

Impact de deux plantes pionnières, *Gymnostoma webbianum* (Casuarinacées) et *Serianthes calycina* (Légumineuses), sur le fonctionnement biologique de déblais miniers de Nouvelle-Calédonie

Marina HÉRY^(1, 2), Aude HERRERA^(1, 2), Cécile VILLENAVE^(1, 2),
Xavier LEROUX⁽¹⁾, Benoît REMENANT⁽¹⁾, Laurent PHILIPPOT⁽³⁾,
Philippe NORMAND⁽¹⁾, Elisabeth NAVARRO^{(1, 2)*}

⁽¹⁾ Écologie Microbienne, UMR CNRS 5557, Écologie microbienne,
43 bd du 11 novembre 1918, Bât 741, 69622 Villeurbanne Cedex, France
⁽²⁾ UR IRD 83, Université Claude Bernard Lyon 1, 69622 Villeurbanne Cedex, France
⁽³⁾ Microbiologie et géochimie des sols, UMR INRA 1229, 17, rue Sully,
BP 86510, 21065 Dijon Cedex, France

Abstract: Impact of two endemic plant species establishing dinitrogen-fixation symbiosis (*Gymnostoma webbianum* and *Serianthes calycina*), revegetation effect on the mine spoils in New Caledonia. New Caledonia is characterized by nickel exploitation that results in mine spoils causing pollution problems. Nickel mine spoils in New Caledonia represent an environment, rich in nickel and strongly deficient in elementary elements such as carbon and nitrogen. To rehabilitate these sites, revegetation attempts are performed with endemic plant species establishing dinitrogen-fixation symbiosis (*Gymnostoma webbianum* and *Serianthes calycina*). To study the revegetation effect on the mine spoils, the effect of the two pioneer plants on the structure and activity of total and functional microbial communities is evaluated. RISA and *narG* gene were used as molecular markers for total bacterial community and dissimilatory nitrate reducers, respectively. Counts of bacteria and nematodes were performed to evaluate their populations. In order to assess the influence of the plants on activity of bacterial communities, respiration and denitrification measures were performed. In the same way, soil analyses were performed to evaluate their influence on the main physical and chemical properties of mine spoils. The two plant species have similar effects. In fact, both pioneer plants modified the diversity and activity of the microbial communities. Nematode populations increased in the presence of plants.

* Correspondance et tirés à part : navarro@univ-lyon1.fr

Nickel / Mine / Revegetation / bacterial diversity and activities / nematodes

Résumé : L'exploitation des mines de nickel en Nouvelle-Calédonie a pour conséquence de graves problèmes environnementaux. Les déblais miniers constituent des environnements riches en nickel et pauvres en éléments essentiels, comme le carbone et l'azote. La revégétalisation des déblais miniers a été entreprise avec des plantes symbiotiques (*Gymnostoma webbianum* et *Serianthes calycina*). Dans cette étude, l'impact de la revégétalisation sur les communautés bactériennes et sur le statut biologique des déblais a été appréhendé en analysant l'effet de plantes pionnières sur la structure des communautés microbiennes totales et fonctionnelles, ainsi que sur leurs activités. La RISA et le gène *narG* ont été utilisés pour analyser la structure des communautés totales et fonctionnelles, respectivement. Des dénombrements ont permis d'évaluer la communauté bactérienne et la nématofaune. Des mesures d'activités respiratoires et dénitrifiantes ont été aussi réalisées ; les paramètres physicochimiques des sols ont été aussi suivis. Ces deux espèces végétales ont des effets comparables. Elles modifient l'activité et la diversité des communautés microbiennes et restaurent leurs activités. La nématofaune est elle aussi stimulée par ses espèces végétales.

Nickel / Mines / revégétalisation / diversité et activités bactériennes / nématodes

1. INTRODUCTION

La Nouvelle-Calédonie est caractérisée par la présence importante de roches ultramafiques, qui s'étendent sur un tiers de la Grande Terre ; alors qu'elles ne représentent que 1 % des terres émergées du globe [4]. Ces roches sont riches en métaux et plus particulièrement en nickel. L'exploitation minière du nickel est la principale ressource économique de ce territoire. Depuis plus d'un siècle, l'exploitation intensive des mines de nickel à ciel ouvert a conduit à une destruction de la végétation sur de nombreux sites néocalédoniens et a donc engendré une modification drastique des propriétés du « sol » de surface. Ces déblais miniers organisés en terrasses recouvrent des surfaces importantes totalement dénudées et sont caractérisés par des conditions physico-chimiques extrêmes car défavorables pour la vie. En effet, ils sont très pauvres en éléments essentiels (carbone, azote, phosphore, ...) et ils contiennent de très fortes concentrations en métaux lourds et particulièrement en nickel. Ces substrats difficiles ne sont pas recolonisés naturellement par des plantes plus de vingt ans après l'arrêt de l'exploitation minière. Cette

anthropisation a des effets très néfastes sur l'environnement néocalédonien (pollution des rivières, du lagon, ...). La restauration de ces terrasses minières est donc essentielle pour la préservation des écosystèmes néocalédoniens.

