



HAL
open science

Interactions entre mycorhization, nutrition en phosphore et adaptation de la plante à la toxicité du nickel sur substrat ultramafique. Vers une optimisation de la mycorhization d'*Alphitonia neocaledonica*

Antoine Pierart

► To cite this version:

Antoine Pierart. Interactions entre mycorhization, nutrition en phosphore et adaptation de la plante à la toxicité du nickel sur substrat ultramafique. Vers une optimisation de la mycorhization d'*Alphitonia neocaledonica*. Sciences agricoles. 2012. dumas-00745807

HAL Id: dumas-00745807

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00745807v1>

Submitted on 26 Oct 2012

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

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



CFR Angers

2, Rue André Le Nôtre
49000 Angers



EA4243 145 Av. J. Cook - R4
98851 Nouméa CEDEX

Mémoire de Fin d'Études

Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage

Année universitaire : 2011 - 2012

Spécialisation : **Gestion Durable du Végétal** en Horticulture et Aménagement Paysager

Interactions entre mycorhization, nutrition en phosphore et adaptation de la plante
à la toxicité du nickel sur substrat ultramafique

Vers une optimisation de la Mycorhization d'*Alphitonia neocaledonica*

Antoine PIERART



Volet à renseigner par l'enseignant responsable de l'option/spécialisation
Ou son représentant
Date : 09/10/12 Signature :

Bon pour dépôt (version définitive)

Autorisation de diffusion : Oui Non

Devant le jury :

Soutenu à Angers

Le : 09/10/2012

Sous la présidence de : Jean-Charles MICHEL

Maître de stage : Pr. Hamid AMIR

Enseignant référent : Alexandre DEGRAVE

Autres membres du jury : Bachar BLAL, Armin BISCHOFF

"Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent
que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST".

Fiche de diffusion du mémoire

À remplir par l'auteur⁽¹⁾ avec le maître de stage.

Aucune confidentialité ne sera prise en compte si la durée n'en est pas précisée.

Préciser les limites de la confidentialité⁽²⁾ :

➤ Confidentialité absolue : oui non

(Ni consultation, ni prêt)

↳ Si oui 1 an 5 ans 10 ans

➤ A l'issue de la période de confidentialité **ou** si le mémoire n'est pas confidentiel,

Merci de renseigner les éléments suivants :

Référence bibliographique diffusable⁽³⁾ : oui non

Résumé diffusable : oui non

Mémoire consultable sur place : oui non

Reproduction autorisée du mémoire : oui non

Prêt autorisé du mémoire : oui non

.....
Diffusion de la version numérique : oui non

↳ Si oui, l'auteur⁽¹⁾ complète l'autorisation suivante :

Je soussigné Antoine PIERART, propriétaire des droits de reproduction dudit résumé, autorise toutes les sources bibliographiques à le signaler et le publier.

Date : Le 9 Octobre 2012

Signature :

Angers, le 9 octobre 2012

Le maître de stage⁽⁴⁾,

L'auteur⁽¹⁾,

L'enseignant référent,



(1) auteur = étudiant qui rédige son mémoire de fin d'études

(2) L'administration, les enseignants et les différents services de documentation d'AGROCAMPUS OUEST s'engagent à respecter cette confidentialité.

(3) La référence bibliographique (= Nom de l'auteur, titre du mémoire, année de soutenance, diplôme, spécialité et spécialisation/Option) sera signalée dans les bases de données documentaires sans le résumé.

(4) Signature et cachet de l'organisme.

ABSTRACT

The main objective of this work was to determine the optimal concentration of phosphorus leading to the best mycorrhization of *Alphitonia neocaledonica* on ultramafic (UF) topsoil. The experiment was conducted at the University of New Caledonia, Noumea, between March and September 2012. Five concentrations were tested (0 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2 t.ha⁻¹ Superphosphate Triple (ST)), spread over 100 plants inoculated and 100 plants non-inoculated, placed on the UF topsoil in controlled irrigation. Plant growth, rate of mycorrhization (%M) and sporulation were followed during one year. At the end of the experiment, biomass (fresh and dry) was measured and the mineral and metal concentrations were determined by atomic absorption spectrometer. The optimum of %M (18% ±2) and sporulation (5200 ±890 spores/100g of dry soil) were obtained for a ST concentration of 1t.ha⁻¹ (210kg.ha⁻¹ P, P3). At this concentration, a significant positive MGR (*mycorrhizal growth response*) was observed (+2.1 cm). Likewise, a rebalancing of the Ca/Mg ratio and an improvement of P and K absorption (correlated to the %M, $r^2=0,91$ in the roots) were measured in inoculated plants. Concentrations of Ni, Co and Cr have been significantly reduced in root by mycorrhization but translocation to the aerial parts of these elements is increased by mycorrhization (resp. x1,5 - x32 - x41 in P3). Finally, a higher water content was measured in inoculated plants (+12% H₂O in P3), with a maximum in P0 (+25% H₂O). The absence of N and K fertilization in P0 seems to be the cause of this difference between P0 and P3. In conclusion, our studies highlight that an optimal concentration of 1t.ha⁻¹ of ST can be made to maximize the mycorrhization of *A. neocaledonica* on UF topsoil. It will now be necessary to determine which are the consequences of these amendments on scrubland ecosystems because the phosphorus lack is a very limiting factor of the mycorrhizal symbiosis down there.

KEYWORDS: Symbiosis, Mycorrhiza, arbuscular, *Alphitonia neocaledonica*, Phosphorus, Mycorrhizal growth response, Water content, Ultramafic, Ca/Mg ratio.

RESUME

L'objectif principal de ce travail a été de déterminer la concentration optimale en Phosphore permettant la meilleure mycorrhization d'*Alphitonia neocaledonica* sur topsoil ultramafique (UF). L'expérimentation a été conduite à l'Université de Nouvelle-Calédonie, Nouméa, entre Mars et Septembre 2012. Cinq concentrations ont été testées (0 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2 t.ha⁻¹ de Superphosphate Triple (ST)), réparties sur 100 plantes inoculées et 100 plantes non inoculées, placées sur du topsoil UF en irrigation contrôlée. La croissance des plantes, le taux de mycorrhization (%M) et de sporulation ont été suivis pendant un an. En fin d'expérimentation, la biomasse (fraîche et sèche) a été mesurée et les concentrations minérales et métalliques ont été déterminées au spectromètre à absorption atomique. L'optimum de %M (18% ± 2) et de sporulation (5200 ± 890 spores/100g de sol sec) ont été obtenues pour une concentration en ST de 1t.ha⁻¹ (210kg.ha⁻¹ de P (P3)). A cette concentration, une MGR (Réponse de croissance mycorrhizienne) positive significative a été observée (+2,1cm). De même, un rééquilibrage du ratio Ca/Mg ainsi qu'une amélioration de l'absorption de P et de K (corrélée au %M, $r^2=0,91$ dans les racines) ont été mesurées chez les plantes inoculées. Les concentrations en Ni, Co et Cr racinaires ont significativement été diminuées par la mycorrhization mais la translocation vers les parties aériennes de ces éléments est augmentée par la mycorrhization (resp. x1,5 - x32 - x41 en P3). Enfin, une teneur en eau plus importante a été mesurée chez les plantes inoculées (+12%H₂O en P3), avec un maximum en P0 (+25%H₂O). L'absence de fertilisation N et K en P0 semble être à l'origine de cet écart entre P0 et P3. En conclusion, nos travaux mettent en évidence une concentration optimale d'1t.ha⁻¹ en ST à apporter pour maximiser la mycorrhization d'*A. neocaledonica* sur topsoil UF. Il faudra à présent déterminer quelles sont les conséquences de ces apports sur les écosystèmes des maquis miniers dans la mesure où la carence en phosphore y est naturellement un élément très limitant de la symbiose mycorrhizienne.

MOTS-CLES : Symbiose, Mycorrhize, arbuscule, *Alphitonia neocaledonica*, Phosphore, Réponse de croissance mycorrhizienne, Teneur en eau, Ultramafique, Ratio Ca/Mg.

REMERCIEMENTS

" Il faut remercier les hommes le moins possible parce que la reconnaissance qu'on leur témoigne les persuade aisément qu'ils en font trop... "
Benjamin Constant

Sans hiérarchie aucune, j'adresserai mes remerciements à ceux que je n'ai pas malencontreusement oubliés ; à ces derniers je n'ai que des excuses à offrir.

Merci aux locataires de la résidence internationale, Benichou, Alexis, Estelle, Stéphane, Juliette, Émilie, Jess, Laurent, Johan, Yann, Charlotte, Barbie, Olivier, Francis, ... Pour votre ouverture d'esprit, vos conseils (plus ou moins) scientifiques, pour les Road-trip en minibus, les parties d'échecs et pour tout le reste.

Merci à mon maître de stage, Hamid Amir, professeur en microbiologie et directeur du LIVE, pour avoir fait le nécessaire pour que mon stage se passe au mieux, pour ses conseils et analyses avisés garantissant la rigueur scientifique nécessaire à mon travail d'expérimentation.

Dans le même temps, Merci à l'ensemble des employés du LIVE, Aimée, Valérie, et Stéphane pour votre aide précieuse tout au long de mes manipulations.

Un Merci particulier à Simon, pour m'avoir encadré malgré une thèse, plusieurs stagiaires et des heures de cours chronophages. Merci de m'avoir enseigné et initié à la culture locale et au Nakamal... *Manoïa* ! Merci aussi à Léo pour la sécurité, l'ambiance et les chants de Lifou.

Alexandre, merci pour ton soutien et ton suivi à distance, qui m'ont permis de ne pas m'égarer.

Merci encore à mon père, ma mère, mes frères et mes sœurs, qui ont toujours cru en moi et sans qui je ne serai sûrement pas ici aujourd'hui.

Merci Nath de m'avoir accompagné au bout du monde !

" Je recèle en moi des réserves d'ennui pratiquement inépuisables. Je suis capable de m'ennuyer pendant des heures sans me faire chier. "
Pierre Desproges, Fonds de tiroir

Un ultime remerciement à Jean Chrysostome Dolto, Jean-Michel Salomon et Romain Cousi qui m'ont aidé à tuer le temps et à me cultiver en attendant qu'*Alphitonia neocaledonica* daignent croire jusqu'aux phases de mesure.

Awa! J'suis fin content de vous avoir connu la bande, oleti et tata bisou !

Statue Kanak, Centre Tjibaou, Nouméa

A.Pierart

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	iv
Gloses.....	vii
Abregés & Symboles chimiques.....	ix
Liste des Annexes.....	x
Table des illustrations	xi
Liste des tableaux	xii
Avant-Propos	xiii
Introduction	1
CHAPITRE 1 : État de l'Art	2
1.1. Contextualisation	2
1.1.1. Présentation générale de la Nouvelle-Calédonie	2
1.1.2. Flore Calédonienne & cas particulier des maquis miniers	3
1.2. Pédogénèse et exploitation minière.....	5
1.2.1. Scénario morphogénétique.....	5
1.2.2. Exploitation minière et boom économique	6
1.3. Erosions : conséquences et solutions	6
1.3.1. Des sols et de la biodiversité	6
1.3.2. Revégétalisation et recherche.....	7
1.4. L'intérêt mycorhizien.....	7
1.4.1. Les mycorhizes	7
1.4.2. Rôle dans la biodisponibilité en phosphore	9
1.4.3. Rôle dans la protection face aux métaux lourds et maladies	10
CHAPITRE 2 : Matériels et méthodes.....	13
2.1. Protocole expérimental.....	13
2.1.1. Matériel végétal	13
2.1.2. Matériel fongique.....	13
2.1.3. Mise en place de l'expérimentation.....	14
2.1.4. Suivi de croissance d' <i>Alphitonia neocaledonica</i>	15
2.1.5. Suivi de mycorhization	16
2.1.6. Sporulation	17
2.1.7. Analyse des teneurs en minéraux et métaux lourds.....	18
2.2. Traitement et analyse des données.....	18

CHAPITRE 3 : Résultats	19
3.1. Influence du phosphore sur la mycorhization	19
3.1.1. Degré de mycorhization	19
3.1.2. Croissance d' <i>Alphitonia neocaledonica</i>	20
3.2. Concentrations en éléments principaux.....	23
3.2.1. Résultats principaux de l'analyse spectrale	23
3.2.2. Cas du Phosphore	25
CHAPITRE 4 : Discussion.....	26
4.1. Taux de mycorhization.....	26
4.1.1. Focus sur l'appareil racinaire.....	26
4.1.2. Temps d'expérimentation, phosphore et mycorhization	26
4.1.3. Cas de la modalité P0	27
4.1.4. Dark Septate Endophyte	27
4.2. Données morphologiques.....	28
4.2.1. La MGR chez <i>A. neocaledonica</i>	28
4.2.2. D'autres intérêts de la mycorhization	28
4.3. Mycorhization et teneur en métaux.....	29
4.3.1. Etude comparative des teneurs en métaux	29
4.3.2. Variation des concentrations en métaux	30
CHAPITRE 5 : Recommandations	32
5.1. Améliorations protocolaires	32
5.2. Dans l'optique de la revégétalisation	33
Conclusion	34
Bibliographie	35
Sitiographie	42
ANNEXES.....	I

GLOSES

[1] = Référence sitigraphique
L'Huillier et al., xxxx = Référence bibliographique

AAS	<i>Atomic Absorption Spectrometer</i> . Spectromètre à absorption atomique PerkiElmer utilisé pour le dosage des métaux et éléments minéraux.
AMF	<i>Arbuscular Mycorrhizal Fungus</i> . Champignon Mycorhizien à Arbuscules. Forme de mycorhizes archaïques (apparue au Dévonien lors de la colonisation des continents par les végétaux) associant un champignon de l'embranchement des gloméromycètes avec un végétal (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
ARBUSCULE	Structure typique de la symbiose des AMF qui se développe dans les cellules pénétrées par le mycélium du champignon et au niveau de laquelle ont lieu les échanges entre la plante et le champignon. Cette structure doit son nom à sa forme qui rappelle celle d'un arbuste (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
BIOTROPHE	Se dit d'un champignon symbiotique obtenant des nutriments des cellules vivantes de son partenaire, par opposition au nécrotrophe qui profite de cellules mortes.
CUIRASSE	Désigne ici la partie supérieure, indurée, du profil d'altération des roches ultrabasiques. Produit représentant le terme ultime de l'altération des péridotites, en climat tropical, et correspondant à l'accumulation résiduelle de fer (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
CULTURE TRAPPE	Technique de multiplication et purification de souche mycorhizienne (extraction de spores, tri manuel sur caractéristiques morphologiques, inoculation, croissance), sur deux à trois cycles.
DSE	<i>Dark Septate Endophyte</i> . Regroupe un ensemble de champignons ascomycètes anamorphiques qui colonisent les tissus racinaires inter et intracellulaires.
ÉCOSYSTEME	Unité écologique fonctionnelle constituée d'un ensemble d'individus vivant dans un milieu donné. Cette notion intègre aussi leurs interactions (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
ÉDAPHIQUE	En écologie, ce qui a trait à un facteur écologique lié au sol (pH, humidité, concentrations, ...). En pédologie, ce terme désigne ce qui se rapporte au sol (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
FOEHN (EFFET DE)	Phénomène climatologique lié à l'accumulation des nuages d'un côté d'un relief montagneux engendrant des différences de précipitations et d'ensoleillement entre les versants. Schéma en Annexe III .
GLOMALINE	Glycoprotéine sécrétée par les gloméromycètes, extrêmement résistante à la dégradation. Agent de structuration des sols parmi les plus importants. Cette molécule est aussi la plus abondante dans de nombreux sols et serait responsable de plus du tiers de la séquestration de carbone dans les sols.

GLOMEROMYCETE	Embranchement du règne fongique regroupant des champignons archaïques au mycélium invisible à l'œil nu et ne formant pas de fructification (carpophore). La totalité des espèces de cet embranchement sont inféodés à la symbiose endomycorhizienne.
HOTSPOT	Selon la définition d'usage de Norman Myers, un hotspot se définit par un site contenant une très grande biodiversité, un fort taux d'endémisme et dont la survie de plusieurs espèces est menacée (<i>Spicer, 2009</i>).
HYDROSEEDING	Technique consistant à asperger les sols nus avec une solution contenant des résidus végétaux, de l'eau, des engrais, des substances collantes et des graines afin de revégétaliser ces sols et limiter les risques d'érosion et de transfert.
HYPHE	Filaments cellulaires constituant le mycélium des champignons supérieurs.
LATERITE	Ensemble des matériaux meubles riches en oxydes, en hydroxydes de fer et en aluminium, constituant les sols provenant de l'altération poussée des roches sous climat tropical (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
MAQUIS MINIER	Formation végétale arbustive et herbacée plus ou moins buissonnante, située sur substrats ultramafiques (<i>Province Sud, 2008a</i>).
MYCORHIZE	La mycorhize (du grec «mukês» pour champignon et «rhiza» pour racine) est l'association symbiotique d'un champignon avec les racines d'une plante (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
NIÑO (EL)	Courant marin chaud se formant près de l'Équateur juste après Noël (le temps y est très chaud à cette période). Son nom signifie "enfant Jésus". Il entraîne de violentes variations climatiques difficilement prévisibles.
PERIDOTITE	Roche de structure grenue, plus ou moins foncée, de couleur verte et de densité de 3,3 à 3,5. Elle est composée essentiellement de péridot et de pyroxène. C'est le constituant essentiel du manteau terrestre. Très pauvre en silice, c'est une roche ultrabasique constitués de silicates ferromagnésiens, essentiellement d'olivine et de clinopyroxènes calcosodiques (riche en Ca et en Na) ou d'orthopyroxènes ferromagnésiens (riches en Fe et en Mg).
ROCHE ULTRAMAFIQUE	Roche ignée de couleur foncée, à faible concentration de silicate (moins de 45 %), et à haute teneur en fer et magnésium (<i>Webster's online dictionary, 2011</i>).
SAPROLITE	Roche ou couche géologique produite par l'altération chimique d'une roche mère, due à l'action du climat, sans avoir été transportée. Elle est souvent friable et contient un mélange de nouvelles structures et restes de la roche mère. Elle peut être enrichie en Ni dans le cas d'une altération de péridotite (<i>L'Huillier et al., 2010</i>).
SOL LATERITIQUE	Sol rouge vif à rouge brun, très riche en oxyde de fer et en alumine, formé sous climat tropical. Pauvre en matière organique, en silice et en éléments nutritifs fertilisants (Ca, Mg, K, Na). Il s'agit d'un sol impropre à la culture. (<i>LAROUSSE, 2011c</i>)
SYMBIOSE	Relation permanente entre deux organismes d'espèces différentes et qui se traduit par des effets bénéfiques aussi bien pour l'un que pour l'autre.
TALWEG	Ligne qui rejoint les points les plus bas d'une vallée. Ils sont modelés par l'érosion et fréquemment occupés par le réseau hydrographique.

ABREGES & SYMBOLES CHIMIQUES

Tableau 1 : Abréviations utilisées dans les graphiques et le corps du texte

Abrégé	Définition
AAS	Spectromètre à Absorption atomique
Al	Aluminium
AMF	Champignon Mycorhizien à arbuscules (<i>acronyme anglais</i>)
BFa/r	Biomasse Fraîche aérienne/racinaire
BSa/r	Biomasse Sèche aérienne/racinaire
Ca	Calcium
Co	Cobalt
Cr	Chrome
Fe	Fer
g_sc	Grammes de sol sec
gMS	Grammes de matière sèche
i+ / i-	Inoculées / Non inoculées
K	Potassium
Mg	Magnésium
MGR +/-0	Mycorrhizal growth response
Mn	Manganèse
N	Azote
Ni	Nickel
Ni+ / Ni-	Avec / sans nickel
P	Phosphore
P0	Modalité N0.K0.P0
P1	Modalité NKP1
P2	Modalité NKP2
P3	Modalité NKP3
P4	Modalité NKP4
ppm	Partie par million (µg/gms)
ST	Superphosphate triple
T°	Température, degrés Celsius
UF	Ultramafique

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Localisation de la NC.....	II
Annexe II : Population Calédonienne.....	III
Annexe III : Climatologie du "caillou".....	IV
Annexe IV : Localisation des Hotspots mondiaux de biodiversité	V
Annexe V : Formations végétales calédonienne & endémisme	VI
Annexe VI : Scénario géomorphologique de la NC.....	VII
Annexe VII : Caractéristique et distribution des substrats ultramafiques en NC.....	VIII
Annexe VIII : Expansion de l'exploitation minière	IX
Annexe IX : Exemples d'érosions et destruction des habitats	X
Annexe X : Techniques de revégétalisation.....	XI
Annexe XI : Types de mycorhizes et classification	XII
Annexe XII : AMF et occupation du sol.....	XIII
Annexe XIII : Transfert de P au niveau de la mycorhize	XIV
Annexe XIV : Photos d' <i>Alphitonia neocaledonica</i>	XV
Annexe XV : Design expérimental	XVI
Annexe XVI : Validation statistique de l'utilisation de l'Anova.	XVII
Annexe XVII : Courbes étalon des dosages métaux.....	XVIII
Annexe XVIII : Spores, arbuscules – observations microscopiques.....	XIX

TABLE DES ILLUSTRATIONS

(HORS ANNEXES)

Figure 1 : Coupe schématique de sol UF.....	5
Figure 2 : Arbuste d' <i>A. neocaledonica</i>	13
Figure 3 : Vue transversale de la mise en pot d' <i>A. neocaledonica</i>	14
Figure 4 : Notation du degré de mycorhization des fragments racinaires.....	17
Figure 5 : Protocole d'extraction des spores d'AMF.....	17
Figure 6 : Pourcentage Mycorhization d' <i>A. neocaledonica</i>	19
Figure 7 : Sporulation dans chaque modalité.....	20
Figure 8 : Influence de P et de la mycorhization sur la taille des plantes.....	20
Figure 9 : Évolution de la vitesse de croissance d' <i>A. neocaledonica</i>	21
Figure 10 : Biomasses fraîches et sèches.....	22
Figure 11 : Composition minérale des broyats de tiges et racines.....	24
Figure 12 : Concentration en P dans les tiges et les racines.....	25
Figure 13 : Teneur en eau des parties aériennes.....	28
Figure 14 : Evolution du Ratio Ca/Mg en fonction de l'apport en phosphore.....	31

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Abréviations utilisées dans les graphiques et le corps du texte.....	ix
Tableau 2 : Catégories de maquis miniers Calédonien.....	4
Tableau 3 : Type d'édaphons et caractéristiques.....	5
Tableau 4 : Modes d'action mycorhizien lors de la tolérance aux métaux lourds	12
Tableau 5 : Composition minérale foliaire d' <i>Alphitonia neocaledonica</i>	13
Tableau 6 : Souches pures utilisées et leur provenance.....	14
Tableau 7 : Concentration en substance commerciale et quantités réelles.....	15
Tableau 8 : Cycle de minéralisation.....	18
Tableau 9 : Significativité des facteurs inoculation et phosphore au cours du temps	21
Tableau 10 : Groupes discriminés vis-à-vis de la taille des plants	21
Tableau 11 : Influence de différents facteurs sur la concentration	23
Tableau 12 : Impact de l'inoculation sur les concentrations en éléments.....	25
Tableau 13 : Ecart de concentration par rapport à L'Huillier <i>et al.</i> , 2010.....	30
Tableau 14 : Taux de transfert des racines vers les tiges pour chaque élément.....	30

AVANT-PROPOS

Les diplômés sont faits pour les gens qui n'ont pas de talent. Vous avez du talent ? Ne vous emmerdez pas à passer le bac.

Pierre Desproges, Chronique de la haine ordinaire

L'obtention du diplôme d'Ingénieur en spécialité Gestion Durable du Végétal en Horticulture et Aménagement Paysager passe par la réalisation d'un stage de fin d'études de six mois, devenant souvent la base du *Curriculum Vitae* par la suite. Après quatre années au sein d'Agrocampus Ouest, dont une interstitielle, j'ai eu le temps et l'occasion de penser et revoir mon orientation professionnelle pour finalement aboutir à la conclusion que mon goût pour la recherche prenait toujours le dessus. C'est pourquoi j'ai décidé de choisir un stage de fin d'étude en laboratoire. Non seulement pour continuer dans cette voie jusqu'à mes derniers pas à Belle-Beille mais aussi et surtout pour poursuivre en thèse par la suite.

J'ai alors postulé et été accepté en stage au Laboratoire Insulaire du Vivant et de l'Environnement à l'Université de Nouvelle-Calédonie pour travailler sur une thématique d'actualité autant dans les pays dits développés qu'en voie de développement : les *mycorhizes*. Parfois étudiées à des fins économiques, elles sont aussi pointées du doigt en écologie comme c'est le cas ici. Je suis donc parti mettre à profit mes compétences agronomiques pour participer aux études des interactions entre apports phosphatés, mycorhization et croissance de plantes endémiques sur sols dégradés. Une étude parmi de nombreuses autres face aux contraintes économique-environnementales et sociales liées à l'exploitation minière en Nouvelle-Calédonie.

À mon arrivée j'ai rapidement compris qu'il me serait difficile de réaliser mon mémoire de fin d'étude sur les expérimentations qu'il m'était demandées de lancer et suivre car les plantes endémiques de maquis minier ont une croissance et une mycorhization très lente (minimum six mois pour obtenir des résultats exploitables...). Par conséquent, j'ai lancé et réalisé le suivi de deux expérimentations (sur *Costularia comosa* et *Carpolepis laurifolia*). Cependant, j'orienterai mon mémoire sur une expérience lancée six mois avant mon arrivée, que j'ai pu suivre et analyser tout au long de mon stage : le cas d'*Alphitonia neocaledonica*.

D'une manière plus générale, l'objectif de ce mémoire est de participer aux réflexions sur l'amélioration des méthodes de revégétalisation des terrains dégradés par l'exploitation minière et de participer à l'optimisation des amendements lors des missions de revégétalisation. Ce sujet est complémentaire au travail réalisé par Nathanaëlle Leclerc sur l'optimisation des enrobages mycorhizés de semences utilisées en hydroseeding.

INTRODUCTION

Sept milliards d'êtres humains, ce sont autant de puits à matière première qui sont à l'origine de l'exploitation et l'appauvrissement des ressources de la planète. L'augmentation régulière de la population s'accompagne d'un accroissement important des activités humaines qui sont aujourd'hui reconnues comme étant la cause principale de la dégradation du milieu naturel (eau, sol, air, ...) et de la perturbation des écosystèmes. Une sixième crise d'extinction a d'ores et déjà commencé et pratiquement tous s'accordent sur le fait qu'il faut conserver ces espaces au plus vite, pour le bien être tant de la planète que de l'humanité.

Aujourd'hui les mesures en place sont insuffisantes pour protéger efficacement les écosystèmes. C'est pourquoi il est nécessaire de passer par la restauration écologique des milieux exploités pour tenter de compenser leur dégradation. En poursuivant ainsi, ils recouvriront leurs capacités initiales et seront de nouveau des foyers de biodiversité. La Nouvelle-Calédonie est un exemple flagrant de ce dilemme entre exploitation, restauration et conservation. Son développement industriel a été initié dès 1863 avec la découverte de gisements de nickel par Jules Garnier et se poursuit jusqu'aujourd'hui avec l'ouverture récente de nouvelles mines (Koniambo project,...). Elle est aujourd'hui cinquième productrice mondiale de nickel métal après la Russie et le Canada. L'île doit donc gérer à la fois des ressources minières lucratives et une biodiversité (faunistique et floristique) unique et fragile. Jusqu'à 2009 aucune loi ne contrôlait officiellement les entreprises minières et celles-ci ont déversé des tonnes de stériles dans les TALWEGS et les flancs de la chaîne. Ces méthodes sont aujourd'hui contrôlées et de nombreux programmes de recherche visent à restaurer les écosystèmes sur ces milieux pauvres en minéraux et concentrés en métaux lourds. Depuis plusieurs années les scientifiques étudient les relations symbiotiques mycorhiziennes et sont parvenus à montrer que l'utilisation de mycorhizes est un atout indéniable pour la reprise des végétaux sur sol pollué ou dégradé. Cependant, les conditions EDAPHIQUES en Nouvelle-Calédonie étant particulières, ces symbioses n'y ont été que peu étudiées jusqu'alors. C'est dans ce contexte que je suis intervenu en stage au sein de l'Université de Nouvelle-Calédonie. L'objectif était de participer à des expérimentations visant à optimiser les teneurs en phosphore permettant d'obtenir une mycorhization et une croissance idéales des plantes sur sol ULTRAMAFIQUE (UF). En effet, il a été observé par *Amijee et al., (1989)* une baisse de mycorhization lors de trop forts apports en phosphore. A l'opposé, *Lagrange* a montré en 2009 que de trop faibles doses de phosphore induisaient une baisse de la mycorhization chez *C. comosa*, plante de maquis minier. Il est possible que ces effets soient généralisables à de nombreuses espèces vivant sur ces milieux carencés. Par conséquent, il est nécessaire de déterminer les doses adaptées à chaque plante utilisée en revégétalisation.

Ce mémoire traitera du cas d'*Alphitonia neocaledonica*, plante endémique calédonienne utilisée en revégétalisation poussant à l'état naturel sur maquis minier. Au travers d'un premier chapitre bibliographique, nous aborderons les caractéristiques du topsoil des maquis miniers calédoniens. Un état des lieux des connaissances actuelles en revégétalisation de maquis miniers y sera aussi développé, après lequel nous ferons une synthèse des connaissances liées à la mycorhization. Dans un second chapitre, nous verrons en détail les protocoles utilisés lors de cette étude permettant d'apporter des éléments de réponse aux problématiques développées ci-dessus : recherche des concentrations optimales en phosphore permettant une mycorhization et une croissance idéale d'*Alphitonia neocaledonica* sur un topsoil UF. Les résultats de cette étude seront par la suite présentés et discutés de deux chapitres précédant quelques recommandations concluant ce mémoire.

ÉTAT DE L'ART 1

1.1. CONTEXTUALISATION

1.1.1. PRESENTATION GENERALE DE LA NOUVELLE-CALEDONIE

LOCALISATION ET GEOGRAPHIE

La Nouvelle-Calédonie (NC, couramment appelée “le caillou”) est située directement sous le tropique du capricorne (21°30S, 165°3 E) (Annexe 1). Elle est composée d'un chapelet d'îles : l'île principale (Grande Terre) est divisée selon l'axe N-S par une chaîne montagneuse dont les sommets atteignent souvent plus de 1000 mètres et culminent au Nord à 1629m (Mont Panié) [5]. Cet axe central coupe l'île en deux régions : la côte Est, aux pentes abruptes et aux vallées profondes et luxuriantes ; la côte Ouest, plus découpée, avec des plaines propres à la culture et à l'élevage surplombées par des massifs riches en nickel. La Grande Terre se prolonge par des îles isolées comme l'île des Pins au Sud, ou l'archipel des Belep dans le lagon Nord. Les îles Loyauté, d'origine corallienne, ont un relief plat. Les lagons de la NC ont été inscrits au patrimoine mondial de l'UNESCO en juillet 2008. Ils sont aujourd'hui au cœur des débats et programmes de conservation face aux risques de pollution par les rejets sédimentaires miniers [1].

HISTOIRE

Les premiers vestiges archéologiques attestant d'un peuplement en NC remontent à 1300 av. J.C. (période de Koné). Cependant, certains éléments tels que la diversité linguistique de la NC laissent penser à une origine nettement plus ancienne. Le premier Européen à découvrir la Grande Terre fût James Cook, en 1774. Par la suite, l'amiral Fébvrier-Despointes prit possession de l'île au nom de la France le 24 septembre 1853. Nouméa fut bâtie l'année suivante. L'île servit alors de bague pendant une trentaine d'années sous Napoléon III puis de point de chute aux troupes américaines durant la seconde guerre mondiale. Plus récemment (années 80), le mouvement indépendantiste Kanak s'est émancipé malgré de multiples tentatives de répression pour atteindre son climax aux événements d'Avril 1988. En découlèrent les accords de Matignon (26 juin 1988) et Oudinot (20 août 1988), à l'origine du rééquilibrage politique. 10 ans plus tard l'accord de Nouméa est ratifié pour une durée de 20 ans. Celui-ci prévoit un transfert progressif de certaines compétences étatiques vers la NC. Les électeurs résidant depuis plus de 20 ans seront consultés par referendum en 2014 concernant l'accession de la NC à la pleine souveraineté [1].

