

# Fixation symbiotique de l'azote chez *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth : influences de la profondeur du sol et du recouvrement arborescent dans la subéraie de la Mâamora (Maroc)

Ahmed Hracherrass<sup>1</sup>  
Omar Berkat<sup>2</sup>  
Mohammed Ismaili<sup>3</sup>  
François Xavier De Montard<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Institut agronomique et vétérinaire (IAV)  
Hassan-II  
département de foresterie et des ressources  
naturelles  
BP 6202  
Rabat-Instituts  
10101 Rabat  
Maroc  
<hracherrass2003@yahoo.fr>

<sup>2</sup> BP 6610  
Poste madinat al-Irfane  
Rabat 10100  
Maroc  
<berkatomar@yahoo.fr>

<sup>3</sup> Université Moulay Ismail  
Faculté des sciences  
BP 4010  
Beni M'hamed  
Meknès  
Maroc  
<ismaili@fsmek.ac.ma>

<sup>4</sup> 9, Côte du Bois  
63111 Dallet  
France  
<fdemontard@free.fr>

## Résumé

Par ses multiples fonctions *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth, un arbuste de la subéraie de la Mâamora (Maroc), offre une illustration de l'intérêt potentiel des légumineuses arbustives : fixation symbiotique de l'azote, protection du sol, ressource pastorale de transition entre automne et hiver, miellée hivernale et bois de feu. Dans une expérimentation en pots sur le sol sableux pauvre en azote (0,09 N %) issu de la subéraie, une relation linéaire a été établie entre le taux de fixation mesuré par la méthode de la dilution isotopique <sup>15</sup>N (plantes témoins : *Teline* non inoculé et *Dactylis glomerata*) et la teneur en azote total des plants : taux d'azote fixé % = 9,52 (N %) + 32,3 ;  $r^2 = 0,706$  ;  $n = 14$ . Cette relation est cohérente avec des données de la littérature tirées de cultures de soja à Hawaï, au Bénin, au Brésil et en Suisse. Appliquée dans la subéraie aux teneurs en azote des rameaux de l'année, elle permet d'estimer le taux de fixation moyen à 50,8 ± 2,5 %. La fixation moyenne de *Teline* durant la saison humide a été de 41 ± 7 kg/ha N ; la fixation optimale, 95 kg/ha, a été obtenue pour une profondeur de sol comprise entre 1 et 2 m associée à un recouvrement du chêne-liège de 30 à 75 %.

**Mots clés :** fixation d'azote ; méthode de dilution isotopique ; *Quercus suber*.

**Thèmes :** forêts ; métabolisme ; productions végétales.

## Abstract

**Biological nitrogen fixation of *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth: Soil depth and tree canopy cover effects in the Mâamora cork tree forest (Morocco)**

*Teline linifolia* (L.) Webb & Berth is a multipurpose shrub of the Maamora cork tree forest (Morocco), which illustrates the potential value of legume shrubs in biological nitrogen fixation, soil protection, supply of forage resources during the autumn to winter transition, the activities of winter honeydew bee gathering and the production of firewood. In a pot experiment, the N fixation rate of *Teline* plants growing on a poor sandy soil (0.09 N%) was linked with N% content (<sup>15</sup>N dilution technique with *Teline* not inoculated and *Dactylis glomerata* as controls) in a linear regression: N fixation rate % = 9.52 (N%) + 32.3 with  $r^2 = 0.706$ ;  $n = 14$ . Published data on soja crops from Hawaii, Benin, Brazil, and Switzerland gave accordance to this relationship. Applied in the cork tree forest to N content of annual increment of *Teline*, it made it possible to calculate mean N fixation rate as 50.8 ± 2.5%. Mean annual total N fixation was 41 ± 7 kg/ha. The optimal N fixation, 95 kg/ha, was obtained with 1 to 2 m soil depth combined with a 30 to 75% cork tree canopy cover.

**Key words:** isotope dilution method; nitrogen fixation ; *Quercus suber*.

**Subjects:** forestry; metabolism; vegetal productions.

Pour citer cet article : Hracherrass A, Berkat O, Ismaili M, De Montard FX, 2013. Fixation symbiotique de l'azote chez *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth : influences de la profondeur du sol et du recouvrement arborescent dans la subéraie de la Mâamora (Maroc). *Cah Agric* 22 : 124-32. doi : 10.1684/agr.2013.0614

Tirés à part : F.X. De Montard

La fixation symbiotique d'azote des légumineuses arbustives exprimée en quantités agronomiquement interprétables (kg/ha par an) a fait l'objet de mesures sous diverses latitudes pour diverses espèces, faisant apparaître un gradient de valeurs décroissantes du climat tropical humide au tempéré sec (tableau 1). Mais l'influence des conditions locales reste généralement indéterminée (Vitousek *et al.*, 2002). La présence de peuplements denses de *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth, une légumineuse arbustive spontanée de la forêt de chêne-liège de la Mâamora (6° 35' de longitude ouest ; 34° 06' de latitude nord) a offert l'opportunité en 1993 de mesures des effets de la profondeur des sols et du recouvrement des arbres sur les flux d'azote majeurs annuels (kg/ha par an) : fixation symbiotique de l'azote de l'air et absorption de l'azote minéral du sol par la légumineuse.

*Teline linifolia* est un arbuste méditerranéen à floraison hivernale pouvant

atteindre 2 m de hauteur et doté d'un enracinement dense jusqu'à 2 m en profondeur (Metro et Sauvage, 1955 ; Lepoutre, 1965). Avec ses multiples fonctions (Hracherrass *et al.*, 2009a), protection du sol, ressource pastorale de transition entre automne et hiver, miellée hivernale, bois de feu et fixation symbiotique de l'azote, *Teline* est emblématique du rôle important que peuvent jouer les légumineuses arbustives en forêt (Sprent et Silvester, 1973 ; Augusto *et al.*, 2005 ; Noh *et al.*, 2010).

L'objectif de l'étude est d'illustrer sur l'exemple de *Teline* le potentiel d'enrichissement en azote, en quantités agronomiquement interprétables (kg/ha par an), des écosystèmes forestiers méditerranéens en présence d'un sous-bois de légumineuse arbustive fixatrice. Dans quelle mesure la fixation symbiotique est-elle affectée par les conditions stationnelles ? Dans quelle mesure, et sous quelles conditions, la teneur en azote des rameaux de l'année (bois vert, feuilles et gousses) pourrait-

elle constituer un indicateur du taux de fixation symbiotique ? Dans quelle mesure un tel indicateur s'appliquerait-il à d'autres légumineuses, tel le soja, plante bien étudiée ?

## Matériel et méthode

La forêt de la Mâamora est une subéraie naturelle de l'étage thermoméditerranéen subhumide à hiver chaud (P = 500 à 600 mm d'octobre à mai) qui s'étend sur des sols sableux reposant sur un plancher d'argile de profondeur très variable (Cherki et Gmira, 2012). Le surpâturage et les incendies gênent considérablement sa régénération ; la résultante est une densité de peuplement et un recouvrement arborescent très variables. La démarche suivie a consisté à croiser les données collectées en trois étapes pour mettre en relation les taux de fixation et les quantités d'azote

**Tableau 1. Références sur les taux de fixation d'azote et les quantités fixées à l'hectare par les légumineuses arbustives sous divers climats.**

Table 1. N fixation rate and per hectare N fixation amount from references of legume shrubs through a set of climates.

