

# LES BACTÉRIES ET LES CHAMPIGNONS DU SOL SUR ROCHES ULTRAMAFIQUES

*Hamid AMIR et Marc DUCOUSSO*

## 1. INTRODUCTION

- 1.1 Les mycorhizes
- 1.2 Les bactéries

## 2. LES MYCORHIZES À ARBUSCULES (MA)

- 2.1 Rôles des mycorhizes à arbuscules dans le développement des plantes
- 2.2 Les mycorhizes à arbuscules dans les écosystèmes miniers de Nouvelle-Calédonie

## 3. LES ECTOMYCORHIZES

- 3.1 Rôles des ectomycorhizes dans le développement des plantes
- 3.2 Les ectomycorhizes des maquis miniers de Nouvelle-Calédonie

## 4. ASPECTS TECHNIQUES ET PRATIQUES DE LA MYCORHIZATION CONTRÔLÉE, APPLIQUÉE À LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE DES TERRAINS MINIERES

## 5. LES SYMBIOSES FIXATRICES D'AZOTE

- 5.1 Les symbioses à *Frankia*
- 5.2 Les symbioses à *Rhizobium*

## 6. LES BACTÉRIES RHIZOSPHÉRIQUES STIMULATRICES DE LA CROISSANCE DES PLANTES

## 7. INOCULATION CONTRÔLÉE AVEC DES BACTÉRIES SYMBIOTIQUES OU RHIZOSPHÉRIQUES, APPLIQUÉE À LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE DES TERRAINS MINIERES

## 8. PERSPECTIVES

## 1. INTRODUCTION

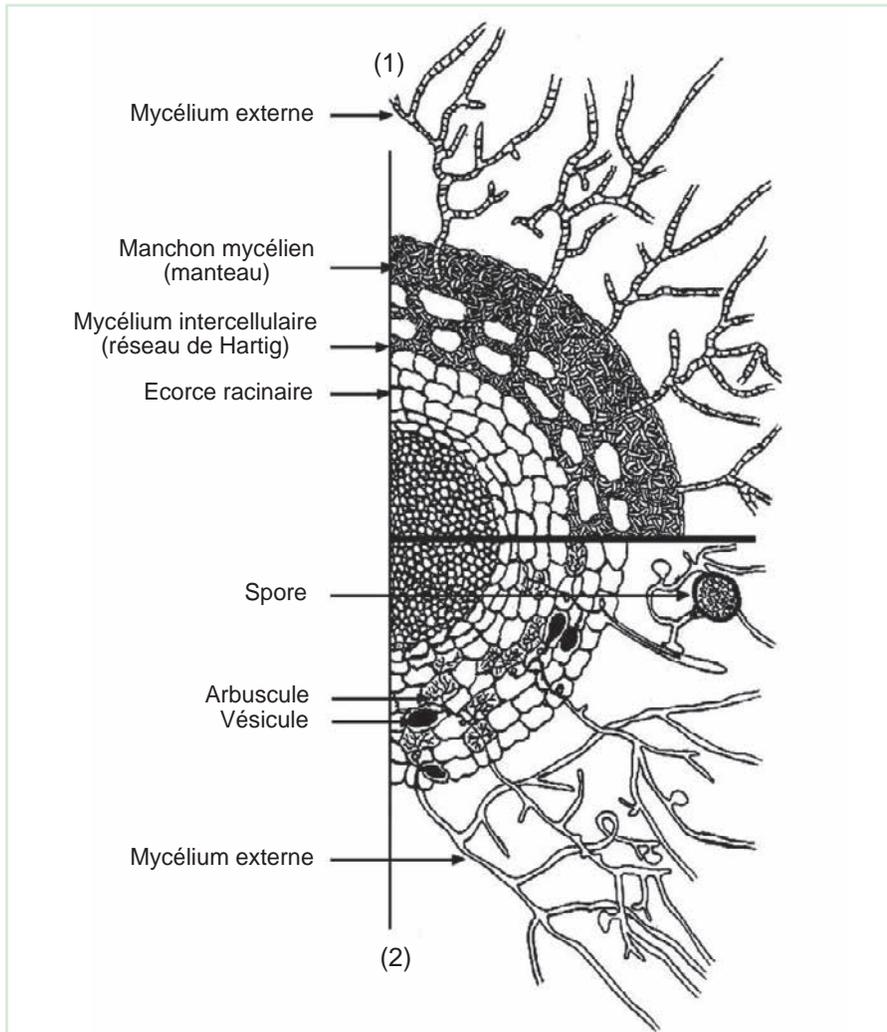
Partenaires ou parasites, les espèces végétales vivent en permanence avec des micro-organismes. Depuis maintenant plus d'un siècle, des travaux sont menés afin de trouver les voies et moyens d'utiliser, notamment en agriculture et en foresterie, les bénéfiques que peuvent procurer certains de ces micro-organismes. En effet, l'azote et le phosphore sont des composants essentiels des acides aminés, des acides nucléiques, de la chlorophylle, des coenzymes... Or, les manques de phosphore et d'azote disponibles pour les plantes dans les sols dégradés et dans les matériaux terreux déplacés lors de l'exploitation du minerai de nickel constituent des facteurs limitants majeurs pour l'installation d'une couverture végétale. Dans ces conditions, les apports d'engrais chimiques sont coûteux et doivent être renouvelés car l'azote assimilable, apporté le plus souvent sous forme de nitrate, est lessivé ou dénitrifié et le phosphore, très fortement retenu par les oxydes de fer et de chrome, devient indisponible pour la plante. Ainsi, bien que l'azote constitue près de 80 % de l'air, les sols en sont fréquemment carencés et doivent être constamment réapprovisionnés en cet élément. Ce réapprovisionnement est en grande partie réalisé naturellement par des bactéries capables de réduire l'azote de l'air ( $N_2$ ) en azote ammoniacal ( $NH_3$ ) grâce à une réaction enzymatique réalisée par la nitrogénase ; l'ammonium est alors intégré sous forme d'acides aminés primaires dans le métabolisme de la plante. Ce processus est appelé fixation biologique de l'azote. La fixation biologique de l'azote peut être réalisée soit par des bactéries libres du sol, soit par des bactéries en symbiose avec certains groupes de plantes au sein d'un organe spécialisé, le nodule fixateur d'azote. Ce processus peut induire une véritable augmentation de la teneur en azote d'un sol, tout comme la photosynthèse enrichit celui-ci en matière organique. Pour ce qui concerne le phosphore, les quantités totales de cet élément dans un sol sont rarement limitantes ; c'est sa disponibilité pour la plante qui est le principal facteur limitant. Un des rôles les mieux documentés des champignons mycorhiziens est de rendre une partie du phosphore du sol disponible pour la plante. Dans ce processus, il s'agit uniquement d'un changement de forme ionique du phosphore et en aucun cas d'une augmentation de la quantité totale de phosphore dans le sol.

Les recherches sur les effets bénéfiques des micro-organismes vis-à-vis des plantes ont été portées tout d'abord sur les symbiotes, dont la relation avec la plante est si étroite qu'elle induit la transformation de certains organes. Les symbioses les plus connues dans le règne végétal sont les mycorhizes, qui associent les racines d'une plante aux hyphes d'un champignon, et les nodules fixateurs d'azote, qui associent des tissus transformés du cortex racinaire de certaines plantes à des bactéries de type *Rhizobium* ou *Frankia*. Plus récemment, des travaux ont été conduits sur les bactéries se développant à proximité des racines, dans leurs zones d'influence, et qui, pour certaines d'entre elles, ont un effet de stimulation de la croissance végétale. En règle générale, la plante nourrit le micro-organisme, essentiellement en composés carbonés, notamment des sucres issus de la photosynthèse, et celui-ci, en retour, fournit à la plante des éléments minéraux essentiels qu'il mobilise plus efficacement. Pour certaines plantes, le partenariat avec les micro-organismes est absolument indispensable et leur développement est totalement compromis en leur absence ; pour d'autres, ces partenariats améliorent la croissance et l'adaptation de la plante sans être totalement indispensables (Strullu 1991). D'une manière générale, la dépendance des plantes vis-à-vis des micro-organismes est variable en fonction des taxa considérés, mais également en fonction des contraintes environnementales et des différents stades de développement de la plante.

Ainsi, il n'y a pas de frontière fixe établie entre les plantes dépendantes des micro-organismes et celles qui ne le sont pas ; il faut considérer ces relations comme un continuum par ailleurs influencé par l'environnement (Brundrett 2009).

### 1.1. Les mycorhizes

Les mycorhizes, définies comme le résultat d'une symbiose associant des racines d'une plante avec certains champignons, présentent des spécificités suivant le groupe de champignons mycorhiziens impliqués. Selon les auteurs, sept ou huit types d'associations mycorhiziennes sont définis. Deux types principaux dominent en Nouvelle-Calédonie : les mycorhizes endotrophes à arbuscules et les mycorhizes ectotrophes ou ectomycorhizes (figure 5.1).



© UNC / H. Amir

Figure 5.1 : Aspect en coupe transversale de racines mycorhizées par les deux principaux types de champignons mycorhiziens. (1) : ectomycorhizes ; (2) : mycorhizes à arbuscules.

