



*Etude microbiologique  
générale de quelques sols  
de forêts sclérophylles de  
Nouvelle-Calédonie*

*Octobre 2003*

Rapport n° 05/2003



**Laboratoire de Biologie et  
Physiologie Végétales Appliquées**

**Etude microbiologique générale de quelques sols  
de forêts sclérophylles de Nouvelle-Calédonie :**

**Statuts des mycorhizes à arbuscules. Etude de la  
mycorhization de quelques espèces végétales présentant un  
intérêt pour la restauration écologique**

**Rapport DE RECHERCHE**

**Hamid Amir et Armelle RENARD**

Nouméa, Octobre 2003

**Convention PCFS-UNC N°54/2003/CP  
du 19 juin 2003**

**Les partenaires du Programme Forêt Sèche**



## **Programme Forêt Sèche de Nouvelle-Calédonie**

**Volet I : Amélioration des connaissances**

**Action N°I-4**

**Etude microbiologique générale de quelques sols de forêts sclérophylles  
de Nouvelle-Calédonie**

**I - Statuts des mycorhizes à arbuscules. Etude de la mycorhization de quelques espèces  
végétales présentant un intérêt pour la restauration écologique**



**Rapport 2003**

Ce rapport est le fruit d'un travail de cinq mois réalisé essentiellement par une stagiaire de l'Ecole Nationale d'Ingénieurs de l'Horticulture et du Paysage (ENIHP), INH d'Angers, Armelle RENARD, sous la direction de Hamid AMIR, Maître de Conférences en Microbiologie des Sols.

Nous tenons à remercier toutes les personnes, notamment du groupe forêt sèches, qui nous ont aidé au cours de différentes sorties pour la récolte du matériel sur lequel nous avons travaillé.

## Introduction

La forêt sclérophylle, ou forêt sèche, occupait jadis l'ensemble des plaines de la côte Ouest, depuis le littoral jusqu'aux premières pentes. Avant l'arrivée de l'homme, il y a plus de 3500 ans, la forêt sclérophylle occupait près de 4000 km<sup>2</sup>. Sous l'effet de l'activité humaine : feux répétés, défrichements pour l'installation de pâturages, surpopulation de cervidés (Bouchet, Jaffré et Veillon, 1995 et Gargominy et al., 1996), la forêt sclérophylle a fortement régressé et se trouve réduite à des lambeaux isolés dont la surface est comprise entre 1 et 470 ha. En prenant en compte les zones non perturbées renfermant les noyaux floristiques initiaux et les zones périphériques contenant une forte proportion d'*Acacia spirorbis* et des espèces allochtones, l'étendue actuelle de la forêt sclérophylle serait estimée à 50 km<sup>2</sup> (Papineau, 2003) voire 100 km<sup>2</sup> (Bouchet *et al.*, 1995). C'est donc un milieu à préserver et à restaurer.

C'est l'objectif principal du « programme forêt sèche » de Nouvelle-Calédonie . Un des axes de ce programme consiste en l'amélioration des connaissances afin de maîtriser au mieux les moyens de sauvegarde et de restauration écologique de ce milieu.

Dans ce cadre, le Laboratoire de Biologie et Physiologie Végétales Appliquées (LBPVA) a proposé un travail de recherche qui vise essentiellement à connaître les potentialités du sol en termes microbiologiques, en focalisant plus particulièrement sur les endomycorhizes, dont le rôle pourrait être important.

Les microorganismes symbiotiques vivant dans et au contact des racines des plantes interviennent dans différents processus permettant à l'hôte une meilleure adaptation aux milieux carencés ou défavorables. Les endomycorhizes à arbuscules (arbuscular mycorrhizal fungi ou AMF) sont présentes chez 90% des plantes. Ce sont des champignons inférieurs apparentés aux Zygomycètes formant un groupe phylogénique homogène, l'ordre des Glomales. Elles sont généralement peu spécifiques, de sorte qu'une même souche peut mycorhizer de nombreuses espèces végétales La symbiose mycorhizienne s'établit préférentiellement dans des sols carencés, notamment en phosphore. En effet, les AMF permettent aux plantes de prospérer sur des sols se situant bien au dessous du standard minimum de fertilité (Boullard, 1990). L'association mycorhizienne semble donc être une voie intéressante pour la restauration de la forêt sclérophylle dont le milieu originel présente des conditions difficiles pour la réimplantation d'un couvert végétal.

Aucun travail n'a été réalisé jusqu'à présent sur les AMF dans les forêts sèches de Nouvelle-Calédonie.

Le projet prévoit une étude de l'activité microbienne renforcée par des analyses physico-chimiques du sol et une étude concernant le statut des AMF dans l'écosystème, partie qui nécessite d'étudier à la fois le sol et les plantes.

Pour des raisons liées au sujet de recherche de la stagiaire qui a travaillé sur ce projet, le travail a été focalisé pour l'année 2003 sur l'étude des mycorhizes qui est la partie principale.

Le groupe du programme forêt sèche a élaboré une liste de 29 espèces végétales considérées comme importantes pour la restauration, en raison de leur intérêt horticole ou de par leur rareté. Nous avons décidé d'en étudier au minimum une vingtaine. Plusieurs sorties ont permis de récolter 25 espèces différentes dont 22 font partie de la liste prioritaire. Trois autres espèces ont été traitées en raison de leur importance dans les sites de récolte ou de leur intérêt sur d'autres plans.

Des échantillons de sol ont été prélevés sous les plantes récoltées et à proximité afin d'apprécier leurs potentiels mycorhizogènes.

# Matériel et méthodes

## MATERIEL

### Les sites de prélèvements

#### \* Site n°1 : la pointe Maa

C'est un site de 25 ha situé sur des collines littorales à pente modérée. La forêt est implantée sur une zone d'éboulis. La forêt est riche en espèces endémiques.

#### \* Site n°2 : l'îlot Leprédour

#### \* Site n°3 : la forêt de Tiéa

Il s'agit d'une formation sclérophylle d'une trentaine d'hectares. Elle occupe la plaine inondable sur des alluvions anciennes ou plus récentes, donnant un sol d'argiles noires tropicales d'épaisseur variable. Les précipitations moyennes annuelles sont proches des 1000 mm par an. Cloisonnée en plusieurs lambeaux depuis des décennies à des fins agro-pastorales, cette forêt relique riche en espèces a fait l'objet d'une mise en réserve. Le nombre d'espèces inventoriées s'élève à 138, dont 69 sont endémiques et 67 strictement inféodées aux forêts sèches.

#### \* Site n°4 : la presqu'île de Pindai

Il s'agit d'un ensemble constitué de formations denses prenant parfois l'allure de fourrés, totalisant une surface d'environ 88 ha constituée de deux blocs entrecoupés de pistes. Le substrat est formé de roches calcaires friables recouvertes d'un dépôt de latérites issues d'alluvions et de colluvions anciennes provenant des pentes des massifs miniers voisins. Ce site appartient au domaine public et est facile d'accès, ce qui le rend très vulnérable aux risques d'incendies et aux coupes sauvages, créant des ouvertures où s'installe une flore allochtone. Le nombre d'espèces inventoriées s'élève à 162, dont 94 sont endémiques et 77 strictement inféodées aux forêts sèches.

#### \* Site n°5 : le Ouen Toro

Zone de 3 ha située sur une colline en bord de mer dans la ville de Nouméa. Le site est particulièrement intéressant pour sa population de Santals.

\* Site n°6 : la forêt de Nékoro

Elle occupe les plaines basses et inondables de la côte sur plus de 300 ha. Ce sont des formations sclérophylles basses, prenant l'allure de fourrés denses plus ou moins envahis par *Acacia spirorbis*. La forêt reçoit entre 1000 et 1100 mm par an. Elle est implantée sur des alluvions anciennes d'épaisseur variable, intercalées dans des formations sédimentaires, constituées de limons brunâtres avec en mélange des éléments siliceux ; le sol argileux de surface est souvent surchargé en gravillons ferrallitiques. Le nombre d'espèces inventoriées s'élève à 198, dont 108 sont endémiques et 101 strictement inféodées aux forêts sèches.

\* Site n°7 : les environs du Creek Hervouët

Il s'agit d'une forêt haute surcimée par des arbres d'une hauteur moyenne de 15 m, représentant une zone de 22 ha. La forêt reçoit entre 1000 et 1100 mm par an. Elle est implantée sur des alluvions anciennes d'origine ultramafique d'épaisseur importante, intercalées dans des formations sédimentaires, constituées de limons brunâtres avec en mélange des éléments siliceux ; le sol argileux de surface est souvent surchargé en gravillons ferrallitiques. Le nombre d'espèces inventoriées s'élève à 108 dont 33 sont strictement inféodées aux forêts sèches et 9 se retrouvent aussi sur maquis minier.

