

Effet de l'hydromorphie sur la croissance de quatre variétés de trèfle (*Trifolium subterraneum* L.)

Samira Smiti, Essia Bizid, Mongi Hamza

► **To cite this version:**

Samira Smiti, Essia Bizid, Mongi Hamza. Effet de l'hydromorphie sur la croissance de quatre variétés de trèfle (*Trifolium subterraneum* L.). *Agronomie*, EDP Sciences, 2003, 23 (2), pp.97-104. 10.1051/agro:2002070 . hal-00886163

HAL Id: hal-00886163

<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00886163>

Submitted on 1 Jan 2003

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Effet de l'hydromorphie sur la croissance de quatre variétés de trèfle (*Trifolium subterraneum* L.)

Samira ASCHI SMITI*, Essia BIZID, Mongi HAMZA

Laboratoire de Physiologie Végétale, Faculté des Sciences de Tunis, Campus Universitaire, 1060 Tunis, Tunisie

(Reçu le 21 août 2001 ; accepté le 6 novembre 2001)

Abstract – Effect of waterlogging on growth of four varieties of clover (*Trifolium subterraneum* L.). Waterlogged soils are characterized by a prolonged oxygen deficit. Their improvement, by adapted cultural techniques, will be of interest. In this context, we observed the effect of flooding on the growth of four varieties of clover (*Trifolium subterraneum* L.) (in order to make these soils more profitable for agriculture). Applying hypoxic stress, at the second compound leaf stage, for 5, 10 and 20 days, revealed differences in tolerance. Indeed, the biomass production of the Park variety was stimulated in hypoxia (26% and 5%, respectively, after 10 and 20 d of treatment). At final harvest (20 d of hypoxia), the total biomass production of Larisa, Montbaker and Clare decreased to 7%, 10% and 36%, respectively. This result is probably due to the ability of each variety to produce adventitious roots, which is generally thought to be an adaptation to waterlogging.

clover / growth / hypoxia / adventitious roots

Résumé – Les sols hydromorphes sont caractérisés par un déficit prolongé en oxygène. Leur valorisation, par des techniques culturales adaptées, serait intéressante à considérer. Dans ce contexte, l'étude de l'effet de l'hydromorphie sur la croissance de quatre variétés de trèfle (*Trifolium subterraneum* L.), permet d'envisager de mieux rentabiliser de tels milieux pour l'agriculture. L'application du stress hypoxique, au stade deuxième feuille trifoliée, pendant 5, 10 et 20 jours, a révélé différents degrés de tolérance d'une variété à l'autre. En effet, la variété Park voit la production de sa biomasse stimulée en hypoxie de 26 % et 5 % respectivement après 10 et 20 jours de traitement. A la récolte finale (20 jours d'hypoxie), Larisa, Montbaker et Clare accusent une baisse de production de biomasse totale respectivement de 7 %, 10 % et 36 %. Ce résultat serait probablement dû à l'aptitude de chacune des quatre variétés à produire ou non des racines adventives reconnues comme caractère adaptatif à l'hydromorphie.

trèfle / croissance / hypoxie / racines adventives

1. INTRODUCTION

Dans les sols submergés, la saturation, permanente ou temporaire des pores sur la plus grande partie du profil, entraîne un déficit prolongé en oxygène. Dans ces milieux, les échanges gazeux avec l'atmosphère se trouvent très rapidement réduits. En effet, les microorganismes du sol utilisent, en quelques heures, tout l'oxygène dissout dans l'eau ou fixé dans les particules solides. Corrélativement, la pression partielle du CO₂ augmente rapidement, tandis que le taux du méthane et celui de l'hydrogène augmentent graduellement à cause d'une activité microbienne élevée [41]. Le manque d'oxygène rend ainsi le milieu asphyxique et réducteur [17, 35]. L'hypoxie s'installe dès que l'apport en oxygène devient limité pour l'activité respiratoire, comme on

peut l'observer, très rapidement dans les tissus ou les organes immergés en milieu statique [9, 27]. La mise en valeur des sols hydromorphes implique la recherche d'espèces végétales adaptées à ce type de stress. L'analyse du comportement d'espèces capables de croître et de se développer dans de telles conditions, nous permettra de mieux comprendre les processus impliqués dans la résistance des plantes au déficit en oxygène et de mieux rentabiliser ces milieux pour l'agriculture. En général, deux mécanismes peuvent intervenir dans cette résistance, à savoir l'évitement ou la tolérance [21]. La production de biomasse nous semble être un bon indicateur pour la sélection d'espèces utiles à l'agriculture. C'est dans cet objectif que nous avons suivi l'évolution de la croissance de quatre variétés de Trèfle souterrain en présence ou en absence d'un excès d'eau, afin de définir leurs limites de tolérance à

Communiqué par Gérard Guyot (Avignon, France)

* Correspondance et tirés-à-part
samira.smiti@planet.tn

l'hydromorphie et d'analyser les réponses des différents organes, pendant la phase végétative. Cette espèce fourragère très appétée, semble présenter des degrés de tolérance à l'hydromorphie, différents d'une variété à l'autre.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les plantes présentent des variations considérables dans leur aptitude à tolérer l'immersion [1, 5, 6, 10, 11, 19, 30, 35, 36, 37, 38, 40]. Plusieurs auteurs ont montré des différences dans la tolérance à l'immersion entre les sous-espèces de *Trifolium subterraneum* [12–14, 28]. Ces différences peuvent être en relation avec les aspects écologiques de leur distribution naturelle pour les sous-espèces *Yanninicum* qui sont relativement tolérantes à l'immersion [18].

2.1. Matériel végétal et culture

Le matériel végétal choisi, est le Trèfle souterrain (*Trifolium subterraneum* L.). C'est une légumineuse fourragère de la région méditerranéenne. Il s'agit d'une plante annuelle, velue, héliophile, à tiges couchées. Les feuilles trifoliolées, à pétiole assez long, présentent des folioles largement obcordées [24]. La germination des graines se fait en automne avec l'arrivée des premières pluies. Cette espèce assure donc, une production fourragère d'hiver et de printemps.