La végétation néocalédonienne est caractérisée par un fort taux d'endémisme et une adaptation aux sols issus des roches ultramafiques. Cette végétation particulière, appelée localement « maquis miniers », sert de point de départ pour la restauration des sites miniers. En effet, des plantes pionnières poussant naturellement sur des sols carencés et riches en métaux, comme *Gymnostoma webbianum* (Casuarinacées) et *Serianthes calycina* (Légumineuses), ont été plantées lors d'essais de revégétalisation menés sur d'anciennes mines. Ces espèces végétales sont capables d'établir une symbiose fixatrice d'azote avec des bactéries, ce qui leur permet de s'installer dans des milieux très pauvres d'où le nom de plante pionnière [10]. Cependant, les essais de revégétalisation menés jusqu'à présent ne sont pas totalement convaincants ; même si les plantes sont capables de croître, leur développement est très lent et il n'a pas permis le démarrage de succession végétale. Afin d'améliorer la restauration des sites miniers, il nous paraît nécessaire de mieux comprendre l'impact de la plante sur la qualité biologique des déblais miniers.

Dans ce but, notre étude a été réalisée sur une ancienne mine du Mont Dore (sud de la Nouvelle-Calédonie), où trois situations ont été analysées; les déblais miniers nus et les déblais miniers sous *G. webbianum* et *S. calycina*, huit ans après leur plantation.

Afin d'évaluer l'impact de ces deux espèces végétales sur le fonctionnement des déblais miniers, nous avons choisi de mesurer quelques indicateurs pertinents [16] : les paramètres physico-chimiques du sol, (teneur en matière organique, CEC, ...), la diversité et l'activité des communautés microbiennes totales et fonctionnelles et la nématofaune.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1. Échantillons de sol

Les sols utilisés dans cette étude ont été récoltés dans une ancienne mine à ciel ouvert au Mont Dore, localité située dans le sud de la Nouvelle-Calédonie. Cette mine de nickel est inexploitée depuis plus de vingt ans et deux espèces d'arbres endémiques ont été plantées dans le

cadre d'essais de restauration des déblais miniers menés en 1994. Ceci nous a permis de comparer trois situations : les déblais miniers sans végétation (MIN), les déblais sous *Gymnostoma webbianum* (GYM) et sous *Serianthes calycina* (SER). Trois prélèvements de l'horizon A (0-10 cm) ont été effectués pour chaque échantillon. Leurs caractéristiques physico-chimiques sont données dans le tableau 1.

2.2. Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait de 10 grammes de sol en utilisant le kit « MegaPrep Extraction DNA kit » de Mobio (MoBio Laboratories, Solana Beach, CA, USA). La qualité de l'ADN est vérifiée sur gel d'agarose et sa quantification est réalisée par comparaison avec une gamme étalon d'ADN de thymus de veau déposée sur ce même gel.

2.3. Dénombrement des bactéries

Cinq grammes de sol sont broyés au mixeur (Waring blender, Eberbach Corporation Ann Harbor, UI, USA) dans 45 ml de NaCl 0,9 % stérile pendant 90 secondes. Des dilutions 1/10 en série sont réalisées à partir de cette première dilution dans la même solution de NaCl. Cent microlitres de la dilution appropriée sont étalés sur milieu gélose nutritive (Difco, Franklin Lakes, NJ, USA) afin de quantifier les bactéries hétérotrophes totales et sur milieu gélose nutritive contenant 2 g.l⁻¹ de NiCl₂ (15 mM Ni) afin de quantifier les bactéries hétérotrophes résistantes au nickel. Trois boîtes de Petri sont inoculées par dilution. Les comptages sont réalisés après 8 jours d'incubation.

2.4. PCR de l'intergène 16-23S (IGS) et du gène *narG*

L'IGS a été amplifié à partir de 10 ng d'ADN du sol avec les amorces universelles FGPS1490-72 et FGPL132-38 [11] selon la méthode décrite par HÉRY *et al.* [7].

Un fragment de 650 pb du gène *narG* a été amplifié à partir de 10 ng d'ADN du sol avec les amorces narG1960f (5'-TAYGTSGGSCARGARAA-3') et narG2650r (5'-TTYTCRTACCABGTTBGC-3') selon la méthode décrite par PHILIPPOT *et al.* [13]. Les réactions d'amplification sont réalisées dans un volume de 50 µl contenant R µl du tampon de réaction 10X, 200 µM de chaque dNTP, 0,5 µM de chaque amorce, 1 µg de la protéine T4 gene 32 et 2 unités de la polymérase Expand High Fidelity (Boehringer Mannheim, Allemagne).

Tableau 1 : Principales caractéristiques physico-chimiques des sols étudiés.

