



HAL
open science

Restauration écologique d'une pelouse sèche méditerranéenne (La plaine de La Crau, Sud-Est de la France) : du génie civil au génie écologique

Adeline Bulot

► To cite this version:

Adeline Bulot. Restauration écologique d'une pelouse sèche méditerranéenne (La plaine de La Crau, Sud-Est de la France) : du génie civil au génie écologique. Sciences du Vivant [q-bio]. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse (UAPV), FRA., 2014. Français. NNT : . tel-03948681

HAL Id: tel-03948681

<https://hal.science/tel-03948681>

Submitted on 20 Jan 2023

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.

THÈSE

Présentée pour l'obtention du titre de :
Docteur de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

Ecole doctorale : Sciences et Agrosociétés (ED 536)
Spécialité : Biologie des populations et Ecologie

**Restauration écologique d'une pelouse sèche méditerranéenne
(La plaine de La Crau, Sud-Est de la France):
Du génie civil au génie écologique**

***Ecological restoration of a Mediterranean dry grassland
(The plain of La Crau, South-eastern France):
From civil engineering to ecological engineering***

Adeline BULOT

Soutenance prévue le 8 décembre 2014 devant le jury composé de :

Begoña PECO	Professeur University of Madrid, Spain	Rapporteur
Jordi CORTINA SEGARRA	Professeur University of Alicante, Spain	Rapporteur
Fabrice BUREAU	Maître de conférences Université de Rouen	Examineur
Renaud JAUNATRE	Chargé de recherche IRSTEA, Grenoble	Examineur
François MESLEARD	Directeur de recherche, Tour du Valat Professeur associé IMBE, Université d'Avignon	Examineur
Annabelle RAFFIN	Responsable HSEQ Société du Pipeline Sud-Européen	Invitée
Axel WOLFF	Conservateur Réserve Naturelle des Coussouls de Crau	Invité
Erick PROVOST	Chargé de Recherche CNRS IMBE, Aix-Marseille Université	Co- Directeur
Thierry DUTOIT	Directeur de Recherche CNRS IMBE, Université d'Avignon	Directeur



THÈSE

Présentée pour l'obtention du titre de :
Docteur de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse

Ecole doctorale : Sciences et Agrosociétés (ED 536)
Spécialité : Biologie des populations et Ecologie

**Restauration écologique d'une pelouse sèche méditerranéenne
(La plaine de La Crau, Sud-Est de la France):
Du génie civil au génie écologique**

***Ecological restoration of a Mediterranean dry grassland
(The plain of La Crau, South-eastern France):
From civil engineering to ecological engineering***

Adeline BULOT

Soutenance prévue le 8 décembre 2014 devant le jury composé de :

Begoña PECO	Professeur University of Madrid, Spain	Rapporteur
Jordi CORTINA SEGARRA	Professeur University of Alicante, Spain	Rapporteur
Fabrice BUREAU	Maître de conférences Université de Rouen	Examineur
Renaud JAUNATRE	Chargé de recherche IRSTEA, Grenoble	Examineur
François MESLEARD	Directeur de recherche, Tour du Valat Professeur associé IMBE, Université d'Avignon	Examineur
Annabelle RAFFIN	Responsable HSEQ Société du Pipeline Sud-Européen	Invitée
Axel WOLFF	Conservateur Réserve Naturelle des Coussouls de Crau	Invité
Erick PROVOST	Chargé de Recherche CNRS IMBE, Aix-Marseille Université	Co- Directeur
Thierry DUTOIT	Directeur de Recherche CNRS IMBE, Université d'Avignon	Directeur

« La joie de regarder et de comprendre est le plus beau cadeau de la nature. »

Albert Einstein ; Discours et entretiens (1879-1955)

AVANT-PROPOS

Cette thèse, menée au sein de l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale (IMBE - UMR CNRS 7263 / IRD 127), a été codirigée par Thierry DUTOIT (Directeur de Recherche CNRS) et Erick PROVOST (Chargé de Recherche CNRS). Ces travaux ont été cofinancés par la Région Provence-Alpes-Côte d'Azur, par la Société du Pipeline Sud-Européen, par le Conseil Général des Bouches-du-Rhône, par la FR Eccorev et le programme Ingecotech du CNRS-INEE

Le présent manuscrit comprend une introduction générale, quatre chapitres sous forme d'articles scientifiques et une discussion générale. L'introduction générale, rédigée en français, présente les objectifs, le cadre conceptuel ainsi que les principales questions et hypothèses de recherche de la thèse. Cette première partie permet ainsi de situer la thèse dans une problématique de recherche plus large, et de comprendre comment s'articulent les différents chapitres.

Les quatre chapitres permettent de traiter les différentes hypothèses qui structurent ce travail. Ils ont tous été rédigés en anglais. Le premier chapitre constitue un article actuellement en cours de préparation en vue de sa prochaine soumission dans une revue indexée (*Restoration Ecology*). Les résultats du second chapitre, d'abord préliminaires, ont été publiés en français dans la revue *Acta Botanica Gallica: Botany Letters* (161, 2014, pp. 287-300) suite au colloque en écologie des communautés végétales (Ecoveg 9) qui s'est tenu à Tours du 03 au 05 avril 2013 (**Annexe 2**). Les résultats consolidés ont ensuite été publiés en anglais dans la revue *Ecological Engineering* (71, 2014, pp. 690-702). Le troisième chapitre est actuellement soumis dans le *Journal of Vegetation Science*. Enfin, le quatrième chapitre a également été publié en anglais dans la revue *Myrmecological News* (20, 2014, pp. 43-52). Une réflexion sur les principaux résultats obtenus et une présentation des perspectives de cette recherche sont incluses dans la discussion générale rédigée en français.

Le format de ce manuscrit de thèse induit certaines redondances inévitables entre les paragraphes « introduction » et « matériels et méthodes » des différents chapitres. Pour en faciliter la lecture, des inter-chapitres font les liens entre les différents chapitres et les références ont toutes été reportées dans une bibliographie générale à la fin du document. Les productions scientifiques, non présentées dans le corps principal du manuscrit, ont été annexées (**Annexe 1 à 4**).

REMERCIEMENTS

Les remerciements sont le moment où je peux enfin exprimer sur le papier ma gratitude envers toutes les personnes qui ont contribué à cette thèse ou qui m'ont soutenue lors de ces trois années d'apprentissage de la recherche. En effet, telle une colonie de fourmis, beaucoup de personnes ont transporté et dispersé leurs graines d'idées pour composer, enrichir et structurer ce travail.

En premier lieu, je remercie grandement mes deux directeurs de thèse, Thierry Dutoit et Erick Provost, pour m'avoir offert l'opportunité de faire ce doctorat et de m'avoir fait confiance, pour avoir été présents aussi bien au bureau que sur le terrain, pour leur enthousiasme, mais surtout pour m'avoir fait découvrir le monde de la recherche. En particulier, merci Thierry pour votre implication vis-à-vis de ce travail, pour votre réactivité concernant les corrections et les réponses aux mails et pour le partage de vos connaissances ; et merci Erick pour m'avoir transmis ta passion en ce qui concerne le monde captivant des fourmis (c'est contagieux), pour tes remarques pertinentes, pour ton écoute et, entre autres, pour avoir cherché puis retourné des centaines de galets.

Je remercie les membres du jury d'avoir accepté et pris le temps de lire et d'évaluer ce travail: Begoña Peco, professeur à l'Université de Madrid, Jordi Cortina Segarra, professeur à l'Université d'Alicante, Fabrice Bureau, maître de conférences à l'Université de Rouen, Renaud Jaunatre, chargé de recherches à l'IRSTEA de Grenoble, François Mesléard, directeur de recherches à la Fondation de recherche de La Tour du Valat et professeur associé à l'Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse. Je remercie également les membres invités, Annabelle Raffin, responsable hygiène-sécurité-environnement-qualité au sein de la Société du Pipeline Sud-Européen, et Axel Wolff conservateur à la Réserve Naturelle des Coussouls de Crau pour leur présence au jury de thèse, témoignant de leur intérêt pour ce travail au-delà du cadre des conventions de partenariat.

Je tiens également à remercier les membres du comité de pilotage de cette thèse qui m'ont aidé à construire ce travail par leurs réflexions et leurs discussions: Thibaud Monnin, chargé de recherches au CNRS à l'institut d'écologie et des sciences de l'environnement de Paris, Elise Buisson, maître de conférences HDR et Armin Bischoff, professeur ; tous deux membres de l'IMBE et de l'université d'Avignon et des pays de Vaucluse.

Pour avoir financé ces travaux de thèse, j'adresse tous mes remerciements à la région Provence-Alpes-Côte d'Azur et à la Société du Pipeline Sud-Européen qui m'ont octroyé une bourse et un financement des expérimentations pour une durée de trois ans. Je remercie également le CNRS-INEE pour l'octroi d'un support financier dans le cadre du projet « Ingecotech-IE 2010/2011 » intitulé « *Des fourmis et des hommes: de l'ingénierie écologique à la compensation écologique* » qui a permis la réalisation de la première opération de transplantation de fourmis lors de mon stage de Master 2 en 2010. Je remercie également la Fédération de Recherches ECCOREV « *Ecosystèmes continentaux et risques environnementaux* » pour l'octroi de deux aides respectivement en 2011 et 2013 dans le cadre des appels d'offres internes à la fédération. Enfin, je remercie le Conseil Général du département des Bouches-du-Rhône pour leur soutien financier et le relai apporté en matière de communication autour de nos travaux.

Je remercie l'Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, le CIES Provence, et l'Institut Universitaire de Technologie, le département Génie Biologique et son équipe en particuliers la directrice des études Christine Dransart et la chef de département Aline Le Menn, pour m'avoir donné l'opportunité d'être monitrice puis vacataire. Je remercie également Aix-Marseille Université et Raphaël Gros pour m'avoir permis d'effectuer des vacances à la fin de ma thèse. Merci aux étudiants pour m'avoir donné le goût d'enseigner.

J'adresse également mes remerciements à l'école doctorale ED536 Sciences et Agrosociétés pour m'avoir permis d'effectuer cette formation; ainsi que l'Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Ecologie marine et continentale, et son directeur Thierry Taton, pour m'avoir accueillie au sein de ses équipes de recherche « *Interactions biotiques et biologie de la conservation* » et « *Ingénierie de la restauration des patrimoines naturels et culturels* ». Je tiens à remercier Arne Saatkamp pour les informations concernant les graines; Daniel Pavon pour son aide précieuse sur le terrain et pour m'avoir initiée à l'identification des espèces végétales méditerranéennes dans une bonne humeur et ce malgré les patous ! Je n'oublie pas de remercier à nouveau Elise Buisson, pour son aide concernant notamment les statistiques et l'enseignement.

Je tiens à remercier Michel Oberlinkels et la CDC Biodiversité pour m'avoir permis d'accéder à l'ancien verger de Cossure. Mes remerciements s'adressent également à l'INRA d'Avignon (Unité PSH) pour m'avoir prêtée gracieusement une serre et des tables pendant six mois afin de réaliser des tests de germination. Je tiens enfin à remercier la Réserve Naturelle des Coussouls de Crau et ses gestionnaires (le Conservatoire des espaces naturels de la région PACA et la Chambre d'agriculture des Bouches-du-Rhône) pour m'avoir autorisée à effectuer mes recherches au sein de cet espace protégé.

Un grand merci à Marielle Renucci, chargée de recherche au CNRS et aujourd'hui retraitée, qui m'a tout d'abord co-encadrée lors de mon stage de Master 2 puis qui m'a convaincue de faire cette thèse et soutenue continuellement au cours de ces 4 années. Merci Marielle pour ta grande sympathie, pour tes corrections et remarques constructives et pour toute l'aide sur le terrain que tu m'as apportée.

Je remercie les personnes qui m'ont aidée pour la rédaction du chapitre consacré au sol: Annette Berard, chargé de recherche INRA et Nelly Marcy, stagiaire à l'INRA d'Avignon, unité EMMAH ainsi que Kevin Potard, stagiaire de l'Université de Rouen, laboratoire ECODIV.

Merci également aux deux personnes qui ont amélioré l'anglais de cette thèse: Mickael Paul pour la traduction des deux premiers articles issus de mon travail, Marjorie Sweetko pour les corrections de mon anglais pour les articles suivants et Elise Buisson pour les corrections du résumé de la thèse.

Merci beaucoup à toutes les personnes qui sont venues donner un coup de main lors des opérations de transplantation des fourmis: l'association E4, Olivier Blight, Laurence Berville, Clémentine Coiffait-Gombault, Laurent Tatin et Gustin. Je remercie aussi toutes les personnes que j'ai rencontrées lors des colloques, notamment Marion avec qui j'ai partagé des moments sympathiques à Chicago.

Je tiens à remercier Julie Tanet, ma première stagiaire de Master 2, pour sa sympathie, pour son enthousiasme, pour sa motivation et pour sa persévérance malgré le travail énorme à accomplir.

Je tiens également à remercier tous les thésards: Solène, merci pour avoir toujours été là, pour ta Carly (en fait non, pas de remerciements pour ça) et les soirées karaokés, pour tes bons petits plats qui arrivent toujours à profusion, les rires et les prises de tête qui font du bien, pour la motivation mutuelle surtout lors de cette fin de thèse, et pour t'être occupée à plusieurs reprises de mes loulous. Renaud, merci beaucoup pour ton aide concernant les stats, pour les discussions scientifiques ou non, mais aussi pour avoir cherché des fourmis que tu n'as jamais attrapées et pour m'avoir appris à faire du ski. Swanni, merci pour m'avoir remonté le moral, pour ta bonne humeur, pour ton optimisme et tes conseils avisés, et pour avoir trouvé un nom à mon chat Peluche (grâce à toi, je n'ai plus honte quand je vais chez le véto). Jeff, merci pour tous les trous dans la Crau, pour tes

passages en coup de vent à l'IUT, pour ton amour des animaux et du foot, et pour m'avoir donné une bonne adresse de véto. Isa, merci pour ta sympathie et ta joie de vivre. Carmen, merci pour tes visites, tes petits messages d'encouragement, ta gentillesse et pour ton coup de main précieux lors de la préparation de mes terrines pour les germinations. Je tiens également à remercier tous les autres collègues de l'IUT et de l'IMBE, notamment: Hervé R, pour l'aide sur le terrain; Dominique, pour les TP de biologie végétale; Armin, pour les échanges de dosettes de café; mais également François, Michel, Magali, Hervé H, Fouad, Fabien, Jean-Pierre, Isabelle, Didier et Sébastien.

J'aimerais aussi remercier en particulier les trois stagiaires qui ont partagé ce dernier début d'été en mettant une bonne ambiance à l'IUT: Cannelle, merci pour avoir apporté un peu de mon enfance avec la Vendée, pour ta gentillesse, pour ton soutien et pour les discussions sur les chats. Kevin, le viet'fantôme, merci pour les rigolades, pour la recherche de graines de brachypode, pour les Pokémons et pour ce grand moment où nous avons failli mourir grillés par la foudre. Arthur, merci pour avoir été un étudiant agréable, pour ta sympathie, pour avoir aimé échantillonner les fourmis (je plaisante) et pour le covoiturage. Merci également à tous les trois pour votre aide sur le terrain lors du stage de Julie, je vous le ferai un jour ce fameux gâteau au chocolat avec de la crème anglaise. Merci également aux autres stagiaires, Matthieu pour ton aide dans la botanique, Capucine pour le prélèvement des dépotoirs de fourmis, Natashi et Adeline pour votre aide dans différents relevés sur le terrain.

Je termine évidemment ces remerciements par les personnes qui me sont les plus chères:

Merci à Wiwi, mon meilleur ami d'enfance, pour avoir voulu sauver le monde, pour la SGN et les canards, pour tous ces moments partagés et pour être encore présent.

Merci à Stany, mon beau-frère, ami et confident pour avoir toujours été là. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi, pour nos débats, pour ta clairvoyance, pour tes coups de téléphone qui tombent toujours au bon moment, pour m'avoir reboostée quand il le fallait, et pour t'être intéressé autant à ma thèse en allant jusqu'à lire mes articles. Terminé Bisous.

Un grand merci à mes parents d'avoir tout fait pour que je puisse faire des études et pour m'avoir soutenue; merci à mon père, pour les déménagements et les emménagements (je sais que tu as envoyé la facture mais le facteur a dû la perdre); et à ma mère, pour la fierté qu'elle m'exprime. Merci également à mon papi, pour son écoute attentive, pour son humour et pour sa manière de faire relativiser les choses et à Thibaud, pour être tout simplement mon tonton Titus. Maintenant que la thèse est rédigée, je vais enfin pouvoir venir faire une petite virée en Vendée.

Un énorme merci à Ferdinand, pour croire en moi, pour m'avoir souvent rassurée et supportée, et pour m'avoir toujours encouragée dans mes ambitions. Tu es même venu toi aussi à la recherche de ces galets numérotés sur cette lune que tu adores. Je te remercie pour être la personne que tu es et pour être aussi présent même quand tu ne l'es pas. D'ailleurs, merci à toi d'avoir été absent (on se comprend). Merci également pour m'avoir permis d'adopter Titi et Pepito, et merci à eux.

Une dernière pensée à ma mamie qui a marqué significativement ma vie. D'une façon détournée, en me faisant chercher, par exemple, les escargots aux yeux verts dans son jardin, elle m'a appris à découvrir, à observer puis à aimer la nature. J'ai alors découvert une passion qui ne me quitte plus.

RÉSUMÉ

L'objectif principal de la thèse a été d'expérimenter de nouvelles techniques en ingénierie écologique afin de restaurer le sol et la végétation d'une pelouse sèche méditerranéenne sub-steppique, détruite suite à une fuite d'hydrocarbures (plaine de La Crau, Bouches-du-Rhône, France).

Après évacuation des terres polluées en décharge, un transfert de sol a été réalisé au printemps 2011 en procédant à une translocation directe, selon un ratio 1/1 avec respect ou non de l'organisation verticale des principaux horizons du sol. Après trois années de suivis, nous avons pu mettre en évidence l'importance de prendre en considération différentes composantes (sol, végétation, myrmécofaune) de l'écosystème, et surtout leurs interactions, pour mieux évaluer à l'avenir la réussite d'opérations de restauration écologique. Ainsi, nous avons mesuré que la récupération du sol en ce qui concerne les paramètres physico-chimiques et biologiques pouvait être rapide pour certains d'entre eux, comme c'est le cas pour la biodégradation du carbone et de la biomasse bactérienne, mais beaucoup plus lente pour d'autres comme c'est le cas pour le rétablissement des échanges verticaux entre les horizons dans le profil de sol. De même, la récupération de la végétation steppique a été atteinte à très court terme (trois années) concernant sa richesse, sa diversité spécifique, et sa similarité de composition avec la steppe de référence mais au prix d'interventions de restauration à fort coût économique et environnemental (destruction du milieu donneur). C'est pourquoi, la fourmi moissonneuse *Messor barbarus* est apparue comme un ingénieur des écosystèmes potentiel pour compléter le travail entrepris en accélérant la redistribution des graines viables, et ainsi en restaurant la structuration de la végétation qui fait encore défaut. En effet, cette fourmi concentre localement certaines graines par la construction de dépotoirs aux entrées de leur nid et augmente la richesse spécifique de la végétation dans l'écosystème de référence lorsque les dépotoirs sont naturellement détruits au cours de l'hiver. Un suivi de la recolonisation naturelle des fourmis et une expérimentation originale de transfert de reines fondatrices, de l'écosystème de référence vers l'écosystème à restaurer, ont également montré, que lorsque l'habitat n'était pas favorable à la recolonisation naturelle de *M. barbarus*, la transplantation permettait d'obtenir d'excellents résultats sur le taux de survie des fourmis transférées. Il sera cependant encore nécessaire de poursuivre ces suivis pendant quelques années pour valider *in fine* le rôle positif des fourmis vis-à-vis de la restauration de la structuration spatiale de la communauté végétale steppique.

MOTS-CLES: Biodiversité; restauration écologique; ingénierie civile; ingénierie écologique; ingénieurs de l'écosystème; changement d'usage des sols; transfert de sol; sol; communauté végétale; fourmis ; *Messor barbarus*; dispersion des graines; régénération; interactions

ABSTRACT

The main objective of the thesis was to experiment new techniques of ecological engineering to restore the soil and the vegetation of a Mediterranean sub-steppe dry grassland, destroyed by an oil leak (plain of La Crau, Bouches-du-Rhône, France).

After evacuation of the polluted soil in a specialized dump, soil was transferred in spring 2011, by direct translocation, at a 1:1 ratio and keeping or not of the vertical organization of the soil main layers. After three years of monitoring, we were able to highlight the importance of taking into account different components (soil, vegetation, myrmecofauna) of the ecosystem, and especially their interactions to better assess the future success of ecological restoration operations. We found that soil regeneration for physico-chemical and biological parameters, could be quick for some of them (carbon biodegradation, microbial biomass) but much slower for others (recovery of vertical exchanges between layers in the soil profile). Similarly, the regeneration of the steppe vegetation was reached in the short term (three years) concerning its species richness, its species diversity and its similarity of composition with the reference steppe, but at high economic and environmental costs (destruction of the donor site). Then, the harvester ant *Messor barbarus* was considered as a potential ecosystem engineer which can complement the undertaken restoration works by accelerating the redistribution of viable seeds. Indeed, our results showed that, by the construction of refuse piles, this ant allowed the reference ecosystem to locally concentrate some seeds and increase vegetation species richness, where the refuse piles were naturally destroyed during the winter. The monitoring of the natural recolonisation of ants and a new experimental protocol of transfer of founding queens, from the reference ecosystem to the restored ecosystem, also showed, that when the habitat was not conducive for the natural recolonisation of *M. barbarus*, transplantation achieved excellent results in the survival rate of transferred ants. However, the monitoring will have to be pursued for several years to validate the positive role of ants on the restoration of the spatial structure of the steppe plant community.

KEYWORDS: Biodiversity; ecological restoration; civil engineering; ecological engineering; change in land-use; soil transfer; soil; plant community; ants; *Messor barbarus*; seed dispersal; recovery; interaction.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS.....	I
REMERCIEMENTS	III
RÉSUMÉ.....	VII
ABSTRACT.....	IX
TABLE DES FIGURES.....	XV
TABLE DES TABLEAUX	XVII
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
1.1. Contexte général.....	3
1.2. Objectifs, hypothèses et organisation principale de la thèse	5
1.3. Cadre conceptuel.....	10
1.3.1. Les pelouses sèches, des sites ateliers pour expérimenter en écologie de la restauration	10
1.3.2. De la restauration écologique à l'ingénierie écologique	12
1.3.2.1. La restauration écologique	12
1.3.2.2. L'ingénierie écologique	14
1.3.2.3. Les espèces « ingénieurs de l'écosystème »	18
1.3.3. Interactions au sein des écosystèmes	20
1.3.3.1. Interactions biotiques et abiotiques	20
1.3.3.2. Interactions biotiques et abiotiques entre le sol et la végétation.....	22
1.3.3.3. Interactions biotiques plantes-fourmis	23
1.3.4. Site Atelier - La plaine de La Crau	24
1.3.4.1. Origine et Localisation géographique	24
1.3.4.2. Caractéristiques de la plaine de La Crau.....	25
1.3.4.3. Enjeux en conservation biologique, en restauration écologique et en Ingénierie écologique	28
PARTIE 1.....	31
TRANSITION VERS LE CHAPITRE 1.....	33
CHAPTER 1 Ecological restoration by soil transfer: Impacts on soil organic matter and microbial activities.....	37
Résumé du Chapitre 1	38
Abstract of Chapter 1	39
1.1. Introduction	39
1.2. Materials and Methods.....	42
1.2.1. Study area.....	42
1.2.2. Study site.....	44
1.2.3. Experimental design	46
1.2.4. Soil analyses	46
1.2.4.1. Soil profile descriptions.....	46
1.2.4.2. Physico-chemical parameters	46
1.2.4.3. Physical fractionation of soil organic matter.....	47
1.2.4.4. Soil Carbon and Nitrogen availability.....	47
1.2.4.5. Microbial diversity.....	48

1.2.5. Statistical analysis	48
1.3. Results	49
1.3.1. Soil profile descriptions.....	49
1.3.1.1. Undisturbed soil of the surrounding reference steppe.....	49
1.3.1.2. Transferred topsoil treatment.....	50
1.3.1.3. Transferred subsoil treatment.....	50
1.3.1.4. Transferred altered bedrock treatment.....	51
1.3.2. Physico-chemical parameters	51
1.3.3. Size fractionation of soil organic matter and C:N ratio.....	55
1.3.4. Soil Carbon and Nitrogen availability.....	56
1.3.5. Microbial diversity.....	60
1.4. Discussion.....	62
TRANSITION VERS LE CHAPITRE 2.....	69
CHAPTER 2 <i>A comparison of different soil transfer strategies for restoring a Mediterranean steppe after a pipeline leak (The plain of La Crau, South-Eastern France)</i>	71
Résumé du chapitre 2.....	73
Abstract of chapter 2.....	74
2.1. Introduction	75
2. Materials and methods.....	79
2.1. Study site	79
2.2. Soil analyses.....	82
2.3. Vegetation analyses.....	82
2.4. Statistical data analyses.....	83
2.3. Results	86
2.3.1. Effect of soil transfer on the physico-chemical parameters of the soil	86
2.3.2. Effect of soil transfer on the vegetation.....	88
2.3.2.1. Percent cover and average height.....	88
2.3.2.2. Species richness	88
2.3.2.3. Composition and abundance of plant species.....	91
2.4. Discussion.....	96
PARTIE 2.....	75
TRANSITION VERS LE CHAPITRE 3.....	103
CHAPTER 3 <i>Ant refuse piles increase seed and plant species-richness but not the viability of transient seeds.</i>	105
Résumé du chapitre 3	118
Abstract of the chapter 3.....	119
3.1. Introduction	120
3.2. Materials and methods	122
3.2.1. Study site.....	122
3.2.2. Biological Model.....	123
3.2.3. Experimental design	124
3.2.3.1. Autumn seed bank sampling.....	124
3.2.3.2. Spring seed bank sampling.....	125
3.2.3.3. Spring seedling analysis.....	125
3.2.4. Statistical analyses	125
3.3. Results	127
3.3.1. Autumn 2012 seed banks.....	127
3.3.2. Spring 2013 seed banks.....	130

3.3.3. <i>Spring 2013 field seedlings</i>	131
3.4. <i>Discussion</i>	133
TRANSITION VERS LE CHAPITRE 4	138
CHAPTER 4 <i>A new transplantation protocol for harvester ant queens <i>Messor barbarus</i> (Hymenoptera: Formicidae) to improve the restauration of species-rich plant communities</i>	130
Résumé du chapitre 4	132
<i>Abstract of the chapter 4</i>	133
4.1. <i>Introduction</i>	134
4.2. <i>Materials and methods</i>	136
4.2.1. <i>The plain of La Crau</i>	136
4.2.2. <i>Study sites</i>	137
4.2.2.1. <i>Abandoned orchard area: AOA</i>	137
4.2.2.2. <i>Oil leak area (OLA)</i>	138
4.2.3. <i>Transferred biological material</i>	139
4.2.4. <i>Experimental protocol for the transplantation of <i>Messor barbarus</i> founding queens</i>	140
4.2.4.1. <i>Collection of founding queens</i>	140
4.2.4.2. <i>Transplantation of founding queens to the AOA site</i>	141
4.2.4.3. <i>Transplantation of founding queens to the OLA site</i>	142
4.2.4.4. <i>Assessment of the artificial implantations</i>	142
4.2.5. <i>Monitoring of natural recolonisation</i>	143
4.2.5.1. <i>AOA site</i>	143
4.2.5.2. <i>OLA site</i>	144
4.2.6. <i>Statistical analyses</i>	144
4.3. <i>Results</i>	144
4.3.1. <i>Assessment of successful transplantation of founding queens</i>	144
4.3.1.1. <i>AOA site</i>	144
4.3.1.2. <i>OLA site</i>	146
4.3.2. <i>Monitoring of natural recolonisation</i>	147
4.3.2.1. <i>AOA site</i>	147
4.3.2.2. <i>OLA site</i>	148
4.4. <i>Discussion</i>	148
DISCUSSION GÉNÉRALE	152
D.1. <i>Synthèse des principaux résultats de la thèse</i>	154
D.2. <i>Evaluation de la réussite d'une opération de restauration écologique par l'ingénierie civile « écologisée »</i>	155
D.2.1. <i>Succès de la restauration écologique</i>	155
D.2.2. <i>Importance de la reconstitution de l'horizon de surface A₁</i>	159
D.2.3. <i>Limites de la restauration écologique</i>	160
D.2.4. <i>Recherche d'un nouvel outil en ingénierie écologique</i>	161
D.3. <i>Perspectives</i>	164
D.3.1. <i>Mesures complémentaires pour évaluer le succès de la restauration écologique</i>	164
D.3.1.1. <i>Densité des sols</i>	164
D.3.1.2. <i>Micromorphologie</i>	165
D.3.1.3. <i>Interactions mycorhize-plantes</i>	165
D.3.1.4. <i>Fonctionnement macro-biologique des sols</i>	165
D.3.1.5. <i>Suivi de la recolonisation des arthropodes</i>	166
D.3.2. <i>Outils en ingénierie écologique</i>	166

D.3.2.1. Ingénieur de l'écosystème - la fourmi <i>Messor barbarus</i>	166
D.3.2.2. Retour du pâturage ovin	167
D.3.2.3. Autres ingénieurs de l'écosystème: les vers de terre	168
D.3.3. Perspectives pour la restauration écologique	168
D.3.3.1. Proposition de lignes directrices pour de futurs projets	168
D.3.3.2. Proposition de solutions intermédiaires	169
D.4. Conclusion	170
 LISTE DES REFERENCES	 172
 ANNEXES	 196
Annexe 1: Productions scientifiques.....	197
Annexe 2: Bulot, A., Provost., E. & Dutoit, T. 2014. Transférer le sol pour restaurer des communautés végétales: quelles leçons pour mesurer la résilience des pelouses sèches ? (Plaine de La Crau, Sud-Est de la France). <i>Acta Botanica Gallica: Botany letters</i> .161: 287-300.	202
Annexe 3: Jaunatre, R., Buisson, E., Coiffait-Gombault, C., Bulot, A. & Dutoit, T. (2014). <i>Restoring Species-Rich Mediterranean Dry Grassland in France Using Different Species-Transfer Methods</i> . pp. 160-181. In: Kiehl, K., Kirmer, A., Shaw, N., Tischew, S. (eds). « <i>Guidelines for native seed production and grassland restoration</i> ».Cambridge University press, Cambridge, 301pp.	216
Annexe 4: Dutoit, T., Buisson, E., Fadda, S., Henry, F., Coiffait-Gombault, C., Jaunatre, R., Alignan, J.F., Masson, S. & Bulot, A. (2013). The pseudo-steppe of La Crau (South-Eastern France): origin, management and restoration of a Mediterranean rangeland. pp. 287-301. In: Traba, J. & Morales, M. (eds.). " <i>Steppe Ecosystems: Biological Diversity, Management and Restoration</i> ". Nova Publishers, USA. 347pp.....	236
Annexe 5: Dutoit, T. & Bulot, A. (2014). Restauration écologique après un accident technologique: de l'ingénierie civile à l'ingénierie écologique. pp. 171-172. In: Gauthier-Clerc, M., Mesléard, F. & Blondel, J. (eds). « <i>Sciences de la Conservation</i> ». De Boeck éditions, Paris, 346pp.	257
Annexe 6: Abondances moyennes de chaque espèce végétale identifiée aux printemps 2011, 2012 et 2013 sur le site restauré par un transfert de sol.	259
Annexe 7: Abondances moyennes de chaque espèce végétale identifiée en automne 2012 et au printemps 2013 à l'endroit des dépotoirs et dans des zones sans activité de fourmi.....	268

TABLE DES FIGURES

Figure I.1: Résumé graphique de l'organisation générale de la thèse	9
Figure I.2: Modèle général illustrant les différents termes de restauration, dans un graphique à trois dimensions: temps, complexité ou fonction de l'écosystème de référence, complexité ou fonction d'un autre écosystème. La troisième dimension est représentée par les pointillés. Modifiée d'Aronson et al. (1993), Buisson (2011) et Jaunatre (2012).....	13
Figure I.3: Schéma illustrant le contraste entre A) ingénierie civile et B) ingénierie écologique intégrant le concept d'auto-conception (<i>self-design</i>) au sein d'un écosystème. Modifié de Mitsch (1998).....	16
Figure I.4: Place de l'ingénierie écologique selon les gradients d'action par et pour le vivant (Jaunatre & Dutoit dans Dutoit 2014).....	17
Figure I.5: Schéma illustrant les processus engendrés par les ingénieurs de l'écosystème et leurs conséquences indirectes au sein d'un écosystème. Modifié de Gutiérrez & Jones (2008).....	19
Figure I.6: Localisation géographique de la plaine de La Crau en France et Localisation de ses aires géologiques (Crau d'Arles, Crau de Luquier, Crau de Miramas).....	25
Figure T.1: Localisation du chapitre 1 dans l'organisation générale de la thèse.....	33
Figure 1.1: A - Location of the plain of La Crau in France and B - Location of the study site (black star) in the Natural National Reserve (in grey).....	45
Figure 1.2: The four soil reconstitution treatments after their transfer in the rehabilitated site (right), and main soil layers of the reference steppe (left).....	46
Figure 1.3: Soil pedological profiles realised in a restoration soil transfer experiment in the plain of La Crau (south-eastern France) in autumn 2013. Soil profiles were performed in the undisturbed soil of the surrounding undisturbed reference steppe (Reference Steppe), in the transferred topsoil treatment (TopSoil), in the transferred subsoil treatment (SubSoil) and in the transferred altered bedrock treatment (Altered Bedrock). The three main horizons (altered bedrock, AB; subsoil, SS; topsoil TS) and the bedrock (BR) are indicated on the soils profiles.....	52
Figure 1.4: PCA ordination of physico-chemical parameters in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France), based on 50 soil samples taken in spring 2011 (25) and in autumn 2013 (25). Samples from each treatment (n=5), and by year (2011 and 2013), are grouped with ellipses. The narrows represent soil variables: contents of sands, silts, clays, pH, available P (P ₂ O ₅), exchangeable Ca (CaO), organic C, total N, and exchangeable K (K ₂ O).....	53
Figure 1.5: Mean values of organic carbon (g/kg) (A) and total nitrogen contents (g/kg) (B) during three years of monitoring in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France). Means and error standards are given from 2011 to 2013 for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); the F and p values of ANOVA tests, performed within each treatment are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test.....	55
Figure 1.6: Particular organic matters ratio relative to the total soil (POM (weight %)) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France) (A) in 2013 and between the three years of monitoring (B); the ratio between the carbon of particular organic matters and the total organic carbon in 2013 (C-POM/organic C (%)) (C) and between the three years of monitoring; (D) the C:N ratio (C:N) of the sample (Sample), the particular organic matter (POM) and the fraction less than 50 µm (Inf. 50 µm) (E). Means and error standards of these analyses in 2013 or between 2011 and 2013, for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), the transferred topsoil (TS, grey), the transferred subsoil (SS, light grey) and the transferred altered bedrock (AB, white); and the F	

and p values of ANOVA and Kruskal-Wallis tests, performed, between treatments in 2013 or within each treatment to compare the three years of monitoring, are reported above each bar. Bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.....57

Figure 1.7: Biodegraded carbon (mg of C-CO₂/g of dry soil) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France) in controlled conditions during 28 days, in 2013 (A), and between 2012 and 2013 (B); and the ratio between the mineralised carbon in CO₂ and the total organic carbon (Bio C/Org C), in controlled conditions during 28 days, in 2013 (C), and between 2012 and 2013 (D.) Means and error standards are given for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); the F and p values of ANOVA and Kruskal-Wallis tests, performed, between treatments in 2013 or within each treatment to compare the three years of monitoring, are reported above each bar. Bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.....58

Figure 1.8: Mineralised nitrogen (nitrate + ammonium) (µg/g of dry soil) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France), in controlled conditions during 28 days, in 2013 (A), and between 2012 and 2013 (C); and the ratio between the mineralised nitrogen (nitrate + ammonium) and the total nitrogen (Nmin/Ntot), in controlled conditions during 28 days, in 2013 (B), and between 2012 and 2013 (D.) Means and error standards of these analyses in 2013 or between 2012 and 2013, for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); the F and p values of ANOVA and Kruskal-Wallis tests, performed, between treatments in 2013 or within each treatment to compare the three years of monitoring, are reported above each bar. Bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.....59

Figure 1.9: Soil microbial basal respiration (µC-CO₂/g of dry soil/h) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France) (A), microbial biomass (µC/g of dry soil) (B) and metabolic quotient qCO₂ (mgC-CO g of dry soil of dry soil/h) (C) in 2013. Means and error standards are given: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); F and p values of ANOVA tests, performed within each treatment, are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters don't have significant differences according to Tukey post-hoc test.....61

Figure 1.10: Induced respirations (µC-CO₂/g of dry soil/h) of soil microbial communities in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France). Means and error standards are given: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white).

Figure T.2: Localisation du chapitre 2 dans l'organisation générale de la thèse..... 69

Figure 2.1: Location of the plain of La Crau in south-eastern France (A) and location of the rehabilitated site where the oil leak occurred. The National Natural Reserve is colored in gray (B).....80

Figure 2.2: 2010-The site after excavation of the polluted soil (foreground) (A); the reference steppe is visible in the background; 2011-Soil removal in the donor site wherethe quarry will be extended in the future (right) and the undisturbed steppe (left) (B); 2011-Soil transfer on the rehabilitated site (background). Two plots for vegetationsurvey are visible in the foreground (C); 2011-Soil layers in the rehabilitated site which have been transferred from the donor site (D) (Credit photo: UMR CNRS-IMBE).....81

Figure 2.3: The four soil reconstitution treatments (AB: altered bedrock, SS: sub soil, UTS: uncompacted top soil, CTS: compacted top soil, Step.: undisturbed top soil of thereference steppe) after their transfer in the rehabilitated site (left), and main soil layers of the reference steppe (right).....82

Figure 2.4: Means and standard errors of vegetation cover (%) (A), mean height (cm) (B), target species richness (4m²) (C), non-target species richness (4m²) (D) and total species richness (4m²) (E) during the three years of vegetation survey (2011, 2012 and 2013) for each treatment: undisturbed top soil of the reference steppe (very dark grey), compacted top soil (dark gray), uncompacted top soil (grey), sub soil (light grey) and altered bedrock (white). F and p values of ANOVA tests or X² and p values of Kruskal-Wallis tests, performed within each treatment, to compare years, are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Withney-Wilcoxon test.....90

Figure 2.5: NMDS ordination based on 9 vegetation samples for each of the five treatments (n = 45). The A plot shows only the 2013 samples grouped by treatment with polygons: undisturbed top soil of the reference steppe (very dark grey), and compacted top soil (dark grey), uncompacted top soil (grey), sub soil (light grey) and altered bedrock (white) transferred. To clarify, only the most correlated plant species to the two first axes are literally inscribed. The B plot shows the vegetation dynamic for each treatment, according the position of their barycenter during the three years of the vegetation survey (2011-2012-2013).....92

Figure 2.6: Mean percent cover of (A) three characteristic plant species only found in the reference steppe, (B) three target species present in the restored site and absent from the reference steppe, and (C) three non-target species dominant in the restored site and absent from the reference steppe (AB: altered bedrock, SS: sub soil, UTS: uncompacted top soil, CTS: compacted top soil, Step.: undisturbed top soil of the reference steppe). The ordinate scale, between two, plots is different and corresponds to the mean abundance coefficient.....93

Figure 2.7: Means and standard errors of (A) normalized community structure integrity index, and (B) higher abundance index for the three years of vegetation survey (1st: 2011, 2nd: 2012, 3rd: 2013) for each treatment: undisturbed top soil of the reference steppe (very dark grey), and compacted top soil (dark grey), uncompacted top soil (grey), sub soil (light grey) and altered bedrock (white) transferred. F and p values of ANOVA tests or X² and p values of Kruskal-Waliis tests, performed within each treatment, to compare years, are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters don't have a significant difference according to Tukey post-hoc tests or Mann-Withney-Wilcoxon tests.....94

Figure T.3: Localisation du chapitre 3 dans l'organisation générale de la thèse..... 103

Figure 3.1: Location of the plain of La Crau in south-eastern France and the study site (black star) in the National Nature Reserve delimited by the dark grey colour..... 123

Figure 3.2: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) realized on the seed banks of the first soil centimeters of ten 10 x 10 cm² samples of refuse piles and areas without refuse piles (control). The ten samples of each treatment are grouped with polygons. To clarify, only the most correlated plant species to the two first axes are literally inscribed. (A) Seed bank analysis between the refuse piles (light grey) and the control samples (dark grey) with the same volume (70 cm³) in autumn 2011, (B) Seed bank analysis between the refuse piles (light grey) and the control samples (dark grey) with the total volume in autumn 2012..... 127

Figure 3.3: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) realized on the seedlings analysis between the sieved refuse piles (light grey) and the control samples (dark grey) measured in the field in Spring 2013..... 131

Figure T4: Localisation du chapitre 4 dans l'organisation générale de la thèse.....138

Figure 4.1 A, Situation of the plain of La Crau in France, the abandoned orchard area (AOA site) and the oil leak area (OLA site) ; B, Situation of plots where the founding queens were transplanted in the abandoned orchard under different ecological restoration treatments (RZ: rehabilitated zone, NSS: nurse species seeding, ST: soil transfer), on the boundaries (BB: broad boundary, NB: narrow boundary) and in the steppe reference (STEP); C, Situation of lines where the founding queens were transplanted on the rehabilitated area of the former oil leak and in the reference steppe (STEP2).....139

Figure 4.2 Live transplanted founding queen with its brood under the geo-referenced pebble lifted for photography (Photo credit: Laurence Berville).....143

Figure 4.3 Successful transplantations of founding queens in spring 2011 and spring 2012 on the AOA site, on the boundaries and in the reference steppe. Nurse species seeding (NSS, white), rehabilitated zone (RZ, oblique stripes 45°), soil transfer (ST, light gray), broad boundary (BB, dark grey), narrow boundary (NB, grey); reference steppe (STEP, vertical stripes). The percentage of successful transplantations is based on the number of founding queens still alive in each zone. The chi-square of Kruskal-Wallis test and its p-value are indicated above each graph. The p-value is adjusted according to the Benjamini-Hochberg method. Error bars represent standard errors.....145

Figure 4.4 Successful transplantations of founding queens in spring 2012 and in autumn 2012 on the OLA site and in the reference steppe (STEP2, light grey). Percentage of successful transplantations is based on the number of founding queens still alive in each zone. The chi-square of Kruskal-Wallis test and its p-value are indicated above each graph. Error bars represent standard errors. Bars with a different letter (a and b, α and β) are significantly different (p < 0.05).....146

Figure 4.5 Mean natural nests (per hectare) of *Messor barbarus* already present at the site degraded by intensive arboriculture (AOA: NSS, RZ, ST, on the boundaries (BB, NB) and in the reference steppe (STEP2). Nurse species seeding (NSS, white), rehabilitated zone (RZ, oblique stripes 45°), soil transfer (ST, light grey), broad boundary (BB, dark grey), narrow boundary (NB, grey); reference steppe (STEP, vertical stripes). The chi-square of Kruskal-Wallis test and its p-value are indicated above each graph. Error bars represent standard errors. Bars with a different letter are significantly different (p < 0.05). (Comparison by Mann-Whitney-Wilcoxon tests with p-value adjusted according to the Benjamini-Hochberg method; p < 0.05).....147

TABLE DES TABLEAUX

Table 1.1: Physico-chemical contents (autumn 2013) of four treatments realised in a restoration soil transfer experiment (La Crau, south-eastern France): The measured values are means \pm standard errors; df, F, X^2 , t p correspond to the degree of freedom, the F value, the X^2 value and the p value resulting from ANOVA tests or Kruskal-Wallis tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.....54

Table 2.1: Soil analyses for each of the five treatments in April 2011: The measured values are means \pm standard errors; Within a row, two cases with a different letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.....87

Table 2.2: Plant community characteristics for each treatment after 3 years, in spring 2013: The measured values are means \pm standard errors; within a row, two cases with a different letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.....95

Table 3.1: Characteristics of the viable seed banks in autumn 2012: samples taken in refuse piles with 70 cm³ and with the total volume, and the controls with 70 cm³ and with the total volume. Values are means \pm standard errors; df corresponds to the degree of freedom; the t-value (t), the W-value (W) and the p-value (p) resulting from t tests or Wilcoxon tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter are significantly different (p-value < 0.05).....129

Table 3.2: Characteristics of the viable seed banks in spring 2013: samples taken in protected refuse piles with 70 cm³ and with the total volume, the controls with 70 cm³, and with the total volume. Values are means \pm standard errors; df corresponds to the degree of freedom; the t-value (t), the W-value (W) and the p-value (p) resulting from t tests or Wilcoxon tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter have significantly different (p-value < 0.05).....130

Table 3.3: Characteristics of field seedlings in spring 2013: seedlings analyses in the sieved refuse piles areas and in the controls on areas of 100 cm². Values are means \pm standard errors; df corresponds to the degree of freedom; the t-value (t), the W-value (W) and the p-value (p) resulting from t tests or Wilcoxon tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter have significantly different (p-value < 0.05).....133

INTRODUCTION GÉNÉRALE

I.1. Contexte général

Les archives paléontologiques témoignent de l'existence de grands bouleversements au cours de l'histoire de la vie. Des vagues d'extinctions de masse des espèces ont, en effet, forcé la vie à se réorganiser à cinq reprises au cours des temps géologiques. Cependant, ces changements importants étaient seulement le résultat d'évènements naturels (Hallam & Wignall 1997. Avec l'accroissement spectaculaire de la population humaine au cours des derniers siècles (Harrison & Pearce 2000), et la surexploitation pour la fourniture des matières premières qui en résulte, une sixième crise d'extinction de masse serait actuellement en cours sous l'effet du changement global (Barnosky et al. 2011). Celui-ci comprend des modifications climatiques et environnementales majeures, engendrées à la fois par les activités anthropiques et par les facteurs naturels. Par l'intégration de la dimension humaine parmi ses causes principales, cette nouvelle période d'extinctions est parfois appelée « l'ère anthropocène » (Cruzen 2002; Barnosky et al. 2011; Zalasiewicz et al. 2011), et elle se serait amplifiée depuis le commencement de la révolution industrielle au début du 19^e siècle. Certains auteurs ont même évoqué le fait que les activités humaines pourraient annuler les changements naturels des écosystèmes provoqués par les variations climatiques des derniers millénaires (Clark et al. 1986; Turner et al. 1990). Un des objectifs primordial de la recherche en écologie est ainsi de déterminer comment le changement global affecte les espèces, les communautés, les populations et les écosystèmes afin de prédire, de limiter ou de réparer les conséquences de celui-ci sur la biodiversité et ses services (Pimm et al. 1995; Vitousek et al. 1997).

Bien que le changement de la composition atmosphérique et celui du climat qui en découle focalisent actuellement l'attention d'un grand nombre de chercheurs, l'autre composante du changement global, le changement d'usage des terres est cependant considéré comme ayant un impact supérieur (Turner et al. 1990; Lambin 2001; Leakey 1995; Houghton 1996; Balmford & Bond 2005). Ces modifications dans l'utilisation des sols se manifestent par une intensification des usages due à l'augmentation de la pression anthropique (urbanisation, déforestation, intensification agricole, introduction d'espèces etc.) ou au contraire à leur abandon (déprise agricole, reforestation etc.). Ceux-ci sont alors à l'origine de la destruction directe d'habitats et de leurs fragmentations, ainsi que de l'augmentation des invasions biologiques causant d'importantes et rapides pertes de biodiversité. En plus d'être

une menace pour la biodiversité, ils ont également des incidences sur les biens et les services fournis par les écosystèmes transformées (*Millennium Ecosystem Assessment* 2005), et des conséquences sociales et esthétiques (Ehrlich & Ehrlich 1992; Meffe & Carroll 1997).

Ojima et al. (1994) ont ainsi estimé que un tiers de la surface des terres émergées avaient déjà été converties en cultures ou en pâtures, et que la moitié de celles-ci avait déjà été transformée au cours des cent dernières années. De plus, Primack et Miller-Rushing (2012) ont également évalué que 80% de la surface des pays européens industrialisés étaient impactés par les changements d'usages des sols. Dans ces mêmes pays, le risque d'un accident technologique est également élevé. Quand il se produit, il a souvent des répercussions considérables, parfois irréversibles, sur l'environnement, celles-ci pouvant être amplifiées dans le temps et dans l'espace (destruction d'habitats; transferts lents de polluants dans l'air, dans l'eau ou dans les sols...), et avoir des coûts financiers importants.

Dans ce contexte, l'émergence d'une science qui élaborerait des outils pour contrer l'érosion de la biodiversité est devenue primordiale. La biologie de la conservation s'est alors développée, et se décline en trois principales actions (Gauthier-clerc et al. 2014): 1) le maintien des conditions de gestion qui ont conduit l'écosystème à son état actuel lorsqu'aucune menace spécifique n'est décelée; 2) la mise en place de mesures de conservation et de préservation de l'espèce ou de l'habitat lorsque une ou des menaces sont identifiées, et dans un dernier recours 3) la mise en place de mesures de restauration écologique lorsque l'écosystème a été dégradé de manière irréversible ou détruit.

Comme le changement global hypothèque notre capacité à préserver et à conserver les écosystèmes impactés, les besoins en restauration écologique deviennent de plus en plus forts. L'écologie de la restauration, discipline scientifique qui a pour vocation d'accompagner la restauration écologique, connaît alors un grand essor, et ce depuis quelques dizaines d'années (Dutoit et al. 2014). Une conférence mondiale sur la diversité biologique, organisée à Nagoya en octobre 2010, a même fixé l'objectif ambitieux de restaurer au moins 15% des écosystèmes dégradés avant 2020 (Convention sur la diversité biologique 2011). Le but principal étant de contrebalancer les destructions et la fragmentation des écosystèmes en créant des réservoirs de biodiversité et des corridors écologiques (Harris et al. 2006). Cependant, la majorité des actions de restauration écologique, orientées pour le vivant (réhabilitation d'habitats, restauration de communautés végétales, renforcement et ré-introduction d'espèces rares et

menacées, etc.) s'appuient encore trop souvent sur une ingénierie civile non durable (Dutoit 2012, 2014). Issue des travaux des ingénieurs des bâtiments et des ponts et chaussées au début du 20^e siècle, cette ingénierie s'exerce au travers du génie civil qui utilise des énergies fossiles (hydrocarbures), et emploie des techniques lourdes (engins de travaux publics) et très polluantes (émissions de CO₂, de NO_x, bruits, etc.).

Pour atteindre les objectifs fixés par la conférence sur la diversité biologique, et ne pas hypothéquer l'avenir de la planète, il serait donc nécessaire de passer progressivement d'une ingénierie civile non durable à une ingénierie plus durable, c'est-à-dire à l'ingénierie écologique. Celle-ci agit aussi bien pour le vivant que par le vivant, et est favorable à la pérennité des actions humaines mais aussi à celle de la biosphère. Une étape intermédiaire est le recours à une ingénierie civile dite « écologisée » qui utilise encore des énergies fossiles mais qui est orientée pour le vivant et qui s'inspire du vivant (Rey et al. 2014).

Ce travail de thèse intervient, suite à une opération lourde de restauration écologique appliquée après à un accident technologique intervenu en plein cœur d'une Réserve Naturelle Nationale dans une pelouse sèche sub-steppique méditerranéenne (plaine de La Crau, Sud-Est de la France).

1.2. Objectifs, hypothèses et organisation principale de la thèse

Les objectifs principaux de la thèse sont donc :

- d'évaluer la réussite d'une opération de restauration écologique faisant appel à une ingénierie civile dite « écologisée » (transfert de sol direct, sans stockage et avec reconstitution des horizons) suite à une fuite d'hydrocarbures survenue dans la plaine de Crau le 07 août 2009 afin de proposer des améliorations pour de futures interventions.

- d'expérimenter de nouvelles techniques et de développer de nouveaux outils complémentaires en ingénierie écologique notamment après avoir identifié de potentiels « ingénieurs des écosystèmes » (fourmis moissonneuses) pour les transplanter et tester une accélération éventuelle de la restauration de la formation végétale sub-steppique.

Cette étude a donc été organisée selon trois axes qui sont: (1) mesurer la régénération de la steppe après des changements d'usages importants du sol (accident technologique) par une

approche des interactions entre les réponses du sol et de la végétation (**chapitres 1 et 2**), (2) étudier plus particulièrement les mécanismes d'assemblage des espèces végétales *via* les interactions plantes-fourmis (**chapitre 3**) dans le but d'identifier leurs actions potentielles d'ingénieur de l'écosystème vis-à-vis de la répartition des espèces végétales pour (3) développer un nouvel outil en ingénierie écologique *via* leur utilisation pour redistribuer les graines en complément de l'application préalable de techniques lourdes de génie civil (**chapitre 4**).

L'organisation générale de la thèse peut ainsi être résumée en quatre principales questions correspondant aux quatre chapitres:

1) Comment le sol réagit-il à court terme, en ce qui concerne ses paramètres physique, chimique et biologique après une opération de transfert de sol effectuée selon différentes modalités de reconstitution des principales couches pédologiques ?

(chapitre 1)

2) Comment la communauté végétale de type steppique se régénère-t-elle parallèlement en termes de composition, richesse, diversité et similitude avec l'écosystème de référence au cours de ce même transfert de sol effectué selon des lignes directrices favorisant sa reprise ?

(chapitre 2)

3) La fourmi *Messor barbarus* permet-elle, *via* les dépotoirs, de disperser, concentrer et donc de redistribuer spatialement et temporellement les graines des espèces végétales caractéristiques de la végétation steppique. Est-elle un ingénieur des écosystèmes potentiellement utilisable en ingénierie écologique?

(chapitre 3)

4) Lorsque la recolonisation naturelle de la fourmi *Messor barbarus* ne se fait pas, et si elle représente effectivement un outil potentiel en ingénierie écologique, est-t-il possible de renforcer sa population en la transplantant sur des sites en cours de restauration ?

(chapitre 4)

Les deux premiers chapitres de la thèse ont donc consisté à étudier l'effet d'un transfert de sol massif, consécutif à un accident technologique, sur la régénération de la végétation et du compartiment sol lui-même. En effet, le 07 août 2009, une importante fuite d'un oléoduc (4500 m³) est survenue au milieu de la plaine de La Crau et a détruit plus de 5,5 ha de cette pelouse sèche sub-steppique méditerranéenne (Wolff 2013). Après l'excavation et l'évacuation du sol pollué dans une décharge spécialisée pour traiter ce type de déchets, la

restauration écologique du site détruit a alors été associée à différentes expérimentations *in situ* de remise en place du sol en l'absence du pâturage ovin traditionnel (exclos) pour tester l'importance du respect de l'organisation verticale des principaux horizons pédologiques. La réalisation de ce transfert de sol s'est effectuée au printemps et en procédant à une translocation directe, selon un rapport 1 pour 1. Le sol provenait d'une carrière située à environ 4 kilomètres de distance qui était autorisée à s'agrandir avant l'accident. Le respect de l'organisation verticale ou non des principaux horizons du sol a ensuite été testé lors de sa reconstitution: horizon organique A₁ (*topsoil*) (0-20cm de profondeur) + horizon minéral (B) (*subsoil*) (20-40 cm) + horizon C (*altered bedrock*) correspondant à la dégradation de la roche mère (> 40 cm).

Peu de recherches se sont intéressées aux interactions sol-plantes dans le cadre de la restauration écologique d'un écosystème (Marrs et al. 2002; Walker et al. 2004), même si celles-ci sont fortement préconisées puisqu'elles sont des déterminants majeurs du fonctionnement des écosystèmes (Wardle et al. 2004). En effet, ces interactions sont extrêmement complexes et difficiles à identifier et à mesurer à différentes échelles spatiales et temporelles. Dans le **premier chapitre**, nous avons alors étudié la réponse du sol face à cette opération de transfert car il présente des composantes et des fonctions pouvant réagir rapidement (biomasse et richesse bactérienne, matières organiques particulaires (MOP)) (Dick et al. 1993; Balabane & Balesdent 1995; Schils et al. 2008) tandis que d'autres processus pédologiques, appréhendés par des mesures physico-chimiques et des profils pédologiques, peuvent réagir sur le plus long terme (Parr & Papendick 1997). Ces paramètres ont donc été mesurés avec pour hypothèse que le traitement, où l'intégralité des horizons pédologiques a été reconstituée (A₁, (B) et C), obtiendrait les résultats les plus similaires au sol non impacté de la steppe de référence encore présente tout autour de la zone impactée par la fuite. Le **deuxième chapitre** a consisté à étudier la régénération de la communauté végétale steppique suite à cette opération de restauration écologique. Le but était de donner des directives techniques permettant d'améliorer les performances des opérations de transfert de sol. La compaction de la surface du sol a également été expérimentée pour limiter le foisonnement du sol et donc, à priori, l'installation d'espèces non désirées telles que les espèces anémochores ubiquistes à forte capacité de dispersion. Notre hypothèse était que la non-reconstitution de l'horizon A₁, accompagnée d'un compactage de la surface du sol, permettraient de favoriser plus rapidement l'installation d'espèces végétales caractéristiques de la végétation steppique (**Annexe 5**).

Les deux autres chapitres ont consisté à développer un nouvel outil complémentaire en ingénierie écologique *via* les organismes ingénieurs de l'écosystème (Jones et al. 1997), et qui grâce à leur autonomie, permettrait de compléter les opérations de restauration écologique de manière plus durable, car sans intervention humaine supplémentaire.

L'objectif du **troisième chapitre** de la thèse a donc été d'analyser au préalable l'action de la fourmi moissonneuse *Messor barbarus* sur la redistribution des graines et sur l'émergence des plantules des espèces végétales caractéristiques de la plaine de La Crau à une échelle locale. Le but était de savoir si cette fourmi pourrait être potentiellement utilisée comme ingénieur de l'écosystème en complément d'opérations lourdes de restauration écologique comme le transfert de sol. Cette étude s'est focalisée sur l'implication des dépotoirs de *M. barbarus* pour concentrer des graines viables et pour modifier ensuite les caractéristiques de la végétation en comparaison à des zones contrôle dénuées de l'activité des fourmis. Notre première hypothèse est que les dépotoirs ont un impact significatif sur la composition des graines, et qu'ils augmentent donc significativement la richesse spécifique et la densité des graines viables au cours de l'automne et de l'hiver par rapport à des zones contrôle, de même surface et de même volume, mais sans activité de fourmis observée. Notre seconde hypothèse est que la richesse spécifique des plantules issues de la germination des graines concentrées dans les dépotoirs, ainsi que leur densité, seraient plus élevées au printemps suivant aux endroits où ceux-ci avaient été artificiellement détruits durant la période automnale. Enfin, notre troisième hypothèse est que le maintien de certains dépotoirs, pendant la période hivernale, permet d'augmenter significativement la viabilité des graines issues de la banque de graines de type transitoire, et ainsi d'augmenter la mémoire séminale de l'écosystème sub-steppique. En effet, grâce à l'accumulation de matériel végétal sec, les dépotoirs offriraient des conditions environnementales favorables pour conserver les graines et pour les protéger contre les parasites et les prédateurs. La banque de graines a donc été étudiée, en automne et en hiver dans des conditions *ex situ* par la méthode d'émergence des cultures, à la fois dans les dépotoirs et dans des zones sans activité de fourmis. Des inventaires des plantules ont ensuite été réalisés au printemps suivant, *in situ*, sur des dépotoirs détruits ou maintenus artificiellement pendant l'hiver en comparaison à des zones contrôles (**Annexe 6**).

Le **quatrième et dernier chapitre** de la thèse a permis de mettre au point un protocole de transplantation de fondatrices de la fourmi *M. barbarus* sur deux sites faisant l'objet d'une restauration écologique: l'un correspondant au site détruit par la fuite d'hydrocarbures et restauré par le transfert de sol, et l'autre correspondant à un site dégradé par une arboriculture

intensive et restauré selon différentes méthodes de génie civil (transfert de sol, semis d'espèces nurses) (Jaunatre et al. 2012, 2014a et b). Le succès des transplantations et de la colonisation spontanée ont été mesurés dans les deux cas. L'hypothèse de ce travail était que la qualité des habitats d'accueil pour les fondatrices était un facteur plus limitant que celui de la dispersion lors du vol nuptial. Le succès de la transplantation et de la colonisation naturelle a alors été étudié sur chacun des deux sites d'étude.

Au travers de ce travail de thèse, une approche multi-niveaux de l'écosystème a donc été menée en prenant en compte différentes composantes (sol, végétation, myrmécofaune) et leurs interactions. Cela permet d'alimenter les connaissances fondamentales en écologie mais également de mieux évaluer la réussite d'opérations de restauration écologique basées sur des interventions de génie civil. De manière complémentaire, l'étude de ces interactions devrait permettre un passage progressif vers une ingénierie écologique durable *via* de nouvelles méthodologies basées sur l'utilisation d'espèces potentiellement "ingénieur des écosystèmes" (Figure I.1).

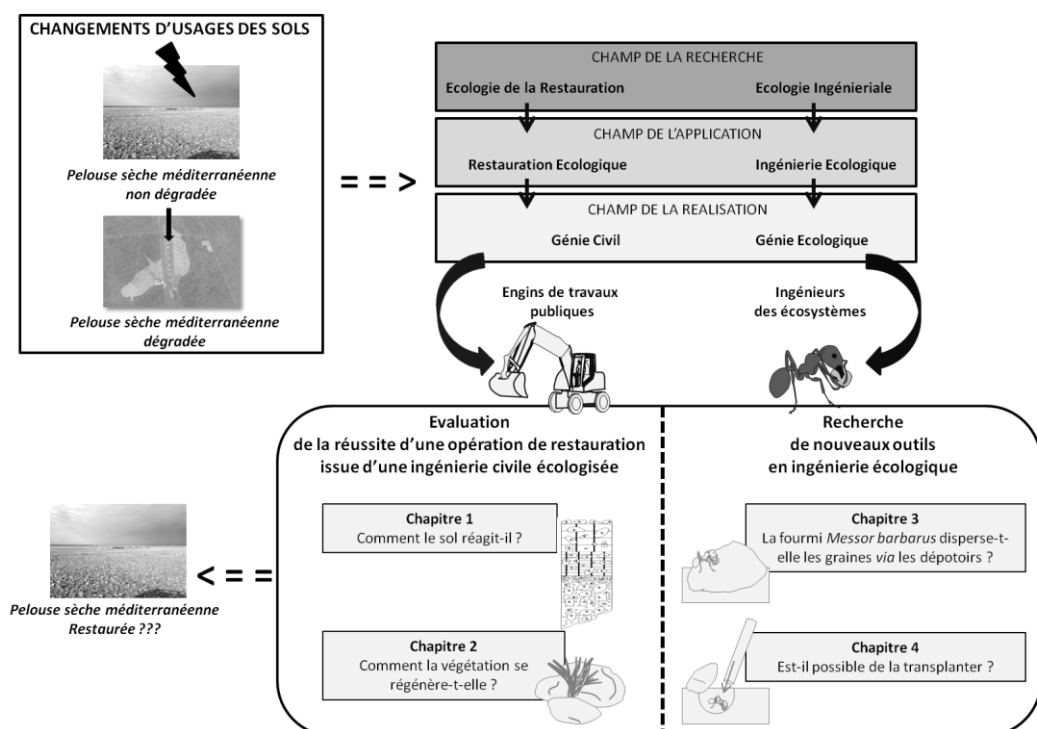


Figure I.1: Résumé graphique de l'organisation générale de la thèse.

1.3. Cadre conceptuel

1.3.1. Les pelouses sèches, des sites ateliers pour expérimenter en écologie de la restauration

Les formations végétales de pelouses, sont souvent caractérisées par leur type de végétation, mais aussi par le climat, les sols et leurs utilisations anthropiques (Gibson 2009). Une définition générale pourrait être « des écosystèmes terrestres dominés par une végétation herbacée et arbustive entretenue par le feu, le pâturage, la sécheresse et/ou des températures basses, dont la couverture en espèces ligneuses est inférieure à 10% » (Bailey 1989; White et al. 2000; Gibson 2009; Allen et al. 2011). Les pelouses sèches sont donc incluses dans ce type d'écosystèmes. Celles-ci sont essentiellement dominées par des graminées, et parfois par des espèces annuelles ou vivaces qui vivent dans des sites climatiquement ou édaphiquement secs. Elles sont généralement localisées dans des zones semi-arides où l'index d'aridité (rapport entre les précipitations moyennes annuelles et l'évapotranspiration potentielle), est compris entre 0,2 et 0,5 (White et al. 2000). Bien que certaines d'entre-elles puissent être qualifiées de naturelles (biome de steppe, zone alpine), une grande partie de ces pelouses sèches ont une végétation dite semi-naturelle, puisque sans l'action de l'homme, elles ne pourraient pas se maintenir (Gibson 2009).

En Europe occidentale, les pelouses sèches possèdent généralement une importante biodiversité (Gibson 2009). Elles sont même souvent qualifiées de points chauds de biodiversité (Weiher & Keddy 1999; Willems 2001; Poschold & WallisdeVries 2002; Alard & Poudevigne 2002; Gibson 2009). En effet, un écosystème, soumis à la fois à des régimes de stress (sécheresse, inondations etc.) et à des régimes de perturbations (feux, pâturage etc.) sur le long terme, présente souvent une forte richesse spécifique organisée en communautés hautement structurées (Weiher & Keddy 1999; Alard & Poudevigne 2002; Gibson 2009). Le stress et les perturbations représentent également des mécanismes qui créent et maintiennent une hétérogénéité spatiale au sein des communautés (Gibson 2009). En effet, dans la plupart des pelouses, il y a la présence d'un pâturage d'origine anthropique, remontant parfois depuis le Néolithique, et/ou d'origine naturelle par les herbivores sauvages (Allen et al. 2011). Les pelouses sèches européennes correspondent ainsi à l'un des habitats les plus riches en espèces, aux échelles locale et régionale (Willems 2001; Poschold & WallisdeVries 2002). Il est très commun d'y retrouver 30 à 40 espèces de plantes par mètre carré et jusqu'à 80 espèces en

incluant les bryophytes (Bobbink & Willems 1987; Hutchings & Stewart 2002; Römermann et al. 2005).

Présentes partout à travers la planète, les pelouses fournissent des biens et des services tout en abritant une flore et une faune riche et diversifiée, mais elles subissent également la pression d'une population humaine mondiale croissante (White et al. 2000; Gibson 2009). A l'échelle mondiale, il est ainsi estimé que le recouvrement par les pelouses varie entre 41 et 56 millions de km² soit 40.5% des surfaces terrestres. Elles sont également présentes sur tous les continents (Whittaker & Lichens 1975; White et al. 2000; Gibson 2009). En Europe, celles-ci occupent 6.69 millions de km² dont 0.70 million de km² de pelouses non arborées où est incluse la majorité des pelouses sèches (White et al. 2000).

Les steppes sont une sous-catégorie de pelouses sèches définie comme des parcours semi-arides (250 à 500 mm/an) et caractérisées par une végétation herbacée rase ou peu élevée, parsemée occasionnellement de buissons (Allen et al. 2011). Selon Le Houérou (1995), dans le bassin méditerranéen, celles-ci occupent 3 700 000 ha dans la partie occidentale et 63 000 000 ha dans le nord de l'Afrique, de la mer Rouge jusqu'à l'océan Atlantique. La plaine de La Crau, dans le sud-est de la France, représente, quant à elle, l'unique écosystème de type steppique d'Europe occidentale (Devaux et al. 1983).

Cependant, depuis la deuxième moitié du 20^e siècle, une perte significative de ces pelouses, y compris des steppes, a été mesurée (Dzonko & Loster 1998; Lee et al. 2001; Adriaens et al. 2006; Dutoit et al. 2011). Ceci est principalement dû aux changements d'usages des sols (intensification agricole, industrialisation, urbanisation, etc.), à la fragmentation du paysage (systèmes parcellaires d'irrigation) et à la prolifération ou l'invasion respectivement d'espèces indigènes ou non-indigènes (Saunders et al. 1991; White et al. 2000; Poschold et WallisDeVries 2002; Fargione et al. 2009). C'est particulièrement le cas dans la région méditerranéenne où les pelouses doivent donc non seulement être conservées mais aussi, restaurées (Traba 2003; Bonet 2004; Buisson & Dutoit 2006; Janišová 2011). Ces écosystèmes constituent alors des sites ateliers de choix pour tester expérimentalement, à différentes échelles, des techniques de restauration écologique; et pour développer de manière opérationnelle de nouvelles méthodes et de nouveaux outils en ingénierie écologique afin d'enrayer la perte de leur biodiversité.

I.3.2. De la restauration écologique à l'ingénierie écologique

I.3.2.1. La restauration écologique

L'écologie de la restauration est la science qui permet de faire évoluer les connaissances en développant et en testant un ensemble de théories en écologie au travers sa pratique, la restauration écologique (Bradshaw 1987; Palmer et al. 1997). Cette dernière a été définie comme étant « *le processus qui initie ou accélère l'auto-réparation d'un écosystème qui a été dégradé, endommagé ou détruit, tout en conservant sa santé, son intégrité et sa gestion durable* » (SER 2004).

En s'appuyant sur le sens strict de cette définition, la restauration écologique apparaît alors comme un outil qui permettrait aux écosystèmes transformés de se rétablir entièrement en récupérant l'intégralité de leurs attributs et de leurs fonctions, et ceci dans des conditions viables à long terme. Elle inclurait donc le rétablissement de la richesse spécifique, de la composition, de la structuration spatiale et temporelle, des fonctions de tous les compartiments de l'écosystème, mais également des interactions entre ces compartiments. La fourniture en biens et en services devrait également être rétablie. La restauration écologique d'un écosystème devrait être effectuée selon trois domaines: écologie, socio-économie, mais aussi du point de vue personnel et culturel (Clewell & Aronson 2007).

Pour chaque projet de restauration, il est donc primordial de définir des objectifs de restauration écologique, même basés sur des choix subjectifs, pour orienter les opérations, suivre leur progrès et évaluer leur succès (Choi 2004; Clewell & Aronson 2007). L'objectif fixé est majoritairement l'atteinte de l'état où l'écosystème se situait avant sa dégradation ou sa destruction. Cet état est très couramment qualifié d'« écosystème de référence » (Clewell & Aronson 2007; Bullock et al. 2011). Cependant, comme les écosystèmes sont dynamiques, le but réel de la restauration est plutôt le pilotage d'une « trajectoire de référence » de l'écosystème. Il est aussi nécessaire de permettre à ces écosystèmes de devenir à nouveau autonomes et résilients face à des niveaux normaux de stress et de perturbation. En revanche, la création ou la réaffectation d'écosystèmes dégradés visent l'obtention d'un autre écosystème sans référence à un stade historique antérieur existant préalablement à la dégradation (**Figure I.2**).