Plusieurs variétés ont été répertoriées chez cette espèce. Parmi elle, nous citons : Larisa, Clare, Montbaker et Park. La première appartient à la sous-espèce *yanninicum*, la variété Clare à la sous-espèce *brachycalycium*, et les deux dernières à la sous-espèce *subterraneum*. Ces variétés sont caractérisées par des degrés de tolérance à l'hydromorphie, plus ou moins élevés [12, 14, 18, 28].

Les semences nous ont été fournies par l'Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie (INRAT). Il s'agit de semences commerciales, destinées à la création de pâturages mixtes de trèfle souterrain et de ray-grass.

Les graines sont désinfectées à l'hypochlorite de sodium (à 15 % de chlore actif) diluée au tiers, pendant 15 minutes, rincées abondamment puis maintenues toute une nuit dans de l'eau distillée. Elles sont ensuite ensemencées dans des bacs contenant de la tourbe (Terreaux professionnels Floradur®). Elle est friable, de pH neutre (5,5 à 6,5) et enrichie en éléments fertilisants (N, P et K à raison de 250 à 350 mg.l⁻¹) et en oligoéléments. Elle est caractérisée par 40 % de substance sèche et 90 à 95 % de substance organique (Producteur : Floragard). Les plantes sont arrosées d'eau distillée. Elles sont cultivées sous une photopériode de 15 heures de lumière à 25 °C et 9 heures d'obscurité à 20 °C. L'éclairage est de 40 à 50 w.m⁻². L'humidité relative est de 50 % le jour et 80 à 90 % la nuit.

2.2. Traitement et récolte

L'hypoxie est appliquée vingt cinq jours après la germination des graines, quand les plantules atteignent le

stade deuxième feuille trifoliée. Les bacs de culture sont répartis en quatre lots et soumis aux traitements suivants :

- le premier lot de plantes est arrosé normalement, sans excès d'eau. Il servira de lot témoin durant toute l'expérimentation (T),
- le second lot est immergé pendant cinq jours, puis placé dans les mêmes conditions que le lot précédent (T₁),
- le troisième lot subit dix jours d'immersion avant d'être placé dans les mêmes conditions que le témoin (T₂),
- le quatrième lot subit un traitement de vingt jours, jusqu'à la récolte finale, soit 20 jours de culture (T₃).

La tourbe étant très friable, il est aisé de dégager le système racinaire sans l'endommager. Ainsi, les plantes sont récoltées avant et après l'application de l'hypoxie (zéro, cinq, dix et vingt jours). Elles sont séparées en racines et parties aériennes. Leurs masses de matière fraîche (MF) sont rapidement déterminées à l'aide d'une balance de précision au 1/10 mg. Les biomasses sèches (MS) sont déterminées après dessiccation des organes à l'étuve, à 80 °C, pendant 48 heures.

La croissance moyenne relative a été estimée d'après la formule établie par Poorter [23] :

$$CMR = \frac{MSf - MSi}{0,5 (MSf + MSi) \Delta t} \quad (1)$$

MSf = masse de matière sèche (mg) à la récolte,

MSi = masse de matière sèche initiale (mg) avant l'application des traitements,

Δt = durée du traitement (jours).

Les biomasses (MF et MS) sont déterminées sur 6 à 18 plantes selon le traitement. Les intervalles de sécurité de la moyenne sont calculés au seuil de 95 %, selon la formule ($t.s/\sqrt{n}$), où n représente le nombre d'échantillons, s l'écart type, et t la valeur du test de Student pour ($n - 1$).

2.3. Mise en évidence de la diffusion de l'oxygène dans les racines

Pour mettre en évidence le transport de l'oxygène des organes aériens vers les racines, des plantes hypoxiées ou normoxiées sont placées sur un milieu défini par Armstrong [2]. En effet, ce milieu est constitué d'une solution d'Agar à 0,05 % P/V, additionnée de 0,012 g.l⁻¹ de bleu de méthylène et de 0,13 g.l⁻¹ de dithionite de sodium, sous un barbotage continu d'azote pur. Instantanément le milieu devient incolore (bleu de méthylène réduit). Au bout d'une heure, une coloration bleue apparaît autour des racines quand la plante assure un transport d'oxygène des organes aériens vers ces racines.

3. RÉSULTATS

Dans le présent travail, nous comparons la croissance de quatre variétés de trèfle souterrain (Park ; Montbaker ; Larisa et Clare) cultivées en normoxie (N) et en hypoxie (H).