Auteurs	Espèces	Taux N (%) fixé	N fixé annuel (kg/ha)	Climats	Méthodes	Pays ou régions
Peoples <i>et al.</i> , 1996	<i>Calliandra calothyrsus</i>	70	513	Tropical humide	Abondance naturelle N <sup>15</sup>	Queensland
	<i>Gliricidia sepium</i>	63	531			
Dulormne <i>et al.</i> , 2003	<i>Gliricidia sepium</i>	54-92	146-204	Tropical subhumide P = 1 300 mm	Abondance naturelle N <sup>15</sup>	Guadeloupe
Gathumbi <i>et al.</i> , 2002	<i>Crotalaria grahamiana</i>	75-83	142 <sup>a</sup>	Tropical humide P = 1 800 mm	Abondance naturelle N <sup>15</sup>	Kenya
	<i>Tephrosia vogelii</i>	63-74	100 <sup>a</sup>			
	<i>Calliandra calothyrsus</i>	36-54	24 <sup>a</sup>			
Sylla <i>et al.</i> , 2002	<i>Pterocarpus lucens</i>	26-49	11 à 29	Tropical semi-aride	Abondance naturelle N <sup>15</sup>	Sénégal
Aronson <i>et al.</i> , 2002	<i>Chamaecytisus proliferus</i> <i>ssp. palmensis</i>	80-87	45-190	Méditerranéen subhumide P = 550 mm	N <sup>15</sup> dilution isotopique	Chili
	<i>Acacia caven</i>	40-85	8-18			
Watt <i>et al.</i> , 2003	<i>Cytisus scoparius</i>	78-84	94-111	Tempéré P = 800 mm 4 mois secs	Abondance naturelle N <sup>15</sup>	Nouvelle Zélande
Augusto <i>et al.</i> , 2005	<i>Ulex europeus</i>	59-100	8-57	Tempéré atlantique P = 800 mm (sur sable)	Abondance naturelle N <sup>15</sup>	France
Busse, 2000	<i>Ceanothus velutinus</i>	80-91	4 à 15	Tempéré continental sec	N <sup>15</sup> dilution isotopique	Orégon États-Unis

<sup>a</sup> Sur 9 mois.

respectivement fixées et absorbées (kg/ha par an) avec l'épaisseur de sable au-dessus du plancher argileux et le recouvrement de chêne-liège :

– en mai 1993, la collecte et l'analyse des parties aériennes de peuplements de *Teline* ont permis de mesurer les teneurs et les quantités d'azote (kg/ha) du bois (ensemble du bois vert de l'année et du bois ancien), des feuilles et des gousses sur 76 placettes le long de larges gradients de profondeur et de recouvrement ;

– en mai 2009, des rameaux de l'année de *Teline* ont été collectés pour évaluer les quantités d'azote du bois vert en proportion des quantités d'azote des feuilles ;

– en 1998, une expérimentation de culture en pots de *Teline* avec ou sans inoculation, sur sol sableux de la subéraie, a permis de mesurer le taux de fixation, les quantités fixées et les quantités absorbées par la méthode de la dilution de l'isotope  $^{15}\text{N}$ .

À la suite d'un apport au sol d'un fertilisant enrichi en isotope  $^{15}\text{N}$ , la quantité d'azote dérivé de l'atmosphère présente dans la plante (Nd<sub>fa</sub>) a été calculée par la formule de Fried et Middelboe (1977) :

$\% \text{Nd}_{fa} = 100 (1 - [\text{Excès } \% \text{ atomes } ^{15}\text{N} \text{ de la plante fixatrice} / \text{Excès } \% \text{ atomes } ^{15}\text{N} \text{ du témoin}])$ .

Une évaluation du taux de fixation à partir des teneurs en azote des jeunes plants de 6 mois de *Teline* a été testée ; la relation trouvée a été confrontée aux données de la littérature concernant le soja. Ce mode d'évaluation a été appliqué aux organes verts (bois vert, feuilles et gousses) récoltés en 1993 sur *Teline* en situation dans la subéraie.

## Détermination du taux de fixation symbiotique de *Teline* cultivé en pot

Réalisation : 35 pots de cinq litres et de 30 cm de hauteur ont été remplis d'un sol prélevé en forêt sur 30 cm de profondeur (C : 1,5 % ; N : 0,09 % ; sable : 90 % ; argile : 4,7 % ; limon : 5,3 % ; pH : 5,8), tamisé à 2 mm et stérilisé par tyndallisation. Ils ont été semés de *Teline linifolia* ou de *Dactylis glomerata* (L). Pour faciliter la germination, les semences de *Dactylis*, de type local méditerranéen (origine Inra, Rabat), ont été traitées

au froid pour lever la dormance ; celles de *Teline*, récoltées en Mâamora, ont été trempées dans l'acide sulfurique concentré (18 mol/L) pendant 30 minutes puis passées à l'eau bouillante de façon à ramollir les téguments. Des nodosités prélevées *in situ* sur les racines, lavées, rendues axéniques (10 minutes dans  $\text{HgCl}_2$  à 0,1 %), broyées et ensemencées sur milieu de culture (Vincent, 1970) ont fourni une souche locale de *Rhizobium*. Après un test de nodulation sur *Teline* et multiplication, elle a été utilisée pour ensemercer les pots à inoculer.

Les pots ont été placés sous serre ventilée selon un dispositif aléatoire à trois traitements ; T1 : *Teline* non inoculé et T2 : *Teline* inoculé, en 15 répétitions chacun, G1 : *Dactylis* en 5 répétitions. Les pots ont été quotidiennement arrosés et alimentés tous les 15 jours par une solution nutritive sans azote (Munns, 1977).

Un mois après le semis de cinq graines par pot, un pied de *Teline*, le mieux développé (hauteur, nombre de ramifications, nombre de feuilles), a été conservé. Dans les 35 pots, du sulfate d'ammonium dilué dans l'eau a été injecté à 5 cm de profondeur à raison de 0,04 g par pot d'azote marqué à 9,896 % de l'isotope  $^{15}\text{N}$  (en deux apports de 0,02 g à une semaine d'intervalle). L'inoculation a été réalisée par injection au niveau des racines d'une culture de *Rhizobium* en milieu liquide.

Six mois après l'inoculation, les deux espèces ont été récoltées. Les racines de *Teline* ont été prélevées délicatement et lavées. Les nodosités en ont été détachées, puis comptées, séchées et pesées. Après séchage à l'étuve à 65 °C pendant plus de 48 heures, la matière végétale totale de chaque plant a été finement broyée, puis analysée en azote total (méthode de Kjeldhal selon Bremner et Mulvaney, 1982). Son enrichissement en azote  $^{15}\text{N}$  a été mesuré par spectromètre de masse pour la détermination du taux d'azote fixé. La relation entre teneur en azote et taux de fixation a été étudiée.

## Fixation symbiotique en situation, dans la subéraie

Sur un peuplement équienne de *Teline*, apparu dans la subéraie après

incendie et âgé de 8 ans, les teneurs en azote et les quantités d'azote par mètre carré présentes dans le bois (bois vert des rameaux de l'année + bois des années antérieures), les feuilles et les gousses de *Teline*, ont été établies en mai, en début de saison sèche, dans 76 situations types combinant la profondeur du sol, de 60 à 330 cm, et des recouvrements relatifs de chêne-liège de 0 à 100 % en un échantillonnage stratifié assurant l'indépendance de ces deux descripteurs ( $r = 0,085$ ).