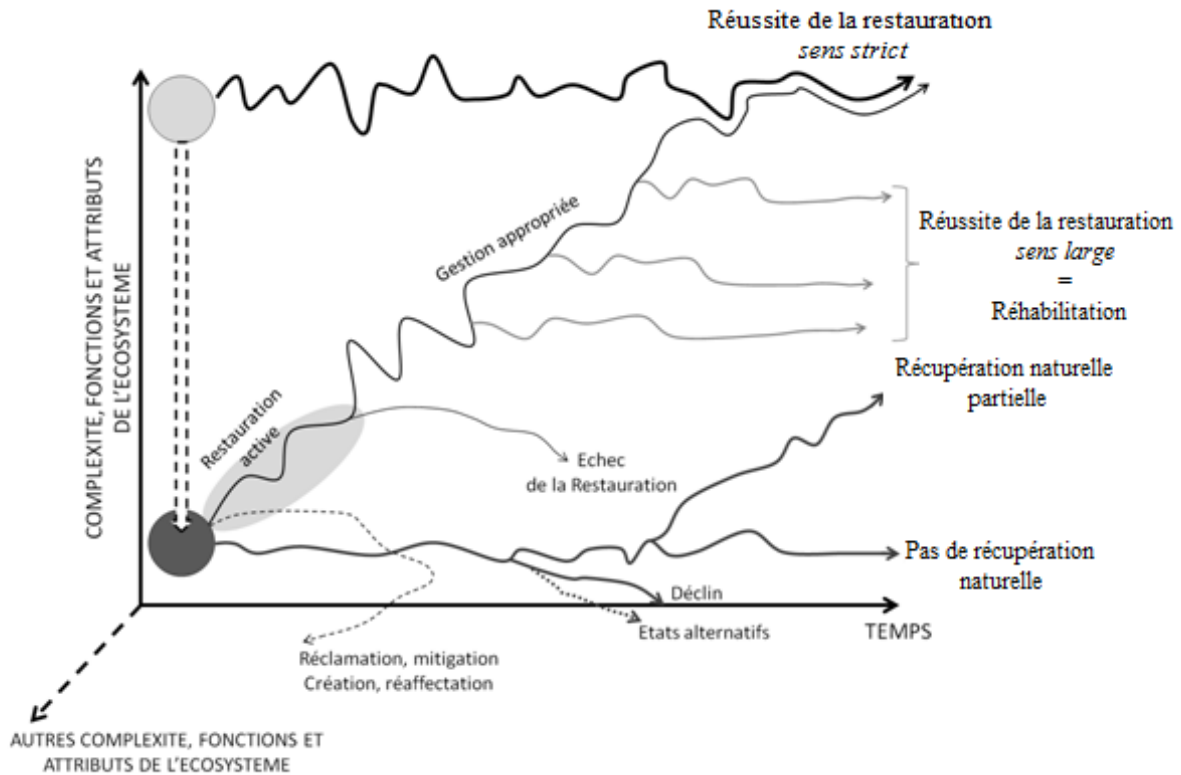


Figure 1.2: Modèle général illustrant les différents termes de restauration, dans un graphique à trois dimensions: temps, complexité ou fonction de l'écosystème de référence, complexité ou fonction d'un autre écosystème. La troisième dimension est représentée par les pointillés. Modifiée d'Aronson et al. (1993), Buisson (2011) et Jaunatre (2012).

Même si de nombreux projets de restauration écologique ont permis de mesurer une amélioration significative de la biodiversité et/ou des fonctions des écosystèmes en partie restaurés, ils ont tous démontré l'impossibilité actuelle d'atteindre totalement la trajectoire visée, même si certains d'entre eux permettent l'acquisition de nouvelles connaissances écologiques, et le développement d'outils et de méthodes plus efficaces (Benayas et al. 2009; Bullock et al. 2011). Un des verrous majeurs, à la réussite d'une opération de restauration écologique, est ainsi une incapacité à mimer des interactions complexes qui ont mis du temps à s'établir. Face à ce constat, une définition plus large de la restauration a été développée lorsque seules certaines fonctions ou certains services sont rétablis, ou bien lorsqu'une partie des attributs des écosystèmes est réparée. La notion de réhabilitation écologique est dans ce cas évoquée (Hobbs 2007).

Du point de vue opérationnel, bien souvent les opérations de restauration écologique font appel aux principes de l'ingénierie civile et aux techniques du génie civil qui se basent sur des interventions lourdes (engins de travaux publics), avec de grandes consommations de

ressources non-renouvelables (énergies non-renouvelables) et des émissions importantes de polluants. Ces actions, déployées essentiellement pour le vivant, contribuent alors elles-aussi au changement global et à ses conséquences environnementales planétaires (Dutoit 2014).

Au regard notamment de l'objectif fixé par la conférence internationale sur la diversité biologique (Conférence sur la diversité biologique 2011), la question de la durabilité de ces techniques se pose. En effet, il est aujourd'hui primordial d'intégrer ces opérations de restauration écologique dans un contexte de développement durable (Dutoit 2013). Le développement durable a été défini pour la première fois en 1987 dans le rapport Bruntland de la Commission Mondiale sur l'Environnement et le Développement, comme « *un mode de développement qui répond aux besoins du présent sans compromettre la capacité des générations futures de répondre aux leurs...* » (WCED 1987). Il s'agit alors maintenant de développer des concepts, des méthodes et des outils de restauration écologique non seulement en ayant une vision écocentrée mais aussi anthropocentrée pour soutenir durablement les activités humaines (Rey et al. 2014).

L'ingénierie écologique, parfois considérée comme une discipline parallèle à la restauration écologique peut alors être ici un meilleur cadre conceptuel pour la mise en place d'opérations de restauration écologique plus durables (Laugier 2012; Clewell & Aronson 2013).

1.3.2.2. *L'ingénierie écologique*

L'ingénierie écologique est un concept énoncé pour la première fois par Odum (1962) qui l'a défini comme « *une manipulation environnementale par l'homme en utilisant une faible quantité d'énergie supplémentaire pour contrôler des systèmes dans lesquels les forces énergétiques principales proviennent encore de sources naturelles* ». Plusieurs autres définitions ont par la suite été développées, mais nous ferons ici référence à celle proposée par Bergen et al. (2001), qui est une légère modification de celle de Mitsch (1996): « *l'ingénierie écologique est la conception de systèmes durables, compatibles avec les principes écologiques, qui intègrent la société humaine avec son environnement naturel pour le bénéfice des deux* ». Les écosystèmes sont alors restaurés et/ou conçus pour protéger, conserver et améliorer l'environnement naturel, avec ses biens et ses services, pour qu'ils puissent se maintenir tout en supportant l'humanité et ses besoins.

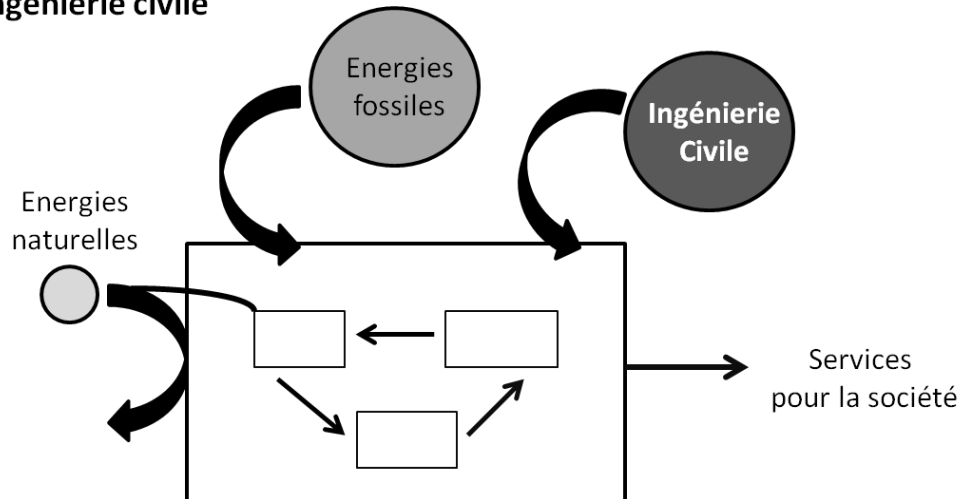
Les objectifs de l'ingénierie écologique peuvent être déclinés en trois axes majeurs: la réhabilitation d'écosystèmes (ou de communautés) ressentis comme dégradés, endommagés ou détruits, la création de nouveaux écosystèmes durables ayant une valeur pour l'homme et la biosphère, et enfin la mise au point d'outils biologiques pour prévenir ou résoudre des problèmes de pollution, et maintenir, rétablir ou maximiser un service écosystémique (Ecole thématique INEE-CNRS 2007; Abbadie et al. 2011; Dutoit 2012, 2013a, 2013b).

L'ingénierie écologique englobe ainsi la restauration écologique mais lui apporte une dimension nouvelle dans le sens où les interventions mises en place pour restaurer ou réhabiliter les écosystèmes doivent être durables et centrées sur le vivant. Le vivant constitue alors un moyen et/ou un objectif d'action (Abbadie et al. 2011). En 2010, *l'American Ecological Engineering Society* a qualifié l'ingénierie écologique comme étant « *une application des principes de l'écologie à la gestion de l'environnement* ».

L'ingénierie écologique repose ainsi sur cinq concepts principaux : l'auto-conception (*self-design*) des écosystèmes, le test pratique des théories de l'écologie fondamentale (*acid test*) et de l'écologie de la restauration, les approches systémiques, la conservation des sources d'énergies non-renouvelables et la conservation biologique (Mitsch & Jørgensen 2003). L'auto-conception est l'application de la notion d'auto-organisation (homéostasie) correspondant aux propriétés des systèmes à se réorganiser eux-mêmes au sein d'un environnement intrinsèquement instable et non-homogène (Odum 1989; Mitsch 1996). Cela signifie qu'un écosystème, qui permettrait l'établissement d'assez d'espèces et de propagules par des moyens artificiels et/ou naturels, générerait une optimisation de sa conception et nécessiterait une faible injection d'énergie pour en fournir beaucoup en retour. Il va lui-même sélectionner un assemblage de plantes, d'animaux et de micro-organismes qui seront capables de s'adapter aux conditions existantes. A l'inverse les projets faisant appel à de l'ingénierie civile, où l'objectif est d'anticiper chaque perturbation, créent des systèmes prévisibles et fiables qui vont effectuer une fonction donnée pour une durée de vie du système donné (**Figure I.3**).

L'ingénierie écologique permettrait alors une conservation des sources d'énergie non-renouvelables par une non-dépendance des écosystèmes pour les énergies fossiles à moyen et long termes (Mitsch & Jørgensen 2003). Par conséquent, les coûts financiers engendrés seraient moins élevés que ceux issus de l'ingénierie civile.

A) Avec l'ingénierie civile



B) Avec l'ingénierie écologique

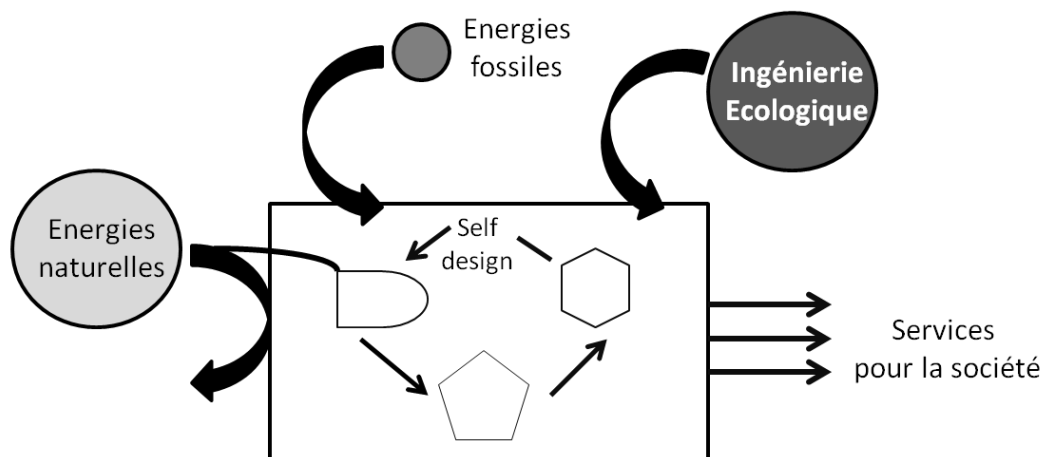


Figure I.3: Schéma illustrant le contraste entre A) ingénierie civile et B) ingénierie écologique intégrant le concept d'auto-conception (*self-design*) au sein d'un écosystème. Modifié de Mitsch (1998).

De plus, l'ingénierie écologique nourrit la théorie en écologie fondamentale par des démarches expérimentales avec un besoin de passer constamment de l'empirisme à la théorie pour élaborer des systèmes écologiques durables, comme résumé par Jordan et al. (1987) : « la meilleure façon de comprendre un système est de tenter de le réassembler, de le réparer, de l'ajuster pour qu'il fonctionne correctement ». Par extension et comparaison, l'ingénierie

écologique devrait donc être « à l'écologie scientifique ce que la médecine est à la biologie humaine » (Gosselin 2008).

La notion d'écologie ingénieriale est alors parfois adoptée pour nommer la science sur laquelle l'ingénierie écologique repose (Rey et al. 2014), alors que le terme génie écologique est surtout désigné pour mentionner les techniques et les activités d'études (ou de suivis) lors de la réalisation d'opérations d'ingénierie écologique.

Cette ingénierie nécessite donc d'adopter une démarche holistique qui considère l'ensemble des compartiments, fonctions et services des écosystèmes, et qui exige une pluridisciplinarité dans les connaissances (écologie, hydrologie, biologie, pédologie etc.) et dans les compétences (politiciens, scientifiques, gestionnaires, maître d'œuvres etc.) des intervenants (Abbadie et al. 2011).

L'ingénierie écologique est donc une ingénierie qui partagerait seulement une partie des objectifs de la restauration écologique au sens strict, quand elle est par et pour le vivant en utilisant des ingénieurs de l'écosystème par exemple, mais qui s'inspire ou mime des processus écologiques (Figure I.4).

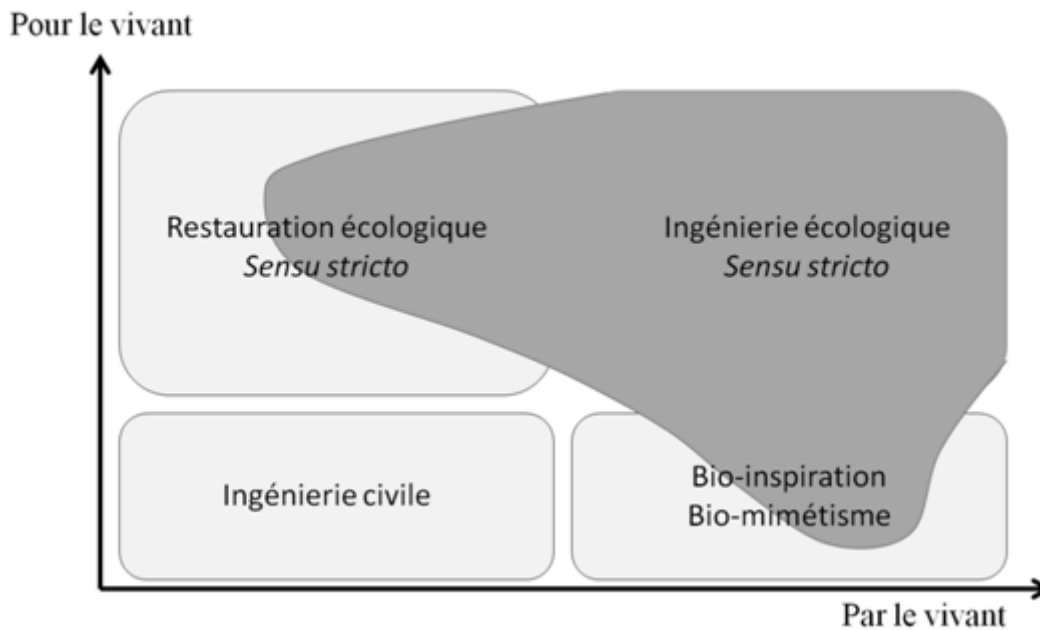


Figure I.4: Place de l'ingénierie écologique selon les gradients d'action par et pour le vivant (Jaunatre & Dutoit dans Dutoit 2014).

1.3.2.3. Les espèces « ingénieurs de l'écosystème »

Le concept d'organismes ingénieurs de l'écosystème a été défini pour la première fois par Jones et al. (1994, 1997), ce sont « *des organismes qui contrôlent directement ou indirectement la disponibilité des ressources d'autres organismes en causant des changements d'état physique du matériel biotique ou abiotique. De ce fait ils modifient, maintiennent ou créent des habitats* » (Jones et al. 1997). En faisant une analogie avec les activités humaines, cela a permis la reconnaissance du rôle, déjà connu, de certains organismes capables de modifier physiquement l'environnement non vivant *via* leur présence ou leurs activités, et d'affecter la disponibilité des ressources et les conditions abiotiques sur lesquels ils dépendent, ainsi que d'autres organismes (Buchman et al. 2007).

Les effets de ces ingénieurs ne sont pas forcément proportionnels à leur taille ou à leur densité. Les changements de l'environnement abiotique sont causés soit par la simple présence physique (tissus vivants ou morts) de l'ingénieur, qualifié d'autogénique, ou soit par les actions ou les échanges qu'entretient l'ingénieur, dit allogénique, avec son environnement (Lawton et al. 1995; Jones & al. 1996, 1997) (**Figure I.5**). A titre d'exemple, les arbres sont des ingénieurs autogéniques puisque qu'ils modifient leur environnement par leur propre structure physique constituant de véritables habitats et impactant la lumière, le vent ou encore la composition de la litière du sol. A l'inverse, les castors sont des ingénieurs allogéniques, qui en coupant du bois et construisant des barrages, influent sur la dynamique de l'eau et abritent des espèces de plantes, de poissons ou d'invertébrés sensibles à la lumière et/ou vivant en eau calme. Une espèce qui constitue directement une ressource (vivante ou morte) pour une autre espèce n'est pas considérée comme un ingénieur de l'écosystème. Ces changements des facteurs abiotiques entraînent ensuite des changements des facteurs biotiques, incluant l'ingénieur lui-même (Figure 5). Les actions sur les facteurs biotiques peuvent ensuite avoir des répercussions sur les organismes, les populations, les communautés, les écosystèmes et les paysages (Jones 1994, 1997; Wright & Jones, 2004; Jouquet et al. 2006; Gutiérrez & Jones 2008).

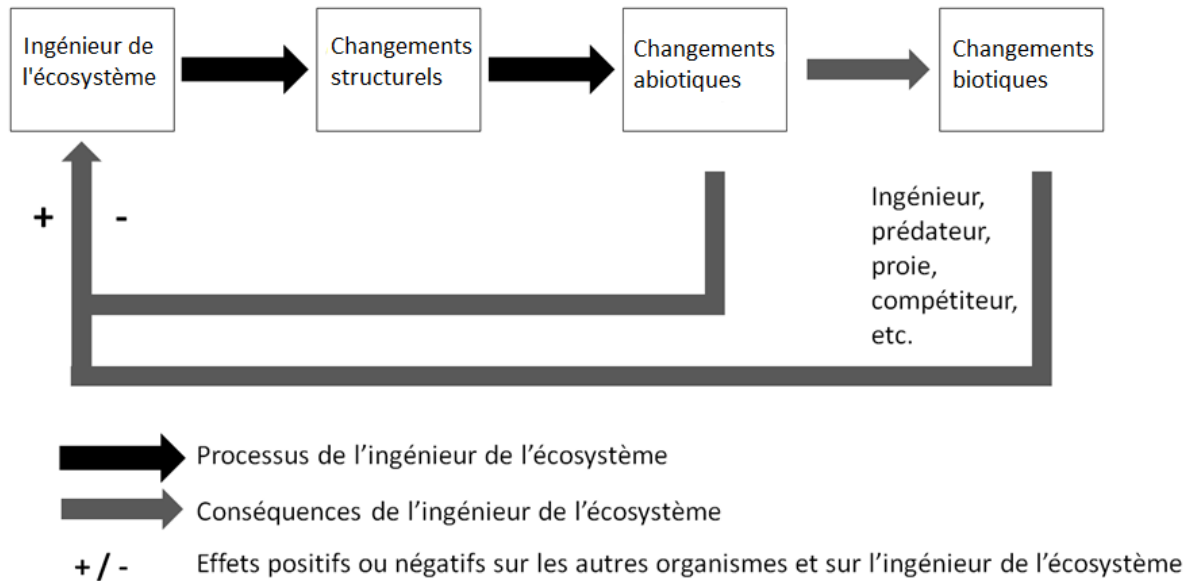


Figure 1.5: Schéma illustrant les processus engendrés par les ingénieurs de l'écosystème et leurs conséquences indirectes au sein d'un écosystème. Modifié de Gutiérrez & Jones (2008).

En entretenant des interactions étroites entre le milieu biotique et le milieu abiotique dans l'écosystème au sein duquel ils vivent, les ingénieurs de l'écosystème représentent ainsi de potentiels outils en ingénierie écologique puisque, par leur nature autonome, ils vont permettre de réduire les efforts à produire par le biais des activités anthropiques dans des opérations de restauration écologique. Cependant, ces interactions sont complexes et parfois difficiles à appréhender. A titre d'exemples, l'introduction de la coccinelle *Coccinella septempunctata* aux Etats-Unis, pour lutter contre les pucerons, a accéléré l'extinction du papillon *Everes comyuntas* et supprimé des espèces de coccinelles indigènes par la prédation ou la compétition (Elliott et al. 1996). L'introduction de la mangouste *Herpestes javanicus auropunctatus*, aux Antilles, pour lutter contre les rats et les serpents, a entraîné l'extinction de populations d'oiseaux et de lézards (Nellis & Evrards 1983). Il paraît alors nécessaire d'avoir une bonne connaissance de l'écosystème (fonctionnement, structure) et de l'ingénieur (biologie, écologie) avant de l'utiliser et/ou de l'introduire dans de telles projets pour éviter d'avoir des conséquences indirectes non prévues et non désirées comme dans de nombreux exemples en lutte biologique.

I.3.3. Interactions au sein des écosystèmes

I.3.3.1. Interactions biotiques et abiotiques

Un écosystème est défini comme une unité écologique formée d'un biotope (paramètres abiotiques) et d'une biocénose composée d'un groupe de différentes espèces en interrelations (nutrition, reproduction, prédation etc.) entre elles mais également avec leur environnement (air, eau, etc.) sur une échelle spatiale donnée. Ainsi, Odum (1953) a énoncé que « *l'écosystème constitue la plus grande unité fonctionnelle en écologie, puisqu'il inclut à la fois les organismes vivants et l'environnement abiotique (c'est-à-dire non vivant), chacun influençant les propriétés de l'autre, et les deux sont nécessaires au maintien de la vie telle qu'elle existe sur Terre* ». Le milieu vivant et le milieu non-vivant sont donc régis par des interactions qui peuvent être résumées en trois catégories: les interactions biotique/biotique (prédation, reproduction, etc.), les interactions biotique/abiotique (respiration, photosynthèse, nutrition, etc.) et les interactions abiotique/abiotique (évaporation, érosion, etc.).

Les interactions biotiques ont déjà été supposées avoir un rôle significatif pour gouverner la distribution des espèces à une échelle régionale voire continentale (Grime 1973; Davis et al. 1998; Pearson & Dawson 2003; Araújo & Luoto 2007). Cependant, celles-ci sont très souvent résumées *via* la notion de chaîne trophique (du grec *trophê* = se nourrir) ou chaîne alimentaire, représentée par un enchaînement linéaire d'organismes qui se consomment successivement (mangeur-mangé) (Paine 1980). Cette notion de chaîne trophique est plus évidente à percevoir lorsque les interactions entre les grands groupes d'organismes (producteurs primaires, herbivores, prédateurs) sont considérées, mais elle devient plus complexe lorsque les organismes généralistes y sont intégrés et lorsque la diversité biologique est prise en compte. En effet, ces chaînes trophiques se multiplient alors et s'entrecroisent pour former un ensemble de relations unidirectionnelles de type « mangeur-mangé » appelé réseau trophique (Paine 1980; Law & Morton 1996; Steiner & Leibold 2004; Ives et al. 2005; Corcket et al. 2013). Bien que ces réseaux trophiques permettent de faire des descriptions de réseaux écologiques, d'autres types d'interactions, comme les relations non-trophiques, doivent être prises en compte car elles jouent aussi un rôle important dans la structuration des communautés et dans le fonctionnement des écosystèmes (Paine 1980; Hay & Taylor 1985, Soluk 1993; Mulder et al. 2001; Berlow et al. 2004; Cardinale et al. 2002; Borer et al. 2005; Rixen & Mulder 2005; Tylianakis et al. 2008). En effet, ces interactions influencent la

biodiversité et les relations entre les espèces (Bruno et al. 2003; Strauss & Irwin 2004; Ohgushi 2008; Thompson et al. 2005). Les relations de mutualisme ou de compétition, la modification de l'habitat, la territorialité ou encore les comportements d'évitement en constituent des exemples. Pour illustrer, la facilitation est une interaction positive qui engendre une amélioration de la survie, de la croissance et/ou de la reproduction d'un individu dans une communauté (Glenn-Lewin & Van der Maarel 1992; Humphrey & Schupp 2003). Elle permet donc d'augmenter la biomasse totale et la diversité spécifique, mais également jouer un rôle dans la réponse des écosystèmes face aux perturbations (Glenn-Lewin & Van der Maarel 1992; Kefi et al. 2010).

Le rôle des ingénieurs de l'écosystème constitue alors un modèle d'étude intéressant pour approfondir les connaissances sur ce type d'interactions (Gutiérrez & Jones 2008). L'étude de ces interactions non-trophiques permet en effet de connaître plus précisément le rôle de chaque espèce au sein d'une communauté. Par exemple, la suppression de certaines espèces peut avoir un impact significatif sur l'ensemble de la communauté (Power et al. 1996). Les relations non-trophiques, bien que peu connues, doivent donc maintenant être intégrées dans la théorie de l'écologie fondamentale, et encore plus face au changement global (Borer et al. 2002, Bruno et al. 2003, Berlow et al. 2004; Goudard & Loreau 2008). Les écologistes ont déjà commencé à étudier ce type de relations à travers des travaux portant sur les relations plantes-herbivores, plantes-pollinisateurs, parasites-hôtes ou encore plantes-fourmis. Cependant, les interactions non-trophiques de type insectes-plantes sont encore peu étudiées comparées à d'autres interactions comme celles entre les proies et les prédateurs (Ohgushi 2005).

Les différents types d'interactions agissent également simultanément dans les écosystèmes (Callaway & Walker 1997). Par exemple, les interactions biotiques/abiotiques, en concomitance avec les relations biotiques/biotiques, jouent des rôles prépondérants dans l'établissement des communautés, tels que démontrés par les différents modèles utilisés pour décrire l'assemblage des communautés dans un écosystème par le modèle des filtres (Southwood 1977; Poff 1997; Keddy 1992; Fattorini & Halle 2004; Lortie et al. 2004; Guisan & Rahbek 2011).

1.3.3.2. Interactions biotiques et abiotiques entre le sol et la végétation

Le compartiment épigé (aérien) et le compartiment endogé (souterrain) des écosystèmes entretiennent des interactions déterminantes dans la structure et le fonctionnement des écosystèmes (Wardle et al. 2004). Parmi ces interactions, celles entre le sol et les plantes sont majeures. Leur extrême complexité entraîne cependant des difficultés pour les identifier et pour les mesurer à des échelles spatiales et temporelles communes.

Les plantes jouent par exemple des rôles importants dans la régulation du processus de décomposition (Swift et al. 1979), et dans la dynamique des matières organiques du sol et des éléments nutritifs (Mellilo et al. 1982; Vitousek et al. 1987; Vinton & Burke 1995). La diversité végétale peut influencer indirectement le cycle du carbone et de l'azote en influant sur les microorganismes du sol (Bardgett & Shine 1999; Wardle et al. 1999; Stephan et al. 2000; Zak et al. 2003; Orwin & Wardle 2005) ; mais les microorganismes du sol peuvent également affecter la productivité et la diversité des plantes en modifiant la mise à disposition des éléments nutritifs assimilables et la structure du sol (Bradford et al. 2002; Reynolds et al. 2003; Van der Heijden et al. 2008).

Les interactions biotiques et abiotiques entre le sol et les plantes peuvent ainsi réguler la structure et le fonctionnement des assemblages des espèces de plantes (Bonkowski et al. 2000; De Deyn et al. 2003). En effet, la plupart des propriétés du sol influencées par les plantes, comme la disponibilité des éléments nutritifs, sont également importantes pour assurer leur croissance et leur survie (Van Breeman & Finzi 1998).

Ainsi, il est intéressant de prendre en compte les interactions entre le sol et les plantes dans des projets de restauration écologique. En plus d'approfondir les connaissances théoriques, cela permettrait d'expliquer la raison de l'échec de certains projets ou d'évaluer si l'écosystème restauré est sur la trajectoire souhaitée (Marrs et al. 2002; Piqueray & Mahy 2009).

1.3.3.3. Interactions biotiques plantes-fourmis

Les insectes représentent la classe d'animaux la plus vaste de la planète en terme de nombre d'individus, de richesse spécifique et de groupes fonctionnels (Stong et al. 1984; LaSalle & Gauld 1993). Stong et al. (1984) ont également estimé que les insectes représentaient plus de la moitié de toutes les espèces vivantes, l'autre moitié étant les plantes pour un quart et les vertébrés pour l'autre quart. Quatre ordres (coléoptères, diptères, lépidoptères, hyménoptères) constituent également quatre principaux groupes fonctionnels qui sont les herbivores, les pollinisateurs, les parasitoïdes et les prédateurs (Stong et al. 1984; LaSalle & Gauld 1993). Les insectes peuvent alors influencer la structure des communautés végétales *via* leurs interactions, mais la réciproque est également vraie. Par exemple, certaines plantes carnivores peuvent piéger les insectes pour les consommer, et ainsi se procurer de l'azote et du phosphore pour leur développement et leur survie (Ellison & Gotelli 2001). L'herbivorie exercée par les insectes peut modifier les interactions de compétition et le succès reproducteur des espèces végétales (Ritchie & Olf 1999). D'autres interactions de type mutualiste peuvent également être observées telles que la pollinisation et la dispersion des graines par les insectes (Burd 1994).

Parmi ces insectes, les fourmis sont souvent qualifiées d'ingénieurs de l'écosystème puisqu'elles entretiennent une relation étroite avec le fonctionnement global de leur écosystème du fait de leur richesse en espèces mais surtout de leurs actions mécaniques et chimiques (Folgarait 1998 ; Jouquet et al. 2006 ; Wright & Jones 2006). De plus, elles sont présentes dans de nombreuses régions et habitats à travers la planète. Grâce à leur capacité à se déplacer dans le sol et à construire des structures biogènes (fourmilières, galeries, etc), les fourmis occasionnent des changements dans la nature organique et minérale du sol (Horvitz & Schemske 1986; Lavelle et al. 1997; Barros et al. 2001) qui peuvent modifier la composition et l'abondance des espèces de plantes à la surface du sol (Woodell 1974), et parfois même augmenter leur richesse spécifique (Folgarait 1998, Boulton & Amberman 2006). En général, la croissance des graines est également davantage favorisée sur un sol proche d'une fourmilière que sur un sol sans fourmilière (Folgarait 1998). Les fourmis peuvent donc être considérées comme des ingénieurs des écosystèmes allogéniques.

Les fourmis sont également reconnues pour être des agents de dispersion importants des graines dans les écosystèmes terrestres (Stiles 1980; Wilson 1992) notamment au travers de la

myrmécochorie, où il y a une interaction mutualiste entre les fourmis et les plantes (Sernander 1906; Howe & Smallwood 1982; Beattie & Hughes 2002), ou bien au travers de la dyszoochorie (Hobbs 1985; Rissing 1986; Arnan et al. 2010) où des fourmis moissonneuses peuvent transporter puis abandonner accidentellement ou pas de petites quantités de graines pendant leur activité d'alimentation, compensant ainsi la prédation exercée sur les propagules des plantes. Les fourmis, et en particulier les fourmis moissonneuses, peuvent ainsi avoir des effets directs et indirects considérables sur la régénération et les densités de population de plantes (Brown & Humain 1997; DeFalco et al. 2009; Arnan et al. 2010), avec un rôle important notamment dans la région méditerranéenne où les fourmis du genre *Messor* sont les espèces de fourmis granivores les plus abondantes (Díaz 1991; Cerdà & Retana 1994; Azcárate & Peco 2007).

Il paraît donc intéressant d'étudier les interactions entre les fourmis moissonneuses et les plantes pour éventuellement les utiliser ultérieurement dans des projets d'ingénierie écologique afin d'aider à la dispersion et à la redistribution des graines des espèces végétales souhaitées.

1.3.4. Site Atelier - La plaine de La Crau

1.3.4.1. Origine et Localisation géographique

Notre site atelier correspond à la plaine de La Crau, écosystème steppique situé dans le sud-est de la France, à environ 50 kilomètres au nord-est de Marseille (43°30'57.11''N, 4°52'21.72''E). Elle est délimitée au Nord par la chaîne des Alpilles, à l'Est par l'étang de Berre, au Sud par la mer Méditerranée et à l'Ouest par la Camargue. Son aire géographique correspond à l'ancien lit fossilisé de la Durance qui a été généré par des dépôts charriés depuis la partie méridionale française de la chaîne des Alpes à partir du Quaternaire jusqu'au stade de réduction du seuil d'Orgon au cours de la période du Pléistocène (Colomb & Roux 1986; Molliex et al. 2013). Les différentes aires géographiques correspondent ainsi à différentes périodes et origines de dépôts de galets siliceux et calcaires au cours de sa formation. La « vieille Crau », correspondant principalement à la Crau d'Arles, est ainsi issue de dépôts datant du début de la période du Pléistocène (- 2 000 000 BP à - 600 000 BP) ; la « jeune Crau », formant la Crau de Luquier, est due à des dépôts datant de la seconde partie

du Pléistocène (- 600 000 BP à - 100 000 BP); et enfin « le centre Crau », délimitant la Crau de Miramas, a été créée par des dépôts principalement datant de la période du Würm (- 100 000 BP à - 10 000 BP) (Colomb & Roux 1986; Molliex et al. 2013) (**Figure I.6**).

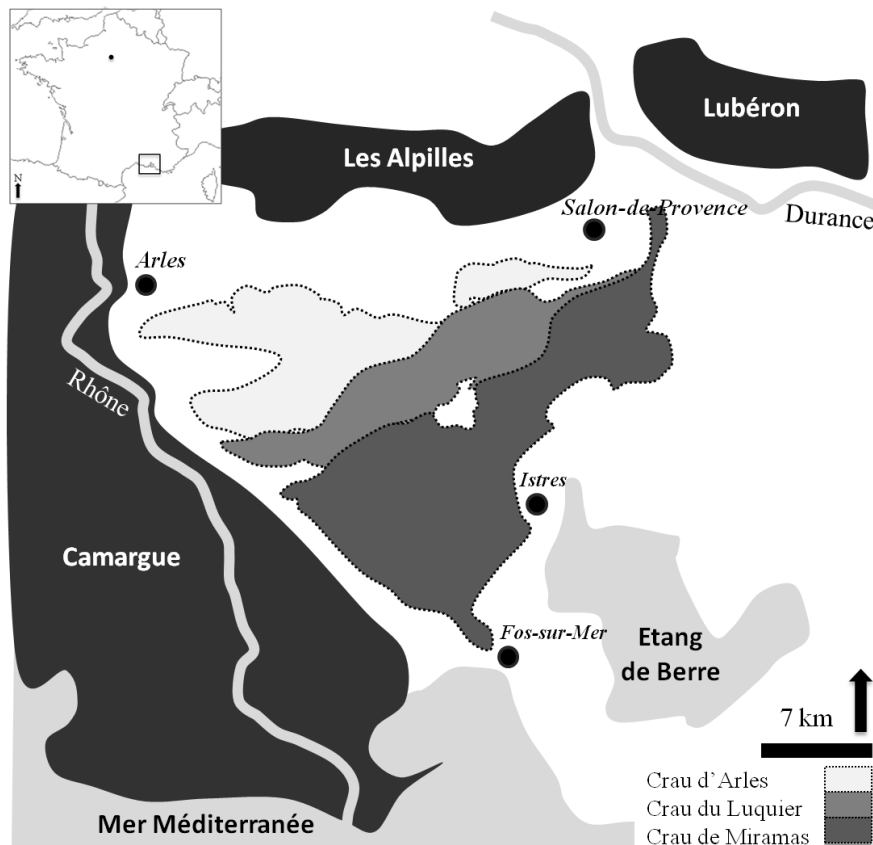


Figure I.6: Localisation géographique de la plaine de La Crau en France et Localisation de ses aires géologiques (Crau d'Arles, Crau de Luquier, Crau de Miramas).

Les travaux réalisés, au cours de cette thèse, ont tous été menés en centre Crau, c'est-à-dire sur la Crau de Miramas.

1.3.4.2. Caractéristiques de la plaine de La Crau

La plaine de La Crau est un écosystème de type steppique représentatif des pelouses sèches méditerranéennes, constituant un avant-poste des steppes arides de l'Afrique du Nord (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Römermann et al. 2005; Tatin et al. 2013). Sa topographie est extrêmement plate, avec la surface du sol recouverte à plus de 50 % par des galets siliceux (Bourelly et al. 1983). Cette couverture en galets permet de créer un microclimat protégeant le sol, et les organismes qui y vivent, des fortes températures (60 °C

en surface et 30 °C sous les galets en période estivale). Le sol est un sol rouge méditerranéen où l'horizon pédologique de surface a été éolisé au cours du Tardiglaciaire, correspondant à la période du Würm. Il s'agit alors d'un FERSIALSOL leptique tronqué (AFES 2008). La description de ce type de sol sera détaillée dans le matériel et méthodes du **chapitre 1**.

L'interaction entre deux facteurs abiotiques, le sol et le climat, entretient un régime de stress contribuant à la création et au maintien de la végétation steppique (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Buisson & Dutoit 2006). En effet, l'histoire géologique de la plaine de la Crau a induit un sol dans lequel un conglomérat calcaire imperméable, composé de galets siliceux inclus dans une matrice de carbonates de calcium, empêche le système racinaire de la végétation d'atteindre l'eau de la nappe phréatique. Ce sol particulier contribue alors à la sécheresse édaphique de cet écosystème (Römermann et al. 2005). D'autant plus que le climat est de type méditerranéen, c'est-à-dire sec et venteux (Devaux et al. 1983). Ce régime de stress est également combiné avec un régime de perturbations causées par une activité pastorale traditionnelle pendant plus de 2000 ans (Cherel 1988, Badan et al. 1995, Henry et al. 2010).

Le résultat de ces interactions, entre ce régime de stress et ce régime de perturbations, a entraîné la formation et le maintien d'une communauté de plantes xériques unique en France de par sa richesse spécifique, sa composition, sa structure et sa dynamique (Devaux et al. 1983; Dutoit et al. 2011). Les détails des caractéristiques de cette communauté végétale seront décrits dans les matériels et méthodes des **chapitres 2, 3 et 4**.

Le terme de « pseudo-steppe » est parfois employé car celui de « steppe » est généralement réservé aux pelouses où le maintien de la végétation steppique est uniquement dû aux conditions climatiques, avec des précipitations annuelles comprises entre 100 mm et 400 mm (Le Houérou 2001). Or, en Crau, les précipitations annuelles moyennes sont de l'ordre de 500 mm à 600 mm (Devaux et al. 1983; Jaunatre 2012). De plus, lorsque d'autres facteurs, tels que le pâturage, ont une importance égale aux facteurs climatiques sur l'origine de ce type d'écosystème, le mot « pseudo-steppe » est utilisé. Cependant, comme le mot « steppe » a largement été emprunté dans la littérature relative à la plaine de la Crau, et que le pâturage ovin correspond à l'utilisation historique et traditionnelle des terres (Devaux et al. 1983), dans ce manuscrit, nous utiliserons donc préférentiellement le mot « steppe ».

La plaine de la Crau abrite également une faune remarquable. En effet, de nombreux oiseaux steppiques y vivent, tels que le ganga cata (*Pterocles alcata*), l'outarde canepetière (*Tetrax tetrax*), le faucon crécerellette (*Falco naumanni*) et l'oedicnème criard (*Burhinus oediconemus*) (Cheylan et al. 1983). De plus, la plus grande population de France en lézards ocellés (*Lacerta lepida*) y est observée; ainsi qu'une espèce d'insecte endémique de la Crau, le criquet de Crau (*Prionotropis hystrix rhodanica*) et une espèce d'insecte endémique de la Basse-Provence, le bupreste de Crau (*Acmaeoderella cyanipennis perotti*) (Tatin et al. 2013)

Une myrmécofaune relativement importante y est aussi présente. Cerdan et al. (1986) y a ainsi dénombré 22 espèces de fourmis qui occupaient 26 000 nids par hectare sur la Crau de Miramas. Cette richesse en espèce a ensuite été confirmée dans une étude très récente (Tanet 2014). Parmi ces espèces, seulement deux sont strictement granivores et appartiennent au genre *Messor*: *Messor barbarus* et *Messor bouvieri*. La fourmi *Messor barbarus* est celle qui présente les meilleures caractéristiques pour permettre la dispersion des graines (**Encadré 1**).

Encadré 1: *Messor barbarus*, principale fourmi moissonneuse de la plaine de La Crau

Messor barbarus (Linnaeus 1767) (Hymenoptera: Formicidae) est la fourmi moissonneuse la plus abondante, en nids et en individus, dans la plaine de la Crau (Cerdan 1989; Cerdan et al. 1990; Tanet 2014). Elle est d'ailleurs très commune dans toute la région méditerranéenne (Bernard 1968). Dans les écosystèmes herbacés méditerranéens, bien qu'elle soit considérée comme le principal prédateur de graines (López et al. 1983; Cerdá & Retana 1994; Detrain & Pasteels 2000; Azcárate and Peco 2003; Schöning et al. 2004), elle représente également un agent important pour leur dispersion (Detrain & Tasse 2000; Azcárate & Peco 2007; Arnan et al. 2010). En effet, au cours de leur activité de récolte, les ouvrières peuvent perdre, abandonner ou rejeter de petites quantités de graines entre la zone d'alimentation et leur nid, et notamment *via* les dépotoirs situés autour de l'entrée de la colonie. Certaines de ces graines conservent ensuite leur capacité de germination dans les dépotoirs pendant deux ans quand ceux-ci se maintiennent (Bonte et al. 2003).

Une colonie de *M. barbarus*, comportant en moyenne 8000 ouvrières, forme des pistes de récolte sur le sol pouvant atteindre une longueur de 30 mètres. De plus, par un polymorphisme important, tous les intermédiaires sont représentés entre les ouvrières « minor » et « majors »

(3,4 mm à 12,3 mm). Les ouvrières « major », possèdent de grosses mandibules puissantes qui confèrent à cette caste la capacité de transporter et de broyer des graines de tailles et de formes diverses (Cerdan 1989; Detrain et al. 1996). De plus, il s'agit d'une espèce granivore généraliste qui récolte, en grande quantité, les graines qui sont présentes en grande abondance (Detrain et al. 1996).

M. barbarus réunit donc les critères permettant de maximiser la dispersion des graines. Elle peut alors représenter un partenaire potentiel en ingénierie écologique par ses rôles d'ingénieurs de l'écosystème. Une étude, s'intéressant à sa recolonisation dans des parcelles agricoles abandonnées en Crau, a montré que cette espèce avait une forte capacité de recolonisation; et que son abondance était positivement corrélée au pourcentage de recouvrement en graminées (Tanet 2014).

1.3.4.3. Enjeux en conservation biologique, en restauration écologique et en Ingénierie écologique

Comme la plupart des pelouses sèches, la plaine de la Crau a subi un fort déclin de sa surface qui s'est accentué au cours du 20^e siècle. En effet, il y a 10 000 ans, sa surface initiale était d'environ selon les estimations entre 45 000 et 55 000 hectares. Celle-ci a ensuite été drastiquement réduite pour n'en constituer plus qu'approximativement 11 500 hectares au début des années 2000. La plaine de la Crau a donc perdu presque 80% de sa surface originelle. Les causes principales de la dégradation et de la destruction de ces étendues steppiques sont les changements d'usages des sols, avec la conversion de grandes parcelles en terres agricoles, industrielles et militaires.

A partir du 16^e siècle, la mise en place d'un système d'irrigation relié au canal de Craponne a permis de transformer des parcelles steppiques en prairies de fauches intensives (Molinier & Talon 1950; Römermann et al. 2005). Après une phase de viticulture au début du 19^e siècle (Stouff 1986), le maraîchage s'est développé dans les années 1970-1980 pour être ensuite quasiment abandonné et remplacé, dès le début des années 1990, par une arboriculture intensive, encore en pleine activité actuellement. En parallèle, au début du 20^e siècle, la dégradation et la destruction s'est accentuée avec l'installation de carrières, d'industries et de structures militaires.

Le paysage steppique, autrefois homogène, a donc été réduit et fragmenté (Deverre 1996; Gaignard 2003; Buisson & Dutoit 2004). De plus, la prolifération de certaines espèces végétales indigènes, telles que *Rubus sp.*, participe également à la fermeture du milieu et à la transformation de l'écosystème steppique (Masson et al. 2014).

A partir de l'étude de Cheylan (1975), la prise en considération de l'unicité de cet écosystème, et de ses menaces a débuté (Devaux et al. 1983). Diverses décisions, pour la conservation biologique, ont alors ensuite été prises. En 1990, 11 816 ha ont ainsi été désignés en Zone de Protection Spéciale (Directive Habitat 79/409/CEE 1979) correspondant aux parcelles de steppes relictuelles. En 1999, un plan de gestion Natura 2000 a été mis en place. Puis, en 2001, il y a eu la création d'une Réserve Naturelle Nationale qui a permis la mise en protection de 7 411 hectares. Cependant, la conservation réglementaire est inefficace pour empêcher un accident technologique telle une fuite d'hydrocarbures survenant accidentellement suite à la rupture de canalisations mises en place bien avant la création de la réserve (**Encadré 2**).

Encadré 2: Importance du transport pétrolier par canalisation enterrée en France et dans la plaine de La Crau.

99 % des produits pétroliers (brut et produits finis) sont importés en France par voie maritime essentiellement *via* les ports du Havre, de Saint-Nazaire, de Dunkerque, de Fos-sur-Mer et de Lavera. Les dépôts de pétrole brut situés dans les ports sont reliés aux réseaux de pipelines qui alimentent en continu les raffineries. A la sortie des raffineries, 61 % sont transportés par pipelines, 22 % par les voies navigables, 12 % par les routes et 5 % par le réseau ferroviaires, jusqu'aux dépôts de distribution (Industrie pétrolière et gazière 2010). Ainsi, en lien avec la création du port pétrolier de Fos-sur-Mer dans les années 60, la plaine de La Crau est maintenant traversée par 150 km de pipelines (oléoducs, gazoducs, saumoducs), dont 34 km sous la Réserve Naturelle Nationale (Wolff 2013).

La mise en place de ces canalisations impacte durablement les communautés végétales et les propriétés du sol, comme cela a été démontré par le travail de thèse de Coiffait-Gombault C. (2011). De plus, des accidents technologiques ponctuels peuvent avoir lieu à l'image de la fuite d'hydrocarbures survenue le 07 août 2009 détruisant une surface d'environ 5 hectares (voir plus en détails sur l'historique de l'accident dans Wolff 2013).

En complément de ces mesures conservatoires, les recherches en restauration écologique ont pris leur essor dans la plaine de Crau au début des années 2000 (Buisson et al. 2006; Coiffait-Gombault 2011; Jaunatre 2012). Elles ont notamment permis de mettre en évidence la faible régénération spontanée de cet écosystème steppique en ce qui concerne les communautés végétales (Buisson 2005) et de son entomofaune (Fadda 2006; Alignan en préparation). Ces travaux ont également démontré l'importance de la restauration du milieu abiotique (Buisson 2005; Coiffait-Gombault 2011; Jaunatre 2012) et des processus de dispersion des espèces (Coiffait-Gombault 2011; Jaunatre 2012) dans la conduite d'opérations de restauration écologique. Cependant, à l'heure actuelle, et à l'image du bilan des opérations de restauration écologique renseignées dans le monde (Benayas et al. 2009) aucune technique de restauration écologique n'a réussi une restauration au sens strict de l'intégrité de l'écosystème steppique.

La question du compromis entre l'efficacité de ces méthodes (faisant souvent appel à l'ingénierie civile), le coût environnemental induit (émissions de polluants, consommation de ressources non-renouvelables etc.) et le coût financier se pose. Les recherches actuelles se tournent alors de plus en plus vers le développement de nouvelles approches, durables et moins coûteuses, en ingénierie écologique dont ce travail souhaite être une contribution significative

PARTIE 1

**Évaluation de la réussite d'une opération de restauration
écologique effectuée
par de l'ingénierie civile « écologisée »**

TRANSITION VERS LE CHAPITRE 1

Le **chapitre 1** étudiera comment les paramètres abiotiques et biotiques du compartiment du sol se régénèrent sur notre site d'étude après un transfert de sol massif (70 000 tonnes) par l'intermédiaire d'une ingénierie civile « écologisée » (**Figure T.1**) ?

Le bon rétablissement de ces paramètres est une première étape à franchir pour assurer une restauration de l'écosystème steppique cible sur le long terme (Keddy 1992; Zobel 1997; Fattorinni et Halle 2004; Lortie et al. 2004; Guisan & Rahbek 2011; Jaunatre 2012). Pour répondre à cette première question, les paramètres physico-chimiques, la dynamique des matières organiques et la biomasse microbienne du sol seront analysés et comparés entre quatre traitements *in situ* testant différents niveaux de complexité de reconstitution de l'organisation verticale du sol. Ces traitements seront ensuite tous comparés au sol de la steppe de référence restée en place.

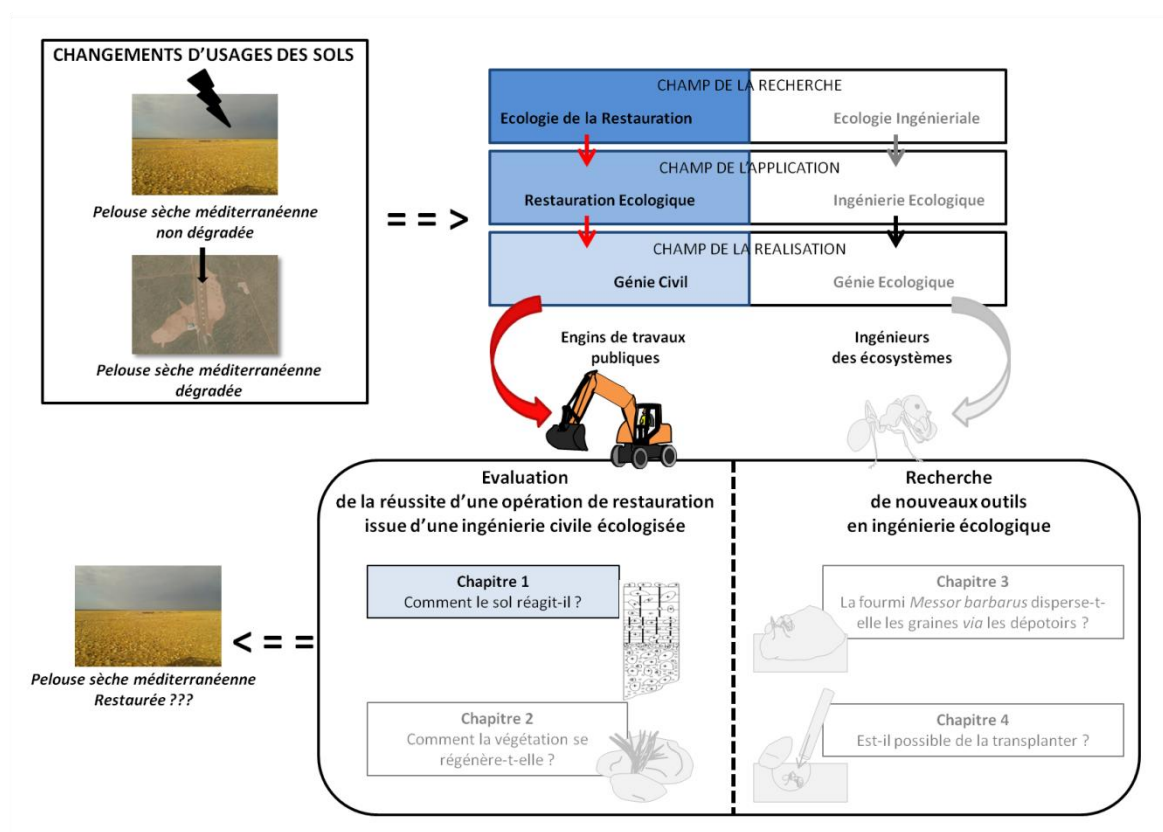


Figure T.1: Localisation du chapitre 1 dans l'organisation générale de la thèse



Profil de sol dans l'écosystème steppique de référence
(Crédit photo: Thierry Dutoit-IMBE)



Profil de sol dans la zone de transfert de l'horizon (B) en surface
(Crédit photo: Armin Bischoff - IMBE)

CHAPITRE 1

**Restauration écologique par transfert de sol:
Impacts sur les matières organiques du sol
et sur les activités microbiennes.**

CHAPTER 1

*Ecological restoration by soil transfer:
Impacts on soil organic matter and microbial activities.*

Adeline Bulot, Kevin Potard, Annette Bérard & Thierry Dutoit

(Soumission prochaine dans *Restoration Ecology*)

Résumé du Chapitre 1

Le transfert du sol est une technique souvent utilisée pour restaurer les écosystèmes dégradés, mais peu de travaux se sont intéressés à l'impact de ces transferts sur les caractéristiques pédologiques et physico-chimiques, l'activité microbienne, ou encore la composition de la matière organique du sol. Dans le cadre de la restauration d'un écosystème steppique (la plaine de La Crau, Sud-Est de la France), nous avons mesuré l'impact de différents traitements de transfert de sols (reconstitution verticale et ordonnée des différents horizons pédologiques: horizon organique A₁ – horizon (B) – cailloutis de Crau C) sur ces paramètres entre 2011 et 2013. Nos résultats montrent que lorsque le sol est rapidement transféré, sans stockage et au bon moment (printemps), et que l'organisation verticale des trois principaux horizons pédologiques a été reconstituée, peu de différences significatives sont mesurées entre l'horizon organique A₁ transféré et le sol de l'écosystème de référence en matière d'éléments physiques et chimiques, et d'activité microbienne. En revanche, des différences significatives sont relevées pour les traitements où l'horizon organique A₁ n'est pas transféré. Après 3 années, dans le traitement où cet horizon est reconstitué, la teneur en matières organiques particulières reste sensiblement inférieure à celle du sol de la steppe de référence en dépit d'un taux de minéralisation similaire. De plus, la description des profils de sol révèlent de fortes différences dans l'organisation globale du sol entre tous les traitements de transfert de sol et le sol non perturbé de la steppe de référence. En particulier, l'activité biologique est plus faible et une absence d'échange entre les horizons pédologiques est mesurée. Ceci suggère que même quand il est mené de manière efficace, le transfert du sol influe sur l'évolution future du site restauré.

Mots clés: Pelouse sèche méditerranéenne; reconstruction de sol; régénération; paramètres physico-chimiques; matières organiques particulières; minéralisation; biomasse microbienne; profil de sol.

Abstract of Chapter 1

Soil transfer has often been used to restore degraded ecosystems, but little examination has been made of how these transfers impact the soil's physico-chemical and pedological characteristics, microbial activity or organic matter composition. During restoration of a steppe ecosystem (the plain of La Crau, south-eastern France), between 2011 and 2013, we measured the impact of different soil transfer treatments (vertical and orderly reconstitution of all the different soil horizons: topsoil - subsoil - altered bedrock) on these parameters. Our results show that when soil is transferred quickly, without storage and at the right time (spring), and respecting the vertical organisation of the three main soil horizons, there is little significant difference from the topsoil of the reference ecosystem in terms of physico-chemical parameters and microbial activity. Conversely, significant differences are revealed for treatments where the topsoil is not replaced at the soil surface. Even three years later, in the treatment with the transferred topsoil, Particulate Organic Matter (POM) content remains significantly lower than that of the steppe reference soil, despite their similar POM mineralisation. Moreover, soil profile descriptions reveal continuing strong differences in overall organisation between the transferred soil and the undisturbed soil of the reference steppe: in particular, lower biological activity and an absence of exchange between pedological horizons. This suggests that even when efficiently conducted, soil transfer affects the future evolution of the restored site.

Keywords: Mediterranean dry grassland; soil reconstruction; recovery; physico-chemical parameters; particulate organic matter; mineralisation; microbial biomass; soil profile.

1.1. Introduction

In ecological restoration, it is important to take into account both vegetation and soil when restoring ecosystems (Callaham et al. 2008; Heneghan et al. 2008). This is because the two interact, and because each may respond differently after disturbance and/or after restoration. However, few papers addressing the improvement of ecosystem restoration take both these compartments into consideration (Marrs et al. 2002; Walker et al. 2004). Most focus only on the vegetation compartment (Bullock et al. 1998; Jaunatre et al. 2014a; Bulot et al. 2014a) or on the soil compartment (Huot et al 2012; Mchergui 2014), due to the extreme complexity of soil-plant interactions. Moreover, it is difficult to identify all these interactions and to measure how they are expressed at different spatial and temporal scales.

Vegetation can directly influence soil organic matter and nutrient cycle dynamics (Mellilo et al. 1982; Vitousek et al. 1987; Vinton & Burke 1995). For example, in arid and semi-arid areas, soil nutrient distribution can be strongly determined by the pattern of plant cover and bare-soil microsites (Charley & West 1977; Bolton et al. 1990; Schlesinger et al. 1990). Furthermore, in dry shrub and grassland ecosystems, the canopies of individual plants can concentrate plant biomass in soil, thereby forming “islands of soil fertility” (Charley & West 1977; Schlesinger & Pilmans 1998). Plant diversity can also indirectly influence carbon and nitrogen cycles by impacting soil microorganisms (Bardgett & Shine 1999; Wardle et al. 1999; Stephan et al. 2000; Zak et al. 2003; Orwin & Wardle 2005).

Most of the soil properties affected by plants, such as nutrient ability, are also vital to plant growth and survival (Van Breeman & Finzi 1998). Soil microbial communities play a critical role in plant litter decomposition, carbon sequestration, nutrient cycling and soil structure (Bell et al. 2005). In addition, soil microbial communities contribute to nutrient mobilisation (Reynolds et al. 2003) and to plant diversity and productivity (Van der Heijden et al. 2008). Soil microorganisms are good indicators of the organic quality of soil (Baize 2000), as well as being very sensitive to environmental and anthropological change. Loss of microbial functions is an indicator of decreased soil quality (Chapman et al. 2007).

Thus, taking these interactions between soil and plants into consideration should lead to a better understanding of why certain restoration operations fail, and should enable us to determine whether a restored ecosystem is on the right track (Marrs et al. 2002; Piqueray & Mahy 2009). Restoring adequate fertility, i.e. that of the desired reference ecosystem, appears

an important prerequisite for the re-establishment of a desired plant species-rich ecosystem. Over time, soils tend to become impoverished naturally, through the leaching of soil nutrients, but this occurs very slowly (Marrs et al. 1991). Various restoration techniques have been developed to accelerate the reduction of soil fertility (Marrs et al. 2002; Walker et al. 2004). Removing the topsoil, where soil nutrient concentration is highest, is probably the most effective route to the desired poor fertility level (Jaunatre et al. 2014a), often leading to greatly reduced nitrogen and phosphorous concentrations and decreased primary productivity (Hopkins et al. 1999; Walker et al. 2004). At the same time, more successful establishment of target species is observed, even when species richness does not increase in the short term (Hopkins et al. 1999; Kiehl & Pfadenhauer 2007; Jaunatre et al. 2014a).

Soil transfer is another method where short-term plant recovery results have been encouraging, in terms of composition, species richness and plant diversity (Worthington & Helliwell 1987; Pywell et al. 1995; Bullock 1998; Vécrin & Muller 2003; Kiehl et al. 2010; Jaunatre et al. 2014a; Bulot et al. 2014a). In soil transfer, the poor fertility level of removed and transferred soil is maintained. Soil material and its native biota are translocated from a donor site to a receiver site, either by applying in bulk, by spreading or in turf (whole or fragmented). This restoration technique ensures the transfer of soil physico-chemical elements (pH, nutrient content, particle size distribution, etc.), soil organic matter (litter, humus, etc.), pedofauna, soil flora (seeds, algae, etc.) and microbial biomass (bacterial and fungal) (Clewell & Aronson 2013). There can, however, be negative impacts on soil properties, leading for example to colonisation by non-target species such as ruderal or invasive plant species. These non-target species are often promoted by the release of nitrates resulting from the accelerated oxidation of organic matter (Bruelheide & Flintrop 2000; Piqueray & Mahy 2009) induced by soil transfer. Before transfer, the soil is often stored in stockpiles, and these soil stockpiles appear to promote the recruitment of non-target species, such as the wide variety of anemochorous species or non-native species. Moreover, soil stockpiles may also cause loss of seed or vegetation propagule viability (Bellairs 1993). The storage and transfer of large quantities of soil therefore has an impact on its properties, its quality and the life it supports. For example, earthworms' survival is limited in soil stockpiles because of lack of soil structure, changes in organic matter content, unfavourable moisture levels and very low pH (Pižl 2001; Curry 2004). In addition, stockpiles compact the soil, so that its porosity decreases (Whalley et al. 1995; Chan & Barchia 2007); they also affect microbial activity (Johnson et al. 1991). Moreover, translocated soil may carry a higher nutrient content due to the slight

disturbance of soil structure (Bruelheide & Flintrop 2000) and slight compaction occurring during transfer (Trueman et al. 2007).

Although soil transfer is not a sustainable restoration process, because soil is a non-renewable resource (Commission of the European Communities 2002), direct transfer or hauling may be an alternative. Here, collected soil is immediately transported and placed on the site being restored, thus ensuring better conservation of soil properties, structure or microbial biomass (DePuit 1984; Pfannenstiel & Wendt 1984; Andersen et al. 2008). However, all soil transfer involves civil engineering methods (use of worksite earth moving equipment, transport trucks, etc.), in addition to hydrocarbon consumption, pollutant emission (CO₂, NO_x, etc.). It also requires the destruction of a donor site in order to restore another area. Soil transfer should therefore be used as a last resort, when *in situ* conservation and other restoration processes prove ineffective (McLean 2003).

The soil compartment has a buffer capacity, implying a slow response to disturbance for some pedological parameters (coarse elements, organic stable or passive pools, etc.) (Parr & Papendick 1997). However, the response to certain characteristics can be rapid (microbial activity, organic labile pools, etc.) (Smith et al. 1993; Balabane & Balesdent 1995; Haynes 1999; DeGryze et al. 2004; Schils et al. 2008). This is why all these indicators need to be used to measure overall “soil quality” (Dick et al. 1997; Haynes 2000; Pascual et al. 2000; Franzluebbers 2002; Cristofoli et al. 2010), especially in operations likely to impact quality, such as soil transfer. Referring to all the indicators can also improve understanding of soil multifunctionality during an ecological restoration program.

Mineral nutrition of plants, circulation and water retention, as well as the creation of a habitat for soil organisms via soil structure, are only some of the many roles that soil organic matter plays (Stengel et al. 2009). Organic matter impacts not only the current functioning of the soil but also the future functioning of the ecosystem. Organic matter can be divided into two different pools based on their speed of renewal within the soil: the labile pool, which reacts quickly (from several months to one year) and influences current soil functioning; and the stable pool, which is renewed more slowly (from several years to thousands of years) and has a significant impact on long-term soil functioning (Haynes 2000; Gregorich et al. 1994; Cambardella & Elliott 1992; Boone 1994). The labile pool has already been shown to respond quickly to changes in agricultural practices (Balabane & Balesdent 1995; Balesdent 1996 and

1998; Haynes & Beare 1996; Haynes 1999). Thus, organic matter can be considered as a possible indicator to monitor the success of soil function restoration in formerly degraded or destroyed ecosystems.

The objectives of this paper were to measure the impact of a major soil transfer operation on the soil compartment. This transfer formed part of the rehabilitation of a steppe area after an oil leak occurred on 7th August 2009 within a National Nature Reserve in the plain of La Crau (south-eastern France) (Wolff 2014). In spring 2011, in order to preserve the soil (organic matter content, physico-chemical composition and structure), transfer was realised as quickly as possible and without stocking to minimise any possible alteration (deterioration, destruction of the pedofauna and pedoflora, colonisation of the stockpiles by undesirable species, etc.). To maximise chances of success, the transferred soil had the same characteristics as the polluted soil exported to a specialised dump. Three treatments involving partial or total reconstitution of the soil vertical organisation (i.e. soil horizons) were tested simultaneously for their effects on vegetation (Bulot et al. 2014a) and on natural or artificial recolonisation by ants (Bulot et al. 2014b). Between 2011 and 2013, we also measured the impacts of this soil transfer on indicators of soil function restoration: physico-chemical parameters, functional catabolic diversity of microbial communities and organic matter dynamics, via the short-term monitoring of the labile pool (Particulate Organic Matter content, C and N mineralisation potentials). Our main hypothesis was that only the reconstitution of the original vertical organisation of all pedological horizons would rapidly allow soil microbial diversity and soil functions to be restored to a state resembling the undisturbed reference steppe.

1.2. Materials and Methods

1.2.1. Study area

Our study was carried out in the plain of La Crau, located in the French Mediterranean region, in the foreland of the Western Alps (**Figure 1.1A**). This former fossil outlet of the Durance River was generated by Quaternary deposits during the Pleistocene (Molliex et al. 2013). The topography is extremely flat, with more than 50 % of the soil surface covered by

siliceous stones washed down from the Alps. In this ecosystem, the interaction between two abiotic factors, soil and climate, is recognized as a stress regime contributing to the creation and the maintenance of a steppe plant community unique in Western Europe in terms of its species richness, composition, structure and dynamics (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Buisson & Dutoit 2006). A stony conglomerate composed of pebbles contained in a calcium carbonate matrix prevents the plant root system from reaching the water table located 40-60 cm deep, thus leading to edaphic dryness (Römermann et al. 2005). The climate is dry and windy, typical of the Mediterranean area, with an average 540 mm of rainfall per year, mainly in spring and autumn, Mistral winds of more than 50 km.h⁻¹ for 110 days per year, and more than 3000 hours per year of sunshine (Devaux et al. 1983). In addition to this stress regime, a disturbance regime caused by traditional sheep grazing, which has been practiced for more than 2000 years, has structured the xeric plant community (Cherel 1988; Badan et al. 1995).

The shallow soil of the plain of La Crau is a *FERSIALSOL leptique tronqué* (AFES 2009) corresponding to a Haplic Cambisol (Leptic) according to WRB (WRB 2006), i.e., a Mediterranean red soil whose soil surface layer has been removed by erosion. It consists of three pedological horizons (Duchaufour 1984). The first is an organo-mineral topsoil (0-20 cm deep) largely composed of rounded pebbles (40-70 % of the surface), a remnant of the old river bed of the Durance. This horizon contains a mixture of organic matter (less than 30 %) and mineral matter. The second is a mineral horizon (20-40 cm deep), brown to red-brown and still very stony. It constitutes the “structural” horizon, differing from the bedrock in its higher degree of alteration (presence of free Fe₂O₃), and from the surface topsoil in its structure. This horizon has undergone bisiallization, and corresponds exactly both to a B horizon as defined in the French CPCS classification (CPCS 1967) and to an FS horizon as defined by the “*Référentiel Pédologique*” (AFES 2009). The last horizon is altered bedrock (more than 40 cm deep) formed by the dissolution of the matrix hardened by rainwater rendered acidic by moving within the upper horizons.

Soil pedogenesis occurred in ancient times after the abandonment of the different terraces of the former Durance River (Molliex et al. 2013) and over at least 10,000 years during periods of higher temperatures and humidity levels (Bouteyre & Duclos 1994). This soil is classified into paleosol groups by the “*Référentiel Pédologique*” (AFES 2009). Phenomena

occurring today in these red fersialitic soils are not necessarily related to the former bisiallization that explains the present morphology of the soil.

1.2.2. Study site

Our study site is an area undergoing ecological restoration. On 7th August 2009, an oil leakage completely destroyed an area of 5.5 ha in the centre of the plain of La Crau within the National Nature Reserve (43°31'36.77''N, 4°53'04.50''E) (**Figure 1.1B**). The whole soil profile, the geological bedrock and the groundwater were polluted by the spillage of more than 5400 m³ of crude oil. Consequently, restoration consisted in the excavation and removal of the polluted soil (72 000 tons) to a specialised treatment centre, with subsequent soil transfer to fill in this excavated area (Wolff 2013).

The same type of soil was therefore transferred from a nearby active quarry, already expanding before the accident. In order to promote and speed up the recovery of soil and vegetation, we carried out the transfer (1) during a rainy period in spring 2011; (2) using direct translocation in real time (no stockpiles) to avoid soil deterioration, destruction of soil biota and soil enrichment by seeds of non-target species; (3) substituting one replaced soil unit for one removed soil unit. For the first time, the main soil horizons were reconstituted in their different degrees of profile complexity, as derived from the original pedogenesis in the reference undisturbed steppe soil.

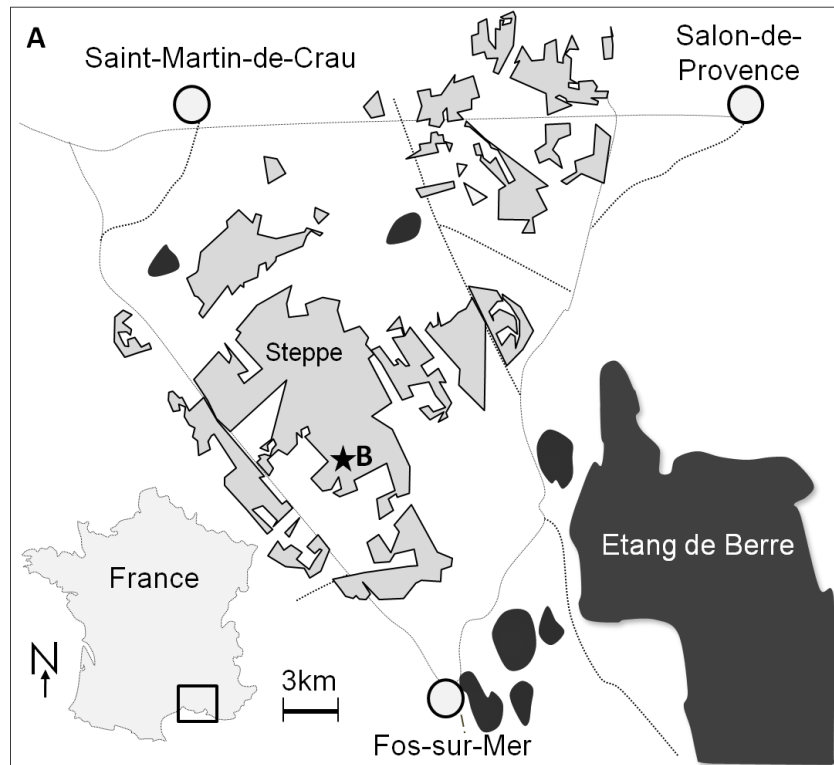


Figure 1.1: A - Location of the plain of La Crau in France and B - Location of the study site (black star) in the Natural National Reserve (in grey).

1.2.3. Experimental design

To assess the importance of soil profile reconstruction for the recovery of soil characteristics, four treatments were applied from January 2011 to April 2011. We used five plots of 100 m² per treatment as follows : (1) treatment “topsoil” containing altered bedrock (> 40 cm deep) + subsoil (20-40 cm deep) + topsoil (0-20 cm deep); (2) treatment “subsoil” containing altered bedrock (> 40 cm deep) + subsoil (0-40 cm deep); (3) treatment “altered bedrock” containing only altered bedrock (from surface to more than 40 cm deep); (4) treatment “step” containing undisturbed soil from the surrounding reference steppe, which was still present all around the rehabilitation site and which represented the intact soil vertical organisation of the steppe, consisting of altered bedrock, subsoil and topsoil (**Figure 1.2**).