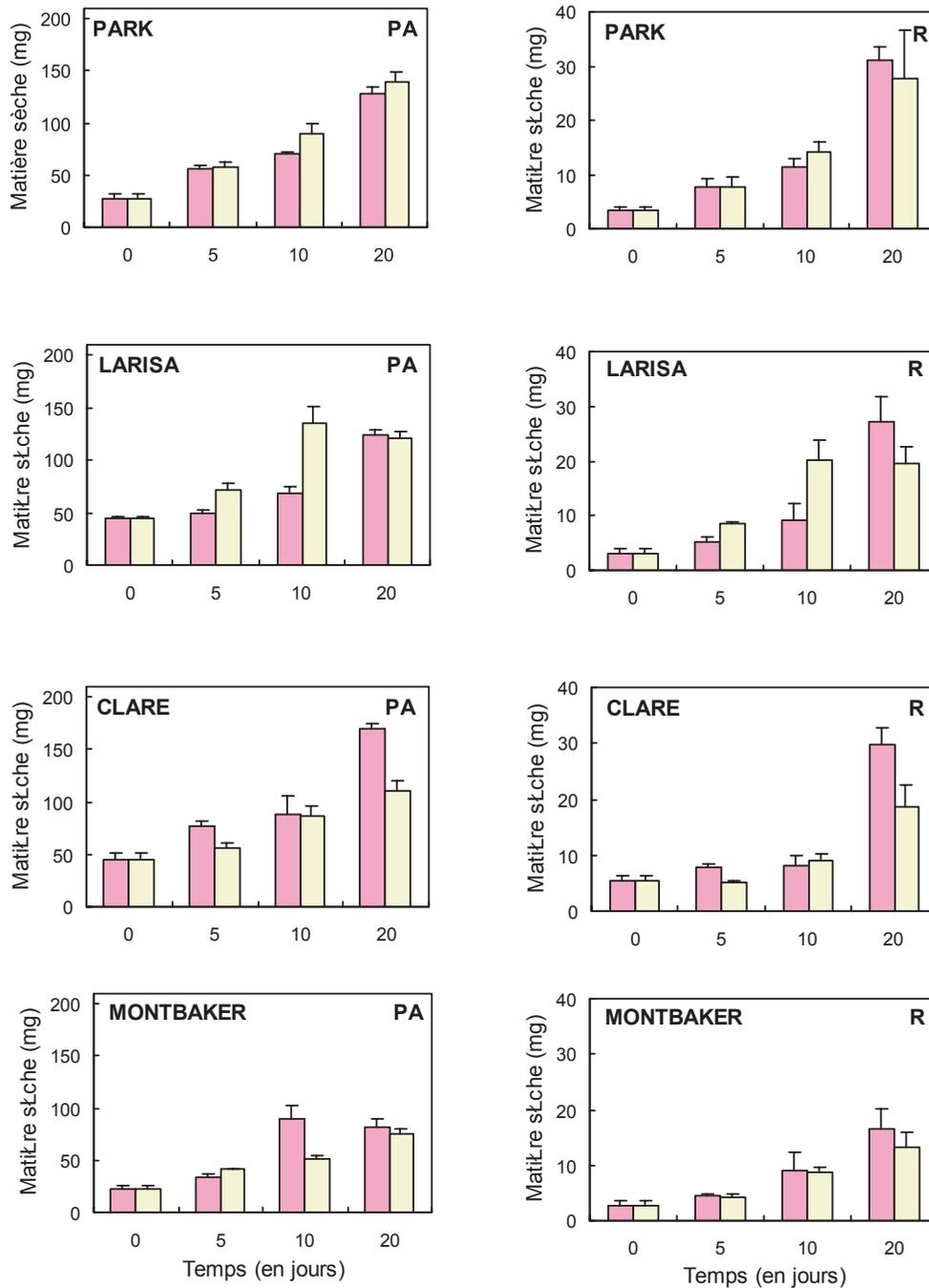


Figure 1. Évolution de la matière sèche produite par les organes aériens (PA) et les racines (R) en fonction du temps chez les quatre variétés de trèfle cultivées en normoxie (N ■) et en hypoxie (H ■). La récolte 0 jour correspond à la récolte initiale. Chaque point représente la moyenne calculée sur 6 à 18 plantes. Les intervalles de sécurité sont calculés au seuil de 95 %.

Les résultats obtenus indiquent des différences significatives entre les quatre variétés.

3.1. Effet de l'excès d'eau sur le comportement des plantes

La production de matière sèche au niveau des organes aériens (PA) et des racines (R) est différente d'une variété à

l'autre (Fig. 1). En effet, elle est stimulée chez les unes et ralentie chez les autres.

Après 5 jours d'immersion, la production de biomasse des plantes hypoxiées, chez la variété Clare, est plus faible que celle des plantes témoins. Nous assistons à une légère amélioration qui ramène cette production au même niveau que celui des plantes témoins après un traitement de 10 jours. Mais, après 20 jours d'immersion, nous notons une diminution

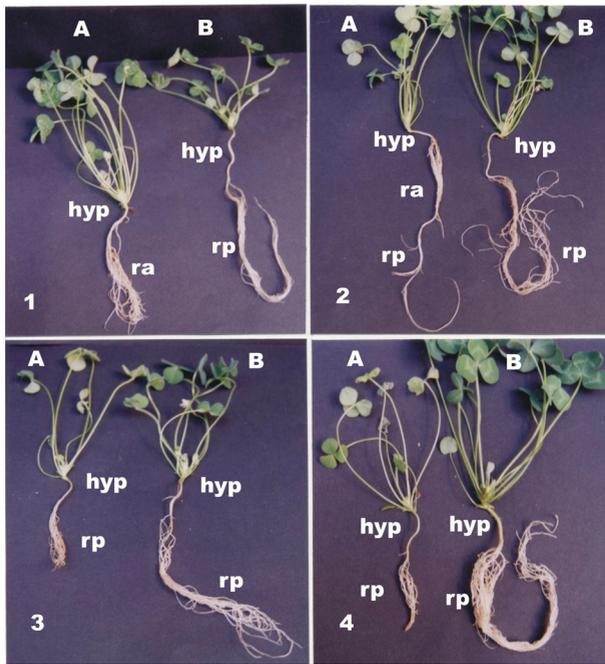


Figure 2. Aspect des plantes de *Trifolium subterraneum* cultivées (20 jours) sur milieu submergé (plante A) et sur milieu drainé (plante B). Photo 1 : Park ; Photo 2 : Larisa ; Photo 3 : Montbaker et Photo 4 : Clare. hyp : hypocotyle ; rp : racines primaires ; ra : racines adventives.

significative de la matière sèche des plantes traitées (64 % du témoin à la récolte finale).

Chez la variété Montbaker (témoin et traitée) la production de biomasse (organes aériens et racines) est moins importante que celle des trois autres variétés. De plus, l'hypoxie semble affecter cette production qui reste inférieure à celle des plantes témoins. Cet effet négatif est plus marqué à 10 jours (-40 % au niveau des organes aériens) mais s'atténue à 20 jours.