La répartition de la matière sèche (MS) et de l'azote entre bois vert et feuilles a été mesurée sur 30 rameaux prélevés *in situ*, au printemps 2009, séchés, pesés après séchage à l'étuve et analysés en azote. Les ratios ainsi établis,  $\text{MS}_{\text{bois vert}}/\text{MS}_{\text{feuilles}}$  et  $\text{N}_{\text{bois vert}}/\text{N}_{\text{feuilles}}$ , ont été appliqués à la collecte de 1993 pour estimer les quantités de matière sèche et d'azote du bois vert de l'année. Les quantités de matière sèche et d'azote du bois ancien ont été calculées par différence :

$\text{MS}_{\text{bois ancien}} = \text{MS}_{\text{bois total}} - \text{MS}_{\text{bois vert}}$

et  $\text{N}_{\text{bois ancien}} = \text{N}_{\text{bois total}} - \text{N}_{\text{bois vert}}$ .

La matière sèche et l'azote total du bois ancien ont été déduits de la matière sèche et de l'azote total de l'appareil aérien pour évaluer les quantités contenues dans les rameaux de l'année (organes verts) ; leur teneur en azote a été calculée par le rapport N/MS.

Le taux de fixation a été évalué à partir des teneurs en azote des organes verts comprenant bois vert, feuilles et gousses, par application de la relation linéaire constatée entre taux de fixation et teneurs en azote des plants de l'expérimentation en pots six mois après inoculation. L'azote fixé pendant la saison de végétation active (octobre à mai) est évalué (kg/ha) par le produit des quantités d'azote total de l'ensemble (feuilles + gousses + bois vert) par le taux de fixation. Ces quantités totales ont été exprimées en fonction des quantités fixées et du stock d'azote du bois ancien (régression multiple) pour préciser les origines de l'azote : sol, fixation, bois ancien.

Dans les tableaux figurent les valeurs moyennes et leur écart type ; le test de Tukey au seuil  $p = 0,05$  a été utilisé pour les comparaisons de moyennes. Dans les figures, les courbes d'ajustement ont été calculées en recherchant

**Tableau 2. Caractéristiques moyennes des plants de *Teline linifolia* cultivé en pots dans les deux traitements : T1 : non inoculé ; T2 : inoculé (moyennes et leur écart type).**

Table 2. *Teline linifolia* plant mean parameters in pot experiment across treatments: T1: non-inoculated; T2: inoculated ; (mean and standard error).

Traitement	Hauteur des pieds (cm)	Nombre de ramifications par pied	Matière sèche (g par pied)	Teneur moyenne N (%) des pieds	N total (mg par pied)	Nombre de nodosités par pied	Matière sèche des nodosités (mg par pied)
T1	40 ± 2a	4,1 ± 0,5a	2,51 ± 0,12a	0,81 ± 0,15a	18,98 ± 3,04a	0	0
T2	48 ± 2b	5,6 ± 0,9a	4,10 ± 0,13b	2,05 ± 0,18b	86,78 ± 10,11b	26,17 ± 2,4	31,8 ± 4,5
T2/T1 (%)	120	137	163	252	456		

Pour les comparaisons entre T1 et T2, les valeurs suivies de lettres différentes dans une même colonne sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) pour  $n = 15$ .

la forme polynomiale la plus réduite avec le coefficient  $r^2$  le plus élevé.

## Résultats

### Effet de l'inoculation sur *Teline* cultivé en pots et sur les flux d'azote

Les plantes inoculées présentent une hauteur et une biomasse significativement supérieures à celles des témoins non inoculés (tableau 2). Les quantités d'azote des plants ino-

culés sont 4,56 fois plus élevées et leur teneur en azote 2,52 fois plus élevée que celles des témoins. Les mesures par la méthode de dilution isotopique de l'azote dérivé de l'air chez *Teline linifolia* ont déterminé des taux de fixation de 53,4 et de 50,7% de l'azote total avec respectivement *Dactylis* et *Teline* non inoculé comme plantes témoins non fixatrices (tableau 3). Les quantités d'azote prélevées dans le sol par les plants inoculés sont de 2,04 et 2,25 fois celles de *Dactylis* et *Teline* non inoculé respectivement. La teneur en azote des plants inoculés et le taux

d'azote dérivé de l'atmosphère sont liés :  $N_{\text{fixé}} \% = 9,52 (N \%) + 32,35$  avec  $r^2 = 0,706$  ;  $n = 14$  ; relation (1) (figure 1).

### Utilisation de la teneur en azote des organes verts comme indicateur de la fixation symbiotique

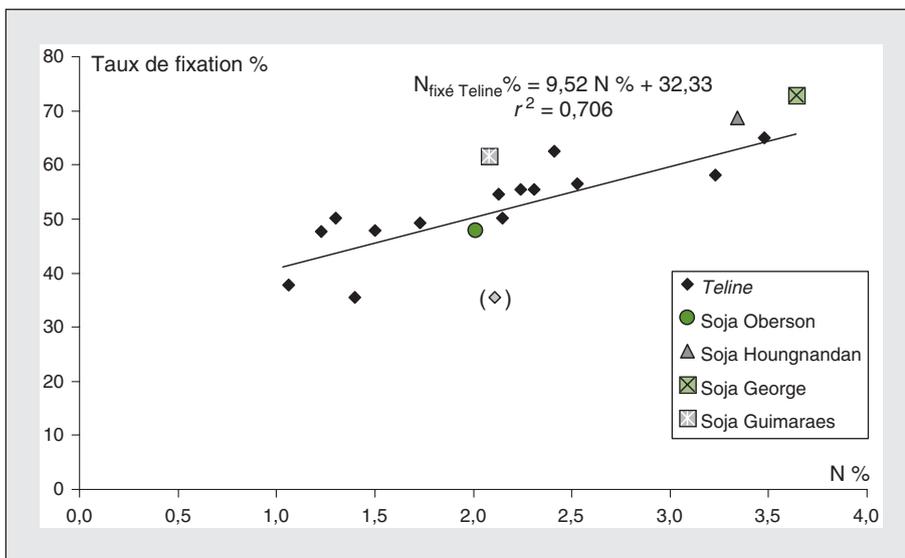
Les valeurs moyennes des ratios  $MS_{\text{bois vert}}/MS_{\text{feuilles}}$ ,  $N_{\text{bois vert}}/N_{\text{feuilles}}$  ont été de 0,89 et 0,60 respectivement. Dans la subéraie, l'application

**Tableau 3. Détermination des sources d'azote en pourcentage et en milligrammes par pied chez *Teline linifolia* inoculé (T2) avec *Teline* non inoculé (T1) et *Dactylis glomerata* (G1) comme témoins (méthode de dilution isotopique  $^{15}\text{N}$ ).**

Table 3. N source determination as percent and miligram per plant in inoculated *Teline linifolia* with non-inoculated *Teline* (T1) and *Dactylis glomerata* (G1) as control ( $^{15}\text{N}$  dilution method).