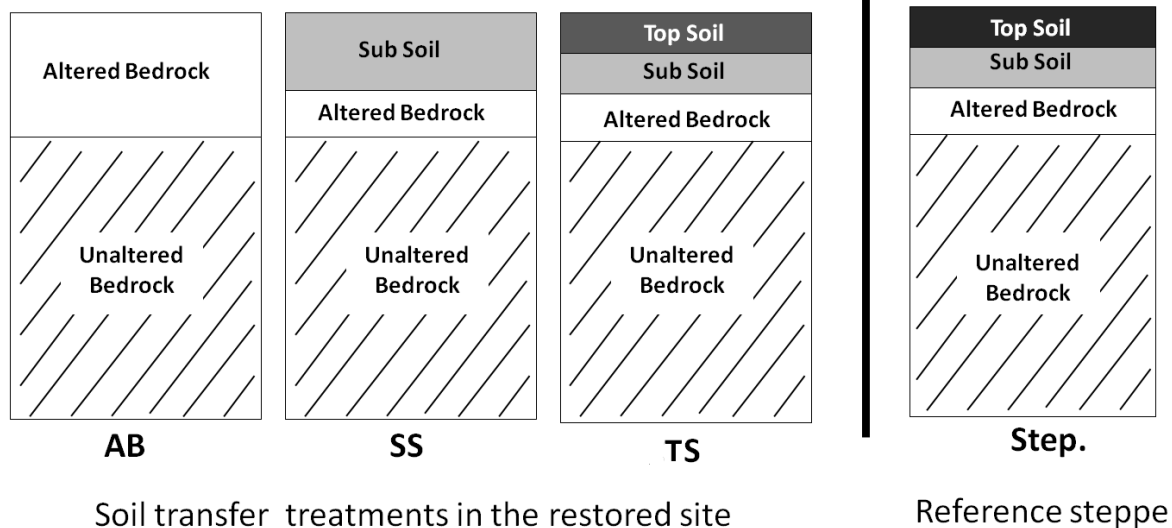


Figure 1.2: The four soil reconstitution treatments after their transfer in the rehabilitated site (right), and main soil layers of the reference steppe (left).

Our objective was to assess whether restoration of the characteristics of the reference steppe soil (treatment 4) can be achieved in a short time (3 years) using treatments 1 and 2. Treatment 3 can be considered as a control because it is the treatment that would have been realised by the industrial owner of the pipeline over the whole area of the rehabilitated site (5 ha) had there been no ecological restoration requirements (Wolff 2013).

1.2.4. Soil analyses

1.2.4.1. Soil profile descriptions

In winter 2013, roughly three years after the soil transfer, soil profile descriptions were realised at the centre of one randomly selected plot for each of the three soil transfer treatments and in the soil of the reference steppe. A profile was dug down to the geological bedrock. The physical and biological states of plots were described according to the standardized STIPA method of Baize & Jabiol (2011).

1.2.4.2. Physico-chemical parameters

Soil samples were taken and analysed immediately after the soil transfer in spring 2011 and roughly three years later in autumn 2013, to evaluate the evolution of nutrient content and fine particle size. Five 200 g soil samples were extracted at a depth of 0-10 cm at the five 100

m² plots for each treatment on the restoration site, and at five places on the reference steppe. These soil samples were constituted by mixing three sub-samples taken at random from each plot. After drying and sieving (2 mm), physico-chemical properties (pH, K₂O, exchangeable Ca²⁺ and K⁺ available phosphorous) and particle size analysis (percentages of clay (<2 µm), silt (2-50 µm) and sand (50 µm-2000 µm)) were measured without decarbonisation according to standardized methods (Baize 2000).

Organic C content and total N content were monitored during 2011, 2012 and 2013. They were measured by dry combustion on samples of bulk soils (before fractionation) using a CHN elemental analyser according to standard NF ISO 10694).

1.2.4.3. Physical fractionation of soil organic matter

Physical fractionation of soil organic matter allows labile pools to be distinguished from stable pools (Feller 1979; Feller et al. 1994; AFNOR 2007). Particulate Organic Matter (POM) is biologically and chemically active and is part of the labile (easily decomposable) pool of soil organic matter (SOM) (Cambardella & Elliot, 1992; Carteret al. 2003). POM, defined as decaying plant residues ranging in size from 50-2000 µm, was extracted from air-dried soil samples and sieved to 2 mm. This method revealed the quality of the organic reserves in the soil (labile pools ranging from 50-2000 µm and stable pools < 50 µm); the protocol used here is a simplified procedure of method NF X31-516 (2007) for the granular densimetric fractionation of soil particulate organic matter in water.

1. 2.4.4. Soil Carbon and Nitrogen availability

The biodegradability of the labile organic matter was measured by monitoring the C and N mineralisation potentials using aerobic incubations under standard laboratory conditions (80 % water retention capacity, 28°C) for 28 days, according to the method described in Hart et al. (1994) and Robertson et al. (1999). These short-term incubations lead to almost exclusive mineralisation of the labile pool and provide information on immediately available C and N.

1.2.4.5. Microbial diversity

In 2013, soil microbial diversity was measured using the microrespirometry method, which takes into account the substrate and thus better represents respiration in the sampled soil (Chapman et al. 2007). Quantification of CO₂, a by-product of mineralisation by microorganisms, was used to assess aerobic soil respiration. The CO₂ emission rate was quantified via microrespiration using the MicroRespTM system (Campbell et al. 2003), as follows. A 96-well microplate (1.2 mL volume) was filled with soil to which was added either water alone (Basal Respiration, BR) or aqueous carbon substrates (Substrate-Induced Respiration, SIR); the microplate was then sealed to a colorimetric CO₂-trap microplate and incubated in the dark at lab temperature (23°C ± 2) for 6 hrs. The absorbance of the detection microplate was measured at 570 nm. The quantities of CO₂ released were calculated with a calibration model (Renault et al. 2013), and results were expressed in µg C-CO₂.g⁻¹soil.h⁻¹. Mineralisation of 7 carbon substrates was tested for Community-level Physiological Profiles (CLPP): glucose, trehalose, D-cellobiose, glycine, L-alanine, D-(+)-glucosamine and malic acid. The added carbon substrates were chosen so as to be representative of the local ecology (root exudates, plant or animal origin, etc.), enabling us to assess the catabolic diversity of the soil and the microbial biomass via measurements SIR glucose (Anderson & Domsch 1978). The metabolic quotient $q\text{CO}_2$ was calculated as the ratio of BR to SIR glucose (Bérard et al. 2011; Chapman et al. 2007) to determine how efficiently microorganisms use the carbon available in the soil (Anderson & Domsch 1990): $q\text{CO}_2$ is considered a microbial eco-physiological indicator.

Tested soil samples were incubated under replication conditions (three per sample). Both activities and microbial biomass were measured.

1.2.5. Statistical analysis

Ordination of soil measurements according to fine particle sizes and nutrient content was performed using Principal Component Analysis.

When the data on physico-chemical parameters, organic matter and microbial diversity followed a normal law (Shapiro test), we used ANOVA tests for multiple comparisons, followed by post-hoc Tukey tests when a significant difference was detected among

treatments; we used Student's tests for two-two comparisons. When conditions were not normal, we used non-parametric Kruskal-Wallis tests followed by Mann-Whitney-Wilcoxon non-parametric tests, with the value of p adjusted according to Benjamini-Hochberg (Benjamini & Hochberg 1995) if a significant difference was detected among treatments. These different parametric and non-parametric tests were performed to compare the different modalities of soil transfer during the third year of monitoring (2013), or to compare the three years of monitoring (2011, 2012 and 2013) for a single mode of soil replacement.

All statistical analyses were performed with R software version 2.15.2. (*The R Foundation for Statistical Computing* 2012), using its packages for univariate analyses and additional packages ADE4 (Chessel et al. 2004; Dray & Dufour 2007) and vegan (Oksanen et al. 2013) for multivariate analyses.

1.3. Results

1.3.1. Soil profile descriptions

1.3.1.1. Undisturbed soil of the surrounding reference steppe

A very irregular boundary divided the topsoil (0-15 cm) from the subsoil, making it difficult to distinguish the two layers. Topsoil texture was silty with a lumpy structure composed 30% of calcareous and siliceous pebbles, with abundant thin pores. Numerous vertical roots of perennial herbaceous plants (large roots) and annual plants (thin roots) were present in the soil aggregates and only constrained by physical obstacles such as the pebbles. Biological activity was also characterised by the earthworms' many vertical galleries and castings. The boundary between the subsoil (15-35 cm) and the altered bedrock was regular. Subsoil texture was sandy, composed 80% of calcareous and siliceous pebbles. Effervescence was weak and occurred only in the calcareous matrix of pebbles. The structure was grainy, with few pores. There were fewer plant roots; they had the same characteristics as those in the topsoil. Again, biological activity was represented by the presence of the earthworms' vertical galleries and castings.

The altered bedrock (35-45 cm) was composed 95% of calcareous siliceous pebbles. There was very strong effervescence in the matrix of pebbles. No plant roots and no other traces of biological activity were observed in this soil layer; however, like the topsoil and subsoil layers, it was moist. No horizon showed signs of past or present artificialisation, such as traces of ceramics or compacting machines (**Figure 1.3**).

1.3.1.2 .Transferred topsoil treatment

The brown-red soil profile of this entirely reconstituted soil was still strongly influenced by the different layers deposited in spring 2011, especially at the boundaries between the different layers. Contrary to the reference steppe, the boundary between topsoil (0-20 cm) and subsoil was still clear, horizontal and regular. Although there were more vertical annual plant roots than in the undisturbed topsoil of the surrounding reference steppe, no roots of herbaceous perennial plants were detected. More pores were also observed but they were thinner than in the steppe topsoil horizon. It was difficult to detect other traces of biological activity and only earthworms' few galleries and castings were observed. The subsoil (20-35 cm) was more compact than that of the steppe subsoil, and no roots or traces of earthworm activities were observed. The boundary between subsoil and altered bedrock layers was still very clear, horizontal and regular. In comparison with the altered bedrock of the steppe soil, the transferred altered bedrock (35-45 cm) was totally dried out and did not appear to have been in contact with water infiltrations since it was deposited in spring 2011 (**Figure 1.3**).

1.3.1.3. Transferred subsoil treatment

In this treatment, the topsoil was not transferred and the original subsoil was taken from the 20-40 cm deep soil layer of the quarry. The boundary between subsoil (20-35 cm) and altered bedrock (35-45 cm) was very clear, regular and horizontal. Very few vertical plant roots were present and they were even thinner than those observed in the transferred topsoil of the previous treatment. There was no trace of biological activities. Again, this transferred altered bedrock did not appear to have been in contact with water infiltrations since it was deposited in spring 2011 (**Figure 1.3**).

1.3.1.4. Transferred altered bedrock treatment

This soil was reconstituted using only altered bedrock material (0-45 cm) from outcrops at soil surface: no topsoil or subsoil was transferred. The transferred altered bedrock was composed 95% of calcareous and siliceous pebbles. There was very strong effervescence in the matrix of pebbles. A few thin roots were present only in the first centimeters below soil surface. No other traces of biological activity were observed in this horizon, which once again was totally dry apart from the first few below-surface centimeters (**Figure 1.3**).

1.3.2. Physico-chemical parameters

Principal Component Analysis on particle size distribution, soil nutrient content and pH showed a clear contrast among the different treatments on axis 1 (70.69% of total inertia explained). The transferred altered bedrock was clearly contrasted from the transferred topsoil and the topsoil of the reference steppe, with the transferred subsoil situated between them. Axis 2 (11.75% of total inertia explained) distinguished between the monitoring years, 2011 and 2013. Axis 1 was negatively correlated with organic C, total N, exchangeable K, silt and clay; it was positively correlated with pH and Ca exchangeable calcium. Sand and available P were negatively correlated with axis 2 (**Figure 1.4**).

In 2013, univariate analyses realised on these parameters showed significant differences between the treatments and the topsoil of the reference steppe with respect to soil physical characteristics (**Table 1.1**). For silt content, a significant increasing gradient was measured from the transferred altered bedrock to the topsoil of the reference steppe. Conversely, for sand content, there was a significant decreasing gradient from the transferred altered bedrock to the transferred topsoil; however, great variability was observed in the topsoil of the reference steppe. With respect to clay content, no significant differences were measured between the transferred subsoil and the topsoil of the reference steppe; there was significantly higher clay content in the transferred subsoil but lower clay content in the transferred altered bedrock. Between 2011 and 2013, only for silt content was a significant difference measured in the topsoil of the reference steppe ($352.4 \pm 4.0 \text{ g.kg}^{-1}$ in 2011 and $371.2 \pm 0.9 \text{ g.kg}^{-1}$ in 2013, $p < 0.05$).

Régénération des propriétés du sol après son transfert

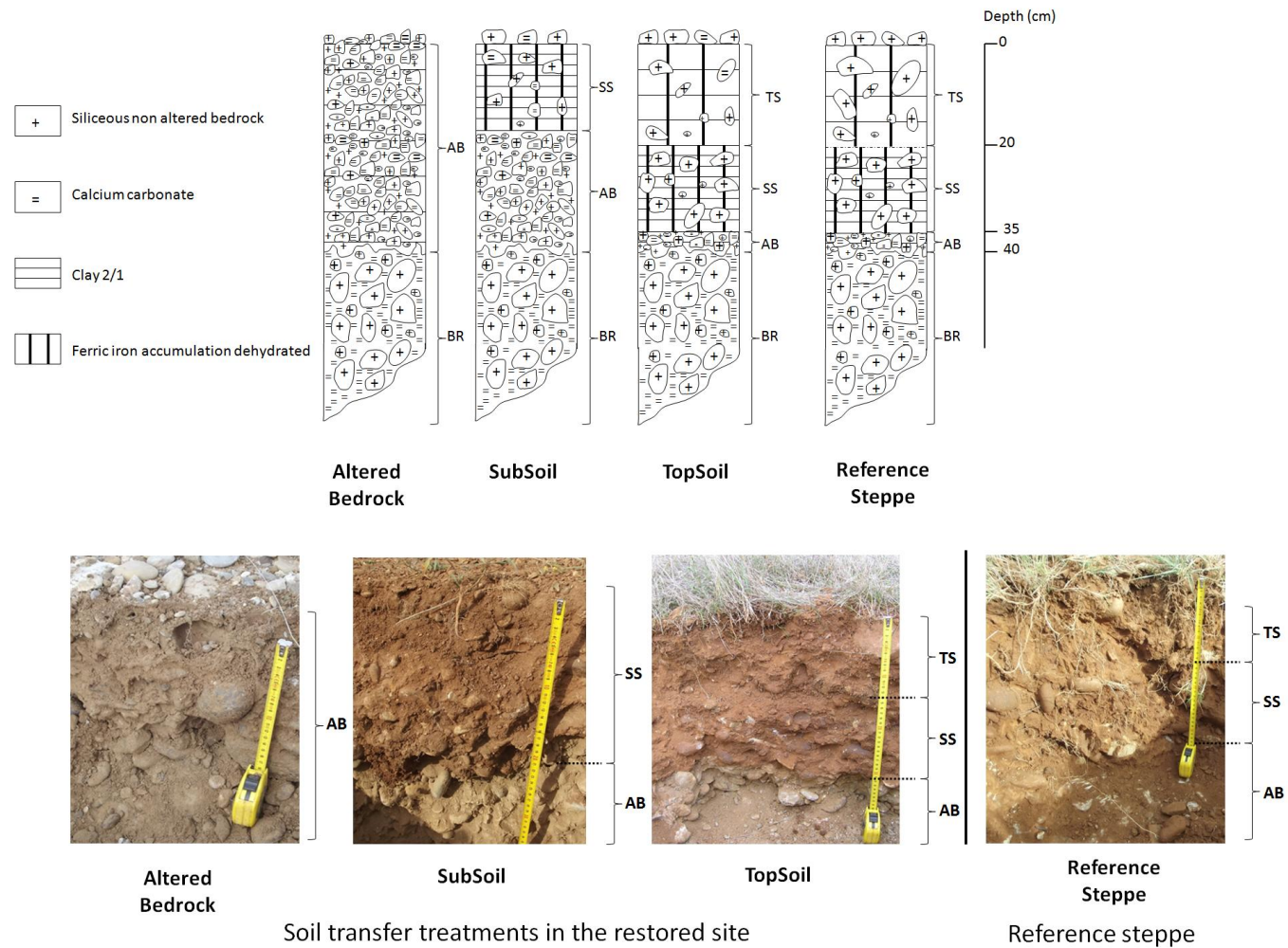


Figure 1.3: Soil pedological profiles realised in a restoration soil transfer experiment in the plain of La Crau (south-eastern France) in autumn 2013. Soil profiles were performed in the undisturbed soil of the surrounding undisturbed reference steppe (Reference Steppe), in the transferred topsoil treatment (TopSoil), in the transferred subsoil treatment (SubSoil) and in the transferred altered bedrock treatment (Altered Bedrock). The three main horizons (altered bedrock, AB; subsoil, SS; topsoil TS) and the bedrock (BR) are indicated on the soils profiles.

Significant differences among treatments were also measured for chemical parameters (Table 1.1). A significant increasing gradient was measured from the transferred altered bedrock to the topsoil of the reference steppe for organic C, total N and exchangeable potassium content, but no significant difference was measured between the transferred topsoil and the topsoil of the reference steppe for exchangeable K content. Conversely, a pH gradient from the transferred altered bedrock to the topsoil of the reference steppe was also measured. In addition, exchangeable Ca was significantly higher in the transferred bedrock and in the transferred subsoil than in the transferred topsoil and in the topsoil of the reference steppe. No significant difference was recorded for available phosphorous.

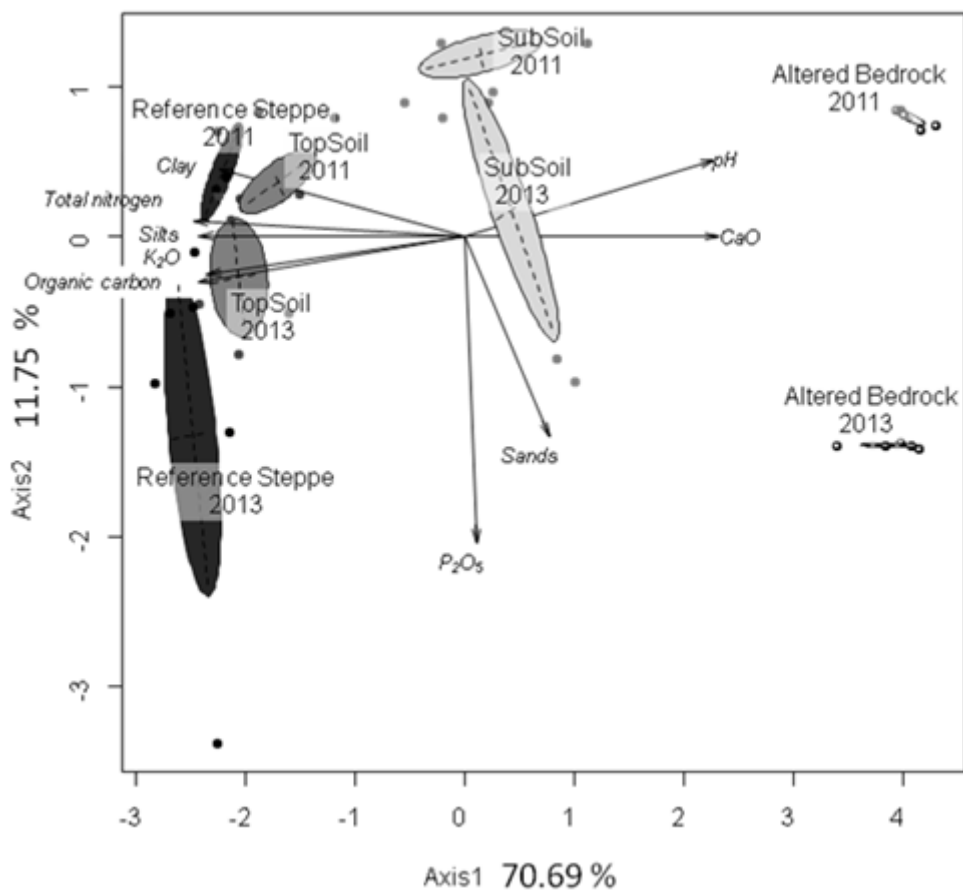


Figure 1.4: PCA ordination of physico-chemical parameters in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France), based on 50 soil samples taken in spring 2011 (25) and in autumn 2013 (25). Samples from each treatment (n=5), and by year (2001 and 2013), are grouped with ellipses. The narrows represent soil variables: contents of sands, silts, clays, pH, available P (P₂O₅), exchangeable Ca (CaO), organic C, total N, and exchangeable K (K₂O)

Table 1.1: Physico-chemical contents (autumn 2013) of four treatments realised in a restoration soil transfer experiment (La Crau, south-eastern France): The measured values are means \pm standard errors; df, F, X², t p correspond to the degree of freedom, the F value, the X² value and the p value resulting from ANOVA tests or Kruskal-Wallis tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.

	Anova/Kruskal-Wallis	Transferred Altered Bedrock	Transferred Subsoil	Transferred Topsoil	Topsoil of Reference Steppe
Silts (g.kg⁻¹)	F = 299.9 df = 3.00 p < 0.001	177.6 \pm 1.68 d	317.8 \pm 3.84 c	340.2 \pm 1.06 b	371.2 \pm 2.38 a
Sands (g.kg⁻¹)	F = 204.1 df = 3.00 p < 0.001	742.2 \pm 2.77 ab	463.8 \pm 4.98 ac	413.0 \pm 3.81 ad	772.8 \pm 180.40 a
Clays (g.kg⁻¹)	F = 299.9 df = 3.00 p < 0.001	80.2 \pm 1.22 a	218.4 \pm 3.65 c	246.8 \pm 3.21 a	216.0 \pm 1.52 b
pH	X ² = 17.9 df = 3.00 p < 0.001	8.534 \pm 0.014 a	8.104 \pm 0.012 b	7.202 \pm 0.061 c	6.620 \pm 0.024 d
Organic Carbon (g.kg⁻¹)	F = 185.7 df = 3.00 p < 0.001	2.412 \pm 0.18 d	9.238 \pm 0.19 c	14.360 \pm 0.27 b	18.700 \pm 0.35 a
Total Nitrogen (g.kg⁻¹)	F = 323.6 df = 3.00 p < 0.001	0.1374 \pm 0.004 d	0.9062 \pm 0.018 c	1.3460 \pm 0.016 b	1.5340 \pm 0.024 a
P₂O₅ (g.kg⁻¹)	F = 3.1 df = 3.00 p > 0.05	0.0100 \pm 0.0000 NS	0.0076 \pm 0.0005 NS	0.0080 \pm 0.0002 NS	0.0084 \pm 0.0002 NS
CaO (g.kg⁻¹)	F = 37.2 df = 3.00 p < 0.001	8.964 \pm 0.275 a	7.486 \pm 0.482 a	2.636 \pm 0.100 b	2.084 \pm 0.040 b
K₂O (g.kg⁻¹)	F = 65.7 df = 3.00 p < 0.001	0.02434 \pm 0.0005 c	0.08888 \pm 0.0017 b	0.16340 \pm 0.0041 a	0.14060 \pm 0.0062 a

Significant differences between 2011 and 2013 were measured for the four treatments: pH (8.782 \pm 0.004 in 2011 and 8.534 \pm 0.014, p < 0.001) decreased in the transferred altered bedrock. Available phosphorous content increased in the topsoil of the reference steppe (0.0205 \pm 0.0002 g.kg⁻¹ in 2011 and 0.0084 \pm 0.0002 g.kg⁻¹ in 2013, p < 0.01) and in the transferred altered bedrock (0.005 \pm 0.0 g.kg⁻¹ in 2011 and 0.01 \pm 0.0 g.kg⁻¹ in 2013, p < 0.01). Organic C content only increased in the topsoil of the reference steppe (15.96 \pm 0.35 g.kg⁻¹ in 2011 and 18.7 \pm 0.35 g.kg⁻¹ in 2013, p < 0.05). Exchangeable K content significantly increased between 20011 and 2013 in the transferred topsoil (0.1282 \pm 0.0017 g.kg⁻¹ in 2011 and 0.1634 \pm 0.0062 g.kg⁻¹ in 2013, p < 0.01), whereas total N content significantly decreased (1.468 \pm 0.015 g.kg⁻¹ in 2011 and 1.346 \pm 0.016 g.kg⁻¹ in 2013, p < 0.05). For organic C content, no significant difference was measured over the three years of monitoring for any treatment except in the topsoil of the reference steppe, where it was

significantly higher in 2012 than in 2011 (**Figure 1.5A**). Between 2011 and 2012, total N significantly decreased in the transferred altered bedrock, whereas it significantly increased in the transferred subsoil, in the transferred topsoil and in the topsoil of the reference steppe. Nevertheless, total N content was still higher in 2012 and in 2013, within the transferred topsoil and the transferred subsoil treatments (**Figure 1.5B**).

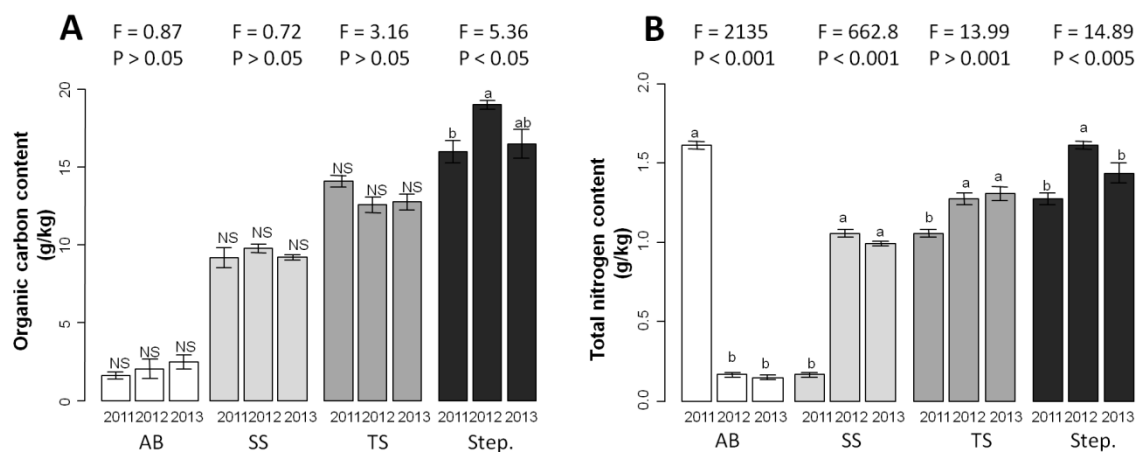


Figure 1.5: Mean values of organic carbon (g/kg) (A) and total nitrogen contents (g/kg) (B) during three years of monitoring in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France). Means and error standards are given from 2011 to 2013 for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); the F and p values of ANOVA tests, performed within each treatment are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test.

1.3.3. Size fractionation of soil organic matter and C:N ratio

In 2013, three years after soil transfer, POM relative weight still differed significantly among treatments. There was a significant increasing gradient from the transferred altered bedrock to the topsoil of the reference steppe (**Figure 1.6A**). In the topsoil of the reference steppe, a significant increase in POM content was measured between 2011 and 2012, and a significant decrease between 2012 and 2013. In the soil transfer treatments, the POM relative weight ratio showed a downward trend (**Figure 1.6B**). Organic C content of POM was significantly lower in the altered bedrock than in the other soil transfer treatments and in the topsoil of the reference steppe in 2013 (**Figure 1.6C**). The ratio between organic C content of POM and total organic C decreased drastically in the transferred altered bedrock between 2012 and 2013, dropping to almost 0%. In the subsoil, no significant differences were

recorded. In the transferred topsoil, there was a decreasing trend over the years, with a significantly lower ratio between 2012 and 2013. In the topsoil of the reference steppe the ratio varied, with a significant increase between 2011 and 2012 and a significant decrease between 2012 and 2013 (**Figure 1.6D**). The C:N ratio of the bulk soil differed significantly among all treatments. The transferred subsoil had the highest significant value, while the transferred topsoil had the lowest significant value. The C:N ratio in the topsoil of the reference steppe was significantly higher than in the transferred topsoil but significantly lower than in the transferred altered bedrock and in the transferred subsoil. The C:N ratio of the POM differed significantly between the treatments and the topsoil of the reference steppe, which had the highest significant value. No significant difference was measured for the C:N ratio of the fraction lower than 50 μm (**Figure 1.6E**).

1.3.4. Soil Carbon and Nitrogen availability

C mineralisation potential differed significantly among the treatments, with an increasing gradient from the transferred altered bedrock to the topsoil of the reference steppe (**Figure 1.7A**). However, no significant difference was measured between the transferred topsoil and the transferred subsoil. The only significant C mineralisation increase occurred in the transferred topsoil and in the topsoil of the reference steppe between 2012 and 2013 (**Figure 1.7B**). No significant differences were measured among treatments for the ratio between organic C mineralised in CO_2 during short-term incubations and total organic C (**Figure 1.7C**). Between 2012 and 2013, an increasing trend was recorded in all treatments, except in the transferred altered bedrock, where there was great variability (**Figure 1.7D**).

N mineralisation potential did not differ significantly among treatments, but there was nitrogen immobilisation in all treatments except the transferred altered bedrock (**Figure 1.8A**). The same trend was measured for the ratio between mineralised nitrogen and total nitrogen (**Figure 1.8B**). Decreased N mineralisation potential was recorded in all treatments, but these differences were only significant in the transferred altered bedrock (**Figure 1.8C**). Results were the same for the ratio between mineralised nitrogen and total nitrogen, with in addition a significant difference between 2012 and 2013 in the transferred subsoil (**Figure 1.8D**).

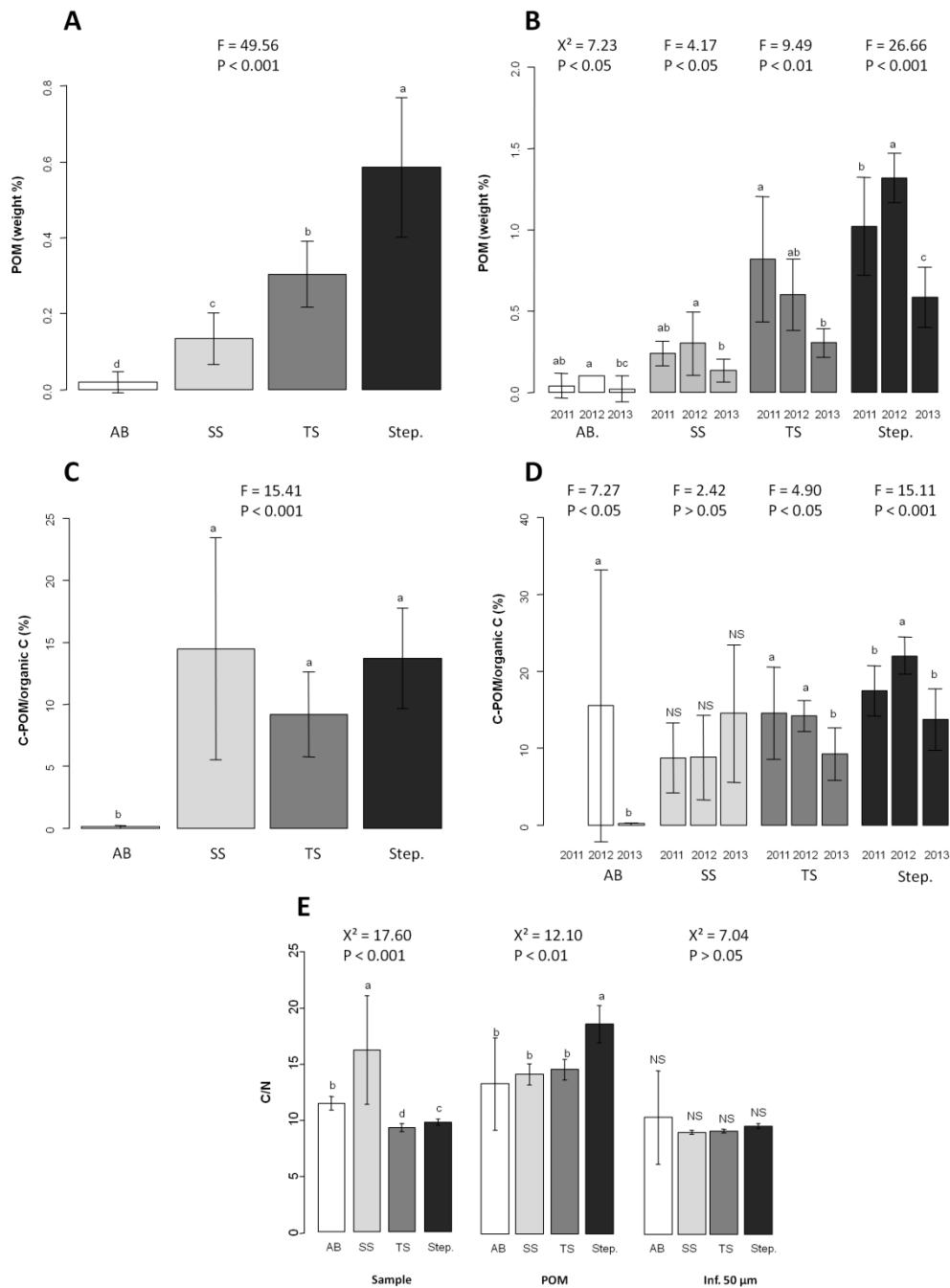


Figure 1.6: Particular organic matters ratio relative to the total soil (POM (weight %)) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France) (A) in 2013 and between the three years of monitoring (B); the ratio between the carbon of particular organic matters and the total organic carbon in 2013 (C-POM/organic C (%)) (C) and between the three years of monitoring; (D) the C:N ratio (C:N) of the sample (Sample), the particular organic matter (POM) and the fraction less than 50 µm (Inf. 50 µm) (E). Means and error standards of these analyses in 2013 or between 2011 and 2013, for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), the transferred topsoil (TS, grey), the transferred subsoil (SS, light grey) and the transferred altered bedrock (AB, white); and the F and p values of ANOVA and Kruskal-Wallis tests, performed, between treatments in 2013 or within each treatment to compare the three years of monitoring, are reported above each bar. Bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.

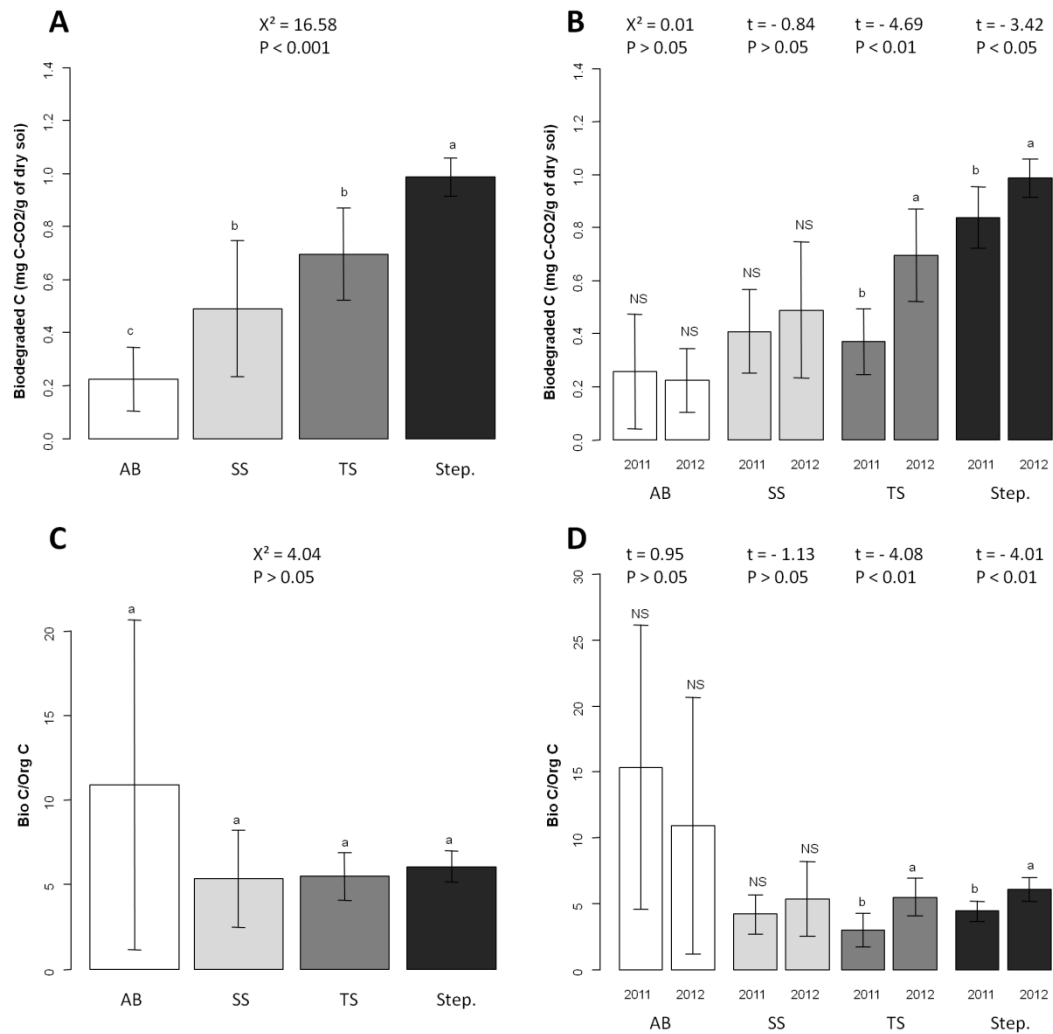


Figure 1.7: Biodegraded carbon (mg of C-CO₂/g of dry soil) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France) in controlled conditions during 28 days, in 2013 (A), and between 2012 and 2013 (B); and the ratio between the mineralised carbon in CO₂ and the total organic carbon (Bio C/Org C), in controlled conditions during 28 days, in 2013 (C), and between 2012 and 2013 (D.) Means and error standards are given for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); the F and p values of ANOVA and Kruskal-Wallis tests, performed, between treatments in 2013 or within each treatment to compare the three years of monitoring, are reported above each bar. Bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.

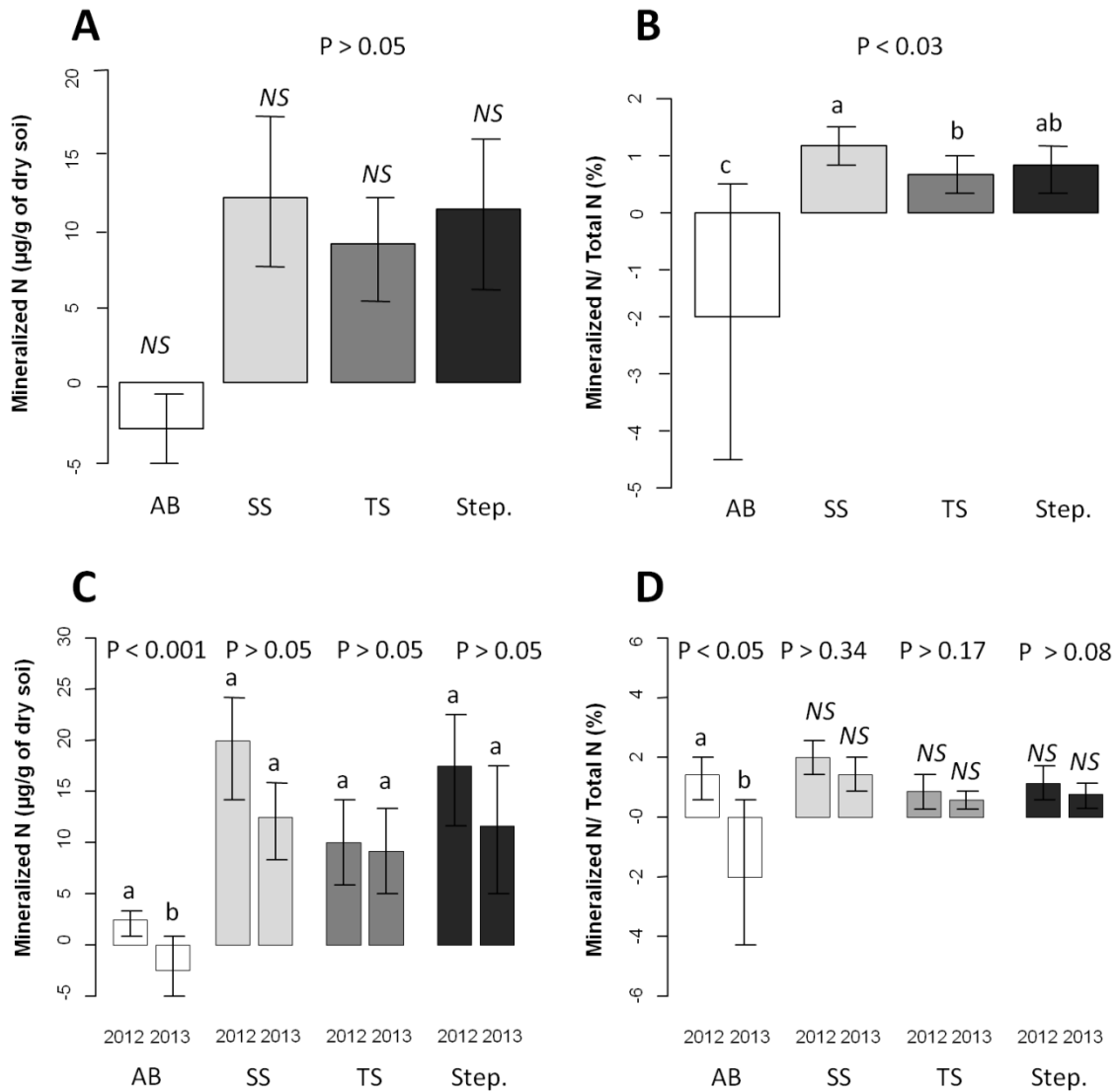


Figure 1.8: Mineralised nitrogen (nitrate + ammonium) ($\mu\text{g/g}$ of dry soil) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France), in controlled conditions during 28 days, in 2013 (A), and between 2012 and 2013 (C); and the ratio between the mineralised nitrogen (nitrate + ammonium) and the total nitrogen (Nmin/Ntot), in controlled conditions during 28 days, in 2013 (B), and between 2012 and 2013 (D.) Means and error standards of these analyses in 2013 or between 2012 and 2013, for each treatment: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); the F and p values of ANOVA and Kruskal-Wallis tests, performed, between treatments in 2013 or within each treatment to compare the three years of monitoring, are reported above each bar. Bars sharing common letters or NS don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Withney-Wilcoxon test.

1.3.5. Microbial diversity

In 2013, the basal respiration of the transferred topsoil was similar to that of the topsoil of the reference steppe, whereas the transferred bedrock still showed significantly lower basal respiration than the two other treatments (**Figure 1.9A**).

The microbial biomass showed the same trend, with significantly higher values in the transferred topsoil and in the topsoil of the reference steppe than in the transferred altered bedrock (**Figure 1.9B**). In contrast, $q\text{CO}_2$ values showed an increasing gradient from the topsoil of the reference steppe to the transferred altered bedrock, with significantly higher values for the transferred bedrock than for the topsoil of the reference steppe (**Figure 1.9C**).

Microbial catabolic structure discriminated among the different soil transfer treatments. The transferred topsoil was the most similar to the topsoil of the reference steppe, with a higher catabolism of sugars and malic acids than in the transferred subsoil and the transferred altered bedrock. Very high respiration rates were induced by the malic acid in the topsoil of the reference steppe. There is little difference in the respiration rates induced by amino acids and glucosamine between the soil transfer treatments and the topsoil of the reference steppe (**Figure 1.10**).

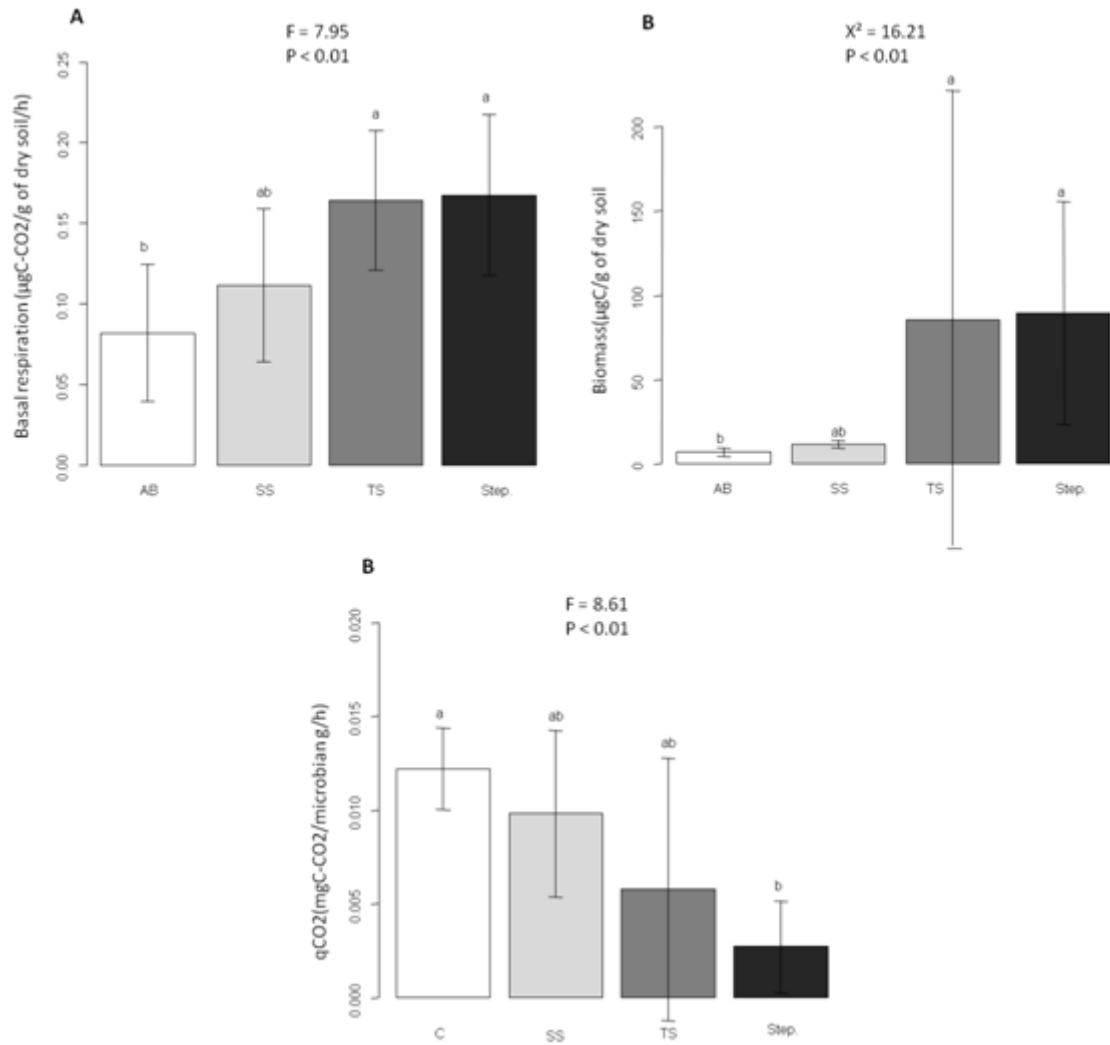


Figure 1.9: Soil microbial basal respiration ($\mu\text{C-CO}_2/\text{g of dry soil/h}$) in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France) (A), microbial biomass ($\mu\text{C/g of dry soil}$) (B) and metabolic quotient $q\text{CO}_2$ ($\text{mgC-CO}_2/\text{g of dry soil of dry soil/h}$) (C) in 2013. Means and error standards are given: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white); F and p values of ANOVA tests, performed within each treatment, are reported above each bar. Bars sharing common letters don't have significant differences according to Tukey post-hoc test.

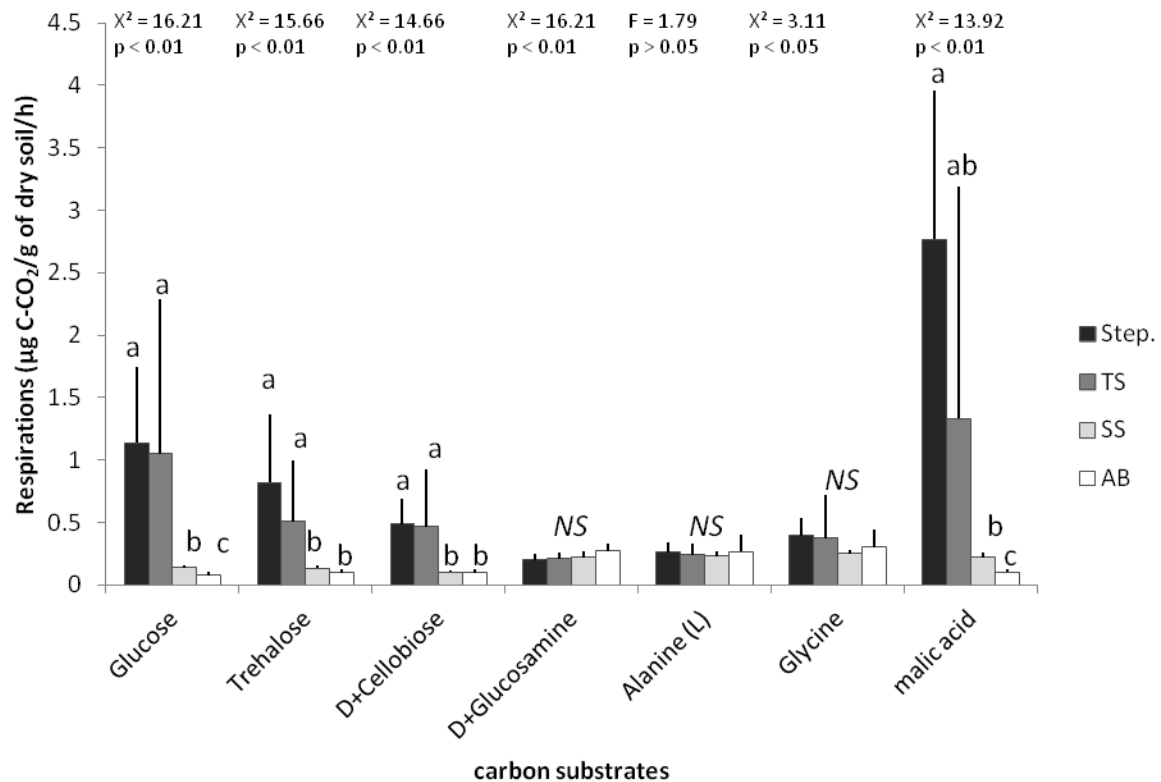


Figure 1.10: Induced respirations ($\mu\text{C-CO}_2/\text{g}$ of dry soil/h) of soil microbial communities in a restoration soil transfer experiment realised in the plain of La Crau (south-eastern France). Means and error standards are given: undisturbed topsoil of the reference steppe (Step., dark grey), transferred topsoil (TS, grey), transferred subsoil (SS, light grey) and transferred altered bedrock (AB, white). Within a carbon substrate, bars sharing common letters don't have significant differences according to Tukey post-hoc test.

4. Discussion

This work in the plain of La Crau examined the chemical, physical, biological and microbiological soil parameters of different soil transfer treatments aimed at restoring soil microbial catabolic activities, soil functioning and the pedological organisation typical of a steppe soil. Our main hypothesis was that reconstituting the three main pedological layers (topsoil, subsoil and altered bedrock) would be the treatment most likely to favor rapid restoration not only of soil chemico-physical parameters close to those of the reference steppe but also of soil microbial catabolic activities and pedological function organisation, as assessed by soil profiles three years after the soil transfer.

These descriptive analyses reveal that soil transfer did not affect the physical and biological characteristics of soil, even though it was carried out at the right period (spring 2011) and without stockpiling. Three years after the treatment reconstituting the three main layers, the soil characteristics are still different from those of the reference steppe. Only the transferred topsoil has been colonised by roots of annual species, with very few earthworm galleries. This could be explained by the destruction of the below- and above-ground biomass of the dominant perennial herbaceous plant species of the steppe vegetation (*Brachypodium retusum* P.Beauv., *Dactylis glomerata* L., etc.) during the transfer (Bulot et al. 2014a). The result is a paucity of roots and galleries of earthworms and smaller soil porosity compared to the soil of the reference steppe. Thus, there does not yet appear to have been any exchange via biological activity between the different soil horizons (Lavelle 1988; Edwards 2002). Accordingly, the delimitation of pedological horizons is still sharper than in the soil of the surrounding undisturbed steppe. The soil profile is also drier, particularly deeper down. This could also result from scarce water circulation between the different layers due to the absence of earthworms' galleries (anecic species) (Edwards 2002), unable to colonise the whole profile probably because of mechanical soil compaction when the soil was spread. Soil compaction is known to affect the abundance, the biomass and the distribution of earthworms (Radford et al. 2001; Chan & Barchia 2007); soil pores also play a role in the infiltration, storage and drainage of water (Ehlers 1975; Lin et al. 1996; Kutílek 2004). Soil compaction can impact the growth and distribution of roots, thereby affecting water dynamics and plant growth (Unger & Kaspar 1994). Similar results were observed in the other treatments (subsoil and altered bedrock), exacerbated by the fact that there was no spreading of the original topsoil. It is therefore clear that even when the vertical soil organisation is fully reconstructed, including by transfer of topsoil at the soil surface, soil transfer is likely to impact the pedological evolution of the whole profile (0-40cm) in the long term. This makes it impossible to draw definitive conclusions from biological, physical and chemical analyses realised only a few years after soil transfer and only on the topsoil horizon.

With regard to physico-chemical parameters, the results of our analyses realised roughly three years after the transfer show that there are still some significant differences between the transferred topsoil and the topsoil of the surrounding steppe. Total nitrogen, total organic carbon and silt were lower in the transferred topsoil, whereas pH, calcium and clay content were higher. These trends had already been observed from the analyses realised just after the

soil transfer in spring 2011. The increase in calcium and pH can easily be explained by the solubilisation of calcium carbonates from the calcareous matrix or calcareous stones degraded during the transfer. This is especially pronounced in the subsoil and the altered bedrock, closer to the calcareous conglomerate. Similar results were previously obtained in the same area in formerly cultivated fields (Römermann et al. 2005; Buisson et al. 2006; Coiffait-Gombault et al. 2012a; Jaunatre et al. 2014) and after trenching for pipelines (Coiffait et al. 2012b). However, to date no assessments have been made in this area of the impacts of the 0.5 unit pH increase (from 6.62 ± 0.024 to 7.20 ± 0.06) on above-ground vegetation and soil microbial activity, the variation remaining within the same neutral range (6.5 to 7.5) (Baize et al. 2000).

The higher concentrations of clay in the transferred topsoil than in the topsoil of the undisturbed steppe may be due to the effects of water sheet erosion from the surrounding steppe to the soil surface of the rehabilitated area, where the proportion of bare soil is still significantly higher than in the surrounding steppe (no patches of herbaceous perennial vegetation (Bulot et al. 2014a).

Organic carbon and total nitrogen content were significantly higher in the topsoil of the surrounding reference steppe than in all the soil transfer treatments. There was also an increasing gradient in organic carbon content from the transferred altered bedrock layer to the transferred topsoil. This confirms our expectation that the deeper soil layer would contain less organic matter, and therefore less carbon (Duchaufour 1984; AFES 2009). With respect to Particulate Organic Matter (POM) content, our results confirmed this trend. POM accounted for a large part of the organic carbon content in the different treatments, except for the transferred altered bedrock, contributing strongly to total organic carbon. However, as with organic carbon content, POM content was significantly lower in all treatments than in the topsoil of the surrounding reference steppe, even in the transferred topsoil. New, easily biodegradable organic matter input from annual plants could also have boosted the activity of microorganisms, favoring organic matter consumption in this layer (Fontaine et al. 2003). This hypothesis is confirmed by a significantly higher POM relative weight in the soil of the surrounding reference steppe. The soil of the grazed reference steppe thus appears to have regularly received new inputs of organic matter belonging to the labile pool, which has a rapid turnover (Cambardella & Elliott 1992; Balesdent 1996, 1998; Haynes 2000); this contrasts with the transferred topsoil treatments, which show a significant decrease in POM after the soil transfer and where grazing was not restored to protect the regeneration of the annual plant

species (Bulot et al. 2014a). POM content also varied over the three years of monitoring in the topsoil of the reference steppe. This may be due to the spatial heterogeneity of the vegetation in the plain of La Crau, where small patches of perennial species (*Brachypodium retusum* P.Beauv.), annual species and bare ground form a complex mosaic (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Römermann et al. 2005; Buisson & Dutoit 2006). Another possible explanation is that inputs of organic matter differ from year to year and between times of year, as a result of differences in primary production, which is itself correlated with climate and grazing variables (Bourrely et al. 1983). However, when the carbon content of particulate organic matter and the total organic carbon ratio are considered, only the transferred altered bedrock shows a significantly lower value, due to the absence of fresh organic input in this layer with a high coarse mineral (siliceous pebbles) and sand content.

In 2013, the high C:N ratio of POM measured in the topsoil of the reference steppe can be explained both by greater inputs of organic matter and by slow degradation of POM, mainly because of the more extensive below-ground biomass (herbaceous perennial plant roots) in the soil of the reference steppe than in all the other treatments. The lower C:N ratio of POM in the transferred subsoil indicates higher quality litter. This is linked to the nature of the subsoil layer, which contains old, inherited organic matter associated with the mineral fraction of the soil (Duchaufour 1984; AFES 2009). The soil profile description of this treatment also shows the presence of only a few fine roots of annual plants, suggesting that there was very limited input of fresh organic matter after its transfer in spring 2011. The great variation in C:N ratio, measured in the transferred altered bedrock in 2012 and between 2012-2013 is no doubt also due to a sample taken close to a small patch of annual vegetation instead of from the bare ground characteristic of most of the soil surface of this treatment.

Similar carbon mineralisation ratios were measured in the different soil transfer treatments (except for the altered bedrock) and in the topsoil of the reference steppe. Thus, the decrease in POM content measured between 2012 and 2013 in the transferred topsoil cannot be explained by higher carbon mineralisation. In this horizon, since new inputs of organic matter from perennial plants were lower, the initial stock of organic matter was mineralised and not renewed; however, there was also inherited organic matter. In the transferred subsoil, the carbon mineralisation ratios reduced the old organic matter content, whereas in the transferred altered bedrock, new inputs of fresh organic matter from several annual plants enriched this originally poor in organic matter treatment. Thus, carbon mineralisation varied

greatly, depending on whether there was rapid colonisation of old organic matter by microorganisms and thus rapid mineralisation, or no mineralisation in bare ground areas without inputs of fresh organic matter.

The nitrogen mineralisation values measured in 2012 indicate production of nitrogen, certainly by microorganism nitrification. In the transferred subsoil, this mineralisation was similar to that of the transferred topsoil and to that of the topsoil of the reference steppe. This means that microorganisms were able to find their energy resources even in the old organic matter which characterised the subsoil layer. In the transferred altered bedrock, strong microorganism activity rapidly immobilised the little available nitrogen, making nitrogen the limiting factor in this layer. Between 2012 and 2013, there was a trend towards reduced nitrogen mineralisation, most likely due to the associated decrease in POM.

For thousands of years, the reference steppe has interacted with microorganisms present in its soil, structuring and selecting certain communities that have influenced soil and plant communities, their composition, structure and functions. Above-ground vegetation has also impacted microbial activity through its particular spatial pattern, modifying light, water or nutrient availability, and by adding leaf and root litter to the soil (Charley & West 1977; Burke et al. 1998; Schlesinger & Pilmans 1998; Bargdett & Shine 1999; Wardle et al. 1999; Stephan et al. 2000; Zak et al. 2003). In spring 2011, soil transfer changed the balance previously established, especially for the layers (subsoil, altered bedrock) which were not originally in contact with the soil surface before the transfer and which for the first time received annual plant fresh organic matter.

Microbial data obtained with microrespirometric measurements performed in 2013 suggest a positive gradient of microbial biomass and basal respiration and a negative gradient of metabolic quotient (qCO_2) among the three restoration treatments and the steppe. The higher qCO_2 values, especially significant in the transferred altered bedrock, can be explained in part by low microbial biomass. Another explanation could be the presence of a “younger microbial community” with higher energy needs to cope with the new soil conditions created after soil transfer and the ensuing surface exposure of the altered bedrock (Anderson & Domsch 1990).

In addition, the microbial communities' efficiency at catabolising malic acid in the topsoil of the reference steppe, and to a lesser extent in the transferred topsoil, may be explained by the

strong interactions between plants and the microbial edaphic environment in both types of soil, through root exudates and their direct input of organic matter. As floristic surveys have shown (Bulot et al. 2014a), some plant species were present both on the transferred topsoil and on the topsoil of the reference steppe but to a far lesser extent on the transferred subsoil and on the transferred altered bedrock. Some of these plants are from families known to be C4 species. The C4 species can produce malic acid, particularly under conditions of water stress (Shah et al. 2012). Other such plants are also known to produce organic acids, including malic acid, under conditions of nutrient limitation (Ryan et al. 2001). It is therefore possible that the abundance of plants, with the potential of some C4 species to produce and excrete malic acid, favored the adaptation of soil microbial communities in the topsoil of the reference steppe and in the transferred topsoil, enabling them to catabolise malic acid.

Respecting the vertical organisation of the three soil layers thus appears to be vital during a soil transfer operation (during the best period and without stockpiling) aimed at restoring physico-chemical parameters and microbiological activity resembling those of the reference soil. Our hypothesis is therefore confirmed. Three years after restoration operations in the plain of La Crau, there are still significant differences in organic content and total nitrogen content between the transferred topsoil and the reference; however, there are no longer any significant differences in the ratio between POM and total carbon content, in the ratio between mineralised carbon and total organic carbon, in the ratio between mineralised nitrogen and total nitrogen, in microbial functional diversity, in basal respiration and in biomass. All these results indicate that the soil functions of the transferred topsoil now closely resemble those of the topsoil of the reference steppe, and that any remaining differences are due to differences in plant community composition and dynamics which arise from the grazing in the surrounding undisturbed steppe (Jaunatre et al. 2014; Bulot et al. 2014a). This is clearly not the case for the other layers transferred (subsoil, altered bedrock) even though after the soil transfer operation they are now over ground.

Nevertheless, soil profile descriptions show that strong differences remain between the overall organisation of the transferred soil and that of the undisturbed soil of the reference steppe, even three years after transfer. This is particularly due to the absence of colonisation by earthworms and roots of the typical herbaceous perennial species of the steppe in the lower layers. As a consequence, there are still strong differences in permeability between the reference and transferred soil profiles. In the transferred soil, with no significant biological activity in the lower layers, there is still no water exchange from the surface to the bottom of

the profile and clear boundaries still exist between the different layers. It cannot therefore be argued that restoration success as determined from the physico-chemical and biological parameters of the soil surface layer is a guarantee of successful soil transfer in the long term. Thus, pedological parameters for the different treatments, such as biological activity (earthworm activity, root penetration), soil composition and structure (porosity, permeability, etc.), now need to be monitored over the long term, so as to determine whether they are indeed evolving towards the reference steppe soil profile structure. The absence of a convergent evolution of these reconstructed soil pedological patterns towards those of the reference steppe can clearly jeopardise the restoration success of plant communities, especially if roots and earthworms are unable to colonize the bottom layers and, as a consequence, affect their soil moisture by restoring connectivity with the upper soil layer.

TRANSITION VERS LE CHAPITRE 2

Le **chapitre 2** étudiera comment la communauté végétale se régénère suite au transfert de sol (**Figure T2**) ? Le transfert de sol a été effectué dans les meilleures conditions possibles (printemps, sans stockage) pour permettre le rétablissement de la communauté végétale steppique cible. L'objectif est de réussir non seulement à restaurer la composition, la richesse spécifique, la diversité spécifique mais aussi la structuration de la végétation steppique de référence.

Pour cela, des analyses de la végétation ont été menées pour identifier si au moins un des traitements de remise en place du sol testé permettait d'atteindre cet objectif à court terme. Ces résultats pourront ensuite être discutés (**Discussion générale D.2**) en les comparant avec les résultats obtenus dans le **chapitre 1** pour savoir quel est le meilleur traitement de transfert de sol pour restaurer à la fois le compartiment végétal et le compartiment sol. De nouvelles directives techniques pourront être alors proposées afin d'améliorer les performances des opérations de transfert de sol. Dans ce chapitre, la compaction de la surface du sol a également été expérimentée pour limiter son foisonnement et donc l'installation d'espèces non désirées telles que les espèces anémochores ubiquistes à forte capacité de dispersion.

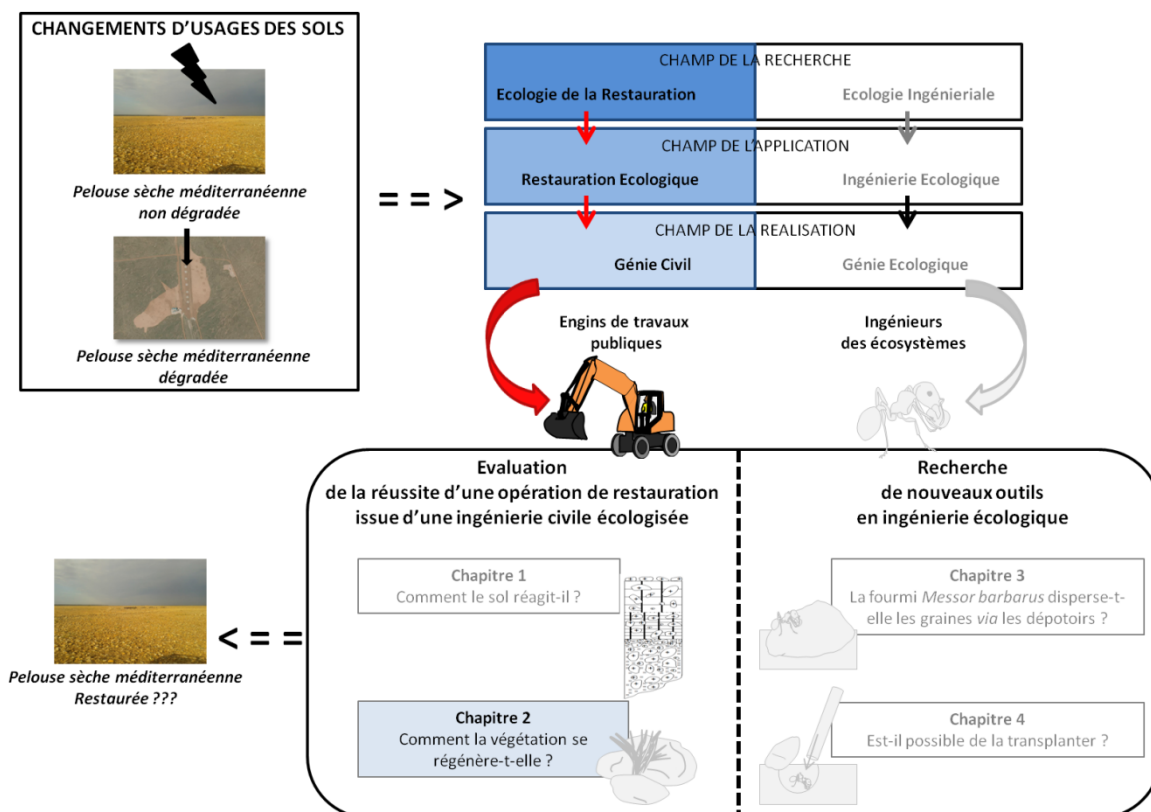


Figure T.2: Localisation du chapitre 2 dans l'organisation générale de la thèse.



Vue aérienne du site d'étude durant l'été 2011 juste après la réalisation du transfert de sol
(Crédit photo: SPSE)



Vue aérienne du site d'étude au printemps 2013
(Crédit photo: Robin Rolland, DREAL PACA)

CHAPITRE 2

Une comparaison de différentes stratégies de transfert de sol pour restaurer une steppe Méditerranéenne après une fuite d'hydrocarbures (La plaine de La Crau, Sud-Est de la France)

CHAPTER 2

A comparison of different soil transfer strategies for restoring a Mediterranean steppe after a pipeline leak (The plain of La Crau, South-Eastern France)

Adeline Bulot, Erick Provost & Thierry Dutoit

(Publié dans *Ecological Engineering*, 2014, 71, pp. 690-702)

Résumé du chapitre 2

Among the techniques used for the restoration of terrestrial ecosystems, soil transfer has already produced encouraging results for re-establishing species-rich grassland plant communities. On August 7 2009, a serious oil pipeline leak occurred in the plain of La Crau in south-eastern France. In 2010, more than 5 ha of steppe vegetation were then destroyed by the excavation, and removal of polluted soil. Restoration of the site was achieved by transferring 72 000 t of identical soil from a nearby quarry. Soil was applied in four treatments, each with a different degree of profile complexity. After three years (2011, 2012 and 2013), our results show that the replacement of the soil to include horizon similar to the reference steppe allows recovery of the vegetation in terms of composition, similarity and species richness of the steppe vegetation during this period. The ecological engineering guidelines aimed at limiting the transit time of the soil and the reconstitution of its vertical layer organization resulted in the improved recovery of the vegetation without colonisation by non-target species. This system may further benefit from re-introduction of traditional sheep grazing to promote sustainability following the restoration of the steppe vegetation.

KEYWORDS: Dry grassland; Ecological restoration; Ecological engineering; Community translocation; Plant communities.

Abstract of chapter 2

Parmi les techniques utilisées pour la restauration des écosystèmes terrestres, le transfert du sol a déjà permis d'obtenir des résultats encourageants pour rétablir les communautés végétales de prairies riches en espèces. Le 7 Août 2009, une importante fuite d'hydrocarbure s'est produite dans la plaine de La Crau, dans le sud-est de la France. En 2010, plus de 5 ha de végétation steppique ont ensuite été détruits par l'excavation et l'enlèvement des sols pollués. La restauration du site a été réalisée par un transfert de 72 000 tonnes de sol identique provenant d'une carrière située à proximité. Le sol a été remplacé selon quatre traitements, chacun avec un profil de sol ayant un degré de complexité différent. Après trois années de suivi (2011, 2012 et 2013), nos résultats montrent que le traitement de transfert du sol, incluant la remise en place de l'horizon de surface semblable à la celui de la steppe de référence, permet une reprise de la végétation en matière de composition, de similitude et de richesse spécifique au cours de cette période.

Les lignes directrices d'ingénierie écologique visant à limiter le temps de transit du sol et à reconstituer l'organisation verticale des couches pédologiques ont abouti à l'amélioration de la régénération de la végétation sans mesurer une colonisation par des espèces non-cibles.

De plus, ce système peut bénéficier de la réintroduction du pâturage ovin traditionnel pour favoriser la durabilité de la restauration de la végétation steppique.

Mots-clés: Pelouse sèche; Restauration écologique; Ingénierie Ecologique; Translocation de communauté; Communautés végétales.