## Les végétaux étudiés

Dans le cadre du programme forêt sèche, une liste d'espèces à étudier a été établie. Elle regroupe des plantes répondant à un des critères suivants : espèces rares, espèces à fonction de restauration, espèces d'intérêt horticole :

<b>Espèces</b>	<b>Familles</b>	<b>Intérêt de l'espèce</b>
<i>Acronychia laevis</i> *	RUTACEES	Restauration
<i>Ancistrachne noumaeensis</i> (Balansa) S.T. Blake	POACEAE	Horticulture
<i>Arytera</i> sp.	SAPINDACEAE	Restauration
<i>Bocquillonia sessiliflora</i> Baillon	EUPHORBIACEAE	Horticulture
<i>Captaincookia margaretae</i> N. Hallé	RUBIACEAE	Horticulture
<i>Cassine curtispindula</i> *	CELASTRACEES	Restauration
<i>Cleistanthus stipitatus</i> Muell. Arg.	EUPHORBIACEAE	Restauration
<i>Croton insularis</i> Baillon	EUPHORBIACEAE	Restauration
<i>Cupianopsis trigonocarpa</i> Radlkofer	SAPINDACEAE	Restauration
<i>Diospyros minimifolia</i> F. White	EBENACEAE	Restauration
<i>Emmenospermum pancherianum</i> *	RHAMNACEES	Horticulture
<i>Fontainea pancheri</i> Heckel	EUPHORBIACEAE	Restauration
<i>Gardenia urvillei</i> Montrouzier	RUBIACEAE	Restauration
<i>Homalium deplanchei</i> Warburg	FLACOURTIACEAE	Restauration
<i>Ixora cauliflora</i> Montrouzier	RUBIACEAE	Horticulture
<i>Maytenus fournieri</i> (Pancher & Sébert) Loesener	CELASTRACEAE	Restauration
<i>Ochrosia inventorum</i> L. Allorge	APOCYNACEAE	Horticulture et rareté
<i>Ormocarpum orientale</i> Merrill	FABACEAE	Restauration
<i>Oryza neocaledonica</i> P. Morat	POACEAE	Horticulture
<i>Oxera pulchella</i> *	VERBENACEES	Restauration et horticulture
<i>Oxera sulfurea</i> *	VERBENACEES	Restauration et horticulture
<i>Pittosporum pancheri</i> *	PITTOSPORACEAE	Horticulture
<i>Planchonelle cinerea</i> (Pancher) Van Royen	SAPOTACEAE	Restauration
<i>Premna serratifolia</i> Linné	LAMIACEAE	Restauration
<i>Santalum australocaledonicum</i> Veillard	SANTALACEAE	Restauration

<i>Schefflera veitchii</i> (Carrière) D. G. Frodin & P. P. Lowry	ARALIACEAE	Horticulture
<i>Streblus pendulinus</i> *	MORACEES	Restauration
<i>Terminalia cherrieri</i> H. S. MacKee	COMBRETACEAE	Rareté
<i>Turbina inopinata</i> H. Heine	CONVOLVULACEAE	Horticulture

Parmi ces 29 espèces, 7 (marquées par un astérisque) n'ont pas pu être récoltées au cours des sorties sur les 7 sites explorés.

Les trois espèces suivantes ont, par contre, été rajoutées au cours du travail, en raison de leur accessibilité:

<i>Eugenia bulata</i>		Horticulture
<i>Pittosporum taniaum</i>		Rareté
<i>Trigonostemon cherrieri</i>		Rareté

## METHODES

### Evaluation du taux de mycorhization de différentes espèces végétales de la forêt sclérophylle

#### \* *Echantillonnage*

Lors du prélèvement des racines, il faut être extrêmement vigilant quant à l'appartenance des racines prélevées, à l'espèce choisie. Pour ce faire, les plantes choisies pour la récolte sont, dans la mesure du possible, des plantes isolées ou présentant des racines bien distinctes de celles qui les entourent. De plus, il est important de suivre les racines à partir de la base de la plante avant de les prélever. Par ailleurs, seules les racines et racines très fines, plus susceptibles d'être mycorhizées et plus facilement observables au microscope sont prélevées.

Chaque échantillon de racine est noté et numéroté. Dans la mesure du possible, au moins trois échantillons par espèce sont prélevés sur un même site et lorsque cela est possible, une même espèce végétale est prélevée sur plusieurs sites de façon à étudier l'influence du site sur l'infection mycorhizienne.

La phase la plus critique de quantification est la préparation des racines pour examen. Cette préparation dépend du type de mycorhizes et de la nature des échantillons auxquels on a affaire. Ses principales étapes sont le lavage, l'éclaircissement et la coloration des mycorhizes, le montage et l'observation.

### *\* Lavage*

L'expérience montre que 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 abondant à l'eau courante dans une passoire. S'il reste des mottes de terre autour des racines, elles sont trempées dans une solution d'hexamétaphosphate de sodium (Calgon) qui entraînera la dispersion des particules terreuses (Brundrett et al., 1994). Ensuite, seules les petites racines relativement claires et peu sclérifiées seront sélectionnées.

### *\* Eclaircissement et coloration des mycorhizes*

Les racines sont systématiquement éclaircies et colorées avant toute observation microscopique. La technique d'éclaircissement et de coloration de Phillips et Haymann (1970) est souvent utilisée lorsqu'on a affaire à des endomycorhizes à vésicules et arbuscules. Elle 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%, dans une étuve à 90°C pendant 1 heure. Les racines sont ensuite abondamment rincées sous l'eau courante, égouttées et remises dans les piluliers où elles sont recouvertes avec une solution de bleu trypan à 0,05% dans le lactophénol. Les piluliers sont placés à l'étuve à 90°C pendant 15 minutes. Les racines sont ensuite rincées abondamment et conservées dans de l'eau distillée avant le montage.

### *\* Montage*

On prélève des segments de racines de quelques centimètres seulement choisis au hasard. Pour la quantification des endomycorhizes, Toth et al. (1990) jugent nécessaire l'examen par plant de 40 segments racinaires d'une longueur de 2 à 3 cm. Ces segments sont montés parallèlement par groupes de 10 à 15 dans la glycérine entre lame et lamelle (Kormanik et McGraw, 1982). Les racines restantes sont conservées dans de l'eau ou du glycérol acide.

### *\* Observation*

Les lames sont observées au microscope, chaque fragment étant soigneusement vérifié sur toute sa longueur, aux grossissements de 100 et 400. On réalise en particulier deux types d'observations :

#### Méthode des intersections amplifiées

Cette méthode a été mise au point par McGonicle et al. (1990) pour pouvoir quantifier de façon objective les AMF. Les racines sont observées à un grossissement suffisant pour discerner facilement la présence des arbuscules au niveau des points d'intersections.

### Méthode de comptage de points sur racines

On compte dans ce cas, sous le microscope à un grossissement de 100x, les points se trouvant sur chaque fragment. Cette technique permet l'estimation du volume de la racine occupé par les cellules corticales contenant ou non les arbuscules. Suffisamment de points sont comptés pour que l'erreur standard pour chaque donnée soit inférieure à 5% (Toth et Toth, 1982).

### Les systèmes de notation des mycorhizes

Plusieurs systèmes de notation sont utilisés pour évaluer l'importance de l'infection mycorhizienne. Le système le plus simple consiste à noter (+) les fragments pourvus de mycorhizes et (-) ceux qui en sont dépourvus (Maronek et al., 1982 ; Planchette et al., 1989) ; cette notation ne tient pas compte de l'intensité de la mycorhization par plant. Des cotes de 0 à 5 (Trouvelot et al., 1986) sont également employées, chacune représentant une classe de pourcentage de mycorhization. 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 (annexe 2). La présence des arbuscules et des vésicules est notée simultanément en indiquant leur classe de fréquence (A1 à A3) (annexe 2). La note globale de mycorhization est obtenue en faisant la moyenne sur le nombre de plants observés.

### Les paramètres d'évaluation

L'importance de la mycorhization est appréhendée à l'aide des paramètres suivants :

- *Le pourcentage de racines mycorhizées* : aussi appelé fréquence de la mycorhization.  $F(\%) = (\text{nb fragments myco} / \text{nb total}) \times 100$  (Marx et al., 1977). C'est le paramètre le plus utilisé.
- *Intensité globale de la mycorhization* :  $M(\%) = (95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / \text{nombre total de fragments}$ . Dans cette formule,  $n_5$  représente le nombre de fragments mycorhizés notés 5,  $n_4$  le nombre de fragments notés 4... C'est ce paramètre qui traduit le mieux le degré de mycorhization.
- *Intensité de mycorhization des fragments mycorhizés* :  $m(\%) = M \times (\text{nb total}) / (\text{nb myco}) = M \times 100 / F$
- *Intensité arbusculaire de la partie mycorhizée* :  $A(\%) = (100mA_3 + 50mA_2 + 10mA_1) / 100$ , où  $mA_3$ ,  $mA_2$ ,  $mA_1$  sont les % de  $m$  respectivement affectés des notes  $A_3$ ,  $A_2$ ,  $A_1$ , avec  $mA_3 = ((95n_5A_3 + 70n_4A_3 + 30n_3A_3 + 5n_2A_3 + n_1A_3) / (\text{nb myco})) \times (100/m)$ . De même pour  $A_2$  et  $A_1$ . Dans cette formule,  $n_5A_3$  représente le nombre de fragments notés 5 avec  $A_3$ ,  $n_4A_3$  le nombre de fragments notés 4 avec  $A_3$ ...
- *Intensité arbusculaire dans le système racinaire* :  $A(\%) = a \times (M/100)$

## Estimation du potentiel mycorhizogène par l'appréciation de la densité en spores AMF viables dans les sols de la forêt sclérophylle

Les sols contiennent des quantités très variées de spores AMF. Celles-ci sont produites par sporulation du mycélium après développement de la mycorhize dans la plante. Elles sont progressivement dispersées dans le sol par les influences externes. Ce sont ces spores qui après un temps plus ou moins long de dormance et de résistance vont réinfecter les racines des nouvelles plantes. La richesse d'un sol en spores AMF traduit donc sa capacité à mycorhizer les plantes, aussi appelée potentiel mycorhizogène.

Les prélèvements de sols sont effectués dans les 20 premiers centimètres du sol et placés dans des sacs plastiques étiquetés. Il s'agit des sols situés sous les plantes dont les racines ont été prélevées. Les échantillons ainsi obtenus sont placés en chambre froide à 5°C pendant toute la durée de l'étude, pour une meilleure conservation de la microflore.

