.R. Acad. Sci.*, Paris, 295, série III, 759-63.
- DIEM H. G., GAUTHIER D. & DOMMERGUES Y., 1983. — An effective strain of *Frankia* from *Casuarina* sp. *Can. J. Bot.*, 2815-2821.
- DOMENACH A. M. & CORMAN A., 1985. — Use of  $^{15}N$  natural abundance method for the study of symbiotic fixation of field-grown soybeans. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 31, 311-321.
- DUHOX E., SOUGOUFOURA B. & DOMMERGUES Y., 1986. Propagation of *Casuarina equisetifolia* through axillary buds of immature female inflorescences cultured *in vitro*. *Plant Cell Reports*, 3, 161-164.
- FRANCO E. O. & SCHWARZ O. J., 1985. — Micropropagation of two tropical conifers: *Pinus oocarpa* Schiede and *Cupressus lusitana* Millier. in: *Issue culture in forestry and agriculture* HENKE R. R., HUGHES K. W., CONSTANTIN M. J. & HOLLANDER A., éd., Plenum Press, New York, 195-213.
- FRIED M., DANSO S. K. & ZAPATA F., 1983. — The methodology of measurement of  $N_2$  fixation by non legumes as inferred from field experiments with legumes. *Can. J. Microbiol.*, 29, 1053-1062.
- GRAHAM P. H., 1984. — Plant factors affecting nodulation and symbiotic nitrogen fixation in legumes. In: *Biological nitrogen fixation* ALEXANDER M. éd., Plenum Press, New-York, 75-98.

- HAUCK R. D. & WEAVER R. D. (Eds), 1986. — *Field measurement of dinitrogen fixation and denitrification*. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin.
- HEICHEL G. H. & VANCE C. P., 1983. — Physiology and morphology of perennial legumes. In: *Nitrogen fixation: legumes*, vol. 3, BROUGHTON W. J. éd., Clarendon Press, Oxford, 99-143.
- HEWITT E. J., 1966 - *Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition*.  
Technical communication n. 22. Commonwealth Agricultural Bureaux, London.
- HUSS-DANELL K., 1980. — Nitrogen fixation and biomass production in clones of *Alnus incana*. *New Phytol.*, 85, 503-511.
- LALONDE M. & CALVERT H. E., 1979. — Production of *Frankia* hyphae and spores as an infective inoculant for *Alnus* species. In: *Symbiotic nitrogen fixation in the management of temperate forests* GORDON J. C., WHEELER C. T. & PERRY D. A., (ed.), Oregon State University, Corvallis, Oregon, 95-110.
- PHILLIPS D. A., JONES M. B. & FOSTER K. W., 1986. — Advantages of the nitrogen-15 dilution techniques for field measurements of dinitrogen fixation in legumes. In: *Field measurement of dinitrogen fixation and denitrification*. HAUCK R. D. & WEAVER R. W., éd., Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, 11-21.
- RENNIE R. J. & RENNIE D. A., 1983. — Techniques for quantifying N<sub>2</sub> fixation in association with non legumes under field and greenhouse conditions. *Can. J. Microbiol.*, 29, 1022-1035.
- SOUGOUFARA B., DUHOUX E., CORBASSON M. & DOMMERMUES Y., 1986. — Amélioration de la fixation d'azote chez le filao (*Casuarina equisetifolia*) par sélection clonale. *Bois & Forêts des Tropiques*, 211, 47-51.
- SOUGOUFARA B., DUHOUX E., CORBASSON M. & DOMMERMUES Y., 1987. — Improvement of nitrogen fixation by *Casuarina equisetifolia* through clonal selection. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, 1, 129-132.
- TREMBLAY F. M., NESME X. & LALONDE M., 1984. — Selection and micropropagation of nodulating and non-nodulating clones of *Alnus crispa* (Ait.) Pursch. *Plant Soil*. 78, 171-179.