Chez les variétés Clare et Montbaker, l'effet de l'hypoxie se manifeste dès les premiers jours. Nous observons un flétrissement des organes aériens avec apparition de nécroses plus ou moins importantes des feuilles. Les racines présentent un aspect ramolli et sont plus ou moins putréfiées (Fig. 2).

Chez Larisa, la production de biomasse étant fortement stimulée par rapport au témoin (environ deux fois plus après 10 jours d'hypoxie), cette variété semble bien tolérer l'hypoxie pendant les 10 premiers jours de traitement. A 20 jours et en milieu drainé le système racinaire, non affecté, continue de croître normalement. Cependant, nous constatons un arrêt de la production de matière sèche racinaire des plantes hypoxiées, se traduisant par une diminution de 28 % par rapport au témoin. La production de biomasse des organes aériens hypoxiés est identique à celle des témoins (Fig. 1). La biomasse totale suit la même évolution que celle des organes aériens. Ainsi, après 20 jours d'ennoyage, il n'y a aucune différence significative entre les plantes hypoxiées et les plantes témoins.

Chez Larisa, l'hypoxie paraît sans effet sur la morphologie des organes aériens. En revanche, le système racinaire semble

très affecté par ce facteur puisqu'il présente des nécroses. Ces dernières se manifestent par un noircissement des extrémités racinaires. Toutefois, de nouvelles racines, blanches et épaisses, apparaissent en dessous du collet (Fig. 2).

L'action de l'hypoxie sur la variété Park semble être bénéfique puisqu'elle confère à ses organes aériens un aspect morphologique vigoureux. Au niveau des racines cette action se manifeste par une putréfaction du système racinaire primaire et apparition de racines néoformées au dessous du collet (Fig. 2).

Chez cette variété, la production de biomasse augmente régulièrement avec la durée du traitement, aussi bien chez les plantes normoxiées (témoin) que celles hypoxiées (traitées). Ces dernières présentent une légère stimulation de la croissance par rapport au témoin (26 % pour 10 jours de traitement). Cette stimulation s'estompe après 20 jours d'hypoxie.

Comme pour les autres variétés, la croissance des organes aériens de Park suit la même évolution que celle des plantes entières, quel que soit le traitement et sa durée (Fig. 1). La production de biomasse racinaire augmente régulièrement jusqu'à la récolte finale chez les témoins. Etant putréfié, le système racinaire primaire des plantes ennoyées finit par disparaître totalement en fin de culture. Le relais est assuré par les racines néoformées. Ces dernières présentent une production croissante. De ce fait la biomasse racinaire des plantes hypoxiées est maintenue au même niveau que celle des plantes témoins et évolue d'une manière analogue.

Cette aptitude que possède Park et à un degré moindre Larisa à produire des racines néoformées semble être à l'origine de la tolérance de ces variétés vis-à-vis de l'hypoxie.

L'évolution de la croissance moyenne relative (CMR) permet de comparer le comportement de ces quatre variétés vis-à-vis de l'hypoxie et de la durée de son application. Ce facteur représente la vitesse de production de biomasse durant une période de traitement déterminée.

La figure 3 représente les résultats obtenus et son examen révèle que chez Park et surtout Larisa, les CMR des organes aériens des plantes normoxiées, demeurent plus faibles sinon égales à celles des plantes hypoxiées, tout au long de la culture. Le phénomène s'inverse chez Montbaker et Clare où nous constatons une diminution importante de ce paramètre. A première vue, il semble que Park et Larisa constituent les variétés les plus tolérantes au stress hypoxique. Mais en comparant les CMR des plantes ennoyées de ces deux variétés nous constatons que la production journalière d'organes aériens de Park ($\text{mg}\cdot\text{j}^{-1}$) demeure supérieure (1,5 fois à 5 et 20 jours d'immersion) ou égale (à 10 jours) à celle de Larisa.

Chez le trèfle ennoyé le système racinaire diffère d'une variété à l'autre. En effet, comme nous l'avons déjà décrit, celui de Park est constitué uniquement de racines adventives, alors que chez Larisa le système racinaire primaire coexiste avec les quelques racines adventives apparues. Chez Montbaker et Clare il y a peu ou pas de racines adventives et le système racinaire primaire est plus ou moins putréfié. De ce fait, la comparaison des CMR des racines des plantes hypoxiées n'est pas significative.