Les champignons mycorhiziens à arbuscules se développent initialement dans le sol, pénètrent dans les racines de la plante hôte pour s'insinuer dans les tissus des racines jusqu'au parenchyme cortical où le mycélium pénètre dans les cellules pour repousser le cytoplasme sans jamais le traverser. Le développement du champignon dans les cellules se fait par invaginations successives, donnant l'allure générale d'un petit arbuste à cette formation fongique intracellulaire, d'où le nom d'arbuscule (figure 5.2). Ces structures apoplastiques mixtes plante-champignon sont le siège des échanges symbiotiques. En fonction de la position systématique du champignon, d'autres structures formées par ce type de mycorhizes peuvent également être observées : il s'agit notamment des vésicules et des cellules auxiliaires. Les champignons ectomycorhiziens forment autour des racines un manchon mycélien dense, à partir duquel des hyphes s'insinuent entre les cellules du rhizoderme sans jamais y pénétrer pour former le réseau de Hartig, siège des échanges bidirectionnels entre la plante et le champignon (figure 5.3).

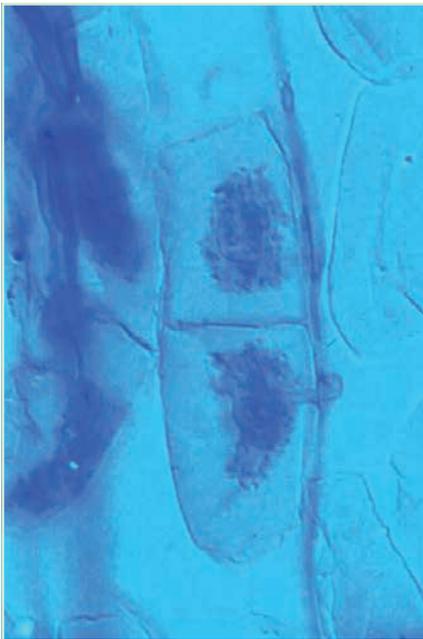


Figure 5.2 : Arbuscules endocellulaires formés par un champignon du genre *Glomus*.

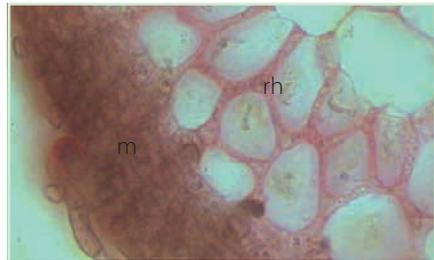


Figure 5.3 : Vue en coupe transversale d'une ectomycorhize (m : manchon fongique, rh : réseau de Hartig).

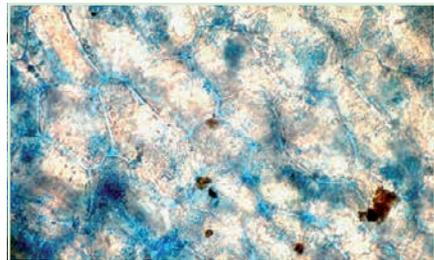


Figure 5.4 : Bactéroïdes de *Rhizobium* sp. présents dans le cytoplasme des cellules des nodules racinaires d'*Acacia spirorbis*.

## 1.2. Les bactéries

Les symbioses fixatrices d'azote associent des bactéries capables de réduire l'azote de l'air en azote assimilable par la plante. Cette propriété extrêmement importante pour les écosystèmes est propre à un nombre limité d'espèces bactériennes et n'existe chez aucun autre groupe d'êtres vivants. Les bactéries symbiotiques se développent dans le cytoplasme des cellules des nodules racinaires qui les nourrissent (figure 5.4). Même si ce type de symbiose concerne un nombre limité de taxa végétaux, il revêt localement dans certains maquis miniers de Nouvelle-Calédonie une importance particulière. C'est notamment le cas de la symbiose fixatrice d'azote à *Frankia* qui concerne les genres *Casuarina* et *Gymnostoma* et, dans une moindre mesure, de la symbiose fixatrice d'azote à *Rhizobium* avec les genres *Serianthes* et *Archidendropsis*.

Parmi les micro-organismes non symbiotiques, mais qui entretiennent des échanges à bénéfices réciproques avec les plantes, les bactéries à effet promoteur de croissance des plantes sont les plus étudiées. Ces bactéries sont dites rhizosphériques car elles se développent préférentiellement dans la zone d'influence des racines, mais sans la mise en place d'un organe spécialisé pour les échanges entre les partenaires, qui aurait permis de qualifier ces associations de symbiotiques. Enfin, très récemment, des travaux ont été initiés sur les bactéries associées aux manteaux fongiques des ectomycorhizes.

## 2. LES MYCORHIZES À ARBUSCULES (MA)

Les champignons MA sont classés dans le phylum des glomérormycètes, récemment séparé des zygomycètes (Schüßler *et al.* 2001). Ces champignons forment très rarement des fructifications visibles à l'œil nu. Ce sont des symbiotes obligatoires, c'est-à-dire qu'ils ne peuvent pas se développer en l'absence de la plante. De ce fait, on ne peut les cultiver qu'en présence d'une plante. En revanche, ces symbiotes ne possèdent généralement aucune spécificité contrôlée génétiquement : la même souche de champignon peut être associée à de nombreuses familles de plantes depuis les bryophytes jusqu'aux angiospermes. Bien qu'ils soient des symbiotes obligatoires, les champignons MA peuvent se conserver et se propager dans le sol grâce à des spores résistantes qui se forment généralement sur ou à proximité des racines (figure 5.5). Il en résulte que l'abondance de spores viables dans les sols donne une indication sur la capacité d'un sol à produire des MA (potentiel mycorhizogène). Des travaux menés en Afrique du Nord visent à améliorer le potentiel mycorhizogène des sols en introduisant dans le milieu des espèces comme le thym et la lavande, très mycotrophes, qui enrichissent les sols en spores de champignons MA (Duponnois *et al.* 2007) ; ce procédé pourrait être adapté aux maquis miniers néo-calédoniens.



Figure 5.5 : Racine colonisée par un champignon MA du genre *Glomus* ; les spores sont formées dans le sol et à la surface de la racine.

© CIRAD-IAC / M. Ducousso

### 2.1. Rôles des mycorhizes à arbuscules dans le développement des plantes

Le rôle principal des champignons mycorhiziens est lié à leur position d'interface entre la plante et le sol. En effet, les champignons MA produisent beaucoup de filaments mycéliens dans le sol. Ces filaments forment un réseau qui explore un grand volume de sol autour de la plante, ce qui leur permet de récupérer les éléments nutritifs de façon plus efficace que les poils racinaires. Ces symbiotes interviennent de diverses façons dans le développement et l'adaptation des plantes :

- le rôle central le mieux documenté est leur intervention dans la nutrition phosphatée de la plante (Smith & Read 2008). Le phosphore est un élément souvent peu disponible dans les sols, même riches, car fortement lié aux particules argilo-humiques du sol. Les champignons récupèrent cet élément et le transfèrent vers les racines ;
- ils interviennent de façon plus ou moins importante selon les cas au niveau de l'assimilation des autres éléments minéraux : azote, potassium, calcium, oligo-éléments, etc. ;
- ils peuvent jouer un rôle considérable dans la gestion de l'eau par la plante et donc dans la résistance au stress hydrique ;
- divers travaux rapportent leur rôle dans la résistance des plantes aux pathogènes (Selosse *et al.* 2004) ;
- enfin, et c'est essentiel pour les sols miniers, les travaux des deux dernières décennies montrent leur intervention dans la tolérance aux métaux dans les sols métallifères ou les sols pollués en métaux lourds (*e.g.* : Khade & Adholeya 2007, Amir & Lagrange 2008).

### 2.2. Les mycorhizes à arbuscules dans les écosystèmes miniers de Nouvelle-Calédonie

Peu de travaux de recherche ont été réalisés sur les champignons mycorhiziens dans les écosystèmes miniers en général. En Nouvelle-Calédonie, les études ont été initiées assez récemment (Amir *et al.* 1997). De nombreux échantillons de sols ont été analysés pour leur richesse en spores MA. Ces analyses montrent que la plupart des sols miniers non perturbés contiennent des quantités appréciables de spores viables (entre 100 et quelques milliers pour 100 g de sol) ; elles montrent également que le genre *Glomus* est fortement dominant parmi les champignons MA. Une soixantaine d'espèces végétales de milieux ultramafiques ont été étudiées pour leur affinité vis-à-vis des champignons MA ; il en ressort que la très grande majorité des espèces de ces milieux forment des mycorhizes à arbuscules, mais le degré de mycorhization est très variable. Il dépend d'abord des espèces, certaines ayant une forte affinité avec ces symbiotes, comme les Cunoniaceae, les Myrtaceae et les Euphorbiaceae (familles importantes en Nouvelle-Calédonie), d'autres ayant peu d'affinité avec ceux-ci (Proteaceae, Cyperaceae). Toutefois, ces deux dernières familles, considérées classiquement comme non mycorhizées, ont souvent des systèmes racinaires partiellement colonisés par les champignons MA, indiquant probablement une adaptation particulière aux conditions locales des sols miniers (Perrier *et al.* 2006<sup>b</sup>). Pour le genre *Costularia*, il a été montré que des taux de mycorhization assez faibles suffisaient pour améliorer significativement la croissance et l'adaptation aux métaux des plants (Lagrange *et al.* 2009). En outre, il apparaît de plus en plus clair que la forte carence des sols en éléments minéraux essentiels, P et N notamment, est un facteur d'inhibition de la mycorhization dans ces sols. En effet, une expérimentation sur le terrain a montré que l'apport de phosphore, d'azote et de potassium à dose modérée stimule nettement la colonisation des racines

de *Costularia* par les champignons mycorhiziens et que le développement de ces symbiotes *in situ* est alors corrélé à la croissance des plantes (Lagrange *et al.* 2009). Ainsi, le degré de mycorhization des espèces varie aussi largement selon les sols et les conditions environnementales. Les types mycorhiziens observés, *in situ*, d'une soixantaine d'espèces sont présentés dans le tableau 5.1. Ces observations ayant été réalisées plusieurs fois dans des conditions différentes pour ces espèces, les groupes d'affinité proposés traduisent assez bien l'importance de la symbiose mycorhizienne chez ces espèces.