L'estimation du potentiel mycorhizogène s'effectue au laboratoire. Il est basé sur le fait que les spores AMF sont plus grosses que la grande majorité des autres spores microbiennes du sol. Leur taille varie généralement entre 60 et 450 microns.

On prépare une série de tamis bien propres, mis les uns sur les autres, dans l'ordre suivant, de haut en bas : 350  $\mu\text{m}$ , 250  $\mu\text{m}$ , 160  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$  et 53  $\mu\text{m}$ . Une aliquote de 100 g de chaque échantillon est prélevée et introduite dans le tamis du haut. La série de tamis est placée sur une tamiseuse à vibrations électriques avec circulation d'eau pendant 5 minutes. Les filtrats des tamis de 160  $\mu\text{m}$ , 100  $\mu\text{m}$  et 53  $\mu\text{m}$  sont recueillis dans un flacon et dans un volume précis d'eau. Les tamis sont soigneusement lavés, brossés et passés à l'alcool entre deux échantillons.

Une aliquote de 1mL de la suspension de sol obtenue est agitée et déposée dans un fond de boîte de pétri en plastique quadrillée (65 mm x 15 mm, quadrillage 10 mm), puis observée sous la loupe binoculaire (grossissement maximum de 45). Le nombre de spores AMF contenu dans la boîte de pétri est déterminé. Les spores noires, celles qui flottent en surface ainsi que celles qui sont abîmées ne sont pas comptabilisées car elles sont peu viables. En cas de doute sur la nature de la particule, une faible pression sur la spore la fait éclater et un voile opaque en sort. Un simple calcul permet ensuite d'exprimer le résultat en nombre de spores par 100g de sol.

## Isolement de souches AMF à partir de sols de la forêt sclérophylle

Cette manipulation a pour but de réaliser un premier isolement de quelques types de mycorhizes à arbuscules. Pour cela, les spores sont triées en fonction de leurs caractères morphologiques et chaque type sélectionné est inoculé à des plants de sorgho. Pour obtenir des souches pures, cette opération devra être renouvelée plusieurs fois (plus elle est effectuée, plus les souches obtenues sont pures). En principe, la meilleure méthode consiste à réaliser des inoculations monospores (une spore AMF par plant), mais le taux de germination étant souvent faible, cette technique est difficilement réalisable.

### *\* Préparation des plants de sorgho*

Une centaine de graines de sorgho sont désinfectées dans une solution d'hypochlorite de calcium à 3.5% pendant 15 minutes. Elles sont ensuite soigneusement rincées à l'eau stérile. Les graines sont mises à germer dans de la vermiculite stérilisée à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes. Le substrat est ainsi vierge de tous parasites susceptibles de nuire à la germination des graines. Le semis est effectué dans un bac en plastique recouvert d'un couvercle transparent. Le bac est placé à la lumière artificielle (luminosité : 5000 lux) pendant 14h par jour.

### *\* Isolement des souches AMF*

Plusieurs types de sol de la forêt sclérophylle sont échantillonnés : les premiers centimètres de sol sont prélevés au pied des espèces à étudier. Les sols contenant les différentes souches fongiques subissent un tamisage humide qui permet d'obtenir une solution de sol. A partir de celle-ci, une première observation des différentes sortes de spores présentes ainsi qu'une estimation de leur quantité est effectuées à l'aide d'une loupe binoculaire. Les sols ne présentant pas de spores remarquables par leur aspect ainsi que les sols pauvres en spores sont éliminés.

Dans les autres, les spores sont extraites des solutions de sol selon la technique de centrifugation différentielle, ce qui facilite leur isolement. Un gradient de saccharose est préparé dans un tube à centrifuger de 50 mL en pipétant 25 mL de solution de sol (après avoir bien mélangé la solution pour qu'elle soit homogène) et en ajoutant au fond du tube à l'aide d'une seringue 15 mL de solution de saccharose à 50%. La seringue et la pipette seront soigneusement nettoyées et passées à l'alcool entre chaque échantillon. Les tubes sont ensuite mis à centrifuger pendant 10 minutes, à 1500 tr/min, à 20°C. La phase intermédiaire est prélevée à l'aide d'une micropipette Eppendorf de 1mL et lavée à l'eau distillée dans un tamis de 53 µm. Le concentrat de spores ainsi obtenu est placé dans un tube à hémolyse, dans de l'eau distillée et conservé à 4°C.

Le prélèvement s'effectue sous loupe binoculaire à l'aide d'une micropipette Eppendorf de 25 µL. pour chaque type différencié, un maximum de spore est prélevé et placé dans un tube Eppendorf. Elles sont conservées dans de l'eau distillée à 4°C en attendant d'être utilisées.

Les types suivants sont prélevés :

<b>Sol provenant de dessous</b>	<b>Caractéristiques des spores prélevées</b>
<i>Croton insularis</i>	Grosses, un peu allongées, Glomus
	Brunes, de type ovales/piriformes, Glomus
	Acaulospora
	Très grosses, vert olive, Gigaspora
<i>Diospyros minimifolia</i>	Brunes, rondes, Glomus
	Brunes, de type ovales/piriformes, Glomus
	Blanches-beiges, plutôt petites, Glomus
	Très grosses spores vert olive, Gigaspora
<i>Cleistanthus stipitatus</i>	Petites blanches bien rondes, Glomus

*\* Inoculation des spores aux plants de sorgho*

Des pots de 300 mL sont remplis avec un substrat stérile composé d'un mélange de terre peu fertile (1/2), de terreau (1/4) et de sables (fin, moyen et grossier, 1/4) sur lequel est déposée une plantule de sorgho au stade deux feuilles dont l'extrémité des racines est coupé, afin de favoriser le développement des racines secondaires. Les spores sont directement déposées sur les racines de la plantule qui sont ensuite recouvertes de substrat. Les pots contenant le même inoculum sont placés côte à côte dans la serre et arrosés automatiquement à l'aide de sprinkler deux fois par jour pendant trois minutes.

## Résultats et discussion

### EVALUATION DU TAUX DE MYCORHIZATION *IN SITU* DES ESPECES VEGETALES ETUDIEES

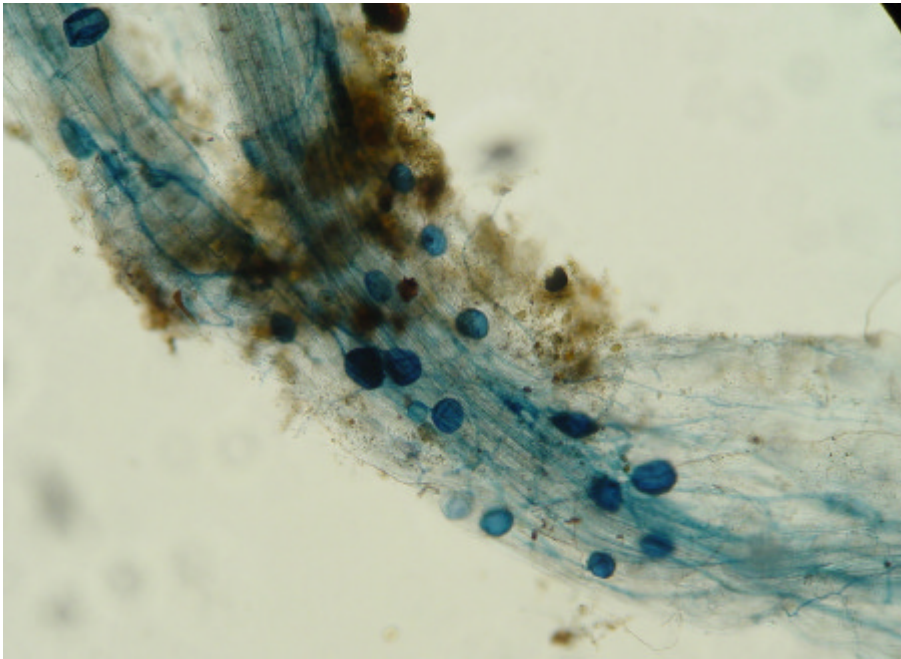
Les résultats rapportés dans le tableau 1 indiquent une abondance relative des endomycorhizes en forêt sclérophylle. La classification des résultats par espèces (Figure 1) montre que presque toutes les espèces végétales observées sont mycorhizées. Les mycorhizes observées sont généralement des endomycorhizes à arbuscules, ainsi que des formations peu classiques, plus rares (photos en annexe).

La fréquence de mycorhization, F, reflète la pression de l'inoculum, c'est-à-dire le taux de propagules infectantes dans le milieu (Figure 1A). Les fréquences de mycorhization varient entre 0 et 100%, la majorité des espèces ayant une fréquence de mycorhization supérieure à 65%. Ce sont les espèces *Arytera sp.*, *Captaincookia margaretae*, *Cleistanthus stipitatus*, *Eugenia bulata*, *Fontainea pancheri*, *Gardenia urvillei*, *Homalium deplanchei*, *Maytenus fournieri*, *Ochrosia inventorum*, *Ormocarpum orientale*, *Pittosporum tananium*, *Premna serratifolia*, *Schefflera veitchii*, *Trigonostemon cherrieri*, *Turbina inopinata* qui ont les plus fortes fréquences de mycorhization (100%). Seulement deux pieds ne sont pas mycorhizés, ils appartiennent à des espèces chez lesquelles la mycorhization a été observée pour le reste des individus étudiés : *Arytera sp.* et *Fontainea pancheri*. Il n'apparaît pas de lien net entre le niveau des fréquences de mycorhization et les types de sol : la fréquence de mycorhization est aussi élevée sur sol ultramafique (site de Pindaï) que sur sol riche de creek (site du Creek Hervouët).