	Texture (%)			Matière organique (‰)		Rapport C/N	P (‰)		
	Argile	Limon fin	Sable	C total	N total				
MIN	7,2	17,2	75,6	6,33 ± 0,27	0,27 ± 0,05	26,7 ± 4,9	0,031 ± 0,001		
GYM	14,2	27,5	58,3	10,33 ± 0,27	0,73 ± 0,07	14,4 ± 1,0	0,036 ± 0,002		
SER	14,9	26,9	58,2	10,67 ± 0,54	0,93 ± 0,12	12 ± 1,5	0,048 ± 0,009		

	pH		CEC (meq)	Métaux (ppm)				Bases échangeables (‰)		
	H ₂ O	KCl		Ni	Cr	Co	Ca	K	Mg	
MIN	7,6 ± 0,02	6,66 ± 0,02	79 ± 1,8	21402 ± 733	990 ± 168	299 ± 61	0,06 ± 0,008	0,004 ± 0,001	1,15 ± 0,06	
GYM	7,3 ± 0,01	6,38 ± 0,02	97 ± 2,2	19817 ± 279	1044 ± 27	366 ± 20	0,08 ± 0,005	0,028 ± 0,004	1,53 ± 0,08	
SER	7,1 ± 0,04	6,28 ± 0,03	91 ± 0,5	21310 ± 573	1042 ± 92	243 ± 3	0,16 ± 0,007	0,025 ± 0,001	1,21 ± 0,02	

Les réactions d'amplification sont réalisées dans un thermocycleur Biometra (Göttingen, Allemagne) selon le programme suivant : une incubation de 94 °C pendant 3 mn, suivies de 30 cycles chacun d'eux étant composé d'une dénaturation de 1 mn à 94 °C, une hybridation de 1 mn à 55 °C, une extension à 72°C pendant 1 mn 30 s. Ces cycles sont suivis d'une extension finale réalisée à 72 °C pendant 5 mn. Pour chaque échantillon, 3 amplifications indépendantes ont été réalisées.

2.5. RISA

Les produits PCR sont déposés sur un gel 5 % en acrylamide (p /vol) (Biorad, Marnes La Coquette, France) non dénaturant selon les conditions décrites auparavant [7].

2.6. Empreinte génétique du gène *narG*

Les produits PCR obtenus pour une partie du gène *narG* ont été purifiés à l'aide du kit « QiaexII gel extraction kit » (Qiagen, Courtabeouf, France). Une fraction de 10 µl du produit PCR purifiés est digérée par une unité de l'enzyme de restriction *AluI* (Qbiogene, Evry, France) pendant 12 h à 37 °C. Les fragments d'ADN sont ensuite séparés par électrophorèse sur un gel d'acrylamide 6 % pd/vol pendant 17 h à 4 mA [13]. L'intensité et la longueur des bandes sont mesurées grâce au logiciel GelCompar II (Applied maths BVBA, Sint Martens Latem, Belgique). Une matrice de similarité est alors calculée directement à partir de GelComparII (coefficient de Dice) et analysée par le logiciel XLSTAT (Addinsoft, Paris, France) avec une analyse multivariée : MDS (Cadrage multidimensionnel, MultiDimensionnal Scaling plot) qui permet d'obtenir des régressions multiples où un coefficient de corrélation est calculé entre chacun des échantillons.

2.7. Mesure des activités dénitrifiantes et respiratoires potentielles

L'activité respiratoire potentielle est mesurée selon la méthode d'Anderson et Domsch [1]. Du sol frais (équivalent à 10 g de sol sec) est placé dans des flacons plasmas de 150 ml. Un ml de glucose en solution est ajouté de façon à obtenir une concentration en glucose de 2 mg g⁻¹ de sol sec. De l'eau est ensuite ajoutée de manière à se situer à 70 % de la capacité de rétention. Les flacons plasmas sont fermés puis incubés à 25 °C pendant 7 h. La concentration en CO₂ des échantillons de gaz est

analysée après différents temps (1, 3, 5 et 7 h) en utilisant une chromatographie gazeuse (Agilent P200 Micro, Palo Alto, CA, USA).

L'activité dénitrifiante potentielle est mesurée selon la méthode de Smith et Tiedje [17]. Du sol frais (équivalent à 10 g de sol séché à l'étuve) est placé dans des flacons plasma de 150 ml et 6 ml d'une solution contenant du KNO_3 ($200 \mu\text{g NO}_3\text{-N g}^{-1}$ sol sec), du glucose, ($0,5 \text{ mg C g}^{-1}$ sol sec) et de l'acide glutamique ($0,5 \text{ mg de C.g-1 de sol sec}$) sont ajoutés. De l'eau est alors ajoutée de manière à se situer à 70 % de la capacité au champ et les flacons plasmas sont fermés avec des bouchons de caoutchouc. L'atmosphère de chaque flacon est purgée et remplacée par un mélange 90 : 10 de He et C_2H_2 pour obtenir des conditions anaérobies et l'inhibition de l'activité N_2O -réductase. Pendant l'incubation à 25°C , des échantillons de la phase gazeuse sont prélevés après 4 h et 6 h et analysés immédiatement pour la concentration en N_2O à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (Varian STAR 3400 CX, Courtabœuf, France).

2.8. Densités de nématodes

Les nématodes ont été extraits du sol (250 g par échantillon pour les traitements GYM et SER et 350 g par échantillon pour les traitements MIN) par la méthode de décantation et tamisage de Cobb (modifiée selon s'Jacob et van Bezooijen, [15]). Ils ont été dénombrés sous loupe binoculaire ($\times 40$).