POPULATION

La population globale de la NC est de 245 580 habitants au dernier recensement (Juillet 2009). La croissance démographique est à 15 % le fruit du solde migratoire apparent. La densité augmente dans les communes à fort développement économique (i.e. minier) comme Koné et le grand sud [2]. Les secteurs minier et métallurgique représentent à eux seuls près de 5% de l'emploi local [8]. La population reste donc très attachée à cette exploitation malgré la détérioration réelle et visible qu'elle occasionne sur leurs habitats. Voir la démographie de NC en Annexe 2.

CLIMAT

Deux saisons se distinguent principalement en NC [4] :

- ✦ **La saison chaude** (1^{er} trimestre) : l'influence tropicale est prédominante. Les précipitations sont abondantes et les températures moyennes élevées (mais les extrêmes sont limités par l'influence maritime et l'alizé). C'est aussi à cette saison que la NC subit de plein fouet les cyclones du Pacifique.
- ✦ **La saison fraîche** [juin ; sept.] : Remontée des perturbations des régions tempérées vers le nord. Ces fronts froids se manifestent par des précipitations et parfois des "coups d'ouest". Hormis ces perturbations, cette saison est généralement fraîche et sèche.

Ces deux saisons sont séparées par deux intersaisons assez mal définies :

- ✦ **La saison sèche** [août ; nov.] : avec des précipitations très faibles associées à des températures fraîches la nuit, mais de plus en plus élevées la journée sous l'action du rayonnement solaire qui atteint son maximum en décembre. Durant cette période, les feux de brousse se propagent facilement sur une végétation déshydratée. En effet, l'évapotranspiration n'est pas compensée par les rares précipitations à cette époque. Le retour des ondées est donc très attendu mais il peut être dramatiquement retardé pendant les épisodes EL NIÑO.
- ✦ **En fin de saison chaude** : D'importants épisodes pluvieux-orageux apparaissent fréquemment, favorisés par la température de l'eau des océans.

La pluviométrie moyenne est de 1700 mm/an sur la Grande Terre (carte des précipitations en Annexe 3). Cependant, elle varie du simple au double selon le relief et l'exposition aux alizés. Ces vents conditionnent la répartition des précipitations, nettement plus importantes sur la côte Est, les montagnes et le Sud (EFFET DE FOEHN). Sur la côte Ouest le climat peut être semi-aride avec seulement 800 mm/an voire moins. En s'enfonçant plus à l'intérieur dans les chaînes de la Grande Terre et sur plus de la moitié de sa superficie, la pluviométrie dépasse 1500 mm/an.

La moyenne d'insolation en NC est d'environ 2500 heures/an [3]. Ce climat particulier a participé (et participe encore) activement à la pédogénèse du socle Calédonien.

1.1.2.FLORE CALEDONIENNE & CAS PARTICULIER DES MAQUIS MINIERES

ENDEMISSME, MICROENDEMISSME ET HOTSPOT DE BIODIVERSITE

La biodiversité est formellement définie dans l'article 2 de la Convention sur la Diversité Biologique (CDB) (*Nations Unies, 1992*) comme étant la "*variabilité des organismes vivants de toute origine, y compris, entre autres, les écosystèmes terrestres, marins et autres écosystèmes aquatiques et les complexes écologiques dont ils font partie ; cela comprend la diversité au sein des espèces, entre les espèces ainsi qu'entre des écosystèmes*". Trois aspects de la biodiversité se dégagent de la définition précédente : la diversité spécifique, qui est un paramètre qui rend compte du nombre d'espèces différentes, la diversité génétique qui se rapporte aux caractéristiques génétiques totales ou aux marqueurs génétiques d'une espèce (variation nucléotidique, chromosomale ou du génome entier). Enfin la diversité des populations décrit leur taille et le nombre d'individus différents qui les composent.

Jusqu'à la décennie passée, on supposait que l'implantation végétale Calédonienne datait du Trias, lors du décrochement et de la dérive d'un morceau du socle Gondwanien lors de l'ouverture de la mer de Tasman (65 million d'années) (*Lowry, 1996 ; Raven & Axelrod, 1972*). Or, en 2006, *Pelletier* montra que l'immersion du socle Calédonien a été totale à l'Éocène. Ainsi, à l'heure actuelle, la communauté scientifique considère que le peuplement végétal de l'archipel aurait eu lieu post-Éocène, lors de l'émersion du manteau péridotitique (*Grandcolas et al., 2008 ; Murienne et al., 2005*). Les différentes communautés végétales proviendraient donc de foyers Gondwaniens lointains (comme l'Australie par exemple) n'ayant pas subi d'immersion totale (*L'Huillier et al., 2010*).

Aujourd'hui, on considère que la flore calédonienne est composée d'environ 3 350 espèces de plantes vasculaires autochtones. L'endémisme global s'élève à 74% (Morat et al., 2010). Elle fait partie des flores les plus originales et compte parmi les 34 HOTSPOTS principaux de la planète pour la préservation de la biodiversité (Myers, 1998 ; Myers et al., 2000 ; Lowry et al., 2004 ; Kier et al., 2009 ; Annexe 4). Pour le cas particulier des terrains miniers, la flore atteint 82% d'endémisme et compte 2 150 espèces, ce qui rend cette flore de métallobytes bien plus riche que celle présente sur l'ensemble des autres substrats géologiques (L'Huillier et al., 2010). Elle représente à elle seule 45,5% de la flore endémique totale de la NC pour une couverture spatiale de seulement 29% de l'archipel (Jaffré et al., 2009ab). Enfin, les caractéristiques pédologiques de la NC et les contraintes EDAPHIQUES qui en découlent sont aussi à l'origine d'un micro-endémisme fort (Wulff, 2012).

DIFFERENTES STRATES VEGETALES

On trouve en terre calédonienne deux formations végétales majoritaires : l'une arborescente (*i.e.* forêt dense et humide) et l'autre couramment appelée « maquis des terrains miniers » qui regroupe l'ensemble des groupements non forestiers (Jaffré 1980 ; Morat et al., 1981 ; Annexe 5). Ces deux catégories se subdivisent ensuite en sous-groupes en fonction de l'altitude et de la pluviométrie (Morat et al., 1981). Elles ont souvent évolué au cours du temps à cause d'incendies naturels comme l'ont montré Hope & Pask (1986) au cours d'une étude palynologique (étude du pollen). Aujourd'hui, les forêts denses humides sur roche UF représentent la formation végétale ayant la plus grande richesse spécifique par unité de surface (jusqu'à 209 espèces de phanérogames sur 0,25ha décrites en 1990 par Jaffré & Veillon). Les maquis miniers s'étendent sur l'ensemble du gradient altitudinal, depuis les zones les plus sèches jusqu'aux hautes altitudes humides. Ils sont caractérisés par des végétaux sclérophylles et héliophiles de 5 à 6m. On peut noter par ailleurs l'existence d'une autre formation végétale emblématique de la NC : la forêt sèche. Celle-ci est extrêmement impactée par l'exploitation humaine et de nombreux programmes de restauration et conservation de ses lambeaux sont actuellement en cours (Grange, 2012).

La nature des sols Calédoniens semble donc être la source majoritaire de la ségrégation des groupements végétaux. A cela s'ajouteraient les effets des feux ainsi que l'influence des endomycorhizes sur la composition et la succession des plantes d'un écosystème donné (Kothamasi et al., 2001).

LES MAQUIS MINIERS

Cette terminologie englobe "toutes formations végétales sur roche UF (péridotites et serpentines) n'appartenant pas aux forêts" (Brooks, 1987). Ces écosystèmes sont extrêmement diversifiés et semblent constituer des stades variés d'une succession secondaire post-incendie (Barrière et al., 2007, Jaffré et al., 2003). Ces maquis présentent plus de 80% d'endémisme, avec comme familles principales les Myrtacées, les Euphorbiacées et les Rubiacées. Selon la description de Jaffré (1980), on peut distinguer 4 types de maquis miniers particuliers :

Tableau 2 : Catégories de maquis miniers Calédonien. Synthèse de L'Huillier et al., 2010.

Type de maquis	Type de sol	Caractéristiques de la flore
Arbustif à strate herbacée réduite	Brun hypermagnésien	Magnésicole adaptée au stress hydrique sévère.
Ligno-herbacé	Ferrallitique remanié par érosion	Savane cypérocéenne arbustive post-incendie
Arbustif à buissonnant	Ferrallitique gravillonnaire/QUIRASSE	Flore adaptée à un sol à faible CEC
Paraforestier	En zone de piedmont	Faciès évolués des catégories précédentes

Parmi la flore invasive présente actuellement, seul le Pin caraïbe a su s'adapter aux contraintes édaphiques. Ainsi, les maquis miniers ont été (au moins partiellement) préservés, notamment grâce à la nature des substrats UF présents (Jaffré 1980 ; Morat et al., 1986).

1.2. PEDOGENESE ET EXPLOITATION MINIERE

1.2.1. SCENARIO MORPHOGENETIQUE

GENESE ET GEOLOGIE DE LA NOUVELLE-CALÉDONIE

Les travaux de *Cluzel et al.*, (1999), récemment appuyés par la thèse de *Marc-Antoine Audet* (2008) suggèrent le scénario global suivant pour décrire la formation géologique de la NC (Annexe 6) : après les premières phases d'ouverture de la mer de Tasman (-65Ma) dans l'océan Pacifique, une zone de subduction s'est formée à l'Est de la future NC et la plaque Pacifique a commencé à sombrer sous l'arc des îles Loyauté (sous la plaque indo-australienne) (-50Ma). À l'approche de la croûte terrestre (un résidu du socle Gondwanien), la subduction a été stoppée vers -37Ma. Les forces de compression et de cisaillement ont provoqué la remontée de la zone. Une partie du manteau se trouva fracturée et obduite au-dessus du prisme d'accrétion et de la Grande Terre. Les lamelles PERIDOTITIQUES et les serpentinites (péridotites hydratées) formant ce manteau constituent les substrats UF affleurant aujourd'hui après érosion des couches sédimentaires superficielles. Ces feuilletés de roches UF représentent un tiers de l'île principale (*Jaffré, 1993*).

LES SUBSTRATS ULTRAMAFIQUES

✚ GENERALITES SUR LES SOLS

Le sol constitue l'interface entre l'atmosphère et la lithosphère, issu de la dégradation d'une roche mère ou de sédiments. Ce milieu se compose de trois phases (solide, liquide et gazeuse) en interaction avec l'atmosphère. Cette structure tri-phasique permet à la biomasse (aussi appelée édaphon) de s'y développer, notamment grâce à la présence d'eau et d'oxygène. Il s'agit donc d'un habitat hétérogène d'une grande complexité.

Les interactions entre les différents organismes vivants présents dans le sol participent au dynamisme et à la régulation de cet écosystème : nutrition de la plante, structuration du sol, fertilité, décomposition et minéralisation des matières organiques, circulation des nutriments, ou encore suppression des maladies. Ces édaphons sont classés selon leur taille :

Tableau 3 : Type d'édaphons et caractéristiques

Type d'édaphon	Taille en mm	Exemple d'individus
Macrofaune	> 10	Grands enchytrées, insectes
Mésafaune	[0,2 ; 10]	Nématodes, acariens, ...
Microorganismes	< 0,2	Protistes, champignons, procaryotes, ...

Actuellement, la FAO considère que seuls 34% des sols peuvent être considérés comme non dégradés...

✚ CARACTERISTIQUES DES SUBSTRATS ULTRAMAFIQUES

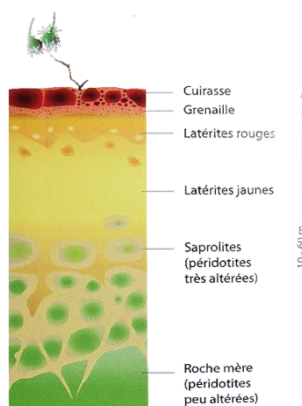


Figure 1 : Coupe schématique de sol UF. *L'Huillier et al.*, 2010.

Les sols serpentiniques représentent des habitats exceptionnels de par leurs propriétés physicochimiques particulières, caractérisant le syndrome serpentinique (*Jenny, 1980*). Ces sols correspondent à moins de 1% des terres émergées (*Coleman & Jove, 1992*) mais forment un groupe très hétérogène en termes de propriétés chimiques (*Kazakou et al.*, 2008). Ils sont généralement caractérisés par un ratio Ca/Mg faible, un taux élevé en métaux lourds (majoritairement Cr, Co et Ni), une pauvreté sévère en nutriments (N, P, K) ainsi qu'une capacité de rétention en eau faible (*Brady et al.*, 2005; *Kazakou et al.*, 2008; *Proctor & Woodell, 1975*). Ces métaux lourds sont normalement présents dans le milieu naturel, mais seulement sous forme de traces. Leur concentration est surtout accrue par les activités humaines telles que

l'industrie et l'exploitation minière par exemple (Joshi & Luthra 2000). Les substrats UF sont des sols ayant les caractéristiques précédentes à l'état naturel (concentration élevée en métaux lourds, faible biodisponibilité en éléments nutritifs et rétention en eau faible) (Figure 1, Annexe 7). Ces caractéristiques varient en fonction de la teneur en argiles et en matière organique, du pH et de l'activité microbienne et MYCORHIZIENNE de ces substrats (Berthelin et al., Leyval 1995; Leyval & Joner 2001; Amir & Pineau 2003). Ces derniers sont en général de couleur sombre (rougeâtre à noirâtre) dont l'origine revient au fer oxydé présent en forte concentration. Cette teinte induit des températures de surface très élevées par accumulation radiative (Brooks, 1987). La distribution des substrats UF et l'ensemble des formations géologiques de NC sont données en Annexe 7.

1.2.2. EXPLOITATION MINIERE ET BOOM ECONOMIQUE

L'histoire de l'exploitation minière en NC remonte à 1863, avec la découverte d'un minerai riche en Ni par Jules Garnier : la Garniélite (Cherrier, 1990). L'exploitation du minerai a débuté dès les années 1870 mais son expansion importante a commencé en 1960 avec la mécanisation des mines [1] (Annexe 8). Les roches nickélifères concentrées se sont progressivement raréfiées. Aujourd'hui, alors que la demande mondiale ne cesse d'augmenter (via la Chine principalement), la teneur en Ni des roches extraites avoisine seulement les 2,5% (contre 20% à l'origine). Ceci explique le développement vertigineux de l'industrie du nickel, source majoritaire de l'économie locale : la NC possède près d'un dixième des réserves mondiales de Ni et sa production est supérieure à 100 000 t/an. De fait, l'archipel est l'un des principaux acteurs de cette ressource minière (Conférence des Nations Unies sur le commerce et le développement [10]). En 2006, la production de Ni représentait près de 710 millions d'euros de retombées économiques pour contribuer au PIB et au secteur de l'emploi respectivement à hauteur de 10 et 11,8% en 2009 (ISEE, 2010a). Avec le tourisme et les flux de capitaux métropolitain, l'exploitation minière est donc l'un des piliers de l'économie du caillou (ISEE, 2010b).

1.3. EROSIONS : CONSEQUENCES ET SOLUTIONS

1.3.1. DES SOLS ET DE LA BIODIVERSITE

DESTRUCTION DES HABITATS

Au cours du recensement de l'année 2007, la Direction de l'Industrie, des Mines et de l'Energie de la Nouvelle-Calédonie (DIMENC) a comptabilisé pas moins de 20 000ha de sols nus dégradés en NC. Mis à part l'exploitation minière, la dégradation des sols peut aussi être provoquée par les incendies d'origine anthropique et l'érosion naturelle de certaines pentes abruptes. La mécanisation de l'exploitation minière a gravement accéléré ce processus, tant par les prospections que par la construction des infrastructures d'exploitation (Zongo, 2010). Des exemples d'érosion et de dégradation des habitats par l'exploitation minière sont présentés en Annexe 9.

RISQUES POUR LE LAGON

Avec ses 24 000km², le lagon calédonien est l'un des plus grands du monde. Près des deux tiers de sa surface ont été inscrits au patrimoine mondial de l'UNESCO en juillet 2008. Ce lagon est ceinturé par 1 600km de récifs coralliens plus ou moins éloignés des côtes. De fait, le lagon constitue un foyer de biodiversité d'une richesse incroyable. Cette biodiversité est menacée par les rejets de l'industrie minière dans les cours d'eau insulaires. Le ravinement et le lessivage causés par les précipitations tropicales aggravent cette menace (Jaffré et Rigault, 1991a).

1.3.2. REVEGETALISATION ET RECHERCHE

LEGISLATION

La loi du 30 juillet 2003 concernant la prévention des risques technologiques et naturels limite et contrôle l'activité de toute industrie polluant les sols. Cette loi est complétée en NC par le code minier, voté en 2008. Celui-ci définit précisément la législation relative à l'exploitation minière sur l'île, ainsi que les sanctions et démarches à suivre en cas de dégradation des espaces naturels et écosystèmes (*Code minier, 2009 ; L'Huillier et al., 2010*). Ce code minier souligne par exemple que les industries minières doivent participer activement à la protection des écosystèmes d'une part et à la restauration écologique des terrains exploités et dégradés d'autre part. Ainsi, ces entreprises financent de nombreux projets de recherche, tant fondamentale qu'appliquée, afin de répondre aux attentes du code et permettre un maintien de la biodiversité en NC.

PROCEDES PASSES ET ACTUELS DE REVEGETALISATION

Le principal élément à retenir est que sur substrat UF dégradé par l'activité minière, la succession végétale naturelle est extrêmement lente (*Jaffré et al., 1994*). La restauration écologique a été définie en 2004 par la *Society for ecological restoration* (SER) comme étant un processus d'aide à l'autoréparation des ECOSYSTEMES dégradés. Les difficultés majeures en revégétalisation de sites miniers dégradés de NC sont le manque de P dans les sols et la teneur élevée en métaux lourds. Cette carence s'explique par la présence d'oxydes et hydroxydes de fer et d'aluminium qui adsorbent le P présent dans ces substrats (*Laroche, 2012*). Actuellement plusieurs techniques sont utilisées en revégétalisation de sites miniers dégradés (en images en *Annexe 10*) :

- ⊕ L'HYDROSEEDING : aspersion d'un mélange contenant des graines, des fertilisants organiques, du paillage et de la colle végétale sur les pentes et zones à revégétaliser.
- ⊕ **La plantation d'espèces endémiques** : elles sont mises en place à la main et sont dites 'cicatricielles' des maquis miniers. L'objectif étant alors d'initier une succession végétale secondaire.
- ⊕ **L'utilisation de Topsoil** : application de la couche superficielle originelle contenant la banque de graine ainsi que les microorganismes et la matière organique.

Dès les années 1980, les chercheurs du Centre Technique Forestier Tropical (CTFT) et de l'IRD (ORSTOM à l'époque) ont étudié de nombreuses espèces afin de déterminer lesquelles pourraient permettre de restaurer les sols dégradés (*Cherrier, 1990*). On peut noter qu'entre 1971 et 2006, 269ha ont été revégétalisés (dont 40ha/an entre 2003 et 2006) (*L'Huillier et al., 2010*). La revégétalisation active est donc nécessaire étant données les multiples contraintes s'opposant à la reprise végétale naturelle sur ces sols décapés.

1.4. L'INTERET MYCORHIZIEN

1.4.1. LES MYCORHIZES

GENERALITES

Les mycorhizes ont été décrites pour la 1^{ère} fois en 1855 par un phytopathologiste allemand comme étant l'association symbiotique entre racines de plantes et champignons. Au cours de cette symbiose, un échange d'éléments chimiques et de nutriments se met en place. La plante fournit du carbone pour le champignon hétérotrophe. Ce dernier lui transmet différents nutriments, la protège contre certaines maladies et certaines pollutions.

Ces champignons proviennent de plusieurs groupes distincts selon le type de structures mises en place au niveau des racines. On peut classer les interactions mycorhiziennes selon les structures intra et extra-radicales. Les groupes principaux actuellement reconnus sont les endo et les ectomycorhizes, respectivement définies par la capacité ou non de leur mycélium à pénétrer les racines.

Les ectomycorhizes sont des champignons symbiotiques qui ne pénètrent pas les racines mais les entourent de mycélium sous la forme de manchons. Les endomycorhizes à ARBUSCULES (AMF) sont spécifiquement caractérisées par leurs HYPHES non septés (non cloisonnés) restreints aux cellules racinaires épidermiques (*Molina et al., 1992*). Ce type de symbiote est le plus répandu chez la plupart des embryophytes (*Schussler & Walker, 2010*). Un schéma détaillé présentant quelques caractéristiques de chaque type de champignon mycorhizien est disponible en *Annexe 11*. Cependant l'ensemble ne sera pas détaillé dans ce mémoire : nous nous focalisons ici sur les endomycorhizes à arbuscules.

CAS DES ENDOMYCORHIZES

80% des espèces de plantes terrestres (*Brundrett, 2009*) et 94% des familles d'angiospermes sont mycorhizées à l'état naturel. L'absence totale d'association symbiotique est rarement observée (*Merryweather & Fitter, 1995*). La distribution phylogénétique continue des AMF, sauf chez certaines mousses, suggère que l'interaction entre les plantes terrestres et les champignons remonterait à l'apparition des premières plantes terrestres. (*Wang et al., 2006*). Cependant, l'époque précise fait encore débat au sein de la communauté scientifique mais laisse tout de même supposer un avantage sélectif important de LA SYMBIOSE pour les deux partenaires (*Smith & Read, 2008*). Ces champignons ont une forte capacité à explorer le sol et se trouvent souvent en plus grande quantité que l'appareil racinaire des plantes auxquelles ils sont associés (*Annexe 12*). Cependant, cette densité reste très variable selon l'identité du champignon (*Jakobsen, 2004, Munkvold et al., 2004, Smith et al., 2004*).

S'il a été montré grâce à des mutants que la colonisation racinaire est en partie contrôlée génétiquement par les AMF (*Parniske, 2008*), aucune étude ne rapporte dans quelle mesure la plante influence cette colonisation (*smith & smith, 2011*).

MYCORHIZE ET CROISSANCE

De manière générale, la comparaison de plantes avec et sans AMF démontre dans un premier temps que la réponse de croissance avec mycorhizes (MGR) peut être très positive, neutre ou négative. Dans un second temps, cette MGR semble être influencée par de nombreux paramètres tels que : les génotypes et stades de développement des partenaires, les conditions environnementales (disponibilité en nutriments, intensité lumineuse, ...) et les interactions communautaires (*Cavagnaro et al., 2004 ; Facelli et al., 2010 ; Johnson et al., 1997 ; Jones & Smith, 2004 ; Smith, 1980*). On considère que la MGR est définie en coût de C et en bénéfique de P : quand le coût de la symbiose en C est compensé soit par la photosynthèse accrue (grâce à une meilleure absorption de P) soit par une force de puits accrue.

La MGR positive provient majoritairement de l'absorption accrue de P par la voie mycorhizienne. Cependant, elle peut également provenir de l'absorption accrue d'autres éléments nutritifs limitatifs de la croissance (*Smith & Read, 2008*). Cette MGR positive se retrouve d'ailleurs proportionnellement plus avec des souches d'AMF développant rapidement des interfaces étendues avec les plantes (*Johnson et al., 1997*). Pour aller plus loin, une MGR négative couplée à une baisse de contribution du transfert direct de P par la plante ne sont pas nécessairement causées par une biomasse fongique élevée. En d'autres termes, un coût élevé en C n'est pas nécessairement la cause d'une MGR négative.

En conditions naturelles, il y a en général mutualisme en termes d'échange de C et d'éléments nutritifs *via* plusieurs mycorhizes, indépendamment de la réponse en croissance de la plante. La situation inverse a pourtant été observée lors d'expériences en pots (*Smith & Smith, 2011*). Par ailleurs, en 2004, *Schroeder & Janos* ont montré qu'un changement de type de

sol peut aussi affecter la MGR en augmentant ou diminuant la croissance des plantes non mycorhizées sans qu'il n'y ait de modification visible sur les plantes mycorhizées.

Enfin, en plus d'affecter la croissance des plantes, il a été prouvé que les AMF participent activement à l'induction de changements physico-chimiques et microbiologiques dans la myco-rhizosphère (*Hinsinger et al., 2009; Lambers et al., 2009*).

1.4.2.ROLE DANS LA BIODISPONIBILITE EN PHOSPHORE

PRESENTATION GENERALE DU PHOSPHORE

Selon la définition agricole, le phosphore (P) est un élément non-métallique pentavalent. De numéro atomique 15, c'est un constituant essentiel pour la vie telle qu'on la connaît. En effet, ce macronutriment est le composant clé de certains acides nucléiques et enzymes. Dans le règne végétal, cet élément intervient dans certains processus physiologiques tels que la respiration ou la photosynthèse. De plus, le P favorise la croissance, la précocité et la résistance au froid chez certaines plantes.

Dans le sol, la mobilité du P est naturellement faible. Le P se présente sous deux formes principales :

- ⊕ **Organique** : il entre dans la composition de molécules telles que l'acide phytique, les acides nucléiques et les phospholipides.
- ⊕ **Inorganique** (orthophosphate) : Il est surtout impliqué dans les complexes inertes avec différents cations. Du fait de sa charge négative il est fortement adsorbé par les cations de Fe et d'Al à faible pH et de Ca à pH plus élevé. Le P inorganique (P_i , préférentiellement sous forme $H_2PO_4^-$) est la seule forme directement accessible par les plantes. De plus, l'unique conformation de P disponible pour les plantes est le P présent en solution sous forme ionique et cette forme ne représentent qu'une très faible partie de la quantité de P totale présents dans le sol (moins de 10 μM) (*Schachtman et al., 1998*). Enfin, sur la quantité d'ions P présent en solution à un instant t , seule une faible partie sera prélevée par la plante.

En plus de ces contraintes, le taux d'absorption du phosphate par les racines en croissance demeure plus élevé que celui de diffusion dans le sol, créant ainsi une zone d'épuisement au niveau du système racinaire limitant d'autant plus la prise de phosphore par la plante. (*Smith & Read, 1997*).

CAS PARTICULIER DES SUBSTRATS ULTRAMAFIQUES

La carence en P est un des problèmes agronomiques majeur dans les sols riches en oxydes de fer et d'aluminium, qui occupent des surfaces très importantes dans la zone inter-tropicale (*Uehara & Gillman, 1981*). Les oxydes et hydroxydes sont en effet les constituants qui ont le plus d'influence sur la fixation des ions phosphates dans les sols (*Borggaard, 1983*). Comme présenté précédemment, ce type de sol se trouve être très présent en NC, avec une forte représentation de sols ferralitiques ferritiques (*Latham et al., 1978*). La carence en phosphore est par conséquent un facteur limitant fort de la reprise végétale sur les sols incultes de la NC.

REPONSE DE LA PLANTE ET DES MYCORHIZES

Selon *Smith & Read (1997)*, le principal effet bénéfique de la mycorhization se fait en termes de prélèvement et transport d'éléments nutritifs peu mobiles tels que le P (*Koide, 1991*). D'ailleurs, il semble que sur sol serpentique, la mycorhization ne provoque pas d'augmentation importante de concentrations racinaires en Ni et Mg. Seule une nette augmentation du transfert de P vers la plante a été observée, provoquant une meilleure croissance végétale (*Doubkova et al., 2012 ; Doherty et al., 2008*).

Face à la carence en P, les plantes de substrat UF disposent de trois stratégies adaptatives principales :

1. **Exploration racinaire** : le développement du système racinaire de surface est stimulé. Ceci permet d'augmenter l'interface sol-plante et de maximiser l'accès au Pi disponible. En effet, c'est dans cette horizon superficiel que l'on retrouve les plus fortes concentrations en P. La carence induit une croissance racinaire latérale maximisant la recherche et le prélèvement de P dans le topsoil. Les racines formées sont généralement spécialisées (racine en cluster, ou dauciformes des Cypéracées).
2. **Solubilisation du Pi non disponible** : la plante dissout le Pi piégé dans des complexes par la sécrétion d'acides organiques racinaires. Ces acides entrent en compétition avec le Pi des complexes de cations partenaires (Fe, Al, ...). Sécrétion de phosphatases minéralisant le Pi depuis des composés organiques.
3. **L'association symbiotique** : cette stratégie permet une acquisition de nouvelles sources de phosphate soluble. Le bénéfice de la mycorhization pour les plantes vient entre autres d'une augmentation du volume de sol exploré par le mycélium extraradiculaire.

Cependant, la mycorhization est aussi fonction de la teneur en éléments nutritifs dans le sol (Annexe 13). En effet, *Marschner & Cakmak, (1986)* ont montré qu'une concentration élevée en certains éléments induit souvent une diminution du taux de mycorhization. Ce phénomène a été démontré pour le P par *Amijee et al.* dans leur étude de 1989 : à une concentration en P de 50 mg/kg, la colonisation par les mycorhizes est maximale, alors qu'elle est réduite si l'on double cette concentration. *A contrario*, il a aussi été montré qu'à de trop faibles concentrations en P, le taux de mycorhization peut être diminué (*Lagrange, 2009*). Dans le contexte de notre étude, ces différents résultats illustrent la nécessité de déterminer la concentration optimale de P à apporter afin d'optimiser la mycorhization et la pérennité d'*Alphitonia neocaledonica* sur substrat UF dégradé.

Lorsqu'il y a mycorhization, deux voies de transport du P existent : la voie directe (*sol* → *plante*) et la voie indirecte (*sol* → *mycorhize* → *plante*). Un schéma des voies de transferts est disponible en Annexe 13. De toute évidence, les contributions du transfert direct et du transfert *via* mycorhize ne sont pas additives mais complémentaires (*Smith & Smith, 2011*).

- ⊕ À l'échelle macromoléculaire, **la voie directe** est réalisée par les transporteurs Pi de la famille PHT1. À l'échelle génétique, l'expression de cette voie de transfert est précisément localisée à l'extrémité des racines et dans les poils absorbants (*Daram et al., 1998 ; Gordon-Weeks et al., 2003*). Il a été montré que son fonctionnement semble être contrôlée par régulation de la transcription (*Bucher, 2007 ; Kunze et al., 2002*) mais les protocoles d'étude sont encore controversés aujourd'hui (*Smith & Smith, 2011*).
- ⊕ L'étude de **la voie indirecte** révèle que les flux de P dans les hyphes sont plus rapides que dans les racines. De plus, la structure de ces hyphes permet de diminuer la concentration seuil permettant l'absorption de P. De cette façon, P est solubilisé par des acides organiques et des phosphatases libérés dans le milieu par le champignon (*Feng et al., 2003 ; Bernac et al., 2000*). Des transporteurs spécifiques aux hyphes permettent ensuite les échanges avec la mycorhizosphère. Ils ont été découverts chez *Glomus versiforme* par *Harrison & van Buuren (1995)*. Ceci étant, aucune étude n'a encore vérifié le degré de spécificité de ces transporteurs chez les AMF.

1.4.3. ROLE DANS LA PROTECTION FACE AUX METAUX LOURDS ET MALADIES

GENERALITES

La première description d'un effet protecteur des mycorhizes face à la toxicité de certains métaux lourds a été montrée par *Gildon & Tinker (1981)*. Depuis, *Amir et al.* ont rapporté en 2010(a) que les effets des AMF sur l'absorption minérale changent selon l'élément et sa concentration, montrant ainsi une grande sélectivité des hyphes mycorhiziens. C'est d'ailleurs particulièrement le cas pour les métaux lourds, toxiques à forte concentration, mais

indispensables en très faible quantité (Leyval & Joner, 2001). Toujours dans leur synthèse de 2010(b), Amir et al. ont montré que sur 39 publications traitant de la lutte contre la toxicité des métaux lourds, 84% ont abouti à une meilleure adaptation des plantes sur sol pollué si elles sont mycorhizées.

Plus particulièrement, dans le cas de plantes soumises à de fortes contraintes EDAPHIQUES, les souches d'AMF provenant de sols riches en métaux lourds (UF ou autres) se distinguent en induisant une meilleure croissance végétale. A titre d'exemple, en présence d'AMF, on observe chez *Costularia comosa* un taux de croissance presque trois fois supérieur chez les individus mycorhizés (Lagrange, 2009).

