



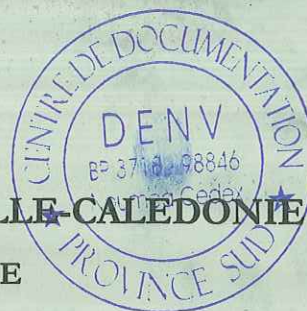
UNIVERSITE DE LA NOUVELLE-CALÉDONIE
Département des Sciences et Techniques
Laboratoire de Biologie et de Physiologie Végétales Appliquées

THESE

Présentée pour l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LA NOUVELLE-CALÉDONIE
Spécialité : **PHYSIOLOGIE VEGETALE**

par

M^{lle} Virginie LEON



CONTRIBUTION A LA CARACTERISATION DES STRATEGIES MISES EN JEU PAR LES PLANTES ENDEMIQUES A LA NOUVELLE- CALEDONIE POUR LEUR DEVELOPPEMENT SUR LES SOLS NICKELIFERES

Soutenue publiquement le 18 février 2005 à Nouméa
devant le jury composé de :

Pr. M-T. MISSET, Botanique Université de Rennes 1, France	Rapporteur
Pr. G. TREMBLIN, Physiologie végétale Université du Maine, France	Rapporteur
Pr. R. PINEAU, Agronomie tropicale Université de la Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Calédonie	Président
Pr. S. BOURAIMA-MADJEI, Physiologie végétale Université de la Nouvelle-Calédonie, Nouvelle-Calédonie	Dir. de thèse
Pr. A.J.M. BAKER, Phytoremédiation et sciences de l'environnement Université de Melbourne, Australie	Examineur



TABLE DES MATIÈRES

n° page

INTRODUCTION GENERALE

17

PARTIE A - CONTEXTE BIBLIOGRAPHIQUE

27

I. LA NOUVELLE-CALEDONIE : PRESENTATION GENERALE	29
I.1. Position dans le monde	29
I.2. Description géographique	29
I.2.1. Le climat	29
I.2.2. Le relief	31
I.2.3. Les roches	31
I.2.4. La flore	31
II. LE MILIEU SERPENTINIQUE	33
II.1. Les roches ultramafiques	33
II.1.1. Définitions des roches ultramafiques	33
II.1.2. Les roches ultramafiques en Nouvelle-Calédonie	34
a. Mise en place des péridotites	34
b. Altération des péridotites	34
c. Distribution des roches ultramafiques sur Grande Terre	35
d. Les sols sur roches ultramafiques	36
II.2. Le milieu serpentinique	37
II.2.1. La serpentinisation des roches ultramafiques	37
II.2.2. Les caractéristiques édaphiques du milieu serpentinique	38
a. Faible taux de recyclage de la matière organique	38
b. Faible teneur en macro-éléments essentiels	39
c. Forte teneur en éléments traces métalliques	39
d. Faible disponibilité de l'eau	39
II.2.3. Les interactions entre les différents facteurs du milieu serpentinique	40
a. Faible disponibilité de l'eau et fortes teneurs en E.T.M.	40
b. Faible teneur en Ca et fortes teneurs en E.T.M. et Mg	41
c. Faible quantité en matière organique et fortes teneurs en E.T.M.	41
II.3. Les formations végétales en milieu serpentinique néo-calédonien	42
II.3.1. Présentation générale	42
II.3.2. La forêt sur roches ultramafiques	42
II.3.3. Le maquis minier	42
a. Définition et distribution géographique	42
b. Composition floristique	44
c. Ecologie	45