	$^{15}\text{N}$ (%) en excès (plante entière)	Azote dérivé de l'engrais NDF %	Azote dérivé du sol NDS (%)	Azote dérivé de la fixation Ndfa (%)	Azote absorbé total	Azote total (absorbé + fixé)	Excédent d'absorption lié à la fixation	Excédent absorbé sur N fixé
<i>Teline</i> non inoculé (T1)	0,484 ± 0,015	4,89 ± 0,15 (0,92 mg)	95,11 ± 0,15 (18,06 mg)	-	(18,98 mg)	(18,98 mg)		0
<i>Dactylis</i> (G1)	0,511 ± 0,008	5,17 ± 0,08 (1,02 mg)	94,83 ± 0,08 (18,83 mg)	-	(19,85 mg)	(19,85 mg)		0
<i>Teline</i> (T2) avec <i>Dactylis</i> comme témoin	0,238 ± 0,011	2,41 ± 0,11 (2,09 mg)	44,19 ± 2,09 (38,35 mg)	<b>53,40</b> ± 2,21 (46,34 mg)	(40,44 mg)	(86,78 mg)	(20,59mg)	44,4 %
<i>Teline</i> (T2) avec <i>Teline</i> non inoculé comme témoin	0,238 ± 0,011	2,41 ± 0,11 (2,09 mg)	46,85 ± 2,22 (40,66 mg)	<b>50,75</b> ± 2,33 (44,03 mg)	(42,75 mg)	(86,78 mg)	(23,77mg)	54,0 %

Moyennes et leurs écarts types.



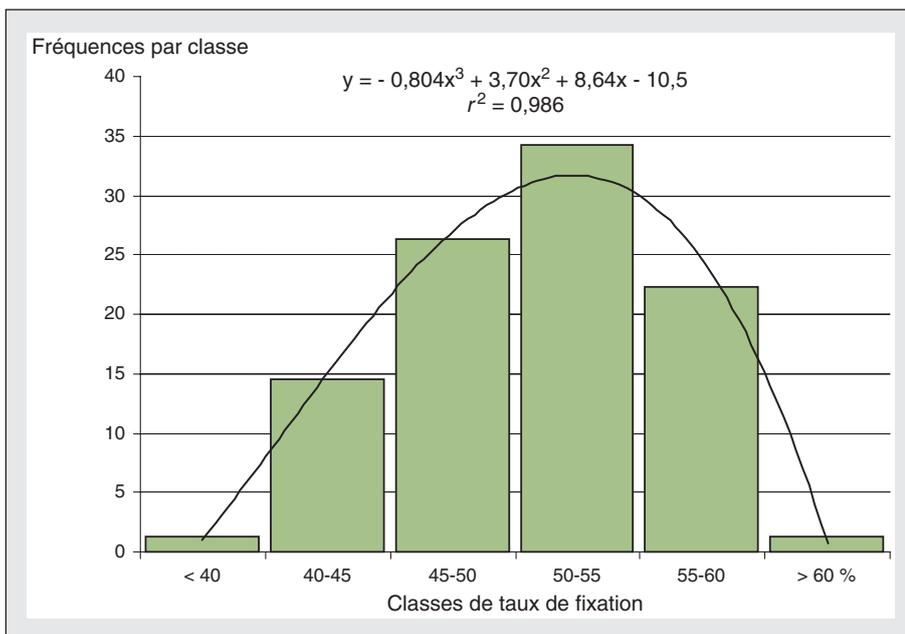
**Figure 1.** Taux de fixation de l'azote (%) en fonction de la teneur en azote des parties aériennes des plants de *Teline* et points comparatifs issus de données publiées sur le soja (utilisés en discussion).

**Figure 1.** N fixation rate (%) as a function of *Teline* full plant N content. Comparative points from published data on soja (used in discussion).

Un plant (N % : 2,11 ; N<sub>fixé</sub> % : 35,5), situé à part des 14 autres, a été exclu du calcul (entre parenthèses).

de la relation (1) aux organes verts de *Teline* par similitude avec les jeunes plants inoculés en pots indique que 98 % des taux de fixation calculés sont compris entre 40 et 60 % (figure 2) ; sur l'ensemble des 76 observations, leur teneur moyenne en azote est de  $1,93 \pm 0,12$  %.

Le taux moyen d'azote fixé calculé est de  $50,8 \pm 2,5$  % ; il n'est pas affecté par le recouvrement de chêne-liège ; il est de  $51,7 \pm 1,1$  % pour les épaisseurs de sable comprises entre 0,6 et 3 m et n'est plus que de  $47,1 \pm 2,4$  % pour les pieds développés sur des sols plus profonds (S au seuil  $p = 0,05$ ).



**Figure 2.** Taux de fixation de l'azote (%) de *Teline* dans la subéraie : fréquences par classes.

**Figure 2.** N fixation rate of *Teline* in the cork tree forest: frequency histogram per class.

La fixation d'azote et l'assimilation du carbone sont étroitement liées (tableau 4). Les quantités d'azote fixé sont de  $41 \pm 7$  kg/ha en moyenne sur la durée de la saison de végétation active. Les classes 0-20, 20-40 et 40-60 kg/ha représentent respectivement 28, 33 et 21 % des cas (figure 3). Les valeurs supérieures à 60 kg/ha représentent 18 % des cas pour une moyenne de  $94 \pm 13$  kg/ha. La profondeur du sol, c'est-à-dire l'épaisseur de sable au-dessus de la couche d'argile, rend compte de 31 à 49 % de la variance (équations en figure 4) et le recouvrement de chêne-liège, 19 % (non montré). L'optimum de fixation est obtenu (figure 4) pour les épaisseurs de sable comprises entre 1,10 et 1,70 m, soit 60, 95 et 40 kg/ha pour les recouvrements, 0-30, 30-75 et 75-100 % respectivement, en concordance avec les observations en nombre et poids de nodosités (Hracherrass *et al.*, 2009b).

Les variations de quantités d'azote non symbiotique en fonction de l'épaisseur du sol (figure 5) présentent une certaine similarité avec celles des quantités provenant de la fixation (figure 4), avec un maximum vers 1,40 m, soit 45 kg/ha entre 0 et 30 % de recouvrement et 70 kg/ha entre 30 et 75 %. Au-delà de 75 %, elle est de  $28 \pm 7$  kg/ha et indépendante de la profondeur.

L'épaisseur de sol sableux au-dessus du plancher argileux et le recouvrement du chêne-liège rendent compte notablement mais incomplètement de la variance de la fixation et de l'absorption de l'azote (figures 4 et 5) : la pente, l'exposition et le drainage latéral ont pu intervenir (Noh *et al.*, 2010). Bien que la zone d'étude (Hracherrass *et al.*, 2009b ; Hracherrass *et al.*, 2009c) soit caractérisée par de faibles pentes du sol et du plancher argileux (Cherki et Gmira, 2012), l'orientation, le ruissellement en surface et le drainage latéral profond ont pu interférer sur l'évolution de la réserve en eau du sol et être causes de variabilité.

## Sources de l'azote contenu dans les organes verts

L'expression des quantités d'azote (kg/ha) des organes verts, N<sub>teline</sub>, représentées en fonction du stock

**Tableau 4. Coefficients de corrélation entre quantités d'azote fixé et paramètres du peuplement de *Teline* : taux de recouvrement et matière sèche (MS) des organes verts.**

Table 4. Correlation coefficients between N fixation and *Teline* stand characteristics: canopy cover and dry matter of green shoots.