Des souches de ces champignons, appartenant au genre *Glomus* (notamment *G. etunicatum*), ont été isolées et leurs effets sur la croissance des plantes ont été appréciés. On a montré que ces souches sont particulièrement tolérantes au nickel, en comparaison avec des souches provenant de sols non miniers (Amir *et al.* 2008), ce qui suggère que l'utilisation, pour la restauration écologique des terrains miniers, de souches commerciales de champignons MA provenant de terrains non miniers serait vouée à l'échec. La mycorhization des plantes endémiques de maquis miniers avec une souche locale sélectionnée non seulement améliore la croissance des plants, mais aussi augmente nettement leur tolérance aux métaux (Pupier 2006, Amir & Lagrange 2008).

Les plantes hyper-accumulatrices de Ni, souvent considérées comme non mycorhizées, se révèlent parfois fortement mycorhizées (*Geissois pruinosa*, *Phyllanthus faveri*). Dans d'autres cas, elles sont très peu ou pas du tout mycorhizées (*Sebertia acuminata*) et l'intensité de la mycorhization est alors négativement corrélée à la concentration en Ni dans les organes de la plante (Amir *et al.* 2007).

Les études en cours sont orientées, d'une part, vers la connaissance de la biodiversité des champignons MA (identification par séquençage de l'ADNr 18S), d'autre part, vers les applications pratiques. Ainsi, des essais de mycorhization sur le terrain et des essais d'enrobage de semences (*Alphitonia*, *Costularia*) avec des spores mycorhiziennes seront mis en œuvre au cours des prochaines années.

### 3. LES ECTOMYCORHIZES

Les champignons ectomycorhiziens, apparus au milieu de l'ère secondaire, donc très récemment par rapport aux champignons MA, apparus au début de l'ère primaire, appartiennent à plusieurs phylums, les basidiomycètes, les ascomycètes et les zygomycètes. Cependant, toutes les espèces de ces phylums ne sont pas capables de former des ectomycorhizes, de plus, il a été démontré (Hibbett & Donoghue 2000) que la capacité des champignons à former des ectomycorhizes était réversible. Ainsi, dans un ensemble d'espèces phylogénétiquement cohérent, il est possible que des espèces forment des ectomycorhizes et d'autres pas. De même, certaines espèces comme *Morchella esculenta* peuvent occasionnellement former des ectomycorhizes, mais sont également capables d'effectuer la totalité de leur cycle biologique en l'absence de plante hôte. À la différence des champignons MA qui sont strictement symbiotiques, la dépendance des champignons ectomycorhiziens vis-à-vis d'une plante hôte évolue de façon continue en fonction de la compatibilité génétique entre les partenaires, mais également en fonction de paramètres environnementaux et physiologiques, sans qu'une frontière absolue puisse être établie. De plus, au cours de l'année, une ectomycorhize peut avoir, à certaines périodes, un fonctionnement s'apparentant au parasitisme pour la plante ou pour le champignon ; le bilan global restant favorable (la croissance n'est pas le seul facteur à prendre en compte) pour les deux partenaires de la symbiose.

Les plantes qui forment des ectomycorhizes sont taxonomiquement peu nombreuses : environ 3 % des taxa, en général des arbres. Cette relative rareté traduit très mal l'importance écologique de cette symbiose. En effet, les espèces végétales capables de former des ectomycorhizes sont généralement des arbres grégaires, dominants de la canopée. Il faut donc raisonner à l'échelle de l'écosystème pour apprécier l'importance des ectomycorhizes qui dominent les forêts boréales, tempérées, méditerranéennes et certaines forêts tropicales comme le Miombo en Afrique, la forêt à Dipterocarpaceae en Asie du Sud-Est, les forêts littorales malgaches et l'ensemble des savanes australiennes à *Eucalyptus*. Les principales familles de plantes impliquées dans la symbiose ectomycorhizienne sont les Pinaceae avec, notamment, les genres *Pinus*, *Abies*, *Picea* et *Cedrus*, les Fagaceae (e.g. : *Quercus*, *Fagus*, *Nothofagus*), les Dipterocarpaceae (e.g. : *Shorea*, *Dipterocarpus*, *Marquesia*), les Salicaceae (e.g. : *Salix*, *Populus*), les Betulaceae (e.g. : *Betulus*, *Carpinus*), les Mimosaceae (e.g. : *Acacia*), une partie des Myrtaceae (e.g. : *Eucalyptus*, *Melaleuca*, *Tristaniopsis*, *Sannantha*), les Sarcocaulaceae (e.g. : *Sarcocaula*, *Leptolaena*, *Schizolaena*)... En Nouvelle-Calédonie, des travaux récents (Perrier 2006<sup>b</sup>) ont permis de comprendre l'importance des ectomycorhizes dans les maquis miniers où des espèces structurantes de la végétation comme *Nothofagus* spp. ou *Tristaniopsis* spp., par exemple, sont à ectomycorhizes.

### 3.1. Rôles des ectomycorhizes dans le développement des plantes

D'un point de vue physiologique, l'ectomycorhize fonctionne de façon très similaire à la mycorhize à arbuscules, notamment pour ce qui concerne l'acquisition du phosphore et des éléments nutritifs en général (Brundrett 2008). De même, pour ce qui concerne la protection contre les pathogènes ou l'amélioration de la tolérance à des stress environnementaux, les ectomycorhizes agissent de façon sensiblement identique aux mycorhizes à arbuscules (Brundrett 2008). Cependant, deux caractéristiques propres aux ectomycorhizes sont particulièrement remarquables : les successions et le fonctionnement en peuplement. Au cours de sa vie, un arbre aura des partenaires fongiques ectomycorhiziens différents, ce qui a permis de décrire des espèces de stades précoces comme les *Pisolithus*, les *Laccaria* et des espèces de stades plus tardifs comme certaines *Russula* ou certains *Cortinarius* (figures 5.6 à 5.9).



Figure 5.7 : *Pisolithus albus*.



Figure 5.6 : Exemples de champignons ectomycorhiziens : *Russula* sp.



Figure 5.8 : *Amanita* sp.

© CIRAD-IAC / M. Ducouso



Figure 5.9 : *Cortinarius* aff. *magellanicus*.

© CIRAD-IAC / M. Ducouso

Les cortèges mycorhiziens et leurs évolutions sont maintenant bien documentés (e.g. : Ba 1990), cependant le rôle des champignons ectomycorhiziens dans le caractère grégaire des arbres ectomycorhizés reste inexpliqué. Au sein d'un peuplement, un arbre aura donc à un instant donné plusieurs espèces de champignons ectomycorhiziens qui elles-mêmes seront en symbiose avec d'autres arbres, le mycélium de certains champignons pouvant couvrir plusieurs centaines de mètres carrés (Bonello *et al.* 1998).

### 3.2. Les ectomycorhizes des maquis miniers de Nouvelle-Calédonie

Comme nous l'avons déjà mentionné, l'importance des ectomycorhizes dans les maquis miniers de Nouvelle-Calédonie est une observation récente (Perrier *et al.* 2006<sup>b</sup>). Depuis, des travaux non encore publiés ont permis de dresser une liste d'espèces végétales capables de former des ectomycorhizes (tableau 5.1) ; les champignons ectomycorhiziens commencent également à être mieux connus en Nouvelle-Calédonie où un cortège original et largement diversifié, notamment associé aux *Nothofagus* spp. et aux *Tristaniopsis* spp., est en cours de description (Eyssartier 2009, Eyssartier *et al.*, sous presse). Ces champignons ectomycorhiziens appartiennent à des genres classiquement connus des zones tropicales et tempérées comme *Russula*, *Lactarius*, *Boletus*, *Amanita*, *Cantharellus*, *Thelephora*, *Tomentella*, *Ramaria*, *Pisolithus*, *Cortinarius*... Notons, parmi les espèces déjà décrites des écosystèmes sur maquis miniers, *Cantharellus garnierii* (Ducouso *et al.* 2004) et surtout *Multifurca aurantiophylla* (Buyck *et al.* 2008) dont la position phylogénétique ancestrale des Russules et des Lactaires est tout à fait remarquable. D'une manière plus générale, les champignons associés aux *Nothofagus* spp. présentent de nombreuses affinités, espèces proches, voire espèces communes, avec la Nouvelle-Zélande tandis que les champignons associés au *Tristaniopsis* spp. présentent plus d'affinité avec les champignons décrits d'Australie. De ce fait, assez peu d'espèces communes entre les cortèges associés aux *Nothofagus* et aux *Tristaniopsis* ont été identifiées. Deux périodes de fructification ont été mises en évidence : une première période au cœur de la saison chaude et humide, de février à avril, avec une dominance des genres *Russula*, *Lactarius*, *Amanita*, *Boletus* notamment et une seconde période pendant l'hiver austral, quand les températures nocturnes, chutent. Cette seconde période est particulièrement originale du fait de l'abondance des espèces du genre *Cortinarius*. En effet, le genre *Cortinarius*, très largement répandu dans les zones tempérées et boréales, est presque absent des zones tropicales. Le maintien d'une diversité importante pour ce genre dans une zone tropicale pourrait être expliqué par les contraintes édaphiques fortes de la Nouvelle-Calédonie et la relative fraîcheur des températures hivernales.