2.1. Introduction

In Western Europe, semi-natural grasslands such as dry grass-lands generally have a high level of biodiversity (Gibson 2009), because they are subject to stress regimes (drought, low temperature, impoverished soil, etc.) and disturbance (fire, grazing, mowing, etc.). They can accommodate numerous biological groups (WallisDeVries et al. 2002; Piqueray et al. 2007; Gibson, 2009) having a rich diversity of animal and plant species at both local and regional scale (Willems 2001; Poschold & WallisdeVries, 2002). It is common to find 30 to 40 species of plants per square metre and up to 80 species with the bryophytes (Bobbink & Willems 1987; Hutchings & Stewart 2002; Römermann et al. 2005). However, since the second half of the 20th century, there has been a drastic decline in the range and quality of habitats of these grasslands (Dzwonko & Loster 1998; Lee et al. 2001; Adriaens et al. 2006). This decline has been observed in the north-west and centre of Europe in Great Britain, the Netherlands, Belgium, France and Germany (Kiehl et al. 2010). This is mainly due to changes inland use (urban sprawl or agriculture intensification), to landscape fragmentation and invasion by non-native species (Saunders et al. 1991; Poschold & WallisDeVries 2002). In an attempt to put a stop to these serious losses, management systems have been introduced in many grasslands for conservation purposes (Wells 1969; WallisDeVries et al. 2002; Janišová et al. 2011).

However, after major soil disturbance, the vegetation recovery of these ecosystems can be very low (Bischoff 2002; Hutchings & Booth, 1996; Coiffait-Gombault et al. 2011; Römermann et al. 2005; Forey & Dutoit 2012), and it is then necessary to introduce ecological restoration to speed up the natural recovery (Clewell & Aronson 2013).

Strong disturbances, due to changes in land use, can completely destroy the soil and the vegetation. These disturbances are generally caused by human engineering projects such as construction of roads, buildings, quarries or pipeline laying. For this, numerous ecological restoration techniques have been introduced, such as soil transfer. Soil transfer, applied in bulk, by spreading or in turf (whole or fragmented), has already produced encouraging results over short periods for the reestablishment of species-rich plant communities (Worthington & Helliwell 1987; Pywell et al. 1995; Bullock 1998; Vécrin & Muller 2003; Kiehl et al. 2010; Jaunatre et al. 2014b). Soil transfer is the translocation of soil material and its native biota. It involves the removal of the soil substrate and its assemblage of species from an intact donor

site to an area requiring restoration. The purpose is to aid in the reestablishment of a functional community following disturbance (Bullock 1998), and it may be applied to disturbances of small or large areas (Pywell et al. 1995; Jaunatre et al. 2014b). Using this method, it is possible to bypass both the biotic and abiotic filters that constrain the establishment and development of plant communities. The removal of a soil from a donor site to a location in need of restoration allows the transfer of physico-chemical elements (nutrients, fine and coarse particles, etc.) but also soil organic matter (litter, humus, etc.). Similarly, the fauna (pedofauna) and the flora (seeds, algae, clone, etc.) as well as the microbial biomass (bacterial, algal and fungal) are transferred (Clewell & Aronson 2013). Perennial plants with vegetative reproduction, which play a structure-building role in the community, may also be transplanted as well as a part of the soil structure and a part of the plant community structure (Manchester et al. 1999).

Soil transfer also enables the rapid re-creation of a habitat corresponding to the reference ecosystem if the donor site is indeed close to the one that was originally degraded and/or destroyed (Bullock 1998). This has already been demonstrated for certain grasslands in Great Britain where positive results were achieved (Bullock 1998; Box 2003; Trueman et al. 2007). For example, in 18 experiments, the rate of transfer for plant species ranged from 54% to 91% after 3 to 7 years with a high success rate in particular for the transfer of turf (Bullock 1998) which may be as high as 100% after 5 years for a dry grassland restored using this method in Great Britain (Trueman et al. 2007).

On the other hand, this technique is certainly not sustainable, since soils are not considered a renewable resource. Soil transfer should be limited to particular cases where the destruction of the soil of the donor site is planned, generally independently of the soil transfer operation (Bullock 1998; Bruelheide & Flintrop 2000; McLean 2003; Vécrin & Muller 2003). In some cases, the soil transfer may not always require an independent donor site. For example, during the installation of a pipeline, the soil which has been removed, can be immediately transported and then placed on a site that is being restored. The direct transfer or hauling avoid or minimise any losses of seed or vegetation propagule viability, soil structure or microbial biomass (DePuit 1984; Pfannenstiel & Wendt 1984; Andersen et al. 2008). Transfer of large quantities of soil requires the use of civil engineering methods (use of work-site earth moving equipment, transport trucks, etc.) and involves hydrocarbons consumption, pollutants emission (CO₂, NO_x, etc.), soil compaction and alteration during transportation.

The use of techniques associated with ecological engineering (Mitsch & Jørgensen 2004) and aimed at economising and/or preserving the soil resource have thus been recommended in order to limit the environmental impact of this kind of restoration technique and to increase the chances of success. For soil, this involves transferring only a few blocks which would act as the kernel of recolonisation while allowing the recovery of the donor site (Good et al. 1999; Kiehl et al. 2010; Jaunatre et al. 2014a). Also, the soil dilution by inoculation on the host site of soil transferred in bulk (ratio of 1 to 2, 1 to 3, etc.) allows to economise the soil and restore a larger area than if the soil has been removed from a donor site and replaced in a receiver site of equal size (Vécrin & Muller 2003; Jaunatre et al. 2014a). Finally, in order to preserve the soil (organic and physico-chemical composition, structure, etc.), it should be transferred be transferred at the right time (spring or autumn in Western Europe) as quickly as possible and without stocking to avoid any alteration (deterioration, destruction of the pedofauna and pedoflora, colonisation of the stockpiles by undesirable species, etc.).

In south-eastern France, the plain of La Crau represents a good example of Mediterranean dry grassland possessing high plant species richness (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Römermann et al. 2005; Buisson & Dutoit 2006). In fact, this steppe vegetation is the result of a regime of particular stress and disturbance induced by the shallow red Mediterranean soil (red fersialitic soil) and by the Mediterranean climate interacting with centuries of sheep grazing and a succession of prairie fires (Devaux et al. 1983; Cherel 1988; Badan et al. 1995; Henry 2009). Although this environment is partly protected through the establishment of a National Natural Reserve in 2001 on 7400 ha, extensive areas today require active restoration (Buisson & Dutoit 2006; Coiffait-Gombault et al. 2011; Jaunatre et al. 2014a) as recovery of the steppe vegetation after changes in land use is extremely slow (Römermann et al. 2005; Buisson et al. 2006; Dutoit et al. 2013 a, b).

Among the areas to be restored is at the heart of the plain of La Crau and the natural reserve, an area of 5.5 ha which was recently destroyed by leakage of an oil pipeline on 7 August 2009 (Wolff 2013). The surface, the soil, the geological agglomerate and the ground water were polluted by the spillage of more than 5400 m³ of crude oil. Consequently, restoration has consisted of the excavation and removal of the polluted soil (72 000 t) to a specialized treatment centre.

To fill in this excavated area, a same type of soil was transferred from a nearby active quarry. In order to maximise the chances of success, we have undertaken the transfer (1) during a rainy period of spring 2011 in order to enhance the regeneration of the plants (annual and perennial species), (2) in real time without stocking to avoid soil deterioration in the stockpiles, the destruction of the pedofauna and pedoflora and the enrichment of the piles with seeds of undesirable species, (3) at a ratio of 1 to 1 integrating the reconstitution of soil in different degrees of profile complexity derived from the pedogenesis of the red fersialitic soil. Without our guidelines, only the altered bedrock would have been transferred homogeneously over the whole area and for the full depth (at least 40 cm) of the area to be restored using geological materials furnished by the nearby alluvial quarries. We proposed these guidelines for the first time in order to provide the basis for maximising the development of the steppe vegetation identical to that previously damaged.

Here, we measured the recovery of the steppe vegetation as a function of different treatments of soil replacement. The aim is to measure the impact of these methods on the composition, richness and species diversity over the three years following soil replacement (2011–2013), and also on the similarity of composition and structure with a reference steppe community surrounding the excavated area. By testing the importance of maintaining the vertical organisation of the main pedological layers (topsoil, sub-soil, altered bedrock), we seek to determine whether it is necessary to replace all the soil including the topsoil or whether it is preferable to render the soil as oligotrophic as possible by not replacing it and only leaving on the surface the subsoil or the altered bedrock. Our hypothesis is that the replacement of topsoil may favour, in addition to the development of the desired target species, also the establishment of species not targeted by the restoration because not typical of the reference steppe ecosystem (ruderal, ubiquitous, invasive species, etc.) from the transferred soil permanent seed bank or the surrounding seed rain of the donor site. This would also make it possible to make the most use from a non-renewable resource, which is the soil of the intact steppe grassland.

Compacting the soil surface, by the use of a mechanical roller just after the transfer has also been carried out in order to test the hypothesis that this process may be a means to reduce the establishment of these non target species to the benefit of stress tolerant species typical of the reference steppe, making the most difficult conditions for the development and survival of plants. So, we test these hypotheses in five treatments including from soil surface to soil depth

(1) uncompacted top soil, subsoil and altered bedrock, (2) compacted top soil, subsoil and altered bedrock, (3) subsoil and altered bedrock and (4) altered bedrock; in comparison with (5) intact soil vertical layer organisation of the reference steppe.

2. Materials and methods

2.1. Study site

Our study was carried out in the plain of La Crau, located in the south-east of France (Bouches-du-Rhône) (**Figure 2.1**). This is a former fossil delta formed by deposits from the Durance River during the Pleistocene when this river still flowed directly into the Mediterranean Sea (Molliex et al. 2013). The topography is extremely flat with more than 50% of the soil surface covered with siliceous stones washed down from the Alps. An agglomerate composed of stones in a calcium carbonate matrix, situated at a depth of between 40 cm and 60 cm below the ground, prevents the roots of plants from reaching the ground water and contributes to the edaphic dryness (Römermann et al. 2005). The Mediterranean climate is dry and windy with strong insolation throughout the year. The plain receives about 540 mm of rain per year, mainly in spring and autumn. The Mistral wind blows at more than 50 km h⁻¹ for 110 days year⁻¹ and the sun shines for more than 3000 h year⁻¹ (Devaux et al. 1983). In addition, for more than 2000 years, traditional sheep grazing has structured this plant community that is unique in terms of its species richness, composition and diversity (Cherel 1988; Badan et al. 1995; Henry 2009). The vegetation covers between 50% and 80% of the soil surface. There are on average 30 to 40 plant species per square metre with 50% composed of annuals (Römermann et al. 2005). Perennial species such as *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. and *Thymus vulgaris* L. dominate and structure the community because of their high biomass. The other characteristic plant species are *Asphodelus ayardii* Jahand. & Maire, *Linum gallicum* L. and *Stipa capillata* L. (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983).

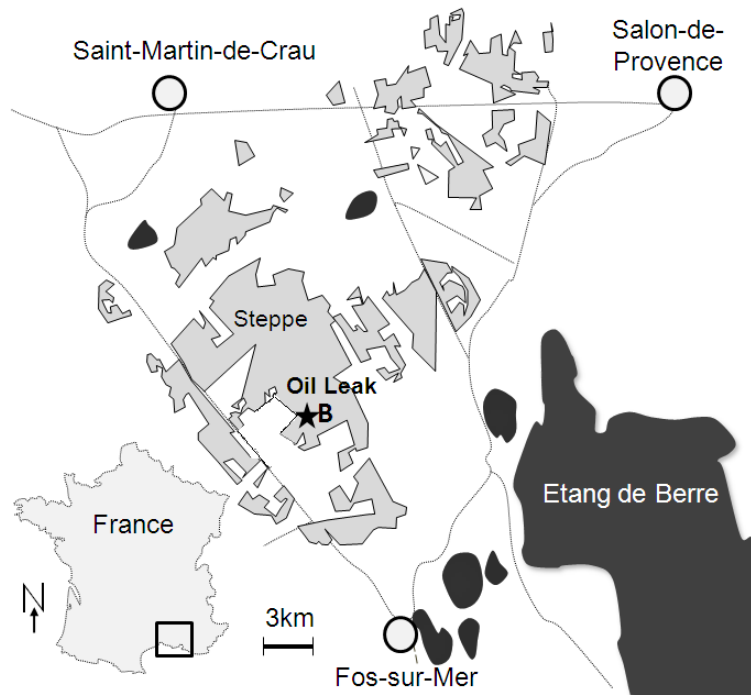


Figure 2.1: Location of the plain of La Crau in south-eastern France (A) and location of the rehabilitated site where the oil leak occurred. The National Natural Reserve is colored in gray (B).

Réserve Naturelle Nationale des Coussouls de Crau ($43^{\circ}31'36.77''N$, $4^{\circ}53'04.50''E$); the site had a surface area of 5.5 ha destroyed by a leakage of crude oil on 7 August 2009 (Figure 2.1). After excavation and removal of 72 000 t of the polluted soil, bulk transfer of soil of the same type from a nearby active quarry. Soil transfer kept the three main pedological layers separate: the organic topsoil, the mineral subsoil and the altered bedrock composed of gravel from the degradation of the calcareous agglomerate. In spring 2011, just after the spreading of the topsoil, the whole site was rolled to compact the surface of the transferred soil (Figure 2.2). The organic topsoil was a soil layer containing a mixture of organic matter (less than 30%) and mineral matter; and the mineral subsoil constituted the “structural” layer differing from the bedrock in its higher degree of alteration (presence of free Fe_2O_3), and differing from the surface topsoil in its different structure (Duchaufour 1984).

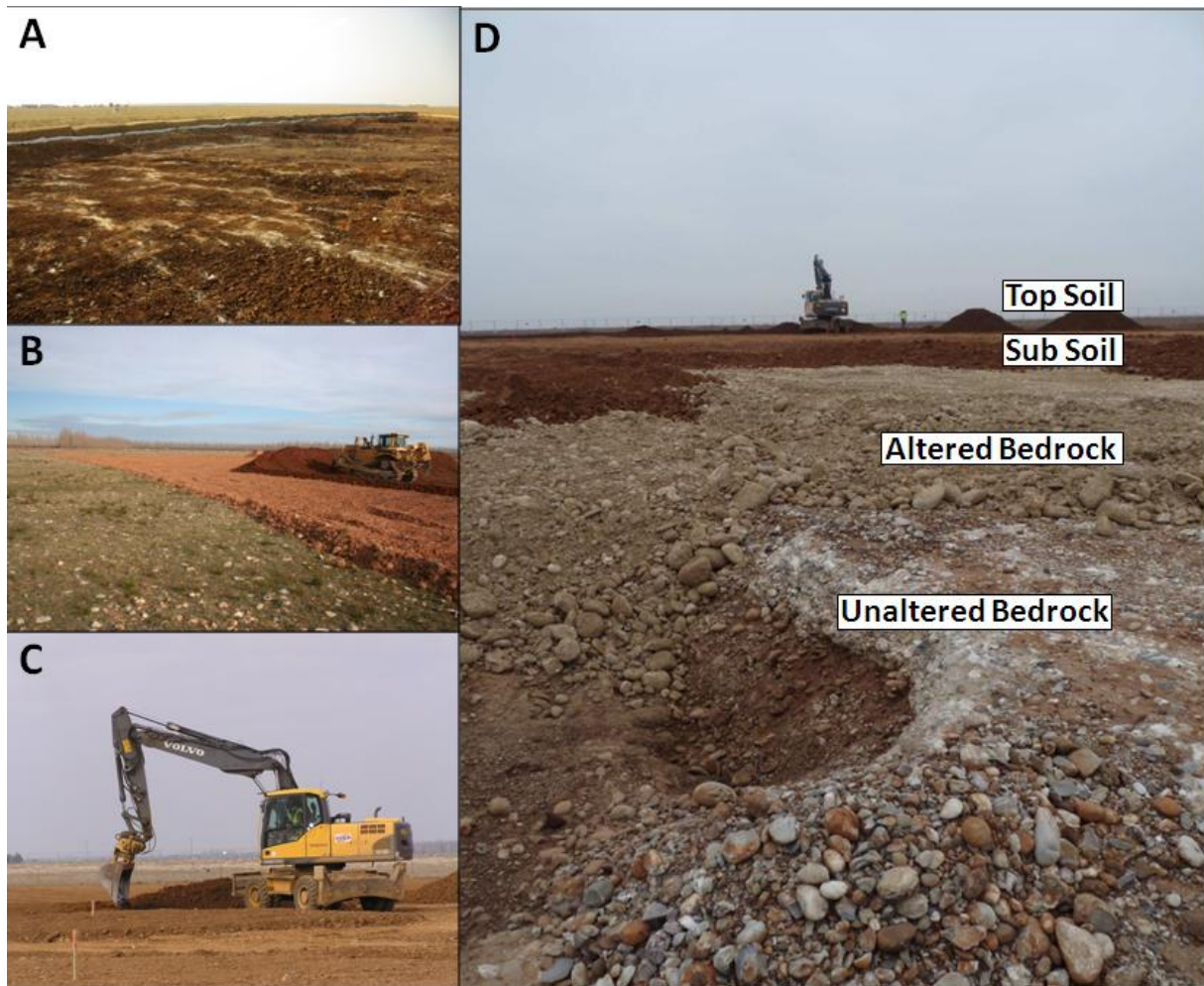


Figure 2.2: 2010-The site after excavation of the polluted soil (foreground) (A); the reference steppe is visible in the background; 2011-Soil removal in the donor site where the quarry will be extended in the future (right) and the undisturbed steppe (left) (B); 2011-Soil transfer on the rehabilitated site (background). Two plots for vegetation survey are visible in the foreground (C); 2011-Soil layers in the rehabilitated site which have been transferred from the donor site (D) (Credit photo: UMR CNRS-IMBE).

In order to test the importance of soil profile reconstruction”, five treatments were tested. Nine plots of 100 m² per treatment were deployed, comprising: (1) treatment “compacted topsoil”(CTS), including: altered bedrock (>40 cm of depth) + subsoil(20–40 cm of depth) + topsoil (0–20 cm of depth) with surface compaction, (2) treatment “uncompacted topsoil” (UTS), including: altered bedrock (>40 cm of depth) + subsoil (20–40 cm of depth) + topsoil (0–20 cm of depth) without surface compaction, (3) treatment “subsoil” (SS) including: altered bedrock (>40 cm of depth) + subsoil (0–40 cm of depth), (4) treatment “altered bedrock” (AB) including only the altered bedrock (surface to more than 40 cm of depth), and (5) reference steppe (Step): the intact soil vertical layer organisation of the steppe composed by the altered bedrock, the subsoil and the topsoil (Figure 2.3). The different treatments were applied from January 2011 to April 2011. The plots, where the subsoil is at the surface, were

set up last at the end of March 2011. The 100 m² surface area was chosen as it is notably larger than the minimum area of the herbaceous plant communities of La Crau, which is about 20 m² (Devaux et al. 1983). In order to favour as far as possible the recovery of plant species, sheep grazing has been excluded since spring 2011.

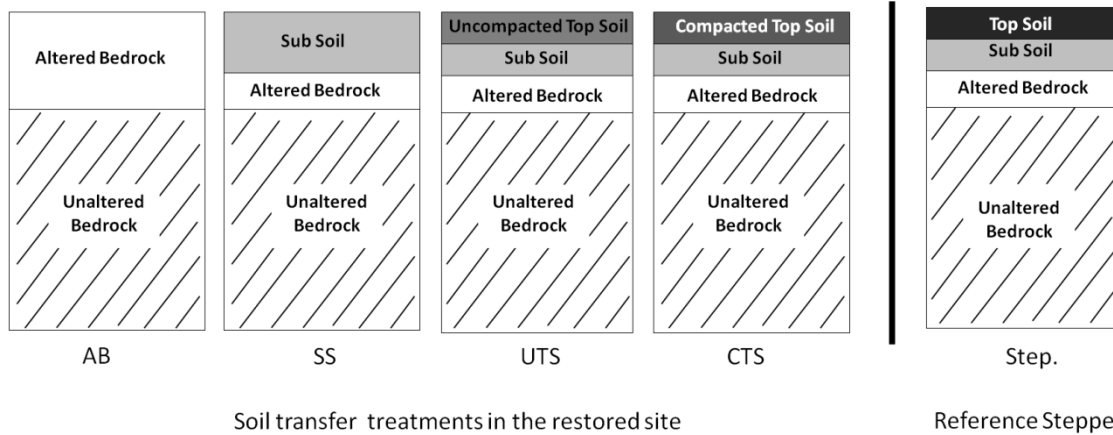


Figure 2.3: The four soil reconstitution treatments (AB: altered bedrock, SS: sub soil, UTS: uncompacted top soil, CTS: compacted top soil, Step.: undisturbed top soil of thereference steppe) after their transfer in the rehabilitated site (left), and main soil layers of the reference steppe (right).

2.2. Soil analyses

Soil samples were taken and analysed just after the end of the restoration work in April 2011. For this purpose, five 200 g soil samples were extracted at a depth of 0–10 cm in five 100 m² plots selected at random among the nine 100 m² sampled plots used to characterise each treatment (“uncompacted topsoil”, “subsoil”, “altered bedrock” in the restoration site, and the reference steppe surrounding the restoration site). These soil samples were constituted by mixing three sub-samples taken at random in each randomly selected plot. After drying and sieving (2 mm), chemical content (organic C, total N, C:N, CEC Metson, K₂O, P₂O₅, CaO, CaCO₃, pH) and the fine particle sizes (<2 mm) (percentages of clay(<0.002 mm), fine silt (0.002–0.02 mm), coarse silt (0.2–2 mm), fine sand (0.05–0.2 mm) and coarse sand (0.2–2 mm)) were measured without decarbonation by the soil analysis laboratory at INRA (*Institut National de la Recherche Agronomique*) following standardised methods (Baize 2000).

2.3. Vegetation analyses

To analyse vegetation recovery after the soil transfer, one 4 m² permanent sampling quadrats were delimited in the centre of each the 9 x 100 m² plots of the five treatments in

order to avoid any border effects (Buisson et al. 2006) and also in the undisturbed reference steppe surrounding the restoration site at least 20 m from the borders delimiting the restoration site.

In each 4 m² quadrat, the presence and the abundance of all the plant species present were recorded in May of each year (2011, 2012 and 2013). Each plant species sampled was identified as target species or non-target species with regard to the aims of the restoration. The target species are the species most characteristic of the reference steppe and which correspond to our restoration aims (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983). The non-target species are the plant species that are ruderal, cosmopolitan ubiquitous, invasive, etc., generally absent from the reference steppe (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983).

The abundance of each target or non-target plant species was defined by a cover class using a modified Braun-Blanquet scale (Braun-Blanquet et al. 1952), as follows: 1 = species covering less than 5 % of the 4 m² quadrat area, 2 = species covering between 5 and 25 %, 3 = species covering between 26 and 50 %, 4 = species covering between 51 and 75 %, 5 = species covering more than 75%, of the 4 m² quadrat area occupied by the vegetation, and finally 0.2 = species represented by a single individual in the 4 m² quadrat. The percentage of coverage and the average height of the vegetation were also measured.

2.4. Statistical data analyses

To test the effect of soil transfer on the physico-chemical parameters, between the treatments in the restored site and the reference steppe, soil particle sizes (fine and coarse sand, fine and coarse silt, clay) and nutrient contents (total carbon, total nitrogen, C:N, CEC Metson, K₂O, P₂O₅, CaO, CaCO₃, pH) were compared. To test the effect of soil transfer treatments on vegetation recovery in the restored site, plant composition, species richness (total, target species, non target species) and the plant community structure between the four treatments UTS, CTS, SS and AB with the reference steppe were compared. The community structure is measured using different indices (Bray-Curtis, Shannon, Evenness, CSII_{norm} and HAI indices), average vegetation height and vegetation percent cover. The Bray-Curtis index allows knowing if there are differences in species abundances in the sampling quadrats of the restored site in comparison with those of the reference steppe. The Shannon and Evenness indices allow measuring the repartition of plant population frequencies in the plant

community of each treatment. The $CSII_{norm}$ (Community Structure Integrity Index) and HAI (Higher Abundance Index) indices distinguish the proportion of species present with a higher abundance and also those present with a lower abundance in the restored site in comparison with the reference steppe (Jaunatre et al. 2013). Finally, the average height and percent cover of the vegetation give a proxy on vegetation volume and biomass for each treatment.

Since the parametric conditions (Lilliefors test) have not been validated for testing the interaction between the three years of vegetation monitoring and the different soil replacement treatments, this interaction could not be calculated. To compare the soil particle sizes, the nutrient content, the coverage, the average height of the vegetation, the species richness, the Shannon index, the Equitability (Pielou 1969), the Bray-Curtis distances, and the $CSII_{norm}$ and HAI (Jaunatre et al. 2013), we used ANOVA tests when the data followed a normal law (Lilliefors test). This first analysis was followed by post-hoc Tukey tests when a significant difference had been detected between treatments. When conditions were not normal, we used non-parametric Kruskal-Wallis tests followed by Mann-Whitney-Wilcoxon non-parametric tests, with the value of p was adjusted according to the method of Benjamini-Hochberg (Benjamini & Hochberg 1995), when a significant difference was detected between treatments. These different parametric and non-parametric tests were performed in order to compare between the different treatments of soil replacement during the third year of monitoring (2013), or to compare between the three years of monitoring (2011, 2012 and 2013) for a single soil replacement treatment.

The characteristics concerning the composition and the abundance of the plant species were ordinated using a NMDS (Non-metric Multidimensional Scaling) based on the Bray-Curtis similarity (Borcard et al. 2011) to visualise the changes in the vegetation structure, and the species which were the most correlated to each treatment.

The Bray-Curtis distance (Bray & Curtis 1957) is a dissimilarity index which we have used to measure the distance between the abundances of the plant species present in each soil replacement treatment and those present in the reference steppe. More specifically, for each quadrat monitored at the restored site, the mean Bray-Curtis distance between the nine quadrats of each treatment and the nine quadrats of the reference steppe was calculated. The mean of this distance varied from 0 to 1. If the value is 0, this signifies that a complete similarity namely an abundance of the plant species in the sampling quadrats at the restored

site strictly identical to those monitored in the reference steppe. On the other hand, if the distance value is 1, this signifies that there was a complete dissimilarity namely the abundance of the plant species was strictly different in the sampling quadrats of the restored site compared to that of the reference steppe.

Species diversity was calculated using the Shannon index and the Evenness that provide information on the distribution of plant population frequency in each treatment. The Shannon index is zero when the population is represented by a single species and becomes maximum when the population is evenly distributed between all species. The Evenness index, based on the Shannon index varies between 0 and 1. Its value is maximum when the population distribution is uniform between all species and is minimal when one species dominates (Pielou 1969).

The normalised Community Structure Integrity Index ($CSII_{norm}$) and the Higher Abundance Index (HAI) (Jaunatre et al. 2013) were used to assess the success of restoration of the plant community. The $CSII_{norm}$ index measures the proportion of the abundance of the species of the reference steppe represented in the community of the restored site, and the HAI index measures the proportion of the abundance of species in the restored site community which is higher than in the reference steppe community (Jaunatre et al. 2013).

All the statistical analyses were performed using the R software version 2.15.2. (*The R Foundation for Statistical Computing* 2012), with its packages for univariate analyses, and the additional packages ade4 (Chessel et al. 2004; Dray & Dufour 2007) and vegan (Oksanen et al. 2013) for the multivariate analyses.

2.3. Results

2.3.1. Effect of soil transfer on the physico-chemical parameters of the soil

The transferred soil showed significant differences in the soil physical properties (**Table 2.1**). The treatment “uncompacted topsoil” had a particle size that is roughly equivalent to that of the topsoil of the reference steppe although the quantities of silt and coarse sand are significantly greater. Nevertheless, there was no difference in terms of quantities of clay, fine silt and fine sand. The treatment “altered bedrock” presented a distinctly coarser fine particle size than that of the treatment “uncompacted topsoil” and than that of the reference steppe with significantly higher quantities of coarse silt and coarse sand. In contrast, the quantities were significantly lower for the clay, the fine silt and the fine sand. The particle size of the treatment “subsoil” had an intermediary position between that of the treatment “uncompacted topsoil” and that of the treatment “altered bedrock”.

The transferred soil also showed significant differences in the chemical properties (**Table 2.1**). The treatment “uncompacted topsoil” presented a significantly higher pH than in the reference steppe, but significantly lower than in the treatment “subsoil”, and again distinctly lower than in the treatment “altered bedrock”. There was no significant difference with regard to the content in CaO, CaCO₃ and total nitrogen (total N), K₂O, and with regard to the CEC of Metson between the treatment “uncompacted topsoil” and that of the reference steppe that had remained in place. These content levels were significantly lower in the treatment “subsoil” and even more significantly lower in the treatment “altered bedrock”.

Table 2.1: Soil analyses for each of the five treatments in April 2011: The measured values are means \pm standard errors; Within a row, two cases with a different letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.

	ANOVA Kruskal -Wallis	Altered bedrock	Sub soil	Uncompacted topsoil	Reference steppe
Clay (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 160$ $p < 0.001$	74.0 \pm 17.0 c	224.6 \pm 53.0 ab	244.8 \pm 58.0 a	209.0 \pm 49.0 ab
Fine silt (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 69.63$ $p < 0.001$	108.4 \pm 16.0 c	177.8 \pm 26.0 b	196.6 \pm 28.0 ab	199.6 \pm 29.0 a
Coarse silt (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 150.9$ $p < 0.001$	59.6 \pm 14.0 d	121.4 \pm 29.0 c	137.2 \pm 32.0 b	152.8 \pm 36.0 a
Fine sand (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $\chi^2 = 53.8$ $p < 0.001$	339.8 \pm 80.0 a	196.8 \pm 46.0 b	198.0 \pm 46.0 b	219.0 \pm 51.0 b
Coarse sand (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 31.75$ $p < 0.001$	418.2 \pm 99.0 a	279.4 \pm 66.0 bc	223.4 \pm 53.0 bc	219.6 \pm 52.0 d
Total carbon (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 91.87$ $p < 0.001$	1.59 \pm 0.4 c	9.14 \pm 2.0 b	14.06 \pm 3.0 a	15.96 \pm 4.0 a
Total nitrogen (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 96.8$ $p < 0.001$	0.19 \pm 0.0 c	1.05 \pm 0.2 b	1.47 \pm 0.3 a	1.5 \pm 0.3 a
C:N	$df = 4$ $F = 14.20$ $p < 0.001$	8.48 \pm 2.0 c	8.73 \pm 2.0 b	9.57 \pm 2.0 ab	10.6 \pm 2.0 a
CEC Metson (cmol+.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 21.66$ $p < 0.001$	2.45 \pm 1.0 c	6.59 \pm 2.0 b	8.17 \pm 2.0 a	7.69 \pm 2.0 a
K₂O (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 43.23$ $p < 0.001$	0.02 \pm 0.0 c	0.09 \pm 0.02 b	0.13 \pm 0.03 a	0.12 \pm 0.03 a
P₂O₅ (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 5.67$ $p < 0.01$	0.01 \pm 0.002 a	0.01 \pm 0.002 ab	0.01 \pm 0.002 b	0.07 \pm 0.002 b
CaO (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 19.86$ $p < 0.001$	9.14 \pm 2.0 a	5.63 \pm 1.0 a	2.77 \pm 1.0 b	1.87 \pm 0.4 b
CaCO₃ (g.kg⁻¹)	$df = 4$ $F = 21.90$ $p < 0.001$	265.0 \pm 63 a	19.36 \pm 5.0 b	1.58 \pm 4.0 c	1.00 \pm 0.2 c
pH	$df = 4$ $F = 145.3$ $p < 0.001$	8.78 \pm 2.0 a	8.13 \pm 2.0 b	7.44 \pm 2.0 c	6.55 \pm 1.0 d

2.3.2. Effect of soil transfer on the vegetation

2.3.2.1. Percent cover and average height

In the reference steppe, the percent cover of the vegetation stayed relatively stable during the three years of monitoring (2011, 2012 and 2013). In the treatment “compacted topsoil”, the percent cover of the vegetation increased from 2011 to 2013, but in the treatment “uncompacted topsoil”, it increased only significantly between 2011 and 2012. In the treatments “subsoil” and “altered bedrock”, this percent cover was low although it increased significantly between 2012 and 2013 (**Figure 2.4A**). In spring 2013, the percent cover was not significantly different between the reference steppe and the treatments “compacted topsoil” and “uncompacted topsoil”. Nevertheless, it was significantly lower in the treatments “subsoil” and “altered bedrock” in the restored site (**Table 2.2**).

In the reference steppe, the average height of the vegetation significantly increased between 2011 and 2012, and significantly declined between 2012 and 2013. In the treatments “compacted topsoil”, “uncompacted topsoil” and “subsoil”, this average height significantly increased between 2011 and 2012 whereas in the treatment “altered bedrock”, this parameter significantly increased between 2012 and 2013 (**Figure 2.4B**). In spring 2013, the average height of the vegetation was significantly higher in the treatments “uncompacted topsoil” and “compacted topsoil”, compared to the average height of the vegetation of the reference steppe. In contrast, the average height of the vegetation in the treatment “subsoil” and in the treatment “altered bedrock” was not always significantly different from that of the reference steppe (**Table 2.2**).

2.3.2.2. Species richness

Between 2011 and 2012, the total species richness of the vegetation significantly increased in the treatment “subsoil”, whereas it had significantly declined in the treatment “altered bedrock”. In the treatment “compacted topsoil”, the total number of species increased only between 2012 and 2013. The total species richness in the treatment “uncompacted topsoil” and in the reference steppe was stable between 2011 and 2013 (**Figure 2.4C**). The species richness in target plant species followed the same pattern as the total species richness in all soil transfer treatments and in the reference steppe for the three years of monitoring

(**Figure 2.4D**). The species richness in non-target plant species significantly declined in the treatments “compacted topsoil”, “uncompacted topsoil” and “altered bedrock” between 2011 and 2012; but then increased, between 2012 and 2013, in the treatment “altered bedrock”. There was no significant difference in non-target species richness from 2011 to 2013 in the treatment “subsoil” and in the reference steppe (**Figure 2.4E**).

In spring 2013, there was no significant difference between the total species richness in the treatments “subsoil” and “altered bedrock”, and that of the reference steppe. The total species richness was however significantly higher in the treatments “compacted topsoil” and “uncompacted topsoil”. The richness in target plant species showed a similar pattern to that of the total species richness, but it was significantly lower in the treatment “altered bedrock” than in the reference steppe. However, the species richness in non-target plant species was significantly higher for all soil transfer treatments at the restored site compared to that of the reference steppe (**Table 2.2**).

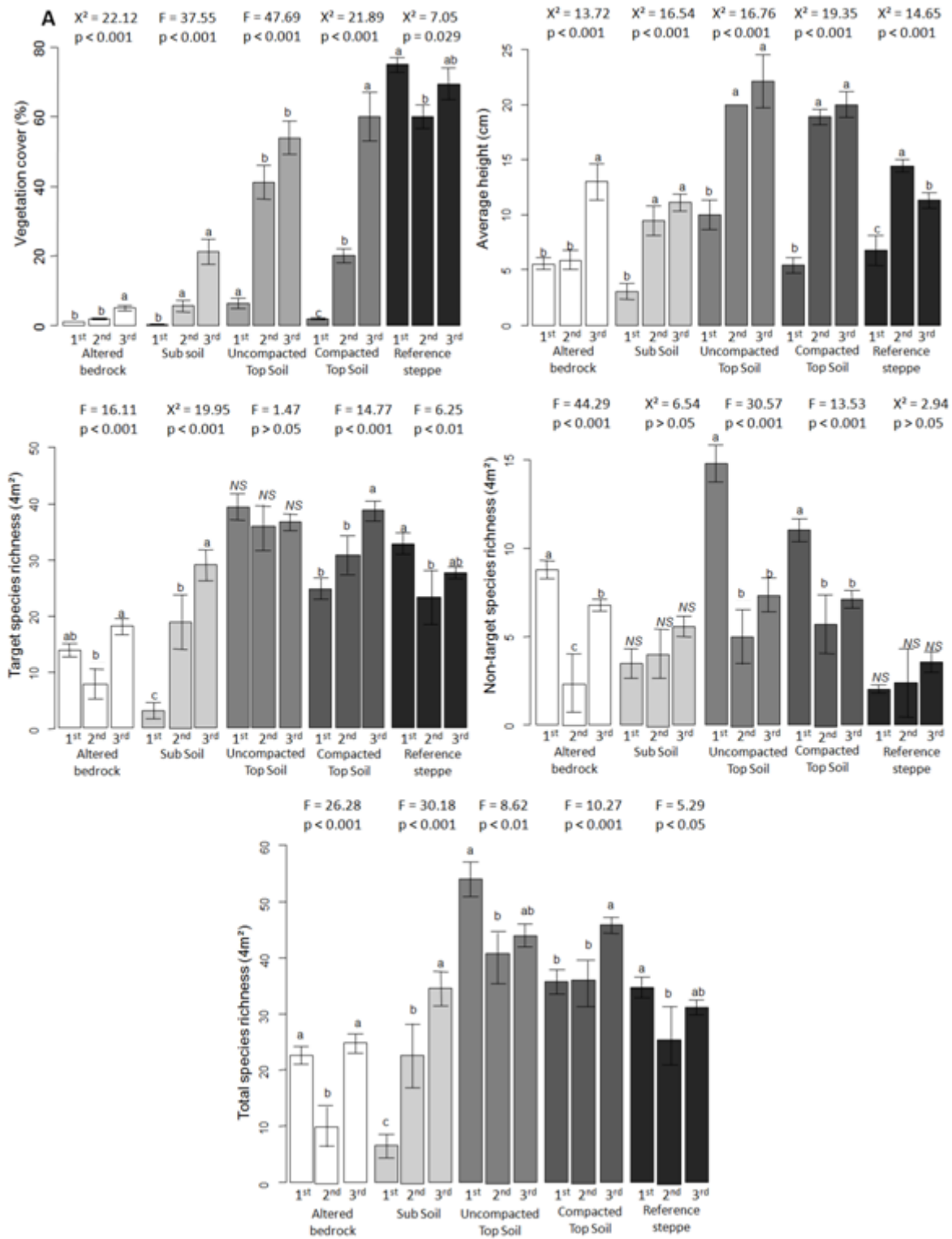


Figure 2.4: Means and standard errors of vegetation cover (%) (A), mean height (cm) (B), target species richness (4m²) (C), non-target species richness (4m²) (D) and total species richness (4m²) (E) during the three years of vegetation survey (2011, 2012 and 2013) for each treatment: undisturbed top soil of the reference steppe (very dark grey), compacted top soil (dark grey), uncompacted top soil (grey), sub soil (light grey) and altered bedrock (white). F and p values of ANOVA tests or X² and p values of Kruskal-Wallis tests, performed within each treatment, to compare years, are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.

2.3.2.3. Composition and abundance of plant species

The NMDS ordination showed a gradient of vegetation composition respectively of the reference steppe towards the treatments “compacted topsoil” and “uncompacted topsoil”, then towards the treatment “subsoil” and finally towards the treatment “altered bedrock” (Figure 2.5A). All soil transfer treatments were clearly separated from the reference steppe.

The reference steppe was characterised by its most representative species as the perennial species, *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae), which dominate the steppe plant community, and by the presence of other annual species such as *Lysimachia linum-stellatum* (L.) Duby (Primulaceae) or *Aira cupaniana* Guss (Poaceae) (Figure 2.6). The vegetation had a very slow dynamic during the three years of monitoring, as indicated by the trajectories of its barycentre (Figure 2.5B). This means that there was very little change in the composition and abundance of the plant species in the time. Furthermore, the vegetation was relatively homogeneous in term of composition and abundance of plant species.

There was a clear separation between the soil transfer treatments of the restored site and the reference steppe. The treatments “compacted topsoil” and “uncompacted topsoil”, and the treatment “subsoil” were less distant from the reference steppe, but there were non-target graminaceous species such as *Hordeum murinum* L. (Poaceae) or *Lolium rigidum* Gaudin (Poaceae) which dominate the restoration treatments instead of *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae) (Figure 2.6). These treatments were also characterised by other non-target species such as *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (Poaceae), but also by annuals target species which were present with higher abundance than in the reference steppe, for examples *Medicago monspeliaca* (L.) Trautv. (Fabaceae), *Euphorbia falcata* L. (Euphorbiaceae) or *Neatostema apulum* (L.) I.M.Johnst. (Boraginaceae) (Figure 2.6). In these three treatments, there were strong changes in vegetation composition and distribution between the first and the second year, but after the second year, these changes were weaker. However, these changes in the floristic composition were more important than in the reference steppe (Figure 2.5B). Finally, the treatment “altered bedrock” was characterised by pioneer annual target species such as *Silene nocturna* L. (Caryophyllaceae) or *Petrorhagia prolifera* (L.) P.W.Ball & Heywood (Caryophyllaceae), but also by other non-target species such as *Kali soda* L. (Amaranthaceae) and *Diplotaxis tenuifolia* (L.) (Brassicaceae). Annual vegetation changes were still important for this treatment during all the monitoring period (Figure 2.5B).

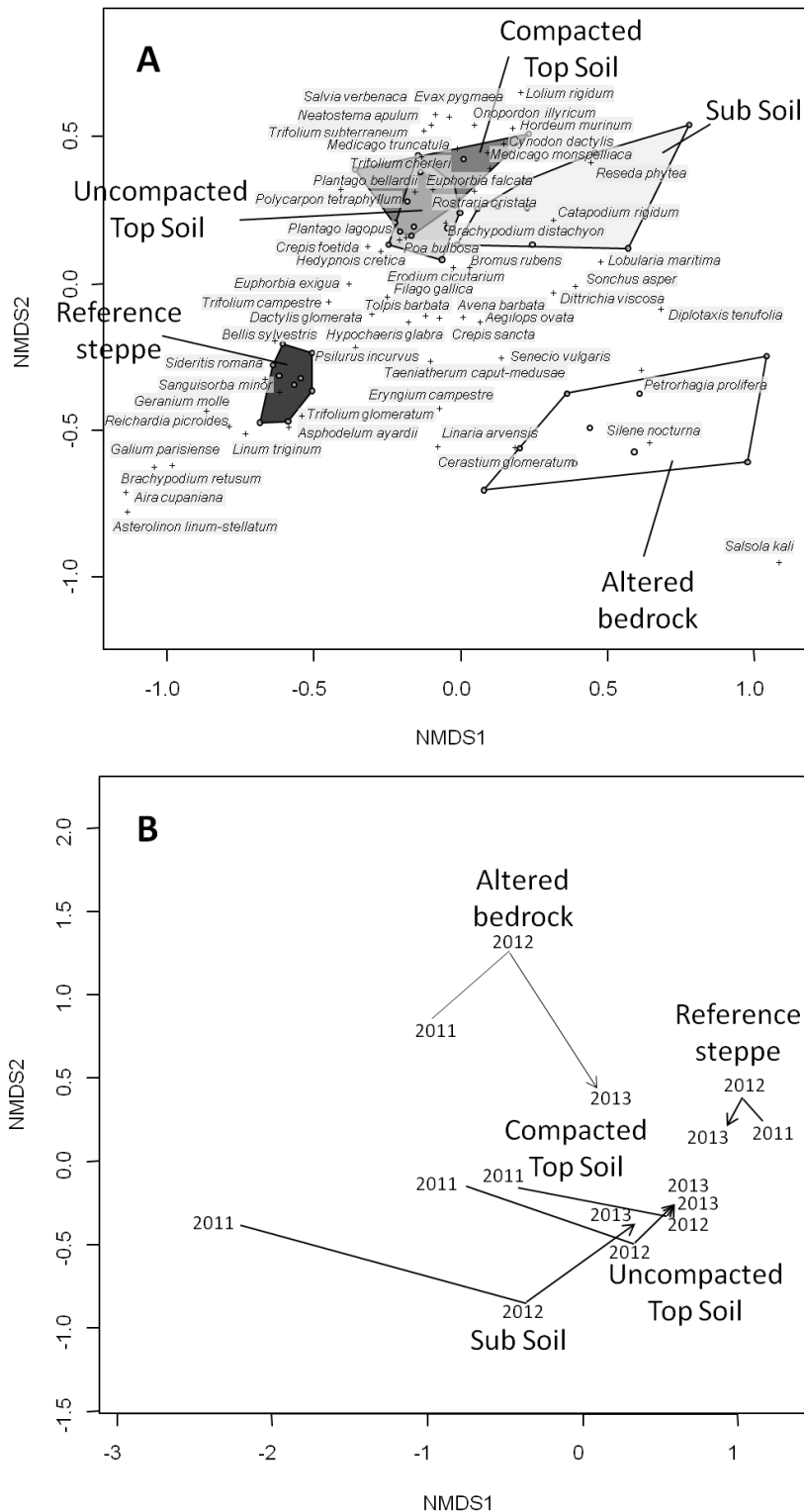


Figure 2.5: NMDS ordination based on 9 vegetation samples for each of the five treatments (n = 45). The A plot shows only the 2013 samples grouped by treatment with polygons: undisturbed top soil of the reference steppe (very dark grey), and compacted top soil (dark grey), uncompacted top soil (grey), sub soil (light grey) and altered bedrock (white) transferred. To clarify, only the most correlated plant species to the two first axes are literally inscribed. The B plot shows the vegetation dynamic for each treatment, according the position of their barycenter during the three years of the vegetation survey (2011-2012-2013).

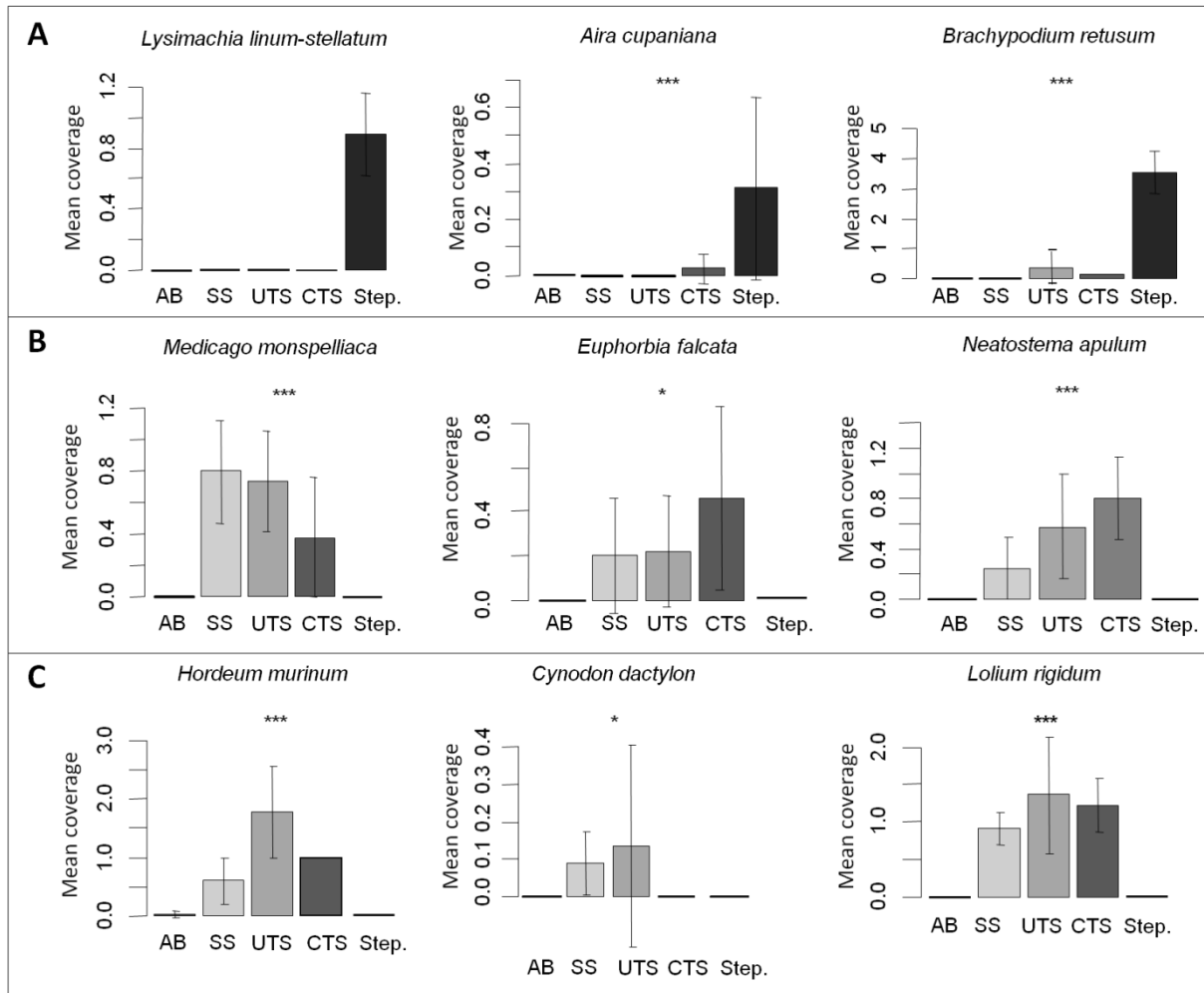


Figure 2.6: Mean percent cover of (A) three characteristic plant species only found in the reference steppe, (B) three target species present in the restored site and absent from the reference steppe, and (C) three non-target species dominant in the restored site and absent from the reference steppe (AB: altered bedrock, SS: sub soil, UTS: uncompacted top soil, CTS: compacted top soil, Step.: undisturbed top soil of the reference steppe). The ordinate scale, between two, plots is different and corresponds to the mean abundance coefficient.

In spring 2013, calculation of the Bray-Curtis distance showed a great dissimilarity, which was significant, for the treatments “subsoil” and “altered bedrock” with the reference steppe. In contrast, the treatments “compacted topsoil” and “uncompacted topsoil” showed a lower dissimilarity which was not significant, with the reference steppe and with treatments “subsoil” and “altered bedrock” (Table 2.2).

The Shannon index and the Evenness also showed the same pattern as species richness with significantly higher values in the transferred topsoil compacted or not and significantly lower values in the altered bedrock compared to the reference steppe topsoil (Table 2.2).

For the soil transfer treatments, excepted for the treatment “altered bedrock”, the CSII_{norm} index showed a significant increase between 2011 and 2012. Between 2012 and 2013, this index has decreased only in the treatment “uncompacted topsoil” (Figure 2.7A). In spring 2013, the treatments “compacted topsoil” and “uncompacted topsoil” presented a significantly higher proportion of reference steppe species in terms of abundance with a high CSII_{norm} index compared with the treatment “subsoil” and “altered bedrock” (Table 2). The HAI index showed a significant increase in the treatments “uncompacted topsoil” and “compacted topsoil” between 2011 and 2012, then this index has significantly increased only in the treatment “altered bedrock” between 2012 and 2013 (Figure 2.7B). In spring 2013, the HAI index was relatively high in all the other soil transfer treatments and significantly different with the reference steppe (Table 2.2).

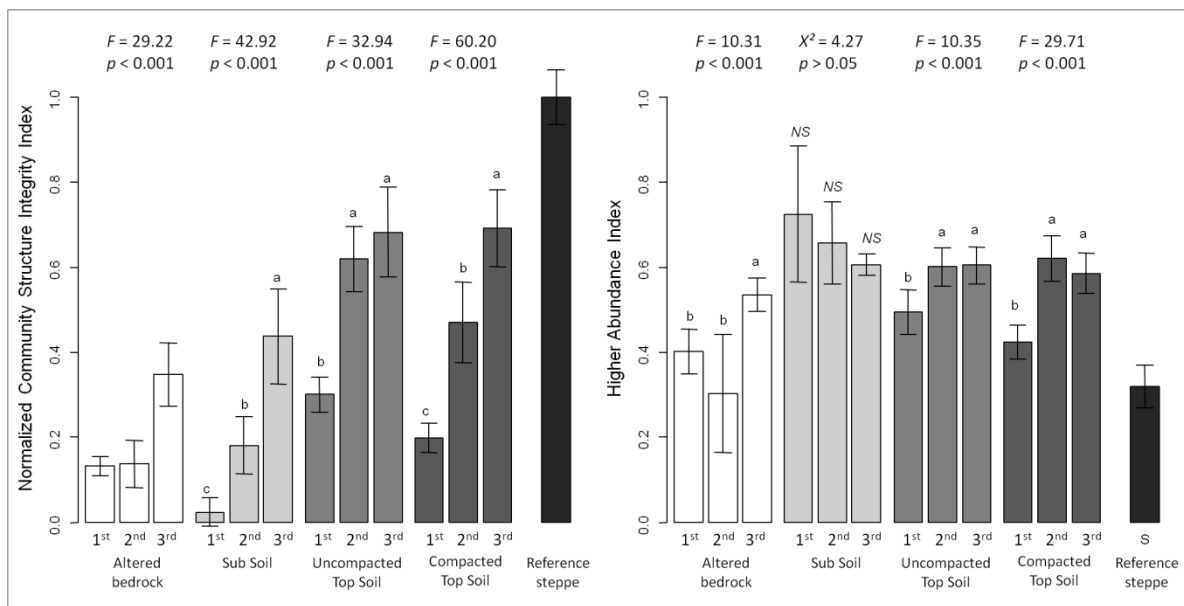


Figure 2.7: Means and standard errors of (A) normalized community structure integrity index, and (B) higher abundance index for the three years of vegetation survey (1st: 2011, 2nd: 2012, 3rd: 2013) for each treatment: undisturbed top soil of the reference steppe (very dark grey), and compacted top soil (dark grey), uncompacted top soil (grey), sub soil (light grey) and altered bedrock (white) transferred. F and p values of ANOVA tests or X² and p values of Kruskal-Wallis tests, performed within each treatment, to compare years, are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters don't have a significant difference according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.

Table 2.2: Plant community characteristics for each treatment after 3 years, in spring 2013:
The measured values are means \pm standard errors; within a row, two cases with a different letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.

	ANOVA Kruskal - Wallis	Altered Bedrock	Sub Soil	Uncompacted Top Soil	Compacted Top Soil	Reference Steppe
Total Species Richness	$df = 4$ $F = 18.82$ $p < 0.001$	24.78 ± 3.69 c	34.44 ± 5.13 b	43.89 ± 6.54 a	45.78 ± 6.82 a	31.11 ± 4.64 bc
Target Species Richness	$df = 4$ $F = 21.85$ $p < 0.001$	18.00 ± 2.68 c	28.89 ± 4.31 b	36.56 ± 5.45 a	38.67 ± 5.76 a	27.56 ± 4.11 b
Non – target Species Richness	$df = 4$ $F = 8.813$ $p < 0.001$	6.78 ± 1.01 a	6.11 ± 0.91 a	7.67 ± 1.14 a	7.56 ± 1.13 a	3.11 ± 0.46 b
Mean Height	$df = 4$ $X^2 = 24.66$ $p < 0.001$	13.00 ± 1.94 ab	11.11 ± 1.66 b	22.11 ± 3.30 a	20.00 ± 2.98 a	11.33 ± 1.69 b
Vegetation cover	$df = 4$ $F = 51.83$ $p < 0.001$	5.00 ± 0.74 c	21.11 ± 3.15 b	53.89 ± 8.03 a	60.00 ± 8.94 a	69.44 ± 10.35 a
Bray-Curtis Index	$df = 4$ $F = 8.558$ $p < 0.001$	0.71 ± 0.10 a	0.68 ± 0.10 ab	0.60 ± 0.09 abc	0.58 ± 0.68 bc	0.51 ± 0.08 c
Shannon Index	$df = 4$ $F = 19.25$ $p < 0.001$	1.48 ± 0.22 c	1.64 ± 0.24 b	1.79 ± 0.27 a	1.82 ± 0.27 a	1.61 ± 0.24 bc
Evenness	$df = 4$ $F = 19.25$ $p < 0.001$	0.30 ± 0.04 c	0.34 ± 0.05 b	0.37 ± 0.05 a	0.37 ± 0.06 a	0.33 ± 0.05 bc
CSII_{norm} Index	$df = 4$ $F = 54.43$ $p < 0.001$	0.35 ± 0.02 c	0.44 ± 0.03 c	0.68 ± 0.02 b	0.69 ± 0.02 b	1.00 ± 0.01 a
HAI Index	$df = 4$ $F = 114$ $p < 0.001$	0.57 ± 0.01 b	0.63 ± 0.01 ab	0.64 ± 0.01 a	0.62 ± 0.01 ab	0.24 ± 0.01 c

4. Discussion

In this work, we have studied the regeneration of a steppe vegetation, in the plain of La Crau, after a soil transfer on a restored site done in spring and without soil storage. The originality of this soil transfer resides especially in the fact that it was conducted by testing different degrees of complexity of the soil vertical layer organisation and on soil surface compaction. The general aim was thus to find the best compromise between the effectiveness of this ecological restoration technique and its ecological sustainability to economise the soil and to limit the passage of worksite machinery.

The rapid transfer of the topsoil replaced at the surface gave rise to some significant differences in the physico-chemical characteristics of the soil compared to the topsoil that remained in place in the reference steppe. However, soil nutrient contents were similar between the transferred plots and the reference steppe. In the plain of La Crau, Jaunatre et al. (2014a) have already measured that the soil transfer did not affect the soil properties, unlike some turf translocations in Great Britain (Trueman et al. 2007). On the other side, the C:N ratio was lower in the transferred topsoil whereas the pH and calcium increased by at least one unit in relation to the reference steppe as already measured in the plain of La Crau (Coiffait-Gombault et al. 2011; Jaunatre et al. 2014a). We assume that the soil transfer had probably increased the oxidation of the labile organic matter of the transferred topsoil and/or the solubilisation of calcium carbonates from the calcareous matrix or calcareous stones degraded during the transfer. Similarly, the increase of the coarse sand content in the transferred topsoil may be linked to the crushing of certain siliceous stones degraded during the transfer.

Two years after the soil transfer and replacing the topsoil at the surface without compaction, the plant community was constituted by more than 50% of annual species, as it was in the reference steppe (Molinier & Tallon, 1950; Devaux et al. 1983; Römermann et al. 2005). In 2012, only a year after the soil transfer, the plant species richness was significantly greater than that of the reference steppe with the presence of a higher number of target species both annual (*Galium* sp., *Linum trigynum* L. or *Sideritis romana* L. (Lamiaceae) and perennial (*Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. (Poaceae), *Dactylis glomerata* L. (Poaceae) or *Bellis sylvestris* Cirillo (Asteraceae). The success also lies in the fact that very few non-target

species such as *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (Poaceae), *Dittrichia viscosa* L. Greuter (Asteraceae), *Diplotaxis tenuifolia* (L.) DC. (Brassicaceae) or *Hordeum murinum* L. (Poaceae) have developed contrary to a first soil transfer realized in the plain of La Crau (Jaunatre et al. 2014a). It can be related to the low fertility of the transferred soil on the restored site. Indeed, nitrogen and organic carbon levels were similar than in the reference steppe. Jaunatre et al. (2014a) have measured that the soil transfer did not affect the soil fertility, unlike some turf transfers (Trueman et al. 2007). These abiotic conditions can also explain the plant percent cover which was equivalent to that of the steppe reference in 2013. However, the vegetation had a greater mean height and the percent cover has increased continually during the monitoring period. Then, it seems necessary now to re-establish a management system that will control vegetation growth. The return of sheep grazing is probably the best tool, due to trampling and biomass consumption (Gibson & Brown 1992; Bullock 1998; Stroh et al. 2002; Henry 2009). Moreover, we suggest that the differences measured between 2011 and 2013/2013 in the reference steppe were due to interannual variations in grazing pressure which is a characteristic of the grazing system in the Crau area (Dureau & Bonnefon 1997).

The plant species richness, composed by 84 % of target species, higher than in the reference steppe, can be explained in this restoration treatment by the viable seeds contained in the transferred soil seed bank, but also probably by the low density of non-target seed bank which did not prevent the establishment of target species (Baer et al. 2008; Standish et al. 2008; Jaunatre et al. (2014a). In addition, the reference steppe was an old steppe strongly dominated by the perennial species *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. which leaving less space free for the expression of other annual plant species (Henry 2009; Saatkamp et al. 2010).

The species diversity, although higher than in the reference steppe, remains relatively low. However, the restored plant community seems slightly more evenly distributed among species. This can be explain by the fact that *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. (Poaceae) did not dominate the young restored site in comparison with the old reference steppe. As against, the frequency of plant species, which was different until one year after the soil transfer, is no longer dissimilar to those of the reference steppe. This result is innovative in the plain of La Crau where the abundance of plant species remained very different from the

steppe with regard to a soil transfer carried out by spreading on a hay meadow with a 1/3 ratio even three years after the end of operations (Jaunatre et al. 2014a).

Nevertheless, in our case, the restoration success of the plant structure community, taking into account the indices measuring the integrity of the steppe, is not reached. Indeed, the proportion of abundance of the reference steppe plant species represented in the restored community is still significantly low, and the proportion of species abundances in the restored community, higher than in the reference steppe community, is significantly higher. On the other hand, unlike the study of Jaunatre et al. (2014a), the species, present in greater abundance on the restored site than on the reference steppe, are for the most part target species that are not expressed in the old reference steppe (*Evax pygmaea* (L.) Brot. (Asteraceae), *Ranunculus paludosus* Poir. (Ranunculaceae), *Neastostema apulum* (L.) I.M.Johnst. (Boraginaceae) or *Plantago bellardii* All. (Plantaginaceae). The restored site nevertheless remains dominated in frequency of species by plant species such as *Hordeum murinum* L. (Poaceae), *Bromus* sp. (Poaceae) and *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv. (Poaceae), which are the species present in very low abundance in the reference steppe.

In spring 2013, with the reconstitution of the altered bedrock and the subsoil until the soil surface, the plant community has a target species rate of less than 20% from that of the reference steppe, but the total species richness was similar. Nevertheless, the proportion of target species, based on the total number of species, reaches 82%. When only the altered bedrock is replaced, the species richness was lower than in the treatment where the three main soil layers were reconstituted, with 56% of species which are less. However, 73% of species identified on this soil transfer treatment are target species.

Concerning the species composition, the treatment with only the reconstruction of the altered bedrock, can be clearly distinguished from the other treatments and the reference steppe by the presence of few pioneer species, such as *Petrorhagia prolifera* (L.) P.W.Ball & Heywood (Caryophyllaceae) or *Silene nocturna* L. (Caryophyllaceae). A very rapid increase in the number of species was measured on the treatment with the subsoil on the soil surface. It corresponded to an artifact because the vegetation there was not yet developed between the ends of the implementation of this treatment plots (April 2011) and the vegetation surveys (May 2011) in contrast to other treatments installed from January 2011. Without the reconstitution of the organic topsoil layer, the species diversity was similar to that in the

reference steppe, but a significant dissimilarity was measured as regards to plant species abundance. This may be due to the dominance of annuals Poaceae as *Avena barbata* Pott ex Link (Poaceae), *Bromus* sp. (Poaceae), *Lolium rigidum* Gaudin (Poaceae) or *Hordeum murinum* (Poaceae) on these two treatments, as well as the reference steppe which is dominated by *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. (Poaceae).

When the subsoil or the altered bedrock was implement until the soil surface, between the first and the second year of the vegetation survey, percent cover and mean height of the vegetation increased significantly. On the other side, the percent cover stayed very low on the altered bedrock probably because of the stressful soil conditions. In contrary, on the subsoil, the vegetation seemed stable between the second and the third year of the vegetation survey, even in the absence of sheep grazing. In fact, the percent cover and the mean height of the vegetation stopped to grow and become similar to those of the reference steppe. The return of the sheep grazing can be considered on the treatment with the subsoil at the soil surface to preserve, in the long term, bare soil spaces favorable to the stress-tolerant annual targets species (Gibson & Brown 1992; Bullock 1998); and also on the treatment with the altered bedrock at the soil surface to control vegetation height.

No significant differences were measured between the treatments with the topsoil at the soil surface compacting or not. The soil compaction did not seem to increase or accelerate the soil transfer success in this ecosystem, although it seemed to decelerate the vegetation cover recovery of the restored site. Indeed, one year after the soil transfer, the percent cover was 20% on the compacted plots against 40% on the uncompacted plots. However, the sheep grazing can have the same function to open the ecosystem (Gibson & Brown 1992; Bullock 1998; Stroh et al. 2002; Henry 2009).

After the soil transfer, a very strong recovery of the steppe plant community can be measured especially in terms of species richness and composition. These first results were comparable with other results already obtained in temperate grasslands (Bullock 1998; Good et al. 1999; Box 2003; Trueman et al. 2007; Eichberg et al. 2010) or in the plain of La Crau (Jaunatre et al. 2014a). The best results were obtained with the total reconstitution of the vertical soil layer organisation, even in terms of species abundance. However, without the topsoil layer, the results are also very promising with only the subsoil replaced at the surface. A soil transfer by spreading of an organic-mineral mixture, without compacting, may then be

sufficient to obtain equally rapid results. This might also provide a means to increase the area over which the transferred soil could be spread by inoculation in ratios of 1 to 2 or 1 to 3. Also the soil transfer with a ratio of 1 to 1 does not result in a gain in terms of ecological restoration. For this, the turf transfer, which allows a recolonisation on the receiver site and a healing on the donor site, is a technical line to explore a framework researching a sustainability of practices. More, the soil compaction does not seem necessary, especially since it induces additional CO₂ emissions and higher costs.

None of the soil replacement treatments, even if based on ecological engineering guidelines, made it possible to fully restore the integrity of the reference steppe plant community in the very short term (3 years), especially in terms of abundance / dominance of plant species and vegetation density. Now, the return of the ancestral sheep grazing seems the priority on the restored site. The actions of consumption, trampling and seed dispersal (endozoochory, exozoochory) should provide the means to speed up the spatial structuring of the steppe vegetation. Though very promising results for restoring plant communities with high species richness are obtained with the soil transfer (Pywell et al. 1995; Bullock 1998; Good et al. 1999; Box 2003; Vécirin & Muller 2003; Trueman et al. 2007; Eichberg et al. 2010; Jaunatre et al. 2014a), this method of ecological restoration is non-sustainable because it is destructive of a non-renewable resource, the soil. Also, the conveyed soil transfer is pollutant and uses non-renewable energies. It should in no way be a substitute for *in situ* conservation (Mc Lean 2003).

PARTIE 2

Recherche de nouveaux outils en Ingénierie Ecologique

TRANSITION VERS LE CHAPITRE 3

A ce jour, aucun projet de restauration écologique n'a réussi à restaurer l'intégralité d'un écosystème, même si des résultats positifs sont mesurés par rapport aux objectifs visés (Benayas et al. 2009). De plus, la restauration écologique fait encore trop souvent appel à l'ingénierie civile qui est non durable. Pour répondre aux objectifs fixés par la conférence internationale sur la diversité biologique de 2010, il est donc nécessaire de passer progressivement vers une ingénierie écologique durable. De nouveaux outils doivent donc être développés.

Le **chapitre 3** constitue une étude préalable afin d'identifier si la fourmi *Messor barbarus* est un bon partenaire en ingénierie écologique pour compléter la restauration écologique de la communauté steppique de la plaine de La Crau par ses rôles d'ingénieur de l'écosystème (Jones et al. 1997). Des analyses ont été menées sur l'action de la fourmi *Messor barbarus* sur la redistribution des graines et sur l'émergence des plantules des espèces végétales caractéristiques de la plaine de La Crau *via* la construction de dépotoirs à une échelle locale. L'objectif était de mieux appréhender si cette espèce de fourmis moissonneuses peut aider à la restauration de la structuration de la communauté végétale steppique de référence (**Figure T.3**).

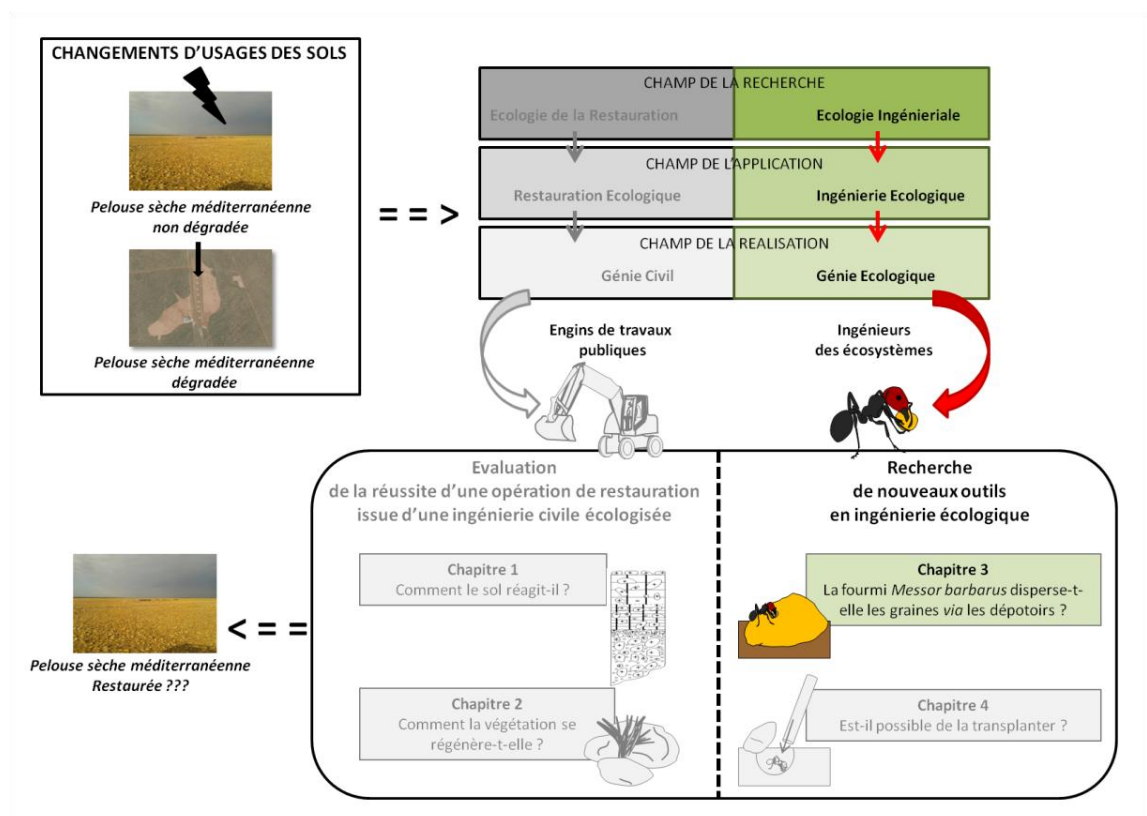


Figure T.3: Localisation du chapitre 3 dans l'organisation générale de la thèse.



Ouvrières de *Messor barbarus* rejetant des graines dans un dépotoir
(Crédit photo: Laurence Berville - IMBE)



Protocole d'émergence de la banque de graines des dépotoirs sous serre
(Crédit photo: Solène Masson - IMBE)

CHAPITRE 3

Les dépotoirs des fourmis augmente la richesse spécifique des graines et des plantes mais pas la viabilité des graines transitoires

CHAPTER 3

***Ant refuse piles increase seed and plant species-richness
but not the viability of transient seeds.***

Adeline Bulot, Erick Provost & Thierry Dutoit

(Soumis dans *Journal of Vegetation Science*, 22 juillet 2014)

Résumé du chapitre 3

Questions: 1. Les dépotoirs, construits par *Messor barbarus*, affectent-ils la distribution des graines dans les pelouses Méditerranéennes? 2. La composition, la richesse spécifique et la densité des graines, en automne et en hiver, sont-elles localement différentes dans les dépotoirs comparées à des zones sans dépotoirs? 3. Les dépotoirs augmentent-ils la viabilité de la banque de graines transitoire, ou accentuent-ils les différences de composition dans la banque de graines permanente? 4. Y a-t-il des différences dans la végétation analysée, au printemps suivant, dans les dépotoirs qui ont passé l'hiver ou qui ont été détruits, en comparaison à des zones sans dépotoir?