DANS LE CAS DES SUBSTRATS ULTRAMAFIQUES

IMPORTANCE DE LA MYCORHIZATION

On peut retrouver dès 1994 des exemples de découvertes de barrières contre la toxicité au Ni, que ce soit sur sol serpentinique ou non, même sans mycorhize (Westerbergh, 1994). Cependant, plusieurs études suggèrent que les symbiotes mycorhiziens jouent un rôle clé dans l'adaptation de plantes sur sol naturellement riches en métaux lourds tels que les sols UF ou miniers (Ma et al., 2006; Leung et al., 2007; Jourand et al., 2010a; Lagrange et al., 2011; Amir et al., 2010). On retrouve ces mêmes champignons sur sols extrêmement pollués (Vallino et al., 2006; Gamalero et al., 2009). Cependant, bien qu'il ait été montré que ces organismes sont naturellement abondants sur sols UF ou similaires (Amir et al., 1997; Turnau & Mesjasz-Przybylowicz, 2003; Perrier et al., 2006; Gonçalves et al., 2007; Jourand et al., 2010b), des études révèlent à la fois une diminution nette du développement de la symbiose (moins de spores et de colonisation) (Amir et al., 2007; Gustafson & Casper, 2004; Jarstfer et al., 1998) et une diversité mycorhizienne amoindrie par rapport à celle observable sur d'autres types de sols (Pawlowska et al., 1996; Regvar et al., 2001). Par exemple, les espèces du genre *Glomus* semblent être prédominantes sur substrat UF (Perrier et al., 2006; Gustafson & Casper, 2006), avec comme représentants principaux *G. etunicatum* et *G. fasciculatum* (Lagrange et al., 2011).

Ces études montrent donc que la tolérance des champignons mycorhiziens aux métaux lourds varie d'une souche à l'autre et dépend de la nature du substrat, des polluants et de leurs concentrations. À titre d'exemple, Amir et al. ont montré en 2008 que certaines espèces de *Glomus* résistent à des concentrations jusqu'à 3 fois supérieures que d'autres *Glomus*. L'optimisation de la mycorhization sur sol pollué est donc assez délicate.

MECANISMES DE TOLERANCE VEGETALE ET FONGIQUE

Plusieurs stratégies adaptatives face aux métaux lourds ont été observées :

- ⊕ Certaines plantes mycorhizées continuent d'accumuler des métaux lourds dans leurs tiges et leurs racines (Marques et al., 2006; Deram et al., 2008; Tseng et al., 2009; Redon et al., 2009; Andrade et al., 2009). Elles augmentent même parfois leur accumulation par rapport à des plantes non mycorhizées.
- ⊕ D'autres révèlent une accumulation seulement dans la partie racinaire (Arriagada et al., 2010; Joner & Leyval, 2001; Ruffykiri et al., 2004; Carvalho et al., 2006; Honglin et al., 2006; Redon et al., 2008; Li et al., 2009; Bissonnette et al., 2010).
- ⊕ Un stockage dans la plante entière a aussi été observé (Vivas et al., 2005; Vogel-Mikus et al., 2006; Sadeque et al., 2006; Dong et al., 2008; Amir et al., 2010(a); Andrade et al., 2010).

En termes de stratégies mycorhiziennes (Meharg, 2003), différentes voies métaboliques semblent permettre à la plante mycorhizée d'être plus tolérante à la toxicité du sol :

Tableau 4 : Modes d'action mycorhizien lors de la tolérance aux métaux lourds. Synthèse d'Amir et al., 2010b

Mécanisme	Mode d'action	Molécules en jeu	Source
Inactivation extracellulaire	Exsudation d'agents complexant par les hyphes	Acides citriques, maliques, oxaliques, phénoliques glomaline	<i>Ahonen-Jonnarh et al., 2000 ; Gimmler et al., 2001 ; Schützendübel & Polle, 2002 ; Meharg, 2003 ; Hinsinger et al., 2009</i>
	Association avec bactéries	Agrégats chélateurs (Zn, Pb, Mn)	<i>Cabala et al., 2009</i>
	Exsudation enzymes redox	Superoxyde dismutase	<i>Vallino et al., 2009</i>
Fixation dans parois fongiques	Structure de la paroi avec sites de fixation des métaux	Glucanes, chitines et galactosamines polymères, petits peptides et protéines, glomaline	<i>Joner et al., 2000 ; Meharg, 2003 ; Bellion et al., 2006 ; Marques et al., 2007 ; Orłowska et al., 2008 ; Gonzalez-Guerrero et al., 2008 ; Purin & Rillig, 2008 ; Zhang et al., 2009</i>
Inactivation intracellulaire	Augmentation des efflux de métaux lourds	Protéines transporteurs ou perméases	<i>Meharg, 2003 ; Ouziad et al., 2005 ; Hildebrandt et al., 2007</i>
	Compartmentation intracellulaire : vakuoles, vésicules spores	Chélateurs puis transporteurs : mêmes molécules que précédemment, metallothionéines fongiques et végétales	<i>Stommel et al., 2001 ; Lanfranco et al., 2002 ; Courbot et al., 2004 ; Bellion et al., 2006 ; Gonzalez-Guerrero et al., 2007 ; Gonzalez-Guerrero et al., 2008 ; Orłowska et al., 2008 ; Ferrol et al., 2009</i>
Réponse au stress oxydatif	Synthèse de molécules de résistance au stress oxydatif (voies enzymatiques et non enzymatiques)	Glutathionne, vitamine C, E et B6, catalase, superoxyde dismutase, thioréductase	<i>Jacob et al., 2001 ; Ferrol et al., 2009</i>

Plusieurs études d'effets combinés (association de mycorhizes et de bactéries PGPR, de mycorhizes et de lombrics, ...) ont par ailleurs révélé une amélioration accrue de la MGR, de l'assimilation d'éléments nutritifs ainsi que de la tolérance aux stress métalliques (*Vivas et al., 2005 ; Ma et al., 2006*). Ces pistes d'études sont au cœur de la recherche dans le domaine des mycorhizes à l'heure actuelle. L'ensemble de ces éléments prouve finalement l'intérêt que peuvent avoir les AMF en revégétalisation et phytoremédiation de sites pollués par l'activité humaine (*Schützendübel & Polle, 2002 ; Hildebrandt et al., 2007 ; Khade & Adholeya, 2007*). De plus, différentes études rapportent un intérêt des AMF vis-à-vis de la tolérance aux maladies et à la sécheresse, dont les mécanismes semblent distincts de l'approvisionnement nutritif indirect (*Johnson et al., 1997 ; Jones & Smith, 2004 ; Newsham et al., 1995, Strullu, 1991*).

LA GLOMALINE : MOLECULE SPECIFIQUE DES MYCORHIZES

Cette glycoprotéine a été découverte en 1996 par *Wright et al.*. La biochimie de la GLOMALINE n'est pas encore connue précisément mais l'on sait d'ores et déjà plusieurs choses. Tout d'abord, cette protéine n'est produite que par les AMF, lors du renouvellement hyphale et à la mort du champignon. Elle se compose en partie de restes de la paroi et de spores (*Wright & Upadhyaya, 1999*). Ensuite, la glomaline est assimilable à une colle du sol et participe au maintien de la structure de celui-ci (*Wright & Upadhyaya, 1998, 1999*). On la définit à l'heure actuelle comme une N-linked glycoprotéine stable, insoluble à l'eau et résistante aux températures de dégradation habituelles (*Wright et al., 1996*). Son rôle dans la stabilité des agrégats favorise les bons échanges d'eau, de nutriments et de gaz. Enfin, il a été montré que cette protéine constitue une source importante de carbone du sol (*Wright & Upadhyaya, 1996 ; Rillig et al., 2001 ; Lovelock et al., 2004 ; Treseder & Turner, 2007*). Son rôle dans la tolérance aux métaux lourds a été étudié par *Gonzalez-Guerrero et al., 2008* (**Tableau 4**). Il reste encore beaucoup à comprendre sur sa structure et son fonctionnement mais cette glycoprotéine semble jouer un rôle clé dans la tolérance des plantes aux métaux lourds.

MATERIELS ET METHODES 2

2.1. PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2.1.1. MATERIEL VEGETAL

ALPHITONIA NEOCALEDONICA

L'objet d'étude de ce mémoire, L'espèce *Alphitonia neocaledonica* (Schltr.) a été décrite pour la première fois par Guillaumin. Cette plante est endémique à la NC. Sa taxonomie directe est la suivante [6] :

Tracheophytes > Angiospermes > Dicotyledones > Rhamnaceae > *Alphitonia* > ***Alphitonia neocaledonica***

Il s'agit d'une espèce pionnière sur sol décapé. On la rencontre majoritairement sur sol ferrallitique mais aussi sur sol brun hypermagnésien (Hamir & Ducouso, 2010). Elle se développe dans différentes formations végétales telles que les forêts denses humides, ou forêts sclérophylles, mais surtout sur les MAQUIS MINIERs. Il s'agit généralement d'un arbuste mais l'on peut le retrouver à l'état d'arbre en forêt dense humide (Figure 2). Sa composition minérale a été étudiée par Jaffré (1980) au cours de sa thèse (Tableau 5).



Figure 2 : Arbuste d'*Alphitonia neocaledonica*, endemia.nc

Il existe encore très peu d'informations sur la capacité et les conditions nécessaires à la mycorhization d'*Alphitonia neocaledonica*. Il semble tout de même que cette dernière soit moyenne (L'Huillier et al., 2010). C'est pourquoi nous cherchons dans cette étude à optimiser celle-ci dans l'optique de revégétaliser les espaces miniers dégradés. Des photos et précisions morphologiques complémentaires sont présentées en Annexe 14.

Tableau 5 : Composition minérale foliaire d'*Alphitonia neocaledonica* et teneurs les plus courantes chez les végétaux supérieurs. FF = Ferrallitique Ferritique. Première ligne : Moyenne, Deuxième ligne : écart-type. D'après Jaffré 1980.

Genre espèce	Sol	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Mn (ppm)	Ni (ppm)
<i>Alphitonia neocaledonica</i> N=67	FF	1,03	0,03	0,63	1,02	0,27	367	54
		0,21	0,01	0,18	0,6	0,13	221	50
Végétaux supérieurs	NA	1-3	0,1-0,5	2-4	NA	NA	NA	NA

2.1.2. MATERIEL FONGIQUE

L'ensemble des souches utilisées appartient au genre *Glomus*, le plus représenté sur substrat UF (Hamid Amir, comm. pers., non publié). L'origine de ces souches est présentée dans le Tableau 6, mais les générations utilisées proviennent d'une multiplication de ces souches pures réalisée en serre sur Sorgho (CULTURE TRAPPE). Celle-ci est réalisée dans des pots d'1L, contenant chacun un plant. Le substrat est un mélange terreau-terre locale (20-80%). Les pots sont inoculés avec un extrait de souche pure puis placés en serre. Les spores sont directement extraites de par prélèvement de terre dans les pots lorsque cela est nécessaire.

Tableau 6 : Souches pures utilisées et leur provenance.

Nom de la Souche	Sol ou Plante d'origine
PSO1	<i>Psychotria oleoïdes</i> (Demazures)
PSD1	<i>Psychotria douarrei</i> (Mont Koghi)
RARC1	Racines d' <i>Araucaria colomnaris</i> (Nouvelle)

2.1.3. MISE EN PLACE DE L'EXPERIMENTATION

DU SEMIS A LA MISE EN POT

⊕ Levée de dormance

Les graines d'*Alphitonia neocaledonica* sont soumises au protocole de levée de dormance mis au point par l'*Huillier et al.* en 2010 : elles sont lavées puis passées deux fois 5 minutes dans un bain d'eau bouillante.

⊕ Mise en culture

Elles sont mises à germer en terrines de vermiculite (30*20*5 cm) posées sur un plateau, puis placées à la lumière, à T° ambiante. Un arrosage régulier au KNOP est apporté par le plateau pour maintenir une bonne humidité et un apport minéral adéquat.

⊕ Préparation des pots

Les pots sont d'abord désinfectés à la javel puis rincées et séchés. 1cm de graviers stériles sont placés au fond du pot. L'ensemble est stocké dans un milieu stérile.

⊕ Préparation du substrat

Le mélange est préparé à partir de topsoil UF venant de Plum, aux abords d'un champ semencier de la SIRAS Pacifique (*Lagrange, 2009*). Il s'agit d'un substrat issu de l'altération de roches péridotitiques (ferralitiques ferritiques, Cf. Partie 1). Il a donc une composition en nutriments faible : N à 1,5 g/kg, P à 130 mg/kg, K à 140 mg/kg, Mg à 15 mg/kg et Ca à 1,9 mg/kg. Son rapport C/N est élevé = 19 et Ca/Mg est déséquilibré (0,18). La teneur en métaux est élevée : 34 à 47% de Fe, 3,8 à 5,8% d'Al, 3,3 à 5,2% de Cr, 0,4 à 1,7% de Mn et 0,4 à 0,7% en Ni. Enfin, la granulométrie correspond à un sable moyen à grossier (~ 40%) avec une proportion faible de sable fin (~ 25%). Il s'agit de l'horizon superficiel (~ 5cm). Ce substrat est mixé avec 20% de terreau en volume (Agrofino, terreau universel). Cet ajout aide à la reprise des plants. En effet, une forte mortalité a été observée lors du repiquage des plants depuis la vermiculite vers le topsoil sur les expériences précédentes (*H. Amir, comm. pers.*). L'ensemble est autoclavé 2 fois 1h à 24h d'intervalle (120°C, 1bar) afin de le stériliser.

⊕ Mise en pot

Arrivées au stade 4 feuilles vraies, les plantules sont repotées par 3 en pots de 2L remplis du mélange présenté au point D (**Figure 3**). La moitié des pots reçoit environ 100 spores de *Glomus*, directement sur les racines lors du repiquage. Les plantes inoculées sont notées i+, les plantes témoins i-. L'inoculum est une solution de 0,56ml composée de Psb1 (60%), Rarc1 (15%) et Pso1 (25%).

Une fois l'inoculation effectué, le trou est rebouché et la surface du pot est recouverte de billes d'argiles stériles. Après la reprise des plantules, l'une des trois est retirée au hasard pour libérer de l'espace dans le pot et permettre aux deux autres plantes de croître.

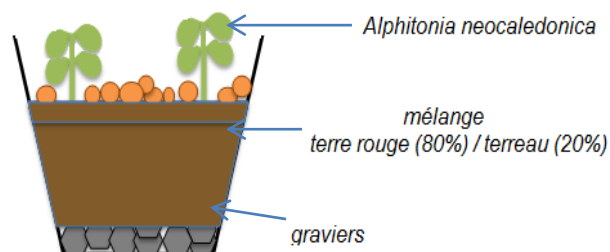


Figure 3 : Vue transversale de la mise en pot d'*Alphitonia neocaledonica* au stade 4 feuilles.

REPARTITION DES MODALITES

Afin d'approcher la concentration de phosphore optimisant la mycorhization, une gamme de 5 concentrations est réalisée. Les modalités de traitement sont répertoriées dans le **Tableau 7**. Chaque modalité comporte 10 répétitions, soit 20 plantes. On numérote ces essais de 1 à 10. A partir de la 9^{ème} semaine, 5 des répétitions reçoivent en plus 1200ppm de NiSO₄. Cet apport est effectué une fois par semaine et répété pendant 10 semaines.

Fertilisation N-P-K : Cette opération est réalisée 2 mois après le repiquage, sous forme de deux apports réalisés à 15 jours d'intervalle. La composition du mélange utilisé est décrite comme suit :

- ⊕ **Azote** : se fait sous forme d'*Azolone 38N Medium*, un engrais à libération progressive composé d'urée-formaldéhyde. Il est composé de 38% d'N.
- ⊕ **Phosphore** : distribué sous forme de Superphosphate Triple (0% N, 48% P₂O₅, 0% K₂O).
- ⊕ **Potassium** : apporté sous forme de sulfate de potassium (50% K₂O).

Les doses réelles en N, P et K sont déduites et présentées dans le **Tableau 7**.

Tableau 7 : Concentration en substance commerciale et quantités réelles réparties dans chaque modalité.

Nom de la modalité	Azolone (Kg/Ha)	Potasse (Kg/Ha)	Superphosphate (Kg/Ha)
	N mg/pot	K mg/pot	P mg/pot
N0.K0.P0	0	0	0
N.K.P1	400	200	200
	345,01	188,39	95,15
N.K.P2	400	200	500
	345,01	188,39	237,88
N.K.P3	400	200	1000
	345,01	188,39	475,75
N.K.P4	400	200	2000
	345,01	188,39	951,5

DESIGN EXPERIMENTAL

Les pots sont placés en serre ventilée, sans éclairage artificiel. L'arrosage automatique se fait à raison de deux brumisations par jours (5h et 17h), pendant 2 minutes. Un rehausseur est placé dans chaque soucoupe, afin d'éviter que les pots ne baignent dans l'eau. Les soucoupes remplies d'eau servent de barrière anti-Fourmies, qui risqueraient de provoquer des contaminations entre pots inoculés (i+) et témoins (i-). Toujours pour réduire ce risque de contamination entre les différents essais, les modalités i+ et i- sont placées sur des tables différentes (Cf. [Annexe 15](#)). Les pots ont été regroupés par modalité afin de faciliter le suivi et de pouvoir observer directement à l'œil nu les différences éventuelles de croissance entre chaque modalité. Le design expérimental est disponible en [Annexe 15](#).

2.1.4. SUIVI DE CROISSANCE D'*ALPHITONIA NEOCALEDONICA*

En début d'expérimentation un calendrier des mesures a été établi afin de disposer d'une série de données complète sur au moins une année. À chaque date, les variables mesurées sont : la *taille des plantes*, leur *nombre de feuilles* et la *largeur maximale de la plus grande feuille*. Les mesures sont réalisées à l'aide d'un mètre souple depuis la surface de la terre jusqu'à la base du bourgeon apical. Dans le cas où une feuille était en formation à la date de la mesure, elle n'était prise en compte dans le dénombrement seulement si elle était entièrement ouverte. Les valeurs sont ensuite reportées dans un tableau.

2.1.5. SUIVI DE MYCORHIZATION

PRELEVEMENT DES RACINES

Trois échantillons de racines sont prélevés pour chaque traitement. Seules les radicules et les racines fines sont prélevées car elles sont plus susceptibles d'être mycorhizées et plus facilement observables au microscope. Chaque échantillon de racine est noté et numéroté. Les racines les plus blanches et épaisses ne sont pas prélevées car couvertes de poils absorbants et donc non mycorhizées.

LAVAGE

Plus les échantillons sont propres, plus l'évaluation est rapide et précise. Pour cela les racines sont débarrassées des particules de terre au moyen d'un rinçage délicat abondant à l'eau courante dans une passoire fine.

ÉCLAIRCISSEMENT ET COLORATION DES MYCORHIZES

Les racines sont systématiquement éclaircies et colorées avant toute observation microscopique. La technique d'éclaircissement et de coloration utilisée pour traiter des AMF est rapide et fonctionne pour un grand nombre de plantes-hôtes. Les racines sont placées dans des piluliers contenant une solution de KOH à 10% et mises à l'étuve (90°C, 1h). Les racines sont ensuite abondamment rincées sous l'eau courante, égouttées et remises dans les piluliers. Elles sont ensuite passées à l'eau oxygénée pendant 15 minutes, toujours à l'étuve. À ce stade, elles sont rincées abondamment une seconde fois puis recouvertes avec une solution de bleu de Trypan. Le bleu de Trypan est un colorant vital qui pénètre les cellules mais qui ne peut être expulsé que par les cellules vivantes (processus ATP dépendant). Il permet donc de colorer les tissus morts et/ou ne disposant pas des pompes protéiques adaptées. Les piluliers sont placés à l'étuve à (90°C, 15min). Les racines sont finalement rincées abondamment et conservées à 4°C dans de l'eau distillée avant le montage sous microscope.

PREPARATION DU BLEU DE TRYPAN ET DU LACTOGLYCEROL

Bleu trypan : 0,1% dans du lactoglycérol.

Lactoglycérol : acide lactique/glycérol (50/50 en volume)

PRELEVEMENT RACINAIRE ET MONTAGE

Pour quantifier les AMF, le prélèvement racinaire se fait selon la méthode développée par *Kormanik & McGraw (1982)*. 30 segments racinaires d'une longueur de 1 à 3 cm par plante sont prélevés. Ces segments sont montés parallèlement entre lame et lamelle, dans de la glycérine, par groupes de 10 à 15 (*Kormanik et McGraw, 1982*). Les racines restantes sont conservées à 4°C dans l'eau distillée au cas où d'autres études soient nécessaires.

OBSERVATION

Les lames sont observées au microscope (grossissements 100 et 400), chaque fragment étant soigneusement vérifié sur toute sa longueur. Plusieurs systèmes de notation sont utilisés pour évaluer l'importance de la colonisation mycorhizienne. Le système proposé par *Trouvelot et al. (1986)* a été retenu pour cette étude. Il repose sur l'appréciation globale de 30 fragments racinaires. Une note de classe comprise entre 0 et 5 correspondant à l'estimation de la proportion de cortex colonisée par le symbiote mycorhizien est attribuée à chacun des fragments racinaires observés (**Figure 4**). La présence des arbuscules et des vésicules est notée simultanément.

Le taux de mycorhization est appréhendée par le paramètre suivant (Trouvelot et al., 1986) :

INTENSITE GLOBALE DE LA MYCORHIZATION :

$$M(\%) = (95N5 + 70N4 + 30N3 + 5N2 + N1) / \text{NB TOTAL DE FRAGMENTS.}$$

Dans cette formule, $N5$ représente le nombre de fragments mycorhizés notés 5, $N4$ le nombre de fragments notés 4.... C'est ce paramètre qui traduit le mieux le degré de mycorhization.

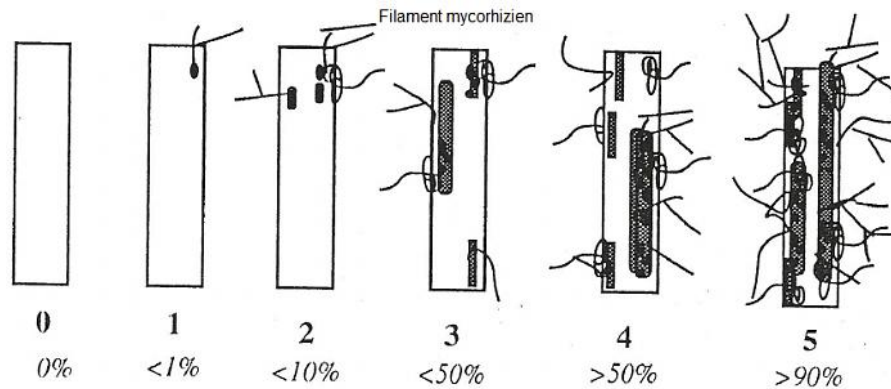


Figure 4 : Notation du degré de mycorhization des fragments racinaires.
L'échelle s'étend de 0 (pas de mycorhization) jusqu'à 5 (au moins 90% du fragment est mycorhizé). Trouvelot et al., 1986

2.1.6. SPORULATION

Afin d'étudier la sporulation mycorhizienne, des prélèvements de terre sont tamisés puis centrifugés (20g/modalité) :

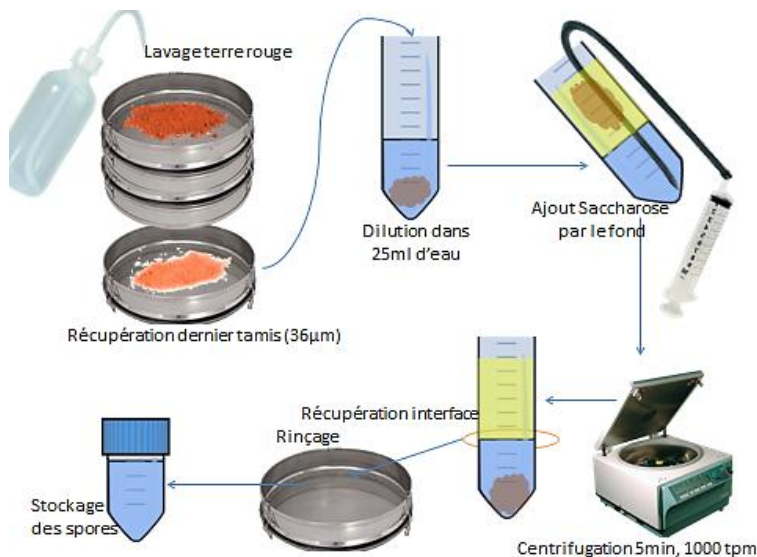


Figure 5 : Protocole d'extraction des spores d'AMF

Une série de trois tamis empilés, dont le dernier doit être de 36µm, sont utilisés pour faire un tamisage humide (**Figure 5**). La fraction retenue par le dernier tamis est récupérée et répartie équitablement dans 4 tubes Falcon de 50ml dont le niveau est ajusté à l'eau distillée (jusqu'à 25ml). À l'aide d'une seringue on injecte 20ml de saccharose à 50% v/w au fond des tubes. Les échantillons sont alors passés à la centrifugeuse (5minutes, 1000tpm). À la fin de la centrifugation les spores sont concentrées à l'interphase eau-saccharose. On les prélève à l'aide d'une pipette avant de les

tamiser (36µm) en les rinçant à l'eau distillée pour éliminer les résidus sucrés. Les spores ainsi isolées sont mélangées à de l'eau distillée et stockées dans des piluliers à 4°C. L'observation et le comptage des spores sont réalisés sur boîte de pétri quadrillée, en les dénombrant dans 3 gouttes de 100µl d'eau sous loupe binoculaire (X45). Les spores noires, flottantes et abîmées ne sont pas comptabilisées car peu viables voire mortes. L'ordre de lecture des modalités est aléatoire et noté après comptage pour limiter la subjectivité de l'opérateur.

2.1.7. ANALYSE DES TENEURS EN MINÉRAUX ET MÉTAUX LOURDS

Après un an d'expérimentation, les plantes ont atteint leur croissance maximale en pot (vitesse de croissance nulle sur les trois derniers mois). Une fois à cette phase, les plantes sont extraites, lavées à l'eau claire. On sépare alors le système racinaire de la partie aérienne en sectionnant les plantes au niveau du collet. Cette étape permet de peser chaque section afin de déterminer leur biomasse fraîche aérienne et racinaire (resp. BFa & BFr). Dans un second temps, un passage à l'étuve (60°C, 3j) permet de mesurer leurs biomasses sèches (BSa & BSr).

Pour l'étape suivante, les plantes sont regroupées par 3 ou 4 dans des sachets (sachet 1 : plantes n° 1, 2 et 3, etc...) afin d'avoir des échantillons avec assez de matière pour les analyses. La préparation des échantillons pour l'analyse des éléments majeurs nécessite le broyage de chaque moitié de plante afin de les réduire en poudre. Les broyats obtenus sont stockés dans des flacons de taille adaptée en fonction de la taille des plantes et sont référencés [*Modalité - n° de répétition - partie de la plante*]. La minéralisation est réalisée à partir de 0,5g de chacune des poudres, mélangées dans 6ml d'eau Régale (5ml acide nitrique à 69% & 1ml acide chlorhydrique à 37%).

Les solutions sont ensuite passées au minéralisateur *Multiwave* avec le cycle suivant (**Tableau 8**) :

Tableau 8 : Cycle de minéralisation

Puissance (W)	Rampe (min)
200	15
400	15
600	15
0	15

Une fois la minéralisation terminée, l'ensemble du liquide est prélevé et transvasé en fiole jaugée ajustée à 25ml avec de l'eau ultra pure.

L'analyse de la composition minérale est réalisée à l'AAS à flamme pour les éléments à teneur assez élevée (Ca, Mg, K) et au four pour les autres pour une meilleure détection (Fe, Mn, Ni, P, Cr, ...). Pour cela des gammes étalons sont préparées à partir de solutions pures en chacun des éléments (flacons PerkiElmer Pure 1000mg/L). Une dilution au 100^{ème} et au 1000^{ème} sont préparées pour chaque échantillon pour obtenir des concentrations cohérentes avec celles des courbes étalons. Ces dernières sont présentées en [Annexe 17](#).

2.2. TRAITEMENT ET ANALYSE DES DONNÉES

L'ensemble des données expérimentales est analysé sous Microsoft Excel 2010 et R (v. 2.15.0), *via* les packages *Rcmdr*, *agricolae* et *RVAidememoire*. Les tests statistiques utilisés sont des ANOVA et ANOVA multivariées dont les hypothèses préalables (homoscédasticité, normalité et indépendance des résidus) ont été également vérifiées sous R ([Annexe 16](#)). En complément des ANOVA, un test post-hoc LSD de Fisher est réalisé pour distinguer plus en détail les variables détectées comme significatives par l'ANOVA. Le principe de ce test est identique à l'ANOVA mais la comparaison est effectuée sur les groupes deux à deux.

RESULTATS 3

N.B. : Aucune différence significative n'a été détectée vis-à-vis du facteur Ni (apport supplémentaire sur certains plants sous forme liquide). Ce facteur ne sera donc pas détaillé dans les résultats.

3.1. INFLUENCE DU PHOSPHORE SUR LA MYCORHIZATION

3.1.1. DEGRE DE MYCORHIZATION

COLONISATION RACINAIRE PAR LES AMF

Après 5 à 6 mois de croissance, la mycorhization commence à se mettre en place sur *A. neocaledonica*. Pour une meilleure implantation du symbiote avant lecture, les premières mesures ont été faites 1 an après semis. Une seconde série de lames a été réalisée à 4 mois d'intervalle (**Figure 6**) pour suivre l'évolution de la mycorhization.

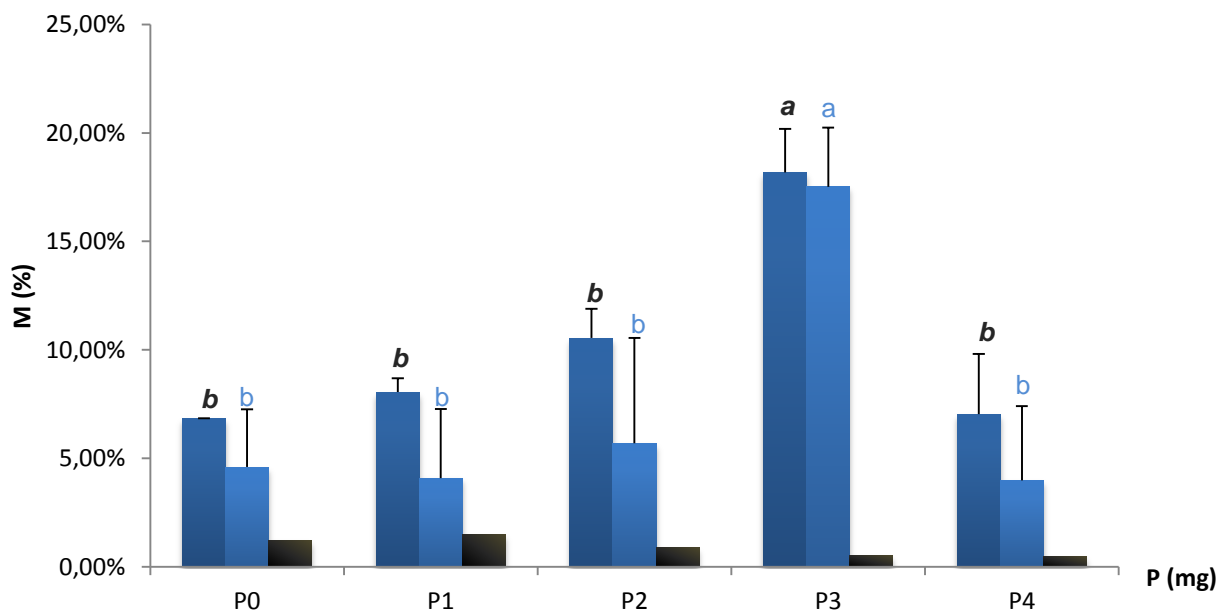


Figure 6 : % Mycorhization D'*A. neocaledonica*.
Bleu Foncé (27/02/12), Bleu clair (13/06/12) & Noir (Témoin non inoculé, 27/02/12)

On a pu observer qu'au cours du développement de la plante, un gradient de mycorhization semble s'être mis en place, avec un optimum pour la modalité P3 (18% +/- 2 en février puis 10% +/- 2 en juin). A la première phase de mesures, une mycorhization légèrement croissante était observable entre les modalités P0 et P3, puis décroissante jusqu'à P4. Lors de la seconde phase de mesures, cette gradation n'est plus observée, la mycorhization est très faible en P0, P1, P2 et P4.

La vérification statistique de ces différences montre néanmoins que P3 est la seule modalité se distinguant des autres. Pour le reste, les légères variations ne sont pas significatives. De faibles contaminations par d'autres champignons mycorhiziens ont sans doute eu lieu. Ainsi on a pu observer d'une part une légère mycorhization du témoin et d'autre part la présence de DSE dans la majorité des pots. Cependant, la présence de ces champignons n'a

pas été mesurée avec précision. Des arbuscules et des pelotons étaient visibles en quantité variable en fonction des lames, mais l'épaisseur parfois trop importante des racines n'a pas permis de dénombrer correctement ces structures.