3. RÉSULTATS

3.1. Caractéristiques physico-chimiques du sol

Les deux espèces végétales ont un effet important sur les caractéristiques physiques et chimiques du sol (tabl. I). La texture des déblais miniers nus est limono-sableuse alors que sous les arbres une texture sablo-limoneuse a été trouvée. Ceci suggère que la plante constitue une protection contre l'érosion. La plante conduit aussi à une modification des caractères chimiques du sol comme la capacité d'échange cationique (CEC), la matière organique et les bases échangeables. Les sols prélevés sous les plantes ont un rapport C/N plus faible, ce qui révèle un meilleur fonctionnement des cycles de la matière organique et de l'azote.

3.2. La communauté bactérienne totale et dénitrifiante

Le nombre de bactéries totales (hétérotrophes cultivables) ainsi que le nombre de bactéries résistantes au nickel sont significativement ($p < 0,005$) plus importantes sous les deux arbres que dans les déblais miniers nus (fig. 1). Cette augmentation est plus importante sous *S. calycina*, en ce qui concerne les bactéries résistantes au nickel.

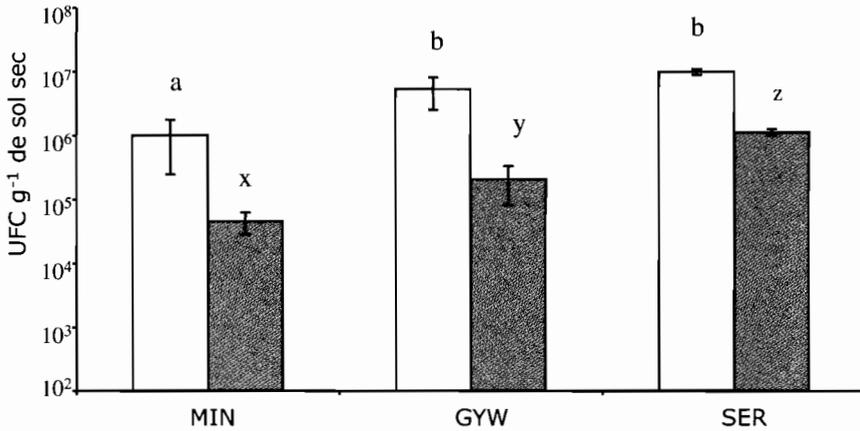


Figure 1 : Dénombrement des bactéries totales (en blanc) et des résistantes au nickel (en gris) mesuré dans les déblais miniers nus (MIN), les déblais miniers sous *G. webbianum* (GYM), les déblais miniers sous *S. calycina* (SER). Les barres correspondent aux erreurs standard. Les valeurs présentant des lettres différentes sont significativement différentes avec une valeur $p < 0,05$.

Cette variation dans le nombre de bactéries est accompagnée par un changement dans la structure de la communauté bactérienne. En effet, les profils RISA sont différents entre les trois situations étudiées (fig. 2).

Des résultats similaires ont été obtenus sur la communauté dénitrifiante (fig. 3A) puisque l'analyse MDS des profils de restriction du gène *narG* (fig. 3B) montre des différences significatives de la structure de la communauté dénitrifiante des sols prélevés sous *G. webbianum* et *S. calycina*. Cependant, les profils obtenus pour les déblais miniers sont hétérogènes et semblent être sous l'influence des plantes.

Impact des plantes sur le fonctionnement biologique de déblais miniers

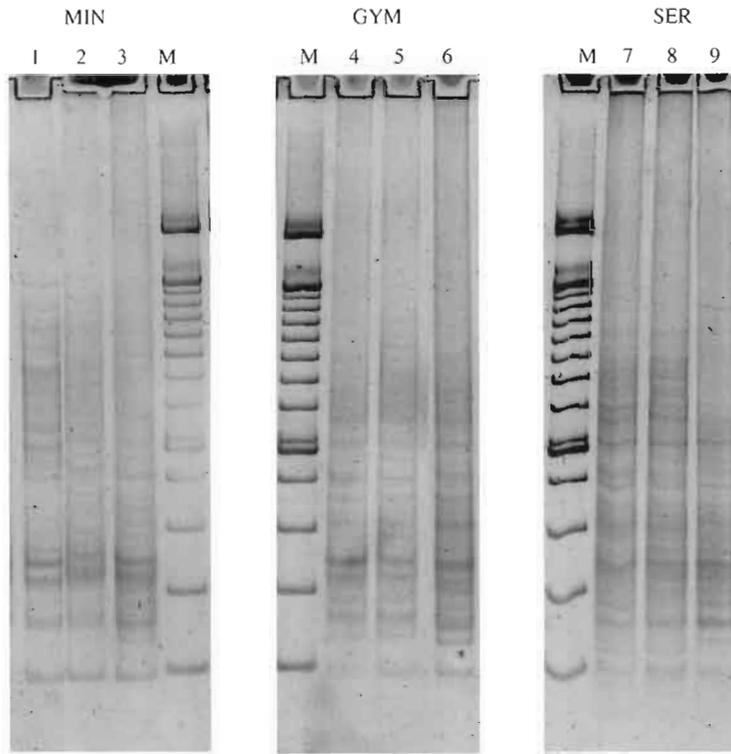


Figure 2 : Profils RISA obtenus pour les trois situations. Lignes 1, 2, 3 : déblais miniers nus; lignes 4, 5, 6 : déblais miniers sous *G. webbianum* ; lignes 7, 8, 9 : déblais miniers sous *S. calycina*. La ligne M correspond au marqueur de poids moléculaire 100 pb (Invitrogen).