Location: Pelouse méditerranéenne dans le Sud-Est de la France, près de Marseille.

Methods: en automne et en hiver, les banques de graines ont été analysées *ex situ* dans une serre selon la méthode d'émergence des cultures, à la fois dans les dépotoirs et dans des sols prélevés dans des zones sans activité de fourmis. Le printemps suivant, la végétation a été analysée *in situ* sur les dépotoirs, sur les zones où les dépotoirs ont été naturellement détruits en hiver et sur des zones contrôles sans activité de fourmis.

Results: La richesse spécifique de la banque de graines et la densité des graines étaient significativement plus élevées en automne et en hiver dans les dépotoirs que dans des sols prélevés en même quantité dans des zones sans activité de fourmis. Cependant, aucune augmentation de la viabilité de la banque de graines transitoire n'a été détectée en hiver dans les dépotoirs mais une différence significative a été détectée concernant la composition de la banque de graines permanente entre les dépotoirs et les sols sans dépotoir. Au printemps suivant, la végétation sur les dépotoirs montre une densité et une richesse spécifique des plantules significativement plus faibles que sur les zones de même superficie sans activité de fourmis. En revanche, la densité et la richesse spécifique des plantules étaient significativement plus élevées sur les zones où les dépotoirs ont été détruits naturellement au cours de l'hiver.

Conclusions: Nous confirmons que la construction de dépotoirs par *M. barbarus* permet d'augmenter la densité et la richesse spécifique des graines. Pour la première fois, nous montrons qu'un impact positif sur la future végétation peut être observé seulement si les dépotoirs sont naturellement détruits pendant l'hiver. Aucune augmentation de la viabilité des graines transitoire n'a été mesurée.

Key-words: Myrmécochorie, dispersion des graines, diversité des plantes, coexistence des espèces, interactions plantes-insectes, fourmi moissonneuse, *Messor barbarus*, pelouse méditerranéenne.

Abstract of the chapter 3

Questions: 1. Do refuse piles constructed by harvester ants (*Messor barbarus* L.) affect seed distribution in Mediterranean grasslands? 2. Do their small-scale seed composition, richness and density in autumn and winter differ from those of areas without refuse piles? 3. Do refuse piles increase transient seed viability or heighten differences in permanent soil seed bank composition? 4. Are there differences in the vegetation found the following spring in refuse piles that have survived the winter, or on sites where they have been destroyed, compared to soil areas without refuse piles?

Location: Mediterranean grasslands in south-eastern France, near Marseille.

Methods: Autumn and winter seed banks were measured *ex situ* in a greenhouse, using the seedling emergence method, both in refuse piles and soil without refuse piles. The following spring, vegetation in refuse piles, former refuse pile sites (refuse piles naturally destroyed in winter) and controls without refuse piles were recorded *in situ*.

Results: Seed bank species richness and density were significantly higher in autumn and winter refuse piles than in the same soil quantities without refuse piles. Nevertheless, no increased contribution from the transient seed bank was detected in the winter refuse piles as a significant difference in permanent seed bank composition between refuse piles and soil without refuse piles. The following spring, refuse pile vegetation showed significantly lower species richness and seedling density than controls. However, seedling species-richness and seedling density were significantly higher in places where refuse piles were naturally destroyed in winter.

Conclusions: We confirm that the construction of refuse piles by *M. barbarus* locally concentrates seed density and seed species-richness. For the first time, we show that a positive impact on future vegetation can be observed only in places where these refuse piles are naturally destroyed during winter. No increase in transient seed viability was found in the refuse piles that survived winter.

Key-words: Myrmecochory, seed dispersal, plant diversity, species coexistence, plant-insects interactions, harvester ant, *Messor barbarus*, Mediterranean grassland.

3.1. Introduction

The mutualistic relationships that ants maintain with plants through seed dispersal have led to ants being recognized as keystone species (Gilbert 1980; Gove et al. 2007). They are even considered to be the major invertebrate seed dispersers in terrestrial ecosystems (Stiles 1980). *Sensu lato*, seed dispersal by ants is an active process defined by the term “myrmecochory” (Sernander 1906; Howe & Smallwood 1982). Some plants even develop a nutritious appendage on their seeds, which means they can be dispersed specifically by ants (Sernander 1906; Bond & Slingsby 1984; Beattie & Hughes 2002; Youngsteadt et al. 2009). Other plants may be spread by dyszoochory, where harvester ants forget or accidentally drop small amounts of non-elaiosome seeds during their foraging activity (Hobbs 1985; Rissing 1986; Arnan et al. 2010).

Harvester ants can be found in a variety of regions including arid, semi-arid and tropical areas and in various habitats (Brown et al. 1979; Morton & Davidson 1988; Johnson 2001). They can have strong direct and indirect effects on regeneration and on population densities of plants (Brown & Human 1997; DeFalco et al. 2009; Arnan et al. 2010). Harvester ants play a particularly important role in the Mediterranean basin, where the genus *Messor* is the most abundant granivorous ant species (Díaz 1991; Cerdá & Retana 1994; Azcárate & Peco 2007).

Because harvester ants are voracious seed predators, a large proportion of the seeds produced is destroyed by their consumption (Andersen & Ashton 1985; Detrain & Pasteels 2000; Schöning et al. 2004). Nevertheless, some authors maintain that if the number of available seeds of a species is higher than the number of suitable sites for establishment, high seed predation does not necessarily imply limitations on the establishment of new individuals (Andersen 1989; Eriksson & Ehrlén 1992). Moreover, one indirect advantage could be the favoring of uneaten plant species through decreased competition with eaten species. In addition, rare events can compensate for damage caused by predation: ants can lose, abandon or reject a few seeds on their foraging trails (Detrain et Tasse 2000) or in the refuse piles around their nest (Rissing 1986; Levey & Byrn 1993; Vorster et al. 1994; Detrain & Tasse 2000; Retana et al. 2004; Azcárate & Peco 2007). The displaced seeds can then be dispersed over great distances in favorable microsites (Dean & Yeaton 1992; Voster et al. 1994; Arnan et al. 2010). These seeds are also spared competition with the parent plant, seed predators and

pathogens (Bentley 1977; Howe & Smallwood 1982). It is refuse piles that frequently contain the highest abundance of viable seeds, rejected in error by worker ants (MacMahon et al. 2000) or after a final selection carried out inside the nest (Majer & Lamont 1985; Detrain & Pasteels 2000).

Although dry grasslands are hot spots of biodiversity (Weiher and Keddy 1999; Willems 2001; Poschold and WallisdeVries 2002; Alard and Poudevigne 2002; Gibson 2009), their area, habitat quality and biodiversity have already been shown to have decreased drastically (Dzonko and Loster 1998; Lee et al. 2001; Adriaens et al. 2006; Dutoit et al. 2011), mainly due to 20th century changes in land use (grazing abandonment, cultivation, etc.) (Saunders et al. 1991). This is particularly true of Mediterranean grasslands, strongly in need of conservation and ecological restoration (Traba 2003; Bonet 2004; Buisson & Dutoit 2006; Janišová 2011). However, implementing measures for ecological restoration requires a fuller understanding of an ecosystem's functioning and of its plants and animals, some of which can be used as "ecosystem engineers" to assist in the restoration of biodiversity after degradation (Jones 1997; Folgarait 1998). Assessing seed dispersal by ants in particular may help understand the process of plant species-coexistence in dry grasslands, with a view to preserving species.

Previous work has already revealed that ants, and especially the genus *Messor*, have an extensive impact on Mediterranean vegetation, including through the construction of refuse piles (López et al. 1993; Detrain et Tasse 2000; Sánchez et al. 2006; Azcárate & Peco 2007). In autumn, the density and species richness of the viable seed bank were found to be significantly higher in refuse piles than in soil samples without refuse piles. However, measurements taken in the subsequent spring showed seedling species richness from seeds in the surviving refuse piles to be significantly lower than in the surrounding areas (Azcárate & Peco 2007). Thus, to date there has been no clear demonstration of a significant positive effect by ants on small-scale spatial vegetation redistribution in dry grasslands via refuse pile construction. Moreover, while soil fertility has been found to increase in refuse piles, especially through changes in texture, pH, organic material and nutrient content (P, N, K), refuse piles can also have negative effects on seed viability and emergence due to the extensive accumulation of soil and plant material in a small area (Azcárate & Peco 2007). However, refuse piles have both temporal and spatial dynamics. Their size is at its maximum in late summer and most disappear naturally as a result of weathering over the winter

(personal observations). This natural destruction of refuse piles in autumn and winter could play a role in increased seedling emergence following a phase of seed concentration in the former refuse piles. As a consequence, seedling regeneration needs to be assessed not only in refuse piles themselves but also on former refuse pile sites.

The objectives of this paper will thus be to analyze the effects of *M. barbarus* on small-scale seed distribution and seedling emergence in a Mediterranean dry grassland. Our hypotheses are that: (1) refuse piles have a significant impact on seed composition and significantly increase species-richness and seed density in autumn and winter relative to the same quantities of soil without refuse piles, (2) where refuse piles have been destroyed during winter, plant species-richness and density significantly increase the following spring and (3) refuse piles maintained throughout winter significantly increase the seed viability of the transient seed banks by creating favorable environmental conditions for their conservation (accumulation of organic dry matter, protection against predation and parasites, etc.).

3.2. Materials and methods

3.2.1. Study site

The plain of La Crau is a Mediterranean grassland located in south-eastern France (Bouches-du-Rhône), about 70 km west of Marseille (43°30'57.11''N, 4°52'21.72''E, alt 0 m) (**Figure 3.1**). This plain is considered a “steppe” ecosystem and is typical of the rangelands of the Mediterranean basin (Le Houérou 2001). Siliceous pebbles, washed down from the Alps, cover more than 50% of the soil surface, which has an extremely flat topography. An impermeable conglomerate of pebbles in a matrix of calcium carbonate 40-60 cm deep in the soil prevents plant root systems from reaching the water table (Molliex et al. 2013). The Mediterranean climate is dry and windy, with strong sunshine throughout the year (Devaux et al. 1983). Interacting effects of a shallow soil, a warm temperate climate and the actions of living beings, such as centuries of itinerant sheep grazing (Henry et al. 2010), have structured this species-rich plant community. The vegetation is composed of 50 % annual species which germinate in autumn, overwinter as seedlings and grow in spring, flowering from March to May or in September (Bourrelly et al. 1983). Plant cover ranges from 50 % to 80 % of the soil surface. On average, 30 to 40 plant species per square meter, with a

maximum of 70 plant species per square meter, can be observed (Römermann et al. 2005;). This xeric vegetation is composed mainly of stress-tolerant annual species, but perennial species such as *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. (Poaceae) and *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae), structure the plant community by their cover. The other most characteristic plant species are *Asphodelus ayardii* Jahand. (Xanthorrhoeaceae) & Maire, *Linum gallicum* L. (Linaceae) and *Stipa capillata* L. (Poaceae) (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Buisson & Dutoit 2006).

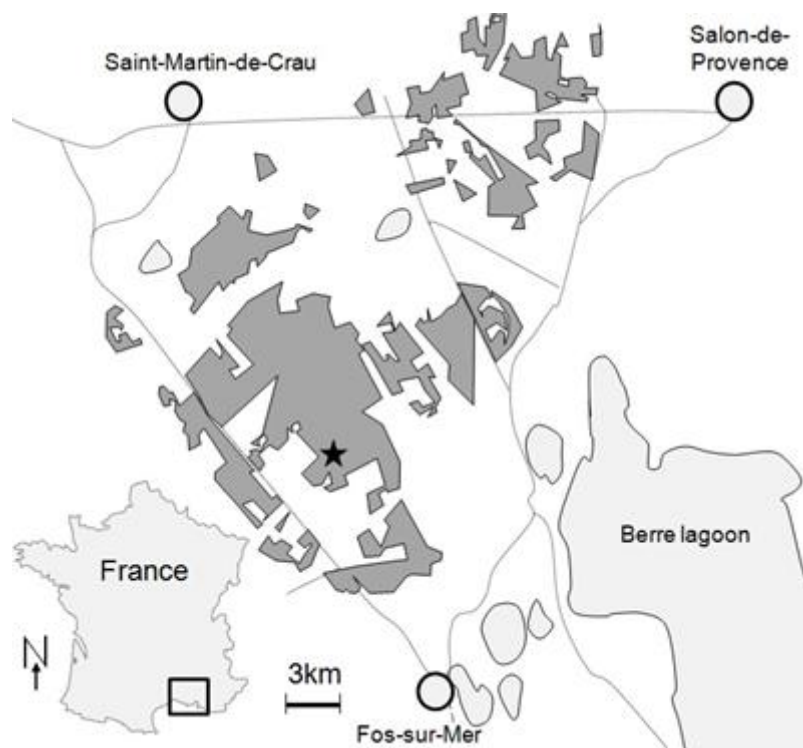


Figure 3.1: Location of the plain of La Crau in south-eastern France and the study site (black star) in the National Nature Reserve delimited by the dark grey colour.

3.2.2. Biological Model

Messor barbatus (Linnaeus 1767) (Hymenoptera: Formicidae) is the main granivorous ant species in the plain of La Crau (Cerdan 1989; Cerdan et al. 1990). This harvester species occurs naturally in the steppe ecosystem, as it does throughout the north-western area of the Mediterranean Basin (Bernard 1968). In the plain of La Crau, its density is relatively high, with 60 to 80 nests per hectare (Cerdan 1989). *M. barbatus* is a harvester ant which predares 5% to 20% of the total steppe seed production, and the seeds of 63% of the typical

phanerogams of this steppe are collected and transported by this ant (Cerdan et al. 1990). The high polymorphism of the worker ants means they can transport a large variety of seeds, from 0.2 mg to 60 mg (Detrain et al. 1996), over a distance of as much as 30 metres. Some seeds may thus be discarded, lost or ejected (Detrain & Tasse 2000; Azcárate & Peco 2007), while conserving their capacity for germination (Bonte et al. 2003). A large proportion of these uneaten seeds are found in refuse piles located near ant nest entrances (Rissing 1986; Andersen 1988; Levey & Byrne 1993; Detrain & Tasse 2000; Bonte et al. 2003; Azcárate & Peco 2007; Martínez-Duro et al. 2010).

3.2.3. Experimental design

3.2.3.1. Autumn seed bank sampling

In late summer (September 2012), thus after peak seed production in Mediterranean dry grasslands (Bourrelly et al. 1983) but before seed germination and the wet season, thirty refuse piles were randomly sampled at their maximum size on a site representative of the plain of La Crau, "*Le Coussoul de Figuières*" (43° 30' 52.17" N, 4° 52' 21.80" E). The first soil centimeters were sampled in ten refuse piles on 10 x 10 cm quadrats, an area chosen because it was much smaller than the minimum size of all the selected refuse piles. Ten other refuse piles were randomly selected and sieved with a 2 mm mesh (to mimic natural winter destruction by removing fine organic and soil material), then left. The last ten refuse piles were covered with mosquito netting to protect them against natural destruction during winter. To ensure that the refuse piles were near different nests, we selected nests spaced at least 10 m apart, as a nest can be 4 meters in diameter in the plain of La Crau (Cerdan 1989).

Simultaneously, the first soil centimeters from ten randomly distributed 10 x 10 cm areas with no refuse piles, ant nests or other signs of former ant activities were collected (control). For each of the twenty soil samples (sites with and without refuse piles) collected during this period, a volume of 70 cm³, the minimum volume collected in one sample, was spread on a substrate composed of a 1:4 compost-vermiculite mix in germination boxes measuring 30 cm x 45 cm. They were placed to germinate according to the concentrated seedling emergence method (Ter Heerdt et al. 1996). Any sample remainders were treated in the same way. All samples were randomly placed in a greenhouse for 3 months from September to December 2012. They were then kept at 4°C for 15 days and subsequently returned to the

greenhouse in January 2013, until no new germination was observed. The same protocol was applied to any sample remainders, in separate germination boxes.

In the greenhouse, germinations were identified (Mamarot 2002), counted, and removed each week to measure the number of viable seeds, species richness and composition of each sample.

3.2.3.2. Spring seed bank sampling

In March 2013, the first soil centimeters were collected from 10 x 10 cm quadrats on the ten refuse piles protected by mosquito netting in autumn 2012. The same methodology was applied to ten quadrats (control) of 10 x 10 cm on randomly distributed steppe areas with no refuse piles, ant nests or other signs of ant activities. A volume of 70 cm³ of each soil sample and any remainder were spread and placed to germinate using the method described above.

3.2.3.3. Spring seedling analysis

In April 2013, when most of seedlings are identifiable in the field, they were identified and counted on ten 10 x 10 cm quadrats from each of these sampling areas described above: (1) ten natural refuse piles chosen at random and which had neither been destroyed nor protected by mosquito netting during winter, (2) ten areas where the refuse piles had been sieved in autumn 2012 and (3) ten areas (control) with no ant nests or refuse piles identified previously in 2012. Vegetation and bare soil percent cover were visually estimated in each quadrat.

3.2.4. Statistical analyses

All statistical tests were applied first on the soil samples of 70 cm³ and second on any sample remainders.

Plant species composition and abundance data were ordinated using NMDS (Non-metric Multidimensional Scaling) based on the Bray-Curtis distance (Borcard et al. 2011) to visualize vegetation characteristics and the most correlated species for each treatment. The

Bray-Curtis distance (Bray & Curtis 1957), a dissimilarity index, was used to measure the distance between the abundances of the plant species either present in each sample taken from refuse piles in autumn or identified as seedlings in spring, and those present in the control samples. The mean Bray-Curtis distance between each of the ten samples from refuse piles and the ten samples from areas without refuse piles was calculated, and varied from 0 to 1. A value of 0 signifies that the abundance of the plant species in the samples monitored in the refuse piles was strictly identical to that monitored in the areas without refuse piles. A distance value of 1 signifies that the abundance of the plant species in the samples monitored in the refuse piles was totally different from that monitored in the areas without refuse piles.

Species diversity was calculated using the Shannon and Evenness indices of the distribution of species in each treatment. The Shannon index is zero when the population is represented by a single species and becomes maximum when the population is evenly distributed among all species. The Evenness index, based on the Shannon index, varies between 0 and 1. Its value is maximum when the population distribution is homogeneous among all species and is minimal when one species dominates. The Evenness index indicates the level of diversity achieved by the theoretical maximum (Pielou 1969).

To compare seedling plant species richness, seedling numbers, vegetation and bare soil percent cover and Shannon and Evenness indices among treatments, we used Student-t tests when the data followed a normal law (Lilliefors tests). When conditions were not normal, we used non-parametric Wilcoxon tests.

All statistical analyses were performed using the R software version 2. 15. 2. (*The R Foundation for Statistical Computing* 2012), with its packages for univariate analyses, and the additional packages *ade4* (Chessel et al. 2004; Dray & Dufour 2007) and *vegan* (Oksanen et al. 2013) for multivariate analyses.

3.3. Results

3.3.1. Autumn 2012 seed banks

In the 70 cm³ samples with and without refuse piles, the NMDS ordination shows that the two treatments were similar in terms of floristic composition and plant population distribution, but that the samples from the treatment with refuse piles were more homogeneous than the control samples. The seed composition of the refuse piles was characterized by species such as *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae), *Poa bulbosa* L. (Poaceae), *Medicago monspeliaca* (L.) Trautv. (Fabaceae) or *Sherardia arvensis* L. (Rubiaceae), while the control samples contained more species like *Vulpia ciliata* Dumort. (Poaceae), *Filago vulgaris* Lam. (Asteraceae) or *Bromus* sp. (Poaceae) (Figure 3.2A). When the volume was higher and heterogeneous, as in the samples with remainders of soil volume, the two treatments were superposed and the total volume was considered. However, seed composition was very heterogeneous in the control samples compared to the refuse pile samples, where it was more homogeneous (Figure 3.2B).

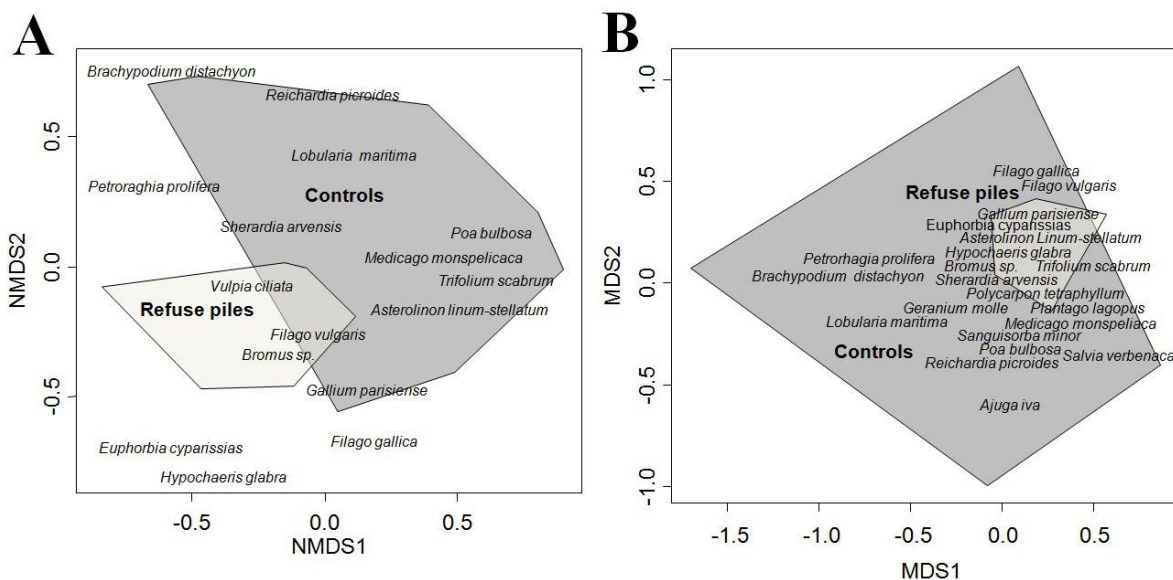


Figure 3.2: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) realized on the seed banks of the first soil centimeters of ten 10 x 10 cm² samples of refuse piles and areas without refuse piles (control). The ten samples of each treatment are grouped with polygons. To clarify, only the most correlated plant species to the two first axes are literally inscribed. (A) Seed bank analysis between the refuse piles (light grey) and the control samples (dark grey) with the same volume (70 cm³) in autumn 2011, (B) Seed bank analysis between the refuse piles (light grey) and the control samples (dark grey) with the total volume in autumn 2012.

Seed abundance was higher in the 70cm³ samples from refuse piles than in the control 70cm³ samples. In total, 1259 individuals germinated from the seed banks, representing a total of 49 species. A total of 925 seedlings representing 36 species were identified in the refuse piles, while in the control samples only a total of 334 seedlings representing 29 species were identified. 19 species were present only in the refuse piles and 13 only in the control samples. In the total volume samples, we identified a total of 5124 seedlings representing 58 species. In samples taken in the refuse piles, there were a total of 4290 seedlings representing 52 species, while in the control samples, we identified 844 seedlings representing 38 species. Again, 19 species were found only in the refuse piles and 9 only in the control samples (Table 3.1).

In the 70cm³ samples, mean seedling numbers and mean seedling species richness were significantly higher in the refuse piles than in the controls (Wilcoxon test, $W = 90$, $p\text{-value} < 0.01$). These differences were greater in the total volume samples (Student-t test, $df = 16.13$, $t = 5.24$, $p\text{-value} < 0.001$) (Table 3.1).

The Shannon index was very low and not significantly different between the refuse pile samples and the control samples, both for the 70 cm³ samples (Student-t test, $df = 12.17$, $t = 0.91$, $p\text{-value} = 0.38$) and those with the total volume (Student-t test, $df = 10.72$, $t = -0.46$, $p\text{-value} = 0.65$) (Table 3.1). The Evenness index was also very low; while it was the same in the refuse pile samples and in the control for the 70 cm³ samples (Student-t test, $df = 12.09$, $t = -1.35$, $p\text{-value} = 0.15$), however, for the total volume it was significantly higher in the control samples than in the refuse pile samples (Student-t test, $df = 11.32$, $t = -2.70$, $p\text{-value} < 0.05$) (Table 3.1).

The Bray-Curtis distance measured both in the 70 cm³ samples (Student-t test, $df = 14.74$, $t = -4.82$, $p\text{-value} < 0.001$) and in the total volume samples (Student-t test, $df = 13.45$, $t = -7.54$, $p\text{-value} < 0.001$) showed the seed banks of the different refuse piles to be significantly more similar than the controls (Table 3.1).

Dominant species in the 70 cm³ samples from the refuse piles were *Vulpia ciliata* Dumort. (Poaceae), 53.08% of the total seedling number, *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae), 12.76% and *Bromus sp.* (Poaceae), 5.62%. Dominant species in the control 70 cm³ samples were *Crassula tillaea* Lest.-Garl. (Crassulaceae), 41.92%, *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv (Poaceae), 12.27% and *Lobularia maritima* (L.) Desv.

(Brassicaceae), 11.68%. For refuse pile samples of total volume, the dominant species were *Vulpia ciliata* Dumort. (Poaceae), 44.85%, *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae), 12.67% and *Poa bulbosa* L. (Poaceae), 7.83%. For control samples of total volume, the dominant species were *Crassula tilliaea* Lest.-Garl. (Crassulaceae), 37.48%, *Poa bulbosa* L. (Poaceae), 11.85% and *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae), 11.28%.

In the 70 cm³ samples, the abundance of five species was significantly higher in the refuse piles than in the controls: *Bromus sp.* (Poaceae), *Filago vulgaris* Lam. (Asteraceae), and *Vulpia ciliata* Dumort (Poaceae) with a p-value of less than 0.001; *Galium parisiense* L. (Rubiaceae) with a p-value of less than 0.01; and *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv. (Poaceae) with a p-value of less than 0.05. In the total volume samples, nine extra species were significantly more abundant in the refuse piles

Table 3.1: Characteristics of the viable seed banks in autumn 2012: samples taken in refuse piles with 70 cm³ and with the total volume, and the controls with 70 cm³ and with the total volume. Values are means ± standard errors; df corresponds to the degree of freedom; the t-value (t), the W-value (W) and the p-value (p) resulting from t tests or Wilcoxon tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter are significantly different (p-value < 0.05).

	70 cm ³			Total volume		
	Student-t tests /Wilcoxon	Refuse piles	Controls	Student-t tests /Wilcoxon	Refuse piles	Controls
Total number of seedlings	/	925	334	/	2312	523
Mean number of seedlings	W = 90 p < 0.01	92.5±6.22 a	33.3±6.70 b	df = 16.13 t = 5.24 p < 0.001	231.2±11.01 a	52.3±7.72 b
Species-richness	df = 17.90 t = 2.88 p < 0.01	12.9±0.35 a	7.5±0.35 b	df = 16.86 t = 5.95 p < 0.001	20.8±0.55 a	10.7±0.42 b
Shannon Index	df = 12.17 t = 0.91 p = 0.38	0.82±0.02 ns	0.74±0.04 ns	W = 58 p = 0.58	0.98±0.01 ns	0.85±0.04 ns
Evenness Index	df = 12.09 t = -1.35 p = 0.15	0.32±0.01 ns	0.37±0.02 ns	W = 18 p-value < 0.05	0.33±0.004 b	0.37±0.01 a
Bray-Curtis distance	df = 14.74 t = - 4.82 p < 0.001	0.44±0.09 b	0.62±0.01 a	df = 13.45 t = - 7.54 p < 0.001	0.36±0.005 b	0.58±0.01 a

3.3.2. Spring 2013 seed banks

Very few seeds germinated either in the 70 cm³ samples or in the total volume samples from refuse piles protected by mosquito netting, making it impossible to calculate the Shannon and Evenness indices and the Bray-Curtis distance. In the 70 cm³ samples, only 9 individuals germinated from the seed banks, representing a total of 4 species.

Only 6 seedlings representing one species (*Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae) were identified in the refuse piles protected during winter. In the control samples, only 3 seedlings, representing 3 species (*Amaranthus albus* L. (Amaranthaceae), *Crepis vesicaria* L. (Asteraceae), *Diploxys tenuifolia* (L.) DC. (Brassicaceae), were identified. In the total volume samples, 22 seedlings were identified, representing 7 species. 11 seedlings were identified in the refuse piles protected with mosquito netting during the winter, representing 2 species (*Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae), *Sanguisorba minor* Scop. (Rosaceae). 11 seedlings, representing 6 species (*Amaranthus albus* L. (Amaranthaceae), *Crepis vesicaria* L. (Asteraceae), *Diploxys tenuifolia* (L.) DC. (Brassicaceae), *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae), *Aegilops ovata* L. (Poaceae), *Salvia verbenaca* L. (Lamiaceae), were identified in the control samples (Table 3.2).

No significant difference was measured for species-richness (Wilcoxon test, W =30, p =0.1) and density (Student-t test, df = 17.66, t = - 0.08, p = 0.94) between the protected refuse piles and areas without refuse piles in spring 2013 (Table 3.2).

Table 3.2: Characteristics of the viable seed banks in spring 2013: samples taken in protected refuse piles with 70 cm³ and with the total volume, the controls with 70 cm³, and with the total volume. Values are means ± standard errors; df corresponds to the degree of freedom; the t-value (t), the W-value (W) and the p-value (p) resulting from t tests or Wilcoxon tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter have significantly different (p-value < 0.05).

	70 cm ³			Total volume		
	Student-t tests /Wilcoxon	Protected Refuse piles	Controls	Student-t tests /Wilcoxon	Protected Refuse piles	Controls
Total number of seedlings	/	6	3	/	11	11
Mean number of Seedlings	df =17.66 t = - 0.08 p = 0.94	1±0.67 ns	1.05±0.77 ns	W = 52 p = 0.90	1.1±0.19 ns	1.1±0.22 ns
Species-richness	W = 30 p = 0.1	0.5±0.26 ns	1.1±0.44 ns	W = 30 p = 0.1	0.5±0.49 ns	1.1±0.56 ns

3.3.3. Spring 2013 field seedlings

Seedling identification on areas where refuse piles were protected by mosquito netting during winter proved impossible, since very few refuse piles remained in place. Nor was any germination identified in the few remaining refuse piles.

Between the areas where the refuse piles were sieved and the control areas, NMDS ordination for the two treatments is very close and heterogeneity seems the same. Nevertheless, the sieved refuse pile areas were more characterized by species such as *Sherardia arvensis* L. (Rubiaceae), *Ajuga iva* (L.) Schreb. (Lamiaceae), *Plantago bellardii* All. (Plantaginaceae) or *Asphodelus ayardii* Janhand & Maire (Xanthorrhoeaceae), and the control areas contained more species like *Brachypodium retusum* (Pers.) P.Beauv. (Poaceae), *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv. (Poaceae), *Trifolium subterraneum* L. (Fabaceae) or *Sideritis romana* L. (Lamiaceae) (Figure 3.3).

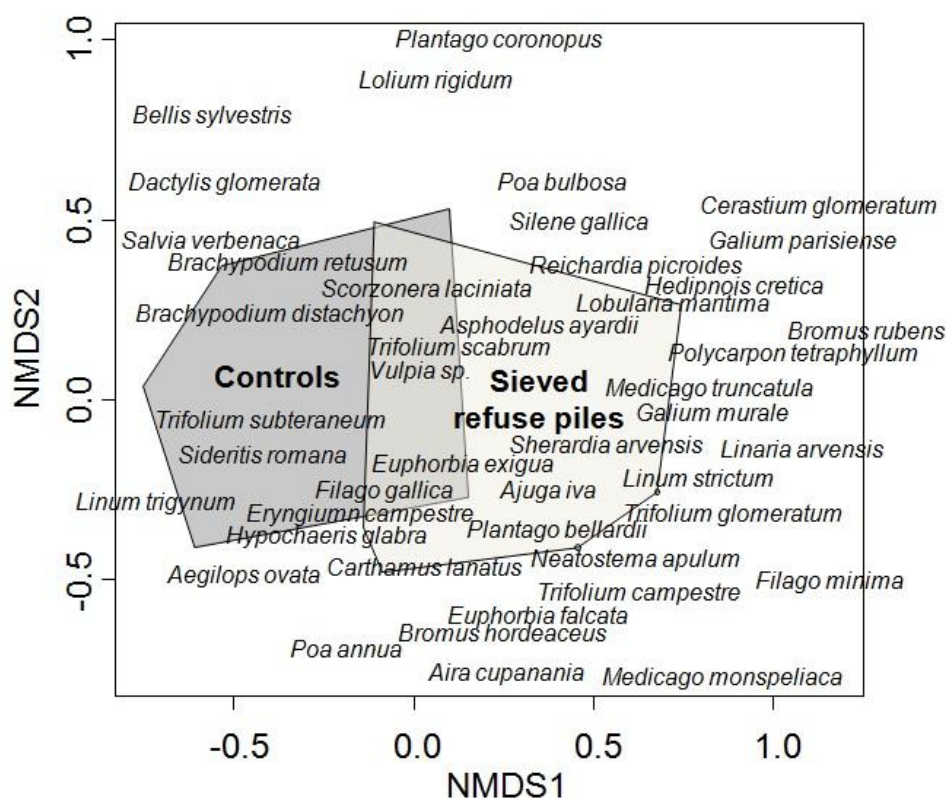


Figure 3.3: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) realized on the seedlings analysis between the sieved refuse piles (light grey) and the control samples (dark grey) measured in the field in Spring 2013.

Plant percent cover was significantly higher in the sieved refuse pile areas compared with the control areas (Student-t test, $df = 12.32$, $t = - 2.66$, $p < 0.05$), while bare soil percent cover was significantly lower (Student-t test, $df = 12.93$, $t = 3.48$, $p < 0.01$) (Table 3.3).

More seedlings were identified in the sieved refuse piles areas than in the control areas even if the mean number of seedlings did not significantly differ between these two treatments (Student-t test, $df = 9.99$, $t = - 1.97$, $p = 0.08$). Species richness is significantly higher in the sieved refuse pile areas than in the control areas (Student-t test, $df = 13.88$, $t = - 3.84$, $p < 0.01$) (Table 3). In total, 578 individual seedlings were identified, representing 77 species. In the sieved refuse pile areas, 362 seedlings representing 45 species were identified, with 18 species identified only in this treatment. In the control areas, 216 seedlings representing 32 species were identified, with 5 species present only in these plots (Table 3.3).

The Shannon index was again very low but significantly different between the sieved refuse pile areas and the control areas, being significantly higher in the former (Student-t test, $df = 13.34$, $t = - 3.64$, $p\text{-value} < 0.01$). The Evenness index was also low, but there was no significant difference between the refuse pile and control samples (Wilcoxon test, $W = 27$, $p\text{-value} = 0.09$) (Table 4). The Bray-Curtis distance showed no dissimilarity between the sieved refuse pile areas and the control areas (Student-t test, $df = 18$, $t = - 0.87$, $p = 0.4$) (Table 3.3).

Dominant species in the sieved refuse pile areas were *Filago gallica* L. (9.86%), *Vulpia ciliata* Dumort. (5.88 %) and *Lobularia maritima* (L.) Desv. (4.32%). Dominant species in the control areas were *Filago gallica* L. (8.82 %). Next in importance was *Brachypodium distachyon* (L.) P.Beauv (5.71 %) and *Vulpia ciliata* Dumort. (3.46%).

The abundance of five species was significantly higher in the sieved refuse pile areas than in the control areas: *Poa bulbosa* L. (Poaceae) with a p-value of less than 0.01; and *Euphorbia exigua* L. (Euphorbiaceae), *Hedypnois cretica* (L.) Dum.Cours. (Asteraceae), *Lobularia maritima* (L.) Desv. (Brassicaceae) and *Polycarpon tetraphyllum* (L.) L. (Caryophyllaceae).

Table 3.3: Characteristics of field seedlings in spring 2013: seedlings analyses in the sieved refuse piles areas and in the controls on areas of 100 cm². Values are means \pm standard errors; df corresponds to the degree of freedom; the t-value (t), the W-value (W) and the p-value (p) resulting from t tests or Wilcoxon tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a different letter have significantly different (p-value < 0.05).

	Student-t tests /Wilcoxon	Sieved refuse piles areas	Controls
Total number of seedlings	/	362	216
Mean number of seedlings	df = 9.99 t = - 1.97 p = 0.08	36.2.0 \pm 0.75 ns	21.6 \pm 3.19 ns
Species-richness	df = 13.88 t = - 3.84 p < 0.01	13.4 \pm 0.29 a	8.3 \pm 0.53 b
Shannon Index	df = 13.34 t = - 3.64 p < 0.01	1.15 \pm 0.01 a	0.87 \pm 0.03 b
Evenness Index	W = 27 p = 0.09	0.45 \pm 0.004 ns	0.41 \pm 0.01 ns
Bray-Curtis distance	df = 18 t = - 0.87 p = 0.4	0.68 \pm 0.01 ns	0.71 \pm 0.01 ns
Vegetation cover (%)	df = 12.32 t = - 2.66 p < 0.05	61.0 \pm 4.25 a	34.0 \pm 1.86 b
Bare soil cover (%)	df = 12.93 t = 3.48 p < 0.01	36.8 \pm 3.98 b	70.5 \pm 1.91 a

3.4. Discussion

Messor barbarus is often described as a good seed dispersal agent in the Mediterranean basin (Cerdan et al. 1990; Detrain et al. 1996; Detrain & Tasse 2000; Sánchez et al. 2006; Azcaráte & Peco 2007; Plowes et al. 2013). This ant may be a good partner for plant community restoration in ecological engineering (Bulot et al. 2014b) because it appears to play a major role in the distribution of annual plant populations in Mediterranean dry grasslands (Wolff & Debussche 1999). To confirm this seed dispersing role, we assessed how the ants' refuse piles affect seed viability and dispersal in a Mediterranean dry grassland, taking into account their temporal dynamics over one year.

Refuse piles are found here to have a significant impact on seed composition and significantly increase species-richness and seed density in autumn compared to soil areas of

the same size without refuse piles. 73.5% of the total seedlings counted were in the refuse piles, which also contained 14.3% more species than the areas without refuse piles. Our initial results thus confirm that the accumulation of seeds is the major effect of refuse piles, in agreement with previous studies both on *M. barbarus* (Azcárate & Peco 2007) and on other granivorous ants (Hobbs 1985; Rissing 1986; Levey & Byrne 1993; MacMahon et al. 2000). This is to be expected, given that autumn follows the period of peak seed production in Mediterranean dry grasslands (Bourrelly et al. 1983). Consequently, the peak of *M. barbarus* activity is past and there must be a maximum of seeds in the refuse piles (Cerdan 1989). These rejected seeds obviously remain viable in refuse piles during summer, since when placed in a greenhouse, many germinate (Azcárate & Peco 2007). Besides protecting seeds against predators and pathogens (Bentley 1977; Howe & Smallwood 1982), refuse piles may offer a good microenvironment enhancing the survival and the germination rate of seeds (Rissing 1986; Levey & Byrne 1993); Azcárate & Peco (2007) showed that refuse piles can increase soil fertility.

The fact that we found seeds to be relatively well distributed among species, with proportions similar among refuse piles, may explain the absence of significant differences in species-diversity. There was more similarity in species composition in the refuse piles than in soil areas without refuse piles. While it was fairly homogeneous in the refuse piles for the 70 cm³ samples, when the total volume of refuse piles was taken into account, the differences narrowed further and composition homogeneity increased. A large quantity of Poaceae seeds was present in the refuse piles, for example *V. ciliata* and *Bromus sp.*, which are annuals producing many seeds. Seeds from these Poaceae species were certainly present in high density over the ant foraging area. As *M. barbarus* is a generalist granivorous species which harvests large quantities of seeds present in great abundance (Detrain et al. 1996), we assume that the species composition reflects the activity of workers collecting, sorting and rejecting certain seeds (Azcárate & Peco 2007). Thus, the significant differences in composition, species-richness, and density we found between refuse piles and controls are likely due to the high concentrations in the refuse piles of seeds from the most abundant seed producers in the herbaceous plant community, which are here: *V. ciliata*, *L. maritima*, *P. bulbosa* and *Bromus sp.*

Previous studies found very low seedling emergence on these refuse piles (Martínez-Duro et al. 2010), so it appeared interesting here to measure seedling emergence after their autumn

and winter natural destruction. In spring 2013, very few seedlings emerged from either the protected refuse piles or the controls. In the protected refuse piles, only two species were present: *L. maritima* (L.) and *S. minor*, both belonging to the permanent seed bank (Thompson et al. 2003). Even though seed concentrations in refuse piles were high, the viability of the transient seed banks did not seem to have increased despite environmental conditions favorable to their conservation (accumulation of organic dry matter, protection against predation and parasites, etc.). However, the organic dry matter of refuse piles began to degrade even under the mosquito netting, too thin to protect the seeds. The seed viability of the transient seed bank of this ecosystem is therefore not enhanced by ants constructing these refuse piles.

We observed that the great majority of refuse piles did not survive the winter, contrary to the findings of other studies (Azcaráte & Peco 2007). For this reason, seedling analysis was conducted only on areas where the refuse piles had been artificially destroyed by sieving, imitating their natural degradation so as to compare them with areas without refuse piles. In these sieved refuse piles, plant species-richness and the seedling density were significantly higher in spring. 62.6 % of the total seedlings were found in the sieved refuse piles, which contained 16.8 % more species than the controls. In addition, the biomass proxy provided by plant cover and bare soil cover indicates a higher vegetation density in the sieved refuse piles. These results are in contradiction to other studies, where seedling emergence was extremely low and species richness decreased in refuse piles the following spring (Azcaráte & Peco 2007; Martínez-Duro et al. 2010). However, these authors were sampling refuse piles which had survived the winter: they make the assumption that seed germination was limited by the thickness of the dry matter layer therein, so that seedling radicles and/or hypocotyls could not reach the soil and/or the light needed to grow (Azcaráte & Peco 2007; Martínez-Duro et al. 2010). We therefore conclude that, if refuse piles are degraded or blown about by the wind, the dry matter layer becomes sufficiently thin to allow seedlings to emerge from the seeds deposited by ants in the refuse piles. Concerning species composition, although there were similarities, there were also differences between the sieved refuse piles and the control areas. However, the composition heterogeneity was the same. In addition, both the diversity and the similarity indices show that all species were present in relatively the same abundance and in the same proportions in the replicates of all samples (sieved refuse piles and controls).

Our findings shed light on the role of ants' refuse piles in spatial seed distribution at a local scale in Mediterranean dry grasslands. In autumn, worker ants harvest a great number of seeds, especially those of the greatest seed-producing species in the herbaceous plant community, which may then be discarded in refuse piles. Viable seeds are thus concentrated therein and conserve their germination capacity during summer and early autumn, being protected against predators and pathogens (Bentley 1977; Howe & Smallwood 1982). During winter, it appears that some refuse piles survive while others are destroyed or degraded. In our study, we find that the majority of the refuse piles monitored over a year disappeared, even though this is not reported in other published findings (Azcaráte & Peco 2007); nor was there any significant increase in the viability of transient seeds in the refuse piles that survived winter. However, the following spring, if the refuse piles have been destroyed or damaged, the seeds can reach soil and light, germinate and grow, probably due to the absence or thinness of dry matter. In addition, the soil of naturally destroyed refuse piles provides a favorable microenvironment for the development of seeds, as previous works showed (Whitford 1988; Beattie 1989; Dean & Yeaton 1993; MacMahon et al. 2000; Azcaráte & Peco 2007).

To conclude, *M. barbarus* appears to be a good local seed dispersal agent for Mediterranean dry grasslands. This harvester ant has a positive effect not only on seed distribution but also on seedling emergence when the ants' refuse piles are naturally destroyed in winter. Moreover, the impact should be intensified by the fact that the refuse piles have a relatively high percent cover (Azcaráte & Peco 2003) and that their distribution changes yearly.

TRANSITION VERS LE CHAPITRE 4

Le **chapitre 4** consistera en la mise au point d'un protocole de transplantation de fondatrices de la fourmi *Messor barbarus* sur deux sites faisant l'objet d'une restauration écologique: l'un correspondant au site détruit par la fuite d'hydrocarbures et restauré par le transfert de sol, l'autre correspondant à un site dégradé par une arboriculture intensive et restauré selon différentes méthodes de génie civil ou agronomique (transfert de sol, semis d'espèces nurses) (Jaunatre et al. 2012, 2014a et b).

L'objectif sera de savoir si cette fourmi pouvait être transférée artificiellement sur des sites en cours de restauration afin de réintroduire ses fonctions d'ingénieurs de l'écosystème. En parallèle à cette opération de renforcement de population, le suivi de la recolonisation naturelle de cette espèce sur les deux sites d'étude considérés a été mené pour savoir si cette recolonisation était freinée par le filtre de la dispersion ou par celui des conditions d'habitat (**Figure T.4**).

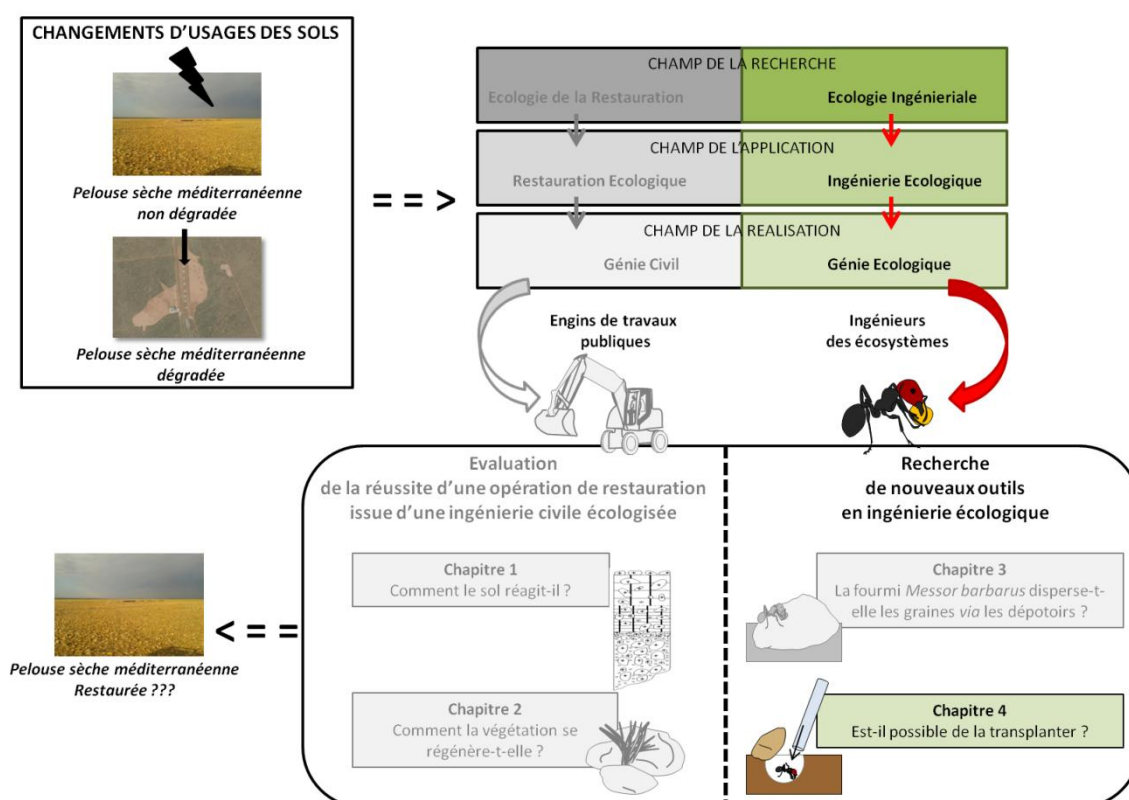


Figure T4: Localisation du chapitre 4 dans l'organisation générale de la thèse.



Vol nuptial de *Messor barbarus* en automne 2010
(Crédit photo: Erick Provost - IMBE)



Transplantation d'une fondatrice *Messor barbarus*
(Crédit photo: Renaud Jaunatre - IMBE)

CHAPITRE 4

Un nouveau protocole de transplantation de fondatrices
de la fourmi moissonneuse *Messor barbarus* (Hymenoptera:
Formicidae) pour améliorer la restauration
de communautés végétales riches en espèces

CHAPTER 4

*A new transplantation protocol for harvester ant queens
Messor barbarus (Hymenoptera: Formicidae)
to improve the restoration of species-rich plant communities*

Adeline Bulot, Thierry Dutoit, Marielle Renucci & Erick Provost

(Publié dans *Myrmecological News*, 2013, 20, pp. 43-52)

Résumé du chapitre 4

Nous présentons un protocole de transplantation de reines fondatrices de la fourmi moissonneuse *Messor barbarus*, avec un suivi de leur survie à 6 mois, à un an et à 18 mois après leur translocation. Une fois établies, nous attendons que cette espèce ait un impact positif sur la restauration de la végétation grâce à sa capacité à disperser les graines récoltées par les ouvrières, accélérant ainsi la réhabilitation et la restauration déjà entrepris à l'aide du génie civil classique. Les transplantations ont été réalisées sur deux sites en cours de restauration écologique, un qui a été dégradé par de l'arboriculture fruitière intensive (AOA) et l'autre détruit par un accident industriel (OLA). Le suivi de la recolonisation naturelle a également été effectué en comparaison avec la steppe de référence. Nous reportons ici la première étape du protocole, avec les résultats sur le succès des transplantations et sur la recolonisation naturelle.

A court terme, les taux de survie des reines fondatrices transplantées sont encourageants: 15% sur le site AOA (après un an et demi) et 35% sur le site OLA (après un an). Il sera nécessaire d'attendre quelques années de plus pour mesurer un impact significatif sur la composition, la richesse en espèces et la répartition des différentes populations de plantes caractéristiques de la steppe de référence. Cependant, nous démontrons que la densité des nids naturels est significativement inférieure sur le site dégradé (AOA) que sur la steppe de référence. Il apparaît aussi que la recolonisation naturelle par *Messor barbarus* sur le site détruit (OLA) se fait avec difficultés sans la création d'un habitat favorable. Ces deux résultats attestent de la valeur des opérations de transplantation et confirment notre hypothèse: la mise en place d'un habitat d'accueil favorable est un facteur plus limitant que la dispersion pendant le vol nuptial pour l'établissement des reines fondatrices.

Mots-clés: *Messor barbarus*, transplantation, ingénierie écologique, reines fondatrices, steppe

Abstract of the chapter 4

We present a protocol for the transplantation of founding queens of the harvester ant *Messor barbarus*, monitoring their survival at 6 months, one year and 18 months. Once established, these ants are expected to have a positive impact on vegetation restoration via their ability to disperse seeds harvested by workers, thus accelerating the rehabilitation and restoration already undertaken using conventional civil engineering. The transplantations were performed on two sites currently undergoing ecological restoration, one previously degraded by intensive fruit growing (AOA) and the other destroyed by an industrial accident (OLA), and compared to natural colonisation on a reference steppe site. Founding queen transplantation was also performed at the reference steppe site. We report here the first steps of the protocol, with results on transplantation success and on natural colonisation.

Short-term rates of survival of the transplanted founding queens are encouraging: 15% at the AOA site (after one and a half years) and 35% at the OLA site (after one year). It will take a few years longer to assess any significant impact on composition, species richness and distribution of the different plant populations characteristic of the steppe. However, we demonstrate that the density of natural nests is significantly lower at the degraded site (AOA) than at the reference steppe. It also appears that natural recolonisation by *Messor barbarus* at the destroyed site (OLA) would be difficult without the creation of a favourable habitat. These two results attest to the value of transplantation operations and confirm our hypothesis that for successful establishment the suitability of host habitats for founding queens is a more limiting factor than dispersal during the nuptial flight.

Keywords: *Messor barbarus*; transplantation; ecological engineering; founding queen, steppe

4.1. Introduction

The transplantation of animals is defined as the intentional displacement of living individuals, either wild or bred in captivity, from one place to another (for a survey, see Fisher & Lindenmayer 2000). The main aim of this practice is to attempt to establish, re-establish or increase the number of individuals in a population.

Animal transplantations are usually performed within the framework of conservation biology (Fisher & Lindenmayer 2000; Griffith et al. 1989), to reinforce populations of rare species or to reintroduce species that have disappeared. The main aim is generally to reduce the risk of extinction by establishing more populations of the endangered species (Sherley 1998). Some transplantations are reportedly undertaken to deal with problems animals may be causing for man, for example by displacing carnivorous mammals that have come too close to cities (Linnel et al. 1997; Fisher & Lindenmayer 2000). Other projects are focussed on conserving leisure activities such as hunting and fishing by increasing the stock of game or fish (Griffith et al. 1989; Bell et al. 2006; Catalán et al. 2008).

Most animal transplantation programmes concern vertebrates. According to Fisher & Lindenmayer (2000), 93% concern mammals and birds, while only 7% concern amphibians, reptiles or invertebrates. As for arthropods, examples of Lepidoptera transplantations (Martilaa et al. 1997; Williams 1995) and, to a lesser extent, Orthoptera transplantations (Sherley 1998; Berggren et al. 2001; Hochkirch et al. 2007), have also been cited in the literature.

Research on transplantations of hymenoptera has rarely been directed at ants, and then mainly in relation to conservation biology (Bradley 1972; Box 1987), biological pest control (Pavan 1961) and the study of their ecology (Pontin 1969; Elmes 1971). Yet in terms of their species-richness and above all their mechanical and chemical actions, ants play a major role in the functioning of ecosystems (Folgarait 1998). Through their ability to move through soil and to build biogenic structures (anthills, galleries, etc.), ants have a major impact on the hydraulic properties of soil (altering aggregation and porosity) and on the availability of organic matter for microorganisms (Lavelle et al. 1997; Barros et al. 2001). This results in changes in the organic and mineral nature of soil which may therefore alter the composition and abundance of plant species at the soil surface (Woodell 1974; Horvitz & Schemske 1986),

and sometimes increase their species-richness (Folgarait 1998; Boulton & Amberman 2006). Ants are thus considered as important soil engineers, for the same reasons as earthworms and termites (Jouquet et al. 2006). They are often referred to as “ecosystem engineer” species (Folgarait 1998) according to the definition of Jones et al. (1997): “... organisms that directly or indirectly control the availability of resources to other organisms by causing physical state changes in biotic or abiotic materials”. Harvester ants can also play an important role in the dispersal of seeds by myrmecochory (Wilson 1992). This involves the transportation, discarding, loss and/or ejection of some of the seeds subject to predation (Rissing 1986). It is all the more effective when mutualistic interaction occurs between the ants and the seeds, as in the case of seeds bearing elaiosomes (Beattie & Hughes 2002). These “ecosystem engineer” species thus potentially constitute a sustainable tool for ecological engineering, which involves “...*the design of sustainable systems, consistent with ecological principles, which integrate human society with its natural environment for the benefit of both*” (Mitsch 1996 adapted by Bergen et al. 2001). This encompasses ecological restoration, in turn defined by the *Society for Ecological Restoration* (SER 2004) as “*the process which initiates or accelerates the self-repair of an ecosystem which has been degraded, damaged or destroyed, while conserving its health, integrity and sustainable management*”.

While ants are often used as bio-indicators of the quality of a habitat, they have never been used in an ecological engineering project as agents of ecological restoration. Yet many studies have already demonstrated that ant communities are highly sensitive to impacts on their environment, and in particular to changes that affect their species-richness, diversity and species composition (Majer 1983; Andersen 1997; Samways et al. 1997; Peck et al. 1998; Lobry de Bruyn 1999; Andersen et al. 2002; Castracani & Mori 2006; Luque et al. 2007; Majer et al. 2007; Ellison 2012). Thus, for ecosystems where the resilience of ant communities is weak, transplantation may represent a way of encouraging the return of species that can play key roles.

Our long-term aim was, for the first time, to use the harvester ant *M. barbarus* as a tool to boost the rehabilitation and/or ecological restoration of plant communities, either by introducing it where absent or by reinforcing its natural recolonisation. As it has been already demonstrated, *M. barbarus* play a positive role on the transport, storage and redistribution of seeds (Cerdan et al. 1990; Detrain et al. 1996; Detrain et Tasse 2000; Detrain et al. 2000; Sánchez et al. 2006; Azcárate et al. 2005; Azcárate & Peco 2005, 2007). Then, we

hypothesize that they can help to restore the spatial plant community structure of herbaceous vegetation dominated by annual species. The restoration of this spatial plant community structure has been never reached with other restoration methods using civil engineering such as hay transfer, soil transfer etc. (Jaunatre 2012). Until now, no previous experiment using ants as ecological engineers to restore the spatial plant community structure has been realised, ants were just used as bioindicators for the evaluation of restoration success (Van Hamberg et al. 2004; Ottonetti et al. 2006; Fagan et al. 2008). Over a longer period than considered here, we expect this transplantation to lead to complementarity which will accelerate the processes of ecological restoration, notably the restoration of the composition and structuring of the plant community via the supply of seeds and their redistribution by the new, artificially implanted colonies of *M. barbarus*. We tested the efficiency of this tool at two different sites, one degraded (with surviving ant nests) and the other completely destroyed (no surviving ant nests), but chose sites geographically close enough to ensure that climatic conditions did not cause interference (minimum distance 1km). The site histories were, however, completely different, as were the ecological restoration operations being undertaken.

At each of the sites, as well as monitoring natural recolonisation, we tested a protocol for the transplantation of founding queens of *Messor barbarus* (Linnaeus 1767) and report on its success here. We formulate the hypothesis that the suitability of host habitats for founding queens is a more limiting factor than dispersal during the nuptial flight. We therefore compare transplantation success to natural colonisation success, addressing the following questions: Is our transplantation method able to ensure the transplantation success of this species? What is the proof of successful transplantation? Does transplantation improve the establishment of the species in restored areas? Is this operation justified? Will initial restoration type have an impact on transplantation success?

4.2. Materials and methods

4.2.1. The plain of La Crau

The study was carried out at the plain of La Crau in the South East of France (Bouches-du-Rhône) (**Figure 4.1A**). This plain lies where the ancient stony delta of the Durance River

was formed by deposits from the river, when it flowed directly into the Mediterranean Sea during the Pleistocene period (Rainaud 1893; Colomb & Roux 1978; Devaux et al. 1983). The Mediterranean climate is dry and windy, with strong sunshine throughout the year. The topography is very flat with siliceous pebbles covering on average 50% of the soil surface. At 40-60 cm depth, an impermeable calcareous conglomerate (pudding pebble) prevents the roots of plants from reaching the water table, contributing to soil drought (Rainaud 1893; Colomb & Roux 1978). Plant cover ranges from between 50% to 80% of the soil surface. On average, 30 to 40 plant species per square metre (with a maximum of 70 plant species per square metre) can be observed (Römermann et al. 2005). *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. is the dominant species. The other plant species most characteristic of this steppe are *Thymus vulgaris* L., *Asphodelus ayardii* Jahand & Maire, *Linum gallicum* L. or *Stipa capillata* L., but stress-tolerant annual species predominate among the flora (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983). There are no trees. In fact, the plain of La Crau is the result of interaction between the soil, the climate and centuries of itinerant sheep grazing (Devaux et al. 1983; Cherel 1988; Badan et al. 1995; Henry et al. 2009), thus forming a typical “steppe” type ecosystem unique in Western Europe. However, in recent decades it has undergone severe degradations and destructions (Buisson et al. 2006).

4.2.2. Study sites

We undertook the transplantation of ants at two sites where an ecological restoration is in progress: the abandoned orchard area (AOA), degraded by a phase of intensive fruit growing, and the oil leak area (OLA), destroyed by an industrial accident.

4.2.2.1. Abandoned orchard area: AOA

This first site is an abandoned former industrial orchard (peaches, nectarines, apricots) (AOA, Figure 4.1B) with a surface area of 357 ha (43°31'36.78''N, 4°51'31.47''E). The orchard was in use from 1987 to 2006. The steppe (STEP), which is an integral part of a National Nature Reserve, almost entirely surrounds the former orchard and represents our reference ecosystem (Figure 4.1). Boundaries separate the steppe from the former orchard: a broad boundary (BB) to the north-north-east and north-east of the site (path, ditch and embankment) and a narrow boundary (NB) to the north-west of the site (embankment and

ditch). The width of the boundaries (10 metres) is much less than the maximum length of the foraging columns of *M. barbarus* workers (around thirty metres).

Ecological rehabilitation operations to restore a herbaceous steppe-like habitat for steppe birds (Dutoit et al. 2013) started in 2009 with the uprooting of 200 000 fruit trees and 100 000 windbreak poplars (representing a total hedge line of 55 km) and with the extraction of irrigation pipes (cumulatively 5000 km). The mounds on which each row of trees was planted were levelled. The return of itinerant sheep grazing started in 2010 and constituted a means to manage the herbaceous plant communities which had settled spontaneously from the seed bank and seed rain. Different techniques of ecological restoration were then tested (Jaunatre et al. 2014) in order to restore not only a habitat for the steppe birds but also the composition, richness, structure and dynamics of the plant communities characteristic of the steppe (Dutoit et al. 2013). Some plots were treated by nurse species seeding (NSS), a mixture of sainfoin (*Onobrychis sativa* Lam.), ray-grass (*Lolium perenne* L.) and fescue (*Festuca arundinacea* Schreb.) spread over 60ha, making it possible to rapidly cover the soil while preventing the installation of weeds. On other plots, soil transfer (ST) was carried out directly without storage, in bulk and at a ratio of 1:3 (3 ha in all) from an intact steppe plot awaiting destruction following authorisation for a quarry extension. Only the surface layer was transferred (0-20 cm depth). An area referred to as the Rehabilitated Zone (RZ) occupies the remainder of the surface of the former orchard; here, no ecological restoration operation was undertaken, apart from uprooting the trees and levelling the ground (**Figure 4.1B**).

4.2.2.2. Oil leak area (OLA)

This second study site, situated in the National Nature Reserve a few hundred metres from the former orchard under restoration, is a 5.5 ha zone of steppe vegetation that was completely destroyed by an industrial accident (43°31'36.77''N, 4°53'04.50''E) (OLA) (**Figure 4.1C**) in August 2009. An oil pipeline rupture resulted in a hydrocarbon leak of 4700 m³; in order to depollute, the soil had to be excavated an average 40 cm down to the pudding pebble, removing 72 000 t of polluted soil. This excavated area was then filled in with intact steppe soil from the quarry that was the source of the soil for the AOA site.

The operation to restore the destroyed steppe vegetation took place in spring 2011. Soil transfer was performed directly at a ratio of 1:1, without storage. The main soil layers were reconstituted in the original order. The soil surface was then compacted with a steamroller to

limit soil expansion and oxidation of the organic matter contained therein. The steppe chosen as the reference ecosystem almost entirely surrounds this site too (STEP2) (Figure 4.1C).

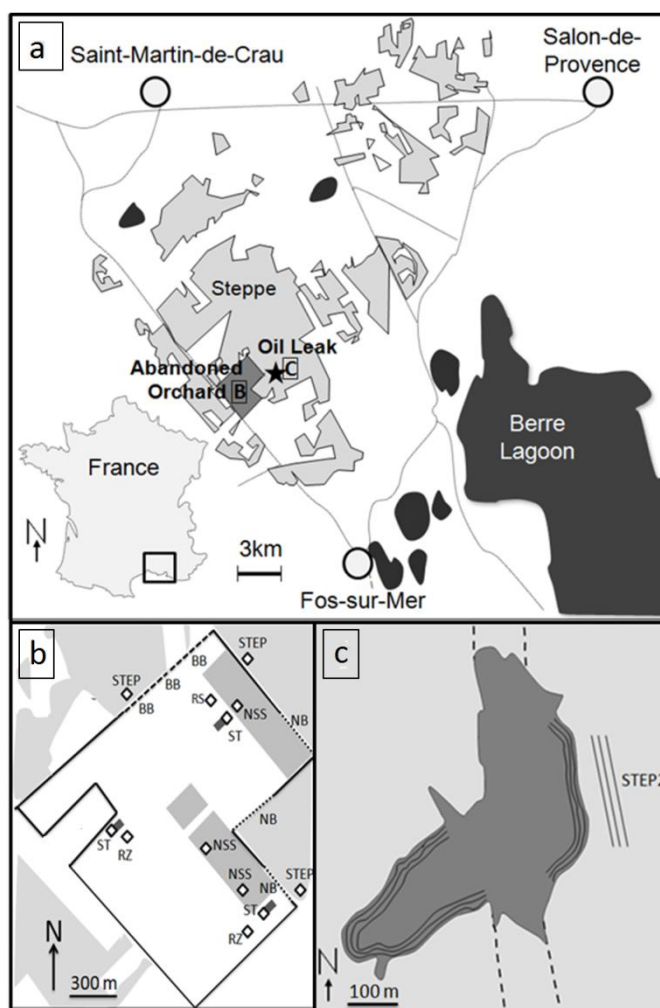


Figure 4.1: A, Situation of the plain of La Crau in France, the abandoned orchard area (AOA site) and the oil leak area (OLA site) ; B, Situation of plots where the founding queens were transplanted in the abandoned orchard under different ecological restoration treatments (RZ: rehabilitated zone, NSS: nurse species seeding, ST: soil transfer), on the boundaries (BB: broad boundary, NB: narrow boundary) and in the steppe reference (STEP); C, Situation of lines where the founding queens were transplanted on the rehabilitated area of the former oil leak and in the reference steppe (STEP2).

4.2.3. Transferred biological material

The transferred biological material is the *Messor barbarus* ant (Linnaeus 1767) (Hymenoptera: Formicidae). This harvester species was chosen because it occurs naturally in the plain of La Crau, as it does throughout the north-western basin area of the Mediterranean. According to previous studies, this species might play a key role with regard to the abundance and the distribution of plants and the structuring and dynamics of the plant community,

comparable to the action of centuries of sheep grazing (Henry et al. 2009, Fadda et al. 2008). This species, which is almost entirely seed-eating, transports to its nests as much as 63% of the total richness of flowering plant species seeds typical of the steppe (Cerdan et al. 1990). Some of these seeds may then be lost, discarded or ejected during transportation (Detrain & Tasse 2000; Azcárate & Peco 2007) while conserving their capacity for germination (Bonte et al. 2003), which in certain seeds may persist for two years (Martínez-Duro et al. 2010). The strong polymorphism of worker ants also enables them to transport seeds from 0.2 to 60 mg (Detrain et al. 1996) over a distance of as much as 30 metres.

M. barbarus colonies are monogynous, with independent claustral foundations (Cerdan 1989). This means that the queen breeds the first larvae alone and remains throughout her life enclosed in a chamber that may be situated as much as 5 m deep within the nest. Nest volume in relation to size of population is thus high (Cerdan 1989). In the plain of La Crau, since the queen cannot be situated more than 40 cm deep due to the presence of hardened pudding pebble, the nests spread out as much as 25m² over the surface. It is therefore impossible to transplant a nest with its queen without having a major impact on the collection and transplantation areas. This is why we chose to transplant *M. barbarus* founding queens (females impregnated after the nuptial flight), which can easily be collected in large numbers after the nuptial flight. The nuptial flight of *M. barbarus* occurs at the beginning of autumn after the first late summer storms, when environmental conditions are favourable: heavy precipitation on the day before the nuptial flight, high temperature (>20°C), clear sky, little or no wind (Cerdan 1989; Gómez & Abril 2012). During the nuptial flight, males and females mate and then fall to the ground, where the impregnated females (founding queens) alone tear off their wings and begin to dig.

4.2.4. Experimental protocol for the transplantation of *Messor barbarus* founding queens

4.2.4.1. Collection of founding queens

Founding queens were collected and stored in 12cm-long glass tubes with a water supply. The tubes were then closed non-hermetically to prevent condensation while allowing aeration. All the founding queens were collected within the natural distribution area of this species

(Bernard 1968; Cerdan 1989). On 5th October 2010, some 600 founding queens destined for transportation to the AOA site were collected over an area of about 100 m² by 4 people in less than an hour. On 25th October 2011, 200 founding queens were collected for transplantation to the OLA site.

4.2.4.2. Transplantation of founding queens to the AOA site

The plots receiving the founding queens measured 50 m x 60 m and were replicated 3 times within each restoration treatment type (nurse species seeding, soil transfer, rehabilitated zone), as well as in the reference steppe (Figure 4.1). On both the narrow and the broad boundaries, each plot was also replicated 3 times and the founding queens were transplanted along a 300 m line. The 3 replicates were situated some distance apart (minimum distance about 600m) in order to avoid spatial auto-correlation. In the vicinity of each transplantation site we marked out a control site of the same surface area but without founding queen transplantation so as to study, over the longer term, the impact of the ants on the vegetation in the absence of artificial transplantation (Figure 4.1). In autumn 2010, 30 founding queens per plot were placed in lines of six, at a distance of 10m from each other; the five parallel lines were 10 m apart. In the boundary areas, 30 founding queens were placed in one 300 m line, at a distance of 10 m from each other. In the narrow boundary, the 3 replicate lines of queens were 20 m apart. The distance between founding queens was chosen as the minimum to ensure that new colonies, once established, would not attack each other. This distance is a compromise between the length of the columns formed by the worker ants, which may be some thirty metres long, and the size of the smallest plots, i.e. the soil transfer plots.

In the plain of La Crau, after the nuptial flight and once they have fallen to the ground, most founding queens settle beneath the pebbles that cover the soil surface. The transplanted founding queen was therefore placed in a small hole in the ground and a pebble was placed over the hole for protection from sudden variations in temperature, the pebble acting as an accumulator of heat and subsequently restoring it to the soil. Soil was piled around the edges of the pebbles to prevent the ants from escaping or predators such as *Scolopendra* (*Scolopendra cingulata*) or spiders (*Lycosa narbonensis*), abundant in pseudo-steppe, from entering. Each pebble was then geo-referenced and numbered.

4.2.4.3. *Transplantation of founding queens to the OLA site*

In autumn 2011, 169 founding queens were similarly transplanted in three lines at a distance of 5 m, 15 m and 25 m from the reference steppe, and 60 queens likewise in the reference steppe (Figure 4.1C). In contrast to the AOA site, since this was carried out in April 2011 the vegetation was at a very early stage of development: it was very short and sparse, with large stretches of bare ground; moreover, there were very few pebbles visible at the surface because of soil compacting carried out during the restoration.

4.2.4.4. *Assessment of the artificial implantations*

In order to check whether the transplanted founding queens had survived, monitoring was carried out in spring 2011 and spring 2012 at the AOA site, and in spring 2012 and autumn 2012 at the OLA site. The numbered pebbles were inventoried, lifted and quickly but carefully replaced in order to avoid disturbing and altering the microclimate within the nest. The presence of a vertical tunnel dug at the bottom of a small chamber excavated by the founding queen beneath the pebble was considered a sign of successful transplantation. The possible presence within each nest of brood, larvae, worker ants and/or a midden was also systematically recorded (**Figure 4.2**).

Founding queen transplantations can be considered a success if the establishment rate is at least as high as that of natural colonisation, but preferably higher.



Figure 4.2: Live transplanted founding queen with its brood under the geo-referenced pebble lifted for photography (Photo credit: Laurence Berville).

4.2.5. Monitoring of natural recolonisation

4.2.5.1. AOA site

An inventory of the nests of *M. barbarus* already naturally present was carried out in spring 2011 by visually surveying the different transplantation plots and the control plots without transplantation. These nests were either newly installed or were not destroyed by the fruit- growing phase and during the ecological rehabilitation/restoration operations.

We located the nests by means of the foraging trails followed by the worker ants loaded with seeds. Wherever we found disturbed soil, traces of foraging tracks without worker ants or heaps of seed detritus, we lifted pebbles to confirm the presence of a nest. This monitoring took about 2 hours for each plot (50 m wide and 60 m long, or 0.3 ha), with or without transplantation, with 2 observers placed along transects 5 metres apart until the site had been completely covered. Along the boundaries, observers were positioned on either side of the boundary (300 m long and 5 m wide, or 0.15 ha).