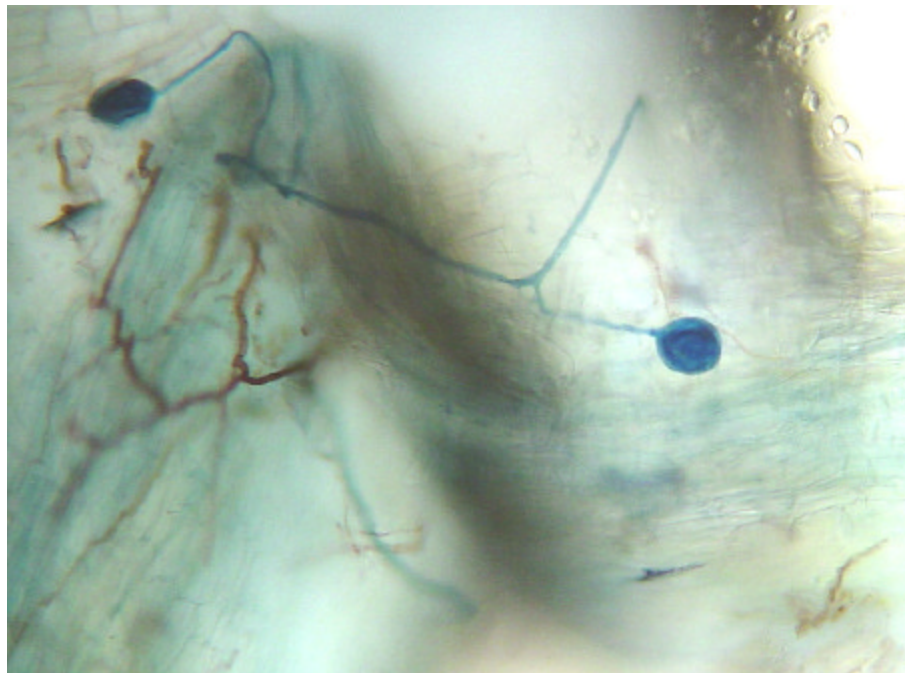
L'intensité globale de mycorhization, M, correspond au pourcentage du cortex racinaire qui est mycorhizé (Figure 1B). Elle est très variable : de 0 à 68,33%. Ce sont les espèces *Premna serratifolia* (61,11%), *Schefflera veitchii* (63,15%), *Ixora cauliflora* (65%) et *Eugenia bulata* (68,33%) qui présentent l'intensité de mycorhization la plus importante.

L'intensité arbusculaire de la partie mycorhizée, a, traduit le degré d'activité des mycorhizes qui se trouvent dans la partie infectée de la racine (Figure 1C). Les valeurs les plus importantes sont observées chez *Eugenia bulata* (78,95%) et *Pittosporum tananium* (89,85%). Il faut cependant tenir compte du fait que la mise en évidence des arbuscules par coloration afin de les observer au microscope est rendue délicate par la dureté et la teinte brune des racines prélevées sur le terrain.

**Aspect de racines endomycorhizées  
d'espèces végétales de forêts sèches**



Racine de *Premna serratifolia*



Racine de *Santalum australcaledonicum* (Santal)

Il n'apparaît pas de relations évidentes entre les niveaux des paramètres M et a : une plante peut avoir une forte intensité de mycorhization ainsi qu'une grande partie de la racine envahie par du mycélium et des vésicules, sans pour autant présenter un niveau d'activité mycorhizienne élevé. Ces deux paramètres sont très variables et cette variabilité ne semble pas être liée au type de sol : les mêmes sols donnent des valeurs très différentes en fonction des échantillons. On observe également de grandes variations pour une même espèce selon les sites de prélèvement.

Les fréquences de mycorhization F, sont élevées pour des infections naturelles si on les compare avec les données trouvées dans la littérature. En effet, Mott et Zuberer (1987), trouvent des pourcentages d'infection mycorhizienne (pourcentage d'infection par rapport à la longueur totale de la racine) allant jusqu'à 67 %. Jasper et al. (1987) ont observé sous forêt jusqu'à 62 % de la longueur de la racine infectée. Shetty et al. (1994) ont trouvé jusqu'à 44 % de mycorhization sur des sols non pollués par des métaux. On peut également citer les résultats obtenus par Diem et al. (1981) sur des *Acacia indica* qui ont observé des infections mycorhiziennes allant jusqu'à 30 % de la longueur de fragments racinaires d'1 cm. Il est généralement admis que les sols les moins fertiles permettent les plus fortes mycorhizations. Ainsi, il a été montré que plus le sol était pauvre en phosphore et en azote, plus la mycorhization est intense et plus son rôle dans le développement des plantes est important (Sieverding, 1991). Par ailleurs, Daniels-Hetrick (1984) a noté que la mycorhization est plus importante dans les sols soumis à des stress hydriques. Les sols de la forêt sèche de Nouvelle-Calédonie sont à la fois pauvre en phosphore et azote et soumis à des fluctuations hydriques très importantes. Or la fréquence de mycorhization reflète le niveau de l'inoculum dans le sol. L'inoculum mycorhizien semble donc assez important dans les sites étudiés et largement suffisant pour induire les infections.

En ce qui concerne l'intensité arbusculaire, a, les résultats obtenus sont difficilement comparables avec ceux d'autres auteurs, les arbuscules étant difficiles à déceler dans les racines observées et leur estimation est de ce fait réalisée par défaut. La grande variabilité de ce paramètre ainsi que celui de l'intensité de la mycorhization, M, en fonction des sols et des espèces est difficile à interpréter. Il est nécessaire d'effectuer d'autres échantillonnages sur les mêmes sites et les mêmes plantes. Une étude de la variation saisonnière de la mycorhization serait également utile. En effet, selon Gould et al. (1996), la mycorhization augmenterait et serait vraiment active pendant la période de croissance des racines, il y aurait donc synchronisation des cycles de développement des deux partenaires de la symbiose.

Parmi les espèces les plus mycorhizées, plusieurs ont une importance pour la revégétalisation des sites dégradés. Ainsi, il serait intéressant, dans l'application future à la revégétalisation, d'inoculer ces espèces (*Arytera sp.*, *Captaincookia margaretae*, *Cleistanthus stipitatus*, *Eugenia bulata*, *Fontainea pancheri*, *Gardenia urvillei*, *Homalium deplanchei*, *Maytenus fournieri*, *Ochrosia inventorum*, *Ormocarpum orientale*, *Pittosporum tananium*, *Premna serratifolia*, *Schefflera veitchii*, *Trigonostemon cherrieri*, *Turbina inopinata*).

Malgré les conditions hostiles des sols de forêt sclérophylle, les endomycorhizes s'y développent et y infectent un nombre important d'espèces végétales. Ces mycorhizes semblent donc avoir un rôle important pour l'adaptation des végétaux aux conditions difficiles du milieu. La comparaison de la croissance de plants de la forêt sclérophylle en présence et en absence d'endomycorhizes de sol de forêt sclérophylle devrait permettre d'estimer le rôle de ces mycorhizes.

La classification des résultats par sites (Figure 1) apporte des informations sur le comportement de ces espèces selon les différentes positions qu'elles occupent. En effet, le site n°3 (plateau balayé par les vents et d'un niveau de pluviométrie très faible) est celui qui présente le plus d'espèces mycorhizées. A l'inverse, le site n°7 (site situé dans un creux, protégé en partie des vents par le relief alentour et bénéficiant de l'apport hydrique du Creek) est celui où on trouve les espèces les moins endomycorhizées. Cela confirme les études déjà entreprises sur la symbiose mycorhizienne : l'intensité de la mycorhization est d'autant plus élevée que les sites sont hostiles au développement des plantes (sécheresse, déficience en minéraux). Dans les sols riches et offrant de bonnes conditions de vie à la plante, l'association mycorhizienne est souvent réduite (Boullard, 1990 ; Gobat et al., 1998). Ces données pourront être approfondies par une analyse physico-chimique des sols prélevés. En effet, la littérature indique que le champignon jouerait un rôle de « rabatteur » de phosphore pour la plante. Il pourrait également synthétiser des acides aminés pour l'hôte (Boullard, 1990). Les sites sur lesquels se trouvent des espèces fortement endomycorhizées pourraient donc présenter une carence en phosphore et en azote, la plante recherchant la mycorhize pour palier à ce manque d'éléments nutritifs.

Il importe de savoir si les familles auxquelles appartiennent les espèces végétales étudiées sont signalées comme habituellement mycorhizées, car si la majorité des plantes sont endomycorhizées, il existe des familles qui n'ont pas d'affinité avec les AMF. Les données existant dans la littérature indiquent que la présence de mycorhizes a été observée chez les familles suivantes : APOCYNACEAE (Brundrett et al., 1995), CELASTRACEAE (Brundrett et al., 1995), COMBRETACEAE (Reddell et Milnes, 1992 ; Brundrett et al., 1995), CONVULVARIACEAE (Logan et al., 1989 ; Brundrett et al., 1995), FABACEAE (Sward, 1987 ; Brundrett et Abbott, 1991 ; Bellgard, 1991 ; Reddell et Milnes, 1992 ; Brundrett et al., 1995), LAMIACEAE (McGee 1986, Brundrett et Abbott, 1991 ; Brundrett et al., 1995), POACEAE, RUBIACEAE (Brundrett et Abbott, 1991 ; Reddell et Milnes, 1992 ; Brundrett et al., 1995), RUTACEAE (McGee, 1986 ; Sward, 1987 ; Logan et al., 1989 ; Brundrett et Abbott, 1991 ; Bellgard, 1991 ; Brundrett et al., 1995), SAPINDACEAE (Brundrett et al., 1995), SAPOTACEAE (Brundrett et al., 1995) et VERBENACEAE (Reddell et Milnes, 1992 ; Brundrett et al., 1995). Les résultats obtenus au cours de cette étude sont en accord avec les données existantes. De façon plus précise, une étude réalisée sur les espèces des forêts tropicales humides de Chine (Z.-W. Zhao et al., 2001) indique la présence de mycorhizes chez le genre *Diospyros*, ce qui est en accord avec nos observations. Par contre, ils n'observent pas de mycorhization chez *Cleistanthus* et un degré de mycorhization faible chez *Croton* et *Trigonostemon*, genres qui sont fortement mycorhizés sur les sites étudiés. Nous n'avons pas trouvé de données concernant la mycorhization des SANTALACEAE, des FLACOURTINACEAE et des EUPHORBIACEAE.