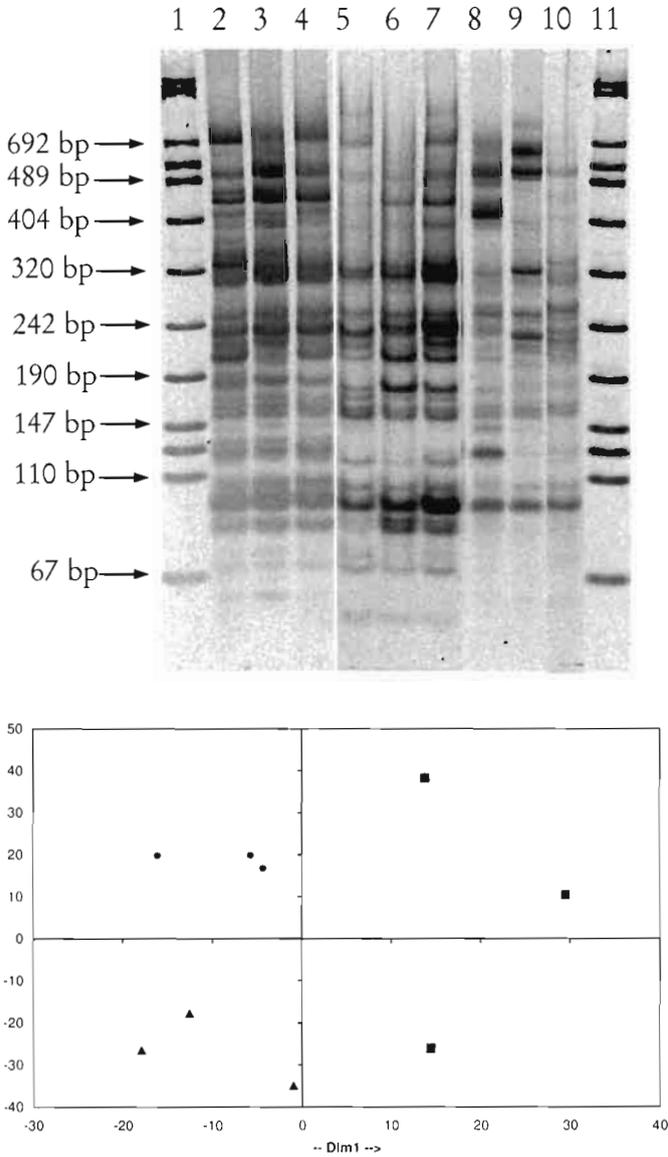


Figure 3 : (A) : Profils de restriction du gène *narG* obtenus pour les trois situations. Lignes 1, 2, 3 : déblais miniers sous *S. calycina* ; lignes 4, 5, 6 : déblais miniers sous *G. webbianum* ; lignes 7, 8,9 : déblais miniers nus. Les lignes 10 et 11 correspondent au marqueur de poids moléculaire VIII (Boehringer). (B) Analyse MDS des empreintes génétiques du gène *narG*. Carrés : déblais miniers nus; triangle : déblais miniers sous *G. webbianum* ; rond : déblais miniers sous *S. calycina*.

3.3. Activités microbiennes

Une activité respiratoire faible a été mesurée pour les déblais miniers nus, alors que des activités significativement plus importantes sont mesurées pour les échantillons prélevés sous les arbres ($p < 0,005$) (fig. 4).

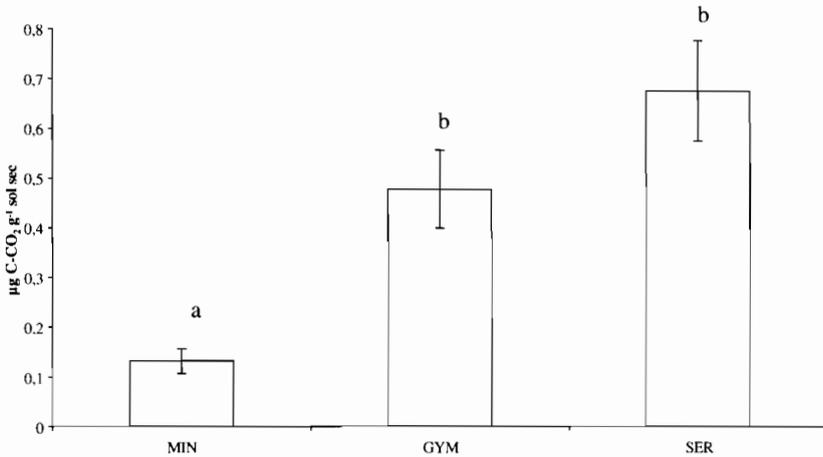


Figure 4 : Activités respiratoires potentielles mesurées dans les déblais miniers nus (MIN), les déblais miniers sous *G. webbianum* (GYM), les déblais miniers sous *S. calycina* (SER). Les barres correspondent aux erreurs standard. Les valeurs présentant des lettres différentes sont significativement différentes avec une valeur $p < 0,05$.