	Recouvrement de <i>Teline</i> (%)	MS organes verts (kg/ha)
N fixé en kg/ha	0,826	0,812
MS organes verts en kg/ha	0,924	

d'azote du bois non feuillé,  $N_{\text{bois ancien}}$ , et de l'azote fixé,  $N_{\text{fixé}}$ , (kg/ha) permet de simuler les flux de fixation symbiotique et d'absorption d'azote minéral du sol et le transfert de l'azote des réserves du bois ancien vers les nouvelles pousses :

$$N_{\text{teline}} = 10,8 + 0,055 N_{\text{bois ancien}} + 1,62 N_{\text{fixé}}$$

avec

$$r^2 = 0,985 ; n = 76 \text{ relation (2).}$$

Dans cette relation, le coefficient 1,62 exprime la part d'absorption, 62 %, associée à la fixation et le terme constant représente l'apport moyen du sol en kg/ha hors fixation. Ce terme prend des valeurs différentes lorsque la relation est établie pour chacune des trois classes de recouvrement : 5,7 pour 0-30 %, 7,5 pour 30-75 % et 11,1 pour 75-100 %.

## Discussion

### Comparabilité des teneurs en azote des plants cultivés en pots et des organes verts de *Teline* en forêt

L'application de la relation (1) utilisant les teneurs en azote comme indicateur de fixation a permis de calculer le taux de fixation symbiotique. Une telle application repose sur l'hypothèse d'une similitude des teneurs en azote des organes verts de pieds adultes prélevés en mai 1993 en début de période sèche et de celles de jeunes plants cultivés en pots en 1998 sur le même type de sol et inoculés depuis six mois. Entre les deux situations, on

constate une forte convergence sur quatre critères :

- la moyenne des teneurs en azote des organes verts,  $1,93 \pm 0,12$  % pour 76 observations dans la subéraie, ne diffère pas significativement ( $p = 0,05$ ) de celle,  $2,05 \pm 0,38$  %, obtenue en culture en pots avec 14 observations ;
- d'après Hracherrass *et al.* (2009c), la teneur en azote moyenne de *Thymelea*, un arbuste non fixateur de la subéraie, est de  $0,74 \pm 0,07$  % sous couvert et de  $0,66 \pm 0,06$  % à découvert ; elle diffère peu de celle de *Teline* non inoculé,  $0,81 \pm 0,15$  %, de la culture en pots ;

- le taux moyen de fixation symbiotique  $50,8 \pm 2,5$  % calculé dans la subéraie est cohérent avec le taux moyen  $51,8 \pm 4,3$  % mesuré par la méthode de dilution isotopique en pots ;

- la part d'absorption d'azote liée à la fixation est de 62 % dans la subéraie en référence à la relation (2) ; elle est de 44,4 % avec *Dactylis* comme témoin et de 54,0 % avec *Teline* non inoculé dans l'essai en pot (tableau 3).

### Test de robustesse des estimations du taux de fixation symbiotique et des quantités d'azote fixé

Les séquences climatiques peuvent avoir été très différentes en 1993 et en 2009, et avoir affecté les ratios « bois vert/feuilles » de mai. En appliquant des valeurs 0,99 et 0,50 nettement distinctes des valeurs mesurées 0,89 et 0,60 pour les ratios  $MS_{\text{bois vert}}/MS_{\text{feuilles}}$  et  $N_{\text{bois vert}}/N_{\text{feuilles}}$ , respectivement, le taux de fixation moyen est évalué à  $49,1 \pm 5,7$  % au lieu de  $50,7 \pm 5,9$  % et les quantités moyennes d'azote fixé le sont à  $37 \pm 4$  kg/ha au lieu de  $41 \pm 7$  kg/ha, montrant ainsi une stabilité satisfaisante.

### Test de fiabilité de la relation entre fixation et teneur en azote par comparaison avec le soja

Un essai de validation de la relation (1) par l'analyse des données publiées sur soja montre une grande dispersion des

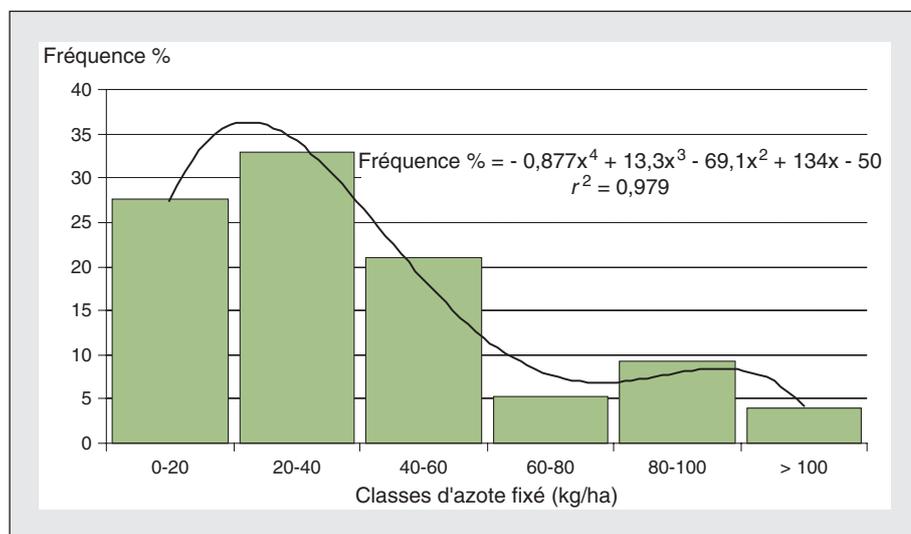


Figure 3. Fixation symbiotique d'azote de *Teline linifolia* ; distribution par classes de 20 kg/ha N.

Figure 3. N symbiotic fixation of *Teline linifolia*: distribution through 20 kg/ha N classes.

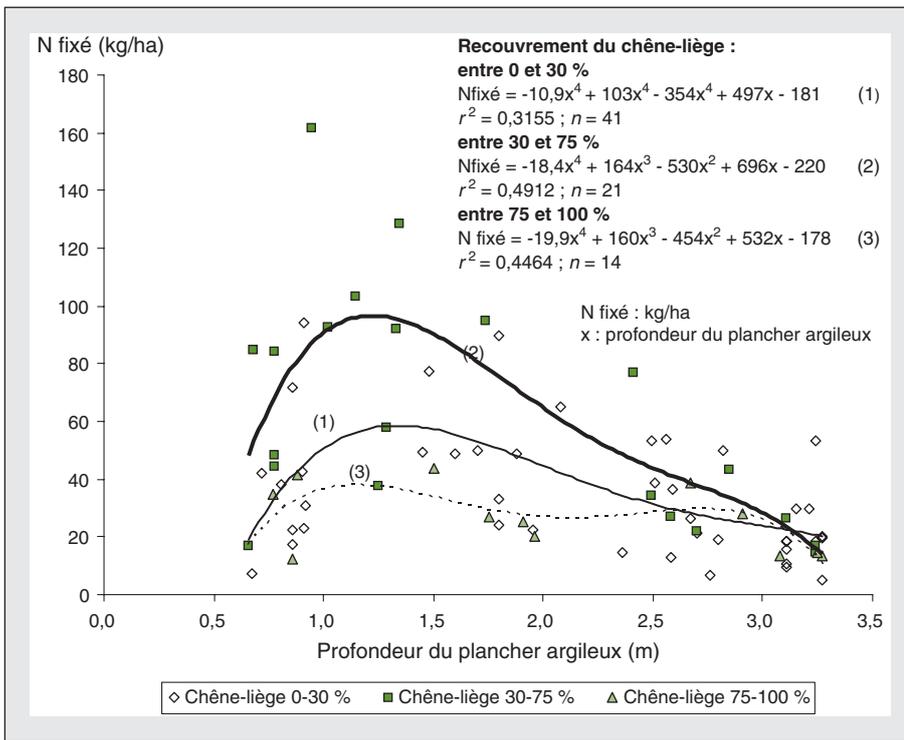


Figure 4. Azote fixé dans les organes verts (kg/ha) en fonction de la profondeur du sol et du recouvrement de chêne-liège.