SPORULATION DES AMF

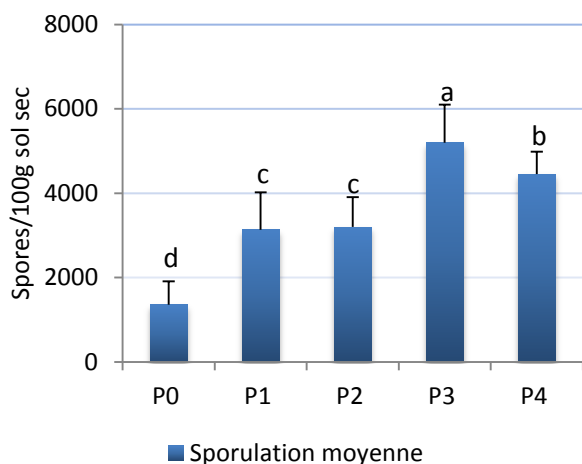


Figure 7 : Sporulation dans chaque modalité, a, b, c, d : groupes similaires (à 5%, LSD-Fisher)

Concernant la sporulation des AMF dans les modalités inoculées, on observe une tendance légèrement différente. Celle-ci a été mesurée sur l'ensemble des échantillons lors de l'arrêt de l'expérience en serre (juin 2012). On retrouve encore un maximum en P3 avec une sporulation approchant les 5500 spores/100 g_sc. Cependant, on constate que dans les modalités P1, P2 et P4, où la mycorhization est devenue très faible aux dernières dates de mesure (juin 2012), la sporulation est tout de même importante (Figure 7). Les différences entre modalités sont significatives au seuil de 5% et quatre groupes se distinguent au test LSD de Fisher : P0 < P1P2 < P4 < P3.

La sporulation ne semble en outre pas corrélée linéairement au taux de mycorhization de juin 2012 des différentes modalités ($r^2=0,62$) mais s'approche plus de celui observé en février de la même année ($r^2=0,91$). Les spores observées étaient de taille variables (stades de développement différents, photos de spores disponibles en Annexe 19) et très majoritairement vivantes (rondes, non opaques, contenu cytoplasmique visible).

3.1.2. CROISSANCE D'ALPHITONIA NEOCALEDONICA

TAILLE DES PLANTES

⊕ VUE GLOBALE

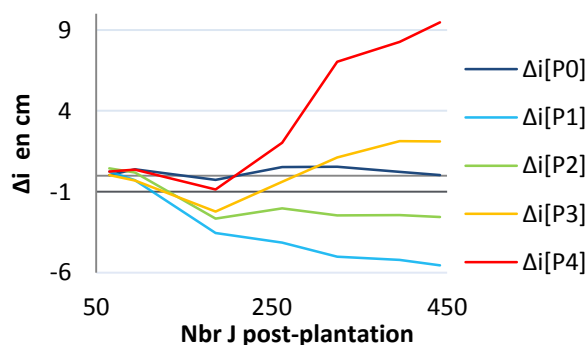


Figure 8 : Influence de P et de la mycorhization sur la taille des plantes. Présenté en différence (Δ) de taille entre inoculées et non inoculées.

La croissance des plants d'*A. neocaledonica* a été suivie pendant une année (taille du collet au bourgeon apical, nombre de feuilles, largeur et longueur de la plus grande feuille). Au cours de celle-ci, un différentiel de taille a commencé à apparaître entre les modalités.

De manière générale, on constate une gradation logique dans la croissance des plantes à mesure que la concentration en P apportée augmente : plus cette concentration est importante, plus la taille des plantes est importante et ce, que ce soit dans les modalités i+ (inoculées) ou i- (non inoculées). Cependant on peut distinguer 3 cas (Figure 8) :

- ⊕ Les modalités P0i+ et P0i- ne présentent aucune différence de croissance.
- ⊕ Les modalités P1 et P2 ont une croissance plus importante lorsqu'elles ne sont pas inoculées (Delta négatifs).
- ⊕ Les modalités P3 et P4 ont une croissance plus importante lorsqu'elles sont inoculées (Delta positifs).

Les tendances des courbes précédentes sont confirmées statistiquement : on constate qu'au cours du temps, les facteurs inoculation et phosphore deviennent de plus en plus significatifs (**Tableau 9**). On a pu observer une non significativité du facteur inoculé au J262, sans qu'aucune explication ne puisse être avancée, sauf éventuellement une erreur dans la saisie des données de croissance.

Tableau 9 : Significativité des facteurs inoculation et phosphore au cours du temps chez *A. neocaledonica*.
Test Anova Signif. codes: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '.' 0.1 '.' 1

	J65	J94	J186	J262	J325	J396	J442
Inoculé	**	NS	***	NS	.	*	*
P	.	*	***	***	***	***	***
Inoculé : P	NS	NS	NS	**	***	NS	***

Au sein du facteur P, 4 modalités se distinguent selon l'apport réalisé. Cependant, aux vues de la taille des plants, seulement 2 ou 3 catégories sont identifiables statistiquement : au jour 186 les plantes de la modalité P3 sont significativement plus grandes que toutes les autres, mais au-delà de cette date, celles de la modalité P4 atteignent des tailles équivalentes (**Tableau 10**). P0, P1 et P2 restent significativement plus petites tout au long de l'expérience.

Tableau 10 : Groupes discriminés vis-à-vis de la taille des plants en fonction de l'apport en P chez les inoculées au seuil de 5% par le test LSD de Fisher, mêmes dates que tableau 9.

Modalité de P	Significativité LSD Fisher						
	J65	J94	J186	J262	J325	J396	J442
i+P0	ab	ab	d	d	e	g	f
i+P1	ab	abc	d	d	e	fg	ef
i+P2	a	ab	c	c	d	de	d
i+P3	bc	ab	b	a	ab	ab	b
i+P4	bc	bc	b	a	a	a	a
i-P0	ab	abc	d	d	e	g	f
i-P1	abc	ab	bc	c	d	ef	de
i-P2	abc	ab	b	bc	cd	cd	cd
i-P3	bc	a	a	a	bc	bc	bc
i-P4	c	c	b	ab	bc	bc	bc

VITESSE DE CROISSANCE

La courbe ci-dessous (**Figure 9**) montre que les plantes ont cessé de croître depuis janvier 2012 (~J300). En effet, la vitesse de croissance, toutes modalités confondues, est en chute libre puis quasi nulle depuis cette date. Seules deux plantes de la modalité NKP4 inoculée ont repris leur croissance entre fin mars et mi-mai 2012 (avec une vitesse de 0,08cm/j en moyenne). Cependant, leur taux de mycorhization n'était pas plus élevé que la moyenne en P4.

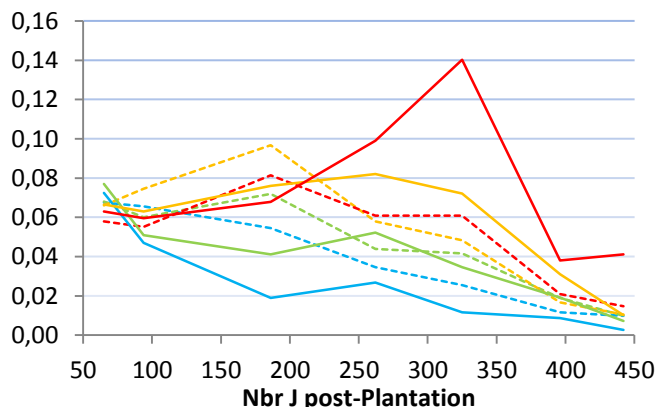


Figure 9 : Évolution de la vitesse de croissance d'*A. neocaledonica*. Traits pleins : i+, pointillés : i-. P4 en rouge, P3 en orange, P2 en Vert, P1 en Bleu clair et P0 en bleu foncé

A partir de J200, on observe une vitesse de croissance supérieure dans les modalités inoculées P3 et P4 par rapport aux plantes non mycorhizées. Cet effet ne s'observe pas dans les modalités P0 à P2.

BIOMASSES

Les biomasses fraîches (BF) et sèches (BS) ont été mesurées sur l'ensemble des pots (100 échantillons), en séparant parties **aériennes** et **racinaires** (Resp. a&r). La **Figure 10** résume l'ensemble de ces pesées.

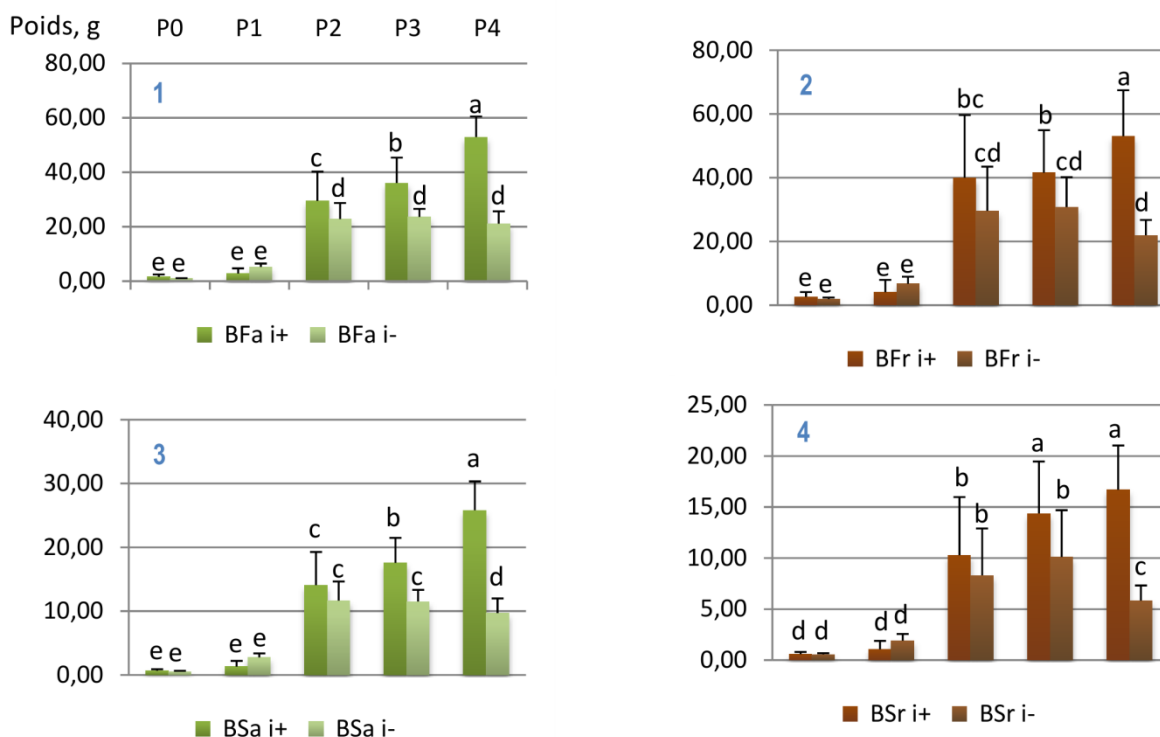


Figure 10 : Biomasses fraîches et sèches des parties aériennes et racinaires d'*A. neocaledonica* (resp. (1)BFa, (2)BFr, (3)BSa, (4)BSr). Les modalités de P sont représentées sur l'axe des abscisses. (a, b, c, d, e : groupes significatifs au test LSD de Fisher)

On y observe un effet net de la mycorhization, autant sur les parties aériennes (à gauche) que racinaires (à droite). En effet, au sein des modalités i-, P0 et P1 ont des biomasses très faibles (<10g, que ce soit frais ou sec) puis P2, P3 et P4 présentent des biomasses du même ordre de grandeur au sein de chaque catégorie (BFa~20g - BFr~30g - BSa~12g - BSr~10g).

En comparaison, chez les modalités i+ ce plateau est moins marqué. Les biomasses sont plus élevées et augmentent à mesure que la concentration en P augmente (Pvalue << 5%, ANOVA multivariée : biomasse ~ P : inoculation). La mycorhization, conjointement à l'apport de phosphore en certaines quantités permet donc un gain de biomasse important chez *A. neocaledonica*.

Cette croissance accrue en masse est par ailleurs plus marquée au niveau des parties aériennes que racinaires (*i.e.* les modalités P2, P3 et P4 se distinguent significativement les unes des autres au test LSD de Fisher dans les parties aériennes alors qu'elles sont plus confondues dans les racines).

Enfin, il semble y avoir un effet dépressif du phosphore sur l'appareil racinaire à forte concentration chez les plants i- dans nos conditions expérimentales (**Figure 10, (2) et (4)**) : les BFr et BSr de ceux-ci sont significativement plus faibles en P4 qu'en P2 et P3. Ces résultats de biomasse ne permettent cependant pas de corréliser le %M avec l'augmentation de biomasse (pic de mycorhization en P3, pic de biomasse en P4).

3.2. CONCENTRATIONS EN ELEMENTS PRINCIPAUX

L'analyse spectrale à absorption atomique a permis de déterminer les concentrations en éléments principaux dans les parties aériennes et racinaires des plants expérimentaux. Un manque de sensibilité de l'appareil n'a par contre pas permis de doser N d'une part (il est prévu de les doser au laboratoire de l'IRD de Nouméa mais les résultats n'arriveront pas à temps pour l'échéance de ce mémoire), et les éléments Na et Fe quant à eux n'ont pu être étudiés suite à une fuite dans le système d'injection de gaz qui a contaminée le four.

3.2.1. RESULTATS PRINCIPAUX DE L'ANALYSE SPECTRALE

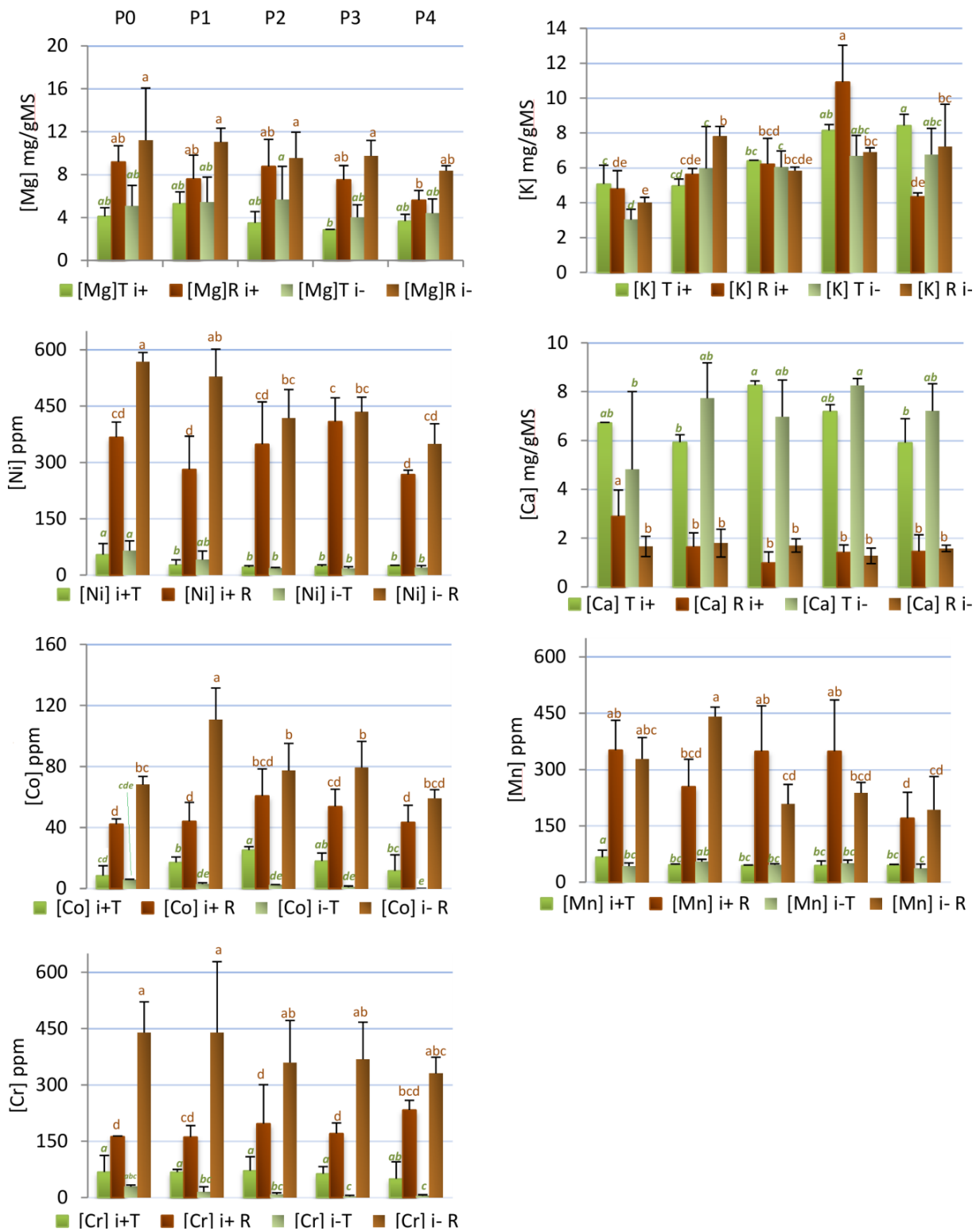
L'étude statistique de ces dosages révèle qu'en fonction des éléments, l'inoculation et/ou P jouent un rôle (**Tableau 11**). Par exemple, les concentrations en Ca et Cr varient en fonction de l'inoculation tandis que celles en K et Mn varient avec la dose de P. Pour Co, Mg et Ni, il semble que les deux facteurs entrent en jeu (**Tableau 11**). De plus, mis à part pour K, les concentrations en éléments chimiques sont significativement différentes entre tiges et racines.

Plus en détail, chez les plantes inoculées (i+), on observe une différence significative de concentration entre tiges et racines pour les métaux lourds (Co, Cr, Ni). Dans le même sous-groupe, P semble avoir une influence non négligeable sur les concentrations en Co, Mn, Ni et K.

Tableau 11 : Influence de différents facteurs sur la concentration et la localisation préférentielle des métaux.
Anova multivariée. Signif. Codes: 0 '****' 0.001 '***' 0.01 '**' 0.05 '*' 0.1 '.' 1

	Ca	Co	Cr	K	Mg	Mn	Ni	Ca/Mg
inoculation	*	*	**	NS	**	NS	**	NS
P	NS	*	NS	***	.	**	*	*
Tige/racine	***	***	***	NS	***	***	***	***
Inoculation : P	NS	*	NS	**	NS	**	*	NS
Inoculation : tige/racine	NS	***	***	NS	NS	NS	**	NS
Inoculation : P : tige/racine	*	NS	NS	**	NS	*	.	*
P : tige/racine	*	*	NS	*	NS	**	NS	*

Au-delà de ces différences on peut distinguer plusieurs groupes au test LSD de Fisher comme représentés en **Figure 11**. Le test statistique a été réalisé séparément sur tiges et racines (résultats respectivement en **vert** et **marron**).



De ces graphiques, on résume les résultats principaux dans le **Tableau 12**.

Tableau 12 : Impacte de l'inoculation sur les concentrations en éléments Ca, Co, Cr, K, Mg, Mn et Ni par rapport aux plantes non inoculées. La proportionnalité à P indique si les concentrations en éléments au sein du végétal sont proportionnelles à l'apport en P réalisé.

Impact de i+ :	↗ de la concentration		↘ de la concentration		Réponse variable de la concentration en fonction de [P]		Pas d'influence sur la concentration
	Proportionnel à P		Proportionnel à P		↗	↘	
	NON	OUI	NON	OUI			
Racines			Mg, Ni, Cr, Co		K & Mn (P0, P2, P3)	K & Mn (P1, P4)	Ca (sauf ↗ en P0i+)
Tiges	Cr, Co, K		Mg, Ca				Ni (Sauf ↗ en P0i±), Mn

On constate donc que la réponse en concentration en métaux n'est jamais corrélée à la concentration en phosphore ajoutée. Cependant, certains métaux varient de manière similaire (Augmentation de [K] et [Mn] chez les inoculés en P0, P2 et P3, diminution en P1 et P4). La mycorhization permet de réduire efficacement les teneurs en Ni, Cr et Co dans les tiges et les racines. Cette diminution n'est pas corrélée au phosphore apporté, mais la différence de concentration entre i+ et i- est significative, quelle que soit la modalité de P étudiée. Enfin, le taux de mycorhization n'a donné aucun résultats significatifs vis-à-vis de ces teneurs en métaux, excepté pour la concentration en K dans les racines (test de corrélation $r^2=0,909$).

3.2.2. CAS DU PHOSPHORE

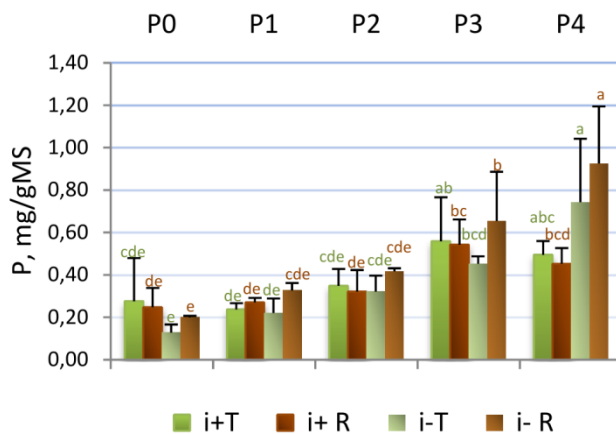


Figure 12 : Concentration en P dans les tiges et les racines en fonction de différents apports en phosphore. Les lettres représentent les résultats du test LSD de Fisher.

Concernant l'élément variable de notre expérience, nous avons montré que la concentration en P dans les parties aériennes et souterraines sont significativement différentes en fonction de l'inoculation et de la modalité de P (*MANOVA [P] ~ Phosphore: inoculation*, $P_{\text{valeur}}=0,0026^{**}$). Un test LSD post-hoc a permis de distinguer plusieurs groupes (**Figure 12**). On observe que dans les modalités i-, la concentration en P varie positivement avec l'apport en P réalisé ($r^2_{\text{tige}}=0,99$; $r^2_{\text{racine}}=1$). Chez les i+, la corrélation est importante sur les modalités P0 à P3 ($r^2_{\text{tige}}=0,94$; $r^2_{\text{racine}}=0,96$) mais elle diminue lorsque l'on intègre la modalité P4i+ ($r^2_{\text{tige}}=0,79$;

$r^2_{\text{racine}}=0,75$). En effet, on constate que contrairement aux i- chez qui la concentration P est strictement croissante, une baisse en P4 est nettement observable chez les plantes inoculées. Cette diminution de la concentration en phosphore est observable autant dans les parties aériennes que racinaires.

DISCUSSION 4

"Faites ce que je dis, mais ne faites pas ce que je fais."
S^t Matthieu ; L'Évangile, XXIII, 3.

L'objet de ce mémoire est basé sur une expérience initiée en février 2011 traitant de la recherche d'une concentration optimale en P permettant une bonne mycorhization d'*A. neocaledonica* sur topsoil UF. Elle s'inscrit dans un projet plus vaste visant à rechercher les concentrations idéales en phosphore pour plusieurs plantes pionnières souvent utilisées en revégétalisation de sites miniers dégradés ; l'ensemble faisant partie d'une thèse. L'hypothèse générale est qu'en revégétalisation la reprise végétale est loin d'être optimale et que la mycorhization pourrait être un atout permettant d'améliorer significativement la tenue des plantes lors des chantiers de plantation. Or, le phosphore peut être un facteur limitant de cette symbiose mycorhizienne, que ce soit à trop forte concentration (*Amijee et al., 1989*) ou trop faible concentrations (*Lagrange, 2009*). Par conséquent il était nécessaire d'une part de déterminer la bonne concentration en cet élément et d'autre part de mieux comprendre les phénomènes en conditions proches de l'état naturel (P0, sans apports N-P-K).

Le travail expérimental consistait pour partie à poursuivre le suivi de croissance végétale et la mycorhization de l'expérience lancée en 2011. Des biais dans le protocole initial sont sûrement à l'origine d'une diminution de la significativité de certaines tendances observées. La seconde partie du travail a été d'une part de pallier ces biais dans les expérimentations suivantes, mais aussi d'étudier les phénomènes décrits ici sur d'autres plantes de maquis minier dont l'affinité mycorhizienne à l'état naturel est différente (faible pour *C. comosa*, forte pour *C. laurifolia* tandis qu'elle était moyenne chez *A. neocaledonica*). Ces travaux ne sont pas développés ici. La section 5 résume quelques recommandations proposées pour ces nouvelles expériences.

4.1. TAUX DE MYCORHIZATION

4.1.1. FOCUS SUR L'APPAREIL RACINAIRE

Tout d'abord, l'expérience ayant été laissée trop longtemps en place, le chevelu racinaire s'est développé trop intensément dans certains pots, rendant l'extraction, le nettoyage et les analyses jointes difficiles et peu précises (reste de résidus de sols liés à l'utilisation de topsoil non tamisé, perte de racines fines, ...). On peut tout de même observer une tendance à l'augmentation de la biomasse racinaire dans les modalités inoculées P2, P3 et P4. En effet ces modalités se distinguent au test LSD de Fisher (respectivement *b,a,a*) par rapport à [P2, P3 et P4]i- (resp. *bc, b, c*). Il faudra cependant vérifier ces résultats dans les expériences suivantes afin de s'assurer que ces différences n'aient pas été accentuées par des biais dans le nettoyage.

4.1.2. TEMPS D'EXPERIMENTATION, PHOSPHORE ET MYCORHIZATION

Comme nous l'avons présenté au chapitre 3, une diminution de la mycorhization a été observée en P1, P2 et P4 entre les deux dates de mesure. Ce type de baisse du %M a déjà été observé et étudié par *Smith et al. (1992)*, *Landis & Fraser (2008)* et *Johnson (2010)*. De ces trois études, *Smith & Smith (2011)* ont résumé qu'en cas d'apport trop important de P, la diminution de %M peut être liée au fait que la biomasse racinaire augmente grâce à P, sans que l'AMF soit d'avantage nécessaire (la biomasse fongique reste alors constante). Par conséquent le %M semble diminuer alors qu'il demeure suffisant. Cette explication pourrait s'appliquer à la modalité P4. En P3, le taux de mycorhization n'a que légèrement diminué alors que la biomasse racinaire est aussi très importante en fin d'expérimentation, on ne peut alors pas appliquer les conclusions précédentes dans ce cas. Ici, la concentration en P doit

sans doute être adaptée à un bon équilibre dans l'interaction mutualiste, ce qui permet à la symbiose de rester en place malgré tout. Par ailleurs, De précédentes études ont révélé que sur un sol pauvre en P, des plantes normalement mycorhizées peuvent présenter une perte de colonisation par les AMF (*Cornwell et al., 2001*), ce qui pourrait expliquer la baisse de %M en P1 et P2. Ces hypothèses sont appuyées par les résultats de sporulation : elle est quasi équivalente en P1, P2 et P4 (3000 - 4000 spores/100g) et relativement élevée par rapport au taux de mycorhization final mesuré. La sporulation permet au champignon de survivre dans le sol en attendant des conditions favorables au renouvellement de la symbiose ENDOMYCORHIZIENNE. Dans le cas de P4, la sporulation légèrement supérieure à P1 et P2 peut provenir d'une saturation plus précoce du pot par les racines, conduisant à une sporulation plus précoce et donc finalement plus longue.

De plus, les résultats exposés au point 3.1.2. montrent que la vitesse de croissance a commencé à chuter 6 mois avant l'arrêt de l'expérimentation. Les plantes étaient sans doute arrivées à saturation dans les pots dès 6 à 8 mois d'expérimentation. Ceci pourrait aussi expliquer au moins en partie la baisse du %M entre février et juin 2012 ainsi que la forte sporulation. En effet le manque d'espace dans les pots a pu entraîner un stress, à l'origine du rejet du champignon par la plante dans les modalités P1, P2 et P4 où la mycorhization n'était que moyenne. Cependant, ce stress ne semble pas affecter les plantes de la modalité P3, qui pourtant ont un appareil racinaire aussi dense qu'en P4. On peut avancer l'hypothèse d'un effet conjugué d'un appareil racinaire trop dense et à l'étroit dans les pots et de teneurs en P trop importantes en P4 pour que les plants n'aient réellement besoin de la symbiose pour croître.

Dans tous les cas, il faudra suivre plus précisément la vitesse de croissance et le taux de mycorhization afin de stopper les expériences ultérieures avant que le système racinaire ne soit arrivé à saturation. Ceci permettra sans doute d'obtenir des résultats d'avantage significatifs et de conclure quant à la validité de l'une ou des deux hypothèses précédentes.

4.1.3. CAS DE LA MODALITE P0

La modalité P0 présentée comme modalité témoin dans le cadre de l'expérience est à distinguer des autres du fait de la différence d'amendement qu'elle a reçue. En effet, alors que toutes les modalités ont reçu les mêmes quantités d'N et K, la modalité P0 n'en a pas reçu afin de représenter plus justement les conditions naturelles. Par conséquent, l'ensemble des conclusions que l'on peut apporter quant à l'influence de P sont à nuancer : les modalités ayant reçu P ont aussi reçu N et K, et les résultats peuvent provenir d'un effet combiné de ces trois éléments plutôt que seulement de la concentration en P. Les expériences suivantes ont d'ailleurs été dotées d'une modalité N0K0P0 et d'une modalité NK0P0 en plus afin de vérifier si oui ou non l'apport de N et K a joué un rôle majeur dans la croissance et la mycorhization des plants.

4.1.4. DARK SEPTATE ENDOPHYTE

La présence de DSE a été observée à de nombreuses reprises dans nos différentes modalités. Elle n'a pas été comptabilisée précisément mais il semblerait que les DSE soient présents dans l'ensemble des modalités (i+,i-, quel que soit P). Ce mycélium est souvent observé lors d'expérimentations traitant des symbioses mycorhiziennes mais l'on ne sait encore que peu de choses quant à sa fonction ni son origine (pré ou post-hôte) mise à part qu'il peut développer une association mutualiste-parasitique, telles les AMF, selon les conditions environnementales, l'hôte ou la souche de DSE considérée (*Jumpponen, 2001 ; Day & Currah, 2011*). D'après les travaux d'*Usiki & Narisawa (2007)*, les DSE seraient capables d'établir une symbiose avec des plantes non-mycorhiziennes (en l'occurrence le Chou Chinois). Aucune donnée ne permet ici de déterminer quels ont été les effets de la présence de DSE dans notre expérience. Cependant on peut supposer que celui-ci joue un rôle dans la tolérance au stress hydrique, comme cela a été découvert auparavant (*Zhang et al., 2011*). L'équipe a montré qu'en savane (climat aride au moins une partie de l'année), au moins 84% des plantes étaient associées symbiotiquement à des DSE.

4.2. DONNEES MORPHOLOGIQUES

4.2.1. LA MGR CHEZ *A. NEOCALEDONICA*

En 2011, *Smith et Smith* faisaient état de la notion de MGR, pouvant être positive, négative ou neutre (MGR+,-,0) en fonction de nombreux facteurs édaphiques, environnementaux, mycorhiziens et/ou végétaux. Dans notre situation, les plantes des modalités P1i+ et P2i+ sont plus petites que leurs sœurs non inoculées. Il s'agirait alors d'une MGR- tandis que dans le cas de P3i+ et P4i+, la taille des plants est supérieure que celle de P3i- et P4i-, on aurait alors à faire à une MGR+, d'avantage marquée en P4i+ qu'en P3i+. On ne distingue pas de différence de croissance entre i+ et i- chez P0, ce qui est *a priori* assimilable à une MGR0. *Smith et al. (2011)* avancent que plus le champignon développe rapidement une interface d'échange importante, plus on aurait de chance d'obtenir une MGR+. D'autre part, on ne peut interpréter les MGR-/0 observées ici comme des artéfacts liés à l'expérimentation, car comme cela a déjà été prouvé par le passé (*Cavagnaro et al., 2006 ; Guo et al., 1994 ; Klironomos, 2003 ; Modjo & Hendrix, 1986*), on retrouve ce type de réponse autant en champs qu'en expérimentation en pot et conditions contrôlées.