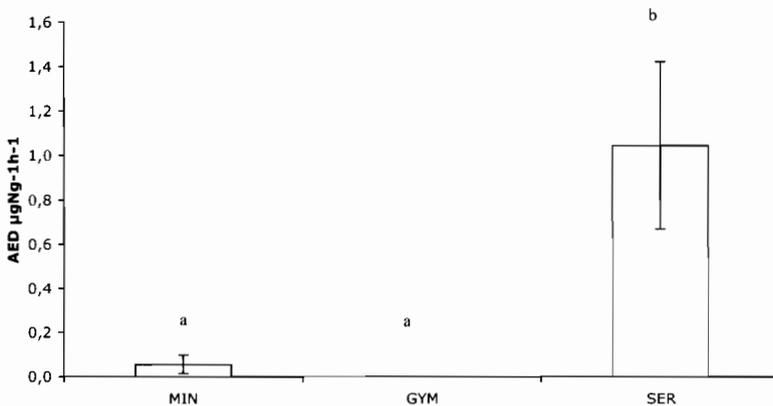


Figure 5 : Activités dénitrifiantes potentielles mesurées dans les déblais miniers nus (MIN), les déblais miniers sous *G. webbianum* (GYM), les déblais miniers sous *S. calycina* (SER). Les barres correspondent aux erreurs standard. Les valeurs présentant des lettres différentes sont significativement différentes avec une valeur $p < 0,05$.

Une activité dénitrifiante potentielle importante a été uniquement mesurée dans les échantillons prélevés sous *S. calycina*. Elle est très faible pour les déblais miniers nus et nuls pour les échantillons sous *G. webbianum* (fig. 5).

3.4. Nématofaune

Les nématodes sont quasiment absents des échantillons de déblais miniers nus ; sur 9 échantillons analysés, des nématodes n'ont été observés que dans un cas. Dans les échantillons prélevés sous les deux arbres, un nombre plus important de nématodes est observé ; la densité de populations de nématodes n'est pas significativement différente entre les échantillons prélevés sous les deux espèces végétales (fig. 6).

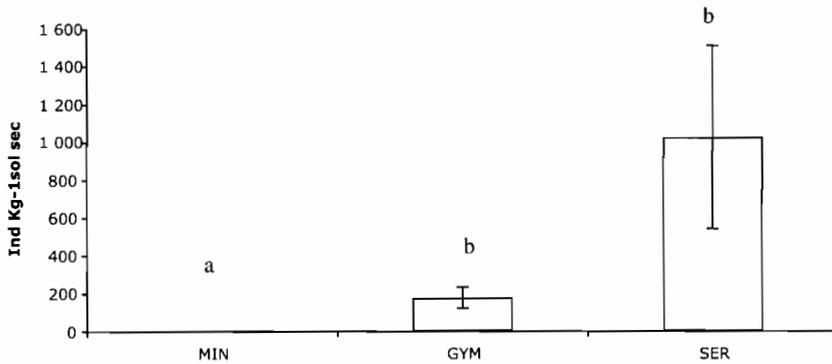


Figure 6 : Densité des nématodes mesurée dans les déblais miniers nus (MIN), les déblais miniers sous *G. webbianum* (GYM), les déblais miniers sous *S. calycina* (SER). Les barres correspondent aux erreurs standard. Les valeurs présentant des lettres différentes sont significativement différentes avec une valeur $p < 0,05$.

4. DISCUSSION

Le but de ce travail était d'appréhender l'impact de la revégétalisation des déblais miniers sur leur fonctionnement biologique. De façon générale, on considère que la teneur en nutriments, la structure des communautés microbiennes, et les activités microbiennes sont des paramètres importants pour la « qualité biologique » d'un sol. Ces paramètres ont donc été mesurés dans trois situations présentes dans une ancienne mine de nickel au sud de la Nouvelle-Calédonie, des déblais miniers nus et des déblais sous deux plantes pionnières *G.*

webbanum (Casuarinacées) et *S. calycina* (Légumineuses) huit ans après leurs plantations. Ces deux espèces sont des plantes endémiques de Nouvelle-Calédonie qui établissent des symbioses fixatrices d'azote avec des bactéries appartenant aux genres *Frankia* et *Rhizobium*. Ces plantes sont connues pour initier des successions écologiques sur des sites extrêmes comme les laves volcaniques et les moraines glaciaires [2] et ont été utilisées pour revégétaliser des déblais miniers [5].

Le but de ces essais de revégétalisation était de rétablir un fonctionnement biologique et permettre une succession végétale. Cette succession n'a pas été observée, mais la question de l'effet de la plante sur le fonctionnement biologique reste posée. Tous les paramètres mesurés vont dans le même sens, la plante améliore le fonctionnement biologique du sol.