#### 4. ASPECTS TECHNIQUES ET PRATIQUES DE LA MYCORHIZATION CONTRÔLÉE, APPLIQUÉE À LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE DES TERRAINS MINIER

Depuis maintenant plus de quatre décennies, des essais d'inoculation contrôlée sont réalisés de par le monde (Hacskailo & Vozzo 1967). En Nouvelle-Calédonie, la mise en place de tels essais sur maquis minier a été programmée à partir de 2010, avec un contrôle régulier de la mycorhization par des outils moléculaires pendant les trois premières années. Bien que nous n'ayons pas encore d'expérience approfondie de la mycorhization contrôlée sur terrain minier, notamment en Nouvelle-Calédonie, les connaissances actuelles nous permettent d'ores et déjà de proposer quelques pratiques pouvant améliorer la mycorhization des plantes.

D'une manière générale, les terrains miniers décapés, même anciens, ne comportent pas de spores MA ni de propagules ectomycorhiziennes et l'activité microbienne globale y est très réduite (Héry *et al.* 2005). Ainsi, la remise en place d'un fonctionnement biologique du sol superficiel est tout à fait essentielle à la réussite d'une plantation, étape incontournable pour tendre, à terme, vers un écosystème équilibré ayant des fonctions, notamment, de cohésion du sol, équivalent à la situation d'origine. Cette remise en fonction des activités microbiennes peut être obtenue soit par des apports de « top-soil », soit par la plantation d'espèces structurantes des maquis, espèces qui seront inoculées en pépinière avec des champignons mycorhiziens.

Il est donc nécessaire d'assurer la mycorhization des plants lorsqu'ils sont en pépinière, avant qu'on les transfère au champ. Pour cela, il faut d'abord vérifier si l'espèce en question possède une quelconque affinité vis-à-vis des champignons MA ou ectomycorhiziens. Si c'est le cas, on peut simplement prélever du sol riche en petites racines dans un maquis peu dégradé (figures 5.10 et 5.11), sous une espèce végétale réputée pour être bien mycorhizée (appartenant par exemple aux genres *Xanthostemon*, *Alphitonia*, *Phyllanthus*, *Geissois*, *Cunonia*, *Codia*, *Dodonaea*...) ou, dans le cas des ectomycorhizes, prélever de la litière sous l'espèce que l'on souhaite planter et en déposer quelques grammes sur les racines des semis. Il est également possible de faire une suspension avec de l'eau et du sol utilisé comme inoculum, et de l'apporter sous forme liquide, mais, dans ce cas, il ne faut pas laisser décanter la suspension, car les spores mycorhiziennes viables décanter en moins d'une minute, de sorte qu'on perd une partie du potentiel mycorhizogène.



Figure 5.10 : Sol de surface (top-soil) riche en racines.



Figure 5.11 : Détail du sol prélevé, avec des racines mycorhizées.

Il est possible, après une année environ de croissance en pépinière, de vérifier si les plants sont mycorhizés ; cela nécessite une observation directe des racines fines caractéristiques (figure 5.12) et, dans le cas des champignons MA, une coloration spécifique au bleu Trypan des racines et leur observation au microscope.



© Cirad-IAC/M. Ducousso

Figure 5.12 : Aspect de racines ectomycorhizées. Remarquer la forme en Y typique des racines secondaires et les pointes racinaires plus ou moins arrondies.

Comme nous l'avons déjà précisé, le sol peut contenir des quantités de propagules MA très diverses, de 0 à plus d'un millier pour 100 g. Il importe donc, avant de décider d'une pratique pour favoriser la mycorhization, de connaître son statut en termes de richesse en propagules MA viables, ce qui doit être réalisé en conditions contrôlées en laboratoire, soit par tamisage (la taille des spores MA est comprise le plus souvent entre 40 et 350  $\mu\text{m}$ ) et observation sous loupe binoculaire, soit sur des dilutions de sol et culture de plante piège (Brundrett 2008). Si le sol est très pauvre en champignons MA, la mycorhization par un apport exogène d'inoculum peut s'avérer essentielle. L'analyse du potentiel mycorhizogène revêt une importance particulière dans le cas de l'utilisation de top-soil stocké sur mine. En effet, des travaux ont montré que le potentiel mycorhizogène d'un sol décroissait au cours de son stockage (Jasper *et al.* 1989) ; il est donc essentiel de vérifier que le top-soil permettra une mycorhization correcte des plants, sinon, il faudra procéder à une inoculation contrôlée.

En pépinière, il est possible d'avoir un inoculum mycorhizien dense et efficace en procédant à une phase préalable de multiplication d'un inoculum, soit par culture sur plante hôte dans le cas des MA, soit par culture *in vitro* d'une souche pure dans le cas des champignons ectomycorhiziens. Dans le cas des MA, en conservant d'une année sur l'autre des plants à forte affinité MA dont on sait qu'ils sont correctement mycorhizés, on obtient un inoculum suffisamment riche en spores et en fragments de racines infectées pour générer un inoculum fortement mycorhizogène. Cette pratique est généralement plus efficace que l'utilisation d'un sol récolté sous une plante, car la densité en spores MA est plus importante et le taux de viabilité des spores meilleur. Toutefois, les inoculum naturels ou produits dans des conditions insuffisamment contrôlées devront faire l'objet d'un suivi régulier de l'état de santé des plants afin de vérifier que l'inoculum ne véhicule pas de pathogènes.

La mycorhization contrôlée *in situ* a été tentée de nombreuses fois avec des résultats généralement décevants ; il est particulièrement difficile d'introduire une souche mycorhizienne sélectionnée dans un milieu déjà occupé par des souches locales. En effet, en plus d'être très compétitive, la souche introduite devra surmonter le stress de la transplantation, puis concurrencer les souches déjà établies pour les faire régresser et, enfin, prendre leur place. Dans la pratique, cette technique coûteuse n'est pas à recommander. L'inoculation en pépinière reste donc préférable.

L'enrobage de graines avec un inoculum mycorhizien pur ou non, notamment dans l'ensemencement hydraulique (*hydroseeding*), est une technique prometteuse bien qu'elle nécessite encore des mises au point, en particulier pour ce qui concerne le choix des souches et la nécessité d'utiliser des mélanges d'espèces pour améliorer la résilience de l'écosystème que l'on établit.

## 5. LES SYMBIOSES FIXATRICES D'AZOTE

Les symbioses fixatrices d'azote associant une plante et une bactérie font partie des plus anciennes symbioses apparues sur la planète. Toutefois, les symbioses concernant les végétaux supérieurs sont apparues très tardivement, vers la fin du Crétacé. Comme pour les ectomycorhizes, le nombre de taxa végétaux impliqués dans ces symbioses est réduit, mais l'importance écologique de ces symbioses est considérable, notamment dans les maquis néo-calédoniens où *Gymnostoma* spp. dominant.

### 5.1. Les symbioses à *Frankia*

Il existe de par le monde environ 260 espèces de plantes actinorhiziennes réparties en 24 genres et 8 familles d'angiospermes appartenant aux Fagales, Cucurbitales et Rosales. En Nouvelle-Calédonie, seule la famille des Casuarinaceae a été identifiée comme étant capable de former des symbioses fixatrices d'azote avec l'actinomycète *Frankia* (Jaffré *et al.* 1994<sup>a</sup>) (figure 5.13).