Il faut aussi noter que comme l'ont montré deux études sur tomates (*Smith et al., 2003 & 2004*), la voie mycorhizienne peut être la voie principale de transfert de P, quelle que soit le sens de la MGR. Ainsi, dans le cas des modalités [P1 et P2]i+, la MGR- pourrait en fait s'expliquer non pas par un coût en C trop important, mais par une diminution de la voie directe de transfert de P au profit de la voie mycorhizienne, sans que celle-ci ne soit suffisante pour compenser l'inactivation de la voie directe (*Smith & Smith, 2011*). Enfin, plusieurs études (*Facelli et al., 2010 ; Grace et al., 2009 ; Munkvold et al., 2004 ; Poulsen et al., 2005*) ont montré que le ratio entre la voie directe et la voie mycorhizienne dépend à la fois de la plante et de la souche d'AMF considérée. Par exemple *Nagy et al. (2008)* ont montré que dans leurs conditions, à faible concentration en P la voie mycorhizienne était constante quelle que soit ladite concentration, mais qu'elle était réprimée à de fortes teneurs en P. Nos résultats vont dans le même sens car en P4i+, la taille et la biomasse sont plus importantes que dans les autres modalités, mais le %M et la concentration en P sont plus faibles (ce qui pourrait provenir d'une diminution de la voie mycorhizienne de transfert de P).

Il faudra alors doser avec précision le phosphore disponible dans notre mélange de sol, car comme l'ont montré *Bolan et al. (1983)*, une faible concentration en P peut provenir d'une forte sorption de celui-ci dans le sol. Or, une des caractéristiques majeure des substrats UF est la très faible biodisponibilité du phosphore. Celui-ci est complexé aux oxydes et hydroxydes de fer et d'aluminium en pH acide (Cf. Chapitre 1 et *L'Huillier et al., 2010*).

4.2.2. D'AUTRES INTERETS DE LA MYCORHIZATION

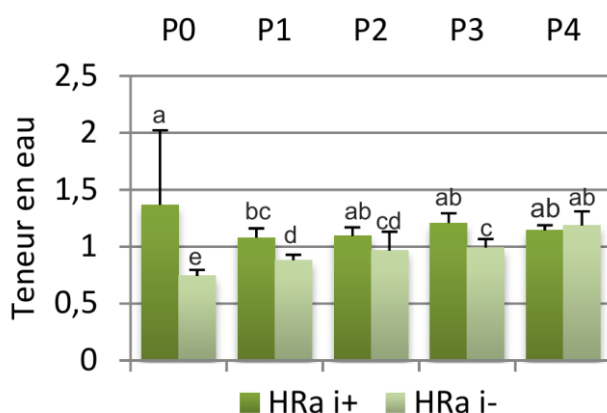


Figure 13 : Teneur en eau des parties aériennes. La teneur en eau est calculée par le ratio (BFa-BSa/BSa)

modalités i+, la teneur en eau des parties aériennes est significativement différente des modalités i- (test LSD Fisher, **Figure 13**). *A. neocaledonica* est une plante de maquis minier,

Comme présenté précédemment, la MGR peut être négative dans certains cas. De fait, une question reste d'actualité au sein des chercheurs en symbiose mycorhizienne : Pourquoi la plante ne se débarasse-t-elle pas de l'AMF alors que le coût en carbone est supérieur au bénéfice qu'elle en retire ? Certains auteurs (*Johnson et al., 1997 ; Jones and Smith, 2004 ; Newsham et al., 1995*) suggèrent que le champignon apporterait des résistances à certaines maladies et /ou à la sécheresse, d'une manière non liée aux échanges en nutriments. Nos résultats de teneur en eau semblent appuyer ces études : chez les

adaptée aux sols pauvres et à faible rétention en eau. L'inoculation de ces plants (d'ailleurs fréquente en conditions naturelles) leur permettrait donc de résister davantage au stress hydrique, en augmentant leur teneur en eau aérienne (cette voie métabolique a déjà été observée par *Augé* en 2001).

Cependant, *Graham & Syvertsen* (1984) relativisent cette hypothèse et ont montré que l'augmentation de la teneur en eau serait corrélée à la concentration en phosphate absorbé et non seulement à la présence d'inoculum. Ce n'est pas le cas dans notre expérience, nous n'avons pas pu observer de corrélation significative entre concentration en P et teneur en eau. Nous pouvons distinguer plusieurs cas : les modalités P0, P1 et P2 chez qui l'inoculation semble jouer un rôle dans la résistance au stress hydrique. En P4 par contre, P serait le facteur majeur d'influence : en induisant un forte croissance racinaire, il a permis aux plantes d'absorber d'avantage d'eau. En P3 un effet cumulé de l'inoculum et de P serait envisageable.

Un résultat particulier est celui de la teneur en eau de P0. Malgré une biomasse et une croissance très faibles, c'est la modalité inoculée qui présente le plus fort taux d'humidité (significativité de rang *a* au test LSD de Fisher). Ceci pourrait s'expliquer par une symbiose sélective entre la plante et l'une des trois souches inoculées en mélange initialement. En effet, comme l'ont résumé *Smith & Smith* en 2011, la plante transfère préférentiellement les nutriments à la souche fongique ayant le plus d'intérêt pour elle. Il se pourrait qu'en absence de P, l'une (voire plusieurs) de nos souche puisse conférer une bonne résistance à la sécheresse. Cet intérêt serait relégué au second plan lorsque P est ajouté en différentes quantités (dans ce cas l'élément le plus intéressant pour la plante deviendrait la nutrition phosphatée).

Il se pourrait aussi qu'en P0 des DSE se soient développés au détriment de nos souches inoculées, dans ce cas nos résultats conforteraient les travaux de *Zhang et al.* (2011, Cf. 4.1.4) selon lesquels le DSE confère une bonne tolérance au stress hydrique. Il faudrait vérifier précisément quelle souche d'AMF mycorhize quelle modalité, et les étudier séparément pour conclure quant à ces hypothèses.

De plus toutes ces conclusions seront à vérifier au cours d'autres expériences, car l'expérimentation en serre était soumise à un arrosage régulier ne permettant pas d'étudier précisément ce stress hydrique.

4.3. MYCORHIZATION ET TENEUR EN METAUX

4.3.1. ETUDE COMPARATIVE DES TENEURS EN METAUX

La comparaison de nos résultats à ceux de *L'Huillier et al.*, (2010) permettent de mettre en avant plusieurs éléments (**tableau 13**). Les concentrations sont présentées en % par rapport aux concentrations déterminées par *L'Huillier et al.* (2010). On constate d'abord que dans la majorité des cas, les concentration déterminée ici sont inférieures à celles observées en moyenne par *L'Huillier et al.*, 2010, que ce soit dans les modalités i+ ou i-, mais l'on reste du même ordre de grandeur étant donné l'importance de leurs écart-types (**Tableau 13**, ligne %*ET ref*). Cependant, dans le cadre de l'expérience, les concentrations en magnésium sont nettement plus importantes chez i- (jusqu'à +110% pour P2i-).

A contrario pour Mn, l'ensemble de nos échantillons présente près de 90% de Mn en moins par rapport à la valeur de référence. Par ailleurs, une réponse variable est observée pour K chez les i+, avec des valeurs proches des références en P1 et P2 mais nettement supérieures en P3 et P4 (proches des maximas référents).

Tableau 13 : Ecart de concentration en différents éléments par rapport à L'Huillier *et al.*, 2010. %ET ref représente l'écart-type des mesures de référence, sous forme de pourcentage.

modalité	Inoculé ?	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Mn (%)	Ni (%)	Ca/Mg (%)
% ET ref	±	33,33	28,57	58,82	48,15	60,22	92,59	
P0	i+	-6,67	-19,52	-34,12	52,00	-81,86	0,97	-56,66
	i-	-56,67	-29,11	-52,85	87,51	-88,45	20,38	-74,85
P1	i+	-21,00	-21,19	-41,85	95,60	-87,42	-50,55	-70,27
	i-	-26,61	-5,30	-24,25	100,73	-85,10	-24,12	-62,27
P2	i+	16,06	1,67	-19,00	29,38	-87,97	-61,10	-37,39
	i-	7,06	-4,16	-31,64	109,91	-87,47	-66,42	-67,44
P3	i+	86,28	29,33	-29,51	5,67	-87,87	-57,24	-33,29
	i-	50,78	6,03	-19,04	48,94	-86,38	-67,26	-45,64
P4	i+	64,89	33,78	-42,07	35,50	-87,75	-53,80	-57,25
	i-	147,61	7,35	-29,34	62,27	-90,10	-63,05	-56,45

Ces différences peuvent provenir de plusieurs sources. Par exemple les plantes étudiées par L'Huillier *et al.* se sont développées en milieu naturel pendant plusieurs années (on ne connaît cependant pas l'âge des échantillons). Par conséquent, étant donné la variabilité en concentration en éléments dans les sols UF (Lagrange, 2009), des écarts importants peuvent exister entre notre sol et le leur. De plus, nos plants n'ont poussé que pendant un an et n'ont donc accumulé ces différents métaux et minéraux que durant cette période tandis que les plantes de maquis minier de référence ont sans doute des âges différents entre elles et sûrement plus importants que nos plants. Or ces plantes ont un feuillage persistant [6], par conséquent elles stockent les métaux tout au long de la vie de la feuille, ce qui peut expliquer que nos feuilles - plus jeunes - soient moins concentrées. Aucune valeur de référence n'existe pour les concentrations en éléments des parties racinaires chez *A. neocaledonica*.

4.3.2. VARIATION DES CONCENTRATIONS EN METAUX

Nos expériences ont montré que les métaux lourds (Co, Cr, Mn et Ni) sont d'avantage concentrés au niveau des racines des plants i-. L'hypothèse principale serait que la mycorhization jouerait le rôle de barrière à la pénétration de ces éléments dans la plante. Plusieurs études font l'état d'une nette réduction des concentrations en métaux lourds dans la plante

Tableau 14 : Taux de transfert des racines vers les tiges pour chaque élément étudié. Valeur \pm écart-type. Le taux de transfert TF se calcule par le ratio : [élément]feuille / [élément] racine.

	i+					i-				
	P0	P1	P2	P3	P4	P0	P1	P2	P3	P4
Mg	0,45 $\pm 0,02$	0,71 $\pm 0,05$	0,40 $\pm 0,03$	0,39 $\pm 0,07$	0,67 $\pm 0,22$	0,39 $\pm 0,04$	0,51 $\pm 0,25$	0,60 $\pm 0,31$	0,42 $\pm 0,14$	0,52 $\pm 0,13$
Ca	2,53 $\pm 0,87$	3,90 $\pm 1,22$	9,64 $\pm 4,21$	5,24 $\pm 1,08$	4,77 $\pm 2,42$	3,28 $\pm 1,04$	4,72 $\pm 2,22$	4,12 $\pm 0,69$	6,75 $\pm 1,53$	4,55 $\pm 0,32$
K	1,07 $\pm 0,16$	0,89 $\pm 0,11$	1,08 $\pm 0,28$	0,76 $\pm 0,15$	1,94 $\pm 0,22$	0,73 $\pm 0,089$	0,75 $\pm 0,26$	1,04 $\pm 0,18$	0,97 $\pm 0,14$	1,00 $\pm 0,37$
Ni	0,15 $\pm 0,08$	0,10 $\pm 0,06$	0,07 $\pm 0,03$	0,06 $\pm 0,00$	0,09 $\pm 0,01$	0,12 $\pm 0,04$	0,08 $\pm 0,04$	0,04 $\pm 0,01$	0,04 $\pm 0,01$	0,06 $\pm 0,02$
Co	0,19 $\pm 0,15$	0,40 $\pm 0,15$	0,43 $\pm 0,10$	0,33 $\pm 0,04$	0,25 $\pm 0,22$	0,08 $\pm 0,01$	0,03 $\pm 0,01$	0,03 $\pm 0,01$	0,01 $\pm 0,01$	0,00 ± 0
Mn	0,19 $\pm 0,05$	0,19 $\pm 0,04$	0,14 $\pm 0,04$	0,13 $\pm 0,02$	0,29 $\pm 0,11$	0,13 $\pm 0,06$	0,12 $\pm 0,02$	0,23 $\pm 0,05$	0,21 $\pm 0,02$	0,20 $\pm 0,02$
Cr	0,42 $\pm 0,27$	0,43 $\pm 0,05$	0,37 $\pm 0,06$	0,37 $\pm 0,05$	0,23 $\pm 0,23$	0,07 $\pm 0,028$	0,04 $\pm 0,05$	0,03 $\pm 0,02$	0,01 $\pm 0,01$	0,01 $\pm 0,01$
P	1,03 $\pm 0,36$	0,88 $\pm 0,07$	1,12 $\pm 0,18$	1,02 $\pm 0,24$	1,11 $\pm 0,19$	0,63 $\pm 0,16$	0,69 $\pm 0,27$	0,77 $\pm 0,17$	0,74 $\pm 0,21$	0,79 $\pm 0,20$

entière en cas d'inoculation (Vivas *et al.*, 2005 ; Vogel-Mikus *et al.*, 2006 ; Sadeque *et al.*, 2006 ; Dong *et al.*, 2008 ; Amir *et al.*, 2010a ; Andrade *et al.*, 2010). Ceci aurait un impact majeur sur la tolérance de la plante vis-à-vis de ces éléments. Cependant, dans notre étude les parties aériennes des plantes inoculées présentent majoritairement des concentrations plus importantes que les non mycorhizées (sauf pour les modalités P0 et P1 pour Mn et Ni).

Il semblerait que les métaux lourds soient transloqués depuis l'appareil racinaire vers le feuillage pour y être stockés lorsque les plantes sont mycorhizées. Le tableau 14 résume le facteur de translocation de chaque élément (FT).

Il est obtenu en réalisant le ratio [élément]feuilles / [élément]racines (Stoltz & Greger, 2002).

On peut distinguer plusieurs cas :

Les éléments Ca et K sont majoritairement transloqués vers les parties aériennes, que ce soit en i+ ou i-. Le FT de P est près de 33% augmenté par la mycorhization, indépendamment de la concentration en P ajoutée. Le FT de Co et Cr est multiplié jusqu'à 40 fois dans les modalités i+, mais il reste tout de même faible (~0,4). La translocation des métaux lourds vers les feuilles est l'un des mécanismes clés d'adaptation des plantes en milieu pollué. En séquestrant sous des formes inactives ces métaux (Cf. 1.4.3) dans des structures dont la plante peut se débarrasser (les feuilles), celles-ci peuvent se développer sur des sols à forte teneur en métaux lourds. Cette voie d'adaptation amplifiée en cas de mycorhization fait partie d'un ensemble de mécanismes qui ont été résumé par *Amir et al.* en 2010. Cependant cet effet cumulatif de Co et Cr en présence d'un inoculum n'avait encore jamais été mis en évidence.

Le calcium joue un rôle majeur dans la réponse au stress et la croissance de la plante. Il est peu mobile, et son taux dans les parties aériennes est lié à l'absorption en eau (*Baeyens, 1967*). Une carence en Ca entraîne souvent une diminution de l'absorption de K et d'une augmentation des oxydes métalliques plus solubles (Co, Cr, Mn et Ni). On retrouve les plus faibles concentrations en Ca en P0, i+P2 et P3.

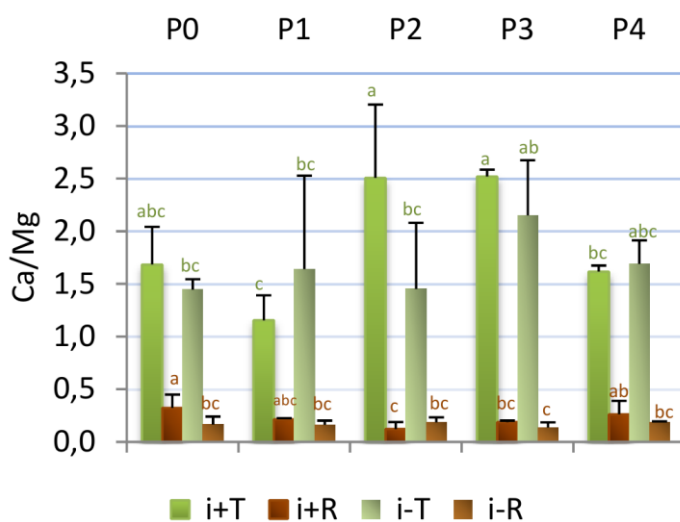


Figure 14 : Evolution du Ratio Ca/Mg en fonction de l'apport en Phosphore, distinction entre tiges (T, vert), racines (R, marron) et inoculation (i+ : foncé, i- : clair).

Concernant le ratio Ca/Mg (Figure 14), il augmente dans les parties aériennes avec l'augmentation de P (surement dû à une diminution de Mg) jusqu'à P3 puis diminue en P4. Ce ratio est déséquilibré sur substrat UF (*L'Huillier et al., 2010*). Dans nos expériences, celui-ci est inférieur à la valeur de référence et les plus faibles valeurs sont retrouvées en i-. De trop fortes concentrations en P peuvent perturber l'absorption d'autres oligo-éléments [9], ce qui peut expliquer la diminution de Ca/Mg en P4. On observe que l'amélioration du ratio Ca/Mg constatée lors de l'apport de P est encore meilleure lorsque les plantes sont inoculées. Cela est valable pour

les modalités P2 et P3 principalement. L'apport de phosphore et la mycorhization permettent donc un rééquilibrage de ce ratio. La modalité P0 inoculée se distingue aussi par un meilleur ratio Ca/Mg aérien par rapport à P0i-. Ceci montre qu'en conditions naturelles (sans apport N-P-K), les AMF jouent un rôle dans ce rééquilibrage. Aucune étude sur substrat UF n'a encore fait état de cette amélioration.

Enfin, dans les parties aériennes, on observe une corrélation positive entre l'apport de P et [K]. Cet élément est très mobile dans la plante et son transfert vers les parties aériennes est rapide, ce qui peut justifier la forte concentration en K dans ces structures. Son optimum est atteint en [P3 et P4] i+ (Cf. 3.2.1). Ces fortes concentrations peuvent appuyer l'hypothèse de *Smith & Smith (2011)* selon laquelle l'adressage et le transfert des poly-Pi depuis les hyphes mycorhiziens vers la plante serait équilibré en charges par un transfert de K+.

Cependant, seule une étude fine de ces flux permettra de conclure définitivement quant à cette hypothèse. Un Schéma représentant ces flux a été réalisé par ces auteurs (Annexe 13).

RECOMMANDATIONS 5

Cette section résume d'une part des pistes d'amélioration possible qui pourraient permettre d'obtenir de meilleurs résultats lors de prochaines expériences et d'autre part des pistes de recherche pour poursuivre l'optimisation des systèmes de revégétalisation.

5.1. AMELIORATIONS PROTOCOLAIRES

Dans la mesure où l'on ne sait que peu de choses sur la phytosociologie d'*A. neocaledonica* (et de la plupart des espèces endémiques de maquis minier), il est préférable de ne placer qu'une seule plante par pot pour éviter tout risque de compétition. Mieux vaut prévoir un plus grand nombre de pot, chacun contenant une seule plante.

Le climat et l'arrosage dans la serre ne semblant pas homogènes, un système en bloc randomisé a été adopté pour les expériences suivantes afin de répartir l'erreur sur l'ensemble des modalités.

Étant donnés les résultats de vitesse de croissance et de mycorhization présentés au chapitre 3, il faudra suivre ce paramètre au fur et à mesure (et non *a posteriori*) dans les prochaines expériences afin de les arrêter plus tôt, avant que les plantes ne soit à saturation dans les pots.

Des biais importants ont été décelés par rapport à la taille des plantes, avec comme origine un rapprochement trop important des pots. La gêne stérique doit être évitée, en espaçant davantage les pots au fur et à mesure de la croissance des plants.

Par ailleurs, il serait intéressant de vérifier l'impact de la germination sur vermiculite puis du repiquage sur la croissance des plantes. En effet, dans le cadre de l'expérience, les plantes subissent un stress intense lors du repiquage (passage de vermiculite et arrosage KNOP à topsoil UF arrosé à l'eau). La germination directe sur topsoil serait à envisager afin de sélectionner dès les premiers stades de développement les plantules capables de pousser sur substrat UF. Les résultats finaux seraient sans doute plus homogènes. De même, cette sélection aux stades le plus précoce pourrait éviter d'avoir à apporter du terreau, source d'incertitude. Il est difficile de déterminer en quelles proportions sa présence influence la biodisponibilité des différents éléments (cependant il aurait été montré que son apport à hauteur de 20% n'influencerait que très légèrement les concentrations en métaux dans les plantes, comm. pers. *H. Amir.*).

Enfin, comme cela a déjà été montré à plusieurs reprises (*Jones & smith, 2004 ; Jansa et al., 2011*), l'autoclavage du sol provoque de fortes différences dans les résultats par rapport à un sol non autoclavé (changement des propriétés chimiques du sol, destruction totale de la microfaune, ...). Il serait judicieux de conforter nos résultats en réalisant le même type d'expérience mais sans autoclaver le topsoil.

5.2. DANS L'OPTIQUE DE LA REVEGETALISATION

L'objectif *in fine* reste d'exploiter, dans le futur, ces résultats pour améliorer les techniques de revégétalisation des sols miniers décapés. En effet, les terrains miniers décapés possèdent dans la grande majorité des cas une activité microbienne très faible et une quasi absence de spores d'AMF (ou de propagules d'ectomycorhizes) (Héry *et al.*, 2005, Amir *et al.*, 1997), Il est donc nécessaire de réintégrer ces organismes dès les premiers stades de la revégétalisation pour espérer une bonne reprise végétale et une tenue dans le temps.

Aujourd'hui l'hydroseeding est majoritairement utilisé sur les fortes pentes. La plantation manuelle reste couramment utilisée lorsque cela est possible. Cependant, dans tous les cas le taux de survie des plantes demeure moyen voire faible (taux de germination aléatoire, mortalité des plants après quelques années, ...). L'amendement et les spores mycorhiziennes devraient être intégrés à l'hydroseeding ou lors de la plantation.

L'enrobage des graines avec des spores d'AMF est une voie étudiée (Leclerc, 2012) et qui pourrait aboutir à de bons résultats sur le terrain. Cependant, il semblerait (Bashan *et al.*, 2002) que l'alginate (composé étudié pour l'enrobage) soit soluble en solution phosphatée, par conséquent il sera nécessaire de vérifier si les doses optimales de fertilisant décrites dans notre expérience n'entraînent pas une dissolution des enrobages mycorhiziens une fois en solution dans l'hydroseedeur, de même pour les futures doses obtenues lors des expériences nouvellement lancées. Par contre, ce phénomène ne serait pas dommageable dans le cas d'une plantation manuelle.

D'autre part, il sera nécessaire d'adapter cette étude aux autres plantes présentes dans les mélanges utilisés en revégétalisation afin d'aboutir à une dose en P adéquate pour l'ensemble, sinon la majorité, des plantes utiles et efficaces en revégétalisation. Par ailleurs, il faudrait étudier l'impact du paillage sur la mycorhization et la croissance de ces mêmes plantes. En effet, lors des chantiers de revégétalisation, un paillage est mis en place avec les graines. Or, il a été montré en Inde (Singh & Jamaluddin, 2010) que le paillage favorise la mycorhization et la sporulation de souches d'AMF, il serait donc intéressant d'étudier son effet sur les souches pures utilisées ici afin d'améliorer le stock de spores dans les sols à revégétaliser. L'augmentation de la quantité de spores dans les sols UF décapés est une nécessité sur le long terme et le paillage peut être une bonne solution, mais d'autres existent. En Afrique du Nord par exemple, l'utilisation d'espèces végétales mycotrophes (Lavande, Thym) a permis d'augmenter efficacement le potentiel mycorhizogène des sols (Duponnois *et al.*, 2007).

Enfin, nos résultats montrant l'efficacité des AMF quant à la tolérance et au stockage des métaux lourds chez *A. neocaledonica* en présence de P appuient les travaux d'Amir *et al.* (2008) traitant de l'intérêt d'utiliser des souches locales d'AMF. En effet, l'équipe a pu prouver que ces souches sont tolérantes à de plus fortes teneurs en métaux lourds que d'autres souches commerciales et leur capacité de germination reste bonne à des concentrations élevées en Ni, inhibitrices pour d'autres souches par exemple. L'utilisation de ces souches sera primordiale pour une réussite optimale de la reprise végétale lors de la revégétalisation des terrains miniers dégradés.

Pour terminer, nous recommandons pour *A. neocaledonica* plutôt la modalité inoculée P3 (210 kg/ha⁻¹ de P), malgré une plus forte croissance en P4. En effet, un apport trop important de fertilisant nuit à l'environnement et à la bonne symbiose mycorhizienne (diminution de %M) et peut conduire au développement de symbioses moins bénéfiques (du fait d'une moindre nécessité de la mycorhization par la plante) (Jansa *et al.*, 2006, 2011).

CONCLUSION

«Le troisième empereur de la vingt et unième dynastie, à qui on apporta des pierres précieuses trouvées dans une mine, la fit fermer, ne voulant pas fatiguer son peuple à travailler pour une chose qui ne pouvait ni le nourrir ni le vêtir.»
Montesquieu, Extrait du *De l'esprit des lois*

De l'allemand *kupfernickel*, cuivre du diable ; en lien avec l'impossibilité d'extraire le cuivre du minerai de cuivre ; on croyait que ce minerai avait subi un mauvais sort des démons. En fait, ce n'était pas un minerai de cuivre, mais bien du nickel. [7]

Les travaux présentés dans ce mémoire font partie intégrante du programme de recherche CNRT Nickel de Nouvelle Calédonie. En collaboration avec l'IAC (institut Agronomique Néocalédonien) et l'IRD (Institut de Recherche pour le Développement), l'Université de Nouvelle-Calédonie (par l'intermédiaire du LIVE) travaille à la recherche de solutions d'avenir en revégétalisation de sites miniers dégradés. Pour optimiser la reprise végétale sur ces sols si particuliers, l'équipe travaille sur les symbioses mycorhiziennes et l'optimisation de leur mise en place. Un des facteurs limitant principaux est la très faible biodisponibilité en phosphore dans ces sols ultramafiques.

Plusieurs études ont montré qu'une concentration adéquate doit être apportée, faute de quoi la mycorhization ne s'installe pas durablement. Dans notre étude, cinq concentrations en phosphore ont été testé sur une plante pionnière de maquis minier (*A. neocaledonica*) (de 0 à 2t.ha⁻¹ de Superphosphate Triple). Les résultats tendent à montrer qu'avec un apport de 1t.ha⁻¹ de cette substance commerciale (soit 210kg.ha⁻¹ de P), le taux de mycorhization est optimal (18%) sur cette plante qui n'est que moyennement mycorhizée en conditions naturelles. La croissance et la biomasse végétale ont certes été plus importantes à 2t.ha⁻¹, cependant la baisse de mycorhization mesurée (-13% par rapport à l'apport optimal) et les bonnes pratiques environnementales nous conduisent à préconiser un apport de fertilisant plus faible et en faveur de la mycorhization. Nous avons par ailleurs pu montrer une amélioration de la tolérance au stress hydrique par la mycorhization ainsi qu'un rééquilibrage du ratio Ca/Mg. Ce rééquilibrage n'avait encore jamais été observé sur sol ultramafique, de même que l'augmentation de la translocation et du stockage du chrome et du cobalt dans les parties aériennes. Une étude microscopique devra encore être menée sur les prélèvements de feuilles afin de localiser et identifier les zones et moyens de séquestration de ces éléments. De même, la biomasse végétale est nettement améliorée par la mycorhization lorsque l'on ajoute 1t.ha⁻¹ de Superphosphate Triple. Ceci permettra à moyen termes une augmentation plus rapide de débris végétaux au sol, permettant à la fois une augmentation du potentiel mycorhizogène du sol en agissant comme paillage mais aussi une amélioration durable de la structure et des propriétés physico-chimiques de ces sols dégradés par l'apport de matière organique.

Des biais dans le protocole ont cependant participé à la diminution de la significativité des résultats et les expérimentations suivantes (*Costularia comosa* et *Carpolepis laurifolia*) ont intégré plusieurs corrections protocolaires afin d'assurer leur réussite.

Enfin, une partie du travail a porté sur le dosage de la Glomaline, comme mesure de la présence de la symbiose mycorhizienne, cependant, aucun résultat exploitable n'est ressorti de ces analyses. De fait, il serait intéressant de poursuivre dans cette voie pour éviter les biais évoqués par [Smith & Smith \(2011\)](#) lors de l'utilisation du taux de mycorhization comme seul indicateur de la présence de champignons mycorhiziens à arbuscule.