D'une part, l'analyse de la texture et des propriétés des sols montre que les plantes protègent les déblais miniers de l'érosion. En effet, la quantité d'argiles versus quantité de sable, la quantité de matières organiques, la CEC, ou encore les bases échangeables sont différentes pour les sols prélevés sous les deux espèces végétales. Ces caractéristiques permettent au sol d'avoir une meilleure rétention d'eau et un recyclage de la matière organique et de l'azote plus performant. Par contre, la revégétalisation par les deux plantes pionnières ne permet pas une détoxification des déblais miniers, les concentrations en métaux lourds étant similaires dans les trois situations. Cependant, la question de la disponibilité biologique du nickel reste ouverte, il est vraisemblable que ce paramètre évolue de façon positive mais il est nécessaire de développer des biosenseurs pour répondre à ce type de question.

Les communautés microbiennes sont modifiées par la présence des plantes, que ce soit en termes quantitatifs ou qualitatifs. Cependant, nous pouvons observer un gradient dans l'influence de la plante avec un effet plus favorable en ce qui concerne la légumineuse : *S. calycina*. La plante en créant par sa rhizosphère un milieu plus favorable, entre autres en augmentant la teneur en nutriment permet une augmentation des populations bactériennes. Ce développement bactérien est accompagné par des modifications dans la structure des communautés bactériennes. La méthode RISA, qui est une méthode d'empreinte génétique, ne permet pas de déterminer précisément ces modifications [14]. Cependant, une étude de la structure des communautés bactériennes en utilisant une autre approche, a permis de montrer une influence de la plante sur

l'abondance relative en Protéobactéries, bactéries impliquées dans le fonctionnement du sol et les relations avec les plantes [6]. Les empreintes génétiques obtenues pour le gène *narG*, codant la nitrate réductase, sont complexes, ce qui révèle que de nombreux types bactériens contiennent ce gène dans les déblais miniers. L'analyse de ces empreintes génétiques montre l'homogénéité des répétitions pour les échantillons prélevés sous la plante ; alors que les répétitions provenant des déblais miniers nus sont plus hétérogènes. Ceci suggère que la plante a un effet homogénéisateur sur la communauté bactérienne portant le gène *narG*. Cet effet a été aussi observé, dans une moindre mesure pour les communautés totales (profils RISA). Les activités microbiennes sont aussi stimulées par la présence de la plante, ce qui est cohérent avec ce qui est connu du fonctionnement du sol et particulièrement sur l'effet de la rhizosphère [3]. On peut remarquer que ces activités sont moins, voire pas du tout stimulées par *G. webbianum*. Aucune activité dénitrifiante potentielle n'est détectée dans les échantillons prélevés sous cette plante, alors que les conditions physico-chimiques sont favorables et qu'un des gènes nécessaires à cette fonction a été détecté. Il est possible que des substances présentes dans la rhizosphère de *Gymnostoma* sp. inhibent certaines activités microbiennes et plus particulièrement la dénitrification. Il a été montré que les plantes synthétisaient de nombreux composés issus du métabolisme secondaire et certains de ceux-ci ont été décrits comme ayant une activité antifongique ou antibactérienne [9]. Une inhibition plus ciblée a aussi été décrite pour la nitrification dans la rhizosphère [8]. Par ailleurs, nous pouvons émettre l'hypothèse d'une plus forte abondance de ressources sous *S. calycina*.

Cette tendance n'est pas confirmée pour la nématofaune observée dans ces trois situations. En effet, si les nématodes sont quasiment absents des déblais miniers, leur nombre n'est pas significativement différent pour les échantillons prélevés sous *S. calycina* et *G. webbianum*. Cependant, les densités de nématodes mesurées les plus élevées (de l'ordre de 1 nématode par gramme de sol sec) sont extrêmement faibles (de 10 à 100 fois inférieures) comparativement à celles qui sont trouvées classiquement dans les sols [12], [18].

Ce travail permet de conclure que les plantes pionnières ont un effet bénéfique indéniable sur la qualité biologique des déblais miniers, améliorant leurs caractéristiques physico-chimiques et biologiques. *S. calycina* paraît plus « efficace » pour restaurer un fonctionnement biologique dans les déblais miniers. Cette tendance est confortée par le développement sporadique de quelques herbacées uniquement sur les

parcelles revégétalisées par *S. calycina*, sur l'ancien site minier du Mont Dore. Cependant *G. webbianum* pourrait aussi être intéressant pour limiter la dénitrification, hypothèse qu'il faudrait poursuivre. Malgré l'amélioration de la qualité biologique des déblais miniers par les espèces végétales introduites, une réelle succession végétale ne s'est pas produite sur ce site bien que des îlots de végétation naturelle aient été préservés. Des stratégies complémentaires seront donc nécessaires pour améliorer la restauration des déblais miniers. Pour ceci, différentes approches sont proposées dans la littérature comme l'apport de chaux [5] pour améliorer le pH, facteur limitant, cette méthode ne semble pas appropriée aux sols calédoniens car elle pourrait entraîner une biodisponibilité plus importante des métaux. De ce fait, celle qui nous semble la plus appropriée pour les déblais miniers néocalédoniens consisterait dans l'apport d'une couche de sol riche sur les déblais miniers qui représenterait à la fois une source de matière organique et aussi de bactéries capables de la dégrader. Il semble essentiel à l'avenir d'aborder ces tentatives de revégétalisation de façon intégrée avec une prise en compte de la biocomplexité des déblais miniers, c'est-à-dire la diversité des communautés bactériennes et leurs interactions biotiques (plantes, organismes du sol) et abiotiques (paramètres physico-chimiques du sol).