Figure 4. N fixation (kg/ha) in green shoots as a function of soil depth and cork tree canopy cover.

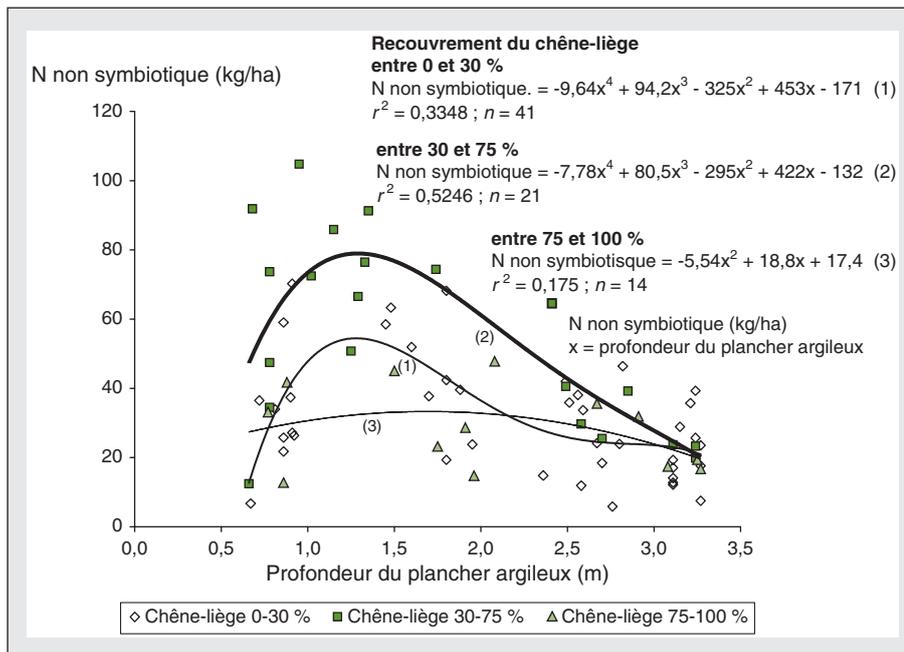


Figure 5. Azote d'origine non symbiotique dans les organes verts (kg/ha) en fonction de la profondeur du sol et du recouvrement de chêne-liège.

Figure 5. Non symbiotic N in green shoots (kg/ha) related to soil depth and cork tree canopy cover.

couples « teneur N % de l'appareil aérien ; taux de fixation symbiotique » pour cinq variétés cultivées sur trois sols différents (George *et al.*, 1988 ; George *et al.*, 1993) et pour 16 variétés (Houngnandan *et al.*, 2008). Les données sont plus proches de l'hypothèse pour quatre souches de *Bradyrhizobium* (Guimarães *et al.*, 2008) et pour l'arrière-effet trentenaire de cinq systèmes de culture (Oberson *et al.*, 2007). Cependant, la série des données concernant *Teline* s'inscrit de façon satisfaisante par rapport aux quatre points moyens représentatifs respectivement des 15 combinaisons « sol × variété », des 16 variétés, des quatre souches de *Bradyrhizobium* et des cinq systèmes de culture impliqués (figure 1). Pour ces peuplements de *Teline* âgés de 8 ans, en pleine croissance et situés dans la subéraie sur sol pauvre en azote, la teneur en azote des organes verts en fin de période de végétation exprime principalement l'intensité de la fixation symbiotique et la stimulation qu'elle exerce sur l'absorption, + 62 %. Elle exprime fort peu la part d'absorption non liée à la fixation. La comparaison des pools d'azote des parties aériennes de sojas avec nodosités et des pools des parties aériennes de sojas sans nodosités révèle aussi un effet stimulant de la fixation symbiotique sur l'absorption d'azote minéral du sol, avec une augmentation de 86 % de cette dernière (George *et al.*, 1993).

## Méthodes isotopiques en champ cultivé et en écosystèmes naturels

Le grand intérêt des méthodes isotopiques demeure dans l'estimation séparée des diverses sources d'azote, sol compris. Toutefois, sur soja, George *et al.* (1993) n'obtiennent une différence significative entre la méthode par analyse de l'abondance isotopique naturelle en  $^{15}\text{N}$  et la méthode par différence (Danso, 1995) que dans un cinquième de leurs observations. Pour Oberson *et al.* (2007), les estimations à l'aide de l'abondance naturelle et de la dilution  $^{15}\text{N}$  conduisent à des résultats équivalents, sans qu'ils parviennent à mettre en évidence des différences significatives entre des systèmes cultureux qui ont divergé pendant 27 ans. Houngnandan *et al.* (2008) utilisant

l'abondance naturelle mettent en évidence des résultats très différents selon le cultivar non fixateur utilisé en référence.

Boddey *et al.* (2000) soulignent les difficultés d'utilisation de l'abondance naturelle dans les écosystèmes naturels. Dans le cas de *Teline*, la difficulté aurait été *a fortiori* considérable pour son application sur les gradients de profondeur du plancher argileux et de recouvrement du chêne-liège explorés ici, compte tenu du nombre de combinaisons et répétitions nécessaires. Le calcul des sources de l'azote assimilé dans les organes verts a donc été basé sur les relations (1) et (2). D'autres recherches restent nécessaires pour tester cette méthode sur d'autres espèces et selon les flux de minéralisation de sols variés.

### Facteurs de variation de la fixation symbiotique de *Teline* dans la subéraie

Dans ce milieu pauvre en azote, la fixation symbiotique joue un rôle moteur dans la croissance de *Teline* (tableau 2) même si l'énergie exigée pour la fixation est considérable, 8 g de C par g d'azote (Vitousek *et al.*, 2002). En dépit de ce coût, la fixation symbiotique assure à *Teline* un avantage compétitif en stimulant, par effet en retour, la croissance de l'appareil foliaire et en accroissant l'efficacité de la prospection et de l'absorption de l'azote minéral du sol (tableau 3).