4.2.5.2. OLA site

In autumn 2011, before the artificial transplantation, we undertook an initial state survey to determine whether natural recolonisation by *M. barbarus* had taken place, without systematic measurement. In autumn 2012, after the nuptial flight, natural recolonisation was measured as follows. 3 observers surveyed the entire surface area of the restoration site for one day, randomly lifting pebbles on the soil surface (total 1107) and pebbles buried in the soil (total 137) to identify the possible presence of naturally established founding queens. Their number and location were then recorded.

4.2.6. Statistical analyses

All statistical analyses were performed using R software version 2.15.2. When the data did not follow a normal distribution (Shapiro-Wilk test), we used the Kruskal-Wallis non-parametric test. This test was performed to identify any significant differences in survival rate after transplantation between the different treatment types and control periods, as well as any significant differences in the survival rates of naturally established colonies (or founding queens). In the case of significant differences, we used the Mann-Whitney-Wilcoxon non-parametric test to compare the means two by two (p-value adjusted according to the method of Benjamini-Hochberg).

4.3. Results

4.3.1. Assessment of successful transplantation of founding queens

4.3.1.1. AOA site

In spring 2011, 6 months after the transplantation of the founding queens, the overall establishment success rate was 72.6% (348 founding queens alive for 479 pebbles found). In all, we transplanted 540 founding queens, but 61 pebbles marking founding queens were not found (11.3% of pebbles not found). Transplantation success rates differed for the reference

steppe (63%), the narrow and broad boundaries (81.1% and 68.3%) and the three ecological treatment areas: rehabilitated zone (79.8%), nurse species seeding (72.4%) and soil transfer (70.1%) (Kruskal-Wallis test, chi-square = 11.2578, df = 6, p-value = 0.049). However, none of the differences were significant (Figure 4.3).

In spring 2012, one and a half years after the founding queen transplantations, the success rate was only 15.7% (74 founding queens alive for 470 pebbles found at the degraded site and in the reference steppe) (Figure 4.3). Pebbles not found represented 13%. No significant difference was recorded among the different transplant zones (Test of Kruskal-Wallis, chi-square = 8.6875, df = 6, p-value > 0.05). However, 22% of the founding queens found in spring 2011 to have been successfully transplanted were still alive.

Broods, worker ants and/or middens beneath pebbles were found at 3 transplantation locations in the reference steppe, at 6 in the boundaries (1 in a narrow boundary and 5 in broad boundaries) and at 10 in the AOA site (5 in nurse species seeding areas, 4 in soil transfer areas and 1 in a rehabilitated zone) (Figure 4.3).

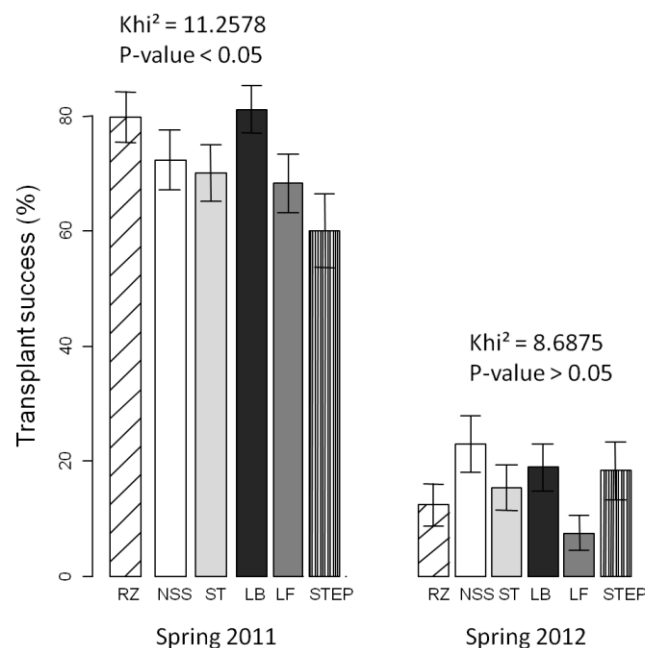


Figure 4.3: Successful transplantations of founding queens in spring 2011 and spring 2012 on the AOA site, on the boundaries and in the reference steppe. Nurse species seeding (NSS, white), rehabilitated zone (RZ, oblique stripes 45°), soil transfer (ST, light gray), broad boundary (BB, dark grey), narrow boundary (NB, grey); reference steppe (STEP, vertical stripes). The percentage of successful transplantations is based on the number of founding queens still alive in each zone. The chi-square of Kruskal-Wallis test and its p-value are indicated above each graph. The p-value is adjusted according to the Benjamini-Hochberg method. Error bars represent standard errors.

4.3.1.2. OLA site

In spring 2012, 6 months after the founding queen transplantations, the survival rate for the transplanted founding queens was 56.3% (129 founding queens alive for 229 pebbles found). Here, all the pebbles were found. The transplantation success rate was significantly higher at the OLA study site than at the reference steppe, respectively, 60.9% and 43.3% (Kruskal-Wallis test, chi-square = 4.57, df = 1, $p < 0.05$) (Figure 4.4).

In autumn 2012, one year after transplantation of the founding queens, the transplantation success rate had decreased to only 35.3% (79 founding queens alive for 224 pebbles found). Pebbles not found represented only 2.1 % of the total. The transplantation success rate was again significantly higher at the restored site than at the reference steppe (respectively 39.9% and 23.7%) (Kruskal-Wallis test, chi-square = 4.65, df = 1, $p\text{-value} < 0.05$) (Figure 4.4).

65.9% of founding queens found in spring 2012 to have been successfully transplanted were still alive in autumn 2012 (64% at the study site and 54% at the reference steppe).

We observed the presence of broods, worker ants and/or middens at only 21 transplantation locations.

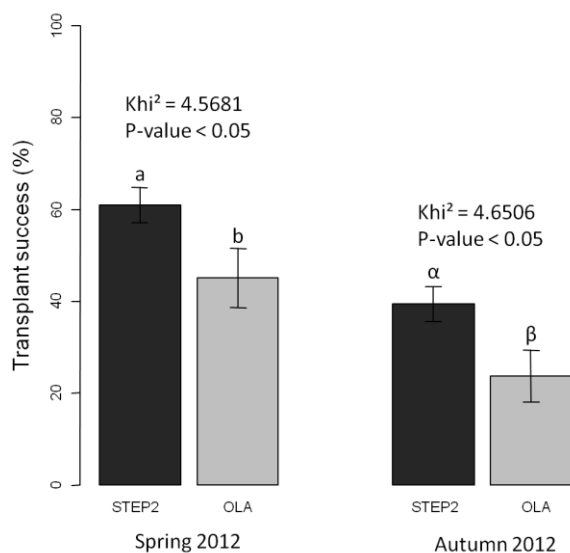


Figure 4.4: Successful transplantations of founding queens in spring 2012 and in autumn 2012 on the OLA site and in the reference steppe (STEP2, light grey). Percentage of successful transplantations is based on the number of founding queens still alive in each zone. The chi-square of Kruskal-Wallis test and its p-value are indicated above each graph. Error bars represent standard errors. Bars with a different letter (a and b, α and β) are significantly different ($p < 0.05$).

4.3.2. Monitoring of natural recolonisation

4.3.2.1. AOA site

Spring 2011 was particularly hot and dry from April to the end of May and the *M barbarus* worker ants therefore adapted their periods of daily summer foraging (from 7:00 am to 11:00 am and from 7:00 pm until sunset).

The mean number of natural nests recorded was significantly higher at the narrow and broad boundaries (on average 151.7 and 163.3 nests per hectare) and in the reference steppe (on average 70 nests per hectare) than in the rehabilitated zone (average 16.7 nests per hectare) and the nurse species seeding area (average 20 nests per hectare) (Kruskal-Wallis test, chi-square = 22.90, df = 6, p-value < 0.05). The mean number of natural nests also differed significantly between the boundary areas (both narrow and broad) and the soil transfer area (average 26.7 nests per hectare). The mean number of nests was higher in the reference steppe than in the soil transfer area but no significant difference was detected by the Mann-Whitney-Wilcoxon multiple comparison tests (Figure 4.5).

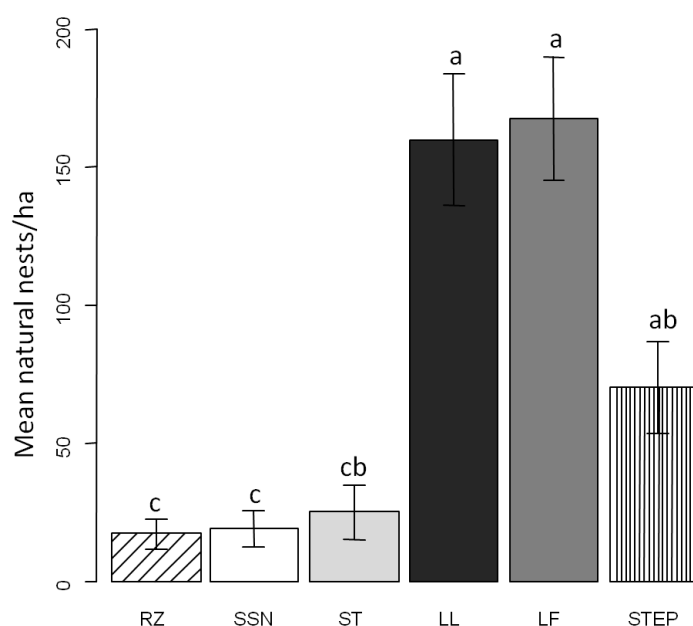


Figure 4.6 Mean natural nests (per hectare) of *Messor barbarus* already present at the site degraded by intensive arboriculture (AOA: NSS, RZ, ST, on the boundaries (BB, NB) and in the reference steppe (STEP2). Nurse species seeding (NSS, white), rehabilitated zone (RZ, oblique stripes 45°), soil transfer (ST, light grey), broad boundary (BB, dark grey), narrow boundary (NB, grey); reference steppe (STEP, vertical stripes). The chi-square of Kruskal-Wallis test and its p-value are indicated above each graph. Error bars represent standard errors. Bars with a different letter are significantly different (p < 0.05). (Comparison by Mann-Whitney-Wilcoxon tests with p-value adjusted according to the Benjamini-Hochberg method; p < 0.05).

4.3.2.2. OLA site

In autumn 2011, no new establishment of *M. barbarus* was observed at this site. In autumn 2012, after the nuptial flight, a first natural recolonisation occurred. We counted 46 new founding queens after lifting 1107 pebbles (970 pebbles placed on the surface and 137 pebbles buried in the soil). These founding queens were all found under pebbles placed on the surface. We had removed them from the ground during the transplantation operations: 4.75% of the pebbles removed from the ground had thus been chosen naturally by founding queens. No new establishment was detected where there were no pebbles on the ground, or when pebbles had been buried by prior soil compacting operations during rehabilitation of the site.

4.4. Discussion

We transplanted *M. barbarus* founding queens onto these two sites to test the hypothesis that the behaviour patterns of a harvesting ant could be useful for sustainable ecological restoration following major ecological restoration operations, primarily civil engineering. We hypothesized that this ant could in future play a role not only in the dispersal of characteristic seeds of the reference plant community, but also in the restoration of the spatial composition and pattern of this vegetation. With its foraging columns that can stretch as far as thirty metres, a mean number of 8000 worker ants per nest and the polymorphism of the worker ants, this species is capable of transporting and thus potentially of losing, discarding and/or ejecting a wide range of seeds.

The literature mainly reports the transportation of fragments of ant nests via sampling from the central mass with the main brood chambers, worker ants and one or several queens (Pavan 1961; Pontin 1969; Elmes 1971; Bradley 1972; Box 1987). This transplantation technique is generally quite successful for at least a few subsequent years. However, as well as being lengthy and fastidious, the transplantation of nests may also have a serious impact on the environment, since it requires excavating the soil in the donor area in order to collect the nest and in the host area to install it (Pontin 1969; Elmes 1971). In addition, collecting what amounts to whole nests reduces nest density in the donor area. Furthermore, it is difficult to

ensure that the founding queen located deep down, namely around 5 metres for *M. barbarus*, can be found and collected undamaged.

We therefore chose to transplant the founding queens alone, as this technique would appear to be sustainable and realisable at a large scale. As well as being quick and easy to achieve, the transplantation of the founding queens alone also minimises impact on the environment since no excavation of the soil is involved. Collecting these founding queens, an insignificant proportion of the numbers resulting from the nuptial flight (Cerdan 1989), has no impact on the donor site. At the time of the nuptial flight, the founding queens may land on habitats that are unsuitable for them to settle in, e.g. car parks, car windscreens or water, and/or fall victim to heavy predation (birds, lizards, spiders, scolopendra, ants) (personal observations; Whitcomb et al. 1973). This means that, of the thousands of founding queens involved in the nuptial flight, very few survive: myrmecologists generally agree on a figure of one out of 1000. By transplanting founding queens, we enable them to get through the dispersal filter and settle in favourable micro-habitats. Nevertheless, the first year of the founding queen's life is the most vulnerable stage in the ant's life (Baroni Urbani 1968; Hölldobler & Wilson 1990; Tschinkel 1992 a et b; Herbers 1993). As an example, 80% of nests of *Solenopsis invicta* perish before the workers have even started to work (Tschinkel 1987). Moreover, once installed in their tunnel, the founding queens may still be exposed to severe predation by ants, whether conspecific or not (Edwards et al. 1974; Nickerson et al. 1975; Nichols & Sites 1991, Kawecki 1992), and by other organisms (scolopendra, spiders) (Whitcomb et al. 1973). In addition, excessive dryness or humidity can also prove fatal (Johnson 1998). The excessive drought that we observed during the summer of 2011 may thus be one of the reasons for the high mortality rate recorded at the AOA site. When ants have independent claustral foundation, as with *M. barbarus*, the founding queens must then succeed in laying and raising their first larvae using their own reserves (Cerdan 1989; Hölldobler & Wilson 1990).

At the OLA site, one year after transplantation, 35.3% of transplanted founding queens had survived; at the AOA site, one and a half years after transplantation, almost a quarter of transplanted founding queens were also still alive. Further proof of the success of these transplantations is that the success rate is higher at the OLA site (39.9%) than in the reference steppe (23.7%). In addition, at both sites the founding queens were observed to have raised

the first worker ants six months after transplantation, and small depositories had been formed beneath the pebbles one year after transplantation.

At the AOA site, the success rate was similar throughout the transplantation areas, including the reference steppe. Within the former orchard, therefore, the various restoration operations did not have any significant influence on transplantation success in the short term. In contrast, the significantly higher success rate of the transplantations at the OLA site than at the reference steppe may be explained by greater predation in the steppe. The oil spill and the soil depollution operations totally destroyed OLA soil organisms, and thus the main predators of these ants.

At the AOA site, significant differences in density of natural nests of *Messor barbarus* were recorded: high density in boundary situations, intermediate density in the reference steppe, low density within the former orchard. These differences may be explained by the negative impact of earlier agricultural practices within the orchard between 1987 and 2006, including the use of insecticides, weeding, digging of the soil. Another explanation is the occurrence of a more positive ecotone effect in the boundary areas, an ecotone being a transition area between different elements of a landscape (ecosystem, plant communities, etc.) (Van der Maarel 1990). The fact that the boundaries' soil is not compacted may also promote the establishment of new colonies.

As natural recolonisation had already taken place before the transplantation operations, the AOA habitat would appear favourable to new establishment, whether transplanted or naturally settled. For example, there is the presence of pebbles on the soil surface, without which establishment success could be compromised by predators already colonising the site.

Thus, the transplantation of founding queens can be justified where natural nest density remains low, such as within the former orchard.

At the OLA site, natural recolonisation by *Messor barbarus* only began one year after our founding queen transplantations and remains very poor, with 9.2 foundations/ha. The new natural foundations all occurred beneath pebbles that we had removed from the ground while transplanting the founding queens, showing that these artificial practices strongly influenced the natural recolonisation. The OLA site represents an unfavourable habitat for the natural return of *Messor barbarus*, since the pebbles there were buried by the compacting of the soil to encourage vegetation during site rehabilitation. Recolonisation by *Messor barbarus* thus

appears to be habitat-dependent. In contrast, the establishment success of ants at OLA could be favoured by a low rate of predation, since predators colonised the site at the same time as the new ant colonies were developing. The transplantation of founding queens thus remains a promising method for getting past the filter of habitat conditions and the high rate of predation that occurs during natural dispersal.

Our work will continue with the monitoring of the development of the colonies and, longer term, the monitoring of the vegetation both close to the nests and in areas where there are no *Messor barbarus* nests, in order to measure the impact of this harvester ant on the vegetation. We hope in this way to determine whether transplanted species can have a positive influence on the restoration of a degraded ecosystem.

DISCUSSION GÉNÉRALE

D.1. Synthèse des principaux résultats de la thèse

D'un point de vue fondamental, l'objectif de ce travail de thèse était de contribuer à une meilleure compréhension du fonctionnement d'un écosystème en étudiant les mécanismes de régénération du sol et de la végétation après un important changement d'usage *via* une opération lourde de restauration écologique dans une pelouse sèche méditerranéenne sub-steppique. Pour cela, de nouvelles techniques de restauration écologique ont été expérimentées: un transfert de sol effectué sur les bases d'une ingénierie civile « écologisée » et en complément, l'utilisation de la fourmi moissonneuse *Messor barbarus* comme ingénieur écologique potentiel de l'écosystème.

La première partie de la thèse, constituée par les **chapitres 1 et 2**, a permis d'évaluer qu'après seulement trois années de suivi, la régénération du sol et de la végétation peuvent être rapides en se référant à certains paramètres (physiques, chimiques et biologiques pour le sol; composition, richesse spécifique et diversité spécifique pour la végétation) mais beaucoup plus lente en se référant à d'autres paramètres (échanges verticaux entre les horizons dans le profil de sol; teneurs en carbone organique et azote total, structure de la végétation). Les résultats les plus encourageants sont obtenus lorsque les trois principaux horizons pédologiques ont été reconstitués. Au sens strict, la restauration écologique de l'intégrité de cet écosystème n'a cependant pas été atteinte à court terme.

La deuxième partie de la thèse, comprenant les **chapitres 3 et 4**, a consisté à chercher un nouvel outil potentiel en ingénierie écologique pour compléter le travail de restauration écologique engagé par l'ingénierie civile « écologisée » tout en diminuant les coûts environnementaux et financiers. Nos premiers résultats montrent que la fourmi moissonneuse *M. barbarus* permet de concentrer localement certaines graines et d'augmenter ainsi la richesse spécifique de la végétation *via* la construction de dépotoirs dans l'écosystème de référence, mais seulement lorsque ceux-ci sont naturellement détruits au cours de l'hiver. Avec un suivi parallèle de la recolonisation naturelle de *M. barbarus*, une opération de transplantation de reines fondatrices de cette espèce démontre que, lorsque l'habitat n'est pas favorable à l'établissement naturel de *M. barbarus* (et notamment en l'absence de recolonisation par les espèces graminéennes), le taux de survie des fourmis transférées est prometteur à très court terme (amélioré de 300 fois par rapport au taux naturel) sur des sites

bénéficiant d'une restauration. La fourmi *Messor barbarus* apparaîtrait alors comme une candidate de choix pour être utilisée en ingénierie écologique si son impact favorable sur la végétation est bien confirmé dans quelques années.

D.2. Evaluation de la réussite d'une opération de restauration écologique par l'ingénierie civile « écolisée ».

D.2.1. Succès de la restauration écologique

Les travaux en restauration écologique se basent souvent sur le modèle des filtres (Keddy 1992; Zobel 1997; Fattorinni & Halle 2004; Lortie et al. 2004; Guisan & Rahbek 2011) pour comprendre les processus d'assemblage des communautés végétales et ainsi expliquer comment elles se régénèrent (Coiffait-Gombault 2011; Jaunatre 2012; Muller 2013).

Les résultats issus de la thèse de Jaunatre (2012), menée dans la plaine de La Crau, ont ainsi mis en évidence que l'ordre d'importance des filtres pour le rétablissement des communautés végétales était le filtre abiotique, suivi par le filtre de la dispersion et enfin par le filtre biotique. La prise en compte des interactions abiotique/biotique correspond alors à la première étape en restauration écologique où il est nécessaire de restaurer l'habitat, notamment un niveau de fertilité adéquat du sol, c'est-à-dire correspondant à celui de l'écosystème de référence.

Comme détaillé dans l'introduction des **chapitres 1 et 2**, le transfert de sol est une technique de restauration écologique qui agit simultanément sur ces trois filtres.

En effet, du site donneur vers le site récepteur, il permet de transférer des éléments physico-chimiques, de la matière organique, de la biomasse microbienne ainsi qu'une partie de la pédofaune et de la flore (Clewel & Aronson 2013). Les questions qui se posent alors sont: les propriétés du sol transférées se maintiennent-elles lors de sa translocation sur le site récepteur ? Seront-elles suffisamment conservées dans le temps pour permettre l'installation et le maintien de la communauté végétale cible sur le long terme ?

Le **chapitre 1** a confirmé que le transfert de sol influence peu les paramètres physico-chimiques puisque seulement quelques différences significatives subsistent encore entre le sol transféré et celui de la steppe de référence environnante trois ans après le transfert.

Cela a déjà été mesuré après un transfert de sol effectué dans la plaine de La Crau (Jaunatre et al. 2014a). Cependant, des résultats contraires ont déjà été trouvés dans d'autres études de translocations d'habitat ou de mottes (Trueman et al. 2007). Dans le **chapitre 1**, ces différences sont essentiellement illustrées par une baisse significative des teneurs en carbone organique total et en azote total dans le sol de surface transféré par rapport à celui de la steppe. Ces différences pourraient également être dues à l'absence de correction des mesures par rapport à la densité réelle des sols. Cette mesure étant particulièrement difficile à réaliser du fait de la forte charge en éléments grossiers des sols (impossibilité d'enfoncer les cylindres pour échantillonner). Des essais sont toutefois actuellement en cours avec d'autres techniques (Pothier, inédit). Des changements similaires ont également été décelés après un enfouissement de canalisations dans la plaine de La Crau (Coiffait-Gombault 2011).

Sur notre site d'étude, les perturbations sur le compartiment du sol provoquées lors du transfert n'ont toutefois pas augmenté les teneurs en nutriments, souvent responsables du développement des espèces végétales non-désirées, rudérales et/ou compétitives au détriment des espèces végétales steppiques cibles plutôt tolérantes aux stress (Buisson et al. 2006; Jaunatre et al. 2014a). Au contraire, le transfert de sol a bien permis le maintien d'un faible niveau de fertilité expliquant en partie la très faible colonisation par les espèces non cibles mesurée dans le **chapitre 2**.

La biomasse microbienne n'a pas présenté non plus de différence significative avec celle du sol de l'écosystème de référence, ce qui appuie le fait que les microorganismes ont une forte résilience suite à des opérations de restauration écologique affectant le sol quand celles-ci sont toutefois écologisées (transfert direct, pas de stockage, période printanière, réordonnement des différents horizons) (**chapitre 1**; Potthoff et al. 2006).

Les conditions abiotiques nécessaires à leur rétablissement sont alors réunies car la stabilité biologique des sols semble régie par leurs structures physico-chimiques qui agissent sur la composition et la physiologie des communautés microbiennes (Griffiths et al. 2008, 2012). Des résultats similaires ont été également obtenus avec les taux de minéralisation des matières organiques particulières (MOP) attestant de la bonne qualité du sol et de son bon fonctionnement (Dick et al. 1997; Haynes 2000; Pascual et al. 2000; Franzluebbbers 2002; Chapman et al. 2007; Cristofoli & Mahy 2010) après sa translocation malgré une teneur en MOP plus faible.

Dans une prairie riche en espèces, Kardol et al. (2009) avaient mesuré que, même en inoculant du sol ou des mottes abondantes en biomasse fongique, des différences trop fortes entre les conditions abiotiques du milieu donneur et du milieu récepteur, n'avaient pas permis d'aboutir au rétablissement d'une communauté végétale cible sur le site récepteur. Ces résultats ont été confirmés par Jaunatre et al. (2014a) qui ont montré que l'inoculation de sol d'un site donneur sur un site dégradé plus fertile (ancien verger), ne permet pas à court terme de restaurer l'intégrité de la végétation du site donneur.

Les **chapitres 1 et 2** indiquent que les conditions abiotiques nécessaires au rétablissement de la communauté végétale cibles ont été restaurées, ainsi que les conditions biotiques du sol. La restauration de la composition, de la richesse spécifique et même de la diversité spécifique de la végétation, qui ne présente alors plus de différence significative avec celle de la communauté végétale steppique désirée (**chapitre 2**), le confirme.

De bons résultats sur la restauration du compartiment végétal ont également été obtenus à court terme dans d'autres exemples de transfert de sol (Worthington & Helliwell 1987; Pywell et al. 1995; Bullock 1998; Vécrin & Muller 2003; Kiehl et al. 2010; Jaunatre et al. 2014a). Cependant, le rétablissement de la biomasse microbienne peut être également attribué à celui de la végétation comme le suggèrent des études menées précédemment et qui montrent que la communauté microbienne « suivait » et était dépendante de ce qui se passait dans le compartiment au-dessus du sol (Harris 2003). Ces résultats soulignent donc bien l'importance de prendre en considération à la fois les interactions abiotique/biotique et les interactions biotique-biotique pour permettre la réussite d'un programme de restauration écologique. Cette affirmation est appuyée par les résultats sur les respirations microbiennes où les plantes, présentes au-dessus du sol, influencent le catabolisme de composés dans le sol tels que l'acide malique et les sucres (**chapitre 1 et 2**). La plus faible teneur en POM dans le sol transféré, en comparaison avec le sol de l'écosystème steppique de référence, est certainement principalement engendrée par une différence dans la quantité et la qualité des nouveaux apports en matières organiques. En effet, la steppe intacte pâturée reçoit des apports réguliers qui sont rapidement minéralisés et à nouveau remplacés (Cambardella & Elliott 1992; Balesdent 1996, 1998; Haynes 2000) contrairement au site restauré qui n'est pas pâturé. Cela met en évidence l'importance de l'activité pastorale pour maintenir une hétérogénéité à la surface du sol pour que celle-ci soit à la fois constituée de patches d'espèces annuelles,

d'espèces pérennes et de sol nu (Molinier & Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Römermann et al. 2005; Buisson & Dutoit 2006; Henry et al. 2010).

Le **chapitre 2** indique, en effet, que la végétation a tendance à augmenter en hauteur plutôt qu'à s'étaler, ce qui freine la colonisation d'espèces végétales comme *Brachypodium retusum*, espèce pérenne qui se reproduit principalement par tallage. De plus, le faible recouvrement par les espèces pérennes permet l'installation et le développement de nombreuses espèces annuelles d'où la plus grande richesse spécifique momentanée en espèces cibles sur le site restauré que dans la steppe de référence dominée par *Brachypodium retusum*.

Les modes de gestion qui ont assuré le maintien de l'écosystème de référence doivent donc être remis en place sur le site restauré, tel que le pâturage ovin ancestral considéré comme un régime de perturbations endogènes dans la plaine de La Crau (Römermann et al. 2005; Henry 2010).

La réussite rapide de la restauration de la végétation steppique (**chapitre 2**) peut également être attribuée au fait que le transfert de sol a permis de dépasser le filtre de la dispersion, qui est un facteur limitant pour la régénération de la végétation cible dans la plaine de La Crau après d'importants changements d'usages des sols (Buisson & Dutoit 2004; Römermann et al. 2005; Buisson et al. 2006; Coiffait-Gombault et al. 2011; Jaunatre 2012). En effet, lorsque les conditions abiotiques sont rétablies, la capacité de régénération limitée des communautés végétales est parfois expliquée par la faible disponibilité en propagules (production, dispersion, recrutement), causée par l'épuisement de la banque de graines (Hutchings & Both 1996; Bossuyt & Honnay 2008), par une production et/ou une dispersion des graines restreintes (Bakker et al. 1996), et par l'installation d'espèces non cibles (Marrs 2002; McCain et al. 2010). Le transfert du sol, sans stockage préalable, a alors sans doute permis de favoriser la viabilité de la banque de graines steppique mais aussi le maintien de la structure du sol et de sa biomasse microbienne (DePuit 1984; Pfannenstiel & Wendt 1984; Dickie et al. 1988; Rokich et al. 2000; Rivera et al. 2012; Andersen et al. 2008). Des fragments de plantes pérennes peuvent également avoir été transférés et se développer si le sol n'est pas stocké avant son transfert. Cela peut donc expliquer la présence de 100% des espèces végétales de la steppe dont *Brachypodium retusum* sur l'ensemble du site restauré.

Le pool d'espèces régionales, présent dans l'environnement local qui entoure la communauté végétale, est important pour permettre le développement d'une communauté cible (Tansley & Adamson 1925; Pärtel et al. 1996; Alard & Poudevigne 2002; Cook et al. 2005; Jaunatre

2012). Le succès a alors certainement été accentué par le fait que le site restauré est entièrement entouré par l'écosystème de référence et cela, encore sur de grandes surfaces (parcelle relictuelle de 6500 ha).

Les **chapitres 1 et 2**, ainsi que des études antérieures, ont confirmé que le transfert de sol est une technique de restauration écologique qui offre la possibilité de recréer rapidement un habitat le plus similaire possible à l'écosystème de référence quand le site donneur est proche (géographie, phytosociologie, pédologie etc.) du site receveur dégradé ou détruit (Bullock 1998; Box 2003; Jaunatre et al. 2014a). De plus, le succès de la restauration est augmenté lorsque le sol est transféré dans de bonnes conditions, au printemps et sans stockage.

D.2.2. Importance de la reconstitution de l'horizon de surface A₁

Le grand succès de la restauration du sol et de la communauté végétale cible, décrit ci-dessus, a surtout été obtenu lorsque l'horizon organique de surface A₁ (10-20 cm) a été bien individualisé et reconstitué en surface (**chapitre 1 et 2**). En effet, c'est dans cet horizon organique qu'est contenue la banque de graines, qui constitue une importante source de propagules pour la restauration de la végétation (Carrick & Kruger 2007; Koch 2007; Rokick & Dixon 2007; Scoles-Sciulla & DeFalco 2009; Hall et al. 2010); la biomasse microbienne, qui favorise l'installation des espèces végétales (Bell et al. 2003; Jasper 2007); mais également une grande quantité de matières organiques (Duchaufour 1984; AFES 2009). La translocation de cette couche de sol maximise alors la réussite de l'opération de transfert de sol.

Lorsque l'horizon organique n'est pas reconstitué, les résultats de la restauration écologique sont plus mitigés. Selon les indices calculés pour évaluer le succès de la restauration (CSII_{norm} et HAI, Jaunatre et al. 2014b), moins la complexité du sol est rétablie, plus la communauté végétale se différencie de celle de l'écosystème de référence (**chapitre 2**). Un résultat similaire avait été mesuré concernant la restauration des compartiments abiotiques et biotiques du sol (**chapitre 1**). Ainsi, plus les horizons pédologiques reconstitués en surface sont originaires des couches profondes du sol, moins ils ont hérité de la banque de graines, de la biomasse microbienne ou des matières organiques et plus ils ont des teneurs en calcium et en pH élevées dues à la nature calcaire de la roche mère. Cela influence *in fine* la

végétation qui s'exprime à la surface suite à leur transfert, mais aussi l'activité microbienne, la dynamique des matières organiques et les propriétés physico-chimiques du sol.

Les résultats obtenus dans l'horizon minéral (B) se situent ainsi à l'intermédiaire entre l'horizon organique et le cailloutis de Crau (C) quand il est remis en surface. Le cailloutis de Crau, situé en surface, correspond à un milieu pionnier colonisé à la fois par quelques espèces végétales de la steppe environnante et par les microorganismes du sol. Il s'enrichit également peu à peu en matières organiques. Cependant, l'évolution à venir de ce traitement, dénué d'horizon organique, ne peut pas être prédite; Il pourrait ainsi évoluer vers d'autres états alternatifs différents de l'écosystème de référence (**Figure I.2.**). Par exemple, sa trajectoire pourrait se diriger vers une communauté végétale qui serait dominée par une flore plus calcicole adaptée à un sol xérique à texture très chargée en éléments grossiers (galets) et sableuse, pauvre en nutriments et au pH basique à l'image des communautés végétales pionnières des dépôts des bords de la Durance.

Les **chapitres 1 et 2** mettent alors en évidence non seulement l'importance des conditions de transfert du sol, mais aussi de l'héritage des propriétés du sol et de la banque de graines pour assurer le succès rapide de la restauration écologique.

D.2.3. Limites de la restauration écologique

Après trois années de suivi, et même avec la reconstitution de l'horizon organique de surface, l'intégrité de la communauté végétale steppique de référence n'a pas été restaurée. En effet, les indices évaluant le succès de la restauration de la communauté végétale (CSII_{norm} et HAI, Jaunatre et al. 2013) indiquent que la structuration de la végétation est encore significativement différente entre le site restauré et la steppe de référence, notamment en matière d'abondance/dominance des espèces végétales. Des différences en ce qui concerne la densité de la végétation (recouvrement, hauteur) ont également été mesurées (**chapitre 2**). De plus, même si des résultats très encourageants ont été obtenus en matière de régénération des propriétés du sol et de son fonctionnement, les descriptions pédologiques des profils de sols ont mis en évidence de fortes différences concernant les caractéristiques physiques et biologiques avec le profil de sol analysé dans la steppe de référence (**chapitre 1**). Ces différences sont notamment l'absence de recolonisation par les vers de terre et les racines des

plantes des espèces pérennes caractéristiques de la steppe, mais aussi par l'imperméabilité des couches de sols transférés qui semblent ne pas avoir été au contact de l'eau depuis leur transfert pour les horizons (B) et C. Aucun échange, *via* l'activité biologique, ne semble donc s'opérer depuis trois années entre les couches de sol dans ces profils pédologiques (Lavelle 1988; Edwards 2002). Cela peut sans doute s'expliquer par le fait que le sol transféré a été plus compacté que le sol de la steppe resté en place. Le tassement des horizons transférés a de fait impacté les communautés de vers (Radford et al. 2001; Chan & Barchia 2007), diminué la porosité du sol (Ehlers 1975; Lin et al. 1996; Kutílek 2004) et influencé la croissance et la distribution des racines (Unger & Kaspar 1994). La régénération du compartiment végétal et du compartiment du sol pourrait alors être compromise sur le long terme notamment lors d'importants épisodes de sécheresse estivale, la végétation du site restaurée ne pouvant avoir accès à l'eau alors non disponible dans les horizons les plus profonds (20-40cm).

Ainsi, même si les résultats sont meilleurs qu'en l'absence d'intervention, la restauration écologique au sens strict n'a cependant pas été atteinte par l'intermédiaire d'une ingénierie civile « écologisée ». Cette constatation a déjà été faite par Benayas et al. (2009). La restauration écologique telle qu'elle est pratiquée actuellement présente ainsi une incapacité à mimer des interactions qui se sont mises en place depuis des milliers d'années, telles que les séquences de dispersion (Fukami 2004) ou les cycles endogènes de stress et de perturbation (Bartha et al. 2003). C'est pourquoi, dans la deuxième partie de ce travail de thèse, nous avons cherché à développer un nouvel outil complémentaire en ingénierie écologique *via* l'utilisation d'organismes ingénieurs de l'écosystème (Jones et al. 1997) qui, en exerçant des interactions biotiques importantes, compléterait les opérations de restauration écologique de manière plus durable car sans intervention lourde supplémentaire.

D.2.4. Recherche d'un nouvel outil en ingénierie écologique

La fourmi *M. barbarus* a été sélectionnée pour être potentiellement un nouvel outil en ingénierie écologique par ses caractéristiques d'ingénieurs de l'écosystème déjà reconnues notamment en matière de dispersion des graines (Cerdan et al. 1990; Detain et al. 1996; Detrain & Tasse 2000; Sánchez et al. 2006; Azcárate & Peco 2007; Arnan et al. 2010; Plowes et al. 2013). Le **chapitre 3** montre que les dépotoirs de cette espèce de fourmi, entourant l'entrée de leurs nids, affectent la viabilité et la dispersion des graines dans la communauté

végétale de la steppe de référence en prenant en compte la dynamique annuelle de ces dépotoirs.

En automne, nous avons pu ainsi mettre en évidence un effet d'accumulation des graines dans les dépotoirs, comme cela avait déjà été mesuré pour cette espèce dans une autre étude (Azcarate et Peco 2007) mais aussi avec d'autres espèces de fourmis granivores (Hobbs 1985; Rissing 1986; Levey & Byrne 1993; MacMahon et al. 2000). Une large partie de ces graines sont conservées à l'intérieur de ces dépotoirs et conservent leur capacité de germination jusqu'au début de l'automne, comme en témoignent la densité et la richesse spécifique des graines viables significativement plus élevées dans les dépotoirs que dans des sols dénués d'activité de fourmis. La composition de ces dépotoirs semble néanmoins refléter la collecte des ouvrières qui récoltent préférentiellement les graines des espèces végétales les plus abondantes dans l'écosystème (Detrain et al. 1996; Azcarate et al. 2007). Sur un site bénéficiant d'une restauration écologique et fortement dominé par des espèces végétales non cibles à forte production de graines, *M. barbarus* serait alors susceptible d'accumuler des graines d'espèces non désirées dans ses dépotoirs !

Au printemps suivant, la densité et la richesse spécifique des plantules sont significativement plus élevées à l'endroit où les dépotoirs étaient localisés en comparaison aux zones sans aucune activité de fourmis mais seulement, si ces dépotoirs ont été détruits naturellement au cours de l'hiver. La grande majorité de ces dépotoirs sont effectivement désagrégés pendant la saison hivernale. Ce résultat est nouveau, car à notre connaissance, aucune étude antérieure n'a mentionné la destruction des dépotoirs comme une nécessité pour permettre l'augmentation de la densité et de la richesse des germinations au printemps suivant. Contrairement à une autre hypothèse, les dépotoirs ne permettent cependant pas à la banque de graines de type transitoire de survivre à l'hiver. La mémoire séminale de la steppe n'est donc pas augmentée par ce phénomène de stockage dans les dépotoirs.

La fourmi *Messor barbarus* entretient des interactions biotique-biotique positives avec la communauté végétale steppique de référence en redistribuant localement les graines et en augmentant notamment la richesse spécifique localement *via* la construction de dépotoirs quand ceux-ci sont détruits au cours de l'hiver. À une échelle plus globale, il a également déjà été démontré que cette espèce prélève 5 % à 20 % de la production totale en graines de la

plaine de La Crau (Cerdan et al. 1990) mais cette prédation serait alors compensé par une redistribution des graines (Detrain & Tasse 2000; Azcárate & Peco 2007).

Les capacités de dispersion des graines par cette espèce de fourmi pourraient alors être potentiellement utilisées sur des sites en cours de restauration, mais il faudrait au préalable mesurer si cette espèce aurait le même effet positif ou si, au contraire, elle favoriserait les espèces végétales non cibles au détriment des espèces cibles.

Cependant, suite à une dégradation ou à une destruction de son habitat, la recolonisation de *M. barbarus* peut-elle bien avoir lieu naturellement sur des pas de temps courts? Est-elle limitée par la qualité de l'habitat ou par sa capacité de dispersion? Est-il alors réellement nécessaire de procéder à des opérations de transplantation dans le cadre d'un programme d'ingénierie écologique? Est-il au final possible de la transplanter ?

Le **chapitre 4** a permis de démontrer que la dispersion de *Messor barbarus* se faisait sur des sites dégradés ou détruits mais que l'installation des nouvelles fondations n'était possible qu'à condition que la qualité de l'habitat le permette (présence de galets et d'une végétation herbacée), avec un taux de prédation relativement faible. Une étude a confirmé la forte capacité de recolonisation naturelle de *M. barbarus* qui est très rapidement très abondante dans de jeunes friches anciennement cultivées et abandonnées depuis une dizaine d'années à condition cependant que les galets n'aient pas été retirés et que le recouvrement en espèces graminéennes (bromes, avoines, etc.) soit particulièrement important (Tanet 2014). Dans le cas contraire, la transplantation de reines fondatrices est réalisable sur plusieurs hectares, avec un faible effort humain à fournir, et obtient d'excellents résultats après deux années de transplantation. En effet, le taux de survie de ces fondatrices transplantées atteint plus de 30 % comparé à une fondatrice sur 1000 lors d'une recolonisation naturelle (Provost com. pers.). Les opérations de transplantations de fondatrices de *M. barbarus* permettent donc de leur faire passer le filtre de la dispersion mais surtout celui de l'habitat et des forts taux de prédation. De plus, comparé à une transplantation de nids (Pavan 1961; Pontin 1969; Bradley 1972; Box 1987), l'impact sur le site donneur et sur le site récepteur est minimisé. Dans notre cas, la remise en place de galets en surface aurait peut-être alors suffit pour réensemencer naturellement le site avec cette fourmi moissonneuse. Il aurait pu également être envisagé de laisser faire le temps, car avec l'érosion de la couche superficielle du sol, des galets seraient

réapparus en surface et auraient permis la recolonisation naturelle puisque le site est encore entouré par l'écosystème de référence.

Cette transplantation de fourmis pose donc la question de la nécessité d'intervention dans le cadre de programmes de renforcements de populations (utilité, déontologie, réglementation, dérives, limites) (Actes du colloque Renforcement de Populations 2013). Cependant cette opération est originale dans le sens où elle n'a pas été effectuée afin de conserver une espèce rare ou en danger, comme c'est le cas dans la plupart des programmes de renforcement/réintroduction, mais dans le but de retrouver au moins une fonction de l'écosystème (dispersion des graines par les fourmis) qui n'était alors plus assurée, même momentanément, sur le site restauré.

D.3. Perspectives

D.3.1. Mesures complémentaires pour évaluer le succès de la restauration écologique

En plus des suivis à moyen et long termes qu'il est nécessaire de mener sur la régénération du compartiment végétal et sur celle du compartiment sol, d'autres mesures peuvent être effectuées pour compléter l'évaluation du succès de la restauration écologique après le transfert de sol.

D.3.1.1. Densité des sols

Comme énoncé précédemment (**Discussion générale D.1.1.**), une absence de correction des mesures en matière de densité apparente réelle des sols peut expliquer les différences mesurées concernant les teneurs en carbone organique et azote totaux. Il serait alors intéressant de tenter de mesurer cette densité par la méthode des sables. Cette méthode est d'ailleurs considérée comme la plus juste (Audry et al. 1973). Celle-ci permettrait en effet des résultats en conformité avec la morphologie des sols (Boka 1986; Yoro 1992).

D.3.1.2. Micromorphologie

Afin de compléter les descriptions macroscopiques sur le terrain, une étude de la micromorphologie du profil de sol pourrait être réalisée. Cette technique est basée sur l'observation et la description de lames minces de sol à différentes échelles d'observations: la coupe archéologique, la lame mince et la microscopie. Elle permet notamment d'obtenir des informations sur la porosité (forme, densité, aire, taille, connectivité des pores), sur la texture ou encore sur l'activité biologique du sol (Fedoroff et al. 1987; Courty & Fedoroff 2002).

D.3.1.3. Interactions mycorhize-plantes

Les interactions entre les mycorhizes et les plantes agissent également sur l'organisation et sur la dynamique des communautés végétales (Grime et al. 1987; Bever et al. 2001; Callaway et al. 2001; Van der Heijden & Horton 2009). De plus, une étude menée dans la plaine de La Crau a déjà montré que les changements d'usages des sols pouvaient affecter durablement les taux de mycorhization de certaines espèces herbacées (Jaunatre 2012). A la suite d'une opération de restauration écologique, comme un transfert de sol, le non rétablissement de ces interactions pourrait alors hypothéquer la restauration de la végétation ciblée sur le long terme.

D.3.1.4. Fonctionnement macro-biologique des sols

Une grande diversité d'organismes vivent dans le sol et agissent sur son fonctionnement et celui des communautés végétales (De Deyn et al. 2003; Kardol et al. 2007, 2009; Bever et al. 2010). Il paraît alors important de prendre en compte ces organismes dans l'évaluation de la réussite de projets de restauration écologique. A titre d'exemples, les microprédateurs (protozoaires, nématodes) régulent les activités microbiennes par leur prédation, les transformateurs de litière (mille-pattes, cloportes, acariens, collemboles) créent des conditions favorables au développement des microorganismes en dégradant les litières et en créant des structures organiques, et les ingénieurs de l'écosystème (lombrics) jouent notamment un rôle dans le recyclage des nutriments en influençant la diversité et l'activité des autres groupes fonctionnels et des microorganismes (Jones et al. 1994; Lavelle 1997).

D.3.1.5. Suivi de la recolonisation des arthropodes

Dans la plaine de La Crau, la recolonisation naturelle des arthropodes est très différente en fonction de l'Ordre considéré. Les études effectuées sur le retour des communautés de fourmis et d'Orthoptères indiquent une grande capacité de recolonisation par ces organismes après des changements d'usages de sols, même si des réponses différentes au niveau spécifique peuvent être mesurées (Alignan en préparation; Tanet 2014). Des résultats inverses ont cependant été mesurés concernant les Coléoptères (Fadda 2007; Alignan en préparation) qui présentent une richesse spécifique plus forte dans les sites récemment perturbés (friches culturales) par rapport à l'écosystème steppique. Il serait alors intéressant d'identifier une espèce ou un assemblage d'espèces qui permettrait d'attester de la bonne qualité de l'habitat restauré comparé à l'écosystème cible.

D.3.2. Outils en ingénierie écologique

Les **chapitres 3 et 4** ont montré que *Messor barbarus* représentait potentiellement un bon partenaire en ingénierie écologique. Cependant, des suivis complémentaires et à plus long terme doivent être menés. D'autres partenaires en ingénierie écologique pourraient également être utilisés.

D.3.2.1. Ingénieur de l'écosystème - la fourmi *Messor barbarus*

La fourmi *Messor barbarus* a donc une action favorable sur la redistribution des graines dans l'écosystème de référence. Il faudrait à présent mesurer si cette espèce aurait le même effet positif ou si, au contraire, elle favoriserait les espèces végétales non cibles au détriment des espèces cibles sur des sites dégradés (**Discussion D.2.**). Cela pourrait être réalisé en comparant la composition, la richesse spécifique et l'abondance des germinations entre des dépotoirs situés dans la steppe intacte et des dépotoirs localisés dans des sites dégradés.

Afin de mieux généraliser nos résultats, une analyses fonctionnelle permettrait de mesurer les traits des graines rejetées dans les dépotoirs pour savoir si le rejet de ces graines est le résultat d'un tri sélectif par les ouvrières ou le reflet de leur collecte comme cela a déjà

été suggéré dans une étude précédente (Azcarate & Peco 2007). Les traits pertinents à considérer seraient alors la taille, la dureté, la teneur en lipides des graines ou encore la présence d'élaïosomes sur les graines.

La comparaison entre le nombre et la composition des graines introduites dans le nid par les ouvrières en comparaison à ceux des graines qui sont rejetées par ces mêmes ouvrières permettrait également de mesurer le taux de prédation et le taux de dispersion potentiels exercés par la fourmi *Messor barbarus*.

Des analyses physico-chimiques pourraient aussi être effectuées dans le sol où se situent les dépotoirs, en comparaison à des zones sans dépotoirs, pour vérifier si les changements des propriétés du sol (augmentation des teneurs en limons, potassium, matière organique et pH) engendrés par ces dépotoirs (Azcarate et al. 2007) persistent dans le temps.

Après deux ans, la réussite de la transplantation des reines fondatrices est avérée. Des suivis à moyen terme permettraient de confirmer si les colonies se développent et atteignent leur maturité en essaimant (nid âgé de cinq ans environ). De plus, les premières ouvrières issues de ces colonies commencent déjà à récolter, transporter et éventuellement disperser des graines dans leurs dépotoirs. Il est maintenant nécessaire de mesurer si *Messor barbarus* exerce un effet significatif et positif sur la redistribution des graines sur le site restauré, ainsi que sur les paramètres physico-chimiques du sol.

D.3.2.2. Retour du pâturage ovin

Comme énoncé dans l'**Introduction I.2.2.**, la plaine de La Crau est pâturée depuis des milliers d'années par des troupeaux ovins qui participent et maintiennent la structuration des communautés végétales steppiques (Cherel 1988; Badan et al. 1995; Römermann et al. 2005; Henry 2009). Le pâturage améliore la dispersion, le recrutement et l'installation des espèces végétales, notamment l'établissement et le développement de *Brachypodium retusum* en stimulant la production de thalles (Coiffait-Gombault 2012). Il favorise également la reproduction clonale de nombreuses poacées et accroît la couverture de nombreuses espèces pérennes (Hoshino et al. 2009). Ce mode de gestion permet également de réduire la hauteur, la biomasse ou la couverture de nombreuses espèces végétales (Kooijman & Smit 2001;

Jacobs & Naiman 2008; Niemelä et al. 2008). Il maintient également une hétérogénéité à la surface du sol pour que celle-ci soit à la fois constituée de patches d'espèces annuelles, d'espèces pérennes et de sol nu (**Discussion D.1.1.**). Le retour de l'activité pastorale sur le site restauré (au printemps 2015) correspond alors à la prochaine étape pour continuer la restauration écologique de la communauté végétale steppique. Son impact devra être mesuré par rapport aux trois premières années sans pâturage.

D.3.2.3. Autres ingénieurs de l'écosystème: les vers de terre

Les vers de terres présentent une grande diversité fonctionnelle et sont considérés comme des ingénieurs de l'écosystème du sol importants ayant des rôles clefs dans la modification des propriétés physiques, chimiques et biologiques du sol, ainsi que sur la composition des communautés végétales (Jones 1994, 1996; Jouquet et al. 2006). Ils ingèrent et brassent de la matière organique et de la matière minérale dans le sol. Ils participent à la formation de macro-agrégats qui stabilisent la structure du sol. Leurs structures biogéniques (déjections, galeries, dômes etc.) ont aussi un impact sur la porosité et la densité du sol.

Par leurs déplacements verticaux et horizontaux, les vers de terres permettent de favoriser les échanges entre les différents horizons pédologiques. De plus, en ingérant et excréant des graines, les vers de terre agissent comme des agents de dispersion des espèces végétales (Clause 2014).

Une étude de la recolonisation naturelle de ces organismes et de leurs actions pourrait alors être menée.

D.3.3. Perspectives pour la restauration écologique

D.3.3.1. Proposition de lignes directrices pour de futurs projets

Le transfert de sol nécessite la destruction d'une partie de l'écosystème de référence pour aider à la restauration d'un écosystème dégradé ou détruit (Bullock 1998; Box 2003; Vécrin & Muller 2003). Cette opération doit être alors choisie en dernier recours. Avec l'incapacité actuelle à restaurer intégralement les écosystèmes (Benayas et al. 2009; **Chapitre 1 et 2**), il y a donc une perte nette pendant un pas de temps qui reste encore à définir.

Différentes lignes directrices peuvent cependant être proposées pour optimiser les transferts de sols dans de futurs projets:

- Sans stockage (préservation des propriétés du sol).
- Au printemps (favorisation de la reprise de la végétation des pelouses méditerranéennes).
- Transfert d'un sol mélangé entre les horizons.

Les **chapitres 1 et 2** montrent que lorsque l'horizon organique A_1 n'est pas reconstitué, la restauration des propriétés du sol et de la communauté steppique n'est pas maximale. Néanmoins, le traitement, où l'horizon minéral (B) est à la surface, semble quand même être sur la bonne trajectoire. Le transfert d'un mélange des deux horizons serait alors susceptible d'obtenir des résultats similaires à ceux mesurés dans le traitement où l'horizon organique A_1 est en surface. Il serait cependant préalablement nécessaire de trouver le meilleur ratio entre ces deux horizons pour améliorer la restauration écologique. Au final, le transfert de sol mélangé autoriserait des transferts de sol avec des rapports plus élevés. Par exemple, 1 ha détruit pour 2 ha restauré (voir plus) au lieu de 1 ha détruit pour 1 ha restauré.

D.3.3.2. Proposition de solutions intermédiaires

Suite à la fuite d'hydrocarbures, il était obligatoire de remettre du sol après l'excavation des terres polluées puisque le pétrole remontait à la surface de la roche mère par capillarité. Cela a engendré 3000 rotations de camions supplémentaires, ajoutées aux 6000 rotations effectuées lors de la phase d'évacuation du sol souillé, et détruit 4,5 ha d'écosystème de référence steppique (Wolff 2014).

Cependant, dans des cas où il n'y aurait pas de remontées de pétrole à la surface, il serait intéressant de ne pas procéder à un transfert de sol mais de répartir des petits tas de galets sur de petites surfaces du poudingue. Les galets pourraient alors jouer le rôle de pièges à particules fines (limons éolisés, argiles transportés par l'érosion en nappe lors des fortes pluies) et permettraient l'établissement des stades pionniers de la végétation qui accélérerait à son tour le phénomène de piégeage (nucleus), à l'image de la colonisation en Crau des anciens aiguiers (Dutoit com.pers.).

D.4. Conclusion

Ce travail de thèse souligne l'importance de prendre en considération les différents compartiments d'un écosystème et leurs interactions dans un projet de restauration.

Le transfert de sol est une technique de restauration écologique qui a déjà fait ses preuves pour obtenir d'excellents résultats sur la régénération du compartiment végétal et du compartiment du sol, comme démontrés dans les **chapitres 1 et 2**. Sur le site restauré, le rétablissement de l'écosystème steppique est alors amélioré, en comparaison à l'absence d'interventions. La restauration écologique au sens strict n'est cependant pas atteinte et deux secteurs de l'écosystème de référence ont été finalement détruits.

Pour continuer ce travail de restauration, l'ingénierie écologique, par l'intermédiaire d'organismes ingénieurs de l'écosystème (**chapitre 3 et 4**), apparaît comme une bonne alternative à l'ingénierie civile. Cependant, cette ingénierie comporte des risques (invasions d'espèces etc.) et les résultats ne sont également pas encore garantis. En conséquence, il reste donc primordial d'éviter toute destruction d'écosystèmes à haute valeur écologique comme les pelouses sèches méditerranéennes, et plus particulièrement la plaine de La Crau, écosystème steppique unique en Europe appartenant à notre patrimoine naturel et culturel.

LISTE DES REFERENCES

- Abbadie et al. (2011). Manifeste, une ambition pour la recherche en ingénierie écologique. *Le Courrier de la Nature*. 261: 6-8.
- Adriaens, D., Honnay, O. & Hermy, M. (2006). No evidence of a plant extinction debt in highly fragmented calcareous grasslands in Belgium. *Biological Conservation*. 13: 212-224.
- Association Française pour l'Etude du Sol (AFES), Baize D. & Girard, M.C. (2008). *Référentiel Pédologique*. Éditions Quæ. 450 pp.
- Alard, D. & Poudevigne, I. (2002). Biodiversity in changing landscapes: From species to patch assemblages to system organization (9-27pp.). *In: Application of G.I.S and Remote Sensing in River Studies*. Leuven R.S.W., Poudevigne I. & Teeuw R. (eds.). Backhuys, Leiden.
- Alignan, J.F. en préparation. Dynamique d'assemblages d'insectes dans des contextes de restauration écologique en plaine de Crau (Thèse de Doctorat – Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse).
- Allen, M. S. & Palmer, M. W. (2011). Fire history of a prairie/forest boundary: more than 250 years of frequent fire in a North American tallgrass prairie. *Journal of Vegetation Science*. 22: 436-444.
- Andersen, J.D., Ingram, L.J. & Stahl, P.D. (2008). Influence of reclamation management practices on microbial biomass carbon and soil organic accumulation on semiarid mined lands of Wyoming. *Applied Soil Ecology*. 40: 387-397.
- Andersen, A.N., Hoffmann, B.D., Müller, W.J. & Griffiths, A.D. (2002). Using ants as bioindicators in land management: simplifying assessment of ant community responses. *Journal of Applied Ecology*. 39: 8-17.
- Andersen, A.N. (1997). Using ants as bioindicators: multiscale issues in ant community ecology. *Conservation Ecology*. [online] 1: 8.<<http://www.consecol.org/vol1/iss1/art8/>> retrieved on 12 october 2014.
- Anderson, T.H. & Domsch, K.H. (1990). Application of eco-physiological quotients (qCO₂ and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology & Biochemistry*. 22: 251-255.
- Andersen, A.N. (1989). How important is seed predation to recruitment in stable populations of long-lived perennials. *Oecologia*. 8t: 310-315.
- Andersen, A.N. (1988). Dispersal distance as a benefit of myrmecochory. *Oecologia*. 75: 507-511.
- Andersen, A.N. & Ashton, D.H. (1985). Rates of seed removal by ants at heath and woodland sites in southeastern Australia. *Australian Journal of Ecology*. 10: 381-390.
- Anderson, J.P.E. & Domsch, K.H. (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil biology and biochemistry*. 10: 215-221.
- Araújo, M. B. & Luoto, M. (2007). The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change. *Global Ecology and Biogeography* 16: 743-753.
- Arnan, X., Retana, J., Rodrigo, A. & Cerdá, X. (2010). Foraging behaviour of harvesting ants determines seed removal and dispersal. *Insectes Sociaux*. 57: 421-430.

- Aronson, J., Floret, C., Le Floch, E., Ovalle, C. & Pontanier, R. (1993). Restoration and rehabilitation of degraded ecosystems in arid and semi-arid lands. I. A view from the South. *Restoration Ecology*. 1: 8-17.
- Arvidsson, J. (1997). Soil compaction in agriculture: from soil stress to plant stress. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae. Agraria* (Sweden).
- Audry, P., Combeau, A., Humbel, F.X., Roose, E. & Vizier, J.F. (1973). Essai sur les études de dynamique actuelle des sols. *Bulletin de Groupe de Travail. Orstom Bondy, multigr.*
- Azcárate, F.M. & Peco, B. (2007). Harvester ants (*Messor barbarus*) as disturbance agents in Mediterranean grasslands. *Journal of Vegetation Science*. 18: 103-110.
- Azcárate, F.M., Arqueros, L., Sánchez, A.M. & Peco, B. (2005): Seed and fruit selection by harvester ants, *Messor barbarus*, in Mediterranean grassland and scrubland. *Functional Ecology*. 19: 273-283.
- Azcárate, F.M. & Peco, B. (2003). Spatial patterns of seed predation by harvesters ants (*Messor Forel*) in Mediterranean grassland and scrubland. *Insectes Sociaux*. 50: 120-126.
- B**adan, O., Brun, J.P. & Congès Gaetan, O. (1995). Les bergeries romaines de la Crau d'Arles. Les origines de la transhumance en Provence. *Galia*. 52: 263-310.
- Baer, S.G., Engle, D.M., Knops, J.M.H., Langeland, K.A., Maxwell, B.D., Menalled, F.D. & Symstad, A.J. (2008). Vulnerability of rehabilitated agricultural production systems to invasion by nontarget plant species. *Environment Management*. 43: 189-196.
- Bailey, R.G. (1989). Explanatory supplement to ecoregions map of the continents. *Environmental Conservation*. 16: 307-309.
- Baize, D. & Jabiol, B. (2011). Guide pour la description des sols. Editions Quae, Paris. 430pp.
- Baize, D. (2000). Guide des analyses en pédologie, second ed. INRA, Paris.
- Bakker, J.P., Poschod, P., Strykstra, R.J., Bekker, R.M. & Thompson, K. (1996). Seed banks and seed dispersal: important topics in restoration ecology. *Acta Botanica Neerlandica*. 45: 461-490.
- Balabane, M. & Balesdent, J. (1995). Medium term transformations of organic N in a cultivated soil. *European Journal of Soil Science*. 46: 497-505.
- Balesdent, J. (1997). La matière organique des sols: dynamique du carbone. *Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France*. 83: 99-110.
- Balesdent, J. (1996). Un point sur l'évolution des réserves organiques des sols en France. *Etudes et Gestion des Sols*. 3: 245-260.
- Balmford, A. & Bond, W. (2005). Trends in the state of nature and their implications for human well-being. *Ecology Letters*. 8: 1218-1234.
- Bardgett, R.D. & Shine, A. (1999). Linkages between plant litter diversity, soil microbial biomass and ecosystem function in temperate grasslands. *Soil Biology and Biochemistry*. 31: 317-321.
- Baroni Urbani C. (1968). Domination et monogynie fonctionnelle dans une société digynique de Myrmecina graminicola LATR. *Insectes Sociaux*. 15: 407-412.
- Barnosky, A.D., Matzke, N., Tomiya, S., Wogan, G.O., Swartz, B., Quental, T.B. ... & Ferrer, E.A. (2011). Has the Earth's sixth mass extinction already arrived?. *Nature*, 471: 51-57.
- Barros, E., Curmi, P., Hallaire, V., Chauvel, A. & Lavelle, P. (2001). The role of macrofauna in the transformation and reversibility of soil structure of an oxisol in the process of forest to pasture conversion. *Geoderma*. 100: 193-213.
- Bartha, S., Meiners, S.J., Pickett, S.T. & Cadenasso, M. L. (2003). Plant colonization windows in a mesic old field succession. *Applied Vegetation Science*. 6: 205-212.

- Beattie, A.J. & Hughues, L. (2002). Ant-plant interactions. *In: Herrera, C.M. & Pellmyr, O. (Eds.), Plant animal interactions: an evolutionary approach.* John Wiley & Sons, 211-235pp.
- Beattie, A.J. (1985). The evolutionary ecology of ant-plant mutualisms. Cambridge University Press.
- Bell, J.D., Bartley, D.M., Lorenzen, K. & Loneragan, N.R. (2006). Restocking and stock enhancement of coastal fisheries: Potential, problems and progress. *Fisheries Research.* 80: 1-8.
- Bell T., Newman J.A., Silverman B.W., Turner S.L., Liley A.K. (2005). The contribution of species richness and composition to bacterial services. *Nature.* 436: 1157-1160.
- Bell, J., Wells, S., Jasper, D.A. & Abbott, L.K. (2003). Field inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi in rehabilitation of mine sites with native vegetation, including *Acacia* spp. *Australian Systematic Botany.* 16: 131-138.
- Bellairs, S.M. & Bell, D.T. (1993). Seed stores for restoration of species-rich shrubland vegetation following mining in western Australia. *Restoration Ecology.* 1: 231-240.
- Benayas, J.M.R., Newton, A.C., Díaz, A. & Bullock, J.M. (2009). Enhancement of biodiversity and ecosystem services by ecological restoration: a meta-analysis. *Science:* 325: 1121-1124.
- Benjamini, Y. & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of Royal Statistical Society. Serie B.* 57: 289-300.
- Bentley, B.L. (1977). Extrafloral nectaries and protection by pugnacious bodyguards. *Annual Review of Ecology and Systematics.* 407-427.
- Bergen S.B., Bolton S.M. & Fridley J.L. (2001). Design principles for ecological engineering. *Ecological Engineering.* 18: 201-210.
- Berlow, E.L., Neutel, A. M., Cohen, J.E., De Ruiter, P. C., Ebenman, B. O., Emmerson, M. ... & Petchey, O. (2004). Interaction strengths in food webs: issues and opportunities. *Journal of Animal Ecology.* 73: 585-598.
- Bergen, S.D., Bolton S.M. & Fridley, J.L. (2001). Design principles for ecological engineering. *Ecological Engineering.* 18: 201-210.
- Berggren, A., Carlson, A. & Kindvall, O. (2001). The effect of landscape composition on colonization success, growth rate and dispersal in introduced bush-crickets *Metriopteroeseli.* *Journal of Animal Ecology.* 70: 663-670.
- Bever, J.D., Schultz, P.A., Pringle, A. & Morton, J.B. (2001). Arbuscular Mycorrhizal Fungi: More Diverse than Meets the Eye, and the Ecological Tale of Why The high diversity of ecologically distinct species of arbuscular mycorrhizal fungi within a single community has broad implications for plant ecology. *Bioscience.* 51: 923-931.
- Bernard, F. (1968). Les fourmis (hymenoptera formicidae) d'Europe occidentale et septentrionale. Faune de l'Europe et du bassin méditerranéen. Masson, Paris. 3: 411pp.
- Bischoff, A. (2002). Dispersal and establishment of floodplain grassland species as limiting factors in restoration. *Biological Conservation.* 104: 25-33.
- Bobbink, R. & Willems, J.H. (1987). Increasing dominance of *Brachypodium pinnatum* (L.) beauv. in chalk grasslands: a threat to a species-rich ecosystem. *Biological Conservation.* 40: 301-314.
- Boka, M.Th. (1986). Modifications physiques d'un sol ferrallitique sous l'effet du défrichement lourd motorisé. (Mémoire pour l'obtention du DIAT, ESAT-Montpellier). Orstom, Adiopodoumé.
- Bonet, A. (2004). Secondary succession of semi-arid Mediterranean old-fields in south-eastern Spain: insights for conservation and restoration of degraded lands. *Journal of Arid Environments.* 56: 213-233.

- Bonet, A. (2004). Secondary succession of semi-arid Mediterranean old-fields in south-eastern Spain: insights for conservation and restoration of degraded lands. *Journal of Arid Environments*. 56: 213-233.
- Bond, W. & Slingsby, P. (1984). Collapse of an ant-plant mutualism: the argentine ant (*Iridomyrmex Humilis*) and myrmecochorous proteaceae. *Ecology*. 65: 1031-1037.
- Bonkowski, M., Cheng, W., Griffiths, B.S., Alphej, J. & Scheu, S. (2000). Microbial-faunal interactions in the rhizosphere and effects on plant growth. *European Journal of Soil Biology*. 36: 135-147.
- Bonte, D., Dekoninck, W., Provoost, S., Cosijns, E. & Hoffmann, M. (2003). Microgeographical distribution of ants (Hymenoptera: Formicidae) in coastal dune grassland and their relation to the soil structure and vegetation. *Animal Biology*. 53: 367-377.
- Boone, R.D. (1994). Light-fraction soil organic matter: origin and contribution to net nitrogen mineralization. *Soil Biology and Biochemistry*. 26: 1459-1468.
- Bolton, H., Wildung, R.E. & Smith, J.L. (1990). Nitrogen mineralization potentials of shrub-steppe soils with different disturbance histories. *Soil Science Society of America Journal*. 54: 887-891.
- Borcard D., Gillet, F. & Legendre, P. (2011). Numerical Ecology with R. Springer, New York.
- Borer, E.T., Seabloom, E.W., Shurin, J.B., Anderson, K.E., Blanchette, C.A., Broitman, B. ... & Halpern, B.S. (2005). What determines the strength of a trophic cascade?. *Ecology*. 86: 528-537.
- Bossuyt, B. & Honnay, O. (2008). Can the seed bank be used for ecological restoration? An overview of seed bank characteristics in European communities. *Journal of Vegetation Science*. 19: 875-884.
- Boulton, A.M. & Amberman, K.D. (2006). How ant nests increase soil biota richness and abundance: a field experiment. *Biodiversity and Conservation*. 15: 69-82.
- Bourrelly, M., Borel, L., Devaux, J.P., Louis-Palluel, J. & Archiloque, A. (1983). Dynamique annuelle et production primaire nette de l'écosystème steppique de Crau (Bouches du Rhône). *Biologie et Ecologie Méditerranéenne*. 10: 55-82.
- Bouteyre, G. & Duclos, G. (1994). Carte pédologique de France a 1/100 000 Arles, Notice Explicative. Editions INRA, pp. 304.
- Box, J. (2003). Critical Factors and Evaluation Criteria for Habitat Translocation. *Journal of Environmental Planning Management*. 46: 839-856.
- Box, J.D. (1987). A simple technique for the translocation of anthills. *Field Studies*. 6: 617-618.
- Bradford, M.A., Jones, T.H., Bardgett, R.D., Black, H.I., Boag, B., Bonkowski, M. ... & Lawton, J. H. (2002). Impacts of soil faunal community composition on model grassland ecosystems. *Science*. 298: 615-618.
- Bradley, G.A. (1972). Transplanting formica obscuripes and *Dolichoderus taschenbergi* (Hymenoptera: Formicidae) colonies in jack pine of southeastern Manitoba. *The Canadian Entomologist*. 104: 245-249.
- Bradshaw, AD. (1987). Restoration: an acid test for ecology. In: Jordan WR, Gilpin ME, Aber HJD (Eds.) Restoration ecology: a synthetic approach to ecological research. Cambridge University Press, Cambridge.
- Braun-Blanquet, J., Roussine, N., Nègre & R., Emberger, L. (1952). Les groupements végétaux de la France Méditerranéenne, CNRS Editions, Paris.
- Bray, J.R. & Curtis, J.T. (1957). An ordination of upland forest communities of southern Wisconsin. *Ecological Monographs*. 27: 325-349.