II.4. La valorisation économique du milieu serpentinique	46
II.4.1. L'agriculture et les exploitations forestières	46
II.4.2. L'exploitation du nickel	47
a. Historique	47
b. L'exploitation du nickel aujourd'hui	47
c. L'impact de l'exploitation minière sur l'environnement	48
III. LE NICKEL CHEZ LES PLANTES VASCULAIRES	50
III.1. Le nickel dans la rhizosphère et son absorption par les racines	50
III.1.1. Les éléments minéraux dans la rhizosphère	50
III.1.2. Le nickel dans le sol	50
III.1.3. La biodisponibilité du nickel	51
III.1.4. L'effet des microorganismes sur la biodisponibilité du Ni	52
III.1.5. L'absorption du nickel	52
III.2. Le nickel : élément minéral essentiel	53
III.2.1. Les éléments minéraux essentiels	53
a. Les macro-éléments et les oligoéléments	53
b. Les éléments métalliques et non-métalliques	54
III.2.2. Les rôles du Ni chez les plantes vasculaires	54
a. Les rôles des éléments essentiels	54
b. Les rôles du nickel	54
III.3. Le nickel dans les plantes	55
III.3.1. Le transport du nickel	55
III.3.2. Répartition du nickel dans les plantes	56
III.4. Le cas particulier du nickel dans les semences	57
III.4.1. Les semences de type graine : description	57
III.4.2. La germination des semences	57
a. Définition	57
b. Inhibitions de la germination	58
c. Facteurs environnementaux contrôlant la germination	58
III.4.3. Le nickel et les semences	59
a. Effets du nickel sur la germination	59
b. Ni dans les semences	59
III.5. La phyto-toxicité du nickel	60
III.5.1. Généralités	60
III.5.2. Phyto-toxicité du Ni au niveau de la plante entière	61
III.5.3. Phyto-toxicité du Ni au niveau cellulaire	61
IV. LES STRATEGIES DEVELOPPEES PAR LES PLANTES VASCULAIRES EN ENVIRONNEMENT NICKELIFERE	62
IV.1. Définition du stress environnemental	62
IV.2. Perception du stress métallifère	62
IV.3. Les réponses au stress nickélifère	63
IV.4. Les espèces résistantes au Ni	64

IV.4.1. Définition	64
IV.4.2. Réponses de tolérance	65
a. Accumulation et hyper-accumulation du Ni	65
b. Mécanismes permettant l'hyper-accumulation du Ni	66
c. Les espèces indicatrices	68
IV.4.3. Réponses d'exclusion	68
V. PRESENTATION ET TRAITEMENT STATISTIQUE DES RESULTATS	69

PARTIE B - PRESENTATION DES SIX ESPECES ETUDIEES

71

I. CHOIX DES SIX ESPECES ETUDIEES	73
I.1. Les espèces étudiées	73
I.2. Raisons du choix des espèces étudiées	73
I.2.1. Intérêts pour la restauration des sites miniers dégradés	73
I.2.2. Représentation des strates herbacées et ligneuses	76
I.2.3. Abord des mécanismes d'adaptation à l'environnement nickélifère	76
I.2.4. Utilisation de données acquises sur certaines espèces	77
I.2.5. Facilité d'obtention des graines	78
II. DESCRIPTION DES ESPECES	78
II.1. Les herbacées de la famille des Cyperaceae	78
II.1.1. Généralités sur les Cyperaceae	78
II.1.2. <i>Baumea deplanchei</i> Boeckeler	79
a. Description de l'espèce	79
b. Origine des semences	80
II.1.3. <i>Costularia comosa</i> (C.B. Clarke) Kuek.	80
a. Description de l'espèce	80
b. Origine des semences	80
II.2. Les ligneux	82
II.2.1. <i>Grevillea exul</i> Lindley var. <i>rubiginosa</i> Brongniart et Gris	82
a. Généralités sur les Proteaceae	82
b. Description de l'espèce	84
c. Origine des semences	84
II.2.2. Les Cunoniaceae	84
a. Généralités sur les Cunoniaceae	84
b. <i>Cunonia macrophylla</i> Brongniart et Gris	86
c. <i>Geissois pruinosa</i> Brongniart et Gris	86
II.2.3. <i>Carpolepis laurifolia</i> Brongniart et Gris var. <i>laurifolia</i> J. Wyndham Dawson	88
a. Généralités sur les Myrtaceae	88
b. Description de l'espèce	88
c. Origine des semences	88