#### **APPRECIATION DU POTENTIEL MYCORHIZOGENE PAR L'ESTIMATION DE LA DENSITE DES SPORES DANS LES SOLS**

D'une manière générale, les densités en spores observées sur les différents sites étudiés (tableau 2) sont élevées en comparaison des données bibliographiques, indiquant un fort potentiel mycorhizogène des sols. Ainsi Sieverding (1991) a compté 120 spores pour 100 g de sol sous une monoculture de manioc, 132 sous culture en rotation et 360 sous savane. Weissenhorn (1994) obtient 150 à 200 spores pour 100 g de sol sec prélevé dans des sols agricoles pollués par des retombées atmosphériques. Mott et Zuberer (1987) ont trouvé des densités en spores sur sols non miniers atteignant 9050 à 11470 spores pour 100 g de sol, ce qui se rapproche de nos valeurs. Gould et al. (1996) ont observé de 4 à 1576 spores pour 100 g de sol dans des sols revégétalisés à différentes époques après exploitation.

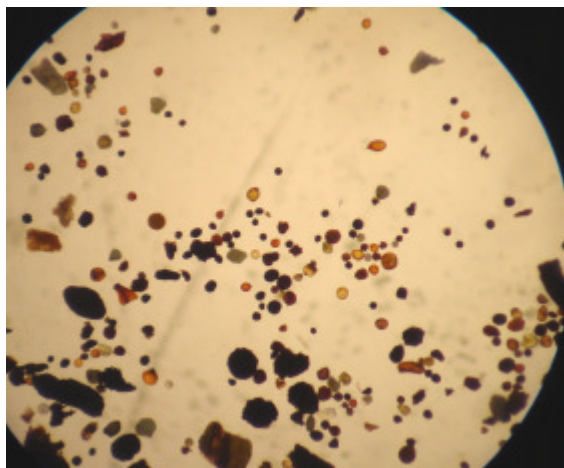
Cet inoculum mycorhizien important dans le sol explique les fréquences relativement élevées de mycorhization notées. Cette forte sporulation pourrait compenser un environnement défavorable (couvert végétal discontinu, alimentation hydrique très irrégulière et précaire) qui pourrait rendre leur germination plus aléatoire. Cependant, la sporulation se faisant après l'infection mycorhizienne, le lien entre les deux reste complexe.

Les échantillons prélevés sous litière possèdent un nombre de spores plus important. En effet, il s'agit d'un milieu plus favorable au développement racinaire (taux d'humidité et de matière organique plus importants). Or c'est à l'extérieur des racines infectées que sont produites les spores. Les sols pauvres en racines sont donc plus pauvres en spores puisque celles-ci restent plus longtemps dans le sol sans rencontrer d'hôte racinaire potentiel, ce qui entraîne leur dégradation et leur mort. Par contre, sous couvert végétal, les spores germent et infectent rapidement de nouvelles racines et la mycorhize est en sporulation continue.

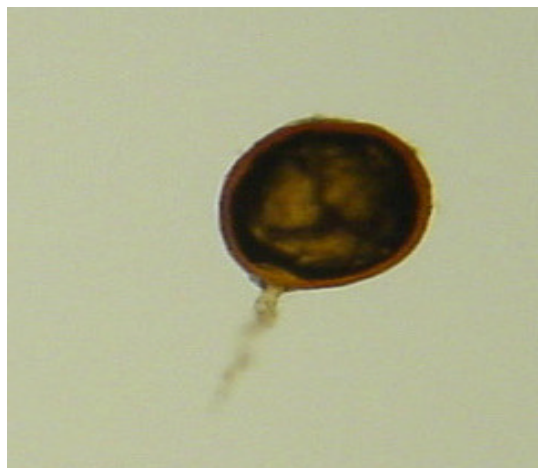
#### **ISOLEMENT DE SOUCHES MYCORHIZIENNES A PARTIR DE SOLS DE FORETS SECHES**

Une quinzaine de types de spores provenant de plusieurs sites différents ont été inoculées sur plantules de sorgho et mis en culture. La vérification du bon développement des isolats AMF ne sera réalisée qu'en début 2004, une fois que le mycelium s'est bien développé et a sporulé dans le sol. Ces isolats devront subir au moins une deuxième purification avant d'être testées pour leur efficacité dans l'amélioration du développement des espèces végétales, dans une perspective de restauration.

**Quelques types de spores mycorhiziennes observés  
dans les sols des forêts sèches**



Vue d'une suspension de sol montrant des spores parmi des particules inertes



Spore de *Glomus sp*



Grappe de spores piriforme  
(*Glomus sp*) probablement  
myconodulant



Sporocarpie de *Glomus sp*

## Conclusion et perspectives

La forêt sclérophylle constitue un écosystème très original avec une végétation exceptionnellement riche et très peu connue. Sa préservation et sa restauration nécessite donc d'améliorer nos connaissances dans ce domaine, à différents niveaux. Le travail réalisé ici permet d'entrevoir quelques potentialités qui pourront éventuellement être exploitées dans les programmes de restauration écologique.

Les résultats dégagés au cours de cette étude ont permis d'apporter les premières données dans le domaine de la symbiose mycorhizienne des plantes de la forêt sclérophylle :

- ♣ Malgré le caractère inhospitalier des conditions édaphiques des forêts sèches, toutes les espèces végétales étudiées, à l'exception d'une, y sont mycorhizées.

- ♣ Le caractère rude de ce milieu rend très utile la présence de mycorhizes qui permettent l'assimilation d'éléments essentiels tels que le phosphore et l'azote et améliorent la capacité d'absorption hydrique et de résistance générale.

Des expériences futures menées en conditions contrôlées devraient permettre de mesurer de façon plus précise l'importance du rôle des endomycorhizes pour les plantes de la forêt sèche par comparaison de plants mycorhizés et non mycorhizés.

Les isolats mis en culture au cours de ce travail seront purifiés et leur efficacité pourra être testée afin de sélectionner les plus favorables au développement des plantes. En effet, les AMF n'ont pas d'affinité pour une espèce végétale précise, la même souche pouvant infecter de nombreuses plantes différentes. Il existe cependant une contrainte : les AMF sont des symbiotes obligatoires et ne sont pas cultivables sur milieu aseptique. Leur multiplication demandera donc la culture d'une plante hôte leur permettant de se développer. Toutefois, une technique plus artisanale existe, qui consiste à choisir après étude, un ou quelques sols ayant un potentiel mycorhizogène élevé et produisant des effets bénéfiques vérifiés. Les plantules élevées en pépinières peuvent alors être inoculées par un apport d'une faible proportion de ce sol, au contact des racines.

Ce projet était prévu sur 2 années ; le travail réalisé en 2003 concerne presque tous les points de la partie « mycorhizes », partie correspondant aux trois quart du projet. Il sera complété en 2004, par une étude de l'activité microbienne globale et de quelques aspects supplémentaires sur la mycorhization.

Un deuxième projet a été proposé afin de mener cette étude jusqu'à l'application.

## Bibliographie

- BELLEGARD S.E., 1991. Soil disturbance and infection of *Trifolium repens* roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza*, **3** : 25-29p.
- BOULLARD B., 1990. *Guerre et paix dans le règne végétal*, Edition Marketing, 181-291p.
- BOUCHET PH., JAFFRE T. et VEILLON J.M., 1995. Plant extinction in New-Caledonia : protection of sclerophyll forests urgently needed. *Biodiversity and Conservation*, **4**.
- Brundrett M.C. et Abbott L.K., 1991. Roots of jarrah forest plants. I. Mycorrhizal associations of shrubs and herbaceous plants. *Australian Journal of Botany*, **39** : 445-457p.
- BRUNDRETT M.C., MELVILLE L. et PETERSON A., 1994. Practical methods in mycorrhiza research, Mycologue Publications Editions, *Workshop organized in conjunction with the 9th North American Conference on Mycorrhizae and the University of Guelph*.
- GARGOMINY O., BOUCHET PH., PASCAL M., JAFFRE T. et TOURNEUR J.C., 1996. Conséquences des introductions d'espèces animales et végétales sur la biodiversité en Nouvelle-Calédonie. *Revue d'Ecologie (Terre Vie)*, 51p.
- GOBAT JM., ARAGNO M. et MATTHEY W., 1998. Le sol vivant, Bases de pédologie Biologie des sols, *Presses polytechniques et universitaires romandes*, 414-445p.
- GOULD A.B., HENDRIX J.W. et FERRISS R.S., 1996. Relationship of mycorrhizal activity to time following reclamation of surface mine land in western Kentucky. I. Propagule and spore population densities. *Can. J. Bot.*, **74** : 247-261p.
- JAFFRE T., MORAT PH. et VEILLON J.M., 1993. Etude floristique et phytogéographique de la forêt sclérophylle de Nouvelle-Calédonie. *Bull. Mus. natl. Hist. nat., Paris, 4 sèr., 15. Section B, Adansonia*, 1-4p.
1994. La flore, caractéristiques et composition floristique des principales formations végétales. In « Dossier Nouvelle-Calédonie ». *Bois et Forêts des Tropiques*, **242** : 21-25p.
- JAFFRE T., 1980. Etude écologique du peuplement végétal des sols dérivés de roches ultrabasiques en Nouvelle-Calédonie. *Travaux et Documents*, 124p. ORSTOM, Paris.
- JASPER D.A., ROBSON A.D., ABBOTT L.K., 1987. The effect of Surface Mining on the Infectivity of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *Aust. J. Bot.*, **35** : 641-652p.