Les évaluations de la fixation symbiotique du présent article sont pleinement cohérentes avec le nombre et le poids des nodosités mesurés par Hracherrass *et al.* (2009b) : ceux-ci sont à l'optimum pour les sols d'épaisseur 1 à 2 m et au minimum pour les sols de moins d'1 m ou de plus de 3 m ; ils sont plus élevés sous la couronne d'un chêne-liège qu'à découvert. Dans le présent article, le taux de la fixation apparente (azote fixé + azote absorbé associé à la fixation) est estimée à 85 % (*cf.* ratio moyen :  $1,62 N_{\text{fixé}}/N_{\text{teline}}$ ) ; d'après Hracherrass *et al.* (2009c), il est de 65 à 71 % en utilisant la méthode de la différence avec *Thymelea* comme espèce témoin non fixatrice. L'augmentation de l'apport du sol « hors fixation » de 5,7 à 11,1 kg/ha avec les recouvrements croissants indique

qu'une part de l'absorption résulte de l'enrichissement du sol par la litière de chêne-liège au fil des ans, mais l'effet reste modeste en comparaison de l'effet de stimulation de l'absorption associée à la fixation. Les disponibilités d'azote du sol et la stimulation de l'absorption associée à la fixation symbiotique ont pour résultante une limitation à 60 % du taux de fixation. Le sol n'est pas non plus assez riche en matière organique pour entraîner, en période de température et d'humidité favorables, des flux de minéralisation suffisants pour inhiber la fixation (Hartwig, 1998). À l'opposé, sur un sol jeune très pauvre en azote, George *et al.* (1988, 1993) observent sur soja des taux de fixation très élevés.

La présence d'arbres (chêne-liège dans le cas présent) agit par plusieurs voies (Balandier *et al.*, 2003) sur la photosynthèse de la végétation sous-jacente (*Teline*) et sur l'activité de la fixation symbiotique (Sprent et Silvester, 1973 ; Khadha et Tatsumi, 2006) qui en dépend étroitement :

- baisse du rayonnement photosynthétiquement actif ;
- diminution de la demande climatique pour l'eau au niveau des feuilles et de la surface du sol ;
- compétition pour l'eau au niveau des racines (Balandier *et al.*, 2008).

La résultante à l'issue de la période active de végétation fait apparaître un optimum de fixation d'azote entre 30 et 75 % de recouvrement arborescent. En Floride, Cathey *et al.* (2010) observent que la fixation symbiotique de diverses légumineuses indigènes de l'écosystème à *Pinus palustris* et *Aristida stricta* n'est pas affectée par une réduction de 50 % du rayonnement incident. Dans les pâturages sous les bois de chêne vert du Moyen Atlas, Qarro et de Montard (1992) ont observé que l'abondance-dominance des légumineuses est à l'optimum pour les recouvrements compris entre 30 et 60 %.

La fixation symbiotique est affectée par le déficit hydrique (Ounanès, 1998). La profondeur du plancher argileux détermine la réserve en eau accessible, environ 120 mm par mètre d'épaisseur de sable, et la présence en profondeur d'une nappe temporaire en période pluvieuse. Pour les profondeurs comprises entre 1 et 2 m, une bonne réserve en eau et le

maintien d'une lame d'eau temporaire facilement accessible sur le plancher argileux rend compte de l'optimum de fixation et d'absorption observé en accord avec l'optimum du nombre et du poids des nodosités et de la teneur en azote des plants relevé par Hracherrass *et al.* (2009b) ; la fixation est significativement plus faible dans les sols superficiels de moindre réserve en eau, ainsi que dans les sols de profondeur comprise entre 2 et 3 m pour lesquels l'eau des pluies descend rapidement et s'accumule sur le plancher argileux à un niveau moins accessible aux racines (Lepoutre, 1965) ; elle est encore plus faible au-delà de 3 m où l'eau libre est encore moins accessible.

La valorisation de l'eau, en termes de fixation symbiotique et de stimulation de l'absorption, associée à la fixation, apparaît améliorée par un recouvrement moyen (30 à 75 %) et dégradée sous un fort recouvrement qui réduit la photosynthèse (figures 4 et 5).

## Conclusion

Compte tenu des convergences observées dans le contexte des sols sableux pauvres en azote de la subéraie, le taux de fixation symbiotique de *Teline* peut être estimé d'après la teneur en azote de ses organes verts. La confirmation de cette hypothèse et la faible sensibilité des estimations aux variations des ratios  $MS_{\text{bois vert}}/MS_{\text{feuilles}}$  et  $N_{\text{bois vert}}/N_{\text{feuilles}}$  a permis d'estimer la fixation en quantités agronomiquement interprétables (kg/ha par an) sur de très larges gradients d'épaisseur de la couche de sable et de recouvrement arborescent. La fixation dépend de l'épaisseur de sable au-dessus du plancher argileux qui détermine la réserve en eau et son accessibilité, et du taux de recouvrement arborescent qui modère la demande climatique pour l'eau et réduit l'énergie disponible pour la photosynthèse. Un optimum de fixation est observé pour les sols où la réserve en eau est importante et reste accessible aux racines, c'est-à-dire entre 1 et 2 m de profondeur, et pour un rayonnement incident d'un à deux tiers de la pleine insolation. L'absorption d'azote minéral du sol est très fortement stimulée par la fixation

symbiotique quoique inférieure en quantité, et extériorise les mêmes conditions optimales ; une part de l'absorption est indépendante de la fixation et liée positivement au taux de recouvrement.

La fixation symbiotique moyenne de *Teline* dans la subéraie,  $41 \pm 7$  kg/ha, constitue une valeur médiane dans la gamme des références sur les légumineuses arbustives, et deux fois moins élevée que celles de *Chamaecytisus proliferus* et *Cytisus scoparius* en climats à été sec. Dans les situations favorables, *Teline* rejoint les performances de ces deux espèces.

La capacité de *Teline* à la fixation d'azote, son adaptation à un ombrage moyen et à des sols sableux pauvres en azote mais profonds d'un à deux mètres, son éventuel effet protecteur des jeunes arbres vis-à-vis du bétail, le rendraient utile pour accompagner la régénération du chêne-liège, ou d'autres essences, sous condition de maîtriser les techniques de préparation des graines, du sol et du semis et de prévenir les feux par des cloisonnements. *Teline* illustre ainsi l'intérêt potentiel des légumineuses arbustives dans l'aménagement multifonctionnel de forêts claires. ■

## Remerciements

Pr Ahmed Chaïbi (IAV Hassan II, Rabat), Pr Jamal Ibjibjien (faculté des sciences, Meknès), M Mohammed Ibn Majah (Énergie nucléaire et radio-isotope, CNESTEN, Rabat).

## Références

Aronson J, Ovalle C, Avendano J, Longeri L, Del Pozo A, 2002. Agroforestry tree selection in central Chile: biological nitrogen fixation and early plant growth in six dryland species. *Agroforestry Systems* 56 : 155-66.

Augusto L, Crampon N, Saur E, Bakker MR, Pellerin S, De Lavaisiere C, et al., 2005. High rates of nitrogen fixation of *Ulex* species in the understory of maritime pine stands and the potential effect of phosphorus fertilization. *Canadian Journal of Forestry Research* 35 : 1183-92.

Balandier P, Bergez J-E, Etienne M, 2003. Use of the management-oriented silvopastoral model ALWAYS: calibration and evaluation. *Agroforestry Systems* 57 : 159-71.

Balandier P, de Montard FX, Curt T, 2008. Root competition for water between trees and grass in a silvopastoral plot of ten year old *Prunus avium*. In : Batish DR, Kohli RK, Jose S, Singh HS, eds.