III. ANALYSES BIOCHIMIQUES DES SEMENCES	90
III.1. Introduction	90
III.2. Méthodes	90
III.2.1. Teneur en eau des semences	90
III.2.2. Dosages de quelques composants nutritifs des semences	91
a. Obtention de l'extrait aqueux	91
b. Dosage des glucides hydrosolubles	91
c. Dosage des protéines totales hydrosolubles	92
d. Dosages des nitrates	92
III.3. Résultats	92
III.3.1. Teneur en eau	92
III.3.2. Teneur en glucides hydrosolubles totaux	93
III.3.3. Teneur en protéines hydrosolubles totales	93
III.3.4. Teneur en nitrates	93
III.4. Conclusions	94

PARTIE C – CAPACITES GERMINATIVES DES ESPECES

97

I. INTRODUCTION	99
II. MATERIELS ET METHODES	101
II.1. Matériel végétal	101
II.2. Méthodes	102
II.2.1. Tri des semences	102
II.2.2. Fertilité et viabilité des semences	102
II.2.3. Désinfection des semences	103
II.2.4. Semis des semences	103
II.2.5. Traitements effectués	105
a. Optimisation des conditions de germination	105
b. Effets du nickel sur le développement germinatif	107
II.2.6. Suivi du développement des semis	109
III. OPTIMISATION DES CONDITIONS DE GERMINATION	110
III.1. Résultats et interprétations	110
III.1.1. <i>Baumea deplanchei</i>	110
a. Résultats	110
b. Discussion	116
III.1.2. <i>Costularia comosa</i>	118
a. Résultats	118
b. Discussion	120
III.1.3. <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i>	120
a. Résultats	120
b. Discussion	126

III.1.4. <i>Cunonia macrophylla</i> et <i>Geissois pruinosa</i>	126
III.1.5. <i>Carpolepis laurifolia</i> var. <i>laurifolia</i>	127
a. Résultats	127
b. Discussion	130
III.2. Conclusions	130
IV. EFFET DU NICKEL SUR LE DEVELOPPEMENT GERMINATIF	133
IV.1. Résultats	133
IV.1.1. Validation de la technique de minéralisation	133
IV.1.2. Effet du nickel sur le développement des semences	133
a. <i>Baumea deplanchei</i>	133
b. <i>Costularia comosa</i>	137
c. <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i>	139
d. <i>Cunonia macrophylla</i>	147
e. <i>Geissois pruinosa</i>	155
f. <i>Carpolepis laurifolia</i> var. <i>laurifolia</i>	160
IV.2. Discussion	164
IV.2.1. Effet du nickel sur la germination et la croissance racinaire	164
a. Récapitulatif des seuils de phyto-toxicité du Ni	164
b. Comparaison entre espèces ligneuses et espèces herbacées	164
c. Effet du Ni sur la morphologie racinaire	167
d. Réversibilité de l'inhibition du développement par Ni	168
e. Processus d'inhibition du développement germinatif et racinaire par Ni	168
IV.2.2. Effet du nickel sur la composition minérale	169
a. Effets du Ni sur la teneur en éléments minéraux, excepté le Ni	169
b. Effets du Ni externe sur la teneur en Ni des germes	170
V. VALORISATION DES RESULTATS	
Poster : "Behaviour of endemic pioneer plants used for revegetation of mining sites in New Caledonia : effects of Ni on an herbaceous and a woody species", Léon <i>et al.</i> , 2003	173
VI. CONCLUSIONS	175

PARTIE D – IMPORTANCE DU SEL DE NICKEL CHEZ GREVILLEA EXUL VAR. RUBIGINOSA

177

I. INTRODUCTION	179
II. MATERIELS ET METHODES	181
II.1. Semis des graines	181
II.2. Analyses biochimiques des germes selon le sel de nickel	182
II.3. Observations et microanalyses au microscope électronique à balayage environnemental	182
II.3.1. Analyses minérales point par point au microscope électronique à balayage	183