BIBLIOGRAPHIE

- Ahonen-Jonnarth U., Finlay R.D., Van Hees P., Lundstrom U.S. (2000). Organic acids produced by mycorrhizal *Pinus sylvestris* exposed to elevated aluminium and heavy metal concentrations. *New Phytol.*, 146, pp.557-67.
- Amijee F., Tinker P.B., Stribley D.P. (1989). The development of endomycorrhizal root systems. *New Phytol.*, 111, pp.435-446.
- Amir H., Pineau R., Violette Z. (1997). Premiers résultats sur les endomycorhizes des plantes de maquis miniers de Nouvelle-Calédonie. In: *The ecology of ultramafic and metalliferous areas*, Jaffre T. ed., ORSTOM, Nouméa, New Caledonia, pp.79-85.
- Amir H., Pineau R. (2003). Release of Ni and Co by microbial activity in New Caledonian ultramafic soils. *Can. J. Microbiol.*, 49, pp.288-293.
- Amir H., Perrier N., Rigault F., Jaffré T. (2007). Relationships between Ni-hyperaccumulation and mycorrhizal status of endemic plant species from New Caledonian ultramafic soils. *Plant Soil*, 293, pp.23-35.
- Amir H., Jasper D.A., Abbott L.K. (2008). Tolerance and induction of tolerance to Ni of arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils. *Mycorrhiza*, 19, pp.1-6.
- Amir H., Ducouso M. (2010). Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques. In: *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*. L'Huilier L. ed., IAC, Noumea, New Caledonia, pp.129-46.
- Amir H., Hassaïne N., Lagrange A. (2010a). Arbuscular mycorrhizal fungi, from New Caledonian ultramafic soils, improve tolerance to nickel of endemic plant species. Submitted to *Austral Ecol.*
- Amir H., Jourand P., Cavaloc Y., Ducouso M. (2010b). Role of mycorrhizal fungi on the alleviation of heavy metal toxicity on plant. Non publié.
- Andrade S., Gratao P., Silveira A., Schiavinato M., Azevedo R., Mazzafera P. (2009). Zn uptake, physiological response and stress attenuation in mycorrhizal jack bean growing in soil with increasing Zn concentrations. *Chemosphere*, 75, pp.1363-1370.
- Andrade S., Gratao P., Azevedo R., Silveira A., Schiavinato M., Mazzafera P. (2010). Biochemical and physiological changes in jack bean under mycorrhizal symbiosis growing in soil with increasing Cu concentrations. *Environ. Exp. Bot.*, 68, pp.198-207.
- Arriagada C., Pereira G., Garcia-Romera I., Ocampo J. (2010). Improved zinc tolerance in *Eucalyptus globulus* inoculated with *Glomus deserticola* and *Trametes versicolor* or *Corioloopsis rigida*. *Soil Biol. Biochem.*, 42, pp.118-124.
- Audet M.A. (2008). Le massif du Koniambo, Nouvelle-Calédonie. Formation et obduction d'un complexe ophiolitique du type SSZ. Enrichissement en nickel, cobalt et scandium dans les profils résiduels. Thèse. 322pp.
- Augé R.M. (2001). Water relations, drought and vesicular arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Mycorrhiza*, 11, pp.3-42.
- Baeyens J. (1967). Nutrition des plantes de culture. *Crop nutrition*, 687p.
- Barrière R., Dagostini G., Rigault F., Munzinger J. (2007). Caractérisation et cartographie de la végétation des milieux miniers de la côte Ouest de la Nouvelle-Calédonie. Rapport IRD/DDEE Province Nord. 55 p + cartes.
- Bashan Y., Hernandez J.P., Leyva L.A., Bacilio M. (2002). Alginate microbeads as inoculant carriers for plant growth-promoting bacteria. *Biol. Fertil. Soils*, 35, pp.359-68.
- Bellion M., Courbot M., Jacob C., Blaudez D., Chalot M. (2006). Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Lett.*, 254, pp.173-181.
- Berthelin J., Munier-Lamy C., Leyval C. (1995). Effect of microorganisms on mobility of heavy metals in soils. In: *Environmental impact of soil component interactions. Metals, other inorganics and microbial activities*. Huang P.M. ed., CRC Lewis, London, pp. 3-17.
- Bissonnette L., ST-ARNAUD M., Labrecque M. (2010). Phytoextraction of heavy metals by two *Salicaceae* clones in symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi during the second year of a field trial. *Plant Soil*, 332, pp.55-67.
- Bolan N.S. (1991). A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants. *Plant Soil*, 134, pp.189-207.
- Borggaard O.K. (1983). The influence of iron oxides on phosphate adsorption by soil. *Journal of Soil Science*, 34, pp.333-341.
- Brady K.U., Kruckeberg A.R., Bradshaw H.D. (2005). Evolutionary ecology of plant adaptation to serpentine soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, pp.243-66.
- Brooks R.R. (1987). Serpentine and its vegetation: a multidisciplinary approach. *Ecology, phytogeography and physiology series*, 1, 454p.
- Brundrett M. (2009). Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving con-

- flicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil*, 320, pp.37-77.
- Bucher M. (2007). Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces. *New Phytol.*, 173, pp.11-26.
- Cabala J., Krupa P., Misz-Kennan M. (2009). Heavy metals in mycorrhizal rhizospheres contaminated by Zn-Pb mining and smelting around Olkusz in southern Poland. *Water air Soil Pollut.*, 199, pp.139-49.
- Cavagnaro T., Smith F., Hay G., Carne-Cavagnaro V., Smith S. (2004). Inoculum type does not affect overall resistance of an arbuscular mycorrhiza-defective tomato mutant to colonization but inoculation does change competitive interactions with wild-type tomato. *New Phytol.*, 161, pp.485-94.
- Carvalho L., Cacador I., Martins-Loucao M. (2006). Arbuscular mycorrhizal fungi enhance root cadmium and copper accumulation in the roots of the salt marsh plant *Aster tripolium* L. *Plant Soil*, 285, pp.161-69.
- Cavagnaro T.R., Jackson L.E., Six J., Ferris H., Goyal S. (2006). Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability, and soil aggregates in organic tomato production. *Plant Soil*, 282, pp.209-25.
- Cherrier J.F. (1990). Reverdissement des terrains miniers en Nouvelle-Calédonie. *Bois et Forêts des Tropiques*, 226, 3, pp.5-23.
- Cluzel D., Aitchison J., Black P.M., Picard C. (1999). Origin and fate of Southwest Pacific marginal basins; an appraisal from New Caledonia. In: *Mid-Cretaceous to recent plate boundary processes in the Southwest Pacific*, Baldwin L. ed., Penrose Conference, Abstr. Vol., pp.77-79.
- Code Minier (2009). Code Minier De La Nouvelle-Calédonie (Partie Juridique). 35p.
- Coleman R.G., Jove C. (1992). Geological origin of serpentinites. In: *The Vegetation of Ultramafic (Serpentine) Soils*. Baker A.J.M. ed., Andover, pp.1-17.
- Cornwell W.K., Bedford B.L., Chapin C.T. (2001). Occurrence of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a Phosphorus poor wetland and mycorrhizal response to Phosphorus fertilization. *Am. J. of Botany*, 88, 10, pp.1824-29.
- Courbot M., Diez L., Ruotolo R., Chalot M., Leroy P. (2004). Cadmium-Responsive Thiols in the Ectomycorrhizal Fungus *Paxillus involutus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, pp.7413-17.
- Daram P., Brunner S., Persson B., Amrhein N., Bucher M. (1998). Functional analysis and cell-specific expression of a phosphate transporter from tomato. *Planta*, 206, pp.225-33.
- Day M.J., Currah R.S. (2011). Role of selected dark septate endophyte species and other hyphomycetes as saprobes on moss gametophytes. *Botany*, 89, pp.349-59.
- Deram A., Languereau-Leman F., Howsam M., Petit D., Van Haluwyn C. (2008). Seasonal patterns of cadmium accumulation in *Arrhenatherum eleatius* (Poaceae): Influence of mycorrhizal and endophytic fungal colonisation. *Soil Biol. Biochem.*, 40, pp.845-48.
- Doherty J.H., Baoming J.I., Gasper B.B. (2008). Testing nickel tolerance of *Sorghastrum nutans* and its associated soil microbial community from serpentine and prairie soils. *Environ. Pollut.*, 151, pp.593-98.
- Dong Y., Zhu Y., Smith F., Wang Y., Chen B. (2008). Arbuscular mycorrhiza enhanced arsenic resistance of both white clover (*Trifolium repens* Linn.) and Ryegrass (*Lolium perenne* L.) plants in arsenic-contaminated soil. *Environ. Pollut.*, 155, pp.174-81.
- Doubková P., Suda J., Sudová R. (2012). The symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi contributes to plant tolerance to serpentine edaphic stress. *Soil Biology & Biochemistry*, 44, pp.56-64.
- Duponnois R., Ouahmane L., Galiana A., Hafidi M., Prin Y., Dreyfus B. (2007). Valoriser et conserver les ressources forestières méditerranéennes: rôle potentiel des champignons mycorrhiziens associés à la strate arbustive pionnière. *Bois et Forêts des Tropiques*, 294, pp.29-37.
- Facelli E., Smith S.E., Facelli J., Christophersen H., Smith F.A. (2010). Underground friends or enemies: model plants help to unravel direct and indirect effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant competition. *New Phytol.*, 185, pp.1050-61.
- Feng G., Song Y.C., Li X.L., Christie P. (2003). Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to utilization of organic sources of phosphorus by red clover in a calcareous soil. *Appl. soil Ecol.*, 22, pp.139-48.
- Ferrol N., Gonzalez-Guerrero M., Valderas A., Benabdallah K., Azcon-Aguilar C. (2009). Survival strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in Cu-polluted environments. *Phytochem. Rev.*, 8, pp.551-59.
- Gamalero E., Lingua G., Berta G., Glick B. (2009). Beneficial role of plant growth promoting bacteria and arbuscular mycorrhizal fungi on plant responses to heavy metal stress. *Can. J. Microbiol.*, 55, pp.501-14.
- Gildon A., Tinker P. (1981). A heavy metal-tolerant strain of a mycorrhizal fungus. *Trans. Brit. Mycol. Soc.*, 77, pp.648-49.
- Gimmler H., De Jesus J., Greiser A. (2001). Heavy metal resistance of the extreme acidotolerant filamentous fungus *Bispora* sp. *Microb. Ecol.*, 42, pp.87-98.
- Gonçalves S., Portugal A., Goncalves M., Vieira R., Martins-Loucao M., Freitas H. (2007). Genetic diversity and differential in vitro responses to Ni in *Cenococcum geophilum* isolates from serpentine soils in Portugal. *Mycorrhiza*, 17, pp.677-86.
- Gonzalez-Guerrero M., Cano C., Azcon-Aguilar C., Ferrol N. (2007). GintMT1 encodes a functional metallothionein in *Glomus intraradices* that responds to oxidative stress. *Mycorrhiza*, 17, pp.327-35.

- Gonzalez-Guerrero M., Melville L., Ferrol N., Lott J., Azcon-Aguilar C., Peterson R.I. (2008). Ultrastructural localization of heavy metals in the extraradical mycelium and spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Can. J. Microbiol.*, 54, pp.103-10.
- Gordon-Weeks R., Tong Y., Davies T., Leggewie G. (2003). Restricted spatial expression of a high affinity phosphate transporter in potato roots. *J. Cell Sci.*, 116, pp.3135-44.
- Grace E.J., Cotsaftis O., Tester M., Smith F.A., Smith S.E. (2009). Arbuscular mycorrhizal inhibition of growth in barley cannot be attributed to extent of colonization, fungal phosphorus uptake or effects on expression of plant phosphate transporter genes. *New Phytol.*, 181, pp.938-49.
- Graham J.H., Syvertsen J.P. (1984). Influence of vesicular arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of roots of two citrus rootstocks. *New Phytol.*, 97, pp. 277-84.
- Grandcolas P., Murienne J., Robillard T., Desutter-Grandcolas L., Jourdan H., Guilbert E., Deharveng L. (2008). New Caledonia very old Darwinian island? *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 363, pp.3309-17.
- Grange B. (2012). L'approche paysagère pour des stratégies d'action en vue d'optimiser la conservation et la restauration d'un écosystème menacé : exemple de la forêt sèche de Nouvelle-Calédonie. Master Ingénierie des territoires. Angers, France, 99p.
- Guo B.Z., An Z.Q., Hendrix J.W. (1994). A mycorrhizal pathogen (*Glomus macrocarpum* Tul. & Tul.) of tobacco: effects of long- and short-term cropping on the mycorrhizal fungal community and stunt disease. *Appl. Soil Ecol.*, 1, pp.269-76.
- Gustafson D., Casper B. (2004). Nutrient addition affects AM fungal performance and expression of plant/fungal feedback in three serpentine grasses. *Plant and Soil*, 259, pp.9-17.
- Gustafson D., Casper B. (2006). Differential host plant performance as a function of soil arbuscular mycorrhizal fungal communities: experimentally co-occurring *Glomus* species. *Plant Ecol.*, 186, pp.257-63.
- Harrison M., Van Buuren M. (1995). A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*. *Nature*, 378, pp.626-32.
- Héry M., Philippot L., Mériaux E., Poly F., Le Roux X., Navarro E. (2005). Nickel mine spoils revegetation attempts: Effect of pioneer plants on two functional bacterial communities involved in the N cycle. *Environmental Microbiology*, 7, 4, pp.486-98.
- Hildebrandt U., Regvar M., Bothe H. (2007). Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochem.*, 68, pp.139-46.
- Hinsinger P., Bengough A., Vetterlein D., Young I. (2009). Rhizosphere: biophysics, bio-geochemistry and ecological relevance. *Plant Soil*, pp.321, 117-152.
- Honglin H., Shuzhen Z., Chen B., Wu N., Shan X., and Christ P. (2006). Uptake of atrazine and cadmium from soil by maize (*Zea mays* L.) in association with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus etunicatum*. *J. Agric. Food Chem.*, 54, pp.9377-9382.
- Hope G., Pask J. (1998). Tropical vegetational change in the late Pleistocene of New Caledonia. *Palaeogeography, Palaeoclimatologie, Palaeoecology*, 142, pp.1-21.
- ISEE (2010)A, B.
- Jacob C., Courbot M., Brun A., Steinman H., Jaquot J., Botton B., Chalot M. (2001). Molecular cloning, characterizing and regulation by cadmium of a superoxide dismutase from the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*. *Eur. J. Biochem.*, 268, pp.3223-32.
- Jaffré T. (1980). Etude écologique du peuplement végétal des sols dérivés de roches ultrabasiques en Nouvelle-Calédonie. Thèse, Univ. Paris-Sud (XI)-ORSTOM, Paris.
- Jaffré T., Veillon J.M. (1990). Etude floristique et structurale de deux forêts denses humides sur roches ultrabasiques en Nouvelle-Calédonie. *Bull. Mus. natl. Hist. nat., Paris*, 12, B, 3-4, pp.243-273.
- Jaffré T., Rigault F. (1991a). Recherches sur les possibilités d'implantation végétale sur déblais miniers. *Sci. Vie Bota.*, 5, 77p.
- Jaffré T. (1993). The relationship between ecological diversity and floristic diversity in New Caledonia. *Biodiversity letter*, 1, pp.82-87.
- Jaffré T., Gauthier D., Rigault F., Mccoy S. (1994). Les Casuarinaceae endémiques, caractéristiques écologiques et nutritionnelles. *Bois et Forêts des Tropiques*, 242, pp.31-43.
- Jaffré T., Dagostini G., Rigault F. (2003). Identification typologie et cartographie des groupements végétaux de basse altitude du Grand Sud Calédonien et de la vallée de la Tontouta. *Sci. Vie, Bota.*, 12, 84p.
- Jaffré T., Rigault F., Dagostini G., Tinel J., Munzinger J. (2009a). Fichier écologique des plantes vasculaires autochtones de la Nouvelle-Calédonie. *En préparation*.
- Jaffré T., Rigault F., Dagostini G., Tinel-Fambart J., Wulff A., Munzinger J. (2009b). Input of the different vegetation units to the richness and endemism of the New Caledonian flora. 11th Pacific Sciences Inter Congress, 2-6 march 2009, Tahiti.
- Jakobsen I. (2004). Hyphal fusion to plant species connections - giant mycelia and community nutrient flow. *New Phytol.*, 164, pp.4-7.
- Jansa J., Weimken A., Frossard E. (2006). The effects of agricultural practices on arbuscular mycorrhizal fungi. In: *Function of Soils for Human Societies and the Environment*. Frossard E. ed., Geological Society, London, pp.89-115.
- Jarstfer A.G., Farmer-Koppenol P., Sylvia D.M. (1998). Tissue magnesium and calcium affect arbuscu-

- lar mycorrhiza development and fungal reproduction. *Mycorrhiza*, 7, pp.237-242.
- Jenny H. (1980). The Soil Resource: Origin and Behaviour. Springer, New York.
- Johnson N. (2010). Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytol.*, 185, pp.631-47.
- Johnson N., Graham J., Smith F. (1997). Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytol.*, 135, pp.575-86.
- Joner E., Briones R., Leyval C. (2000). Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium. *Plant Soil*, 226, pp.227-34.
- Joner E., Leyval C. (2001). Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes. *Biol. Fertil. Soils*, 33, pp.351-57.
- Jones M., Smith S. (2004). Exploring functional definitions of mycorrhizas: Are mycorrhizas always mutualisms? *Can. J. Bot.*, 82, pp.1089-109.
- Joshi U.N., Luthra Y.P. (2000). An overview of heavy metals: Impact and remediation. *Current Science*, 78, 7, pp.773-74.
- Jourand P., Ducouso M., Reid R., Majorel C., Richert C., Riss J., Lebrun M. (2010a). Nickel-tolerant ectomycorrhizal *Pisolithus albus* ultramafic ecotype isolated from nickel mines in New Caledonia strongly enhance growth of a host plant at toxic nickel concentrations. *Tree Physiol.*, 30, pp.1311-19.
- Jourand P., Ducouso M., Loulergue-Majorel C., Hannibal L., Santoni S., Prin Y., Lebrun M. (2010b). Ultramafic soils from New Caledonia structure *Pisolithus albus* in ecotype. *FEMS Microbiol Ecol.*, 72, pp.238-49.
- Jumpponen A. (2001). Dark septate endophytes - are they mycorrhizal? *Mycorrhiza*, 11, pp.207-211.
- Kazakou E., Dimitrakopoulos P., Baker A., Reeves R., Trumbis A. (2008). Hypotheses, mechanisms and trade-offs of tolerance and adaptation to serpentine soils: from species to ecosystem level. *Biol. Rev.*, 83, pp.495-508.
- Khade S., Adholeya A. (2007). Feasible bioremediation through arbuscular mycorrhizal fungi imparting heavy metal tolerance: a retrospective. *Bioremediat. J.*, 11, 33-43.
- Kier G., Kreft H., Lee T.M., Jetz W., Ibisch P.L., Nowicki C., Mutke J., Barthlott W. (2009). A global assessment of endemism and species richness across island and mainland regions. 106, 23, pp.9322-27.
- Klironomos J.N. (2003). Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, 84, pp.2292-301.
- Koide R.T. (1991). Nutrient supply, nutrient demand and plant-response to mycorrhizal infection. *New Phytol.*, 117, pp.365-86.
- Kormanik P.P., and McGraw A.C. (1982). Quantification of Vesicular-arbuscular Mycorrhizae in Plant Roots. In: *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. Schenck N.C. ed., The American Phytopathological Society, pp.36-37.
- Kothamasi D., Kuyah R.C., and Babu C.R. (2001). Arbuscular mycorrhizae in plant survival strategies. *Tropical Ecology*, 42, 1, pp.1-13.
- Kunze R., Frommer W., Flugge U.I. (2002). Metabolic engineering of plants: the role of membrane transport. *Metabol. Eng.*, 4, pp.57-66.
- L'Huillier L., Wulff A., Gâteblé G., Fogliani B., Zongo C., Jaffré T. (2010). La restauration des sites miniers. In: *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*. L'Huillier L. ed., IAC, Noumea, New Caledonia, pp.147-230.
- Lagrange A. (2009). Études écologiques et microbiologiques des espèces du genre *Costularia* (Cyperaceae), pionnières des sols ultramafiques en Nouvelle-Calédonie : perspectives d'application à la restauration écologique. Thèse, Nouvelle-Calédonie, 234p.
- Lagrange A., Ducouso M., Jourand P., Majorel C., Amir H. (2011). New insights into the mycorrhizal status of Cyperaceae from ultramafic soils in New Caledonia. *Can. J. microbiol.*, 57, pp.21-28.
- Lambers H., Mougé C., Jaillard B., Hinsinger P. (2009). Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant Soil*, 321, pp.83-115.
- Landis F.C., Fraser L.H. (2008). A new model of carbon and phosphorus transfers in arbuscular mycorrhizas. *New Phytol.*, 177, pp.466-79.
- Lanfranco L., Bolchi A., Ros S., Ottonello S., Bonfante P. (2002). Differential expression of metallothionein gene during the presymbiotic versus the symbiotic phase of an arbuscular mycorrhizal fungus. *Plant Physiol.*, 130, pp.58-67.
- Laroche O. (2012). Revégétalisation de sites miniers et valorisation de boues de stations d'épuration : cas de la Nouvelle-Calédonie. Thèse.
- Latham M., Quantin P., Aubert G. (1978). Étude des sols de Nouvelle-Calédonie. Notice explicative, 78. ORSTOM.
- Leclerc N. (2012). Enrobage de semences endémiques avec des spores de champignons mycorrhiziens pour la restauration écologique par hydroseeding des terrains miniers dégradés en Nouvelle-Calédonie. Master Gestion Durable du Végétal. 80p.
- Leung H., Ye Z., Wong M. (2007). Survival strategies of plants associated with arbuscular mycorrhizal fungi on toxic mine tailings *Chemosphere*, 66, pp.905-15.
- Leyval C., Joner E. (2001). Bioavailability of heavy metals in the mycorrhizosphere. In: *Trace elements in the Rhizosphere*. Gobran G.R. ed., CRC Press, New York, pp.165-85.

- Li Y., Peng J., Shi P. and Zhao B. (2009). The effect of Cd on mycorrhizal development and enzyme activity of *Glomus mosseae* and *Glomus intraradices* in *Astragalus sinicus* L.. *Chemosphere* 75, pp.894-99.
- Lovelock C.E, Wright S.F, Clark D.A., Ruess R.W. (2004). Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *Journal of Ecology*, 92, pp. 278-87.
- Lowry P.P.II. (1996). Diversity, endemism, and extinction in the flora of New Caledonia. In: *Rare, Threatened, and endangered floras of Asia of the Pacific Rim*. Peng C.I. ed., Taipei, 16, pp.181-206.
- Lowry P.P.II., Munzinger J., Bouchet P., Géraux H., Bauer A., Langrand O., Mittermeier R.A. (2004). New Caledonia. In: *Hotspots Revisited: Earth's Biologically Richest and Most Threatened Terrestrial Ecoregions*, Mittermeier R.A. ed., CEMEX, Mexico. pp.193-97.
- Ma Y., Dickinson N., Wong M. (2006). Beneficial effects of earthworms and arbuscular mycorrhizal fungi on establishment of leguminous trees on Pb/Zn mine tailings. *Soil Biol. Biochem.*, 38, pp.1403-1412.
- Marques A., Oliveira R., Rangel A., Castro P. (2006). Zinc accumulation in *Solanum nigrum* is enhanced by different arbuscular mycorrhizal fungi. *Chemosphere*, 65, pp.1256-63.
- Marques A., Oliveira R., Samardjieva K., Pissara J., Rangel A., Castro P. (2007). *Solanum nigrum* grown in contaminated soil: effect of arbuscular mycorrhizal fungi on zinc accumulation and histolocalisation. *Environ. pollut.*, 145, pp.691-99.
- Marschner H., Cakmak I. (1986). Mechanism of phosphorus-induced zinc deficiency in cotton. *Physiologia Plantarum*, 68, pp.491-96.
- Marx D.H., Hatch A.B. and Mendicino J.F. (1977). High soil fertility decreases sucrose content and susceptibility of loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius*. *Can. J. Bot.* 55, pp.1569-74.
- Meharg A. (2003). The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations. *Mycol. Res.*, 107, pp.1253-65.
- Merryweather J., Fitter A. (1995). Phosphorus and carbon budgets: mycorrhizal contribution in the obligately mycorrhizal *Hyacinthoides non-scruta* (L.) Chouard ex Rothm. under natural conditions. *New Phytol.*, 129, pp.619-27.
- Modjo H.S., Hendrix J.W. (1986). The mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpum* as a cause of tobacco stunt disease. *Phytopathology*, 76, pp.668-91.
- Molina, R., Massicotte, H. and Trappe, J.M. (1992). Specific phenomena in mycorrhizal symbiosis; Community ecological consequences and practical implications. In: *Mycorrhizal functioning an integrative plant fungi process*. Chapman, Ed. My Allen. pp.357-23.
- Moore T.R., and Zimmermann R.C. (1977). Establishment of vegetation on serpentine asbestos mine wastes, southeastern Quebec, *Can. J. of App. Eco.*, 14, pp.589-99.
- Morat P., Jaffré T., Tronchet F., Munzinger J., Pillon Y., Veillon J.M., Chalopin M. Le référentiel taxonomique «FLORICAL» et caractéristiques de la flore indigène de la Nouvelle Calédonie. *Adansonia*, 3. In press
- Morat P., Jaffré T., Veillon J.M., Mackee H.S. (1981). Végétation. In : *Atlas de Nouvelle-Calédonie et Dépendances*. ORSTOM, Paris-Nouméa, Pl. XV.
- Morat P., Jaffré T., Veillon J.M., Mackee H.S. (1986). Affinités floristiques et considérations sur l'origine des maquis miniers de la Nouvelle-Calédonie. *Bull. Mus. natn. Hist. nat.*, Paris, 4, B, *Adansonia*, 8, 2, pp.133-82.
- Munkvold L., Kjoller R., Vestberg M., Rosendahl S., Jakobsen I. (2004). Hight functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 163, pp.357-64.
- Murienne J., Grandcolas P., Piulachs M.D., Belles X., D'haese, Legendre F., Pellens R., Guilbert E. (2005). Evolution On A Shaky Piece Of Gondwana: Is Local Endemism Recent In New Caledonia? *Cladistics*, 21, pp.2-7.
- Myers N. (1998). Threatened biotas "Hot Spots" in tropical forest. *The Environmentalist*, 8, pp.107-208.
- Myers N., Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Da Fonseca G.A.B., Kent J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, pp.853-58.
- Nagy R., Drissner D., Amrhein N., Jakobsen I., Bucher M. (2008). Mycorrhizal phosphate uptake pathway in tomato is phosphorus-repressible and transcriptionally regulated. *New Phytol.*, 181, pp.950-59.
- Newsham K., Fitter A., Watkinson A. (1995). Multifunctionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends Ecol. Evol.*, 10, pp.407-11.
- Orłowska E., Mesjasz-Przybyłowicz J., Przybyłowicz W., Turnau K. (2008). Nuclear microprobe studies of elemental distribution in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of Ni-hyperaccumulator *Berkheya coddii*. *X-Ray Spectrom.* 37, pp.129-32.
- Ouziad F., Hildbrandt U., Schmelzer E., Bothe H. (2005). Differential gene expressions in arbuscular mycorrhizal-colonized tomato grown under heavy metal stress. *J. Plant Physiol.*, 162, pp.634-49.
- Parniske M. (2008). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 6, pp.763-75.
- Pawlowska T., Blaszkowski J., Ruhling A. (1996). The mycorrhiza status of plants colonizing a calamine spoil mound in southern Poland. *Mycorrhiza*, 6, pp.499-505.

- Pelletier B. (2006)*. Geology of the New Caledonia region and its implications for the study of the New Caledonian. Forum Biodiversité des écosystèmes corallines. *Doc. Sci. Tech.* pp.17-30.
- Perrier N., Amir H., Colin F. (2006)*. Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal-rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza*, 16, pp.449-58.
- Poulsen K.H., Nagy R., Gao L.L., Smith S.E., Bucher M. (2005)*. Physiological and molecular evidence for Pi uptake via the symbiotic pathway in a reduced mycorrhizal colonization mutant in tomato associated with a compatible fungus. *New Phytol.*, 168, pp.445-53.
- Proctor J., Woodell S.R.J. (1975)*. The ecology of serpentine soils. *Adv. Ecol. Res.*, 9, pp.255-365.
- Purin S., Rillig M.C. (2008)*. Immunocytolocalization of glomalin in the mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *Soil Biol. Biochem.*, 40, pp.1000-3.
- Raven P.H., Axelrod D.I. (1972)*. Plate tectonics and Australasian biogeography. *Science*, 176, pp.1379-86.
- Redon P., Béguiristain T., Leyval C. (2008)*. Influence of *Glomus intraradices* on Cd partitioning in a pot experiment with *Medicago trunculata* in four contaminated soils. *Soil Biol. Biochem.*, 40, pp.2710-12.
- Redon P., Béguiristain T., Leyval C. (2009)*. Differential effects of AM fungal isolates on *Medicago trunculata* growth and metal uptake in a multimetallic (Cd, Zn, Pb) contaminated agricultural soil. *Mycorrhiza*, 19, pp.187-95.
- Regvar M., Groznik N., Goljevšček K., Gogala N. (2001)*. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi from various disturbed ecosystems in Slovenia. *Acta Biol. Slov.*, 44, pp.27-34.
- Rillig M.C., Wright S.F., Nichols K.A., Schmidt W.F., Torn M.S. (2001)*. Large contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil*, 233, pp.167-77.
- Rufyikiri G., Huysmans L., Wannijn J., Van Hees M., Leyval C., Jakobsen I. (2004)*. Arbuscular mycorrhizal fungi can decrease the uptake of uranium by subterranean clover grown at high levels of uranium in soil. *Environ. Pollut.* 130, pp.427-36.
- Sadeque H., Kilham K., Alexander I. (2006)*. Influences of arbuscular fungus *Glomus mosseae* on growth and nutrition of lentil irrigated with arsenic contaminated water: rhizosphere: perspectives and challenges. *Plant Soil*, 283, pp.33-41.
- Schachtman D., Reid R., Ayling S. (1998)*. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell. *Plant Physiol.*, 116, pp.447-53.
- Schroeder M.S., and Janos D.P. (2004)*. Phosphorus and intraspecific density alter plant response to arbuscular mycorrhizas. *Plant and Soil*. 264, pp.335-48.
- Schüßler A., Walker C. (2010)*. The Glomeromycota. A species list with new families and new genera. Gloucester, England.
- Schützendübel A., Polle A. (2002)*. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal-induced oxidative stress and protection by mycorrhization. *J. Exp. Bot.*, 53, pp.1351-65.
- Singh A.K., Jamaluddin (2010)*. Effect of mulches on the efficiency of microbial inoculants and growth of *Ailanthus excelsa* in calcareous mined spoil. *Mycorrhiza news*, 22, 3, pp.12-15.
- Smith S.E. (1980)*. Mycorrhizas of autotrophic higher plants. *Biol. Rev.*, 55, pp.475-510.
- Smith S.E., Robson A.D., Abbott L.K. (1992)*. The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use. *Plant Soil*, 146, pp.169-79.
- Smith S.E., Read D.J. (1997)*. Mycorrhizal Symbiosis. Academic Press, 605p.
- Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. (2004)*. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: The contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytol.*, 162, pp.511-24.
- Smith S.E., Read D.J. (2008)*. Mycorrhizal Symbiosis. Academic. 787pp.
- Smith S.E., Smith F.A. (2011)*. Roles of Arbuscular Mycorrhizas in Plant Nutrition and Growth: New Paradigms from Cellular to Ecosystem Scales. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 62, pp.511-24.
- Smith S.E., Jakobsen I., Grolund M., Smith F.A. (2011)*. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant phosphorus (P) nutrition: interactions between pathways of P uptake in arbuscular Mycorrhizal (MA) roots have important implications for understanding and manipulating plant P acquisition. *Plant Physiol.*, DOI:10.1104.
- Stoltz E., Greger M. (2002)*. Accumulation properties of As, Cd, Cu, Pb and Zn by four wetland plant species growing on submerged mine tailings. *Environ. Exp. Bot.*, 47, pp.271-80.
- Stommel M., Mann P., Franken P. (2001)*. EST-library construction using spore RNA of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Mycorrhiza*, 10, pp.281-85.
- Strullu D.G. (1991)*. Les mycorhizes des arbres et plantes cultivées. Lavoisier, Paris.
- Treseder K.K., and Turner K.M. (2007)*. Glomalin in Ecosystems. 71, 4, pp.1257-66
- Trouvelot A., Kough J.I., Gianinazzi-Pearson V. (1986)*. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, Gianinazzi-Pearson V. ed., INRA, Paris, pp.217-21.

- Tseng C., Wang J., Yang L. (2009). Accumulation of copper, lead and zinc by in situ plants inoculated with AM fungi in multicontaminated soil. *Commun Soil Sci. Plant Anal.*, 40, pp.21-22.
- Turnau K., Mesjasz-Przybylowicz J. (2003). Arbuscular mycorrhiza of *Berkheya coddii* and other Ni-hyperaccumulating members of Asteraceae from ultramafic soils in South Africa. *Mycorrhiza*, 13, pp.185-90.
- Uehara G., and Gillman G. (1981). The mineralogy, chemistry, and physics of tropical soils with variable charge clays. 170pp.
- Usuki F., Narisawa K. (2007). A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. *Mycologia*, 99, 2, pp.145-84.
- Vallino M., Massa N., Lumini E., Bianciotto V., Berta G and, Bonfante P. (2006). Assessment of arbuscular mycorrhizal fungal diversity in roots of *Solidago gigantea* growing in a polluted soil in northern Italy. *Env. Microbiol.* 8, pp.971-83.
- Vallino M., Martino E., Boella F. Murat C., Chiappello M., Peretto S. (2009). Cu, Zn superoxide dismutase and zinc stress in the metal-tolerant ericoid mycorrhizal fungus *Oidodendron maius*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 293, pp.48-57.
- Vivas A., Barea J., Azcon R. (2005). Interactive effect of *Brevibacillus brevis* and *Glomus mosseae*, both isolated from Cd contaminated soil, on plant growth, physiological mycorrhizal fungal characteristics and soil enzymatic activities in Cd polluted soil. *Environ. Pollut.*, 134, pp.257-66.
- Vogel-Mikus K., Pongrac P., Kump P., Necemer M., Regvar M. (2006). Colonisation of a Zn, Cd, and Pb hyperaccumulator *Thlaspi praecox* Wulfen with indigenous arbuscular mycorrhizal fungal mixture induces changes in heavy metal and nutrient uptake. *Environ. Pollut.*, 139, pp.362-71.
- Wang B., Qiu Y.L. (2006). Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizae in land plants. *Mycorrhiza*, 16, pp.299-63.
- Westerbergh A. (1994). Serpentine and non-serpentine *Silene dioica* plants do not differ in nickel tolerance. *Plant and Soil*, 167, pp.297-03.
- Wright S.F., Franke-Snyder M., Morton J.B., Upadhyaya A. (1996). Time course study and partial characterization of a protein on hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi during active colonization of roots. *Plant and Soil*, 181, pp.193-203.
- Wright S.F., Upadhyaya A. (1996). Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein from arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, 161, pp.575-86.
- Wright S.F., Upadhyaya A. (1998). A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, 198, pp.97-107.
- Wright S.F., Upadhyaya A. (1999). Quantification of arbuscular mycorrhizal fungi activity by the glomalin concentration on hyphal traps. 8, 5, pp.283-85.
- Wulff A. (2012). Le microendémisme dans un hotspot de biodiversité : approche globale sur la flore vasculaire de la Nouvelle-Calédonie en analyse comparative au sein du genre *Scaevola*. Doctorat en sciences physiologiques et biologique des organismes – populations – interactions. 232pp.
- Zhang Q., Blaylock L.A., Harrison M.J. (2010). Two *Medicago truncatula* half-ABC transporters are essential for arbuscule development in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Cell*, 22, pp.1483-97.
- Zhang X., Lin A., Gao Y.I., Reid R., Wong M., Zhu Y. (2009). Arbuscular mycorrhizal colonisation increases copper binding capacity of root cell walls of *Oryza sativa* L., reduces copper uptake. *Soil Biol. Bioch.*, 41, 5, pp.930-35.
- Zongo (2010). Données biologiques et physiologiques sur les semences de quelques espèces de milieux ultramafiques néo-calédoniens. Doctorat en sciences, biologies et physiologies végétale appliquée. 382p.