KORMANIK P.P. et MC GRAW A.C., 1982. Quantification of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizae in plant roots. *In Methods and principles of Mycorrhizal Research*, Schenck N.C., editor, APS Press, 37p.

LOGAN T.J. et CHANEY R.L., 1983. Metals. *In : Utilization of Municipal Wastewater and Sludge on Land*. Gleason T.L., Iskandar I.K., Page A.L., Smith J.E. and Sommers L.E. (Eds.), University of California, Riverside. 235-328p.

MARONEK D.M., HENDRIX J.W. et KIERNAN J., 1989. Mycorrhizal fungi and their importance in horticultural crop production. *Horticultural Rev.*, **3** : 172-213p.

MARX D.H., BRYAN W.C. et CORDELL C.E., 1977. Survival and growth of pine seedlings with *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae after two years on reforestation sites in North Carolina and Florida. *Forest Sci.* **23** : 363-373p.

MCGEE P.A., 1986. Alteration of growth of *Solanum opacum* and *Plantago drummondii* and inhibition of regrowth of hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from dried root pieces by manganese. *Plant Soil*, **101** : 227-233p.

MORAT PH., JAFFRE T., VEILLON J.M. et MACKEE H.S., 1981. Les formations végétales, Planche 15. *Atlas de la Nouvelle Calédonie et dépendances*. ORSTOM, Paris.

MOTT J.B. et ZUBERER D.A., 1987. Occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizae in mixed overburden mine spoils of Texas. *Reclamation and revegetation research*, **6** : 145-156p.

PAPINEAU C., 2003. COMM. PERS.

PHILLIPS J.M. et HAYMAN D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Transaction of the British Mycological Society*, **55** : 158-160p.

PLENCHETTE C., PERRIN R. et DUVERT P., 1989. The concept of soil infectivity and a method for its determination as applied to endomycorrhizas. *Can. J. Bot.* **67** : 112-115p.

REDDELL P. et MILNES A.R., 1992. Mycorrhizas and other specialised nutrient-acquisition strategies : Their occurrence in woodland plants from Kakadu and their role in rehabilitation of waste rock dumps at a local uranium mine. *Aust. J. Bot.* **40** : 223-242p.

SHETTY K.G., HETRICK B.A.D., FIGGE D.A.H. et SCHWAB A.P., 1994. Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil. *Environmental pollution*, **86** : 181-188p.

SIERVERDING E., 1991. *Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems*. *Schriftenreihe der GTZ*, n°224. *Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit GmgH*, Eschborn, FRG : 371 p.

SWARD R.J., 1987. The structure of the spores of *Gigaspora margarita*. I. The dormant spore. *New Phytol.*, **87** : 761-768p.

TROUVELOT A., KOUGH J.L. et 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. et Gianinazzi S. (Eds.), INRA edition, Paris, 217-221p.

WEISSEHORN I., 1994. Les mycorhizes à arbuscules dans des sols pollués par des métaux lourds : tolérance aux métaux et rôle dans leur transfert aux plantes. *Thèse Doct. Sciences de la Terre. Univ. De Nancy I*, 166 p.

ZHAO Z.W., XIA Y.M., QIN X.Z., LI X.W., CHENG L.Z., SHA T. et WANG G.H., 2001. Arbuscular mycorrhizal status of plants and the spore density of arbuscular mycorrhizal fungi in the tropical rain forest of Xishuangbanna, southwest China. *Mycorrhiza*, **11** : 159-162p.

**Tableau 1 : Evaluation de l'infection mycorhizienne des espèces végétales étudiées**

**Site de la pointe Maa**

<b>Espèces</b>	<b>F%</b>	<b>M%</b>	<b>m%</b>	<b>a%</b>	<b>A%</b>	<b>Observations</b>
<i>Ochrosia inventorum</i>	100	42.14	42.14			Présence de mycélium externe et intracellulaire en grande quantité. Nombre important de vésicules clairement visibles. Beaucoup d'arbuscules. présence de nodules très mycorhizés, fortement colorés en bleu.
	100	36.64	36.64			Présence de mycélium externe et intracellulaire en grande quantité. Nombre important de vésicules clairement visibles. Beaucoup d'arbuscules. présence de nodules très mycorhizés, fortement colorés en bleu.
	46.43	6.21	13.38	62.64	3.89	Pas de nodules. Racines moins mycorhizées que les échantillons précédents. Peu de mycélium. Présence de vésicules nettes.
	78.57	5.71	7.27	3.12	0.18	Pas de nodules. Racines moins mycorhizées que les échantillons précédents. Peu de mycélium. Présence de vésicules nettes.
	83.33	16.29	19.55	21.73	3.54	Mycélium externe très abondant, présence de vésicules. Pas de nodules. Mycorhization importante.
	59.25	5.89	9.94			Mycélium externe très abondant, présence de vésicules. Pas de nodules. Mycorhization importante.
	71.43	15.25	21.35	0.46	3.04	Quantité importante de mycélium externe. Pas de nodules. Certaines racines présentent un nombre élevé de vésicules qui sont nettes.
<i>Croton insularis</i>						Racines très épaisses, rendant l'estimation difficile. Beaucoup de mycélium externe, présence de vésicules et d'arbuscules (peu nettes).
	16	1.48	0.23	0	0	Quatre racines présentent des vésicules. Par contre on retrouve du mycélium externe sur tous les fragments. Présence de formes épousant le contour des cellules, fortement colorées en bleu, ne semblant pas être reliées à du mycélium.
	91.3	39.6	43.38	20.69	8.19	Mycélium très abondant qui forme des manchons autour de certains fragments racinaires. Présence de nombreuses vésicules.
<i>Fontainea pancheri</i>	100	51	51	40.3	20.59	Mycorhization très importante. Présence de nombreux filaments mycéliens, d'un nombre élevé de vésicules. Nodules colorés en bleu avec beaucoup d'arbuscules mais moins spectaculaires que chez <i>Ochrosia</i> .
	0	0	0	0	0	Pas de mycélium, ni de mycorhizes. Par contre, on retrouve les formes observées chez <i>Croton</i> .
	20	0.20	1	0	0	Trois fragments sont mycorhizés, pour le reste de l'échantillon, mêmes observations que pour l'échantillon précédent.
<i>Panchnella cinerea</i>	93.75	6.06	6.46	4.23	0.26	Tous les fragments présentent du mycélium externe. Présence de quelques arbuscules et vésicules. Cependant, l'observation est rendue difficile par une coloration rouge marquée des racines.

<i>Homalium deplanchei</i>	66.7	1.43	2.14	0	0	Présence de mycélium externe et intracellulaire. Pas de vésicules ni d'arbuscules.
	54.54	0.91	1.67	0.5	0.0045	Présence de mycélium externe et intracellulaire. Pas de vésicules ni d'arbuscules.
<i>Premna serratifolia</i>	100	61.11	61.11	68.85	42.07	Mycorhization très importante avec arbuscules très nettes et abondantes. Densité de mycélium très élevée. Présence de spores. Grosses vésicules parfaitement nettes.
	91.66	47.54	51.86	64.02	30.44	Mycorhization très importante avec arbuscules très nettes et abondantes. Densité de mycélium très élevée. Présence de spores. Grosses vésicules parfaitement nettes.
<i>Cupianopsis trigonocarpa</i>	91	20.72	22.8	8.99	1.86	Mycélium externe présent en quantité peu élevée. Présence de nodules, nettement moins mycorhizés que ceux observés dans les autres échantillons. Présence de grosses vésicules.