II.3.2. Cartographie élémentaire et imagerie de graines en germination	183
III. RESULTATS ET DISCUSSION	185
III.1. Effet du sel de Ni sur le développement germinatif	185
III.1.1. Résultats	185
a. Taux de germination	185
b. Longueur de la radicule	186
III.1.2. Discussion	187
III.2. Analyses biochimiques des germes	187
III.2.1. Résultats	189
a. Teneur en glucides hydrosolubles	189
b. Teneur en protéines	189
c. Teneur en nitrates	189
III.2.2. Discussion	189
III.3. Analyses et cartographies minérales	190
III.3.1. Résultats	190
a. Choix de la technique	190
b. Analyses élémentaires point par point	191
c. Cartographies élémentaires	195
III.3.2. Discussion	198
III.4. Imageries aux rayons-X	200
III.4.1. Enveloppe séminale	200
a. Résultats	200
b. Discussion	201
III.4.2. Albumen	204
a. Résultats	204
b. Discussion	205
IV. VALORISATION DES RESULTATS	208
IV.1. Article « <i>The effects of three nickel salts on the germinating seeds of Grevillea exul var. rubiginosa, an endemic serpentine Proteaceae</i> », Léon et al., 2005	209
IV.2. Poster « <i>Different mechanisms involved in the first stage of development of Grevillea exul var. rubiginosa treated with three different salts</i> », Chandra et al., 2003	219
IV.3. Poster « <i>Effet du Ni sur les graines d'une Proteaceae endémique du maquis minier néo-calédonien</i> », Léon et al., 2004a	219
V. CONCLUSIONS	222

PARTIE E – EFFET DU SYNDROME SERPENTINIQUE

225

I. INTRODUCTION	227
II. MATERIEL ET METHODES	229
II.1. Matériel végétal	229
II.2. Méthodes	230

II.2.1. Cultures sur [terreau – vermiculite] enrichi en Ni	230
a. Préparation du substrat	230
b. Semis des graines	230
c. Sélection des plants	231
d. Application des traitements	232
e. Fin de culture	232
f. Caractéristiques physico-chimiques du substrat	233
g. Analyses minérales	234
II.2.2. Cultures sur substrats serpentiniques	234
a. Germination des graines des 6 espèces du maquis sur latérite rouge et saprolite	234
b. Culture de <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i> en rhizotron	236
c. Caractéristiques physico-chimiques du substrat	238
III. RESULTATS	239
III.1. Cultures sur [terreau – vermiculite] enrichi en Ni	239
III.1.1. Etude de <i>Geissois pruinosa</i>	239
a. Caractéristiques physico-chimiques du substrat	239
b. Effet du nickel sur le développement de <i>Geissois pruinosa</i>	240
c. Effet du nickel sur la composition élémentaire de <i>Geissois pruinosa</i>	242
III.1.2. Etude de <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i>	247
a. Caractéristiques physico-chimiques du substrat	247
b. Effet du nickel sur le développement de <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i>	248
III.1.3. Etude de <i>Cunonia macrophylla</i>	253
a. Caractéristiques physico-chimiques du substrat	253
b. Effet du nickel sur le développement de <i>Cunonia macrophylla</i>	253
c. Effet du nickel sur la composition élémentaire de <i>Cunonia macrophylla</i>	257
III.2. Cultures sur substrats serpentiniques	261
III.2.1. Germination des graines des 6 espèces du maquis sur latérite rouge et saprolite	261
a. <i>Baumea deplanchei</i> , <i>Costularia comosa</i> , <i>Geissois pruinosa</i>	261
b. <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i>	262
c. <i>Cunonia macrophylla</i>	264
d. <i>Carpolepis laurifolia</i> var. <i>laurifolia</i>	264
III.2.2. Culture de <i>Grevillea exul</i> var. <i>rubiginosa</i> en rhizotron	267
a. Humidité massique des substrats	267
b. Acidité et pH des substrats	267
c. Conductivité des substrats	270
d. Développement racinaire	272
IV. DISCUSSION	274
IV.1. Interprétation statistique des résultats	274
IV.2. Cultures sur terreau / vermiculite enrichi en Ni	274