© Vale Inco / S. McCoy

Parmi les familles présentes en Nouvelle-Calédonie, les familles des Rhamnaceae et des Myricaceae sont connues, ailleurs dans le monde, pour former ce type de symbiose. Des travaux ont bien démontré une présence et une abondance particulières de *Frankia* dans la rhizosphère d'*Alphitonia neocaledonica*, sans pour autant qu'il y ait formation de nodules fixateurs d'azote (Gauthier *et al.* 2000) ; de même, *Canacomyrca monticola* ne semble pas posséder de nodosités actinorhiziennes. Donc, dans les maquis miniers, les seules espèces avérées pour leur capacité à fixer l'azote de l'air en symbiose avec *Frankia* sont les *Gymnostoma* spp. et, dans une plus faible mesure, les

*Casuarina* spp. Pour ce qui concerne le micro-organisme, des travaux ont montré que les *Frankia* des nodules de *Gymnostoma* spp. constituaient un groupe de nodulation spécifique (Gauthier *et al.* 1999<sup>a</sup>) et étaient largement diversifiés ; ainsi, sur 358 échantillons provenant de 8 espèces de *Gymnostoma*, 17 ensembles génétiquement distincts ont pu être identifiés (Navarro *et al.* 1999). La spécificité d'hôte de ces micro-organismes a également fait l'objet d'études approfondies. Les *Frankia* issus des nodules de *Gymnostoma* spp. sont phylogénétiquement différents des *Frankia* des *Casuarina* et des *Allocasuarina*, et ne nodulent pas les *Casuarina* spp. Inversement, les *Frankia* de *Casuarina* spp. ne nodulent pas les *Gymnostoma* spp. (Navarro *et al.* 1998). En revanche, les *Frankia* des *Gymnostoma* spp. sont compatibles avec la formation de nodules chez les espèces du genre *Elaeagnus* (Navarro *et al.* 1997). Tandis que dans les nodules de *Casuarina collina*, deux types de souches de *Frankia*, l'un capable d'infecter les *Casuarina*, ce qui était attendu, et l'autre compatible avec les *Elaeagnus* spp., ont été isolés (Gauthier *et al.* 1999<sup>b</sup>). Aucune spécificité contrôlée génétiquement n'a pu être mise en évidence au sein de la symbiose *Gymnostoma-Frankia*. Cependant, les *Frankia* associés aux *Gymnostoma* des terrains sur substrats ultramafiques sont phylogénétiquement différents des *Frankia*

des *Gymnostoma* sur sols volcano-sédimentaires (Navarro *et al.* 1999). En outre, une plus grande diversité génétique a été observée chez les *Frankia* associés à *Gymnostoma deplancheanum* sur sols ferrallitiques désaturés que chez les *Frankia* associés à *Gymnostoma chamaecyparis* sur sols bruns hypermagnésiens, sols jugés plus sélectifs (Jaffré *et al.* 2001<sup>b</sup>). Cette « préférence écologique » a une implication immédiate dans le choix des souches à utiliser avec les *Gymnostoma* spp. suivant le type de milieu à réhabiliter.

## 5.2. Les symbioses à *Rhizobium*

La fixation d'azote avec les *Rhizobium* concerne principalement les Fabaceae. En Nouvelle-Calédonie, cette symbiose est peu fréquente si l'on excepte *Acacia spirorbis* qui forme des peuplements importants dans les maquis secondarisés, notamment à la base des massifs miniers. En effet, à part cette espèce très fréquente, qui malgré son statut actuel d'espèce autochtone a un comportement de plante envahissante, on trouve seulement deux autres genres : *Archidendropsis*, un petit arbuste des sous-étages de certains maquis forestiers et paraforestiers, et *Serianthes* spp., de petits arbres souvent isolés ou en groupes de quelques individus qui fixent l'azote en symbiose avec *Rhizobium* (figure 5.14).

Le genre *Archidendropsis* possède sept espèces dont trois (*A. lentiscifolia*, *A. paivana* et *A. macradenia*) se rencontrent dans les maquis miniers de basse altitude. Les deux premières à la base de massifs du Nord-Ouest et *A. macradenia* dans le massif du Sud. L'espèce arborescente *A. granulosa* est fréquente et parfois abondante dans les forêts de basse altitude sur substrat ultramafique. *Serianthes* possède six espèces dont quatre (*S. calycina*, *S. germanii*, *S. petitiiana*, *S. margaretae*) se développent dans les maquis miniers de basse altitude, et deux en forêts littorales. L'une d'entre elles, *S. sachetae*, se trouve sur substrat ultramafique le plus souvent en pleine lumière et pourrait servir pour la revégétalisation. Deux espèces sont relativement rares : *S. germanii* est propre à l'île des Pins et *S. margaretae* se rencontre dans les maquis littoraux sur serpentines à la base du massif de la Tiébaghi. *Serianthes petitiiana* est assez commune dans les maquis rivulaires et parfois de piedmont de l'extrémité sud du massif du Sud. *Serianthes calycina* est présente à la base des massifs isolés du Nord-Ouest, en maquis préforestiers et en forêts basses de talwegs.

En ce qui concerne les bactéries associées à ces espèces, de récents travaux ont permis de montrer que le genre bactérien impliqué dans la symbiose avec *Serianthes calycina* est le genre *Bradyrhizobium* et que certaines souches, porteuses des opérons *cnr* et *nre*, tolèrent 15 mM de  $\text{NiCl}_2$  en solution dans le milieu de culture (Chaintreuil *et al.* 2008). Nos connaissances des bactéries symbiotiques fixatrices d'azote en Nouvelle-Calédonie sont encore très fragmentaires et des études complémentaires doivent être menées pour engager un programme de sélection de souches afin de procéder à un essai d'inoculation contrôlée au champ.



Figure 5.14 : Nodules dus à *Rhizobium* sur *Serianthes calycina*.

© IAC / L. L'Huilier

## 6. LES BACTÉRIES RHIZOSPHÉRIQUES STIMULATRICES DE LA CROISSANCE DES PLANTES

Les bactéries rhizosphériques stimulatrices de la croissance des plantes sont souvent qualifiées de PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Il s'agit de bactéries qui se développent dans le volume du sol situé au voisinage immédiat des racines des plantes, volume caractérisé par la présence d'exsudats des racines. Les bactéries PGPR colonisent la rhizosphère en utilisant les exsudats des racines comme substrats nutritifs, mais à la différence des autres bactéries rhizosphériques, elles ont, en retour, un effet bénéfique sur la plante. Cet effet bénéfique peut être direct, lorsque la bactérie stimule la croissance des racines, ou indirect, lorsqu'elle contrôle des organismes phytopathogènes par exemple.

Ces bactéries PGPR ont un impact majeur sur le fonctionnement biologique de la rhizosphère, et donc sur les conditions de croissance et de développement de la plante. Ces particularités ouvrent des possibilités pour améliorer le fonctionnement de la rhizosphère et par là même des perspectives intéressantes pour la revégétalisation des sites miniers.

En Nouvelle-Calédonie, les premiers travaux sur ces bactéries des terrains miniers ont permis de montrer qu'elles étaient largement diversifiées (Mercky 1999). Récemment (Lagrange 2009), des travaux ont permis de préciser les taxa présents dans les rhizosphères de *Costularia arundinacea* et de *C. nervosa*. Pour 80 % d'entre elles, ces bactéries appartiennent aux genres *Bradyrhizobium*, *Burkholderia* et *Curtobacterium*.

Les bactéries associées aux ectomycorhizes ouvrent également des perspectives intéressantes en termes d'amélioration des techniques de revégétalisation (Duponnois *et al.* 1993). Très récemment, des travaux ont été initiés en Nouvelle-Calédonie sur les bactéries des ectomycorhizes des *Tristaniopsis* spp. (Waseem, non publié). À ce stade, les genres *Burkholderia*, *Bacillus* et *Pseudomonas* ont été identifiés sur des ectomycorhizes de *Russula* et de *Boletus*. Des sélections de souches pour leur capacité notamment à tolérer le nickel soluble ou à solubiliser le phosphore constituent les préalables nécessaires à la réalisation d'essais d'inoculation afin d'apprécier l'intérêt d'utiliser ces bactéries pour redynamiser l'activité microbienne du sol en vue d'une restauration écologique réussie.

## 7. INOCULATION CONTRÔLÉE AVEC DES BACTÉRIES SYMBIOTIQUES OU RHIZOSPHÉRIQUES, APPLIQUÉE À LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE DES TERRAINS MINIER

Les espèces végétales possédant des symbiotes bactériens ont la propriété d'enrichir le sol en azote, élément rare dans les milieux miniers, et sont donc d'une grande importance pour la restauration écologique. Jaffré et Pelletier (1992) ont préconisé, dans leur liste de plantes sélectionnées pour la revégétalisation des terrains miniers, des Fabaceae (plusieurs espèces des genres *Archidendropsis* et *Serianthes*) et des Casuarinaceae (plusieurs espèces de *Gymnostoma*), réparties dans diverses régions, ce qui permet de faire un choix selon les zones à restaurer. L'espèce *Serianthes calycina* est considérée comme particulièrement intéressante (Rigault *et al.* 2003), car elle est facile à produire en pépinière, capable de se développer sur un substrat très pauvre comme les stériles miniers et améliore nettement la fertilité du sol, favorisant ainsi l'implantation et la croissance des plantes autour d'elle. Par ailleurs, elle résiste bien au vent en raison de son enracinement important. C'est ce que montre notamment un essai réalisé sur le mont Dore (figures 5.15 et 5.16). *Serianthes satchetae* est également une espèce intéressante, mais non encore testée.

Ces différentes espèces doivent être plantées intercalées ou en mélange avec des espèces non fixatrices d'azote, afin de faire profiter ces dernières de l'azote incorporé dans le sol par l'activité bactérienne symbiotique. Toutefois, pour la plupart des espèces de Fabaceae, des essais sont encore nécessaires pour leur maîtrise en pépinière et sur le terrain.



Figure 5.15 : Essai de l'IRD sur le mont Dore avec *Serianthes calycina* (mis en place en 1993, photo prise en 2009) (voir chapitre 7 pour les analyses de sol de cet essai).



Figure 5.16 : De nombreux recrûs issus de graines sont sous et autour de *S. Calycina* (*Scaevola* sp., *Costularia comosa*, *Machaerina deplanchei*, *Dodonaea viscosa*, *Alphitonia neocaledonica*, *Hibbertia* sp., *Schoenus juvenis*, *Acacia spirorbis*...).