SITIOGRAPHIE

- [1] *Ministère des Outre-mer*, page consultée le 29 mai 2012, *Présentation de la NC*, <http://www.outre-mer.gouv.fr/?presentation-nouvelle-caledonie.html>
- [2] *INSEE*, page consultée le 29 mai 2012, *Recensement de la population en NC*, http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref_id=ip1338
- [3] *Auteur non spécifié*, page consultée le 29 mai 2012, *Climat de la NC*, http://www.croixdusud.info/geo/nc_clim.php
- [4] *Direction Interrégionale de Météo-France en Nouvelle-Calédonie et à Wallis et Futuna*, page consultée le 30 mai 2012, *Météorologie de la NC*, <http://www.meteo.nc/>
- [5] *Antipode production*, page consultée le 12 Juin 2012, *Ass. pour la conservation du Mt panié*, http://www.biodiversite.nc/Dayu-Biik-L-Association-pour-la-Conservation-en-Cogestion-du-Mont-Panie_a133.html
- [6] *Association ENDEMI*A, page consultée le 25 Juillet 2012, *Descriptif d'A. neocaledonica*, <http://www.endemia.nc/flore/fiche513.html>
- [7] *Ghislaine Bourque*, page consultée le 15 août 2012, *Origine du nom des éléments chimiques*, <http://mendeleiev.cyberscol.qc.ca/carrefour/theorie/origine.html>
- [8] *Vice rectorat de la Nouvelle-Calédonie*, page consultée le 20 août 2012, *économie de la NC*, <http://www.ac-noumea.nc/sitevr/spip.php?article115>
- [9] *Schweizer Garten*, page consultée le 23 août 2012, *Engrais : vitamines pour le sol*, <http://www.hausinfo.ch/home/fr/jardin/conseils-entretien/engrais/engrais.html>
- [10] *Jean-Bernard FAYARD*, page consultée le 13 juin 2012, *La Nouvelle-Calédonie aujourd'hui : mutations et perspectives, rayonnement régional*, <http://www.ac-noumea.nc/histoire-geo/spp/spip.php?article183&artpage=2-2>



Laboratoire Insulaire du Vivant et de l'Environnement



AGROCAMPUS OUEST
CFR Angers

2, Rue André Le Nôtre
49000 Angers



Université de Nouvelle-Calédonie
EA4243 145 Av. J. Cook - R4
98851 Nouméa CEDEX

ANNEXES

Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage

Année universitaire : 2011 - 2012

Spécialisation : **Gestion Durable du Végétal** en Horticulture et Aménagement Paysager

Interactions entre mycorhization, nutrition en phosphore et adaptation de la plante
à la toxicité du nickel sur substrat ultramafique

Par : Antoine PIERART



Forêt noyée & maquis minier, barrage de Yaté. A. Pierart

Volet à renseigner par l'enseignant responsable de l'option/spécialisation*
Ou son représentant
Date : 09/10/12 Signature :

Bon pour dépôt (version définitive)

Autorisation de diffusion : Oui Non

Devant le jury :

Soutenu à Angers le :

9 Octobre 2012

Sous la présidence de : Jean-Charles MICHEL

Maître de stage : Pr. Hamid AMIR

Enseignant référent : Alexandre DEGRAVE

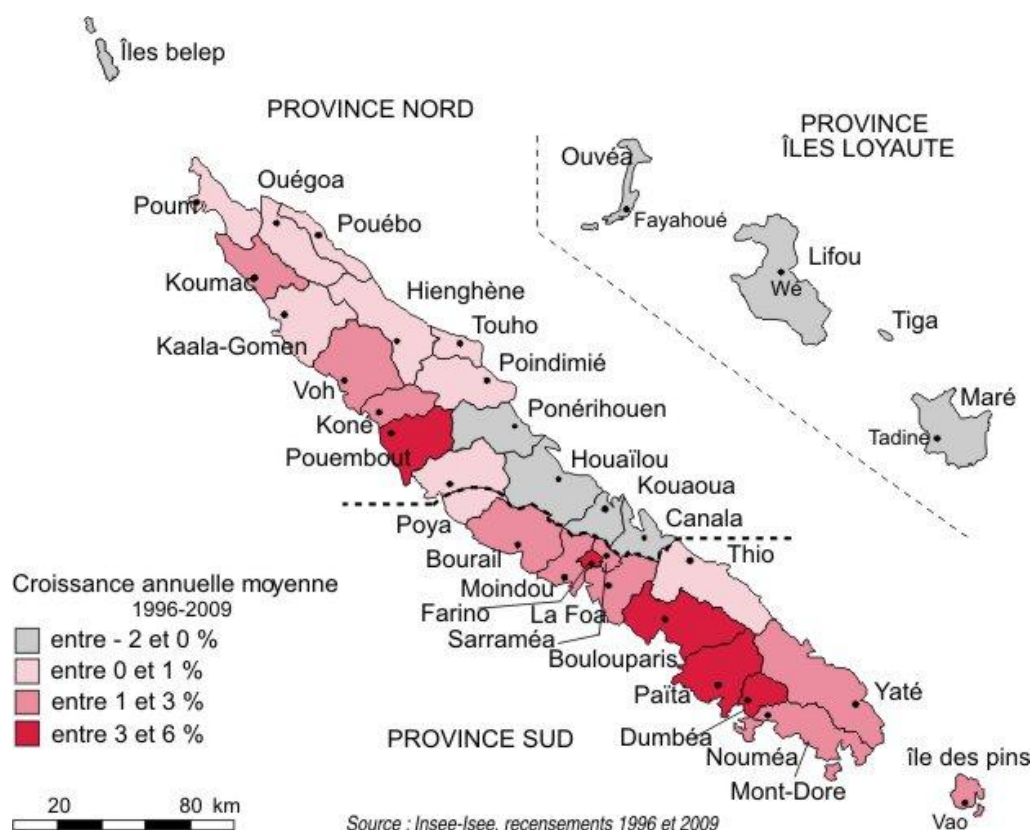
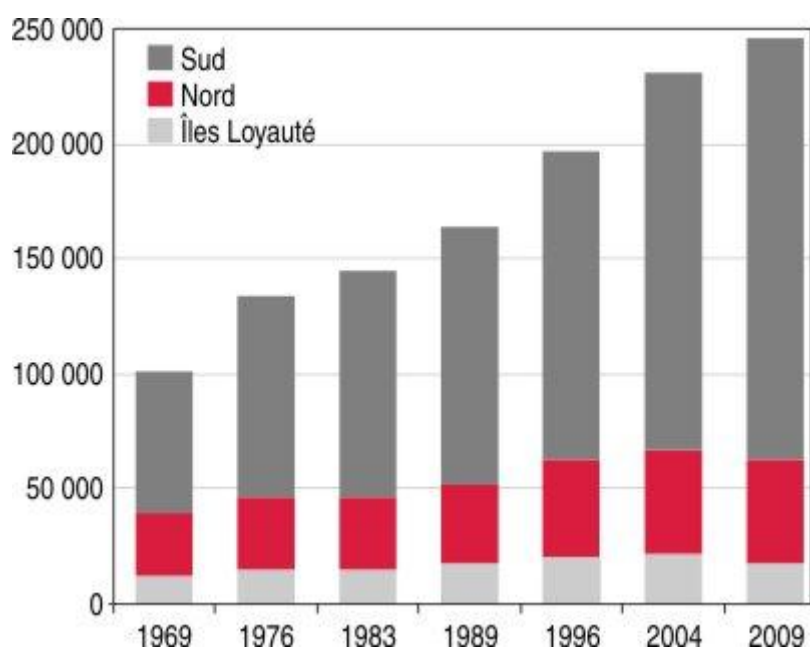
Autres membres du jury (Nom, Qualité) : Bachar BLAL, Armin BISCHOFF

"Les analyses et les conclusions de ce travail d'étudiant n'engagent
que la responsabilité de son auteur et non celle d'AGROCAMPUS OUEST".



Source : Adapté à partir de <http://www.outre-mer.gouv.fr/IMG/pdf/caledonie.pdf>

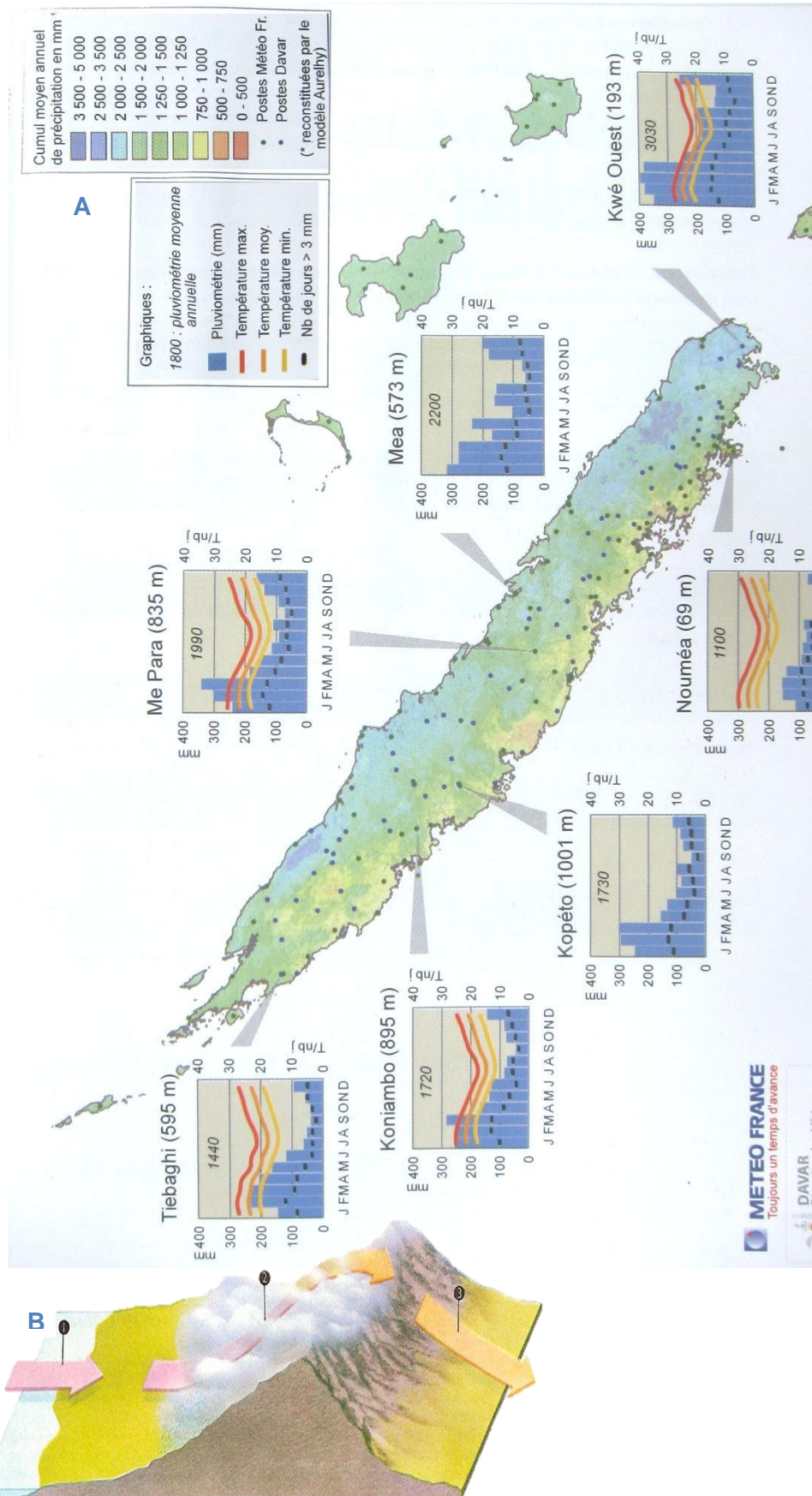
Annexe II : Population Calédonienne



Évolution de la population calédonienne,

Source http://www.insee.fr/fr/themes/document.asp?ref_id=ip1338

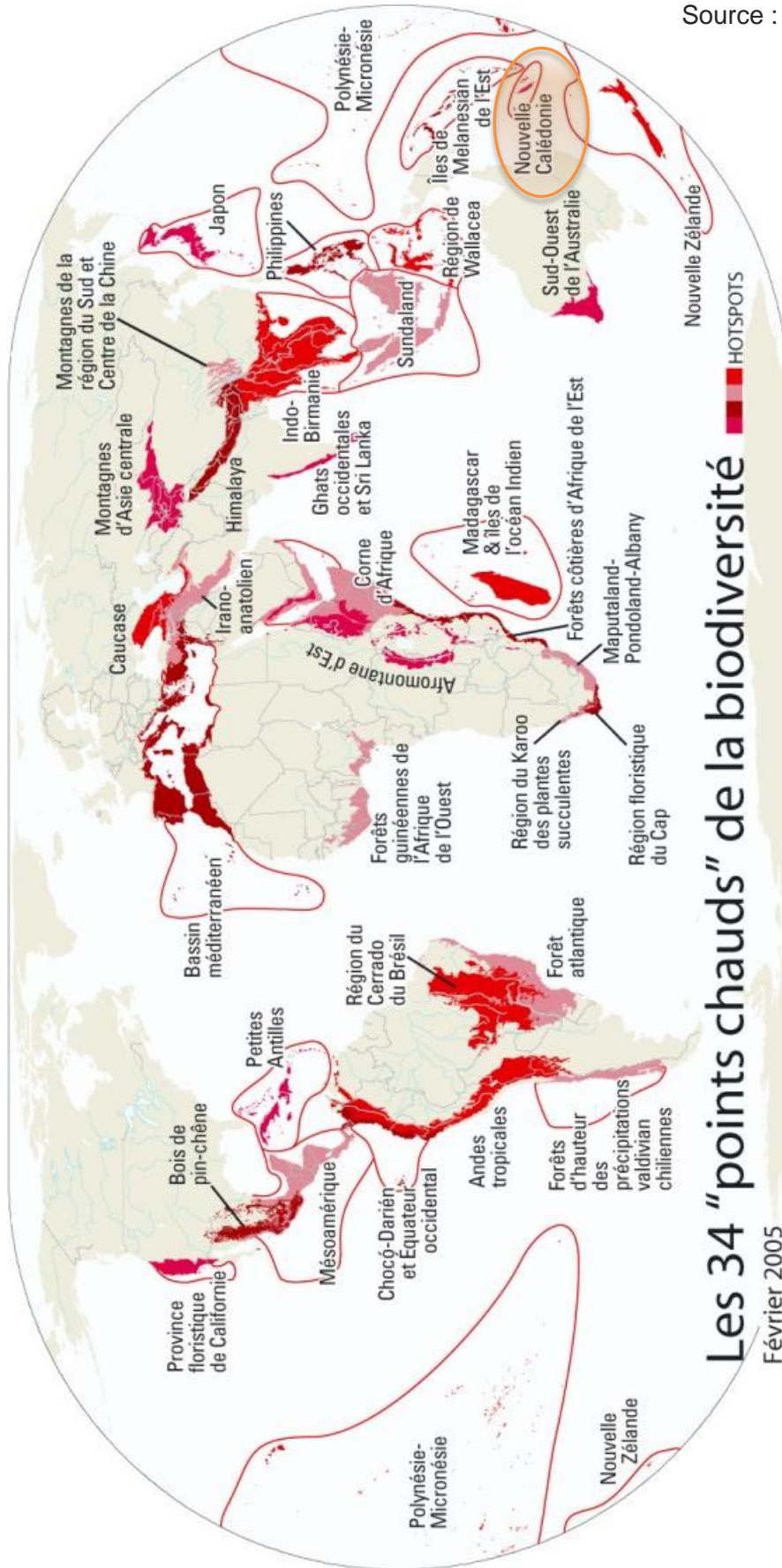
Annexe III : Climatologie du caillou



A : Carte de climatologie moyenne en NC, L'Huilier et al., 2010.

B : Effet de Foehn, http://www.daviddarling.info/images/foehn_effect.jpg

Source : CNRS



Annexe V : Formations végétales Calédoniennes & endémisme



A : Forêt humide d'altitude

B : Maquis minier d'altitude

C : Maquis minier de basse altitude

Crédit photo A.Pierart

A. Neocaledonica se retrouve dans l'ensemble de ces milieux sous différents écotypes.

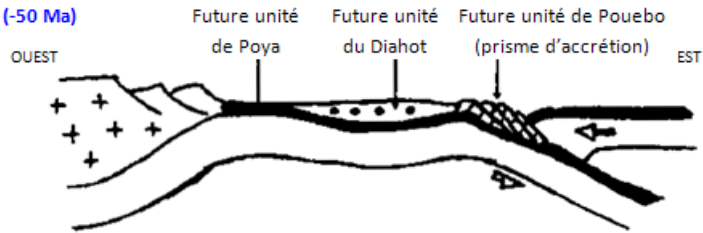


Annexe VI : Scénario géomorphologique de la NC

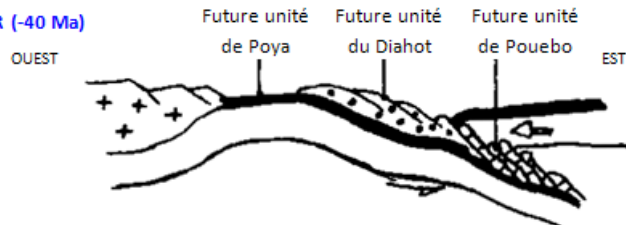
CRÉTACÉ SUPÉRIEUR (-87 Ma)



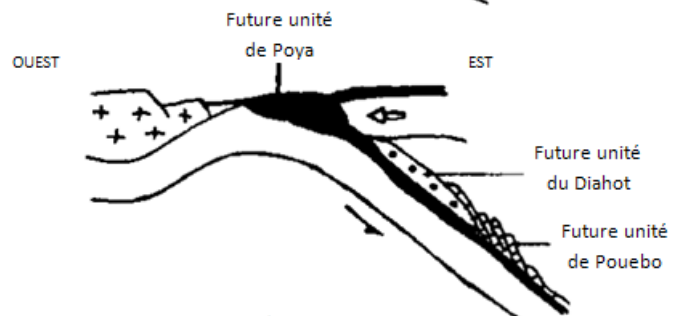
PALÉOCÈNE MOYEN (-50 Ma)
(Subduction)



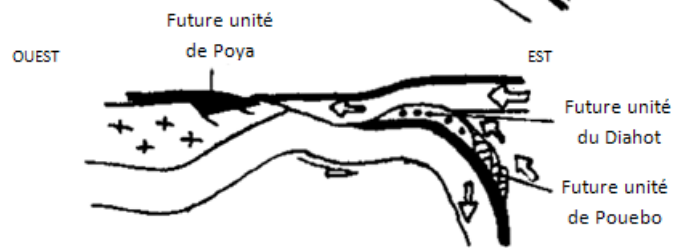
ÉOCÈNE MOYEN SUPÉRIEUR (-40 Ma)



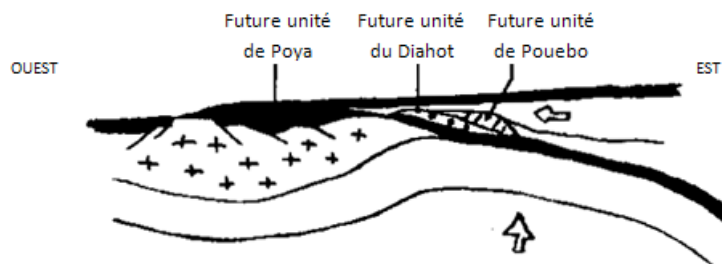
ÉOCÈNE SUPÉRIEUR (-35 Ma)
(Blocage de la subduction)



ÉOCÈNE SUPÉRIEUR (-32 Ma)
(Remontée des unités)

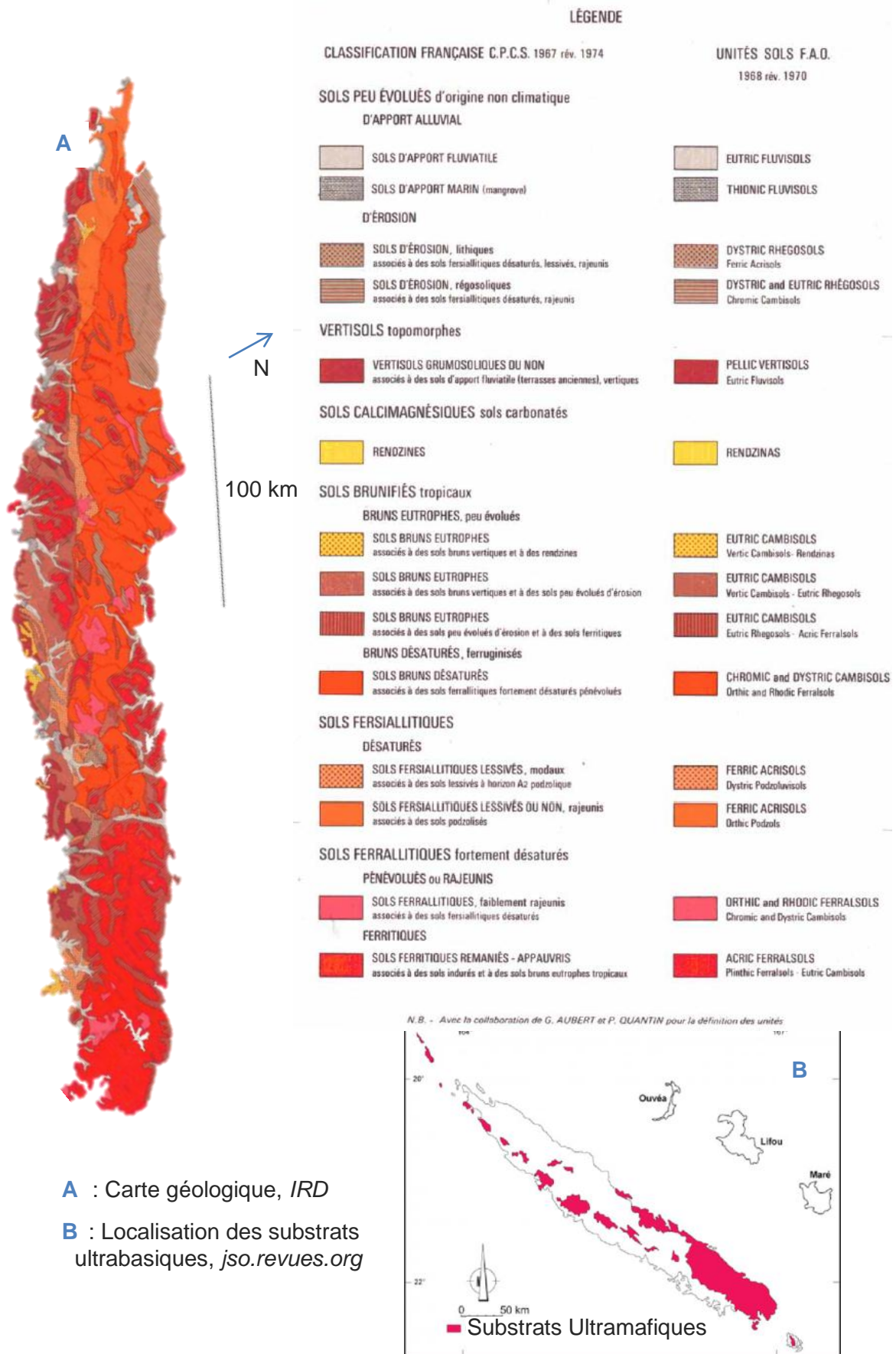


ÉOCÈNE TERMINAL OLIGOCÈNE (-30 Ma)



D'après Cluzel et al., 1999

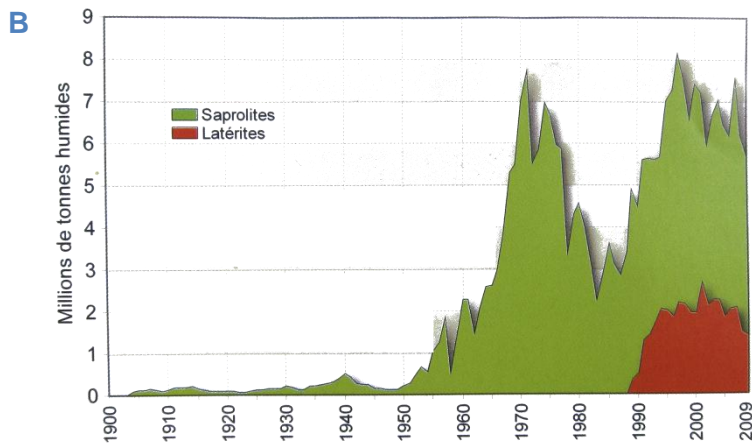
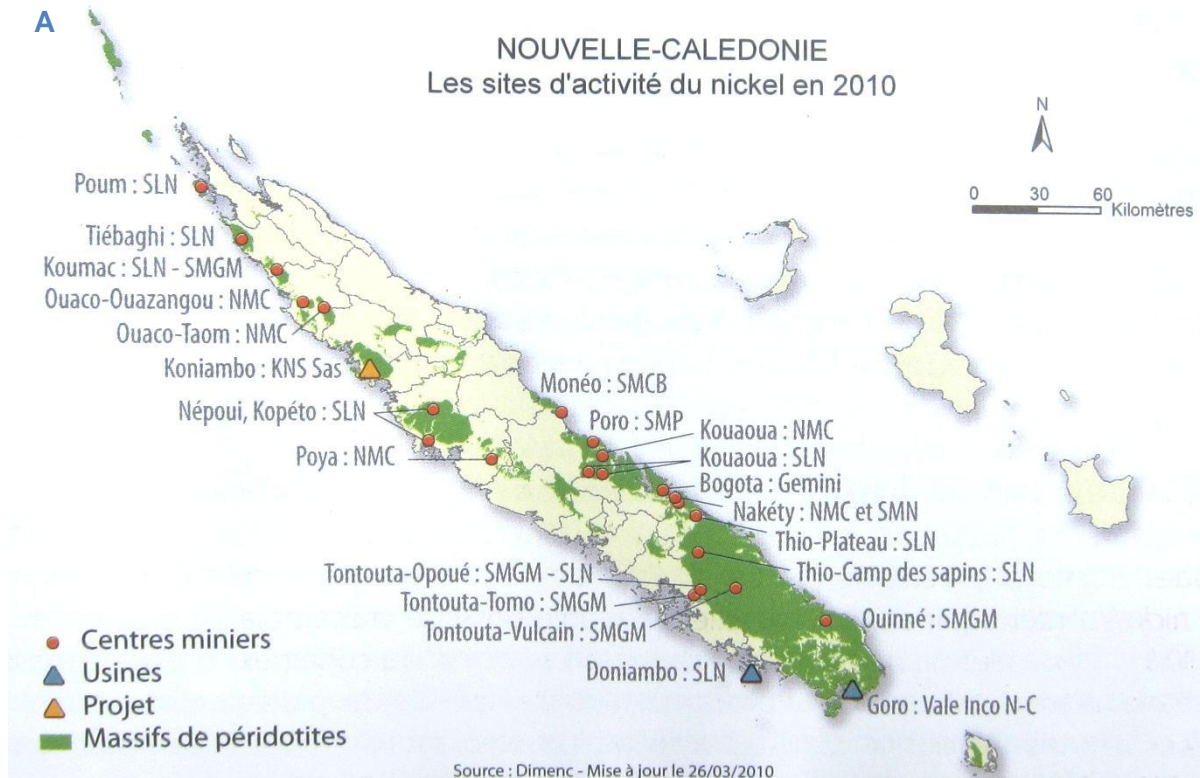
Annexe VII : Caractéristique et distribution des substrats Ultramaïques en NC



A : Carte géologique, IRD

B : Localisation des substrats ultrabasiqes, jso.revues.org

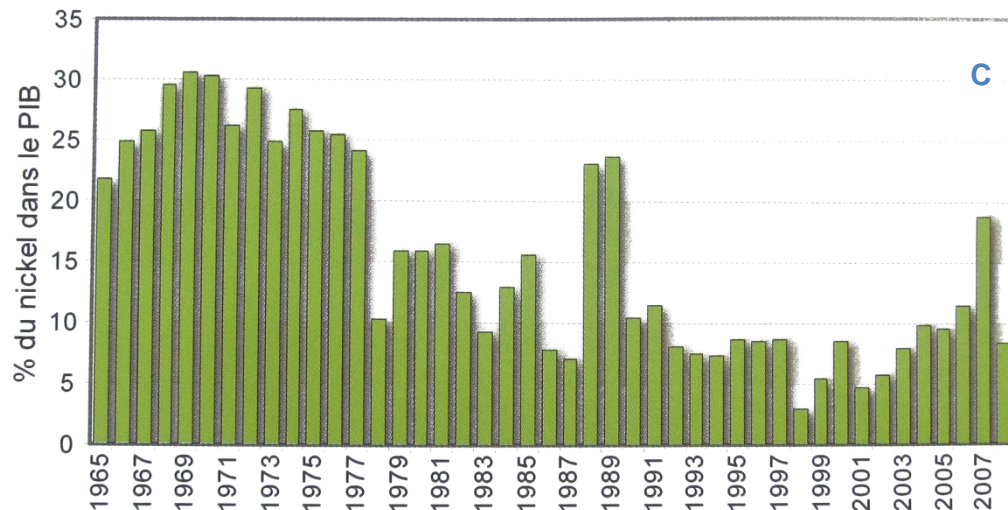
Annexe VIII : Expansion de l'exploitation minière



A : Centres miniers (rouge) et en projet (jaune) en NC, (L'Huillier et al., 2010)

B : Évolution de l'exploitation minière en NC (L'Huillier et al., 2010)

C : Part du Ni dans le PIB (L'Huillier et al., 2010)



Annexe IX : Exemples d'érosions et destruction des habitats



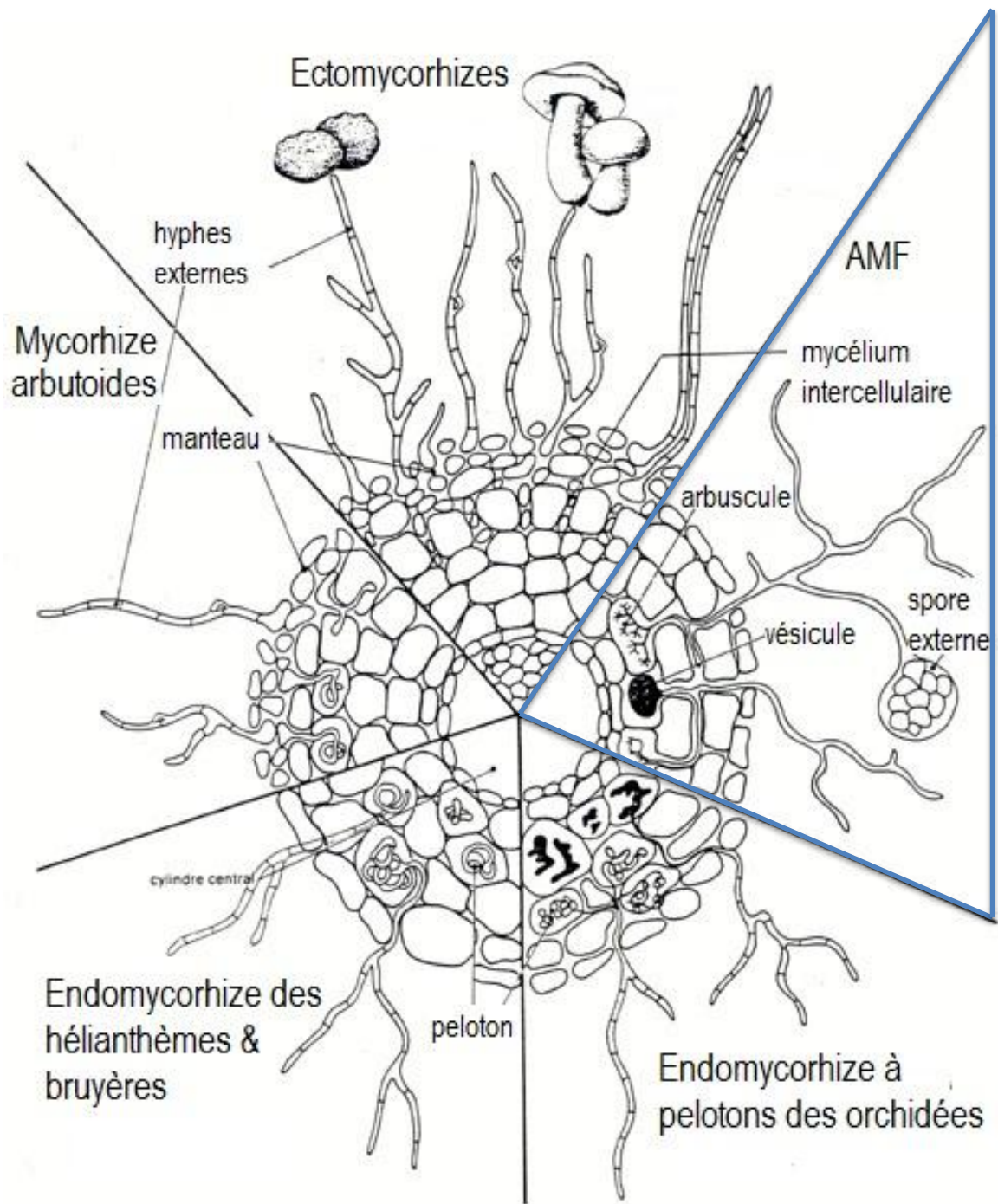
<http://jso.revues.org/docannexe/image/4052/img-3.png>