IV.2.1. Effet des arrosages nickélifères sur le pH et la conductivité du substrat	274
IV.2.2. Effet des arrosages nickélifères sur le développement des plants	276
IV.2.3. Effet des arrosages nickélifères sur la teneur en éléments minéraux	281
IV.2.4. Effet des arrosages nickélifères sur la teneur en Ni	285
IV.3. Cultures sur substrats serpentiniques	288
IV.3.1 Semis sur latérite rouge et saprolite	288
IV.3.2 Interactions plantes / substrats miniers en rhizotron	290
V. VALORISATION DES RESULTATS	293
V.1. Acte d'une communication orale : " <i>Effects of nickel on growth and nutrient concentrations of Cunonia macrophylla, an endemic new caledonian Cunoniaceae</i> ", Léon et al., 2004b	293
V.2. Article : " <i>Effects of Ni on growth and nutrient concentrations in a serpentine endemic Cunoniaceae</i> ", Léon et al., 2005a	293
VII. CONCLUSIONS	320

PARTIE F – EFFET DU NICKEL SUR QUELQUES ACTIVITES ENZYMATIQUES CHEZ GREVILLEA EXUL VAR. RUBIGINOSA

323

I. INTRODUCTION	325
II. MATERIELS ET METHODES	327
II.A. Etude de la glutamine synthétase et de la nitrate réductase	327
II.A.1. Obtention de germes	327
II.A.2. Extraction de la glutamine synthétase	328
II.A.2.1. Obtention de l'extrait brut	328
a. Protocole d'extraction pour l'obtention d'un extrait brut	328
b. Choix du tampon	328
c. Ajout de polyvinyl poly pyrrolidone	329
II.A.2.2. Séparation des isoformes de la glutamine synthétase	329
II.A.3. Test d'activités enzymatiques	330
II.A.3.1. Test de l'activité de la glutamine synthétase	330
II.A.3.2. Test de l'activité de la nitrate réductase	331
II.B. Etude des activités peroxydasiques	331
II.B.1. Obtention des germes	331
a. Etude des peroxydases de 4 fractions sub-cellulaires	331
b. Etude de l'effet d'une auxine couplée au Ni sur l'activité des peroxydases solubles	332
II.B.2. Extraction des peroxydases	334
II.B.3. Mesure de l'activité enzymatique des peroxydases	334
III. RÉSULTATS ET DISCUSSION	335
III.A. Etude de la GS et de la NR	335
III.A.1. Résultats	335
III.A.1.1. Paramètres de croissance	335

III.A.1.2. Technique d'extraction de la GS	336
a. Choix du tampon d'extraction	336
b. Séparation des isoformes de la glutamine synthétase	337
c. Ajout du PVPP	338
III.A.1.3. Effet du nickel sur l'activité de la GS et de la NR dans l'extrait brut	339
III.A.2. Discussion	340
III.A.2.1. Technique d'extraction	340
III.A.2.2. Effet du Ni sur les activités GS et NR	341
III.B. Etude des activités peroxydasiques	343
III.B.1. Résultats et interprétations	343
III.B.1.1. Taux de germination et longueur des racines	343
a. 1ère expérimentation : effet du Ni seul	343
b. 2ème expérimentation : effet combiné Ni / ANA	344
III.B.1.2. Effet du Ni sur l'activité peroxydasique de 4 fractions sub-cellulaires	346
a. Peroxydases au gaïacol	346
b. Peroxydases à la syringaldazine	349
III.B.1.3. Etude de l'effet combiné Ni / ANA sur l'activité des peroxydase solubles des germes	349
III.B.2. Discussion	351
III.B.2.1. Effet du nickel sur les activités peroxydasiques de différentes fractions sub-cellulaires	351
III.B.2.2. Effet combiné de Ni et de l'auxine sur les activités des peroxydases solubles dans les germes	353
IV. CONCLUSIONS	354

CONCLUSION GENERALE

355

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

363

ANNEXES

379

RESUME

383