- Brown, M.J.F. & Human, K.G. (1997). Effects of harvester ants on plant species distribution and abundance in a serpentine grassland. *Oecologia*. 112: 237-243.
- Brown, J.H., Reichman, O.J. & Davidson, D.W. (1979). Granivory in Desert Ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 10: 201-227.
- Bruelheide, H. & Flintrop, T. (2000). Evaluating the transplantation of a meadow in the Harz Mountains. *Biological Conservation*. 92: 109-120.
- Buchman, N., Cuddington, K. & Lambrinos, J. (2007). 2 A historical perspective on ecosystem engineering. *Theoretical Ecology Series*. 4: 25-46.
- Buisson, E. (2011). Community and restoration ecology, importance of disturbance, natural resilience and assembly rules (Thèse d'habilitation à Diriger des Recherches, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse).
- Buisson, E. & Dutoit, T. (2006). Creation of the natural reserve of La Crau: Implications for the creation and management of protected areas. *Journal of Environmental Management*. 80: 318-326.
- Buisson, E., Dutoit, T., Torre, F., Römermann C. & Poschod, P. (2006): The implications of seed rain and seed bank patterns for plant succession at the edges of abandoned fields in Mediterranean landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 115: 6-14.
- Buisson, E. (2005). Ecological restoration of Mediterranean grassland plant communities: southern France and coastal California (USA) (Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse).
- Buisson, E. & Dutoit, T. (2004). Colonisation by native species of abandoned farmland adjacent to a remnant patch of Mediterranean steppe. *Plant Ecology*. 174: 371-384.
- Bulot, A., Provost, E. & Dutoit, T. (2014a). A comparison of different soil transfer strategies for restoring a Mediterranean steppe after a pipeline leak (La Crau plain, South-Eastern France). *Ecological Engineering*. 71: 690-702.
- Bulot, A., Dutoit, T., Renucci, M. & Provost, E. (2014b). A new transplantation protocol for harvester ant queens *Messor barbarus* (Hymenoptera: Formicidae) to improve the restoration of species-rich plant communities. *Myrmecological News*. 20: 43-52.
- Bullock, J.M., Aronson, J., Newton, A.C., Pywell, R.F. & Rey-Benayas, J.M. (2011). Restoration of ecosystem services and biodiversity: conflicts and opportunities. *Trends in Ecology & Evolution*. 26: 541-549.
- Bullock, J.M. (1998). Community translocation in Britain: Setting objectives and measuring consequences. *Biological Conservation*. 84: 199-214.
- Burd, M. (1994). Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *The Botanical Review*. 60: 83-139.
- Bruno, J.F., Stachowicz, J.J. & Bertness, M.D. (2003). Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution*. 18: 119-125.
- C**albrix, R., Laval, K. & Barray, S. (2005). Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: a reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. *European Journal of Soil Biology*. 41: 11-20.
- Callahan, M. A., Rhoades, C. C. & Heneghan, L. (2008). A striking profile: soil ecological knowledge in restoration management and science. *Restoration ecology*. 16: 604-607.
- Callaway, R.M. & Walker, L.R. (1997). Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology*. 78: 1958-1965.
- Cambardella, C.A. & Elliott, E.T. (1992). Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. *Soil Science Society of America Journal*. 56: 777-783.
- Campbell, C.D., Chapman, S.J., Cameron, C.M., Davidson, M.S. & Potts, J.M. (2003). A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate

- amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil. *Applied and environmental microbiology*. 69: 3593-3599.
- Cardinale, B.J., Palmer, M.A. & Collins, S.L. (2002). Species diversity enhances ecosystem functioning through interspecific facilitation. *Nature*. 415: 426-429.
- Carrick, P.J. & Krüger, R. (2007). Restoring degraded landscapes in lowland Namaqualand: Lessons from the mining experience and from regional ecological dynamics. *Journal of Arid Environments*. 70: 767-781.
- Carter M.R., Angers, D.A., Gregorich, E.G. & Bolinder, M.A. (2003). Characterizing organic matter retention for surface soils in eastern Canada using density and particle size fractions. *Canadian Journal of Soil Science*. 83:11-23.
- Castracani, C. & Mori, A. (2006). The role of permanent grasslands on ant community structure: ants (Hymenoptera: Formicidae) as ecological indicators in the agro-ecosystems of the Taro River Regional Park (Italy). *Myrmecological News*. 9: 47-54.
- Catalán, I., Rodríguez-Hidalgo, P. & Tortosa, F.S. (2008). Is habitat management an effective tool for wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) population reinforcement?. *European Journal of Wildlife Research*. 54: 449-453.
- Cerdá, X. & Retana, J. (1994). Food exploitation patterns of two sympatric seed harvesting ants *Messor bouvieri* (Bond.) and *Messor capitatus* (Latr.) (Hym., Formicidae) from Spain. *Journal of Applied Entomology*, 117: 268-277.
- Cerdan, P., Borel, L., Palluel, J. & Delye, G. (1990). Les fourmis moissonneuses et la végétation de la Crau (Bouches-du-Rhône). *Ecologia Mediterranea*. 12: 15-23.
- Cerdan, P. (1989). Etude de la biologie, de l'écologie et du comportement des fourmis moissonneuses du genre *Messor* (Hymenoptera, Formicidae) en Crau (Thèse de doctoration, Université Aix-Marseille 1).
- Chan, K. Y. & Barchia, I. (2007). Soil compaction controls the abundance, biomass and distribution of earthworms in a single dairy farm in south-eastern Australia. *Soil and Tillage Research*. 94: 75-82.
- Chapman, S.J., Campbell, C.D. & Artz, R.R.E. (2007). Assessing CLPPs using MicroResp™ - A comparison with biolog and multi-SIR. *Journal of Soil and Sediment*. 7: 406-410.
- Charley, J.L. & West, N.E. (1977). Micro-patterns of nitrogen mineralization activity in soils of some shrub-dominated semi-desert ecosystems of Utah. *Soil Biology and Biochemistry*. 9: 357-365.
- Cherel O. (1988). Contribution à l'étude des relations végétation-mouton sur les parcours de Crau: adaptation et développement d'étude du régime alimentaire. (Thèse de doctorat, Université Aix-Marseille).
- Chessel, D., Dufour, A.B. & Thioulouse, J. (2004). The ade4 package-I- One-table methods. *R News*. 4: 5-10.
- Clewell, A.F. & Aronson, J. (2013). Ecological restoration: Principles, Values and Structure of an Emerging Profession, second ed. Island Press, Washington, 275 pp.
- Cheylan, G., Bence, P., Boutin, J., Dhermain, F., Olioso, G & Vidal, P. (1983). L'utilisation du milieu par les oiseaux de la Crau. *Biologie-Ecologie Méditerranéenne*. 10:83-106.
- Cheylan G. (1975). Esquisse écologique d'une zone semi-aride : la Crau (Bouches-du-Rhône). *Alauda*. 43: 23-54.
- Choi, Y.D. (2004). Theories for ecological restoration in changing environment: toward "futuristic" restoration. *Ecological Research*. 19: 75-81.
- Clark, W.C., Richards, J. & Flint, E. (1986). Human transformations of the earth's vegetation cover: past and future impacts of agricultural development and climatic change. Climate-vegetation interactions. Report OIES-2, UCAR (University Corporation for Atmospheric Research), Boulder, CO, 54-59.

- Clause, J. (2014). Importance et conséquences de l'activité des vers de terre sur la composition et la dynamique des communautés végétales (Thèse de doctorat, Université de Rouen).
- Clewell, A.F. & Aronson, J. (2013). *Ecological Restoration: Principles, Values, and Structure of Emerging Profession*. 2nd edition. Island Press, Washington DC.
- Clewell, A.F. & Aronson, J. (2007). *Ecological Restoration: Principles, Values, and Structure of an Emerging Profession*, 1st ed. Island Press, Washington DC.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, E. & Dutoit, T. (2012a). Using a two-phase sowing approach in restoration: sowing foundation species to restore, and subordinate species to evaluate restoration success. *Applied Vegetation Science*. 15: 277-289.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, E. & Dutoit, T. (2012b). Are old Mediterranean grasslands resilient to human disturbances?. *Acta Oecologica*. 43: 86-94.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, C. & Dutoit, T. (2011). Hay transfer promotes establishment of Mediterranean steppe vegetation on soils disturbed by pipeline construction. *Restoration Ecology*. 19: 214-222.
- Coiffait-Gombault, C. (2011). Règles d'assemblages et restauration écologique des communautés végétales herbacées méditerranéennes: Le cas de la Plaine de la Crau (Bouches-du-Rhône, France). (Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse).
- Colomb, E. & Roux, M.R. (1986). La Crau, histoire Plio-Pléistocène. *Méditerranée*. 58: 31-42.
- Convention sur la diversité biologique. (2011). Ways and means to support ecosystem restoration.
- Connell, J.H. & Slatyer, R.O. (1977). Mechanisms of succession in natural communities and their role in community stability and organization. *The American Naturalist*. 111: 1119-1144.
- Commission of the European communities, 2002. Communication from the commission to the council, the European parliament, the economic and social committee and the committee of the regions. towards a the matic strategy for soil protection. 35pp.
- Cook, WM., Yao J., Foster, B.L., Holt, R.D. & Patrick, L.B. (2005). Secondary succession in an experimentally fragmented landscape: community patterns across space and time. *Ecology*. 86: 1267-1279.
- Courty, M.A. & Fedoroff, N. (2002). Micromorphologie des sols et sédiments archéologiques, Miskovsky J.-C. (dir.), *Géologie de la préhistoire : méthodes, techniques, applications*, Edition Géopré, Paris, pp. 511-554.
- Corcket, E., Giffard, B. & Sforza, R. (2013). Complexité des interactions au sein de la biocénose (443-459pp.). In: *Interactions insects-plantes*. Sauvion, N., Calatayud, P.A., Thiéry, D. & Marion-Poll, F. (eds). Quae Editions, Paris. 784pp.
- Cristofoli, S. & Mahy, G. (2010). Restauration écologique: contexte, contraintes et indicateurs de suivi. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment [= BASE]*. 14(1).
- Crutzen, P.J. (2002). Geology of mankind. *Nature*. 415: 23-23.
- Curry, J.P. (2004). Factors affecting the abundance of earthworms in soils. *Earthworm ecology*. 91-113.
- D**avis, A.J., Jenkinson, L.S., Lawton, J.H., Shorrocks, B. & Wood, S. (1998). Making mistakes when predicting shifts in species range in response to global warming. *Nature*. 391: 783-786.

- Dean, W.R.J. & Yeaton, R.J. (1992). The importance of harvester *Messor capensis* nest-mounds as germination sites in the southern Karoo, South Africa. *African Journal of Ecology*. 30: 335-345.
- De Deyn, G. B., Raaijmakers, C. E., Zoomer, H. R., Berg, M. P., de Ruiter, P. C., Verhoef, H. A., ... & van der Putten, W. H. (2003). Soil invertebrate fauna enhances grassland succession and diversity. *Nature*, 422(6933), 711-713.
- DeFalco, L.A., Esque, T.C., Kane, J.M. & Nicklas, M.B. (2009). Seed banks in a degraded desert shrubland: Influence of soil surface condition and harvester ant activity on seed abundance. *Journal of Arid Environments*. 73: 885-893.
- DeGryze, S., Six, J., Paustian, K., Morris, S. J., Paul, E. A. & Merckx, R. (2004). Soil organic carbon pool changes following land-use conversions. *Global Change Biology*. 10: 1120-1132.
- DePuit, E.J. (1984). Potential topsoiling strategies for enhancement of vegetation diversity on mined lands. *Journal of Mining and Environment*. 6: 115-120.
- Detrain, C. & Tasse, O. (2000). Seed drops and caches by the harvester ant *Messor barbarus*: do they contribute to seed dispersal in Mediterranean grasslands? *Die Naturwissenschaften*. 87: 373-376.
- Detrain, C., Tasse, O., Versaen, M. & Pasteels, J.M. (2000): A field assessment of optimal foraging in ants: trail patterns and seed retrieval by the European harvester ant *Messor barbarus*. *Insectes Sociaux*. 47: 56-62.
- Detrain, C. & Pasteels, J.M. (2000). Seed preferences of the harvester ant *Messor barbarus* in a Mediterranean mosaic grassland (Hymenoptera: Formicidae). *Sociobiology*. 35: 35-48.
- Detrain, C., Versaen, M. & Pasteels, J.M. (1996). Recolte de graines et dynamique du réseau de pistes chez la fourmi moissonneuse *Messor barbarus*. *Insectes Sociaux*. 157-160.
- Devaux, J.P., Archiloque, A., Borel, L., Bourrelly, M. & Louis-Palluel, J. (1983). Notice de la carte phyto-écologique de la Crau (Bouches du Rhône). *Biologie et Ecologie Méditerranéenne*. 10: 5-54.
- Deverre, C. (1996). La nature mise au propre dans la steppe de Crau et la forêt du Var. *Etudes Rurales*. 141: 45-61.
- Díaz, M. (1991). Spatial patterns of granivorous ant nest abundance and nest site selection in agricultural landscapes of Central Spain. *Insectes Sociaux*. 38: 351-363.
- Dick, R.P., Pankhurst, C., Doube, B.M. & Gupta, V.V.S.R. (1997). Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. *Biological Indicators of Soil Health*. 121-156.
- Dick, W. A., Tabatabai, M. A. & Metting, F. (1993). Soil microbial ecology: Application in agricultural and environmental management. Significance and potential uses of soil enzymes. Metting, F.B. & Dekker, M. (eds), New York, USA. 95-125.
- Dickie, J.B., Gajjar, K.H., Birch, P., & Harris, J.A. (1988). The survival of viable seeds in stored topsoil from opencast coal workings and its implications for site restoration. *Biological Conservation*. 43: 257-265.
- Donath, T.W., Hölzel, N. & Otte, A. (2003). The impact of site conditions and seed dispersal on restoration success in alluvial meadows. *Applied of Vegetation Science*. 6: 12-13.
- Dray, S. & Dufour, A.B. (2007). The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists. *Journal Statistical Software*. 22: 1-20.
- Duchaufour, P. (1984). Pédologie, ed. Masson, Paris.
- Dutoit, T. (2014). Restauration écologique: quelles recherches mener pour agir non seulement pour, mais aussi par le vivant? (83-97pp.). In: Rey F., *Ingénierie écologique : Action par et/ou pour le vivant ?*". Gosselin F. & Doré A. (eds). Quae Editions, Paris. 166pp.
- Dutoit, T., Buisson E. & Mesleard, F. (2014). L'écologie de la restauration a 80 ans ! Espoirs et limites d'une discipline scientifique controversée (167-176pp.). In: *Sciences de la*

- conservation*. Gauthier-Clerc M., Mesléard, F. & Blondel, J. (eds). De Boeck éditions, Paris. 346 pp.
- Dutoit, T., Buisson, E., Fadda, S., Henry, F., Coiffait-Gombault C., Jaunâtre, R., Alignan, J.F., Masson, S. & Bulot, A. (2013a). The pseudo-steppe of La Crau (South-Eastern France): Origin, management and restoration of a Mediterranean rangeland (287-301pp.). *In: Steppe Ecosystems: Biological Diversity, Management and Restoration*. Traba J., Morales M. (eds.), Nova Publishers, USA.
- Dutoit, T., Jaunatre, R. & Buisson, E. (2013b). Mediterranean steppe restoration in France (60-64pp.). *In: Ecological Restoration Principles, Values, and Structure of an Emerging Profession*. Clewell A.F. & Aronson J. (eds.). Second edition, Island Press, Washington.
- Dutoit, T. (2012). La restauration écologique à partir d'habitats dégradés, Intervenir à tout prix ? De nouvelles pelouses à intégrer à l'échelle du paysage (30-33pp.). *In: Pelouses et coteaux secs... Paysages, biodiversité et pastoralisme*. Les cahiers techniques du CREN Rhône-Alpes, Vourles.
- Dutoit, R., Buisson, E., Fadda, S., Henry, F., Coiffait-Gombault, C. & Jaunatre, R. (2011). Dix années de recherche dans une pseudo-steppe méditerranéenne: impacts des changements d'usage et restauration écologique. *Science et Changements Planétaires/Sécheresse*. 22: 75-85.
- Dzwonko, Z. & Loster, S. (1998). Dynamics of species richness and composition in a limestone grassland restored after tree cutting. *Journal of Vegetation Science*. 9: 387-394.
- E**cole thématique de l'INEE-CNRS. (2007). L'ingénierie écologique: des concepts aux perspectives pour la recherche. Cargèse 2-6 avril 2007. Ellison & Gotelli 2001
- Edwards, C.A. (2002). Assessing the effects of environmental pollutants on soil organisms, communities, processes and ecosystems. *European Journal of Soil Biology*. 38: 225-231.
- Edwards, G.B., Carroll, J.F. & Whitcomb, W.H. (1974). *Stoidis aurata* (Araneae : Salticidae), spider predators of ants. *The Florida Entomologist*. 57: 337-346.
- Ehlers, W. (1975). Observations on earthworm channels and infiltration on tilled and untilled loess soil. *Soil Science*. 119: 242-249.
- Ehrlich, P.R., & Ehrlich, A.H. (1992). The value of biodiversity. *Ambio* (Sweden).
- Eichberg, C., Storm, C., Stroh, M. & Schwabe, A. (2010). Is the combination of topsoil replacement and inoculation with plant material an effective tool for the restoration of threatened sandy grassland? *Applied Vegetation Science*. 13: 425-438.
- Elliott, N., Kieckhefer, R. & Kauffman, W. (1996). Effects of an invading coccinellid on native coccinellids in an agricultural landscape. *Oecologia*. 105: 537-544.
- Ellison, A.M. & Gotelli, N.J. (2001). Evolutionary ecology of carnivorous plants. *Trends in ecology & evolution*. 16: 623-629.
- Elmes, G.W. (1971). An experimental study on the distribution of heathland ants. *Journal of Animal Ecology*. 40: 495-499.
- Eriksson, O. & Ehrlén, J. (1992). Seed and microsite limitation of recruitment in plant populations. *Oecologia*. 91: 360-364.

- F**adda, S., Henry, F., Orgeas, J., Ponel, P., Buisson, E. & Dutoit, T. (2008). Consequences of the cessation of 3000 years of grazing on dry Mediterranean grassland ground-active beetle assemblages. *Comptes Rendus de Biologie*. 33: 532-546.
- Fadda, S. 2006. Organisation des communautés de coléoptères terricoles en écosystème multi-perturbé : le cas des écosystèmes de pelouses sèches (Thèse de Doctorat, Université Paul Cézanne Marseille).
- Fagan, K.C., Pywell, R.F., Bullock, J.M. & Marrs, R.H. (2008). Are ants useful indicators of restoration success in temperate grasslands?. *Restoration Ecology*. 18: 373-379.
- Fargione, J.E., Cooper, T.R., Flaspohler, D.J., Hill, J., Lehman, C., Tilman, D. ... & Oberhauser, K.S. (2009). Bioenergy and wildlife: threats and opportunities for grassland conservation. *Bioscience*. 59: 767-777.
- Fattorini, M. & Halle, S. (2004). The dynamic environmental filter model: how do filtering effects change in assembling communities after disturbance. *Assembly rules and restoration ecology: Bridging the gap between theory and practice*. 96-114.
- Fedoroff, N. (1987). The production potential of soils: Part I—Sensitivity of principal soil types to the intensive agriculture of North-Western Europe. In: Scientific basis for soil protection in the European Community (pp. 65-85). Springer Netherlands.
- Feller, C., Frossard, E. & Brassard, M. (1994). Activité phosphatasique de quelques sols tropicaux à argile 1:1. Répartition dans les fractions granulométriques. *Canadian journal of soil science*. 74: 121-129.
- Feller, C. (1979). Une méthode de fractionnement granulométrique de la matière organique des sols. *Cahiers ORSTOM série Pédologie*. 17: 339-346.
- Fischer, J. & Lindenmayer, D. (2000). An assessment of the published results of animal relocations. *Biological Conservation*. 96: 1-11.
- Folgarait, P.J. (1998). Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review. *Biodiversity & Conservation*. 7: 1221-1244.
- Fontaine, S., Mariotti, A. & Abbadie, L. (2003). The priming effect of organic matter: a question of microbial competition?. *Soil Biology and Biochemistry*. 35: 837-843.
- Forey, E. & Dutoit, T. (2012). Vegetation, soils and seed banks of limestone grasslands are still impacted by former cultivation one century after abandonment. *Community Ecology*. 13: 194-202.
- Franzluebbers, A.J. (2002). Soil organic matter stratification ratio as an indicator of soil quality. *Soil and Tillage Research*. 66: 95-106.
- Fukami, T. (2004). Assembly history interacts with ecosystem size to influence species diversity. *Ecology*. 85: 3234-3242.
- G**aignard, P. (2003). Changements d'usages agricoles et dynamique spatio-temporelle de la steppe de Crau depuis 1955, secteur de ZPS (Zone de Protection Spéciale) (Rapport de DES, Université d'Aix-Marseille III).
- Gauthier-clerc M., Mesléard F. & Blondel J. (2014). Science de la Conservation. De Boeck. 345pp.
- Gibson, D.J. (2009). Grasses and grassland ecology. Oxford University Press, Oxford, 320 pp
- Gibson, C.W.D. & Brown, V.K. (1992). Grazing and Vegetation Change: Deflected or Modified Succession? *Journal of Applied Ecology*. 29: 120-131.
- Gilbert, L.E. 1980. Coevolution of animals and plants: A 1979 postscript. Coevolution of animals and plants, revised ed. 247-263.

- Golos, P.J. & Dixon, K.W. (2014). Waterproofing topsoil stockpiles minimizes viability decline in the soil seed bank in an arid environment. *Restoration Ecology*. DOI: 10.1111/rec.12090
- Good, J.E.G., Wallace, H.L., Stevens, P.A. & Radford, G.L. (1999). Translocation of herb-rich grassland from a site in Wales prior to opencast coal extraction. *Restoration Ecology*. 7: 336-347.
- Gove, A.D., Majer, D. & Dunn, R. (2007). A keystone ant species promotes seed dispersal in a "diffuse" mutualism. *Oecologia*. 153: 687-697.
- Glenn-Lewin, D.C. & Van der Maarel, E. (1992). Patterns and processes of vegetation dynamics. *Plant succession*. 11-59.
- Gómez, C. & Abril, S. (2012). Nuptial flights of the seed-harvester ant *Messor barbarus* (Linnaeus, 1767) (Hymenoptera: Formicidae) in the Iberian Peninsula: synchrony spatial scale and weather conditions. *Myrmecological News*. 16: 25-29.
- Goudard, A. & Loreau, M. (2008). Nontrophic interactions, biodiversity, and ecosystem functioning: an interaction web model. *The American Naturalist*. 171: 91-106.
- Gosselin, F. (2008). Redefining ecological engineering to promote its integration with sustainable development and tighten its links with the whole of ecology. *Ecological Engineering*. 32: 199-205.
- Gregorich, E.G., Monreal, C.M., Carter, M. R., Angers, D.A. & Ellert, B. (1994). Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soils. *Canadian Journal of Soil Science*. 74: 367-385.
- Griffiths, B.S., Spilles, A. & Bonkowski, M. (2012). C:N: P stoichiometry and nutrient limitation of the soil microbial biomass in a grazed grassland site under experimental P limitation or excess. *Ecological Processes*. 1: 1-11.
- Griffiths, B.S., Hallett, P.D., Kuan, H.L., Gregory, A.S., Watts, C.W. & Whitmore, A.P. (2008). Functional resilience of soil microbial communities depends on both soil structure and microbial community composition. *Biology and Fertility of Soils*. 44: 745-754.
- Griffith, B., Scott, J.M., Carpenter J.W. & Reed, C. (1989). Translocation as a species conservation tool: status and strategy. *Science*. 245: 477-480.
- Grime, J.P., Mackey, J. M. L., Hillier, S. H. & Read, D. J. (1987). Floristic diversity in a model system using experimental microcosms. *Nature*. 328: 420-422.
- Grime, J.P. (1973). Competitive exclusion in herbaceous vegetation. *Nature*. 242: 344-347.
- Guisan, A. & Rahbek, C. (2011). SESAM – a new framework integrating macroecological and species distribution models for predicting spatio-temporal patterns of species assemblages. *Journal of Biogeography*. 38: 1433-1444.
- Gutiérrez, J.L. & Jones, C.G. (2008). Ecosystem engineers. *eLS*.
- H**all, S.L., Barton, C.D. & Baskin, C.C. (2010). Topsoil Seed Bank of an Oak – Hickory Forest in Eastern Kentucky as a Restoration Tool on Surface Mines. *Restoration Ecology*. 18: 834-842.
- Hallam, A. & Wignall, P. B. (1997). Mass extinctions and their aftermath. Oxford University Press.
- Harris, J. A., Hobbs, R. J., Higgs, E. & Aronson, J. (2006). Ecological restoration and global climate change. *Restoration Ecology*. 14: 170-176.
- Harris, J. A. (2003). Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science*. 54: 801-808.
- Harrison, P. & Pearce, F. (2000). AAAS atlas of population & environment. University of California Press.

- Hart, S.C., Stark, J.M., Davidson, E.A. & Firestone, M.K. (1994). Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. In: *Methods of Soil Analysis, Part II: Microbiological and Biochemical Properties* (985-1017pp.). Page, A.L., Miller, R.H., Keeney, D.R. (eds.). Soil Science Society of America, Madison..
- Hay, M.E. & Taylor, P.R. (1985). Competition between herbivorous fishes and urchins on Caribbean reefs. *Oecologia*. 65: 591-598.
- Haynes, R.J. (2000). Labile organic matter as an indicator of organic matter quality in arable and pastoral soils in New Zealand. *Soil Biology and Biochemistry*. 32: 211-219.
- Haynes, R.J. (1999). Labile organic matter fractions and aggregate stability under short-term, grass-based leys. *Soil biology and Biochemistry*. 31: 1821-1830.
- Haynes, R.J. & Beare, M. H. (1996). Aggregation and organic matter storage in mesothermal, humid soils. *Structure and organic matter storage in agricultural soils*. 213-262.
- Heneghan, L., Miller, S. P., Baer, S., Callahan, M. A., Montgomery, J., Pavao-Zuckerman, M. ... & Richardson, S. (2008). Integrating soil ecological knowledge into restoration management. *Restoration Ecology*. 16: 608-617.
- Henry, F., Talon, B. & Dutoit, T. (2010). The age and the history of the French Mediterranean steppe revisited by soil wood charcoal analysis. *The Holocene*. 20: 25-34.
- Henry, F. (2009): Origine et dynamique à long terme d'un écosystème herbacée pseudo steppique : le cas de la plaine de La Crau (Bouches-du-Rhône, France). (Thèse de doctorat, Université Paul Cézanne, Marseille).
- Herbers, J.M. (1993). Ecological determinants of queen number in ants. In: *Queen number and sociality in insects* (262-293pp.). Keller, L. (eds.). Oxford University Press, Oxford.
- Hobbs, R.J. & Cramer, V.A. (2007). Old field dynamics: regional and local differences, and lessons for ecology and restoration (309-318pp). In: *Old Fields Dyn Restor Abandon Farmand*. Island Press.
- Hobbs, R.J., Groves, R.H., Hopper, S.D., Lambeck, R.J., Lamont, B.B., Lavorel, S., Main, A.R., Majer, J.D. & Saunders, D.A. (1995). Function of biodiversity in the mediterranean-type ecosystems of southwestern Australia. In: *Mediterranean-Type Ecosystem*. Springer (233-284pp).
- Hobbs, R.J. (1985). Harvester ant foraging and plant species distribution in annual grassland. *Oecologia*. 67: 519-523.
- Hochkirch, A., Witzemberger, K.A., Teerling, A. & Niemeyer, F. (2007). Translocation of an endangered insect species, the field cricket (*Gryllus campestris* Linnaeus, 1758) in northern Germany. *Biodiversity and Conservation* 16: 3597-3607.
- Hölldobler, B. & Wilson, E.O. (1990). The ants. Harvard University Press, Cambridge, MA, 732 pp.
- Hopkins, A., Pywell, R.F., Peel, S., Johnson, R.H. & Bowling, P.J. (1999). Enhancement of botanical diversity of permanent grassland and impact on hay production in Environmentally Sensitive Areas in the UK. *Grass and Forage Science*. 54: 163-173.
- Hoshino, A., Tamura, K., Fujimaki, H. Asano, M., Ose, K. & Higashi, T. (2009). Effects of crop abandonment and grazing extinction on available soil water and other soil properties in a semi-arid Mogolian grassland. *Soil & Tillage Research*. 10: 228-235.
- Houghton, R.A. (1996). Land-use change and terrestrial carbon: the temporal record (117-134pp.). In: *Forest ecosystems, forest management and the global carbon cycle*. Springer Berlin Heidelberg.
- Horvitz, C.C. & Schemske, D.W. (1986). Ant-nest soil and seedling growth in a neotropical ant-dispersed herb. *Oecologia*. 70: 318-320.

- Howard, G.S. & Samuel, M.J. (1979). The value of fresh-stripped as a source of useful plants for surface mine revegetation. *Journal of Range Management*. 32: 76-77.
- Howe, H.F. & Smallwood, J. (1982). Ecology of seed dispersal. *Annual review of Ecology and Systematics*. 201-228.
- Huot, H. et al., (2012). Characteristics and potential pedogenetic processes of a Technosol developing on iron industry deposits. *Journal of Soils and Sediments*, DOI: 10.1007/s11368-012-0513-1
- Humphrey, L.D. & Schupp, E.W. (2003). A Test of a Long-Lived and Short-Lived Perennial Grass for Use in Restoring *Bromus tectorum* Communities.
- Hutchings, M.J. & Stewart, A.J.A. (2002). Calcareous grasslands. In: *Handbook of ecological restoration* (419-442pp.). Perrow M.R. & Davy A.J. (eds.). Cambridge University Press., Cambridge.
- Hutchings, M.J. & Booth, K.D. (1996). Studies on the Feasibility of Re-Creating Chalk Grassland Vegetation on Ex-Arable Land. I. The potential Roles of the Seed Bank and the Seed Rain. *Journal of Applied Ecology*. 33: 1171-1181.

Industrie pétrolière et gazière en 2010. (rapport 2011). Ministère de l'écologie du développement durable, des transports et du logement.

- IUSS Working Group WRB. 2006. World reference base for soil resources 2006. World Soil Resources Reports. No. 103. FAO, Rome.
- Ives, A.R., Cardinale, B.J. & Snyder, W.E. 2005. A synthesis of subdisciplines: predator-prey interactions, and biodiversity and ecosystem functioning. *Ecology Letters*. 8: 102-116.

Jacobs, S. M. & Naiman, R. J. (2008). Large African herbivores decrease herbaceous plant biomass while increasing plant species richness in a semi-arid savanna toposequence. *Journal of Arid Environments*. 72: 891-903.

- Janišová, M., Bartha, S., Kiehl, K. & Dengler, J. (2011). Advances in the conservation of dry grasslands: introduction to contributions from the seventh European dry grassland meeting. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. 145: 507-513.
- Jasper, D. A. (2007). Beneficial soil microorganisms of the jarrah forest and their recovery in bauxite mine restoration in Southwestern Australia. *Restoration Ecology*. 15: S74-S84.
- Jaunatre, R., Buisson, E. & Dutoit, T. (2014a). Can ecological engineering restore Mediterranean rangeland after intensive cultivation? A large-scale experiment in southern France. *Ecological Engineering*. 64: 202-212.
- Jaunatre, R., Buisson, E. & Dutoit, T. (2014b). Topsoil removal improves various restoration treatments of a Mediterranean steppe (La Crau, southeastern France). *Applied of Vegetation Science*. 17: 236-245.
- Jaunatre, R., Buisson, E., Muller, I., Morlon, H, Mesléard, F. & Dutoit, T. (2013). New synthetic indicators to assess community resilience and restoration success. *Ecological Indicators*. 29: 468-477.
- Jaunatre, R., Buisson, E. & Dutoit, T. (2012). First-year results of a multi-treatment steppe restoration experiment in La Crau (Provence, France). *Plant Ecology and Evolution*. 145: 13-23.
- Jaunatre, R. (2012). Dynamics and restoration of a Mediterranean steppe after change in land-use (La Crau, Southern-France). (Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse).

- Johnson, R.A. (2001). Biogeography and Community Structure of North American Seed-Harvester Ants. *Annual Review of Entomology*. 46: 1-29.
- Johnson, R.A. (1998). Foundress survival and brood production in the desert seed-harvester ants *Pogonomyrmex rugosus* and *P. barbatus* (Hymenoptera, Formicidae). *Insectes Sociaux*. 45: 255-266.
- Johnson, D.B., Williamson, J.C. & Bailey, A.J. (1991). Microbiology of soils at opencast coal sites. I. Short and long-term transformations in stockpiled soils. *Journal of soil science*. 42: 1-8.
- Jones, C.G., Lawton, J.H. & Shachak, M. (1997). Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers. *Ecology*. 78: 1946-1957.
- Jones, C.G., Lawton, J.H. & Shachak, M. (1996). Organisms as ecosystem engineers. *In: Ecosystem Management* (pp. 130-147). Springer New York.
- Jones, C.G., Lawton, J.H. & Shachak, M. (1994). Organisms as ecosystem engineers. *Oikos*. 69:373-386.
- Jordan III, W.R., Gilpin, M.E. & Aber, J.D. (1987). Restoration ecology: a synthetic approach to ecological research. Cambridge University Press, Cambridge.
- Jouquet, P., Dauber, J., Lagerlöf, J., Lavelle, P. & Lepage, M. (2006). Soil invertebrates as ecosystem engineers: intended and accidental effects on soil and feedback loops. *Applied Soil Ecology*. 32: 153-164.
- K**ardol, P., Bezemer, T.M. & Putten, W.H.V.D. (2009). Soil organism and plant introductions in restoration of species-rich grassland communities. *Restoration Ecology*. 17: 258-269.
- Kawecki, T.J. (1992). Young queens of the harvesting ant *Messor semirufus* avoid founding in places visited by conspecific workers. *Insectes Sociaux*. 39: 113-115.
- Keddy, P.A. (1992). Assembly and response rules: two goals for predictive community ecology. *Journal of Vegetation Science*. 3: 157-164.
- Kéfi, S., Alados, C. L., Chaves, R. C. G., Pueyo, Y. & Rietkerk, M. (2010). Is the patch size distribution of vegetation a suitable indicator of desertification processes? Comment. *Ecology*. 91: 3739-3742.
- Kiehl, K., Kirmer, A., Donath, T.W., Rasran, L. & Hölzel, N. (2010). Species introduction in restoration projects – Evaluation of different techniques for the establishment of semi-natural grasslands in Central and Northwestern Europe. *Basic and Apply Ecology*. 11: 285–299.
- Kiehl, K. & Pfadenhauer, J. (2007). Establishment and persistence of target species in newly created calcareous grasslands on former arable fields. *Plant Ecology*. 189: 31-48.
- Koch, J.M. (2007). Restoring a jarrah forest understorey vegetation after bauxite mining in western Australia. *Restoration Ecology*. 15: S26–S39.
- Kooijman, A.M. & Smit, A. (2001). Grazing as a measure to reduce nutrient availability and plant productivity in acid dune grasslands and pines forests in The Netherlands. *Ecological Engineering*. 17: 63-77.
- Kutilek, M. (2004). Soil hydraulic properties as related to soil structure. *Soil and Tillage Research*. 79: 175-184.
- L**ambin, E.F., Turner, B.L., Geist, H.J., Agbola, S.B., Angelsen, A., Bruce, J.W. ... & Xu, J. (2001). The causes of land-use and land-cover change: moving beyond the myths. *Global Environmental Change*. 11: 261-269.

- LaSalle, J. & Gauld, I.D. (1993). Hymenoptera: their biodiversity, and their impact on the diversity of other organisms. *Hymenoptera and Biodiversity*. 1-26.
- Laugier, R. (2012). De la restauration écologique au génie écologique. Centre de ressources documentaires aménagement LeNMSSMC, ministère de l'écologie, du développement durable, des transports et logement, Paris.
- Lavelle, P., Bignell, D., Lepage, M., Wolters, W., Roger, P., Ineson, P.O.W.H. ... & Dhillon, S. (1997). Soil function in a changing world: the role of invertebrate ecosystem engineers. *European Journal of Soil Biology*. 33: 159-193.
- Lavelle, P. (1988). Earthworm activities and the soil system. *Biology and fertility of Soils*. 6: 237-251.
- Law, R. & Morton, R.D. (1996). Permanence and the assembly of ecological communities. *Ecology*. 762-775.
- Lawton, J.H. & Jones, C.G. (1995). Linking species and ecosystems: organisms as ecosystem engineers (141-150 pp.). *In: Linking species & ecosystems*. Springer US.
- Le Houérou, H.N. (2001). Biogeography of the arid steppeland north of the Sahara. *Journal of Arid Environments*. 48: 103-128.
- Le Houérou, H.N. (1995). Considérations biogéographiques sur les steppes arides du nord de l'Afrique. *Sècheresse*. 6: 167-182.
- Leakey, R. & Lewin, R. (1995). The sixth extinction. Weidenfeld and Nicolson, London.
- Lee, T.D., Tjoelker, M.G., Ellsworth, D.S. & Reich, P.B. (2001). Leaf gas exchange responses of 13 prairie grassland species to elevated CO₂ and increased nitrogen supply. *New phytologist*. 150: 405-418.
- Levey, D.J. & Byrne, M.M. (1993). Complex ant-plant interactions: rain-forest ants as secondary dispersers and post-dispersal seed predators. *Ecology*. 74: 1802-1812.
- Lin, H.S., McInnes, K.J., Wilding, L.P. & Hallmark, C.T. (1996). Effective porosity and flow rate with infiltration at low tensions into a well-structured subsoil. *Transactions of the ASAE*. 39: 131-135.
- Linnell, J.D.C., Aanes, R., Swenson, J.E., Odden, J. & Smith, M.E. (1997). Translocation of carnivores as a method for managing problem animals: a review. *Biodiversity and Conservation*. 6: 1245-1257.
- Lobry de Bruyn, L.A. (1999). Ants as bioindicators of soil function in rural environments. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 74: 425-441.
- López, F., Acosta, F.J., & Serrano, J.M. (1993). Responses of the trunk routes of a harvester ant to plant density. *Oecologia*. 93: 109-113.
- Lortie, C.J., Brooker, R.W., Choler, P., Kikvidze, Z., Michalet, R., Pugnaire, F.I. & Callaway, R.M. (2004). Rethinking plant community theory. *Oikos*. 107: 433-438.
- Luque, G.M., Reyez-López, J. & Fernández-Haeger, J. (2007). Recovery of ground ant (Hymenoptera: Formicidae) communities six years after a major environmental disaster. *Environmental Entomology*. 36: 337-347.
- M**acMahon, J.A., Mull, J.F. & Crist, T.O. (2000). Harvester ants (*Pogonomyrmex spp.*): their community and ecosystem influences. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 265-291.
- Majer, J.D., Orabi, G. & Bisevac, L. (2007). Ants (Hymenoptera: Formicidae) pass the bioindicators scorecard. *Myrmecological News*. 10: 69-76.
- Majer, J.D. & Lamont, B.B. (1985). Removal of seed of *Grevillea pteridifolia* (Proteaceae) by ants. *Australian journal of botany*. 33: 611-618.
- Majer, J.D. (1983). Ants: Bio-indicators of minesite rehabilitation, landuse, and land conservation. *Environmental Management*. 7: 375-383.

- Mamarot, J. (2002). Mauvaises herbes des cultures. Acta, Paris: 540pp.
- Manchester, S.J., McNally, S., Treweek, J.R., Sparks, T.H. & Mountford, J.O. (1999). The cost and practicality of techniques for the reversion of arable land to lowland wet grassland – An experimental study and review. *Journal of Environmental Management*. 55: 91-109.
- Marrs, R.H. (2002). Manipulating the chemical environment of the soil (155-183pp). In: *Handbook of Ecological Restoration*. Perrow M.R. & Davy A.J (eds). Cambridge University Press., Cambridge.
- Marrs, R.H., Gough, M.W. & Griffiths, M. (1991). Soil chemistry and leaching losses of nutrients from semi-natural grassland and arable soils on three contrasting parent materials. *Biological Conservation*. 57: 257-271.
- Mchergui, C., Aubert, M., Buatois, B., Akpa-Vinceslas, M., Langlois, E., Bertolone, C., Lafite, R., Samson, S. & Bureau, F. (2014). Use of dredged sediments for soil creation in the Seine estuary (France): Importance of a soil functioning survey to assess the success of wetland restoration in floodplains. *Ecological Engineering*. 71: 628-638.
- McLean, I. (2003). A habitats translocation policy for Britain. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough.
- Masson, S., Mesléard, F. & Dutoit, T. (2014). Impacts de différents régimes de perturbations et niveaux de ressource hydrique pour contrôler une espèce proliférante dans un écosystème pseudo-steppique: le cas de *Rubus ulmifolius* Schott. dans la plaine de la Crau (Bouches-du-Rhône, France). *Acta Botanica Gallica*. 161: 261-276.
- Martínez-Duro, E., Ferrandis, P., Herranz, J.M. & Copete, M.A. (2010). Do seed harvesting ants threaten the viability of a critically endangered non-myrmecochorous perennial plant population? A complex interaction. *Population Ecology*. 52: 397-405.
- Martilaa, O., Saarinen K. & Jantunen, J. (1997). Habitat restoration and a successful reintroduction of the endangered Baton Blue butterfly (*Pseudophilotes baton schiffermuelleri*) in SE Finland. *Annales Zoologici Fennici*. 34: 177-185.
- McCain, K. N., Baer, S. G., Blair, J. M. & Wilson, G. W. (2010). Dominant grasses suppress local diversity in restored tallgrass prairie. *Restoration Ecology*. 18: 40-49.
- McLean, I.F.G. 2003. A habitats translocation policy of Britain.
- Meffe, G.K. & Carroll, C.R. (1997). Conservation reserves in heterogeneous landscapes. In: *Principles of conservation biology* (305-343pp.). Meffe, G.K., Carroll, CR & contributors. 2nd edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Melillo, J. M., Aber, J. D. & Muratore, J. F. (1982). Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology*. 63: 621-626.
- Millennium Ecosystem Assessment. (2005). Ecosystems and human well-being: biodiversity synthesis, world resources institute, Washington, DC.
- Mitsch, W.J. & Jørgensen, S.E. (2003). Ecological engineering: a field whose time has come. *Ecological Engineering*. 20: 363-377.
- Mitsch, W.J. (1996). Ecological engineering : a new paradigm for engineers and ecologist (111-128pp.). *Engineering within Ecological Constraints*. National Academy Press, Washington, DC.
- Molinier, R. & Tallon, G. (1950). La végétation de la Crau (Basse-Provence). Librairie générale de l'enseignement, Paris, France.
- Molliex, S., Siame, L.L., Bourlès, D.L., Belleir, O., Braucher, R. & Clauzon, R. (2013). Quaternary evolution of a large alluvial fan in a periglacial setting (Crau Plain, SE France) constrained by terrestrial cosmogenic nuclide (^{10}Be). *Geomorphology*. 195: 45-52.
- Morton, S.R. & Davidson, D.W. (1988). Comparative Structure of Harvester Ant Communities in Arid Australia and North America. *Ecological Monographs*. 58: 19.

- Mulder, C.P.H., Uliassi, D.D. & Doak, D.F. (2001). Physical stress and diversity-productivity relationships: the role of positive interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98: 6704-6708.
- Muller, I. (2013). Restauration de marais temporaires et de pelouses méso-xériques à partir d'anciennes rizières : Rôle respectif des filtres dans l'assemblage des communautés (Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse).
- N**annipieri, P., Grego, S., Ceccanti, B., Bollag, J. M., & Stotzky, G. (1990). Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil biochemistry*. 6: 293-355.
- Nellis, D.W. & Everard, C.O.R. (1983). The biology of the mongoose in the Caribbean. Foundation for Scientific Research in Surinam and the Netherlands Antilles.
- Nickerson, J.C., Whitcomb, W.H., Bhatkar, A.P. & NAVES, M.A. (1975). Predation on founding queens of *Solenopsis invicta* by workers of *Conomyrma insana*. *The Florida Entomologist*. 58: 75-82.
- Nichols, B.J. & Sites, R.W. (1991). Ant predators of founders queens of *Solenopsis invicta* (Hymenoptera: Formicidae) in Central Texas. *Environmental Entomology*. 20: 1024-1029.
- Niemelä, M., Markkola, A. & Mutikainen, P. (2008). Modification of competition between two grass species by a hemiparasitic plant and simulated grazing. *Basic and Applied Ecology*. 9: 117-125.
- O**dum, H. T. (1989). Ecological engineering and self-organization. Ecological engineering: an introduction to ecotechnology. Wiley, New York, 79-101.
- Odum, H.T. (1962). Ecological tools and their use: man and the ecosystem. In proceedings of the Lockwood Conference on the suburban forest and ecology. *The Connecticut Agricultural Experiment Station Bulletin*. 652: 57-75.
- Odum, E. (1953). Fundamentals of Ecology (Philadelphia: Saunders); 1969, The strategy of ecosystem development. *Science*. 164: 262.
- Ohgushi, T. (2008). Herbivore-induced indirect interaction webs on terrestrial plants: the importance of non-trophic, indirect, and facilitative interactions. *Entomologia experimentalis et applicata*. 128: 217-229.
- Ohgushi, T. (2005). Indirect interaction webs: herbivore-induced effects through trait change in plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 81-105.
- Ojima, D.S., Galvin, K.A. & Turner, B.L. (1994). The global impact of land-use change. *BioScience*. 300-304.
- Oksanen, J., Blanchet, F.G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P.R., O'Hara, R.B., Simpson, G.L., Solymos, P., Stevens, M.H.H. & Wagner, H. (2013). vegan: Community Ecology Package. R package version 2.0-5. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Olson, J.S, Watts, J.A. & Allison L.J. (1993). Carbon in live vegetation of major world ecosystem. Report ORNL-5862. Tennessee: oak ridge national laboratory.
- Orwin, K. & Wardle, D. (2005). Plant species composition effects on belowground properties and the resistance and resilience of the soil microflora to a drying disturbance. *Plant and Soil*. 278: 205-221.
- Otonetti, L., Tucci, L. & Santini, G. (2006). Recolonization patterns of ants in a rehabilitated lignite mine in central Italy: Potential for the use of mediterranean ants as indicators of restoration processes. *Restoration Ecology*. 14: 60-66.

- Paine, R.T. (1980). Food webs: linkage, interaction strength and community infrastructure. *The Journal of Animal Ecology*. 667-685.
- Palmer, M.A., Ambrose, R.F. & Poff, N.L. (1997). Ecological theory and community restoration ecology. *Restoration Ecology*. 5: 291-300.
- Parr, J.F. & Papendick, R.I. (1997). Soil quality: Relationships and strategies for sustainable dryland farming systems. *Annals of Arid Zone*. 36: 181-191.
- Pärtel, M. & Zobel, M. (1999). Small-scale plant species richness in calcareous grasslands determined by the species pool, community age and shoot density. *Ecography*. 22: 153-159.
- Pascual, J.A., Garcia, C., Hernandez, T., Moreno, J.L. & Ros, M. (2000). Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biology and Biochemistry*. 32:1877-1883.
- Pavan, M. (1961). Les transplantations de *Formica lugubris* sur les Apennins de la province de Pavie. *Collana Verde*. 7: 161-174.
- Pearson, R.G. & Dawson, T.P. (2003). Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful?. *Global ecology and biogeography*, 12: 361-371.
- Peck, S.L., McQuaid, B. & Campbell, C.L. (1998). Using ant species (Hymenoptera: Formicidae) as a biological indicators of agroecosystem condition. *Environmental Entomology*. 27: 1102-1110.
- Pfannenstiel, V.R. & Wendt, G.W. (1984). Enhancing shrub establishment by utilizing direct haul topsoil on mine spoils in western Colorado. *In: Proc., Symposium on the Reclamation of Lands Disturbed by Surface Mining: A Cornerstone for Communication and Understanding*. 1-14.
- Pielou, E.C. (1969). An introduction to mathematical ecology. Wiley-Interscience, New York.
- Pižl, V. (2001). Earthworm succession in afforested colliery spoil heaps in the Sokolov region, Czech Republic. *Restoration ecology*. 9: 359-364.
- Plowes, N. J., Johnson, R. A. & Hoelldobler, B. (2013). Foraging behavior in the ant genus *Messor* (Hymenoptera: Formicidae: Myrmecinae). *Myrmecological News* 18: 33-49.
- Pimm, S. L., Russell, G. J., Gittleman, J. L., & Brooks, T. M. (1995). The future of biodiversity. *Science-AAAS-Weekly Paper Edition*. 269: 347-349.
- Piqueray, J. & Mahy, G. (2010). Revue bibliographique sur la restauration des pelouses calcicoles en Europe: contraintes rencontrées et solutions proposées. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment [=BASE]*. 14: 471-484.
- Piqueray, J., Bisteau, E., Bottin, G. & Mahy, G. (2007). Plant communities and species richness of the calcareous grasslands in southeast Belgium. *Belgian Journal Botany*. 140, 157-173.
- Poff, N. L. (1997). Landscape filters and species traits: towards mechanistic understanding and prediction in stream ecology. *Journal of the North American Benthological Society*. 391-409.
- Pontin, A. (1969). Experimental transplantation of nest-mounds of the ant *Lasius flavus* (F.) in a habitat containing also *L. niger* (L.) and *Myrmica scabridonis* DIS NYL. *Journal of Animal Ecology*. 38: 747-754.
- Poschold, P., WallisdeVries, M.F. 2002. The historical and socioeconomic perspective of calcareous grasslands: lessons from the distant and recent past. *Biological Conservation* 104: 361-376.
- Potthoff, M., Steenwerth, K.L., Jackson, L.E., Drenovsky, R.E., Scow, K.M. & Joergensen, R.G. (2006). Soil microbial community composition as affected by restoration practices in California grassland. *Soil Biology and Biochemistry*. 38: 1851-1860.

- Power, M.E., Tilman, D., Estes, J.A., Menge, B.A., Bond, W.J., Mills, L.S. ... & Paine, R.T. (1996). Challenges in the quest for keystones. *BioScience*. 609-620.
- Preston-Mafham, J., Boddy, L., Randerson, P.F. (2002). Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles – a critique. *FEMS Microbiology Ecology*. 42: 1-14.
- Primack, R.B. & Miller-Rushing, A.J. (2012). Uncovering, collecting, and analyzing records to investigate the ecological impacts of climate change: a template from Thoreau's Concord. *BioScience*. 62: 170-181.
- Pywell, R.F., Webb, N.R. & Putwain, P.D. (1995). A comparison of techniques for restoring heathland on abandoned farmland. *Journal of Applied Ecology*. 400-411.
- R**adford, B.J., Wilson-Rummenie, A.C., Simpson, G.B., Bell, K.L. & Ferguson, M.A. (2001). Compacted soil affects soil macrofauna populations in a semi-arid environment in central Queensland. *Soil Biology and Biochemistry*. 33: 1869-1872.
- Rainaud, A. (1893). La Crau. *Annales de Géographie*. 2: 189-211.
- Retana, J., Pico, F.X. & Rodrigo, A. 2004. Dual role of harvesting ants as seed predators and dispersers of a non-myrmecorous Mediterranean perennial herb. *Oikos*. 105: 377-385.
- Rey, F., Gosselin, F. & Doré, A. (2014). Ingénierie écologique : Action par et/ou pour le vivant?" Quae Editions, Paris. 166pp.
- Reynolds, H.L., Packer A., Bever J.D. & Clay K. 2003. Grassroots ecology: plant-microbe-soil interactions as drivers of plant community structure and dynamics. *Ecology*. 84: 2281-2291.
- Rissing, S.W. 1986. Indirect effects of granivory by harvester ants: plant species composition and reproductive increase near ant nests. *Oecologia*. 68: 231-234.
- Ritchie, M.E. & Olf, H. (1999). Herbivore diversity and plant dynamics: compensatory and additive effects. *Herbivores: between plants and predators*. 175-204.
- Rivera, D., Jáuregui, B.M. & Peco, B. (2012). The fate of herbaceous seeds during topsoil stockpiling: restoration potential of seed banks. *Ecological Engineering*. 44: 94-101.
- Rixen, C. & Mulder, C.P. (2005). Improved water retention links high species richness with increased productivity in arctic tundra moss communities. *Oecologia*. 146: 287-299.
- Robertson, G.P., Wedin, D., Groffman, P.M., Blair, J.M., Holland, E.A., Nadelhoffer, K.J. & Harris, D. (1999). Soil carbon and nitrogen availability: nitrogen mineralization, nitrification and soil respiration (258-271pp.). In: *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research*. Robertson, G.P., Coleman, D.C., Bledsoe, C.S., Sollins, P. (eds.). Oxford University Press, Oxford.
- Rokich, D.P., Dixon, K.W., Sivasithamparam, K. & Meney, K.A. (2000). Topsoil handling and storage effects on woodland restoration in western Australia. *Restoration Ecology*. 8: 196-208.
- Römermann, C., Tackenberg, O. & Poschlod, P. (2005). How to predict attachment potential of seeds to sheep and cattle coat from simple morphological seed traits. *Oikos*. 110: 219-230.
- Ryan, J.A., Zhang, P., Hesterberg, D., Chou, J. & Sayers, D.E. (2001). Formation of chloropyromorphite in a lead-contaminated soil amended with hydroxyapatite. *Environmental science & technology*. 35: 3798-3803.

- Saatkamp, A., Römermann, C. & Dutoit, T. (2010). Plant Functional Traits Show Non-Linear Response to Grazing. *Folia Geobot.* 45: 239-252.
- Samways, M.J., Osborn, R. & Carliel, F. (1997). Effects of a highway on ant (Hymenoptera: Formicidae) species composition and abundance, with a recommendation for roadside verge width. *Biodiversity and Conservation.* 6: 903-913.
- Sánchez, A.M., Azcárate, F.M. & Peco, B. (2003). Effects of harvester ants on seed availability and dispersal of *Lavandula stoechas* subsp. *pedunculata* in a Mediterranean grassland-scrubland mosaic. *Plant Ecology.* 185: 49-56.
- Saunders, D.A., Hobbs, R.J. & Margules, C.R. (1991). Biological Consequences of Ecosystem Fragmentation: A review. *Conservation Biology.* 5: 18-32.
- Shah, D. U., Schubel, P. J., Clifford, M. J. & Licence, P. (2012). Fatigue characterisation of plant fibre composites for rotor blade applications. *JEC composites.* 73: 51-54.
- Schils, R., Kuikman, P., Liski, J., Oijen, M. V., Smith, P., Webb, J. ... & Hiederer, R. (2008). Review of existing information on the interrelations between soil and climate change.
- Schlesinger, W.H. & Pilmanis, A.M. (1998). Plant-soil interactions in deserts. *Biogeochemistry.* 42: 169-187.
- Schlesinger, W.H., Reynolds, J.F., Cunningham, G.L., Huenneke, L.F., Jarrell, W.M., Virginia, R.A. & Whitford, W.G. (1990). Biological feedbacks in global desertification. *Science.* 247: 1043-1048.
- Schöning, C., Espadaler, X., Hensen, I. & Roces, F. (2004). Seed predation of the tussock-grass *Stipa tenacissima* L. by ants (*Messor* spp.) in south-eastern Spain: the adaptive value of trypanocarpy. *Journal of Arid Environments.* 56: 43-61.
- Society for Ecological Restoration International Science and Working Policy Group. (2004). The SER International Primer on Ecological Restoration.
- Scoles-Sciulla, S.J. & DeFalco, L.A. (2009). Seed reserves diluted during surface soil reclamation in eastern Mojave Desert. *Arid Land Research and Management.* 23: 1-13.
- Sernander, R. (1906). Entwurf einer Monographie der europäischen Myrmekochoren. 41: 1-410.
- Sherley, G.H. (1998). Translocating a threatened New Zealand giant orthopteran, *Deinacrida* sp. (Stenopelmatidae): some lessons. *Journal of Insect Conservation.* 2: 195-199.
- Smith, J., Papendick, R., Bezdicek, D. & Lynch, J. (1993). Soil organic matter dynamics and crop residue management. *Soil Microbial Ecology.* 3.
- Soluk, D.A. (1993). Multiple predator effects: predicting combined functional response of stream fish and invertebrate predators. *Ecology.* 219-225.
- Southwood, T.R.E. (1977). Habitat, the templet for ecological strategies?. *The Journal of Animal Ecology.* 337-365.
- Standish, R.J., Cramer, V.A. & Hobbs, R.J. (2008). Land-use legacy and the persistence of invasive *Avena barbata* on abandoned farmland. *Journal of Applied Ecology.* 45: 1576-1583.
- Steiner, C.F. & Leibold, M.A. (2004). Cyclic assembly trajectories and scale-dependent productivity-diversity relationships. *Ecology.* 85: 107-113.
- Stengel, P., Bruckler, L., Balesdent. (2009). Le sol. Quae Editions, INRA. 183pp.
- Stephan, A., Meyer, A.H. & Schmid, B. (2000). Plant diversity affects culturable soil bacteria in experimental grassland communities. *Journal of Ecology.* 88: 988-998.
- Stiles, E.W. (1980). Patterns of fruit presentation and seed dispersal in bird-disseminated woody plants in the eastern deciduous forest. *American naturalist.* 116: 670-688.
- Wilson, E.O. (1992). The effects of complex social life on evolution and biodiversity. *Oikos.* 13-18.

- Stouff, L. (1986). Arles à la fin du Moyen-Âge (Vol. 1). Aix-en-Provence: Université de Provence, Lille, Atelier national de reproduction des thèses, Université Lille III.
- Strauss, S.Y. & Irwin, R.E. (2004). Ecological and evolutionary consequences of multispecies plant-animal interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*. 435-466.
- Stroh, M., Storm, C., Zehm, A. & Schwabe, A. 2002. Restorative grazing as a tool for directed succession with diaspore inoculation: the model of sand ecosystem. *Phytocoenologia*. 32: 595–625.
- Strong, D.R., Lawton, J.H. & Southwood, S.R. (1984). Insects on plants. Community patterns and mechanisms. Blackwell Scientific Publications.
- Swift, M.J., Heal, O.W. & Anderson, J.M. (1979). Decomposition in terrestrial ecosystems (Vol. 5). Univ of California Press.
- T**abatabai, M.A. & Bremner, J.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphorus source for higher plants through the activity of phosphatases produced by plant root and microorganisms. *Biolofo and Fertility of Soils*. 5: 308-312.
- Tanet, J. (2014). Les fourmis sont-elles de bons indicateurs de la régénération spontanée des pelouses sèches méditerranéenne après dégradation culturale? (Rapport de Master 2, Aix-Marseille Université).
- Tansley, A.G. (1935). The use and abuse of vegetational concepts and terms. *Ecology*. 16: 284-307.
- Tatin, L., Wolff, A., Boutin, J., Colliot, E. & Dutoit, T. (2013). Ecologie et conservation d'une steppe méditerranéenne, La plaine de Crau. Editions Quae, Paris. 352pp.
- Ter Heerdt, G.N.J., Verweij, G.L., Bekker, R.M. & Bakker, J.P. (1996). An improved method for seed-bank analysis: seedling emergence after removing the soil by sieving. *Functional ecology*. 10: 144-151.
- Tison, J.M., Jauzein, P. & Michaud, H. 2009. Flore de la méditerranée continentale. Naturalia publications, Conservatoire botanique national méditerranéen de Porquerolles (CBNMed). 2077pp.
- Thompson, K., Askew, A.P., Grime, J.P., Dunnett, N.P. & Willis, A.J. (2005). Biodiversity, ecosystem function and plant traits in mature and immature plant communities. *Functional Ecology*. 19: 355-358.
- Traba, J., Levassor, C. & Peco, B. (2003). Restoration of species richness in abandoned Mediterranean grasslands: seeds in cattle dung. *Restoration Ecology*. 11: 378-384.
- Turner, B. L. (Ed.). (1990). The earth as transformed by human action: global and regional changes in the biosphere over the past 300 years. CUP Archive.
- Trueman, I., Mitchell, D. & Besenyi, L. (2007). The effects of turf translocation and other environmental variables on the vegetation of a large species-rich mesotrophic grassland. *Ecological Engineering*. 31: 79-91.
- Tschinkel, W.R. (1987). The fire ant, *Solenopsis invicata*, as a successful « weeds » (585-588pp.). In: *Chemistry and Biology of Social Insects*. Eder, H. & Rembold, B.H. (eds.). Verlag J. Peperny, München, MA.

- Tschinkel, W.R. (1992a). Brood raiding in the fire ant, *Solenopsis invicata* (Hymenoptera: Formicidae): laboratory and field observations. *Annals of the Entomological Society of America*. 85: 638-646.
- Tschinkel, W.R. (1992b). Brood raiding and the population dynamics of founding and incipient colonies of the fire ant, *Solenopsis invicata*. *Ecological Entomology*. 17: 179-188.
- Tylianakis, J.M., Didham, R.K., Bascompte, J. & Wardle, D.A. (2008). Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology letters*. 11: 1351-1363.
- U**nger, P.W. & Kaspar, T.C. (1994). Soil compaction and root growth: a review. *Agronomy Journal*. 86: 759-766.
- V**an Breemen, N. & Finzi, A.C. (1998). Plant-soil interactions: ecological aspects and evolutionary implications. *Biogeochemistry*. 42: 1-19.
- Van der Heijden, M.G.A., Bardgett, R.D. & Van Straalen, N.M. (2008). The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*. 11: 296-310.
- Van der Maarel, E. (1990). Ecotone and ecoclines are different. *Journal of vegetation*. 1: 135-138.
- Van Hamberg, H., Andersen, A.N. & Meyer, W.J. (2004). Ant community development on rehabilitated ash dams in the South African Highveld. *Restoration Ecology*. 12: 552-558.
- Vécrin, M.P. & Muller, S. 2003. Top-soil translocation as a technique in the re-creation of species-rich meadows. *Applied Vegetation Science*. 6: 271-278.
- Vinton, M.A., & Burke, I.C. 1995. Interactions between individual plant species and soil nutrient status in shortgrass steppe. *Ecology*. 1116-1133.
- Vitousek, P.M., Walker, L.R., Whiteaker, L.D., Mueller-Dombois, D. & Matson, P.A. (1987). Biological invasion by *Myrica faya* alters ecosystem development in Hawaii. *Science*. 238: 802-804.
- Vitousek, P.M. & Lubchenco, J. (1995). Limits to sustainable use of resources: from local effects to global change. *Defining and Measuring Sustainability*, The Biogeophysical Foundations. Washington, DC, United Nations University and The World Bank, 57-64.
- Vitousek, P.M., Mooney HA, Lubchenco, J. & Melillo, JM. (1997). Human domination of Earth's Ecosystems. *Science*. 277: 494-499.
- Vorster, H., Hewitt, P.H. & Van Der Westhuizen, M.C. (2000). The effect of seed foraging and utilization by the granivorous ant *Messor capensis* (Mayr) (Hymenoptera: Formicidae) on the grassveld composition of the central Oranfe Free State. *African Entomology*. 994: 175-179.
- W**alker, K.J., Stevens, P.A., Stevens, D.P., Mountford, J.O., Manchester, S.J. & Pywell, R.F. (2004). The restoration and re-creation of species-rich lowland grassland on land formerly managed for intensive agriculture in the UK. *Biological Conservation*. 119:1-18.
- WallisDeVries, M.F., Poschold, P. & Willems, J.H. (2002). Challenges for the conservation of calcareous grasslands in northwestern Europe: integrating the requirements of flora and fauna. *Biological Conservation*. 104: 265-273.

- Wardle, D.A., Bonner, K.I., Barker, G.M. & Yeates, G.W., Nicholson, K.S., Bardgett, R.D. ... & Ghani, A. (1999). Plant removals in perennial grassland: vegetation dynamics, decomposers, soil biodiversity, and ecosystem properties. *Ecological Monographs*. 69: 535-568.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Klironomos, J.N., Setälä, H., Van Der Putten, W.H. & Wall, D.H. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*. 304: 1629-1633.
- World Commission on Environment and Development (WCED). 1987. Report of the World Commission on Environment and Development: Our Common Future. Oxford: Oxford University Press.
- Weihner, E. & Keddy, P.A. (1999). Ecological assembly rules: perspectives, advances, retreats. Cambridge University Press, Cambridge, 414pp.
- Wells, T.C.E. (1969). Botanical aspects of conservation management of chalk grasslands. *Biological Conservation*. 2: 36-44.
- Willems, J.H. 2001. Problems, approaches and results in restoration of dutch calcareous grassland during the last 30 years. *Restoration Ecology*. 9: 147-154.
- Whalley, W.R., Dumitru, E. & Dexter, A.R. 1995. Biological effects of soil compaction. *Soil and Tillage Research*. 35: 53-68.
- White, R., Murray, S. & Rohweder, M. (2000). Grassland ecosystems. Pilot analysis of global ecosystems. World Resources Institute, Washington DC.
- Whittaker, R.H. & Likens, G.E. (1975). The biosphere and man. In Primary productivity of the biosphere (305-328pp.). Springer Berlin Heidelberg.
- Whitcomb, W.H., Bhatkar, A. & Nickerson, J.C. (1973). Predators of *Solenopsis invicta* queens prior to successful colony establishment. *Environmental Entomology*. 2: 1101-1103.
- Willems, J.H. (2001). Problems, approaches and results in restoration of dutch calcareous grassland during the last 30 years. *Restoration Ecology*. 9: 147-154.
- Williams, E. (1995). Fire-burned habitat and reintroductions of the butterfly *Euphydryas gillettii* (Nymphalidae). *Journal of The Lepidopterists' Society*. 49: 183-191.
- Wilson, E.O. (1992). The effects of complex social life on evolution and biodiversity. *Oikos* 63: 13-18.
- Wolff, A. (2013). Risques industriels dans les espaces naturels: retour d'expérience après la rupture d'un pipeline. In: *Ecologie et conservation d'une steppe méditerranéenne La plaine de la Crau* (309-323pp.). Tatin L., Wolff A., Boutin J., Colliot E. & Dutoit T. (eds.). Quae Editions. 352 pp.
- Wolff, A. & Debussche, M. (1999). Ants as seed dispersers in a Mediterranean old-field succession. *Oikos*. 443-452.
- Woodell, S.R. (1974). Anthill vegetation in a Norfolk saltmarsh. *Oecologia*. 16: 221-225.
- Worthington, T.R., Helliwell, D.R. (1987). Transference of semi-natural grassland and marshland onto newly created landfill. *Biological Conservation*. 41: 301-311.
- Wright J.P. & Jones C.G. (2006). The concept of organisms as ecosystem engineers ten years on: Progress, limitations, and challenges. *BioScience*. 56: 203-209.
- Y**oro, G. (1992). La méthode au sable: protocole et utilisation pratique. Cahiers-ORSTOM. *Pédologie*. 27: 365-372.
- Youngsteadt, E., Baca, J.A., Osborne, J. & Schal, C. (2009). Species-specific seed dispersal in an obligate ant-plant mutualism. *PLoS ONE*. 4: e4335.

- Z**ak, D.R., Holmes, W.E., White, D.C., Peacock, A.D. & Tilman, D. (2003). Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links?. *Ecology*. 84: 2042-2050.
- Zalasiewicz, J., Williams, M., Haywood, A. & Ellis, M. (2011). The Anthropocene: a new epoch of geological time?. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*. 369: 835-841.
- Zobel, M. & Moora, M. (1995). Interspecific competition and arbuscular mycorrhiza: importance for the coexistence of two calcareous grassland species. *Folia Geobotanica*. 30: 223-230.

ANNEXES

Annexe 1: Productions scientifiques

Articles publiés

Revue internationale indexée

Bulot, A., Prosvot & E, Dutoit, T. (2014). A comparison of different soil transfer strategies for restoring a Mediterranean steppe after a pipeline leak (La Crau plain, South-Eastern France). *Ecological Engineering*. 74: 690-702 (CI₂₀₁₃= 3.041 Q1).

Bulot, A., Prosvot, E & Dutoit, T. (2014). Transférer le sol pour restaurer des communautés végétales: quelles leçons pour mesurer la résilience des pelouses sèches ? (Plaine de La Crau, Sud-Est de la France). *Acta Botanica Gallica - Botany Letters*. 161: 287-300 (CI₂₀₁₃= 0.235 Q4) (**Annexe 2**).

Bulot, A., Dutoit, T., Rennuci, M. & Prosvot E. (2014). A new transplantation protocol for harvester ant queens (Hymenoptera: Formicidae) to improve the restoration of species-rich plant communities in the future. *Myrmecological News*. 20: 43-52 (CI₂₀₁₃= 1.582 Q2).

Articles soumis

Revue internationale indexée

Bulot, A., Provost, E. & Dutoit, T. (soumis le 22/07/2014). Ants refuse piles increase seed and plant species-richness but not the viability of transient seeds. *Journal of Vegetation Science* (CI₂₀₁₃= 3.372 Q1).

Chapitres d'ouvrages scientifiques avec comité de lecture

Jaunatre, R., Buisson, E., Coiffait-Gombault, C., **Bulot, A.** & Dutoit, T. (2014). Restoring Species-Rich Mediterranean Dry Grassland in France Using Different Species-Transfer Methods. pp. 160-181. *In: Kiehl, K., Kirmer, A., Shaw, N., Tischew, S. (eds) « Guidelines for native seed production and grassland restoration »*. Cambridge University press, Cambridge, 301pp.

Dutoit T. & **Bulot A.** (2014). Restauration écologique après un accident technologique : de l'ingénierie civile à l'ingénierie écologique. pp. 171-172. *In: Gauthier-Clerc, M., Mesléard, F. & Blondel, J. (eds). « Sciences de la Conservation »*. De Boeck éditions, Paris, 346pp.

Dutoit T., Buisson E., Fadda S., Henry F., Coiffait-Gombault C., Jaunatre R., Alignan J.F., Masson S. & **Bulot A.** (2013). The pseudo-steppe of La Crau (South-Eastern France): origin, management and restoration of a Mediterranean rangeland. pp. 287-301. In Traba J. & Morales M. (eds.). « *Steppe Ecosystems: Biological Diversity, Management and Restoration* ». Nova Publishers, USA. 347pp.

Communications orales dans des colloques nationaux ou internationaux avec comité scientifique

Colloques internationaux

Bulot, A., Dutoit T., Renucci, M. & Provost, E. (2014). The harvester ant *Messor barbarus* as a new tool in ecological engineering: the case of the restoration of a dryland destroyed by an oil leak. 2nd *Conference for Young Scientists - Conservation Sciences in the Mediterranean Region*. Tour du Valat, France, April 28 - 30 2014.

Dutoit, T., **Bulot, A.**, Renucci, M. & Provost, E. (2013). Restoring a Mediterranean steppe by using soil transfer after a pipeline leak (Plain of La Crau, Southeastern France). 5th *World Conference on Ecological Restoration*. Madison, USA, October 6 - 11 2013.

Bulot, A., Provost, E., Renucci, M. & Dutoit, T. (2013). Soil transfer for restoring plant communities: which lessons to measure the resilience of dry grasslands (Plain of La Crau, Southeastern France). 56th *IAVS Symposium*. Tartu, Estonia, 26 - 30 June 2013.

Dutoit, T., Buisson, E., Jaunatre, R., Alignan, J.F. & **Bulot, A.** (2012). Ecological engineering : for a sustainable ecosystem restoration ? 8th *SER European Conference on Ecological Restoration « Near Natural Restoration » (ECER 2012)*. Ceske Budejovice, République Tchèque, 9-14 September 2012.

Colloques nationaux

Bureau, F., Potard, K., **Bulot, A.**, Bérard, A. & Dutoit, T. (2014). Restauration écologique par reconstitution pédologique : cas de la réserve naturelle des Coussouls de Crau impactée par une fuite d'hydrocarbures. 12^{èmes} *Journées d'Etude des Sols*. AFES, Le Bourget du Lac, 30 juin - 04 juillet 2014.

Bulot, A., Provost, E. & Dutoit, T. (2014). Les dépotoirs des fourmis moissonneuses (*Messor barbarus*) augmentent localement la richesse spécifique de la végétation des pelouses sèches méditerranéennes mais pas leur mémoire séminale ! *Dixième colloque en Ecologie des Communautés Végétales (ECOVEG10)*. Université de Lyon, Lyon 09 - 11 avril 2014. (Premier prix de la meilleure présentation orale pour un étudiant).

Bulot, A., Bureau, F., Bérard, A., Potard, K. & Dutoit, T. (2014). Restauration écologique par reconstitution pédologique. Quels impacts sur le sol et la végétation trois ans après. *Cinquièmes Journées Ateliers du Réseau d'Échanges et de Valorisation en Écologie de la Restauration (REVER5)*. Université de Rouen, 05 - 06 Février 2014.

- Bulot, A.** & Dutoit, T., Renucci M. & Provost, E. (2013). Transplantation de la fourmi *Messor barbarus* comme nouvel outil en ingénierie écologique : cas de la restauration d'une pelouse sèche détruite par une fuite d'hydrocarbures. *Renforcement de populations: une gestion d'avenir pour les espèces menacées*. CEN Picardie, Beauvais, 26 - 28 août 2013.
- Bulot, A.**, Provost, E., Renucci, M. & Dutoit, T. (2013). Transférer le sol pour restaurer des communautés végétales : quelles leçons pour mesurer la résilience de pelouses sèches (plaine de la Crau, Bouches-du-Rhône, France). *Neuvième colloque en Ecologie des Communautés Végétales (ECOVEG9)*. Université François Rabelais, Tours, 03-05 avril 2013.
- Bulot, A.**, Provost, E. & Dutoit, T. (2012). Restauration écologique d'un chantier de dépollution d'une fuite d'hydrocarbures (plaine de la Crau, Bouches-du-Rhône, France). De l'ingénierie civile à l'ingénierie écologique. *Rever 4 - Rêver et Analyser*. Université de Lyon, Lyon 06-07 novembre 2012.