- a** - Ancienne mine (Thio), l'érosion se poursuit (>50ans après arrêt d'exploitation)
- b** - Mine en activité (Thio), destruction totale de la végétation sur des dizaines de km²
- c** - Nouvelle mine du sud de la Grande Terre, zone d'implantation
- d** - Vallée de la Kwé ouest, zone de décantation de boues épaissies
- e** - Figures d'érosion sur sol latéritique consécutives à la déforestation (rivière de La Coulée)

Annexe X : Techniques de revégétalisation

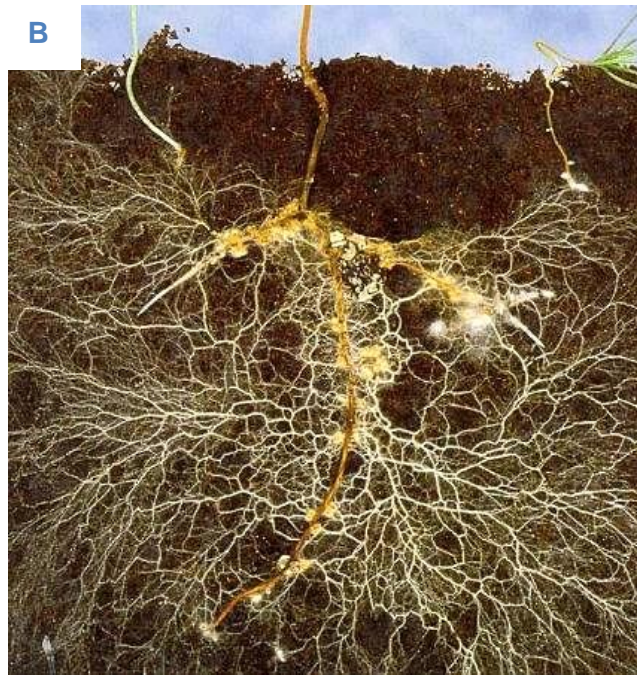
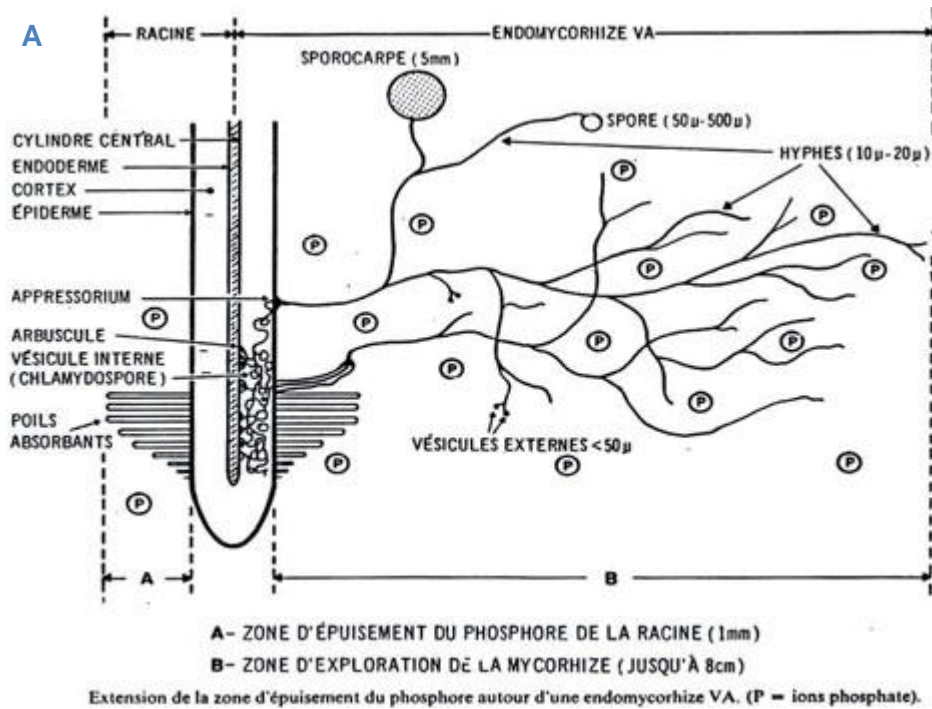


- A** : Camion d'hydroseeding en aspersion,
<http://www.topgunenterprisesllc.com/images/aboutTopGunEnterprise2.jpg>
- B** : Stériles hydroseedées (mulch visible en brun foncé sur les pentes),
<http://i22.servimg.com/u/f22/14/12/44/27/617.jpg>
- C** : Revégétalisation par plantation manuelle,
Photothèque Siras.nc



5 grands types de mycorhizes, adapté de <http://archimede.bibl.ulaval.ca/archimede/fichiers/22964/22964002.jpg>

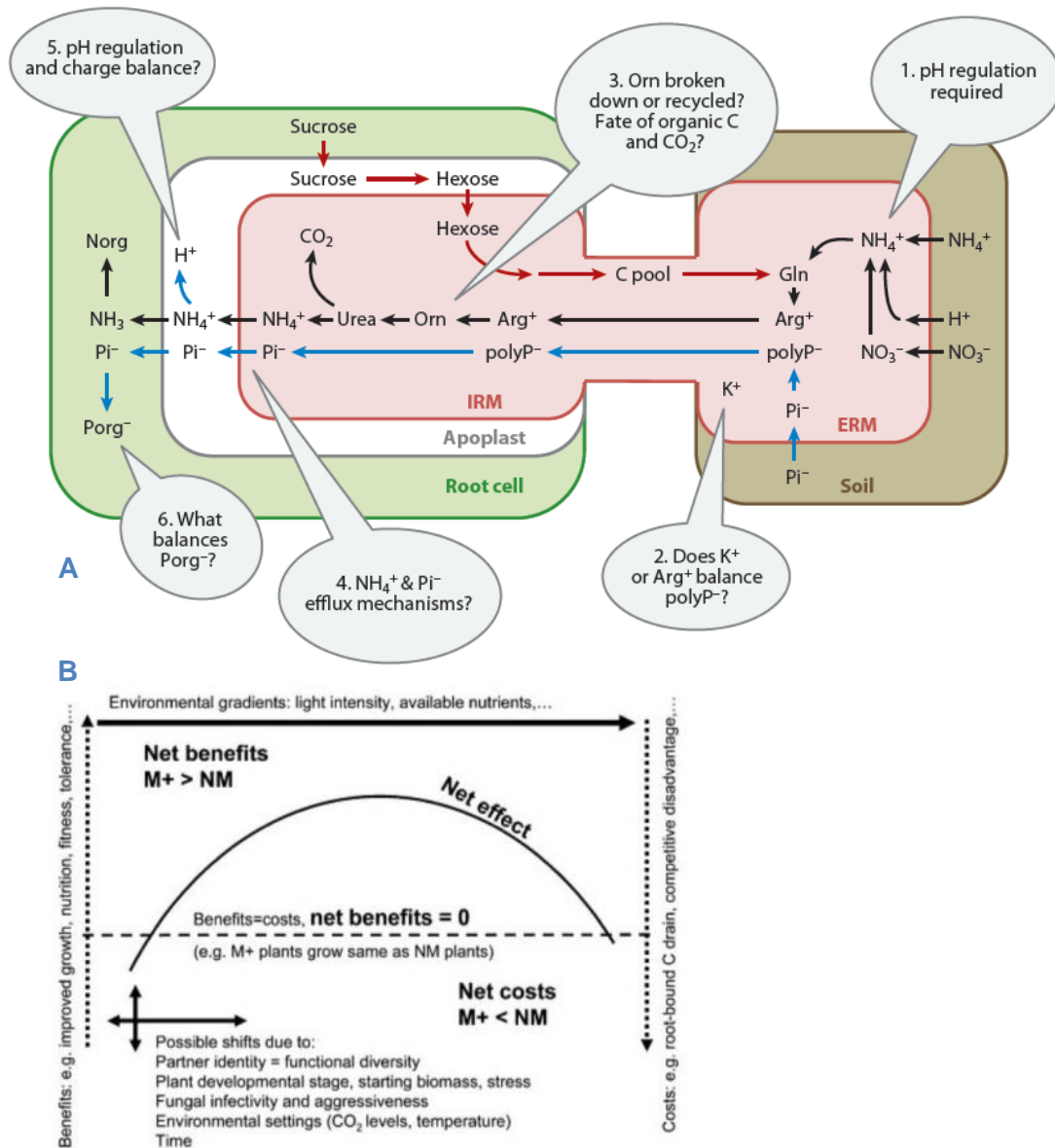
Annexe XII : AMF et occupation du sol



A : Epuisement de P au niveau de la rhizosphère et intérêt de la symbiose mycorrhizienne, <http://www.iftech.fr/Files/18760/S5000-shema.jpg>

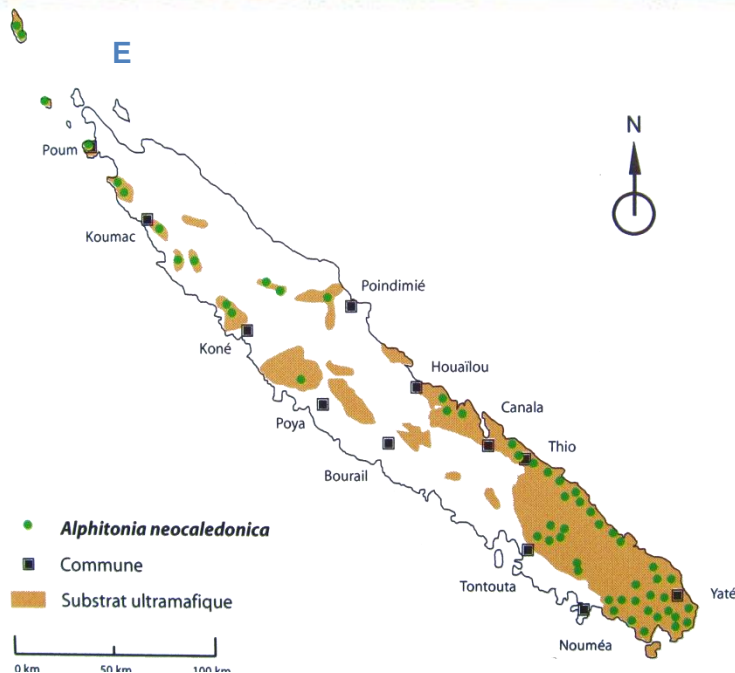
B : Photo d'un appareil racinaire fortement mycorhizé. L'occupation du sol est nettement améliorée, <http://www.soil-carbon-regeneration.co.uk/biochar/wp-content/uploads/2012/05/amf-symbiosis.gif>

Annexe XIII : Transfert de P au niveau de la mycorhize



A : Voie hypothétique de transfert du phosphate inorganique dans les hyphes et racines. D'après *Smith & Smith, 2011*. Le potassium est l'un des éléments suggérés pour équilibrer le transfert des poly-Pi, avec le magnésium et l'arginine.

B : Equilibre relationnel de la symbiose mycorhizienne (*Jansa et al., 2011*). La symbiose ne peut s'installer et être efficace que lorsque le bénéfice est supérieur au coût en carbone pour la plante. Cette marge dépend des conditions environnementales, édaphiques, de la plante et du champignon.



A : *A. neocaledonica* après un an en serre, A. Pierart

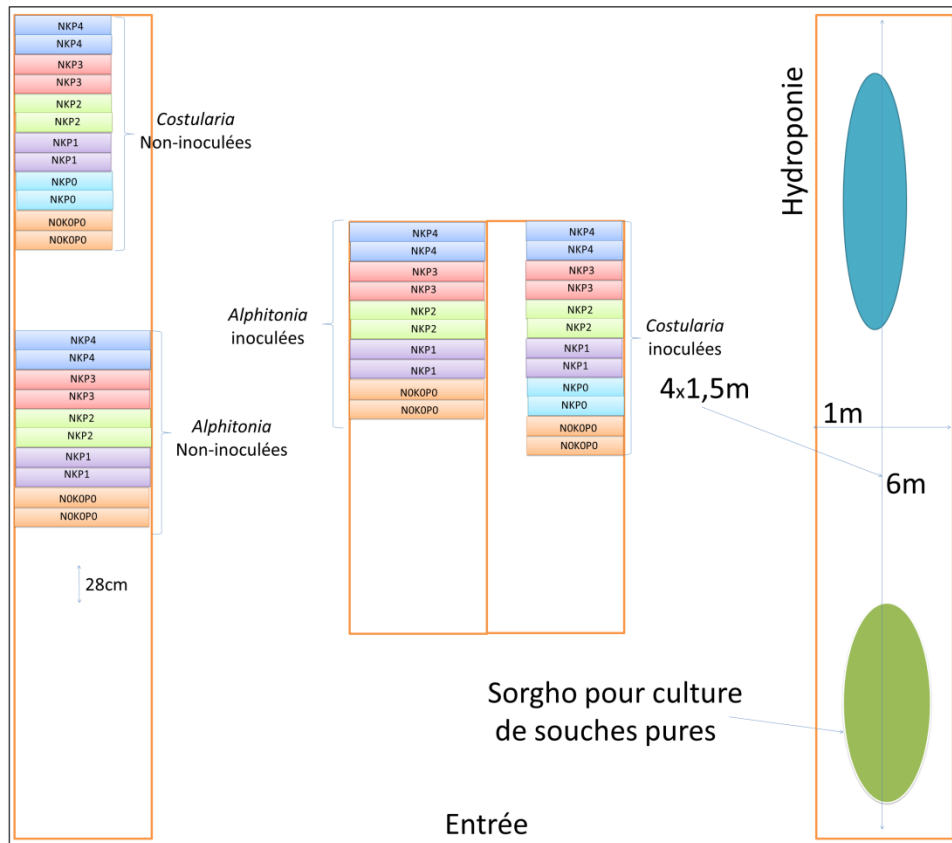
B : Fruit en maturation (vert) et à maturité (rouge sombre à noir). Graines hémisphériques rougeâtres. Fructification de décembre à janvier. *Endemia.nc*

C : Fleur blanchâtre, 5 pétales. Regroupées en grappes veloutées. De décembre à mai. *Endemia.nc*

D : Feuilles. Simples, entières, alternes, pétiolées et coriaces. Dessus luisant vert foncé. Dessous pubescent de blanc à brun roussâtre. *Endemia.nc*

E : Localisation d'*A. neocaledonica* (L'Huillier et al., 2010)

Annexe XV : Design expérimental

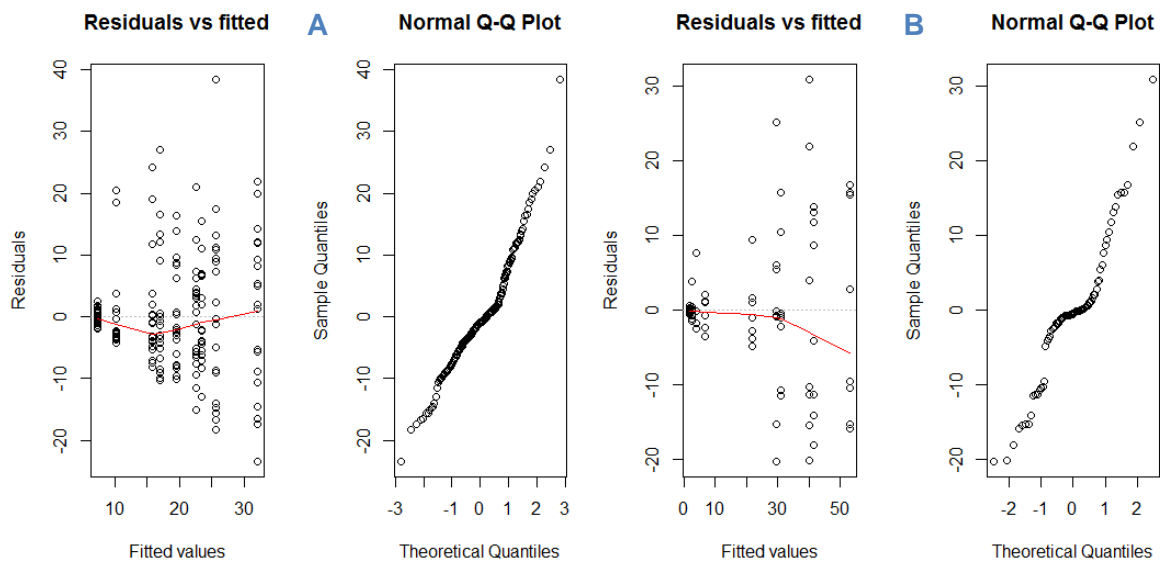


Représentation schématique de l'emplacement des différentes modalités dans la serre, vue du dessus.

Annexe XVI : Validation statistique de l'utilisation de l'Anova.

Cette vérification des hypothèses initiales de l'ANOVA est réalisée à l'aide du package *RVAidemoire* de R. Sa représentation graphique permet un aperçu rapide de la validation de ces hypothèses.

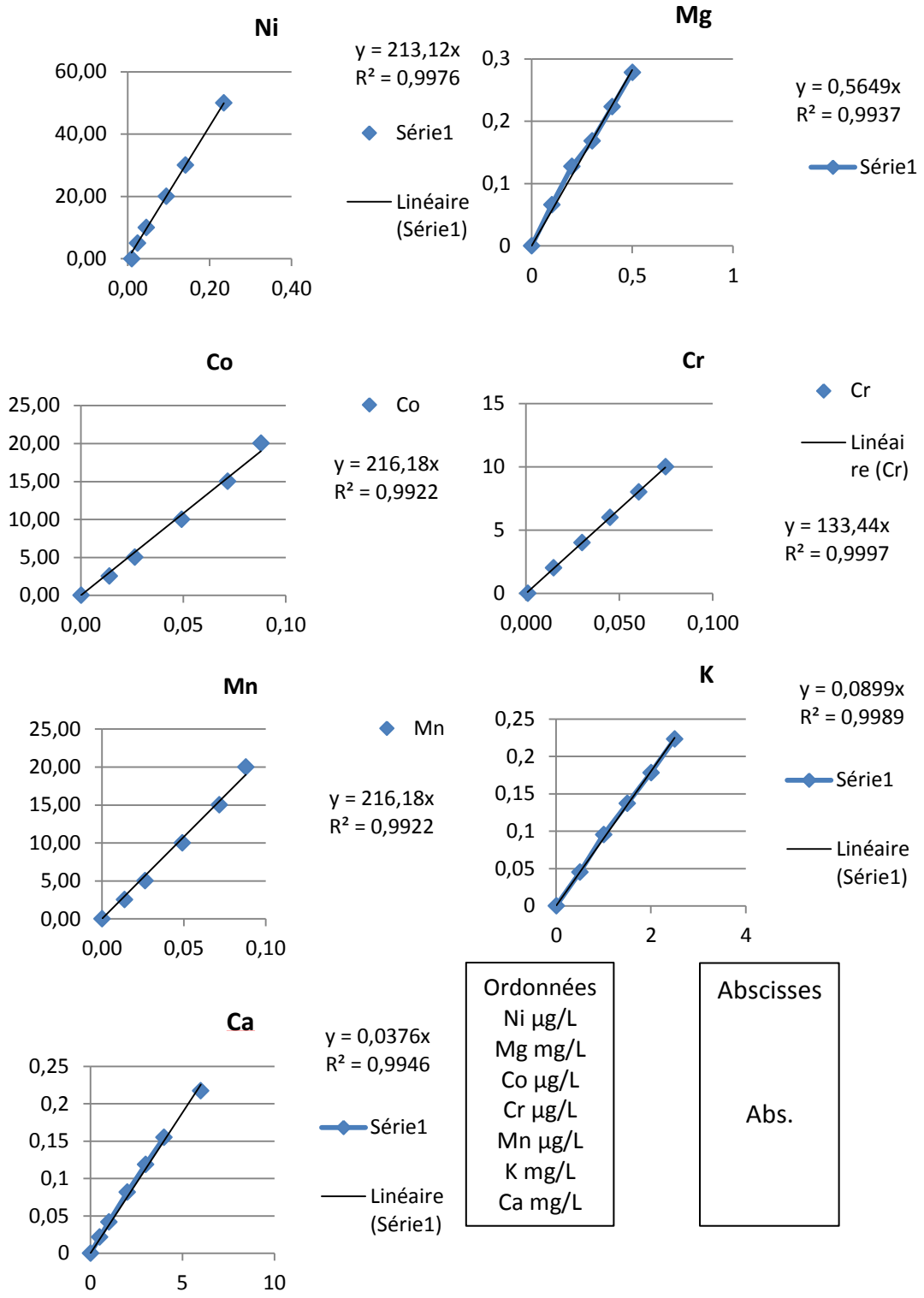
- ⊕ Le graphique *Residual vs fitted* vérifie l'équivariance et l'indépendance des résidus. La ligne rouge représente la tendance du nuage de points. Si cette ligne ne s'éloigne pas trop de l'horizontale, les hypothèses d'équivariance et d'indépendance sont acceptées. (lorsque la dispersion verticale des points est assez constante).
- ⊕ Le graphique *Normal Q-Q plot* teste la normalité des résidus. Cette hypothèse est acceptée quand les points sont majoritairement alignés sur une droite.
- ⊕ Le test réalisé est un test de Shapiro-Wilks appliqué aux résidus.



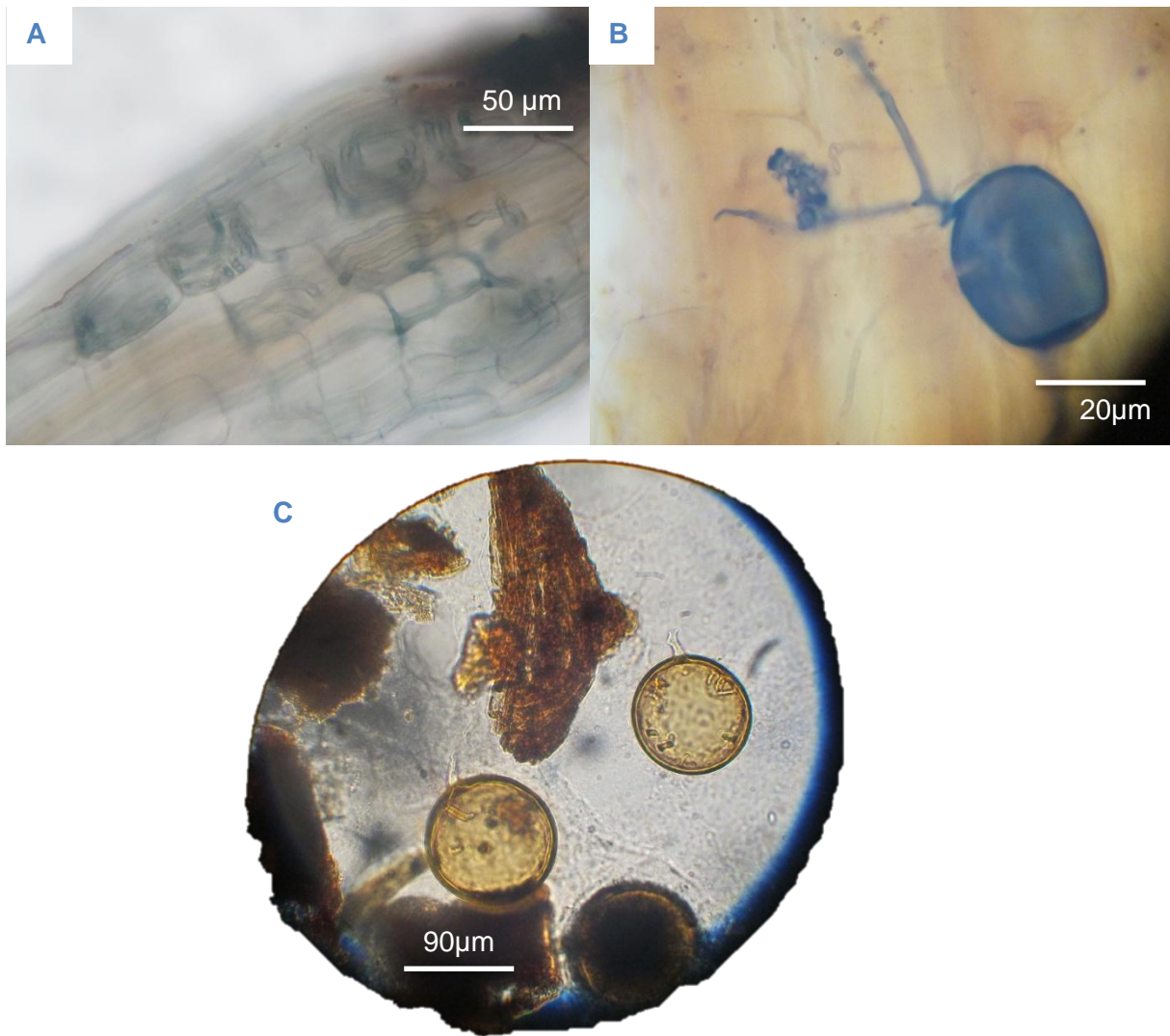
A : Résultats de la validation des hypothèses pour le modèle *taille~Inoculation:Phosphore au jour 442*. Résultats similaires aux autres dates pour la taille, la biomasse aérienne et pour les analyses de métaux et minéraux.

B : Résultats pour le modèle *biomasse racinaire~inoculation:Phosphore*. Un écart plus important est visible par rapport à l'horizontale. Les biais protocolaires discutés en section 4 sont sûrement à incriminer. Cependant l'ANOVA est un test robuste acceptant de type d'écart.

Annexe XVII : Courbes étalons des dosages métaux



Annexe XVIII : Spores, Arbuscules – observations microscopiques



- A** : Pelotons d'hyphes d'AMF sur racine jeune d'*A. neocaledonica*
B : Vésicule et arbuscule de *Glomus sp.*, coloration au bleu de Trypan
C : Spore de *Glomus sp.* Observée à la loupe binoculaire.

Crédit Photo – A. Pierart & N. Leclerc



Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des Sciences Agronomiques, Agroalimentaires, Horticoles et du Paysage

Spécialité : **Gestion Durable du Végétal** en horticulture et Aménagement Paysager

Enseignant référent : Alexandre DEGRAVE

Auteur : Antoine PIERART

Date de naissance : 1^{er} Décembre 1988

Nb pages : 42 Annexe(s) : 19

Année de soutenance : 2012

Organisme d'accueil : LIVE

Adresse : Laboratoire Insulaire du vivant et de l'Environnement

Université de Nouvelle-Calédonie

EA4243 145 Av. J. Cook – R4

98851 Nouméa CEDEX

Maître de stage : Pr. Hamid AMIR

Titre français : **Interactions entre mycorhization, nutrition en phosphore et adaptation de la plante à la toxicité du nickel sur substrat ultramafique.**

Titre anglais : **Interactions between mycorrhization, phosphorus nutrition and plant adaptation to nickel toxicity on ultramafic soils.**

Résumé : L'objectif principal de ce travail a été de déterminer la concentration optimale en Phosphore permettant la meilleure mycorhization d'*Alphitonia neocaledonica* sur topsoil ultramafique (UF). L'expérimentation a été conduite à l'Université de Nouvelle-Calédonie, Nouméa, entre Mars et Septembre 2012. Cinq concentrations ont été testées (0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2 t.ha⁻¹ de Superphosphate Triple (ST)), réparties sur 100 plantes inoculées et 100 plantes non inoculées, placées sur du topsoil UF en irrigation contrôlée. La croissance des plantes, le taux de mycorhization (%M) et de sporulation ont été suivis pendant un an. En fin d'expérimentation, la biomasse (fraîche et sèche) a été mesurée et les concentrations minérales et métalliques ont été déterminées au spectromètre à absorption atomique. L'optimum de %M (18% ± 2) et de sporulation (5200 ± 890 spores/100g de sol sec) ont été obtenues pour une concentration en ST de 1t.ha⁻¹ (210kg.ha⁻¹ de P (P3)). A cette concentration, une MGR (Réponse de croissance mycorhizienne) positive significative a été observée (+2,1cm). De même, un rééquilibrage du ratio Ca/Mg ainsi qu'une amélioration de l'absorption de P et de K (corrélée au %M, r²=0,91 dans les racines) ont été mesurées chez les plantes inoculées. Les concentrations en Ni, Co et Cr racinaires ont significativement été diminuées par la mycorhization mais la translocation vers les parties aériennes de ces éléments est augmentée par la mycorhization (resp. x1,5 - x32 - x41 en P3). Enfin, une teneur en eau plus importante a été mesurée chez les plantes inoculées (+12%H₂O en P3), avec un maximum en P0 (+25%H₂O). L'absence de fertilisation N et K en P0 semble être à l'origine de cet écart entre P0 et P3. En conclusion, nos travaux mettent en évidence une concentration optimale d'1t.ha⁻¹ en ST à apporter pour maximiser la mycorhization d'*A. neocaledonica* sur topsoil UF. Il faudra à présent déterminer quelles sont les conséquences de ces apports sur les écosystèmes des maquis miniers dans la mesure où la carence en phosphore y est naturellement un élément très limitant de la symbiose mycorhizienne.

ABSTRACT: The main objective of this work was to determine the optimal concentration of phosphorus leading to the best mycorrhization of *Alphitonia neocaledonica* on ultramafic (UF) topsoil. The experiment was conducted at the University of New Caledonia, Noumea, between March and September 2012. Five concentrations were tested (0 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ; 2 t.ha⁻¹ Superphosphate Triple (ST)), spread over 100 plants inoculated and 100 plants non-inoculated, placed on the UF topsoil in controlled irrigation. Plant growth, rate of mycorrhization (%M) and sporulation were followed during one year. At the end of the experiment, biomass (fresh and dry) was measured and the mineral and metal concentrations were determined by atomic absorption spectrometer. The optimum of %M (18% ±2) and sporulation (5200 ±890 spores/100g of dry soil) were obtained for a ST concentration of 1t.ha⁻¹ (210kg.ha⁻¹ P, P3). At this concentration, a significant positive MGR (*mycorrhizal growth response*) was observed (+2.1 cm). Likewise, a rebalancing of the Ca/Mg ratio and an improvement of P and K absorption (correlated to the %M, r²=0,91 in the roots) were measured in inoculated plants. Concentrations of Ni, Co and Cr have been significantly reduced in root by mycorrhization but translocation to the aerial parts of these elements is increased by mycorrhization (resp. x1,5 - x32 - x41 in P3). Finally, a higher water content was measured in inoculated plants (+12% H₂O in P3), with a maximum in P0 (+25% H₂O). The absence of N and K fertilization in P0 seems to be the cause of this difference between P0 and P3. In conclusion, our studies highlight that an optimal concentration of 1t.ha⁻¹ of ST can be made to maximize the mycorrhization of *A. neocaledonica* on UF topsoil. It will now be necessary to determine which are the consequences of these amendments on scrubland ecosystems because the phosphorus lack is a very limiting factor of the mycorrhizal symbiosis down there.

Mots-clés : Symbiose, Mycorhize, Arbuscule, *Alphitonia neocaledonica*, Phosphore, Réponse de croissance mycorhizienne, Teneur en eau, Ultramafique, Ratio Ca/Mg.

Key Words: Symbiosis, Mycorrhiza, Arbuscular, *Alphitonia neocaledonica*, Phosphorus, Mycorrhizal growth response, Water content, Ultramafic, Ratio Ca/Mg.