Les recherches sur les symbiotes bactériens en Nouvelle-Calédonie n'étant pas très avancées, il n'y a pas encore de techniques de « bactérisation » avec des souches sélectionnées adaptées au milieu ultramafique. Cependant, il n'est pas nécessaire d'utiliser des souches pures pour s'assurer que la symbiose avec les bactéries est fonctionnelle. En effet, les *Rhizobium* et les *Frankia* sont généralement présents dans tous les sols. Si l'on utilise un top-soil non stocké, ou stocké sur une courte période, il y a de fortes chances que les symbiotes soient présents. À l'inverse, si le top-soil a été stocké, il devient indispensable d'intervenir activement pour assurer l'apport des symbiotes. Dans tous les cas, en pépinière, il est recommandé de rajouter aux pots des Fabaceae ou des Casuarinaceae, de préférence au contact des racines, un peu de sol riche en fragments racinaires, prélevé sous les mêmes plantes en milieu naturel non perturbé. Il est également possible de garder en pépinière des pots de ces espèces pour les utiliser comme inoculum par la suite (sol et fragments racinaires), comme nous l'avons noté pour les mycorhizes. La vérification de la présence des symbiotes est relativement aisée : il suffit de s'assurer de la présence de nodules bactériens au niveau des racines. Toutefois, chez les Casuarinaceae, il peut y avoir confusion, car on peut trouver deux types de nodules. Les nodules de *Frankia* (symbiotes bactériens), qui sont généralement assez grands, 3 à 6 mm, et multilobés, et de très petits nodules d'environ 1 mm, de forme variable : sphérique, oblongue ou pyriforme, qui sont des myconodules produits par des champignons endomycorhiziens (Ducouso *et al.* 2001, Duhoux *et al.* 2001) ; il s'agit d'exceptions connues uniquement chez quelques taxa végétaux. Par ailleurs, il est probablement possible d'inclure un broyat de racines ou de nodules de Fabaceae ou de Casuarinaceae dans le mélange utilisé pour l'ensemencement hydraulique (*hydroseeding*), mais cela nécessite des essais préalables que les entreprises de restauration environnementale devront réaliser.

Enfin, on peut stimuler l'activité microbienne globale, garante de la fertilité du sol, grâce à des amendements organiques (compost végétal, réincorporation des végétaux grossièrement broyés lors de l'activité minière). Toutefois, dans les sols miniers, l'activité microbienne est soumise à un seuil imposé par la libération de métaux potentiellement toxiques (Ni, Co, Mn, Mg) à proximité immédiate des racines (Amir & Pineau 2003<sup>a, b</sup>), de sorte que l'amendement organique est lui-même susceptible d'accentuer la toxicité. Cette activité bactérienne libératrice de métaux étant plus élevée en conditions de faible aération (Quantin *et al.* 2002, L'Huillier & Edighoffer 1996), il est préconisé de favoriser une bonne aération du sol, justement en incorporant de la matière organique grossièrement broyée et en réduisant les risques d'hydromorphie des sols.

## 8. PERSPECTIVES

Les travaux de recherche en écologie microbienne des sols miniers de Nouvelle-Calédonie ont pris un essor important depuis une décennie et figurent parmi les priorités affichées des différents opérateurs de la recherche publique en Nouvelle-Calédonie (Université de la Nouvelle-Calédonie, Institut Agronomique néo-Calédonien, Institut de Recherche pour le Développement, CNRT Nickel et environnement). Les conditions sont donc extrêmement favorables à l'acquisition de connaissances nouvelles pour la compréhension du fonctionnement microbiologique des sols miniers et notamment des interfaces sols-micro-organismes-plantes. Ces travaux permettront de comprendre, de façon plus générale, les rôles des micro-organismes, en particulier des mycorhizes, dans l'adaptation des plantes à leur environnement, mais aussi fourniront des pistes de travail pour réussir la revégétalisation des sites miniers dégradés. En effet, la réinitialisation des processus microbiologiques du sol a été identifiée comme un préalable incontournable à la réussite de la remise en place d'un couvert végétal. Pour cela, des recherches sont menées afin de caractériser la biodiversité des micro-organismes des sols ultramafiques et d'étudier les mécanismes moléculaires de leur adaptation, notamment au nickel.

L'objectif est, à terme, d'optimiser l'utilisation des micro-organismes dans les processus de restauration écologique des sites miniers, mais également, de façon plus générale, de tirer profit des micro-organismes naturellement en interaction avec les plantes pour améliorer l'adaptation de celles-ci à leur environnement. Ainsi, l'utilisation des micro-organismes amènera naturellement à un usage raisonné des intrants habituels (engrais, pesticides) et, par là même, réduira l'impact environnemental des pratiques agricoles et forestières.

**Tableau 5.1 : État mycorhizien d'espèces végétales de milieux ultramafiques néo-calédoniens.** (Liste non exhaustive)

Espèces généralement bien endomycorhizées (MA, forte affinité)	Espèces généralement peu endomycorhizées (MA, faible affinité)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Dennstaedtiaceae</b> (fougère) <i>Pteridium esculentum</i></li> <li>• <b>Araucariaceae</b> (gymnospermes) <i>Agathis lanceolata</i> <i>Agathis ovata</i> <i>Araucaria columnaris</i> <i>Araucaria montana</i></li> <li>• <b>Podocarpaceae</b> (gymnospermes) <i>Dacrydium araucarioides</i></li> <li>• <b>Argophyllaceae</b> <i>Argophyllum laxum</i></li> <li>• <b>Casuarinaceae</b> <i>Casuarina collina</i> <i>Gymnostoma chamaecyparis</i> <i>Gymnostoma poissonianum</i></li> <li>• <b>Clusiaceae</b> <i>Garcinia amplexicaulis</i></li> <li>• <b>Cunoniaceae</b> <i>Codia discolor</i> <i>Codia montana</i> <i>Cunonia macrophylla</i> <i>Geissois hirsuta*</i> <i>Geissois pruinosa*</i> <i>Pancheria alaternoides</i></li> <li>• <b>Ericaceae</b> <i>Cyathopsis albicans</i> <i>Dracophyllum</i> sp.</li> <li>• <b>Fabaceae</b> <i>Serianthes</i> sp.</li> <li>• <b>Flacourtiaceae</b> <i>Homalium kanaliense*</i></li> <li>• <b>Goodeniaceae</b> <i>Scaevola coccinea</i> <i>Scaevola montana</i></li> <li>• <b>Myrtaceae</b> <i>Carpolepis laurifolia</i> <i>Cloezia artensis</i> <i>Tristaniopsis calobuxus</i> <i>Tristaniopsis guillainii</i> <i>Xanthostemon multiflorus</i> <i>Xanthostemon</i> sp.</li> <li>• <b>Picrodendraceae</b> <i>Longetia buxoides</i></li> <li>• <b>Phyllanthaceae</b> <i>Phyllanthus favieri*</i> <i>Phyllanthus</i> spp.</li> <li>• <b>Rhamnaceae</b> <i>Alphitonia neocaledonica</i></li> <li>• <b>Rubiaceae</b> <i>Psychotria douarrei*</i></li> <li>• <b>Rutaceae</b> <i>Boronella koniamboensis</i></li> <li>• <b>Sapindaceae</b> <i>Dodonaea viscosa</i></li> <li>• <b>Violaceae</b> <i>Hybanthus austrocaledonicus*</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Cyperaceae</b> <i>Costularia arundinacea</i> <i>Costularia comosa</i> <i>Costularia nervosa</i> <i>Costularia pubescens</i> <i>Schoenus neocaledonicus</i></li> <li>• <b>Proteaceae</b> <i>Grevillea exul</i> <i>Grevillea gillivrayi</i></li> <li>• <b>Sapotaceae</b> <i>Sebertia acuminata*</i> (inhibition de la mycorhization due uniquement aux teneurs élevées en Ni dans les racines en milieu naturel)</li> </ul> <p>* Espèces hyperaccumulatrices de Ni.</p>
	<p><b>Espèces généralement très peu mycorhizées (MA) ou non mycorhizées (très faible affinité)</b></p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Cyperaceae</b> <i>Gahnia</i> sp. <i>Lepidosperma perteres</i> <i>Machaerina deplanchei</i></li> <li>• <b>Proteaceae</b> <i>Stenocarpus</i> sp.</li> </ul>
	<p><b>Espèces ectomycorhizées</b></p>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Fabaceae</b> <i>Acacia spirorbis</i></li> <li>• <b>Myrtaceae</b> <i>Arillastrum gummiferum</i> <i>Melaleuca pancheri</i> <i>Melaleuca quinquenervia</i> <i>Tristaniopsis calobuxus</i> <i>Tristaniopsis glauca</i> <i>Tristaniopsis guillainii</i> <i>Tristaniopsis macphersonii</i> <i>Tristaniopsis nimndoensis</i> <i>Tristaniopsis vieillardii</i></li> <li>• <b>Nothofagaceae</b> <i>Nothofagus aequilateralis</i> <i>Nothofagus balansae</i> <i>Nothofagus codonandra</i></li> </ul>

# Mines et Environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration

Laurent L'HUILLIER

Tanguy JAFFRÉ

Adrien WULFF



Etudes &  
Synthèses

# Mines et Environnement en Nouvelle-Calédonie :

## les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration

**Laurent L'HUILLIER**  
IAC

**Tanguy JAFFRÉ**  
IRD / Amap

**Adrien WULFF**  
IAC / UNC

Avec la collaboration de :

**Michel LEBRUN, Laurent MAGGIA,  
Nicolas BARRÉ, Jean CHAZEAU, Hervé JOURDAN,  
Hamid AMIR, Marc DUCOUSSO,  
Gildas GÂTEBLÉ, Bruno FOGLIANI, Charly ZONGO, Casimir VÉA**

**Éditions IAC**  
BP 73 - 98890 Païta  
Nouvelle-Calédonie

© **Institut Agronomique néo-Calédonien**

BP 73, 98890 Païta, Nouvelle-Calédonie

1<sup>re</sup> édition, 2010

**ISBN** : 978-2-9523950-8-3

**Dépôt légal** : 2010

**Conception et réalisation** :  **EDITIONS** / tabueditions@tabu.nc / Tél. : 24 91 11

**Correction** : Claudine Bousquet

**Photographie de couverture** : Laurent L'Huillier

**Achévé d'imprimer** : Imprimé et relié en Italie, sur papier sans chlore.

**Citation de l'ouvrage** :

**L'Huillier L., Jaffré T. et Wulff A.** 2010. *Mines et Environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*. Éditions IAC, Nouméa, Nouvelle-Calédonie, 412 p.

Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle, par quelque procédé que ce soit, des pages publiées dans le présent ouvrage, faite sans l'autorisation de l'éditeur ou du Centre français d'exploitation du droit de copie, est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective, et, d'autre part, les analyses et courtes citations – qui devront faire référence au présent ouvrage – justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (loi du 1<sup>er</sup> juillet 1992 – art. L. 122-4 et L. 122-5 et Code pénal art. 425).

**Partenaires institutionnels de l'IAC :**



# SOMMAIRE

INTRODUCTION . . . . . 17

## CHAPITRE 1

**L'EXPLOITATION DES MINÉRAIS DE NICKEL  
EN NOUVELLE-CALÉDONIE (L'Huillier L. et Jaffré T.) . . . . 21**

**1. IMPORTANCE DE L'EXPLOITATION MINIÈRE ET DE  
LA MÉTALLURGIE DU NICKEL EN NOUVELLE-CALÉDONIE. . . . 22**

**2. HISTORIQUE DE L'ACTIVITÉ MINIÈRE ET MÉTALLURGIQUE . . . 24**

**3. LES MÉTHODES D'EXPLOITATION DU MINÉRAI DE NICKEL . . . 26**

**4. IMPACTS SUR L'ENVIRONNEMENT . . . . . 28**

**5. LA RÉGLEMENTATION . . . . . 30**

5.1 Code minier . . . . . 30

5.2 Délibération n° 104 et Fonds Nickel . . . . . 30

5.3 Code de l'environnement de la province Nord . . . . . 31

5.4 Code de l'environnement de la province Sud . . . . . 31

## CHAPITRE 2

**CONDITIONS DE MILIEU DES TERRAINS MINIERS  
(Jaffré T. et L'Huillier L.) . . . . . 33**

**1. NATURE ET ORIGINE DU SUBSTRAT GÉOLOGIQUE . . . . . 34**

**2. GENÈSE ET CARACTÉRISTIQUES DES SOLS  
ET DES MINÉRAIS DE NICKEL . . . . . 36**

2.1. Les « terres rouges » ou « latérites » . . . . . 36

2.2. Les sols bruns hypermagnésiens . . . . . 39

2.3. Les minerais de nickel . . . . . 40

**3. CONDITIONS DE NUTRITION MINÉRALE DES PLANTES . . . . . 40**

3.1. Les carences en éléments nutritifs . . . . . 40

3.2. Teneurs excessives en magnésium . . . . . 40

3.3. Risques de toxicité en certains métaux . . . . . 41

**4. CONDITIONS D'ALIMENTATION HYDRIQUE DES PLANTES . . . 42**

4.1 Conditions hydriques liées au climat . . . . . 42

4.2 Conditions hydriques liées à la nature du sol . . . . . 44

## CHAPITRE 3

### LA VÉGÉTATION DES ROCHES ULTRAMAFIQUES OU TERRAINS MINIER (Jaffré T. et L'Huillier L.) . . . . . 45

<b>1. LA FLORE . . . . .</b>	<b>46</b>
1.1. Caractéristiques, richesse et endémicité de la flore des terrains miniers . . . . .	47
1.2. Origine de la flore . . . . .	54
<b>2. LES FORMATIONS VÉGÉTALES . . . . .</b>	<b>55</b>
2.1. Les forêts denses humides . . . . .	56
2.2. Les maquis miniers . . . . .	65
<b>3. ADAPTATION DES PLANTES AUX CONDITIONS DE NUTRITION MINÉRALE. . . . .</b>	<b>81</b>
3.1. L'adaptation des espèces aux carences du sol en phosphore, en potassium et en azote . . . . .	84
3.2. L'adaptation aux faibles teneurs du sol en calcium. . . . .	85
3.3. L'adaptation des plantes aux teneurs excessives du sol en magnésium . . . . .	85
3.4. L'adaptation des plantes aux teneurs élevées du sol en éléments potentiellement toxiques Ni, Mn, Cr et Co . . . . .	86
<b>4. ADAPTATION DES PLANTES DU MAQUIS À LA SÈCHERESSE . .</b>	<b>91</b>
<b>5. RÔLE DE LA COUVERTURE VÉGÉTALE . . . . .</b>	<b>92</b>
<b>6. DYNAMIQUE DE LA VÉGÉTATION . . . . .</b>	<b>93</b>
<b>7. CONCLUSION . . . . .</b>	<b>97</b>

## CHAPITRE 4

### LA FAUNE DES MILIEUX SUR ROCHES ULTRAMAFIQUES (Barré N., Chazeau J., Jourdan H.) . . . 105

<b>1. RÔLE DES OISEAUX DANS LA DYNAMIQUE DE LA VÉGÉTATION DU MAQUIS . . . . .</b>	<b>106</b>
1.1. Les oiseaux qui fréquentent le maquis. . . . .	106
1.2. La quête du nectar et la pollinisation . . . . .	108
1.3. La consommation des fruits et la dissémination des semences . . .	112
1.4. La capture et le contrôle des insectes phytophages . . . . .	114
1.5. Rôle des oiseaux en maquis minier : conclusion. . . . .	114
<b>2. L'HERPÉTOFAUNE DES TERRAINS MINIER . . . . .</b>	<b>115</b>
2.1. Isolement et radiation endémique des reptiles . . . . .	115
2.2. Les ressources exploitées par les reptiles des terrains miniers . . .	116
2.3. Préservation des milieux et conservation des reptiles. . . . .	117

# SOMMAIRE

<b>3. LES ARTHROPODES DES MASSIFS MINIERES . . . . .</b>	<b>.118</b>
3.1. L'intérêt faunistique des milieux sur terrains miniers . . . . .	118
3.2. La guilda des fourmis sur les terrains miniers . . . . .	121
3.3. Caractères des peuplements d'arthropodes des terrains miniers . . .	125
3.4. La frontière des milieux sur roches ultramafiques . . . . .	126
3.5. Milieux ultramafiques et invasions biologiques . . . . .	127
<b>4. POUR CONCLURE SUR LA FAUNE DES TERRAINS MINIERES . . .</b>	<b>.128</b>

## CHAPITRE 5

<b>LES BACTÉRIES ET LES CHAMPIGNONS DU SOL SUR ROCHES ULTRAMAFIQUES</b> (Amir H. et Ducouso M.) . . . . .	<b>.129</b>
--	-------------

<b>1. INTRODUCTION . . . . .</b>	<b>.130</b>
1.1 Les mycorhizes . . . . .	131
1.2 Les bactéries . . . . .	132
<b>2. LES MYCORHIZES À ARBUSCULES (MA) . . . . .</b>	<b>.133</b>
2.1 Rôles des mycorhizes à arbuscules dans le développement des plantes . . . . .	134
2.2 Les mycorhizes à arbuscules dans les écosystèmes miniers de Nouvelle-Calédonie . . . . .	134
<b>3. LES ECTOMYCORHIZES . . . . .</b>	<b>.135</b>
3.1 Rôles des ectomycorhizes dans le développement des plantes . . . . .	136
3.2 Les ectomycorhizes des maquis miniers de Nouvelle-Calédonie . . . . .	137
<b>4. ASPECTS TECHNIQUES ET PRATIQUES DE LA MYCORHIZATION CONTRÔLÉE, APPLIQUÉE À LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE DES TERRAINS MINIERES . . . . .</b>	<b>.138</b>
<b>5. LES SYMBIOSES FIXATRICES D'AZOTE. . . . .</b>	<b>.140</b>
5.1 Les symbioses à <i>Frankia</i> . . . . .	140
5.2 Les symbioses à <i>Rhizobium</i> . . . . .	141
<b>6. LES BACTÉRIES RHIZOSPHERIQUES STIMULATRICES DE LA CROISSANCE DES PLANTES . . . . .</b>	<b>.142</b>
<b>7. INOCULATION CONTRÔLÉE AVEC DES BACTÉRIES SYMBIOTIQUES OU RHIZOSPHERIQUES, APPLIQUÉE À LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE DES TERRAINS MINIERES . . . . .</b>	<b>.142</b>
<b>8. PERSPECTIVES . . . . .</b>	<b>.144</b>

## CHAPITRE 6

### LA RESTAURATION DES SITES MINIERES

(L'Huillier L., Wulff A., Gâteblé G., Fogliani B., Zongo C., Jaffré T.) . . . . . **147**