RÉFÉRENCES

- [1] Anderson J.P.E., Domsch K.H., A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils, *Soil Biol. Biochem.* 10 (1978) 215-221.
- [2] Benson D., Silvester W., Biology of *Frankia* strains, actinomycetes symbionts of actinorhizal plants, *Microbiol. Rev.* 57 (1993) 293-319.
- [3] Bever J.D., Feedback between plants and their soil communities in an old field community, *Ecology* 75 (1994) 1965-1977.
- [4] Broock R., General introduction, in: Dudley T.R. (éd.), *Serpentine and its Vegetation, a multidisciplinary Approach*. Vol. 1: Ecology, Phytogeography and Physiology Series, Dioscorides Press, Portland, 1984, pp. 5-7.
- [5] Hensley D., Carpenter P., Effect of lime additions to acid strip-mine spoil on survival, growth and nitrogen fixation (acetylene reduction) of several woody legume and actinomycete-nodulated species, *Plant and soil* 79 (1984) 353-367.
- [6] Herrera A., Impact de l'anthropisation sur la diversité des communautés bactériennes des sols de Nouvelle-Calédonie, DEA Écologie microbienne, université Lyon 1, 2002.

- [7] Héry M., Nazaret S., Jaffre T., Normand P., Navarro E., Adaptation to nickel spiking of bacterial communities in neocaledonian soils, *Environ. Microbiol.* 5 (2003) 3-12.
- [8] Lata J.C., Guillaume K., Degrange V., Abbadie L., Lensi R., Relationships between root density of the African grass *Hyparrhenia diplandra* and nitrification at the decimetric scale: an inhibition-stimulation balance hypothesis, *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 267 (2000) 595-600.
- [9] Morrissey J.P., Osbourn A.E., Fungal Resistance to Plant Antibiotics as a Mechanism of Pathogenesis, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63 (1999) 708-724.
- [10] Navarro E., Nalin R., Gauthier D., Normand P., The nodular microsymbionts of *Gymnostoma* spp. are *Elaeagnus*-infective *Frankia* strains, *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (1997) 1610-1616.
- [11] Normand P., Ponsonnet C., Nesme X., Neyra M., Simonet P., ITS analysis of prokaryotes, in: V.E.J. Akkermans A.D.L., de Bruijn F.J., (éds.), *Molecular Microbiology Ecological Manual*, Kluwer, Dordrecht, The Netherlands, 1996, pp. 1-12.
- [12] Pen-Mouratov S., Rakhimbaev M., Barness G., Steinberger Y., Spatial and temporal dynamics of nematode populations under *Zygothlyllum dumosum* in arid environments, *Eur. J. Soil Biol.* 40 (2004) 31-46.
- [13] Philippot L., Piutti S., Martin-Laurent F., Hallet S., Germon J.C., Molecular analysis of the nitrate-reducing community from unplanted and maize-planted soils, *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (2002) 6121-6128.
- [14] Ranjard L., Poly F., Lata J.C., Mougél C., Thioulouse J., Nazaret S., Characterization of bacterial and fungal soil communities by automated ribosomal intergenic spacer analysis fingerprints: biological and methodological variability, *Appl. Environ. Microbiol.* 67 (2001) 4479-4487.
- [15] s'Jacob J., van Bezooijen J., *A manual for practical work in nematology*, Agricultural University, Department of Nematology, 1986.
- [16] Schloter M., Dilly O., Munch J.C., Indicators for evaluating soil quality, *Agric. Ecosyst. Environ.* 98 (2003) 255-262.
- [17] Smith M.S., Tiedje J.M., Phases of denitrification following oxygen depletion in soil, *Soil Biol. Biochem.* 11 (1979) 261-267.
- [18] Yeates G.W., Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects, *Biol. fertil. Soils* 37 (2003) 199-210.

Héry Marina, Herrera Aude, Villenave Cécile, Le Roux X.,
Remenant B., Philippot L., Normand P., Navarro Elisabeth

Impact de deux plantes pionnières, *Gymnostoma webbianum*
(Casuarinacées) et *Serianthes calycina* (Légumineuses), sur le
fonctionnement biologique de déblais miniers de Nouvelle
Calédonie

In : Un dialogue pour la diversité génétique. Paris : BRG, 2005,
p. 191-206

(Les Actes du BRG ; 5). ISBN 2-908-447-33-9 Colloque
National du BRG : Un Dialogue pour la Diversité Génétique, 5.