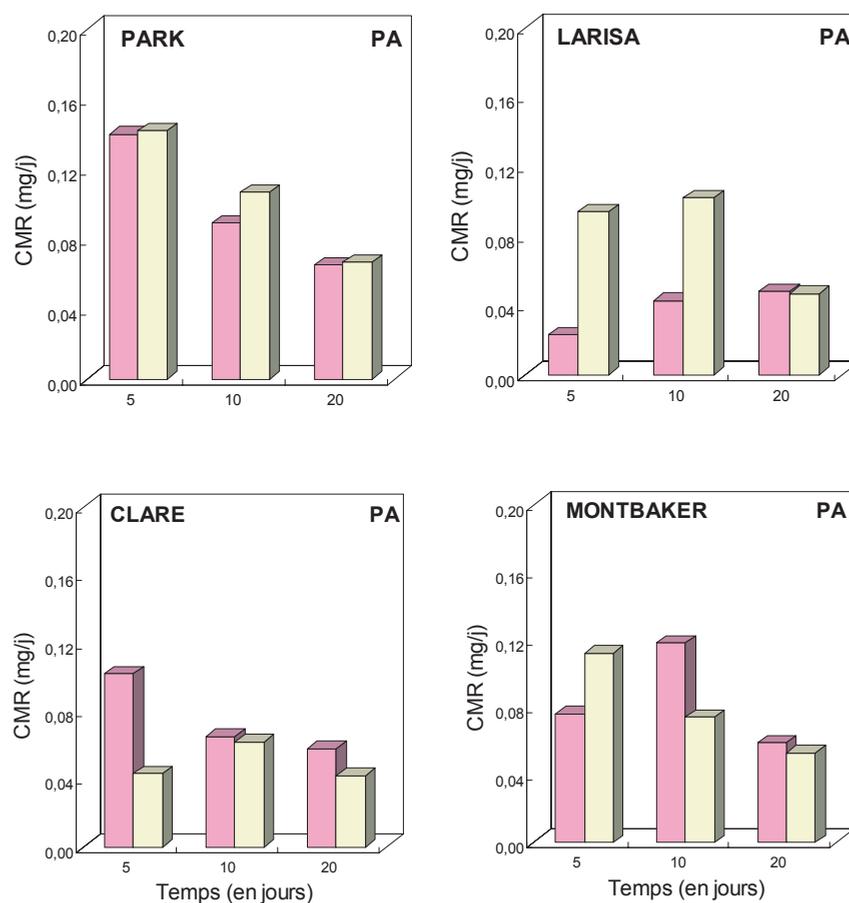


Figure 3. Activité de croissance (CMR) des organes aériens (PA) chez Park, Larisa, Clare et Montbaker cultivées en normoxie (N ■) et en hypoxie (H ■). Les résultats sont exprimés en mg par jour.

3.2. Effet de l'excès d'eau sur la reprise de croissance

Pour illustrer cet effet, nous avons choisi deux variétés de trèfle : Park et Clare.

Chez la variété Park, la mesure de la reprise de croissance, après arrêt de l'immersion de 5 jours (T_1) et culture sur milieu drainé, révèle que les organes aériens maintiennent une croissance analogue à celle des plantes témoins (T) jusqu'à 10 jours, puis s'arrêtent de croître jusqu'à la récolte finale. Leur masse de matière sèche se trouve, alors inférieure à celle des plantes immergées (H) jusqu'à la récolte finale. L'arrêt de l'immersion à 10 jours (T_2) améliore légèrement cette croissance.

Quant aux racines, la reprise après les 5 jours d'immersion ne leur confère pas une meilleure croissance et la production de leur matière sèche reste inférieure à celle des témoins (T). Par contre, la suspension de l'immersion de 10 jours leur permet de maintenir en vie les racines adventives nouvellement formées, et qui continuent de croître sur le milieu drainé. De ce fait, leur croissance reste identique à celle des plantes témoins et presque analogue à celle des immergées (Fig. 4).

Chez la variété Clare, l'arrêt de l'immersion de 5 jours (T_1) n'améliore pas sa croissance. La production de biomasse des

organes aériens et des racines reste moins importante que celle des plantes immergées (H) et des témoins (T). Nous obtenons la même réponse avec la reprise après la suspension de l'immersion de 10 jours (Fig. 4).

3.3. Étude qualitative de la diffusion de l'oxygène dans les racines

Cette étude a été réalisée sur la variété Park uniquement, du fait qu'elle présente un système racinaire homogène quand elle se trouve ennoyée.

La technique utilisée consiste à placer les racines de plantes hypoxiées (20 jours) et de plantes normoxiées dans un milieu de culture anoxique et à détecter, à l'aide d'indicateur d'oxydo-réduction (bleu de méthylène), l'oxygène excrété par ces racines. Au bout d'une heure les premières deviennent bleues, alors que les secondes restent blanchâtres. On fait barboter de l'azote pur et la coloration bleue persiste autour des racines hypoxiées et va même jusqu'aux pointes, tandis que les racines normoxiées restent blanchâtres. Ce phénomène se maintient au-delà de 24 heures (Fig. 5).

Cette technique, d'ordre qualitatif, nous permet de visualiser l'oxygène transporté depuis les organes aériens jusqu'aux racines hypoxiées.