<b>1. INTRODUCTION</b> . . . . .	<b>148</b>
<b>2. HISTORIQUE DE LA REVÉGÉTALISATION</b> . . . . .	<b>148</b>
<b>3. PRINCIPES DE LA RESTAURATION ÉCOLOGIQUE</b> . . . . .	<b>150</b>
<b>4. MÉTHODES APPROPRIÉES POUR LA REVÉGÉTALISATION</b> . . . . .	<b>153</b>
4.1. Le choix des espèces . . . . .	154
4.2. La multiplication à partir de graines . . . . .	162
4.3. La multiplication asexuée . . . . .	196
4.4. Préparation des substrats à revégétaliser . . . . .	206
4.5. Mise en œuvre et choix des techniques de revégétalisation . . . . .	213
4.6. Suivi, évaluation et indicateurs . . . . .	228

## CHAPITRE 7

### ESPÈCES INDIGÈNES UTILISABLES EN REVÉGÉTALISATION

(Wulff A., L'Huillier L., Véa C., Jaffré T.) . . . . . **231**

<b>1. INTRODUCTION</b> . . . . .	<b>232</b>
<b>2. FICHES PAR ESPÈCE, CLASSÉES PAR FAMILLE</b> . . . . .	<b>233</b>
Araucariaceae . . . . .	235
Casuarinaceae . . . . .	241
Celastraceae . . . . .	245
Cunoniaceae . . . . .	249
Cyperaceae . . . . .	257
Dilleniaceae . . . . .	269
Fabaceae (ou Leguminosae) . . . . .	273
Goodeniaceae . . . . .	281
Joinvilleaceae . . . . .	285
Malpighiaceae . . . . .	289
Myodocarpaceae . . . . .	293
Myrtaceae . . . . .	297
Picrodendraceae . . . . .	315
Proteaceae . . . . .	321
Rhamnaceae . . . . .	329
Sapindaceae . . . . .	333
<b>3. QUELQUES AUTRES FAMILLES, GENRES ET ESPÈCES POTENTIELLEMENT UTILES POUR LA REVÉGÉTALISATION</b> . . . . .	<b>337</b>

# SOMMAIRE

<b>ANNEXES</b> . . . . .	<b>345</b>
<b>ANNEXE 1 - RÉGLEMENTATION</b> . . . . .	<b>346</b>
<b>ANNEXE 2 - CHARTE DES BONNES PRATIQUES MINIÈRES</b> . . . . .	<b>358</b>
<b>ANNEXE 3 - LISTE DES ESSAIS DE REVÉGÉTALISATION SUR SITES MINIERES (PAR LES ORGANISMES DE RECHERCHE) (1971-2010)</b> . . . . .	<b>362</b>
<b>ANNEXE 4 - BILAN DES TRAVAUX DE REVÉGÉTALISATION PAR LES COLLECTIVITÉS ET LES MINEURS</b> . . . . .	<b>366</b>
<b>ANNEXE 5 - CAHIER DES CHARGES DE PRODUCTION DE PLANTS</b> . . . . .	<b>371</b>
<b>ANNEXE 6 - CAHIER DES CLAUSES TECHNIQUES PARTICULIÈRES (CCTP)</b> . . . . .	<b>376</b>
<b>ANNEXE 7 - IMPACTS DU CERF SUR LE MAQUIS</b> . . . . .	<b>385</b>
<b>ANNEXE 8 - LISTE DES ESPÈCES UTILISABLES EN REVÉGÉTALISATION DES SITES MINIERES</b> . . . . .	<b>386</b>
<b>ANNEXE 9 - SCHÉMA RÉCAPITULATIF DES OPÉRATIONS À ENTREPRENDRE POUR UN LOT DE GRAINES D'UNE NOUVELLE ESPÈCE</b> . . . . .	<b>390</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> . . . . .	<b>391</b>
<b>GLOSSAIRE</b> . . . . .	<b>404</b>
<b>LISTE DES SIGLES</b> . . . . .	<b>409</b>
<b>INDEX</b> . . . . .	<b>410</b>

# SIGLES et ACRONYMES

- ABA** : Acide abscissique.
- AIA** : Acide indole acétique (hormones de bouturage).
- AIB** : Acide indole butyrique (hormones de bouturage).
- Amap** : botAnique et bioinforMatique de l'Architecture des Plantes.
- ANA** : Acide naphthalène acétique (hormones de bouturage).
- APG III** : Angiosperm Phylogeny Group (3<sup>e</sup> classification publiée).
- BP** : Before Present (traduit par avant le présent, terme de référence chronologique).
- CEC** : Capacité d'échange cationique.
- Cirad** : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement.
- CNRT** : Centre national de recherche technologique.
- CTFT** : Centre technique forestier tropical (dorénavant intégré dans le Cirad).
- DDEE** : Direction du développement économique et de l'environnement (province Nord).
- DDR** : Direction du développement rural (province Sud).
- Dimenc** : Direction de l'industrie, des mines et de l'énergie de Nouvelle-Calédonie.
- DTPA** : Diéthylène triamine penta acide (chélateur, notamment pour métaux de transition).
- GA3** : Acide gibbérellique de la famille des Gibbérellines (phytohormones).
- Gemini** : Société gestion-exploitation des mines de nickel.
- GPS** : Global Positioning System.
- IAC** : Institut agronomique néo-calédonien.
- IRD** : Institut de recherche pour le développement.
- Isee** : Institut de la statistique et des études économiques.
- ISTA** : International Seed Testing Association.
- IUCN** : Union internationale pour la conservation de la nature.
- KNS** : Koniambo Nickel SAS.
- Live** : Laboratoire insulaire du vivant et de l'environnement.
- méq** : milliéquivalent (1 mmole de K<sup>+</sup> = 1 méq ; 1 mmole de Ca<sup>+2</sup> = 2 méq).
- MNHN** : Muséum national d'histoire naturelle.
- MTH** : Millions de tonnes humides.
- NMC** : Nickel Mining Company.
- ONG** : Organisation non gouvernementale.
- Orstom** : Institut français de recherche scientifique pour le développement en coopération.
- PIB** : Produit intérieur brut.
- ppm** : partie par million (par ex. mg/kg).
- SLN** : Société Le Nickel.
- SMCB** : Société des mines du cap Bocage.
- SMGM** : Société minière Georges Montagnat.
- SMN** : Société des mines de Nakéty.
- SMP** : Société des mines de Poro.
- SMSP** : Société minière du Sud Pacifique.
- SMT** : Société des mines de Tontouta.
- Step (boues de)** : Station d'épuration.
- Sysmin** : Système pour les minerais (fonds de stabilisation pour les produits miniers des pays liés à l'Union européenne).
- TTC** : Triphényl 2,3,5 tétrazolium chlorure.
- UE** : Union européenne.
- UNC** : Université de la Nouvelle-Calédonie.



Les substrats ultramafiques – ou terrains miniers – à l’origine du minerai de nickel, couvrent près du tiers de la Nouvelle-Calédonie, qui se place parmi les premiers producteurs de ce métal dans le monde. Mais l’exploitation minière à ciel ouvert nécessite d’importants décapages qui génèrent des problèmes d’érosion des sols, de dérèglement des débits hydriques, de pollution des cours d’eau et de perte de biodiversité.

Ces substrats datant de 37 millions d’années portent une flore riche et originale, qui a largement contribué au classement de la Nouvelle-Calédonie comme un des principaux hotspots de biodiversité de la planète. Elle comprend environ 2150 espèces végétales dont 82 % sont endémiques. Ces espèces sont en outre spécialisées, adaptées à des sols très pauvres en plusieurs éléments nutritifs et inversement très riches en magnésium, en nickel et en d’autres métaux. Ces milieux abritent également une faune d’une grande diversité.

Ainsi la Nouvelle-Calédonie est confrontée à un double défi : celui d’exploiter une ressource minière considérable à même d’assurer au pays un développement économique important, et celui de protéger cette biodiversité exceptionnelle au nom des principes fondamentaux édictés mondialement. Dans ce contexte, la conservation des milieux abritant la plus grande part de la biodiversité, ainsi que la restauration des sites dégradés par l’exploitation minière s’imposent comme des nécessités incontournables.

L’ouvrage décrit et illustre tout d’abord la variété des substrats ultramafiques, ainsi que la diversité des écosystèmes et de leurs composantes floristiques, zoologiques et microbiologiques. Le concept de restauration écologique des sites dégradés et les moyens nécessaires pour sa mise en œuvre sont ensuite développés ; puis les modes de collecte, de germination, de conservation des semences et de production de plants d’espèces locales sont décrits, de même que les méthodes de revégétalisation. Enfin près de 100 espèces végétales utiles pour la restauration sont présentées.

Cet ouvrage est destiné à un large public, allant des professionnels du secteur minier (sociétés minières, opérateurs de la revégétalisation, bureaux d’étude...) aux personnels des collectivités impliquées dans la gestion du patrimoine minier et biologique du pays, ainsi qu’aux scientifiques, enseignants, étudiants, et plus largement à toute personne intéressée par les terrains miniers et leur gestion environnementale.



Financement Sysmin 8<sup>e</sup> FED  
Projet n° 8 PTF NC 08

Tabi  
ÉDITIONS

ISBN : 978-2-9523950-8-3



9 782952 395083