*Ecological basis of agroforestry*. New York : CRC Press.

Bremner JM, Mulvaney CS, 1982. Nitrogen-Total. In : Page AL, Miller RH, eds. *Methods of soil analysis, part 2*. Madison (Wisconsin, USA) : ASA and SSSA.

Boddey RM, Peoples MB, Palmer B, Dart PJ, 2000. Use of the  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* 57 : 235-70.

Busse MD, 2000. Suitability and use of  $^{15}\text{N}$  isotope dilution method to estimate nitrogen fixation by actinorhizal shrubs. *Forest Ecology and Management* 136 : 85-95.

Cathey SE, Boring LR, Sinclair TR, 2010. Assessment of  $\text{N}_2$  fixation capability of native legumes from the longleaf pine-wiregrass ecosystem. *Environmental and Experimental Botany* 67 : 444-50.

Cherki K, Gmira N, 2012. Répartition spatiale des incendies dans la forêt de la Mâamora (Maroc) en fonction des facteurs humains et physiques. *Forêt Méditerranéenne* 33 : 19-30.

Danso SKA, 1995. Assessment of biological nitrogen fixation. *Fertilizer Research* 42 : 33-41.

Dulormne M, Sierra J, Nygren P, Cruz P, 2003. Nitrogen fixation and recycling of the fixed nitrogen in a cut-and-carry silvopastoral system under subhumid tropical conditions (Guadeloupe, French Antilles). *Agroforestry Systems* 59 : 121-9.

Fried M, Middelboe V, 1977. Measurement of amount of nitrogen fixed by a legume crop. *Plant and Soil* 47 : 713-5.

Gathumbi SM, Cadisch G, Giller KE, 2002.  $^{15}\text{N}$  natural abundance as a tool for assessing  $\text{N}_2$ -fixation of herbaceous, shrub and tree legumes in improved fallows. *Soil Biology and Biochemistry* 34 : 1059-71.

George T, Singleton PW, Ben B, 1988. Yield, soil nitrogen uptake and nitrogen fixation by soybean from four maturity groups grown at three elevations. *Agronomy Journal* 80 : 563-7.

George T, Singleton PW, Van Kessel C, 1993. The use of  $^{15}\text{N}$  natural abundance and nitrogen yield of non-nodulating isolines to estimate nitrogen fixation by soybeans (*Glycine max* L.) across three elevations. *Biology and Fertility of Soils* 15 : 81-6.

Guimarães AP, De Moraes RF, Urquiaga S, Boddey RM, Alves BJR, 2008. *Bradyrhizobium* strain and the  $^{15}\text{N}$  natural abundance quantification of biological  $\text{N}_2$  fixation in soybean. *Scientia Agricola (Piracicaba, Brazil)* 65 : 516-24.

Hartwig UA, 1998. The regulation of symbiotic  $\text{N}_2$  fixation : a conceptual model of N feedback from the ecosystem to the gene expression level. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 1 : 92-120.

Houngnandan P, Yemadje R, Oikeh S, Djidohokpin FC, Boeckx P, Van Cleemput O, 2008. Improved estimation of biological nitrogen fixation of soybean cultivars (*Glycine max* L.) using  $^{15}\text{N}$  natural abundance technique. *Biology and Fertility of Soils* 45 : 175-83.

Hracherrass A, Berkati O, de Montard FX, 2009a. Implications des choix alimentaires des ovins et des bovins dans les parcours à *Teline linifolia* pour l'aménagement de la subéraie de la Mâamora. *Cahiers Agricultures* 18 : 35-43. doi: 10.1684/agr.2009.0266

Hracherrass A, Berkati O, Ismaïli M, Mokrim A, 2009b. Influence du sol et du couvert végétal sur la nodulation chez *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth en forêt de la Mâamora. *Annales de la Recherche Forestière (Maroc)* 40 : 75-87.

Hracherrass A, Berkati O, Ismaïli M, Mokrim A, 2009c. Influence du couvert végétal sur la fixation biologique de l'Azote chez *Teline linifolia* (L.) Webb & Berth en forêt de la Mâamora. *Annales de la Recherche Forestière (Maroc)* 40 : 88-94.

Khadha J, Tatsumi J, 2006. Alteration in intra-plant distribution of  $\delta^{15}\text{N}$  in response to shading in legumes. *Plant Production Science* 9 : 219-27.

Lepoutre B, 1965. Régénération artificielle du chêne liège et équilibre climatique de la subéraie en forêt de la Mâamora. *Annales de la Recherche Forestière (Maroc)* 9 : 1-263.

Metro A, Sauvage C, 1955. *Flore des végétaux ligneux de la Mâamora*. Rabat : Société Sciences Naturelles Maroc.

Munns DN, 1977. Mineral nutrition and the legume symbiosis. In : Hardy RWF, Gibson John Wiley AH, eds. *Treatise on Dinitrogen Fixation, Section IV Agronomy and Ecology*. New York : John Wiley and sons.

Noh NJ, Son Y, Koo JW, 2010. Comparison of nitrogen fixation for north- and south-facing *Robinia pseudoacacia* stands in Central Korea. *Journal of Plant Biology* 53 : 61-9.

Obersson A, Nanzer S, Bosshard C, Dubois D, Mäder P, Frossard E, 2007. Symbiotic  $\text{N}_2$  fixation by soybean in organic and conventional cropping systems estimated by  $^{15}\text{N}$  dilution and  $^{15}\text{N}$  natural abundance. *Plant and Soil* 290 : 69-83.

Ouanès M, 1998. Effet du stress hydrique sur la fixation et l'assimilation de l'azote chez le pois-chiche. *Annales de l'Institut National Agronomique El Harrach (Algérie)* 19 : 114-23.

Peoples MB, Palmer B, Lilley DM, Duc LM, Herridge DF, 1996. Application of  $^{15}\text{N}$  and xylem ureide methods for assessing  $\text{N}_2$  fixation of three shrub legumes periodically pruned for forage. *Plant and Soil* 182 : 125-37.

Qarro M, de Montard FX, 1992. Étude de la productivité des parcours de la zone d'Ain-Leuh (Moyen Atlas, plateau central). II Modélisation de la production d'herbe : interactions climat  $\times$  sol  $\times$  recouvrement arboré. *Agronomie* 12 : 489-501.

Sprent JI, Silvester WB, 1973. Nitrogen fixation by *Lupinus arboreus*, grown in the open and under different aged stands of *Pinus radiata*. *New Phytologist* 72 : 991-1003.

Sylla SN, Ndoye I, Gueye M, Ba AT, Dreyfus B, 2002. Estimates of biological nitrogen fixation by *Pterocarpus lucens* in a semi arid natural forest park in Senegal using  $^{15}\text{N}$  natural abundance method. *African Journal of Biotechnology* 1 : 50-6.

Vincent JN, 1970. *Manuel for the practical study of the root nodule bacteria, IPB*. Handbook, No 15. Oxford : Blackwell.

Vitousek PM, Cassman K, Cleveland C, 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. *Biogeochemistry* 57 : 1-45.

Watt MS, Clinton PW, Whitehead D, Richardson B, Mason EG, 2003. Above ground biomass accumulation and nitrogen fixation of broom (*Cytisus scoparius* L.) growing with juvenile *Pinus radiata* on a dryland site. *Forest Ecology and Management* 184 : 93-104.