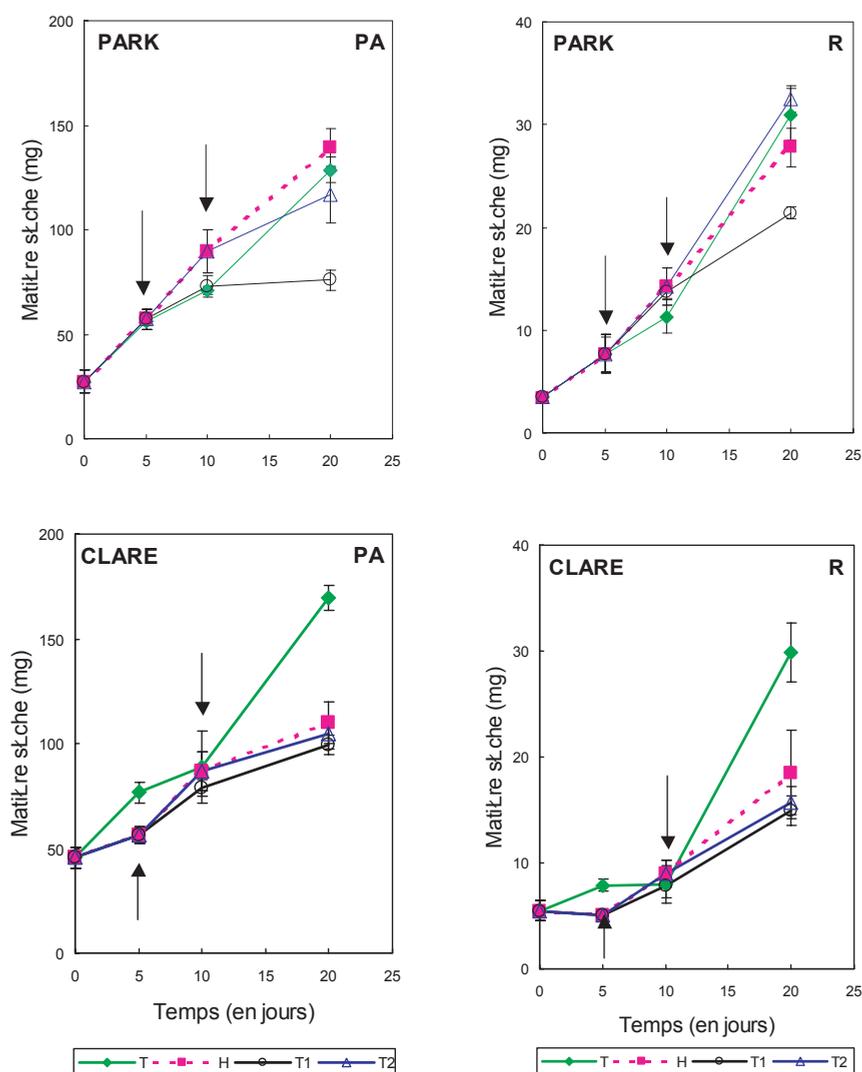


Figure 4. Masse de matière sèche (mg) des organes aériens (PA) et des racines (R) chez Park et Clare, après arrêt de l'immersion de 5 jours et de 10 jours. Les flèches indiquent l'arrêt des traitements (T_1 et T_2). Les valeurs représentent les moyennes de 6 à 18 mesures individuelles. Les intervalles de sécurité sont calculés au seuil de 95 %. T : culture sur milieu drainé ; T_1 : arrêt de l'immersion de 5 jours et culture sur milieu drainé ; T_2 : arrêt de l'immersion de 10 jours et culture sur milieu drainé ; H : culture sur milieu submergé (0 à 20 jours).

4. DISCUSSION

Les variations substantielles de la production de biomasse chez le trèfle souterrain dues à l'immersion démontrent des différences entre les plantes à un niveau variétal. En effet, l'hypoxie due à l'excès d'eau a provoqué un effet néfaste sur la morphologie de Clare se manifestant par un flétrissement des organes aériens qui présentent des nécroses dès les premiers jours de l'immersion. Leurs racines montrent un ramollissement général avec un brunissement et une texture gélatineuse. Ce phénomène constitue une preuve irréfutable de dégénérescence sévère. Plusieurs auteurs ont signalé des manifestations analogues chez cette même variété réputée sensible à l'hydromorphie [14, 28]. Cette sensibilité serait probablement due à son inaptitude à produire de nouvelles racines afin de remplacer celles abîmées par l'excès d'eau. La

variété Montbaker en fabrique dans les premiers jours de l'application de l'hypoxie, induisant ainsi une légère stimulation dans la synthèse de biomasse. Cependant, le nombre de ces racines adventives néoformées est très réduit et leur maintien n'est pas assuré tout au long de la culture. L'importance du nombre de ces racines, dans la tolérance à l'hydromorphie, a déjà été signalée par plusieurs auteurs [8, 22, 39]. Il serait intéressant, à présent, de poursuivre les investigations sur l'acclimatation de cette variété à l'hypoxie. Serait-elle apte à renouveler, à la longue, ses racines adventives putréfiées par le stress ? Toutefois, au stade 20 jours d'immersion, Montbaker paraît, comme Clare sensible à l'hypoxie. Le degré de tolérance de ces deux variétés au stress hypoxique peut être estimé en calculant l'indice de sensibilité (IS), en se basant sur les masses de matière sèche (MS) obtenues chez les plantes du milieu témoin et celles cultivées en hypoxie [32].

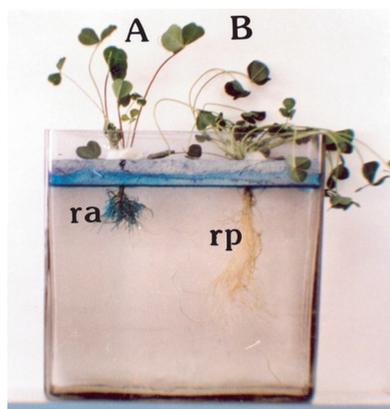


Figure 5. Mise en évidence du transport de l'oxygène des organes aériens vers les racines (placées en anoxie) de la variété Park cultivée en hypoxie (plante A) et en normoxie (plante B). rp : racines primaires ; ra : racines adventives.

$$IS = \frac{(MS)\text{témoin} - (MS)\text{traité}}{(MS)\text{témoin}} \times 100. \quad (2)$$

Cette estimation révèle que la variété Clare possède un indice de sensibilité beaucoup plus élevé que celui de Montbaker. En effet, après 20 jours d'hypoxie, l'indice de sensibilité des organes aériens et des racines de Clare est, respectivement, de 35,2 et 38,1 % du témoin. Pour la même durée de traitement, celui des organes de Montbaker est de 7,4 et 20,6 % du témoin. Ce résultat montre que Montbaker et Clare sont sensibles à l'hypoxie, avec toutefois un degré plus élevé chez la dernière variété.

En revanche la variété Park, bien qu'elle fasse partie de la même sous-espèce que Montbaker (*subterraneum*), semble être un des rares écotypes de cette sous-espèce qui tolère l'hydromorphie. Cette tolérance semble être en relation avec les aspects écologiques de sa distribution naturelle [18]. Par conséquent, Park a pu consolider la formation de racines adventives d'une manière cyclique. En effet, quand les premières racines formées se trouvent putréfiées, très vite elle en fabrique d'autres qui prennent le relais. Il semble que l'atrophie du système racinaire primaire et par conséquent la réduction de sa croissance, augmenterait la disponibilité en glucides solubles pour la production d'un nouveau système racinaire [7, 20]. L'activité d'un organe semble se réaliser au détriment des autres selon un mécanisme corrélatif de compensation [4]. De plus ces racines adventives ont la propriété d'être poreuses. De ce fait le transport d'oxygène des organes aériens vers ces racines est aisément assuré. Raymond et al. [26] et Saglio et al. [29, 31] ont montré une participation de l'oxygène provenant des parties aériennes au métabolisme des racines de riz et de maïs. Ces échanges gazeux entre les deux types d'organes (aériens et souterrains) sont facilités par la présence d'aérenchymes. Ces derniers sont localisés dans les zones racinaires matures [33] et produits sous l'effet d'un signal hormonal provenant des régions apicales en anoxie [3]. Ils semblent être le seul chemin possible emprunté par l'oxygène provenant des parties aériennes. En effet, d'après