### Site de l'îlot Leprédour

Plante	F %	M %	m %	a %	A %	observations
<i>Pittosporum tananiam</i>	100	40.33	40.33	68.18	27.5	Présence de nombreuses vésicules et arbuscules. Présence de spores sur certains fragments. Mycélium externe abondant
	81.25	33.25	40.92	89.85	29.87	Pas d'arbuscules. présence de sortes de nodules mycorhizés. Organites cellulaires rappelant des arbuscules mais différents, cultiver pour savoir si ce sont ou non des mycorhizes
<i>Arytera sp.</i>	0	0	0	0	0	

### Site de Tiéa

Plante	F %	M %	m %	a %	A %	observations
<i>Premna serratifolia</i>	78.38	25.5	32.55	32.52	8.29	Présence de vésicules, mycélium externe et une spore
	100	40	40	26.56	10.62	Arbuscules assez nettes sur certains fragments, présence de vésicules et de mycélium externe
<i>Santalum australcaledonicum</i>	53.84	10.92	20.28	49.29	5.38	Mycorhization hétérogène, certains fragments sont même non mycorhizés. Présence de vésicules
	50	8.75	17.5	/	/	Racines épaisses rendant la vision difficile. Peu de mycélium externe. Présence de vésicules sur la moitié des racines
<i>Ormocarpum orientale</i>	91.3	24.70	27.04	8.22	2.03	Mycélium externe abondant avec des gros filaments. Présence de myconodules sur de nombreuses racines, d'arbuscules et quelques vésicules
	83.3	29.3	35.2	48.29	14.17	Présence de vésicules, d'arbuscules et de mycélium externe
<i>Diospyros minimifolia</i>	88	38.64	43.91	4.72	1.82	De nombreuses vésicules et très peu d'arbuscules. sur certains fragments, mycélium externe très abondant
	50	1.5	3	/	/	Un fragment présente une concentration élevée de spores rondes, très régulières, comme si elles étaient calibrées. Les racines sont sombres, ce qui rend difficile l'estimation du degré de mycorhization
<i>Croton insularis</i>	/	/	/	/	/	Racines trop sombres pour voir quoique ce soit
	91.67	34.08	37.20	12.10	4.12	Beaucoup de mycélium externe. Quelques vésicules, présence d'arbuscules
<i>Cleistanthus stipitatus</i>	73.68	10.26	13.93	21.7	2.23	Beaucoup de racines courtes, rondes à ovales, rappelant des nodules
	26.31	3.74	14.2	29.72	1.11	Idem, avec en plus des arbuscules peu nombreuses mais bine développées
<i>Homalium deplanchei</i>	83.3	15.93	19.12	53.47	8.52	Présence de myconodules fortement mycorhizés avec de nombreuses arbuscules

<i>Oryza neocaledonica</i>	75	7,96	10,61	5,23	0,42	Un peu de mycélium externe. Présence de mycélium intracellulaire en petite quantité, observation de quelques arbuscules et quelques vésicules.
<i>Homalium deplanchei</i>	61,54	12,08	19,63	1,91	0,23	Ce sont les racines qui ont le diamètre le plus important qui sont les plus mycorhizées. Des fragments présentent du mycélium externe mais pas de mycorhization. Celle ci est principalement sous forme de rouleaux de mycélium intracellulaire.
<i>Turbina inopinata</i>	100	12	12	0	0	Mycélium externe en grande quantité. Mycorhization très importante, sous forme de mycélium intracellulaire, pas de vésicules ni d'arbuscules.
<i>Premna serratifolia</i>	100	46,66	46,66	23,93	11,17	Présence de mycélium externe et interne. De nombreuses arbuscules mais pas toujours très nettes ; pas de vésicules.
<i>Ormocarpum orientale</i>	100	10,25	10,25	1,22	0,12	Mycélium externe important, tous les fragments sont mycorhizés mais avec une intensité de mycorhization faible.
<i>Cleistanthus stipitatus</i>	100	27	27	21,53	5,81	Présence de racines de forme ovale, plus ou moins raccourcies, ressemblant à des nodules. Présence de mycélium externe et interne, un fragment présente de nombreuses vésicules.
<i>Diospyros minimifolia</i>	/	/	/	/	/	Racines trop sombres pour pouvoir observer la mycorhization.
<i>Arytera sp</i>	25	0.25	1	5	0.01	Mycorhization très faible comparée aux valeurs trouvées en forêt sèche sur les autres espèces.
<i>Gardenia urvillei</i>	10	8,25	8,25	0	0	Mycorhization très faible. Un fragment présente 2 vésicules.
	69.23	5.92	8.55	0	0	Mycélium externe sur tous les fragments. Quand la mycorhization est présente, elle se fait sous forme de mycélium intracellulaire très développé.
<i>Captaincookia margaretae</i>	100	22.36	22.36	31.63	7.07	Les poils absorbant des racines sont très développés et forment des spirales. Mycorhization sous forme d'arbuscules dont certaines sont très nettes.
<i>Bocquillona sessiliflora</i>	0	0	0	0	0	

### Site du Ouen Toro

Plante	F %	M %	m %	a %	A %	observations
<i>Santalum australocaledonicum</i>	100	12	12	26.39	3.17	Intensité de la mycorhization peu importante, on observe du mycélium externe et intracellulaire, des arbuscules et quelques vésicules. Notation : S1
	/	/	/	/	/	Pas de mycorhization observée, cependant, le sujet est presque mort et les racines prélevées étaient pour la plupart hors du sol. Notation : S2
	91	18.18	19.98	41	7.45	Présence de quelques vésicules sur certains fragments. Observation d'une spore et un fragment présente beaucoup de mycélium externe.

### Site de Pindaï

Plante	F %	M %	m %	a %	A %	observations
<i>Arytera sp</i>	100	30.12	30.12	0	0	Présence de myconodules plus ou moins mycorhizés (mycélium intracellulaire formant des rouleaux assez nets). Des vésicules sont aussi observées.
<i>Maytenus fourrieri</i>	100	35.62	35.62	31.05	11.06	Vraies arbuscules très nettes sur certains fragments, mycorhization importante.
<i>Ancistrachne noumeaense</i>	75	32.5	43.33	67.69	22	Myorhization très importante avec de belles arbuscules et des vésicules un peu moins nettes.
<i>Ixora cauliflora</i>	100	65	65	49.74	32.33	Myorhization très importante avec de belles arbuscules et des vésicules un peu moins nettes.

### Site de Nekoro (Beaupré et Mèpouiri)

Plante	F %	M %	m %	a %	A %	observations
<i>Croton insularis</i>	/	/	/	/	/	Racines trop épaisses rendant l'estimation du degré de mycorhization difficile. Présence de spores bien rondes et de mycélium externe et intracellulaire
	82.6	8.17	9.89	6.75	0.55	Presque tous les fragments présentent du mycélium externe. Pas de vésicules. Présence de quelques arbuscules
<i>Terminalia cherrieri</i>	83.3	15.93	19.12	53.47	8.52	Beaucoup de mycélium externe. Pas de vésicules. Mycélium intracellulaire avec des arbuscules
	?	?	?	?	?	Mycélium externe très abondant mais pas observé de mycorhization
<i>Homalium deplanchei</i>	100	52.75	52.75	49.76	26.25	Arbuscules très nombreuses. Pas de vésicules
<i>Gardenia urvillei</i>	60	5.55	9.25	9.01	0.5	Pas de vésicules, quelques arbuscules pas très nettes. Mycélium externe très abondant sur certains fragments
<i>Trigonostemon cherrieri</i>	100	45.14	45.14	48.57	21.93	
<i>Eugenia bulata</i>	71.42	5.43	7.6	78.95	4.28	Présence de vésicules. Mycélium externe et intracellulaire
	100	41.57	41.57	59.06	24.55	Présence de vésicules. Certains fragments présentent beaucoup de mycélium externe, faisant comme un manchon
	77.27	8.23	10.65	5.25	0.43	Quelques vésicules. Présence de racines courtes et ovales, rappelant les myconodules mais ne présentant pas de mycorhization

### Site du Creek Hervouët

Plante	F %	M %	m %	a %	A %	observations
<i>Eugenia bulata</i>	83.33	68.33	81.99	73.17	50	
<i>Santalum australcaledonicum</i>	/	/	/	/	/	Présence de nombreux filaments mycéliens externes. Une racine possède nettement une vésicule et des arbuscules moins nettes. Sur les autres fragments il y a peut être des vésicules mais pas vraiment net. Le degré de mycorhization est très faible mais difficile à estimer parce que les racines sont très sombres et trop épaisses
<i>Schefflera veitchii</i>	100	63,15	63,15	19,11	12,44	La mycorhization est très importante avec des formes originales, jamais observées sur le terrain jusqu'à présent (observé en serre par Amir sur des sorgho)