Thumfort et al. [34], il pourrait y avoir une résistance significative de la paroi cellulaire à la diffusion de l'oxygène d'une cellule à l'autre. Ceci est probablement dû à l'interface formée par le plasmalemme et les parois cellulaires. Visser et al. [37] pensent que le développement de nouvelles racines est une adaptation morphologique. Ces racines sont caractérisées par une porosité plus élevée que celle du système racinaire initial. Elles peuvent se former à partir de tissus comme les entrenœuds de tiges ou l'hypocotyle (racines adventives) ou au niveau de la zone supérieure de la racine principale (racines latérales nouvelles). Pradet et al. [25] considèrent l'émergence de racines adventives néoformées, sur l'hypocotyle ou sur la tige, dans la région proche de la surface de l'eau, comme une adaptation morphologique qui représente un important facteur de survie.

Larisa semble être dotée des mêmes modes d'adaptation que Park. Cependant, sa réponse est plus lente et moins spectaculaire que celle de Park. Ce fait réside essentiellement dans la périodicité d'apparition de ces racines chez la première variété qui n'est pas aussi régulière que chez la seconde. Toutefois ces racines possèdent une porosité [15] moins importante que celle des racines néoformées chez Park. Ce fait la rend moins tolérante que Park. En effet, une porosité racinaire basse (3 à 5 % chez *Brassica napus*) constitue une caractérisation typique des plantes faiblement tolérantes à l'immersion [39]. Après 21 jours d'hypoxie, la porosité racinaire (espace gazeux/volume %) d'une espèce tolérante *Trifolium tomentosum* est de 11,2 %, alors qu'elle est de 6,1 % chez une autre sensible, *Trifolium glomeratum* [16].

Le but recherché dans cette étude est de mettre en évidence les critères de tolérance qui permettent à certaines variétés de trèfle et non aux autres de s'acclimater à l'ennoyage. Par conséquent, nous pourrions sélectionner des variétés ou des écotypes qui permettent de rentabiliser les sols agricoles gorgés d'eau.

A la lumière des résultats obtenus, nous pourrions conclure que :

- les variétés de trèfle souterrain Clare et Montbaker sont sensibles à l'hydromorphie, selon le critère de croissance (production de biomasse) et dans les conditions étudiées,
- les variétés qui tolèrent ce stress sont Larisa et Park. Mais cette dernière semble être la plus tolérante du fait de son aptitude à maintenir en vie les racines adventives néoformées et d'assurer leur porosité en vue d'une éventuelle alimentation en oxygène à partir des organes aériens.

RÉFÉRENCES

- [1] Andrews D.L., Drew M.C., Johnson J.R., Cobb B.G., The response of maize seedlings of different ages to hypoxic and anoxic stress, *Plant Physiol.* 105 (1994) 53-60.
- [2] Armstrong J., Armstrong W., *Phragmites australis* - a preliminary study of soil-oxidizing sites and internal gas transport pathways, *New Phytol.* 108 (1988) 373-382.
- [3] Atwell B.J., Drew M.C., Jackson M.B., The influence of oxygen deficiency on ethylene synthesis 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid levels and aerenchyma formation in roots of *Zea mays*, *Physiol. Plant.* 72 (1988) 15-22.

- [4] Bidel L., Analyse et stimulation du développement racinaire en liaison avec la disponibilité en photo-assimilats, Ph.D. Thesis, University of Angers, 1999, 218 p.
- [5] Blom C.W.P.M., Voeselek L.A.C.J., Banga M., Engelaar W.M.H.G., Rijnders J.G.H.M., Van de Steeg H.M., Visser E.J.W., Physiological ecology of riverside species adaptive responses of plants to submergence, *Ann. Bot.* 74 (1994) 253–263.
- [6] Blom C.W.P.M., Voeselek L.A.C.J., Flooding: the survival strategies of plants, *Trends Ecol. Evol.* 11 (1996) 290–295.
- [7] Brouwer R., Functional equilibrium: sense or nonsense?, *Neth. J. Agric. Sci.* 31 (1983) 335–348.
- [8] Daugherty C.J., Matthews S.W., Musgrave M.E., Structural changes in rapid-cycling *Brassica rapa* selected for differential waterlogging tolerance, *Can. J. Bot.* 72 (1994) 1322–1328.
- [9] Ding N., Musgrave M.E., Relationship between mineral coating on roots and yield performance of wheat under waterlogging stress, *J. Exp. Bot.* 46 (1995) 939–945.
- [10] Drew M.C., Oxygen deficiency and root metabolism: injury and acclimation under hypoxia and anoxia, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.* 48 (1997) 223–250.
- [11] Ellis M.H., Dennis E.S., Peacock W.J., Arabidopsis roots and shoots have different mechanisms for hypoxic stress tolerance, *Plant Physiol.* 119 (1999) 57–64.
- [12] Francis C.M., Devitt A.C., The effect of waterlogging on the growth and isoflavone concentration of *Trifolium subterraneum* L., *Aust. J. Agric. Res.* 20 (1969) 819–825.
- [13] Francis C.M., Poole M.L., Effect of waterlogging on the growth of annual Medicago species, *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.* 13 (1973) 711–713.
- [14] Francis C.M., Devitt A.C., Steele P., Influence of flooding on the alcohol dehydrogenase activity of roots of *Trifolium subterraneum* L., *Aust. J. Plant Physiol.* 1 (1974) 9–13.
- [15] Ghoul H., Réponses physiologiques à l'immersion et potentialités de régénération in vitro chez *Trifolium subterraneum* L., variétés Clare et Larisa, Diplôme d'Étude Approfondie, Faculté des Sciences de Tunis II, 1997, 82 p.
- [16] Gibberd M.R., Colmer T.D., Cocks P.S., Root porosity and oxygen movement in waterlogging-tolerant *Trifolium tomentosum* and intolerant *Trifolium glomeratum*, *Plant Cell Environ.* 22 (1999) 1161–1168.
- [17] Jaryasekera G.A.U., Reid D.M., Yeung E.C., Fates of ethanol produced during flooding of Sunflower roots, *Can. J. Bot.* 68 (1990) 2408–2414.
- [18] Katznelson J., Morley F.H.W., Speciation processes in *Trifolium subterraneum* L., *Israel J. Bot.* 14 (1965) 15–21.
- [19] Kawase M., Anatomical and morphological adaptation of plants to waterlogging, *Hortscience* 16 (1981) 30–34.
- [20] Klepper B., Origin, branching and distribution of root systems, in: Gregory P.J., Lake J.V., Rose D.A. (Eds.), *Root development and function*, Cambridge University Press, 1986, pp. 103–124.
- [21] Levitt J., Water stress, in: Kozlowski T.T., *Responses of plants to environmental stresses*, Vol. II, 2nd ed., Academic press, 1980, pp. 225–229.
- [22] Niknam S.R., Thurling N., Physiological genetics of waterlogging tolerance in Canola (*B. napus*), in: Potter T.D. (Ed.), *Proceedings of the 10th Australian Research Assembly on Brassica*, Struan, South Australia, 1995, pp. 83–86.
- [23] Poorter H., Plant growth analysis: towards a synthesis of classical and the functional approach, *Physiol. Plant.* 75 (1989) 237–244.
- [24] Pottier-Alapetite G., Flore de la Tunisie, Angiospermes, Dicotylédones : Apétales, Dialypétales, Tunis, Imp. Officielle Rep. Tunisienne, 1979, 651 p.
- [25] Pradet A., Morisset C., Abdulkhalik A., Bruzau F., Mocquot B., Rancillac M., Raymond P., Saglio P.H., Réponses des végétaux supérieurs aux stress hypoxique et anoxique, *Bull. Soc. Ecophysiol.* 8 (1983) 33–61.
- [26] Raymond P., Bruzau F., Pradet A., Étude du transport d'oxygène des parties aériennes aux racines à l'aide d'un paramètre du métabolisme : la charge énergétique, *C.R. Acad. Sci., Paris* 286 (1978) 1061–1063.
- [27] Ricard B., Couée I., Raymond P., Saglio P.H., Saint-Ges V., Pradet A., Plant metabolism under hypoxia and anoxia, *Plant Physiol. Biochem.* 32 (1994) 1–10.
- [28] Rogers M.E., West D.W., The effects of rootzone salinity and hypoxia on shoot and root growth in *Trifolium* species, *Ann. Bot.* 72 (1993) 503–509.
- [29] Saglio P.H., Raymond P., Pradet A., Oxygen transport and root respiration of maize seedlings, *Plant Physiol.* 72 (1983) 1035–1039.
- [30] Saglio P.H., Germain V., Ricard B., The role of enzyme induction in the improvement of tolerance to anoxia, in: Lerner H.R. (Ed.), *Plant Responses to Environmental Stresses*, Marcel Dekker, New York, 1999, pp. 373–393.
- [31] Saglio P.H., Rancillac M., Bruzau F., Pradet A., Critical oxygen pressure for growth and respiration of excised and intact roots, *Plant Physiol.* 76 (1984) 151–154.
- [32] Slama F., Effet du chlorure de sodium sur la croissance et la nutrition minérale : étude comparative de 6 espèces cultivées, Ph.D. Thesis, University of Tunis, 1982, 214 p.
- [33] Smiti S., Chaïbi W., Brouquisse R., Ricard B., Saglio P., Flooding tolerance and oxygen transport in *Trifolium subterraneum* (Park), *Ann. Bot.* 90 (2002) 1–10.
- [34] Thumfort P.P., Layzell D.B., Atkins C.A., Diffusion and reaction of oxygen in the central tissue of ureide-producing legume nodules, *Plant Cell Environ.* 22 (1999) 1351–1363.
- [35] Vantoal T.T., Saglio P.H., Ricard B., Pradet A., Developmental regulation of anoxic stress tolerance in maize, *Plant Cell Environ.* 18 (1995) 937–942.
- [36] Vartapetian B.B., Jackson M.B., Plant adaptations to anaerobic stress, *Ann. Bot.* 79 (1997) 3–20.
- [37] Visser E.J.W., Blom C.W.P.M., Voeselek L.A.C.J., Flooding-induced adventitious rooting in *Rumex*: morphology and development in an ecological perspective, *Acta Bot. Neerl.* 45 (1996) 17–28.
- [38] Visser E.J.W., Nabben R.H.M., Blom C.W.P.M., Voeselek L.A.C.J., Elongation by primary lateral roots and adventitious roots during conditions of hypoxia and high ethylene concentrations, *Plant Cell Environ.* 20 (1997) 647–653.
- [39] Voeselek L.A.C.J., Armstrong W., Bögemann G.M., McDonald M.P., Colmer T.D., A lack of aerenchyma and high rates of radial oxygen loss from the root base contribute to the waterlogging intolerance of *Brassica napus*, *Aust. J. Plant Physiol.* 26 (1999) 87–93.
- [40] Wenkert W., Fauser N.R., Watters H.D., Flooding responses in *Zea mays* L., *Plant and Soil* 62 (1981) 351–366.
- [41] Yoshida S., Tadano T., Adaptation of plants to submerged soils, in: *Crop tolerance to suboptimal land conditions*, Am. Soc. Agro., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am. 32 (1978) 233–256.