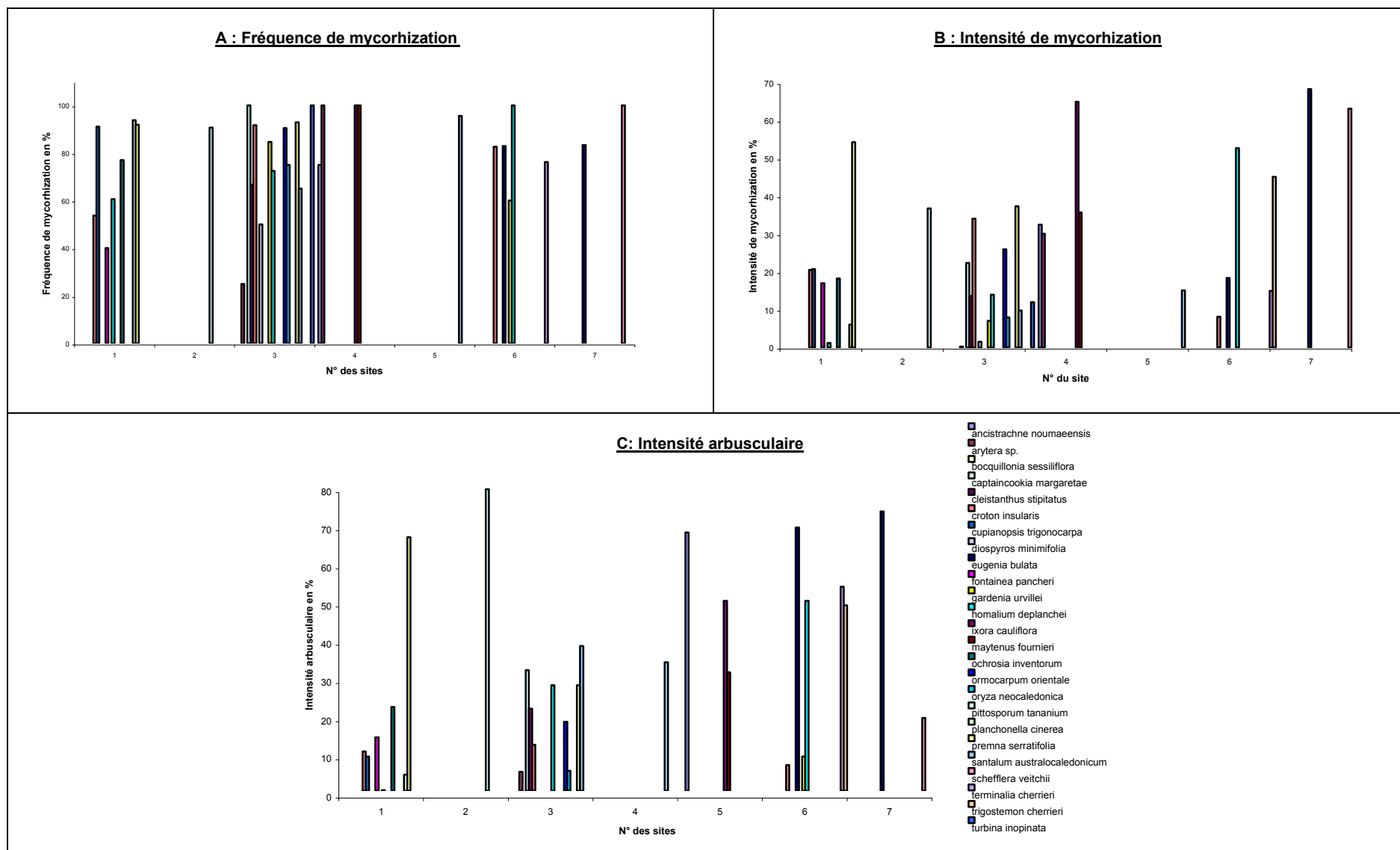


Figure 1 : Evaluation de la mycorhization des espèces étudiées

**Tableau 2 : Comptage des spores viables dans les sols prélevés sous les plantes étudiées**

Sol provenant de dessous	Nombre moyen de spores / 100 g de sol	Aspect des spores
<i>Cupianopsis trigonocarpa</i>	5600	Translucides, 40-50 µm (Glomus)
<i>Croton insularis</i>	3009	Brunes, 40-50 µm et 70-80 µm (Glomus)
<i>Homalium deplanchei</i>	2935	Brunes ovales/piriformes, 50x70 µm (Glomus)
<i>Premna serratifolia</i>	4650	Brunes claires, très grosses, 200-250 µm, assez rares (Glomus)
<i>Croton / Fontainea / Ochrosia</i>	8585	Brunes grisâtres, de type Acaulospora
<i>Fontainea pancheri</i>	3157	Taille moyenne, brun clair (Glomus)
<i>Planchonella cinerea</i>	3296	Taille assez petite, couleur hétérogène (Glomus)
<i>Premna serratifolia</i>	1618	Brunes claires à foncées, 70 µm (Glomus)
<i>Santalum australcaledonicum</i>	4717	Blanches, 90-120 µm (Glomus)
	3612	Brunes, piriformes/ovales, de type myconodules, 80 µm, fréquentes
<i>Ormocarpum orientale</i>	6115	Brunes, rondes, 80-100 µm (Glomus)
	2310	Brunes claires, grosses, 200 µm, rares (Glomus)
<i>Diospyros minimifolia</i>	9450	Brunes rouges, boursouflées comme une mûre, 150 µm, rare (Glomus)
	5304	Blanches translucides ou +/- brunes, 50 µm, fréquentes (Glomus)
<i>Cleistanthus stipitatus</i>	3280	Légèrement brunes ou beiges, 80 µm, assez fréquentes (Glomus)
	11850	Brun ocre, 180 µm, assez fréquentes (Glomus)
<i>Croton insularis</i>	9639	Grosses brunes, 150 à 200 µm, assez fréquent (Glomus)
<i>Homalium deplanchei</i>	10000	Blanches-beiges translucides, 80 à 100 µm (Glomus)
<i>Oryza neocaledonica</i>	2750	Taille moyenne, brun/brun clair (Glomus)
<i>Homalium deplanchei</i>	3431	Translucides et brunes, 40 µm, très nombreuses (Glomus)
<i>Turbina inopinata</i>	4357	Blanches, 60-80 µm (Glomus)
<i>Premna serratifolia</i>		Brunes, très rondes, 125 µm, très rares (Glomus)
<i>Ormocarpum orientale</i>		Blanche, forme rectangulaire, 120 µm, type Acaulospora, très rares
<i>Cleistanthus stipitatus</i>		
<i>Gardenia urvillei</i>	2142	
<i>Arytera sp</i>	4725	
<i>Captaincookia margaretae</i>	3262	
<i>Gardenia urvillei</i>	5535	
<i>Bocquillona sessiliflora</i>	2275	
<i>Maytenus fourrieri</i>	4794	
<i>Ancistrachne noumeaense</i>	3570	

<i>Aytera sp</i>	6277	
<i>Ixora cauliflora</i>	3762	
<i>Croton insularis</i>	7267	
<i>Croton insularis</i>	5254	
<i>Terminalia cherrieri</i>	5367	
<i>Gardenia urvillei</i>	2400	
<i>Terminalia cherrieri</i>	6463	
<i>Eugenia bulata</i>	5208	
<i>Homalium deplanchei</i>	2146	
<i>Eugenia bulata</i>	4371	
<i>Terminalia cherrieri</i>	8346	
<i>Trigonostemon cherrieri</i>	4335	

## **Annexe 1 : historique du programme forêt sèche**

Les forêts sèches constituent l'écosystème forestier le plus menacé du monde, que ce soit à Madagascar, en Afrique australe ou ici en Nouvelle Calédonie. Située sur la Grande Terre, elle ne couvre plus aujourd'hui que 4500 ha, soit 1% de sa superficie originelle, abritant 456 espèces dont 57% sont endémiques. C'est pour sauver ce patrimoine qu'un programme de conservation a été lancé en 2001. Echelonné sur cinq ans, il doit mener de front les cinq volets suivants : amélioration des connaissances, protection de 19 forêts jugées prioritaires, restauration de parcelles endommagées, valorisation socio-économique et gestion durable.

La connaissance des espèces animales et végétales s'effectue par des études et des enquêtes réalisées sur le terrain. L'accumulation d'un maximum de données permettra de mieux comprendre les processus écologiques et les menaces pesant sur cet écosystème.

La protection passe par la mise en défens des sites contre les dégâts dus aux herbivores grâce à la pose de clôtures, la mise en place de pare-feu, tranchées de 10 à 20 m de large, pour lutter contre les incendies. Cette partie du programme est rendue difficile par les exigences des éleveurs. En effet, pour une parcelle de terrain « sacrifiée à la science », ils demandent en retour des pâturages améliorés pour leur bétail, des zones d'ombrage, des terres....

La phase de restauration des forêts dégradées est la plus minutieuse. Elle exige de longues heures d'observation et de suivi des espèces, mètre carré par mètre carré. Les espèces végétales ont été séparées en deux grands ensembles : celles dont le pouvoir pionnier de recolonisation permettra de recréer le milieu forestier et celles qui sont rares, dont le sauvetage passe par la multiplication. Les plants produits en pépinières devraient permettre, pas avant 2005, d'enrichir les clairières et les lisières forestières et à terme de recréer la forêt sèche en créant des « corridors » entre deux zones de forêt autrefois jointives.






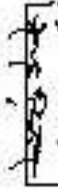
En ce qui concerne le volet valorisation, il s'agit d'insister auprès du plus grand nombre sur le rôle écologique majeur joué par les forêts sèches ainsi que sur les différentes menaces qui pèsent sur elles. Il s'agit aussi de trouver pour les espèces végétales des applications dans le domaine de l'horticulture, de la pharmacopée et des cosmétiques.

Le plan de gestion durable, quant à lui, prévoit la mise en place d'un conservatoire du patrimoine naturel.

## Annexe 2 : notation de l'infection par les endomycorhizes à arbuscules et vésicules

Le système de notation choisi repose sur l'appréciation globale de chacun des trente fragments : à chaque fragment est attribuée une note de classe comprise entre 0 et 5 correspondant à l'estimation de la proportion de cortex colonisée par le symbiote mycorhizien.

La présence des arbuscules et vésicules est notée simultanément en indiquant leur classe de fréquence de A0 à A3.

Classes	0 A0	1 A1	2 A2	3 A3	4 A2	5 A1
						
A en %	0	2	25	95	50	1
M en %	0	1	5	30	70	95

Valeur des classes de M en %	Valeur des classes de A en %
0 : pas d'infection	A0 : pas d'arbuscules
1 : trace	A1 : moins de 10%
2 : moins de 10%	A2 : de 11 à 50%
3 : de 11 à 50%	A3 : plus de 50%
4 : de 51 à 90%	
5 : plus de 90%	

Annexe 3 : fiche de notation utilisée pour mesurer la mycorhization des espèces étudiées.

	0	1				2				3				4				5				V	observations	
		A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0	A3	A2	A1	A0			
1																						1		
2																							2	
3																							3	
4																							4	
5																							5	
6																							6	
7																							7	
8																							8	
9																							9	
10																							10	
11																							11	
12																							12	
13																							13	
14																							14	
15																							15	
16																							16	
17																							17	
18																							18	
19																							19	
20																							20	
21																							21	
22																							22	
23																							23	
24																							24	
25																							25	
26																							26	
27																							27	
28																							28	
29																							29	
30																							30	
S																								

DATE :  
 SOL :  
 PLANTE :  
 CHAMP :  
 TRAIT :  
 N° PLTE :

I% =  
 M% =  
 m% =  
 a% =  
 A% =