Communications par affiche

Colloques internationaux

- Tanet, J., **Bulot, A.**, Provost, E., Renucci, M. & Dutoit, T. (2014). Les fourmis *Messor barbarus* sont-elles de bons indicateurs pour mesurer la résilience des écosystèmes après perturbations anthropiques ? Le cas de la plaine de Crau dans les Bouches-du-Rhône. *Cinquièmes Journées Ateliers du Réseau d'Échanges et de Valorisation en Écologie de la Restauration (REVER5)*. Université de Rouen, 05-06 Février 2014.
- Dutoit, T., Buisson, E., Coiffait, C., **Bulot, A.** & Jaunatre, R. (2013). Réintroductions et renforcement de populations végétales pour la restauration écologique : premier bilan après dix années d'expérimentations dans la plaine de La Crau (Bouches-du-Rhône, France). *Renforcement de populations: une gestion d'avenir pour les espèces menacées*. CEN Picardie, Beauvais, 26- 28 août 2013.
- Bulot, A.**, Dutoit, T., Renucci, M. & Provost, E. (2012). Les fourmis moissonneuses, outil pour une restauration écologique bio-inspirée. *Recherches bio-inspirées : une opportunité pour la transition écologique*. MEDDE-MNHN, Paris 10 décembre 2012.
- Bulot, A.**, Provost E. & Dutoit T. (2012). Premiers résultats de restauration écologique d'une communauté végétale suite à un accident technologique: le cas d'un chantier de réhabilitation suite à une fuite d'hydrocarbures (Crau, Bouches-du-Rhône, France). *Huitième colloque en Ecologie des Communautés Végétales (ECOVEG8)*, Université de Lorraine, Nancy, 28-30 mars 2012.

Bulot, A., Provost, E., Renucci, M. & Dutoit, T. (2011). La fourmi *Messor barbarus*, ingénieur de la restauration écologique de la pseudo-steppe de Crau ? *Rever 3 - Rêver et s'Associer*. Conseil Général de la Moselle, Metz, 3-4 février 2011.

Colloques internationaux

Tanet, J., **Bulot, A.**, Dutoit T., Renucci, M. & Provost, E. (2014). Are *Messor barbarus* ants good indicators to measure the resilience of ecosystems from human disturbance? 2nd *Conference for Young Scientists - Conservation Sciences in the Mediterranean Region*. Tour du Valat, France, April 28 - 30 2014.

Participation à des programmes de recherches ou de contrats de recherche

- Appel d'offres Interne FR CNRS- ECCOREV (2013) : « *Evaluer la réussite de la restauration écologique par une approche intégrée de la biodiversité obscure des sols* ». 6000€. (Coordinateur T. DUTOIT)
- Contrat Conseil Général des Bouches-du-Rhône (2012 - 2015). « *Réhabilitation du chantier de dépollution de la fuite d'hydrocarbures dans les Coussouls de Crau, propriétés du Conseil Général des Bouches-du-Rhône* ». 15 000€.(Coordinateur T. DUTOIT)
- Contrat SPSE (2011 - 2014). « *Restauration de la biodiversité et des fonctions d'un écosystème impacté par un accident technologique : le cas de la fuite d'hydrocarbures de l'oléoduc SPSE en Crau* ». 61 000€. (Coordinateur T. DUTOIT)
- Appel d'offres Interne Fédération de Recherche ECCOREV (2011) : « *L'ingénierie écologique au service de la réhabilitation des sites naturels impactés par des accidents technologiques : Le cas de la fuite d'hydrocarbures de l'oléoduc SPSE dans la Réserve naturelle nationale des Coussouls de Crau*. 8 000€.(Coordinateur T. DUTOIT)
- Appel d'offres Interne Fédération de Recherche TERSYS (2011 - 2012) : « *Approche multi-scalaire (flore-entomofaune) de la réhabilitation d'un site impacté par une fuite d'hydrocarbures : Le cas de l'oléoduc SPSE dans la Réserve naturelle nationale des Coussouls de Crau* » : 1 500€.(Coordinateur T. DUTOIT)
- Programme RTP CNRS-INEE-IRSTEA « *IngECOtech* » (2010-2011). « *Des fourmis et des hommes : de l'ingénierie écologique à la compensation écologique. Le cas de la première Réserve d'Actifs Naturels de France (Cossure, plaine de la Crau, Bouches-du-Rhône)*. 33 000€. (Coordinateur T. DUTOIT)

Encadrement d'un Master 2

Tanet J. (2014). Les fourmis sont-elles de bons indicateurs de la régénération spontanée des pelouses sèches méditerranéennes après dégradation culturale ? (Taux d'encadrement 30% avec Adeline Bulot, Doctorante, Université d'Avignon et Erick Provost CR CNRS, Marseille).

Annexe 2: Bulot, A., Provost., E. & Dutoit, T. 2014. Transférer le sol pour restaurer des communautés végétales: quelles leçons pour mesurer la résilience des pelouses sèches? (Plaine de La Crau, Sud-Est de la France). *Acta Botanica Gallica: Botany letters*.161: 287-300.

Acta Botanica Gallica: Botany Letters, 2014
Vol. 161, No. 3, 287–300, <http://dx.doi.org/10.1080/12538078.2014.906920>



Société botanique de France

Transférer le sol pour restaurer des communautés végétales: quelles leçons pour mesurer la résilience des pelouses sèches? (Plaine de La Crau, Sud-Est de la France).

Transfer of soil as a toll to restore plant communities: lessons drawn to measure xeric grassland resilience (Crau plain, south east France)

Adeline Bulot^{*,a}, Erick Provost^b and Thierry Dutoit^a

^aUniversité d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Institut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléocologie (IMBE – UMR CNRS 7263 /IRD 237), IUT d'Avignon, Site Agroparc, BP 61207, 84911 Avignon cedex 09, France; ^bInstitut Méditerranéen d'Ecologie et de Paléocologie (IMBE – UMR CNRS 7263/IRD 237), Aix Marseille Université, Campus Aix-Technopôle Arbois-Méditerranée, Bâtiment Villemain, BP 80, 13545 Aix-en-Provence cedex 04 - France

(Received 10 February 2014; accepted 18 March 2014)

Résumé: La restauration écologique peut accélérer la résilience des pelouses sèches dégradées. Parmi les techniques utilisées, le transfert de sol a, ainsi, déjà permis d'obtenir des résultats encourageants pour rétablir des communautés végétales riches en espèces. En revanche, il s'agit d'une méthode non durable, car destructrice du site donneur. Le 07 août 2009, une importante fuite d'un oléoduc est survenue au milieu de la steppe de La Crau. En 2010, plus de 5,5 ha de végétation ont été détruits par excavation et évacuation en décharge du sol pollué par les hydrocarbures. La restauration de ce site a, alors, été associée à différentes expérimentations *in situ* de remise en place du sol, en l'absence du pâturage ovin traditionnel (exclos), pour tester l'importance du respect de l'organisation verticale des principaux horizons pédologiques. Après trois années de suivi, nos premiers résultats montrent une forte résilience de la végétation en termes de composition et de richesse spécifique. De plus, peu d'espèces rudérales ont réussi à coloniser le site après transfert du sol. Cependant, aucune des modalités de remise en place du sol n'a pas permis de restaurer l'intégrité de la communauté végétale steppe de référence. Il semble, alors, maintenant nécessaire de remettre en place le système de pâturage ovin ancestral pour permettre la restauration de la structuration spatiale et de la diversité de la végétation steppe.

Mots-clé: pelouse sèche; restauration écologique; transfert de sol; résilience; communautés végétales

Abstract: Ecological restoration can accelerate the resilience of degraded dry grasslands. Among the ecological restoration techniques used, soil transfer has already given promising results for restoring species-rich plant communities by providing the ability to recreate rapidly a habitat that corresponds to the reference ecosystem (the non disturbed dry grasslands). However, soil transfer is a destructive method, since it involves the use of non-renewable resources such as grassland soils of the donor sites that are the produce of centuries of interactions between climate, plants and animals. In south-eastern France, the plain of La Crau is an example of Mediterranean dry grasslands where the resilience of the steppe vegetation is extremely slow after land use changes which have impacted soil and vegetation. On 7th August 2009, a major oil leak occurred in the steppe center, destroying more than 13 acres of steppe vegetation. As a consequence, in 2010, the polluted soil was excavated and evacuated in a specialised dump. This operation was, then, combined with various *in situ* experiments of soil transfer, with exclusion of traditional sheep grazing management, to test (i) the importance of respecting the vertical organization of the main soil horizons and (ii) some opportunities to save this non-renewable resource. In May 2011, just after the soil transfer (72,000 tons) was achieved in April 2011 from a nearby quarry which extension had been authorised prior to the oil leak, different quadrats were materialized in the reference steppe vegetation around and in the restored site, with at the soil surface: the organic layer (top-soil, treatment ABC) with or without compaction (treatment ABCnc), the mineral layer (sub-soil, treatment BC) or the altered bedrock only (treatment C). After three years of vegetation monitoring, all the different treatments of soil transfer resulted in a rapid resilience of steppe vegetation in terms of floristic composition and plant species richness. Indeed, in 2013, the treatment with the transfer of mineral layer only at the soil surface, showed no significant difference in terms of plant species richness with the reference steppe plant community. Furthermore, there was a significant higher species richness for the treatments with the transfer of organic layer, compacted or not, in comparison with the reference steppe plant community. In addition, between 2011 and 2013, the natural colonisation by some ruderal opportunistic species was very low. Nevertheless, the reference steppe plant community organization was not restored for none of the different soil transfer treatments, as revealed by the calculation of the Bray-Curtis index. In addition, species abundances in the uncompacted organic layer, mean vegetation height and plant cover were significantly higher, than in the reference steppe plant community. Our results show that after only 3 years, the results of the different soil transfer treatments seem very promising. It appears from this three year monitoring that soil transfer of a mixture of the organic (top soil) and mineral (sub soil) layers, without final compaction, could be sufficient to boost the natural resilience of the typical plants of the reference steppe plant community. It might also be possible to increase the surface where the soil will be spread according to ratios of 1 to 2 or 1 to 3, instead of 1 to 1. This method will allow the protection of the steppe soil that is still a non-renewable resource. Because none of the different soil transfer treatments has allowed for the

*Corresponding author. Email: adeline.bulot@hotmail.fr

restoration of the integral steppe plant community, it seems now necessary to reinstall the traditional sheep grazing system with the aim to increase the restoration of the reference steppe plant community spatial organization.

Keywords: dry grassland; ecological restoration; soil transfer; resilience; plant community

Introduction

En Europe occidentale, les pelouses sèches possèdent généralement une importante biodiversité (Gibson 2009). Lorsqu'un écosystème subit des régimes de stress et de perturbations sur le long terme, il présente souvent une forte richesse spécifique ainsi que des communautés fortement structurées (Weiher and Keddy 1999; Alard and Poudevigne 2002; Gibson 2009). De ce fait, en Europe, les pelouses sèches sont les habitats les plus riches en espèces à une échelle locale et régionale (Willems 2001; Poschold and WallisdeVries 2002).

Dans le sud-est de la France, la plaine de La Crau est un bon exemple de pelouse sèche méditerranéenne (Molinier and Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Römermann, Tackenberg, and Poschold 2005; Tatin et al. 2013). Sa végétation steppique résulte d'un régime de stress et de perturbations particulier: l'interaction entre un sol rouge peu profond, un climat méditerranéen et un pastoralisme ancestral a été à l'origine de la création et du maintien d'une communauté végétale unique de par sa richesse spécifique, sa composition et sa structure (Devaux et al. 1983; Cherel 1988; Badan, Congés, and Brun 1995; Henry 2009).

Malgré cela, depuis la deuxième moitié du 20^e siècle, une diminution drastique des surfaces, de la qualité des habitats et de la biodiversité des pelouses sèches a été mesurée (Dzwonko and Loster 1998; Lee et al. 2001; Dutoit et al. 2011; Adriaens, Honnay, and Henny 2006). Les changements d'usages des sols, la fragmentation du paysage et l'invasion par des espèces non-indigènes (Saunders, Hobbs, and Margules 1991) en sont les principales causes. Dès le 16^e siècle, la plaine de La Crau a, ainsi, subi d'importants changements d'usages (Masson and Estrangin 1928), dus au développement de systèmes d'irrigation pour l'agriculture et à la création de prairies de fauche. A la fin des années 1980, une accélération de sa destruction est constatée par le développement de cultures industrielles (maraîchage, arboriculture fruitière) et par l'installation de structures militaires et industrielles (Deverre 1996; Etienne, Aronson, and Le Floc'h 1998). Aujourd'hui, cette plaine a perdu quasiment 80 % de sa superficie originelle.

De nombreuses pelouses sèches ont bénéficié de mesures conservatoires (Wells 1969). A titre d'exemple, la plaine de La Crau est protégée en partie grâce à la création, en 2001, d'une Réserve Naturelle Nationale sur 7400 ha (Buisson et al. 2006). Cependant, ce type d'écosystèmes a souvent une faible capacité de résilience et franchit des seuils de non retour sur des pas de temps historiques (Clewell and Aronson 2007). La « résilience naturelle » est de fait limitée par la rémanence des effets des altérations anciennes (élimination des espèces clé, destruction du sol, etc.) et de la modification de la matrice paysagère (fragmentation du paysage). La « régénération naturelle »,

aux échelles de temps historiques, est alors compromise, même avec la remise en place du système de gestion conservatoire ayant assuré auparavant sa pérennité. A partir de la levée de la contrainte, la résilience correspond à la vitesse de retour d'un écosystème à un état d'équilibre antérieur à la perturbation (Holling 1973; Holling and Gunderson 2002; Hirst et al. 2003, 2005). La restauration de ces pelouses peut alors nécessiter des interventions humaines (SER 2004), comme dans la plaine de La Crau (Buisson et al. 2006; Coiffait-Gombault 2011; Jaunatre, Buisson, and Dutoit 2012), où la végétation steppique a montré une résilience extrêmement lente après des changements d'usages (Römermann, Tackenberg, and Poschold 2005; Buisson et al. 2006; Dutoit et al. 2013; Dutoit, Jaunatre, and Buisson 2013).

La restauration écologique se distingue de la réhabilitation en se fixant pour objectif de rétablir non seulement les processus de l'écosystème, sa productivité et ses services, mais également son intégrité biotique préexistante en termes de composition spécifique et de structure de la communauté (SER 2004; Clewell and Aronson 2007). Elle permet aussi de comprendre l'organisation et les mécanismes de rétablissement des communautés après une perturbation, par la manipulation des différents filtres qui gouvernent leurs processus de coexistence (Pimm 1991; Luh and Pimm 1993; Weiher and Keddy 1999; Young, Petersen, and Clary 2005).

Parmi les nombreuses techniques de restauration écologique testées, le transfert de sol, appliqué en vrac ou en mottes (entières ou fragmentées), a déjà permis d'obtenir des résultats encourageants pour rétablir des communautés végétales riches en espèces (Pywell, Webb, and Putwain 1995; Bullock 1998; Vécrin and Muller 2003; Khiel et al. 2010; Jaunatre, Buisson, and Dutoit 2014). En effet, cette méthode permet d'agir à la fois sur les filtres biotiques et abiotiques qui contraignent l'établissement et le développement des communautés végétales. Elle consiste à déplacer un sol préalablement prélevé dans un site donneur vers une zone à restaurer. Sous certaines conditions de transport, cette technique permet alors de transférer des éléments physico-chimiques (nutriments, particules fines et grossières, etc.), de la matière organique (litière, humus, etc.), une partie de la pédofaune et de la flore (graines, algues, parties de plantes, etc.), mais aussi de la biomasse microbienne (bactérienne, algale et fongique) du sol (Clewell and Aronson 2007). Les plantes pérennes à reproduction végétative ayant des rôles structurants dans la communauté, peuvent aussi être transplantées. Cette technique offre, alors, la possibilité de recréer rapidement un habitat correspondant à l'écosystème de référence, à condition que le site donneur soit proche de celui originellement dégradé et/ou détruit. Cela a déjà été démontré pour certaines pelouses calcaires en Angleterre pour lesquelles

un bilan de restauration positif a été mesuré (Bullock 1998; Box 2003). En revanche, le transfert de sol n'est absolument pas une technique durable puisque la surface donneuse est détruite pour restaurer la surface receveuse et que le sol ne constitue pas une ressource rapidement renouvelable. Cette technique doit donc être limitée à des cas bien particuliers (Bullock 1998; Bruelheide and Flintrop 2000), lorsque la destruction du sol destinée au prélèvement est programmée indépendamment de la mise en place de l'opération de transfert (McLean 2003; Vécirin and Muller 2003).

Dans la plaine de La Crau, le 7 août 2009, une superficie de 5,5 ha a totalement été détruite par la rupture d'un oléoduc en plein cœur d'une Réserve Naturelle Nationale (Wolff 2014). La surface, le sous-sol et la nappe phréatique ont été pollués par le déversement de plus de 5 400 m³ de pétrole brut. La réhabilitation écologique a alors consisté à excaver et à évacuer 72 000 hydrocarbures tonnes de sol pollué vers une décharge spécialisée. La restauration écologique a, ensuite, à l'aide d'engins de travaux publics, permis de combler la cavité créée par le transfert d'un même sol, avec un rapport 1/1, destiné à être détruit suite à l'extension d'une carrière autorisée avant l'accident. Ce transfert de sol est très original de par son exécution effectuée pour favoriser au maximum le développement d'une végétation steppique identique à celle détruite par la pollution aux hydrocarbures, l'excavation et la mise en décharge du sol (Dutoit 2011).

Dans cette étude, nous avons mesuré la résilience de la végétation steppique en fonction de différents traitements de remise en place du sol. Pour cela, notre premier objectif a été (1) de mesurer l'effet de ce transfert de sol sur la composition, la richesse spécifique et la structure de la végétation en comparant la zone de restauration avec la communauté steppique de référence située autour du site restauré. Notre second objectif a été (2) de tester l'importance du respect de l'organisation verticale des principaux horizons pédologiques (A₁, (B), C) pour vérifier s'il est nécessaire de tous les reconstituer ou s'il est plus pertinent de ne pas remettre l'horizon organique A₁, afin de rendre le sol plus oligotrophe. L'hypothèse est que le transfert de l'horizon organique A₁ pourrait favoriser l'installation des espèces non caractéristiques de l'écosystème de référence (espèces rudérales, cosmopolites, ubiquistes, exotiques envahissantes, etc.) qui se développent à partir de la banque et de la pluie de graines, ce qui permettrait d'économiser le sol en le transférant à des rapports plus élevés, par exemples à 1/2 ou 1/3.

Enfin, notre troisième objectif a été (3) de tester l'effet du compactage de la surface du sol pour favoriser l'installation des espèces cibles de la restauration. Notre hypothèse était alors que cela permettrait de réduire un foisonnement du sol et une oxydation concomitante de la matière organique qu'il contient. Ces processus peuvent en effet être responsables *in fine* d'une accélération de la minéralisation de l'azote et, donc, favoriser l'installation d'espèces nitrates au détriment des espèces stress-tolérantes, caractéristiques de la végétation steppique de référence.

Matériels et Méthodes

Site atelier – La plaine de La Crau

Notre étude a été menée dans la plaine de La Crau, localisée dans le sud-est de la France (Bouches-du-Rhône) (Figure 1 A). Cet ancien delta fossile a été formé par les dépôts de la Durance pendant la période du Pléistocène lorsque cette rivière était encore un fleuve qui se déversait directement dans la mer Méditerranée (Rainaud 1893; Colomb and Roux 1978; Devaux et al. 1983). Sa topographie est extrêmement plate, avec une surface de sol recouverte à plus de 50 % par des galets siliceux charriés depuis le massif alpin. Entre 40 cm et 60 cm de profondeur dans le sol, un poudingue, composé de galets enrobés dans une matrice de carbonates de calcium, empêche les racines des plantes d'atteindre la nappe phréatique (Rainaud 1893; Colomb and Roux 1978; Römermann, Tackenberg, and Poschold 2005). Le climat méditerranéen est sec et venteux avec un fort ensoleillement durant l'année: la pluviométrie est d'environ 540 mm/an, principalement au printemps et à l'automne; le mistral souffle à plus de 50 km/h pendant 110 jours/an et le soleil est présent pendant plus de 3000 h/an (Devaux et al. 1983). En combinaison avec le sol et le climat, un pâturage ovin, attesté depuis au moins 2000 ans, parcourt et façonne une communauté végétale exceptionnelle par sa richesse spécifique, sa composition et sa diversité (Cherel 1988; Badan, Congés, and Brun 1995; Henry 2009).

La végétation qui recouvre entre 50 % et 80 % de la surface du sol, comprend en moyenne 30 à 40 espèces végétales par mètre carré (Römermann, Tackenberg, and Poschold 2005) et est composée à 50 % par des espèces annuelles. Des espèces pérennes, telles que *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae), représentant 50 % de la biomasse herbacée estimée à 2,11 tonnes de matière sèche/ha/an, et *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) dominant et structurent la communauté (Buisson et al. 2006). Les autres espèces végétales les plus caractéristiques sont *Asphodelus ayardii* Jahand. & Maire (Xanthorrhoeaceae), *Linum trigynum* L. (Linaceae) ou encore *Stipa capillata* L. (Poaceae) (Molinier and Tallon 1950; Devaux et al. 1983).

Le sol de la steppe est un sol fersialitique rouge méditerranéen tronqué (Duchaufour 1984), encore appelé aujourd'hui Fersiasol leptique tronqué (AFES 2008), constitué par trois horizons pédologiques principaux: un horizon organique A₁ correspondant à un horizon mixte composé de matière organique (moins de 30 %) mélangée à de la matière minérale, et à une subdivision de l'horizon A de surface; un horizon (B) constituant l'horizon « structural » ou d'altération, différent de la roche-mère par son degré d'altération plus fort (présence de Fe₂O₃ libre) et de l'horizon A₁ de surface par sa structure différente, et un horizon C, correspondant au matériau originel aux dépens duquel se sont formés A et (B) (Duchaufour 1984).

Site d'étude et techniques de restauration

Notre site d'étude correspond aux 5,5 ha détruits par une fuite de pétrole brut le 7 août 2009 (43° 31' 36.77" N, 4°

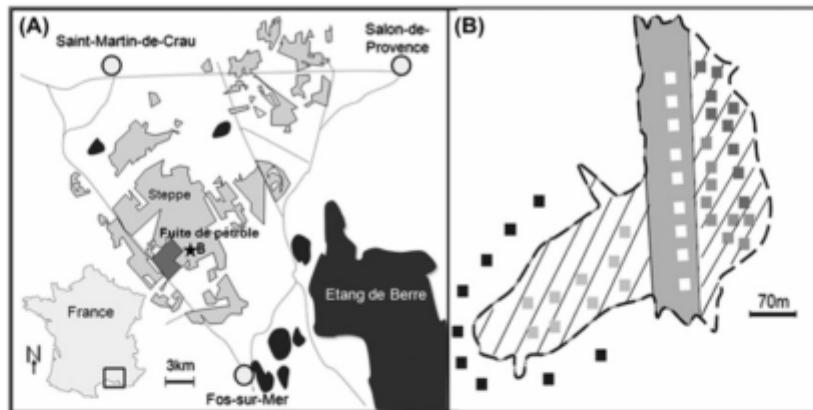


Figure 1. A, Situation géographique de la plaine de La Crau en France et du site où a eu lieu la fuite de pétrole; B, Schématisation du site restauré (hachures), de la zone de passage des canalisations (bande grise), de la steppe de référence (fond blanc) et positionnement des quadrats (100 m²) correspondant aux différents traitements de transfert sol effectués par camions (traitement C: blanc; traitement BC: gris clair; traitement ABCnc: gris foncé; horizon ABC: GRIS; steppe de référence: gris très foncé).
Figure 1. A, Location of the plain of La Crau in France and location of the site where there was the oil spill, B, Schema of the restored site (hatched), zone crossing by oil pipes (gray line), reference steppe (white) and positioning of quadrats (100 m²) corresponding to different treatments of soil transfer realized by trucks (treatment C: white; treatment BC: light gray; treatment ABCnc: dark gray; treatment ABC: gray; reference steppe: very dark gray).

53° 04.50" E) (Figure 1 B). Après excavation et évacuation de 72 000 tonnes de terres polluées, de janvier à avril 2011, un transfert de sol direct sans stockage a été effectué, avec un rapport 1/1, à l'aide de camions, en reconstituant les trois principaux horizons pédologiques. Ce sol a été prélevé dans la steppe intacte au niveau d'une carrière située à quelques kilomètres de distance.

Pour les quatre traitements testés, neuf parcelles de 100 m² ont été matérialisées avec la remise en place : (1) des horizons C + (B) + A₁ (traitement ABC), (2) des horizons C + (B) + A₁ sans compactage en surface (traitement ABCnc), (3) des horizons C + (B) (traitement BC), et (4) seulement de l'horizon C (traitement C).

Après le transfert du sol au printemps 2011, l'ensemble de la surface du site a été compacté à l'aide d'un rouleau compresseur à l'exception des neuf parcelles du traitement sans compactage (Figure 2). À cause d'un problème logistique et de pluviométrie, la mise en place des quadrats du traitement C + (B) n'a pu être achevée que deux mois après celles des autres traitements à la fin du mois d'avril 2011.

Analyses de la végétation

Pour analyser la dynamique de régénération de la végétation, neuf quadrats de 4 m² ont été délimités au centre des parcelles de 100 m² afin d'éviter tout effet de bordure dans tous les traitements. De même les quadrats dans la steppe de référence ont été positionnés à l'ouest du site et à au moins 20 m de la lisière (Buisson et al. 2006). La surface des parcelles de 100 m² a été choisie

pour être nettement supérieure à l'aire minimale des formations végétales herbacées de la plaine de La Crau, soit environ 20 m² (Devaux et al. 1983). Seule la steppe de référence a été pâturée au cours des années de suivi pour assurer au maximum la régénération des espèces végétales sur le site restauré en évitant des effets de surpâturage les premières années.

Dans chaque quadrat, la présence et l'abondance des espèces végétales ont été enregistrées aux mois de mai 2011, 2012 et 2013, correspondant à la période de floraison maximale de la végétation de la plaine de La Crau (Bourrelly et al. 1983). Un coefficient d'abondance-dominance de Braun-Blanquet a été défini pour toutes les espèces végétales relevées (Braun-Blanquet et al. 1952). Celles-ci ont ensuite été classées comme « espèces cibles » ou comme « espèces non cibles ». Les espèces cibles sont les espèces les plus caractéristiques de la steppe de référence et qui répondent à nos objectifs de restauration tandis que les espèces non cibles sont celles de type rudéral, cosmopolites, ubiquistes, exotiques envahissantes, etc. (Devaux et al. 1983). Le pourcentage de recouvrement total de la végétation a été estimé visuellement et la hauteur moyenne a été mesurée dans chaque quadrat, à l'aide d'un mètre pliable, afin de mesurer la densité de la végétation entre les zones de traitements et la steppe de référence. Si le taux de recouvrement et la hauteur moyenne de la végétation sont significativement supérieurs dans les quadrats, correspondant aux traitements de restauration, cela indique que la physionomie de la steppe de référence n'est pas atteinte et que la réintroduction du pâturage sur le site en cours de restauration est nécessaire.

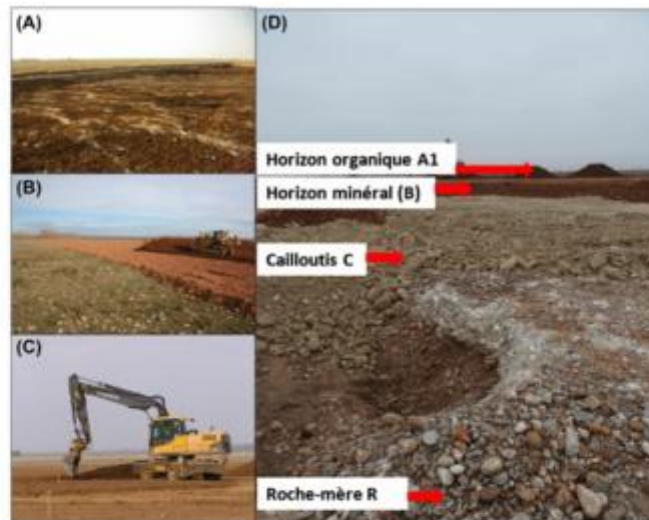


Figure 2. A, Photographie du site où a eu lieu la fuite de pétrole après l'excavation du sol pollué correspondant à la phase de réhabilitation écologique (premier plan) et de la steppe de référence (arrière plan); B, Photographie représentant la collecte du sol dans le site donneur (à droite) et de la steppe intacte (à gauche); C, Photographie représentant le transfert de sol sur le site receveur correspondant à la phase de restauration écologique (arrière plan) et de deux quadrats pour le suivi de la végétation déjà mis en place (premier plan); D, Photographie représentant les principaux horizons pédologiques en cours de transfert (horizon organique A1; horizon minéral (B); cailloutis C) et de la roche mère R.

Figure 2. A, View of the site in 2010 where the leak occurred and after the excavation of the polluted soil corresponding to the depollution step (foreground); and view of the reference steppe (background); B, collecting of soil in 2011 in the donor site (at right) and the undisturbed steppe (at left); C soil transfer in march 2011 on the receive site (background) and disposition of two quadrats for the vegetation survey (foreground); D, main soil layers being transferred (top soil A1, subsoil (B), altered bedrock C) and the unaltered bedrock.

Analyses des teneurs en carbone et en azote totaux

Des échantillons de sol ont été prélevés et analysés juste après le transfert de sol en avril 2011 dans les traitements ABCnc, BC et C. Pour cela, cinq échantillons de sols de 200 g ont été extraits à 0–10 cm de profondeur dans cinq parcelles de 100 m² sélectionnées au hasard parmi les neuf parcelles de chaque traitement et dans la steppe de référence. Chaque échantillon a été constitué en mélangeant trois autres sous-échantillons prélevés aléatoirement dans chaque parcelle de 100 m² pour avoir une meilleure représentativité. Après séchage et tamisage (2 mm), les teneurs en carbone organique total (C_{org}) et en azote (N) total ont été mesurées en suivant des méthodes standards (Baize 2000) par le laboratoire d'analyses des sols de l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) d'Arras.

Analyses statistiques des données

Pour tester l'effet du transfert de sol sur la régénération de la végétation du site restauré, nous avons comparé la composition, la richesse spécifique (totale, en espèces cibles et en espèces non cibles) et la structure de la communauté végétale entre le traitement ABC et la steppe de référence. La structure de la communauté végétale est mesurée à

l'aide des coefficients d'abondance/dominance des espèces, de la diversité spécifique, de la hauteur moyenne et de l'estimation du recouvrement de la végétation.

Pour vérifier ensuite l'importance du respect de l'organisation verticale des principaux horizons pédologiques, ces mêmes paramètres ont été comparés entre les traitements ABC, BC, C et la steppe de référence et entre les traitements ABC et ABCnc pour mettre en évidence un éventuel effet du compactage de la surface du sol sur le rétablissement de la végétation steppique. Pour vérifier les niveaux trophiques des traitements ABC, BC, C et ceux de la steppe de référence, nous avons comparé leurs teneurs en C_{org} et en N totaux.

L'interaction entre les trois années de suivi et les différences traitements n'a pas été calculée, puisque les conditions paramétriques n'ont pas pu être validées. Les analyses statistiques ont, donc, toutes été utilisées pour comparer les différents traitements entre eux au cours de la troisième année de suivi (2013), ou pour comparer les trois années de suivi (2011, 2012, 2013) dans un même traitement.

Les caractéristiques de la composition et des abondances des espèces végétales dans tous les traitements et dans la steppe de référence ont été

ordonnées à l'aide d'une NMDS (*Non-metric Multidimensional Scaling*) basée sur la distance de Bray-Curtis pour l'année 2013 (Borcard, Gillet, and Legendre 2011). La distance de Bray-Curtis (Bray and Curtis 1957) est un index de dissimilarité utilisé pour mesurer la distance entre les abondances des espèces végétales présentes dans les traitements et dans la steppe de référence. Elle varie entre 0 et 1, 0 signifiant que les abondances des espèces végétales sont strictement identiques et 1 signifiant qu'elles sont strictement différentes entre les traitements et la steppe de référence.

La diversité spécifique a été calculée grâce aux indices de Shannon et d'Équitabilité qui renseignent sur la distribution des espèces dans chaque traitement. L'indice de Shannon est égal à zéro lorsque la population est représentée par une seule espèce et devient maximal lorsque la population est répartie de manière homogène entre toutes les espèces. L'indice d'Équitabilité, basé sur l'indice de Shannon, varie entre 0 et 1. Sa valeur est maximale lorsque la répartition de la population est homogène entre toutes les espèces et elle est minimale lorsqu'une espèce domine (Pielou 1969).

Pour comparer le recouvrement et la hauteur moyenne de la végétation, les richesses spécifiques, les indices de Shannon et d'Équitabilité, les distances de Bray-Curtis, ainsi que les teneurs en C_{org} et N totaux, nous avons utilisé un test ANOVA lorsque les données suivaient une loi normale (Test de Lilliefors), suivi par des tests post-hoc de Tukey quand une différence significative était détectée et un test non-paramétrique de Kruskal-Wallis lorsque les données ne suivaient pas une loi normale, suivi par un test non-paramétrique de Mann-Whitney-Wilcoxon, dans lequel la valeur de p était ajustée selon la méthode de Benjamini-Hochberg (Benjamini and Hochberg 1995) quand une différence significative était détectée.

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le logiciel R version 2.15.2. (*The R Foundation for Statistical Computing* 2012) avec ses packages pour les analyses univariées, et les packages additionnels ade4 (Chessel, Dufour, and Thioulouse 2004; Dray and Dufour 2007) et vegan (Oksanen et al. 2012) pour les analyses multivariées.

Résultats

Effet du transfert de l'intégralité du sol

Sur l'ordination NMDS, le traitement ABC se distingue nettement des relevés de la steppe de référence. Celle-ci est caractérisée par la dominance de l'espèce pérenne, *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae) et par la présence d'espèces annuelles telles que *Asterolinon linum-stellatum* (L.) Duby (Primulaceae), *Aira cupanania* Guss. (Poaceae) ou encore *Asphodelus ayardii* Jahand & Maire (Xanthorrhoeaceae). Le traitement ABC est, quant à lui, caractérisé par de nombreuses espèces cibles telles que *Neotostema apulum* (L.) I.M. Johnst. (Boraginaceae),

Evax pygmaea (L.) Brot. (Asteraceae) ou encore *Plantago bellardii* All. (Plantaginaceae), mais également par quelques espèces non-cibles telle que *Cynodon dactylon* (L.) Pers. (Poaceae). De plus, le brachypode le plus corrélé à ce traitement est l'espèce annuelle *Brachypodium distachyon* (L.) P. Beauv. (Poaceae) et non l'espèce pérenne *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae) (Figure 3-A).

Les trajectoires des barycentres montrent que la steppe a eu une dynamique assez lente de 2011 à 2013 avec très peu de changements dans sa composition et les abondances des espèces végétales, tandis que le traitement ABC a eu une forte dynamique de 2011 à 2012 et une dynamique plus lente de 2012 à 2013 (Figure 3-B).

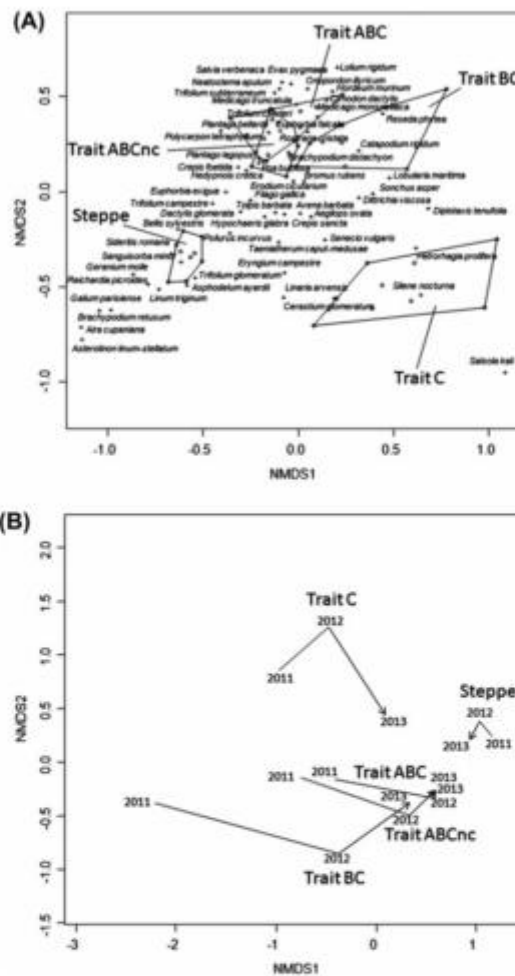
Sur le traitement ABC, la richesse spécifique totale de la végétation a significativement augmenté entre 2011 et 2012 (Figure 4-A), du fait de l'augmentation du nombre d'espèces cibles (Figure 4-B) et de la diminution du nombre d'espèces non cibles (Figure 4-C). En revanche, dans la steppe de référence, la richesse spécifique totale ne présentait pas de différence significative entre 2011 et 2013, même si un nombre d'espèces significativement plus élevé a été mesuré en 2012 (Figure 4-A). Sur le traitement ABC, le pourcentage de recouvrement de la végétation a également augmenté de façon significative de 2011 à 2013, alors que celui de la steppe de référence ne présentait pas de différence entre les années 2011 et 2013, mais était plus faible en 2012 (Figure 4-D). Enfin, entre 2011 et 2012, la hauteur moyenne de la végétation a significativement augmenté sur le traitement ABC ainsi que celle de la steppe de référence, mais celle-ci a ensuite diminué entre 2012 et 2013 (Figure 4-E).

Au printemps 2013, sur le traitement ABC, la richesse spécifique en espèces cibles et non cibles, les indices de Shannon et d'Équitabilité, ainsi que la hauteur moyenne de la végétation étaient significativement plus élevés que dans la steppe de référence. Cependant, il n'y avait aucune différence significative concernant le pourcentage de recouvrement de la végétation (Tableau 1).

Importance du respect de l'organisation verticale des horizons pédologiques

En 2011, les taux de C total et de N total mesurés ne sont pas significativement différents entre le traitement ABCnc et la steppe de référence, mais sont significativement plus faibles dans le traitement BC et encore plus faible dans le traitement C (Tableau 2).

Sur l'ordination NMDS, les traitements ABC et BC sont extrêmement proches; ils sont corrélés aux mêmes espèces en termes de composition et d'abondance. Cependant, le traitement C se distingue nettement des autres traitements et de la steppe de référence. Il est caractérisé par des espèces cibles telles que *Petrorhagia prolifera* (L.) P.W. Ball & Heywood (Caryophyllaceae), *Silene nocturna* L. (Caryophyllaceae) ou encore *Cerastium glomeratum* Thuill. (Caryophyllaceae), mais



Downloaded by [Thierry Dutoit] at 09:14 26 September 2014

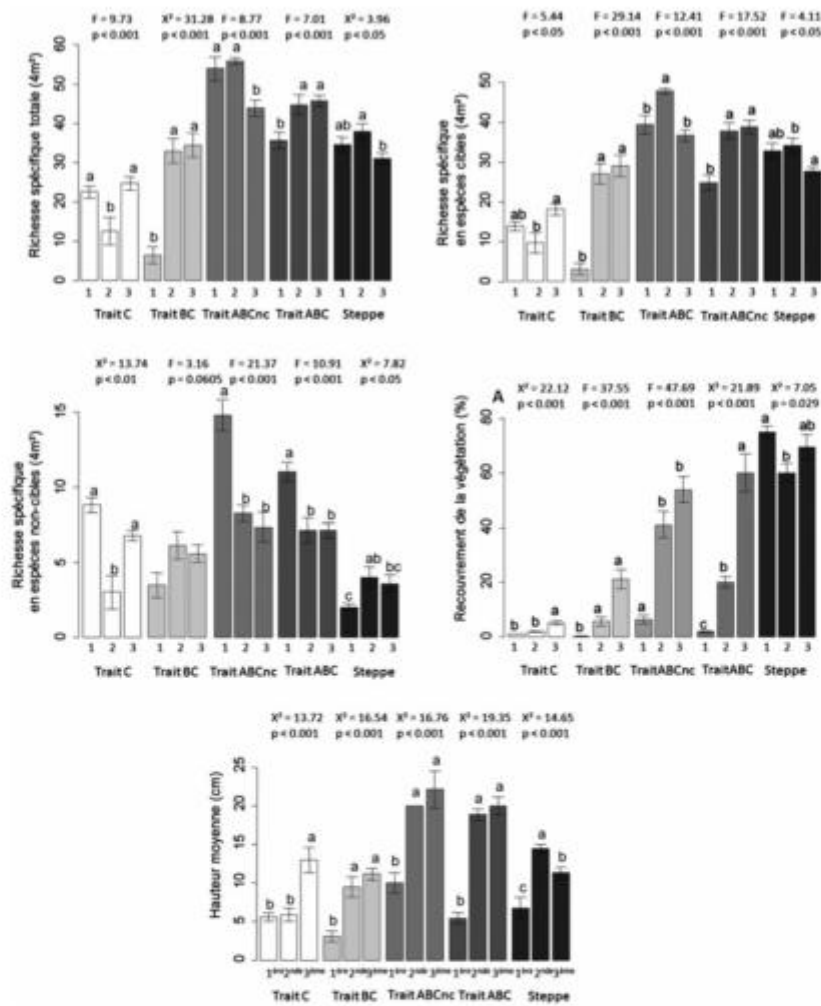
Figure 3. Analyse de la composition et des abondances des espèces végétales de chaque traitement et de la steppe de référence par une ordination NMDS basée sur 45 échantillons de végétation au printemps 2013. Le graphique A montre les échantillons de 2013 regroupés par traitement à l'aide de polygones: traitement C (Trait C, blanc), traitement BC (Trait BC, gris clair), traitement ABCnc (ABCnc, gris foncé), traitement ABC (Trait ABC, gris) et la steppe de référence (Steppe de référence, gris très foncé). Pour plus de clarté, seules les espèces végétales les mieux corrélées sont inscrites littéralement. Le graphique B montre la dynamique de la végétation pour chaque modalité, selon la position de leur barycentre. Les lignes pointillées représentent la succession de la végétation de 2011 à 2012 et les flèches représentent la succession de la végétation de 2012 à 2013.

Figure 3. Composition and abundances analyses of plant species in each treatment and in the reference steppe with a NMDS ordination based on 45 vegetation samples. The A plot shows only the 2013 samples grouped by treatment with polygons: treatment C (Trait C, white), treatment BC (Trait BC, light gray), treatment ABCnc (ABCnc, dark gray), treatment ABC (Trait ABC, gray) and the reference steppe (Steppe de référence, very dark gray). To clarify, only the most correlated plant species, are literally inscribed. The B plot shows the vegetation dynamic for each treatment, according to the position of their barycenter during the three years of the vegetation survey.

également par quelques espèces non cibles telles que *Salsola kali* L. (Caryophyllaceae) et *Diploaxis tenuifolia* (L.) DC. (Brassicaceae) (Figure 3-A).

Les trajectoires des barycentres des traitements BC et C montrent une forte dynamique de la végétation au cours des trois années de suivi, mais plus élevée entre

294 A. Bulot et al.



Downloaded by [Thierry Dutoit] at 09:14 26 September 2014

Figure 4. Moyennes et erreurs standards de la richesse spécifique totale (4 m²) (A), de la richesse spécifique en espèces cibles (cm) (B), de la richesse spécifique en espèces non cibles (4 m²) (C), du recouvrement (%) (4 m²) (D) et de la hauteur moyenne de la végétation (E) au cours des trois années de suivi (2011, 2012 et 2013) pour chaque modalité de traitement de transfert de sol et pour la steppe de référence: traitement ABCnc (Trait ABCnc, gris foncé), traitement ABC (Trait ABC, gris), traitement BC (Trait BC, gris clair), traitement C (Trait C, blanc) et la steppe de référence (Steppe, gris très foncé). Les valeurs de F, de X² et de p des ANOVAs ou des tests de Kruskal-Wallis appliquées pour comparer chaque modalité entre années sont reportées au dessus des barres. A l'intérieur de chaque modalité, les barres partageant une lettre commune ne montrent aucune différence significative selon les tests post-hoc de Tukey ou de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Figure 4. Means and error standards of total species richness (4 m²) (A), target species richness (4 m²) (B), non-target species richness (4 m²) (C), vegetation cover (%) (D) and mean height (cm) (E) during three years of vegetation survey (2011, 2012 et 2013) for each treatment in spring 2013: treatment C (Trait C, white), treatment BC (Trait BC, light gray), treatment ABCnc (Trait ABCnc, gray), treatment ABC (Trait ABC, dark gray) and the reference steppe (Steppe, very dark gray). F and p values of ANOVA tests or X² and p values of Kruskal-Wallis tests, performed within each treatment, to compare years, are reported above each bar. Within a treatment, bars sharing common letters don't have significant differences according to Tukey post-hoc test or Mann-Whitney-Wilcoxon test.

Downloaded by [Thierry Dutoit] at 09:14 26 September 2014

Tableau 1. Caractéristiques de la végétation dans chaque traitement de remise en place du sol et dans l'horizon A₁ de la steppe de référence au printemps 2013, après 3 années de suivi: traitement C (Trait C), traitement BC (Trait BC), traitement ABC (ABCnc), traitement ABC (Trait ABC) et la steppe de référence (Steppe). Les valeurs mesurées correspondent à la moyenne \pm l'erreur standard; df, F, X², p correspondent au degré de liberté, à la valeur de F, à la valeur du chi-carré et à la valeur de p résultant du test ANOVA ou du test de Kruskal-Wallis testant l'effet de chaque modalité sur chaque variable. Dans une même rangée, les cases partageant une lettre commune ne montrent aucune différence significative de leurs valeurs selon le test post-hoc de Tukey ou de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Table 1. Plant community characteristics for each treatment after 3 years, namely only for spring 2012: treatment C (Trait C), treatment BC (Trait BC), treatment ABCnc (Trait ABCnc), treatment ABC (Trait ABC) and the reference steppe (Steppe). The measured values are means \pm standard errors; df, F, X², p correspond to the degree of freedom, the F value, the X² value and the p value resulting from ANOVA tests or Kruskal-Wallis tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a common letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.

	ANOVA/Kruskal-Wallis				
	Trait C	Trait BC	Trait ABCnc	Trait ABC	Steppe
Richesse spécifique totale	24.78 \pm 3.69c	34.44 \pm 5.13b	43.89 \pm 6.54a	45.78 \pm 6.82a	31.11 \pm 4.64bc
	df = 4				
	F = 18.82				
	p < 0.001				
Richesse spécifique Espèces cibles	18.00 \pm 2.68c	28.89 \pm 4.31b	36.56 \pm 5.45a	38.67 \pm 5.76a	27.56 \pm 4.11b
	df = 4				
	F = 21.85				
	p < 0.001				
Richesse spécifique Espèces non cibles	6.78 \pm 1.01a	6.11 \pm 0.91a	7.67 \pm 1.14a	7.56 \pm 1.13a	3.11 \pm 0.46b
	df = 4				
	F = 8.813				
	p < 0.001				
Hauteur moyenne	13.00 \pm 1.94ab	11.11 \pm 1.66b	22.11 \pm 3.30a	20.00 \pm 2.98a	11.33 \pm 1.69b
	df = 4				
	chi ² = 24.66				
	p < 0.001				
Recouvrement de la végétation	5 \pm 0.74c	21.11 \pm 3.15b	53.89 \pm 8.03a	60.00 \pm 8.94a	69.44 \pm 10.35a
	df = 4				
	F = 51.83				
	p < 0.001				
Indice de Bray-Curtis	0.71 \pm 0.10a	0.68 \pm 0.10ab	0.60 \pm 0.09abc	0.58 \pm 0.08bc	0.51 \pm 0.08c
	df = 4				
	F = 8.558				
	p < 0.001				
Indice de Shannon	1.48 \pm 0.22c	1.64 \pm 0.24b	1.79 \pm 0.27a	1.82 \pm 0.27a	1.61 \pm 0.24bc
	df = 4				
	F = 19.25				
	p < 0.001				
Équitabilité	0.30 \pm 0.04c	0.34 \pm 0.05b	0.37 \pm 0.05a	0.37 \pm 0.06a	0.33 \pm 0.05bc
	df = 4				
	F = 19.25				
	p < 0.001				

Tableau 2. Analyses chimiques des teneurs en carbone organique total et en azote total dans trois traitements et dans la steppe de référence juste après le transfert de sol en avril 2011 : traitement C (Trait C), traitement BC (Trait BC), traitement ABCnc (ABCnc), traitement ABC (Trait ABC) et la steppe de référence (Steppe de référence). Les valeurs mesurées correspondent à la moyenne \pm l'erreur standard; df, F, X^2 , p correspondent au degré de liberté, à la valeur de F, à la valeur du chi-carré et à la valeur de p résultant du test ANOVA ou du test de Kruskal-Wallis testant l'effet de chaque modalité sur chaque variable. Dans une même rangée, les cases partageant une lettre commune ne montrent aucune différence significative de leurs valeurs selon le test post-hoc de Tukey ou de Mann-Whitney-Wilcoxon.

Table 2. Soil analyses of total organic carbon and total nitrogen contents for each treatment just after the soil transfer in april 2011: treatment C (Trait C), treatment BC (Trait BC), treatment ABCnc (Trait ABCnc), treatment ABC (Trait ABC) and the reference steppe (Steppe). The measured values are means \pm standard errors; df, F, X^2 , p correspond to the degree of freedom, the F value, the X^2 value and the p value resulting from ANOVA tests or Kruskal-Wallis tests to test the effect of each treatment on each variable. Within a row, two cases with a common letter have significantly different values according to Tukey post-hoc tests or Mann-Whitney-Wilcoxon tests.

	ANOVA/Kruskal-Wallis	C	BC	ABCnc	Steppe
Total organic carbon (g.kg ⁻¹)	df = 4 F = 18.82 p < 0.001	1.59 \pm 0.4c	9.14 \pm 2b	14.06 \pm 3a	15.96 \pm 4a
Total nitrogen (g.kg ⁻¹)	df = 4 F = 21.85 P < 0.001	0.19 \pm 0c	1.05 \pm 0.2b	1.47 \pm 0.3a	1.5 \pm 0.3a

2011 et 2012 pour le traitement BC et entre 2012 et 2013 pour le traitement C (Figure 3-B).

Sur le traitement BC, la richesse spécifique totale a significativement augmenté entre 2011 et 2012 du fait d'un nombre plus élevé d'espèces cibles. Pour le traitement C, elle n'était pas significativement différente entre 2011 et 2013, mais elle était plus faible en 2012 (Figure 4-A et 4-B). Le pourcentage de recouvrement et la hauteur moyenne de la végétation ont eu la même évolution sur les traitements BC et ABC, avec une augmentation significative entre 2011 et 2012, mais sur le traitement C, ils ont augmenté seulement entre 2012 et 2013 (Figure 4-D et 4-E).

Au printemps 2013, par rapport à la steppe de référence, la richesse spécifique totale sur le traitement BC n'était pas significativement différente, même si le nombre d'espèces non cibles était supérieur. Sur le traitement BC, la richesse spécifique en espèces cibles étaient significativement plus faible que celle sur le traitement ABC mais similaire à celle de la steppe de référence. Les indices de Shannon et d'Équitabilité ainsi que la hauteur moyenne de la végétation ne montraient pas non plus de différence significative avec la steppe de référence. En revanche, le pourcentage de recouvrement de la végétation était significativement plus faible.

Ces mêmes paramètres étaient significativement plus faibles sur le traitement C comparés à la steppe de référence, mais également aux traitements BC et ABC. Seule la hauteur moyenne de la végétation n'était pas significativement différente de celle mesurée dans la steppe de référence, et la richesse spécifique en espèces non cibles était similaire à celle mesurée sur les autres traitements. Le traitement C avait une dissimilarité plus élevée avec la steppe de référence que le traitement BC (Tableau 1).

Effet du compactage de la surface du sol

Sur l'ordination NMDS, le traitement ABCnc se superpose avec le traitement ABC. Ces deux traitements sont donc également extrêmement proches en matière de composition et d'abondances des espèces végétales (Figure 3-A). Les dynamiques de la végétation révélées par la position de leurs barycentres étaient également similaires entre 2011 et 2013, mais la végétation avait une dynamique plus forte entre 2012 et 2013 sur le traitement ABCnc que sur le traitement ABC (Figure 3-B).

La richesse spécifique totale a significativement augmenté entre 2011 et 2012 sur le traitement ABC dû à un nombre plus élevé d'espèces cibles, puis elle s'est stabilisée entre 2012 et 2013 alors que celle sur le traitement ABCnc diminuait de manière significative à cause d'une perte d'espèces cibles (Figure 4-A et 4-B). Le nombre d'espèces non cibles n'a pas changé significativement entre 2011 et 2013 sur les traitements ABCnc et ABC, alors qu'il a diminué entre 2011 et 2012 (Figure 4-C). La hauteur moyenne de la végétation a eu la même évolution sur ces deux traitements, c'est-à-dire une augmentation significative de 2011 à 2012, puis une stabilisation entre 2012 et 2013 (Figure 4-E). En revanche, le pourcentage de recouvrement de la végétation n'a cessé d'augmenter entre 2011 et 2013 sur le traitement ABCnc, alors qu'il s'est maintenu entre 2012 et 2013 sur le traitement ABC.

Au printemps 2013, aucune différence significative n'a été détectée entre le traitement ABCnc et le traitement ABC pour tous les paramètres de la végétation mesurés (Tableau 1).

Discussion

Dans ce travail, nous avons testé l'effet d'un transfert de sol printanier, sans stockage, sur la régénération de la

végétation steppique dans la plaine de La Crau. L'originalité de ce transfert réside entre autres dans la vérification de l'importance du respect de l'organisation verticale des principaux horizons pédologiques (A_1 , (B), C) et de la nécessité de compacter le sol afin de choisir le meilleur compromis entre l'efficacité de cette technique de restauration écologique et sa durabilité écologique, en économisant le sol et en limitant le nombre de passages des engins de travaux publics.

Effet du transfert de sol

Le transfert de sol a permis d'obtenir sur le court terme des résultats très encourageants sur le rétablissement de la communauté végétale steppique. Nous obtenons un taux de transfert de 100 % des espèces végétales de la steppe deux ans seulement après la fin des travaux. En Grande-Bretagne, après un transfert de mottes dans des pelouses sèches, sur 18 expérimentations Bullock et al. (1998), ont obtenu un taux de transfert de 54 % à 91 % après trois à sept ans, et Trueman, Mitchell, and Besenyei (2007) ont atteint 100 % mais seulement après cinq années.

Dans notre cas, après trois années, la communauté végétale restaurée est constituée à plus de 50 % par des espèces annuelles, comme dans la steppe de référence (Molinier and Tallon 1950; Devaux et al. 1983; Römermann, Tackenberg, and Poschold 2005). La grande richesse spécifique de la communauté restaurée, composée à 84 % par des espèces cibles, peut être expliquée par la germination de graines viables contenues dans la banque de graines du sol transféré. Contrairement à un premier transfert de sol réalisé dans la plaine de La Crau, le succès de cette opération réside également dans le fait que peu d'espèces non désirées, par rapport à nos objectifs de restauration, se sont installées. Jaunatre, Buisson, and Dutoit (2014) ont mesuré que le transfert de sol n'avait pas affecté les teneurs du sol en éléments nutritifs, contrairement à ce qui peut être obtenu après un transfert de mottes (Trueman, Mitchell, and Besenyei 2007). On peut, donc, supposer dans notre cas que le transfert de sol n'a pas augmenté suffisamment sa fertilité (notamment par oxydation de la matière organique) pour permettre l'installation d'espèces nitrato-philes dans ce traitement.

La diversité spécifique, bien que supérieure à celle de la steppe de référence, reste relativement faible. En effet, la communauté végétale du site restauré semble moins hétérogène que celle de la steppe, et légèrement mieux répartie entre les espèces. Cela peut s'expliquer par le fait que l'espèce structurante de la steppe, *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae), ne domine toujours pas à l'issue des observations. Cependant, les abondances des espèces végétales ne sont pas dissimilaires à celles de la steppe de référence, ce qui représente un résultat innovant comparé à un transfert de sol par épandage selon un rapport 1/3 sur une friche dans la plaine de La Crau où les abondances

des espèces végétales se sont révélées très différentes de celles de l'écosystème de référence même trois ans après la fin des travaux (Jaunatre, Buisson, and Dutoit 2014).

Le pourcentage de recouvrement de la végétation, bien qu'équivalent à celui de la steppe de référence en 2013, n'a cessé d'augmenter significativement au cours des trois années de suivi. De plus, la végétation possède également une hauteur moyenne bien supérieure à celle de la steppe de référence. La végétation semble donc suffisamment régénérée pour permettre le retour d'un système de gestion qui maîtrisera son développement. Le retour du pâturage ovin est donc nécessaire (Gibson and Brown 1992; Bullock 1998; Stroth et al. 2002; Henry 2009). Nous faisons, en effet, l'hypothèse que les différences mesurées entre 2011 et 2012/2013 dans la steppe de référence sont dues aux variations interannuelles de pression de pâturage.

Importance du respect de l'organisation verticale des horizons pédologiques

Au printemps 2013, avec la reconstitution des horizons pédologiques C et (B) (transfert des horizons C et (B)) jusqu'à la surface du sol, la communauté végétale présente un taux d'espèces cibles inférieur de 20 % à celui de la steppe de référence. Néanmoins, la proportion des espèces cibles par rapport au nombre d'espèces total atteint quand même 84 %. Lorsque les horizons pédologiques (B) et A_1 ne sont pas remis en place, la richesse spécifique de la végétation reste plus faible que celles des traitements BC (transfert des horizons C et (B)) et ABC (transfert des horizons C + (B) + A_1), avec respectivement 28 % et 56 % d'espèces en moins. Cependant, 73 % des espèces identifiées sur le traitement C sont des espèces cibles.

En ce qui concerne la composition spécifique, le traitement C (transfert seul de l'horizon C) se distingue nettement des traitements BC (transfert des horizons C et (B)) et ABC (transfert des horizons C + (B) + A_1) par la présence d'espèces pionnières telles que *Petrorhagia prolifera* (L.) P.W. Ball & Heywood (Caryophyllaceae) ou *Silene nocturna* L. (Caryophyllaceae).

Les analyses des teneurs en carbone organique total et en azote total indiquent que les traitements C et BC sont moins fertiles que le traitement ABCnc (transfert des horizons C + (B) + A_1 sans compactage en surface) et que le sol de la steppe de référence. Bien que n'ayant pas permis le développement d'espèces nitrato-philes, le caractère oligotrophe du traitement BC (transfert des horizons C et (B)) et le caractère encore plus oligotrophe du traitement C (transfert seul de l'horizon C) ont limité le développement d'autres espèces cibles. En effet, dans les sols ferralsitiques, c'est surtout l'horizon A_1 qui est riche en matières organiques, carbone, azote et en autres éléments minéraux comme le potassium, par exemple (Duchaufour 1984; AFES 2008).

L'augmentation très rapide du nombre d'espèces mesurée entre la première et la deuxième année sur le

traitement BC (transfert des horizons C et (B)) correspondrait plutôt à un artefact, puisque la végétation ne s'y était pas encore développée entre la fin de la mise en place des quadrats du traitement BC (transfert des horizons C et (B)) (avril 2011) et les relevés de la végétation (mi-mai 2011).

Sur les traitements C et BC (transfert des horizons C et (B)), la diversité spécifique est similaire à celle de la steppe de référence, mais l'indice de Bray-Curtis indique une dissimilarité significative avec celle-ci en ce qui concerne l'abondance des espèces végétales. Cependant, le traitement ABC (transfert des horizons C + (B) + A₁) ne présente pas cette dissimilarité. Cela peut être expliqué par la dominance des graminées telles que *Avena barbata* Pott ex Link (Poaceae), *Bromus* sp. (Poaceae), *Lolium rigidum* Gaudin (Poaceae) ou encore *Hordeum murinum* L. (Poaceae) sur ces traitements, au même titre que la steppe de référence est dominée par *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv. (Poaceae).

Entre la deuxième et la troisième année de suivi, le pourcentage de recouvrement et la hauteur moyenne de la végétation augmentent significativement, mais le pourcentage de recouvrement reste encore très faible sur le traitement C (transfert seul de l'horizon C), certainement à cause du caractère très stressant de ce milieu. Sur le traitement BC (transfert des horizons C et (B)), au contraire, la végétation semble se stabiliser entre la deuxième et la troisième année, même en l'absence de pâturage. En effet, le pourcentage de recouvrement et la hauteur moyenne de la végétation cessent d'augmenter et deviennent semblables à ceux de la steppe de référence.

Le retour du pâturage ovin ancestral peut être envisagé sur le traitement BC (transfert des horizons C et (B)) pour conserver, à long terme, des espaces de sols nus favorables au développement des espèces cibles tolérantes aux stress (Gibson and Brown 1992; Bullock, 1998) et sur le traitement C (transfert seul de l'horizon C), pour maîtriser la hauteur de la végétation.

Effet du compactage de la surface du sol

Même si la végétation a eu une dynamique différente entre les trois années, au printemps 2013, aucune différence significative n'a été détectée entre les traitements ABC (transfert des horizons C + (B) + A₁ avec compactage en surface) et ABCnc (transfert des horizons C + (B) + A₁ sans compactage en surface).

Le compactage du sol ne semble donc pas augmenter ou accélérer le succès du transfert dans cet écosystème, bien qu'il paraisse ralentir la fermeture et la colonisation du milieu. En effet, un an après le transfert de sol, le pourcentage de recouvrement est de 20 % contre 40 % sans compactage du sol. Il faut noter, cependant, que le retour du pâturage ovin pourrait avoir le même rôle (Gibson and Brown 1992; Bullock 1998; Stroh et al. 2002; Henry 2009).

Conclusion

À la suite du transfert de sol, nous avons pu mesurer une très forte résilience de la végétation steppique en matière de composition et de richesse spécifique. Ces premiers résultats sont en accord avec ceux d'études précédentes menées dans des prairies tempérées (Bullock 1998; Good et al. 1999; Box 2003; Trueman, Mitchell, and Besenyi, 2007; Eichberg et al. 2010) ou dans la plaine de La Crau (Jaunatre, Buisson, and Dutoit 2014). Les meilleurs résultats ont été obtenus avec le transfert de sol dans lequel les trois principaux horizons pédologiques ont été reconstitués, même en matière d'abondance des espèces végétales. Cependant, éventuellement même lorsque l'horizon organique A₁ n'est pas reconstitué, les résultats sont également très prometteurs. Un transfert de sol par l'épandage d'un mélange organo-minéral, sans compactage final, pourrait être alors suffisant pour obtenir des résultats aussi rapidement. Cela pourrait permettre d'augmenter la surface sur lequel peut être épandue le sol transféré avec un étalement selon des rapports 1/2 ou 1/3. De plus, le transfert d'un volume de sol selon un rapport 1/1 n'entraîne pas un gain du point de vue de la restauration. Pour cela, le transfert de plaques, qui permet une recolonisation dans le site receveur et une cicatrisation dans le site donneur, constitue aussi une piste technique à explorer dans un cadre de recherche de durabilité des pratiques.

Le compactage du sol ne semble, donc, pas nécessaire. De plus, cela induit des émissions de CO₂ supplémentaires et un coût de l'opération plus élevé.

Au final, aucun traitement n'a cependant permis de restaurer l'intégrité de la communauté végétale steppique de référence, notamment en matière d'abondance/dominance des espèces végétales mais également en matière de densité de la végétation. Aujourd'hui, il semble nécessaire de remettre en place le système de pâturage ovin ancestral (Gibson and Brown 1992; Bullock 1998; Stroh et al. 2002) dont les actions de prélèvement, piétinement et dispersion (endozoochorie, exozoochorie) devraient permettre d'accélérer la restauration de la structuration spatiale de la végétation steppique.

Bien qu'obtenant des résultats très prometteurs pour restaurer des communautés végétales à forte richesse spécifique (Pywell, Webb, and Putwain 1995; Bullock 1998; Good et al. 1999; Box 2003; Vécrin and Muller 2003; Trueman, Mitchell, and Besenyi 2007; Eichberg et al. 2010; Jaunatre, Buisson, and Dutoit 2014), le transfert de sol est une méthode de restauration écologique qualifiée de non-durable car destructrice d'une ressource non renouvelable, le sol. De plus, le transfert de sol véhiculé est une méthode polluante (émissions de CO₂, NO_x, huiles, etc.) et utilisant des énergies non-renouvelables. Elle ne doit donc en aucun cas représenter un substitut à une conservation *in situ* (McLean 2003).

Remerciements

Nous remercions la Société du Pipeline Sud-Est Européen, le Conseil Général des Bouches-du-Rhône, la région Provence-Alpes-Côtes-d'Azur (PACA), la FR ECCOREV et la SFR Tersys pour le financement de nos travaux. Nous remercions également le Conservatoire des Espaces Naturels PACA, la Chambre d'Agriculture PACA et la Réserve Naturelle Nationale des Coussouls de Crau pour nous avoir donné la permission de réaliser nos travaux et d'accéder au site d'étude.

Note biographique courte des auteurs:

Adeline Bulot est doctorante; elle a mis en place les protocoles expérimentaux, réalisé les suivis, interprété les données et rédigé l'article.

Erick Provost est chargé de recherches au CNRS; il a contribué à la mise en place de cette problématique de recherche.

Thierry Dutoit est directeur de recherches au CNRS; il est à l'origine de cette expérimentation dont il a mis en place les différents protocoles. Il a réalisé les suivis et validé les analyses, leurs résultats et leurs interprétations.

References

Adriaens, D., O. Honnay, and M. Hermy. 2006. "No evidence of a plant extinction debt in highly fragmented calcareous grasslands in Belgium." *Biological Conservation* 133 (2): 212–224.

AFES. Association Française pour l'Étude des Sols. 2008. *Référentiel pédologique*. Versailles: Éditions Quae.

Alard, D., and I. Poudevigne. 2002. "Biodiversity in changing landscapes: from species to patch assemblages to system organization." In: *Application of GIS and remote sensing in river studies*, edited by R.S.W. Leuven, I. Poudevigne, and R. Teeuw eds, 9–27. Leiden: Backhuys.

Baize, D. 2000. *Guide des analyses pédologiques*. Paris : 2^{ème} édition INRA.

Badan, O., G. Congès, and J.P. Brun. 1995. "Les bergeries romaines de La Crau d'Arles. Les origines de la transhumance en Provence." *Galia* 52: 263–310.

Benjamini, Y., and Y. Hochberg. 1995. "Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing." *Journal of the Royal Statistical Society, Serie B* 57 (1): 289–300.

Boreard, D., F. Gillet, and P. Legendre. 2011. *Numerical ecology with R*. New York: Springer.

Bourrelly, M., L. Borel, J.P. Devaux, J. Louis-Palluel, and A. Archiloque. 1983. "Dynamique annuelle et production primaire nette de l'écosystème steppique de Crau (Bouches du Rhône)." *Biologie-Ecologie méditerranéenne* 10: 55–82.

Box, J. 2003. "Critical factors and evaluation criteria for habitat translocation." *Journal of Environmental Planning and Management* 46(6): 839–856.

Bray, J.R., and J.T. Curtis. 1957. "An ordination of upland forest communities of southern Wisconsin." *Ecological Monographs* 27: 325–349.

Braun-Blanquet J., N. Roussine, R. Nègre, and L. Emberger. 1952. *Les groupements végétaux de la France Méditerranéenne*. Paris: édition CNRS.

Brauelheide, H., and T. Flintrop. 2000. "Evaluating the transplantation of a meadow in the Harz Mountains, Germany." *Biological conservation* 92(1): 109–120.

Buisson, E., T. Dutoit, F. Torre, and P. Poschold. 2006. "The implications of seed rain and seed bank patterns for plant succession at the edges of abandoned fields in Mediterranean landscapes." *Agriculture, Ecosystems and Environment* 11: 6–14.

Bullock, J.M. 1998. "Community translocation in Britain: Setting objectives and measuring consequences." *Biological conservation* 84(3): 199–214.

Cherel, O. 1988. "Contribution à l'étude des relations végétation-mouton sur les parcours de Crau (S.E France): adaptation et développement de méthodes d'étude du régime alimentaire." PhD diss.: Aix-Marseille Université, Marseille.

Chessel, D., A.B. Dufour, and J. Thioulouse. 2004. "The ade4 package-I- one-table methods." *R News* 4: 5–10.

Clewell, A.F., and J. Aronson. 2007. *Ecological restoration: principles, values and structure of an emerging profession*. 1st ed. Washington, Covelo, London: Island Press.

Coiffait-Gombault, C. 2011. "Règles d'assemblage et restauration écologique des communautés végétales herbacées méditerranéennes. Le cas de la Plaine de Crau (Bouches-du-Rhône, France)." PhD diss., Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse, Avignon.

Colomb, E., and R.M. Roux. 1978. "La Crau, données nouvelles et interprétations." *Géologie méditerranéenne* 3: 303–324.

Devaux, J.P., A. Archiloque, L. Borel, M. Bourrelly, and J. Louis-Palluel. 1983. "Notice de la carte phyto-écologique de la Crau (Bouches-du-Rhône)." *Biologie et écologie méditerranéenne* 10(1–2): 5–54.

Deverre, C. 1996. "La nature mise au propre dans la steppe de Crau et la forêt du Var." *Etudes rurales* 141: 45–61.

Dray, S., and A.B. Dufour. 2007. "The ade4 package: Implementing the duality diagram for ecologists." *Journal of statistical software* 22: 1–20.

Duchauffour, P. 1984. *Pédologie*. Paris: Masson.

Dutoit, T., E. Buisson, F. Fadda, F. Henry, C. Coiffait-Gombault, and R. Jaunatre. 2011. "Dix années de recherche dans une pseudo-steppe méditerranéenne: impact des changements d'usage et restauration écologique." *Sécheresse*, 22: 75–85.

Dutoit, T. 2011. "Fuite d'hydrocarbures en Crau: Mesures compensatoires, dernier acte d'une catastrophe patrimoniale?" *Le courrier de la Nature* 263: 7–9.

Dutoit, T., E. Buisson, S. Fadda, F. Henry, C. Coiffait-Gombault, R. Jaunatre, J.F. Alignan, S. Masson, and A. Bulot. 2013. "The pseudo-steppe of La Crau (South-Eastern France): origin, management and restoration of a Mediterranean rangeland." In *Steppe Ecosystems: Biological Diversity, Management and Restoration*, edited by J. Traba, J. Morales and M. Morales, 287–301. USA: Nova Publishers.

Dutoit, T., R. Jaunatre, and E. Buisson. 2013. "Mediterranean steppe restoration in France." In: *Ecological Restoration Principles, Values, and Structure of an Emerging Profession*, edited by A.F. Clewell, and J. Aronson, second edition, 60–64. Washington: Island Press.

Dzwonko, Z., and S. Loster. 1998. "Dynamics of species richness and composition in limestone grassland restored after tree cutting." *Journal of Vegetation Sciences* 9(3): 387–394.

Eichberg, C., C. Storm, M. Stroh, and A. Schwabe. 2010. "Is the combination of topsoil replacement and inoculation with plant material an effective tool for the restoration of threatened sandy grassland?" *Applied Vegetation Science* 13: 425–438.

Etienne, M., J. Aronson, and E. Le Floch. 1998. "Abandoned lands and land use conflicts in southern France. Piloting ecosystem trajectories and redesigning outmoded

- landscapes in the 21st century." In: *Landscape degradation and biodiversity in Mediterranean-type ecosystems*, edited by P.W. Rundel, G. Montenegro, and F. Jaksic. 127–140. Ecological studies n° 136, Berlin: Springer.
- Gibson, D.J. 2009. *Grasses and grassland ecology*. Oxford: Oxford University Press.
- Gibson, C.W.D., and V.K. Brown. 1992. "Grazing and vegetation change: deflected or modified succession?" *Journal of Applied Ecology* 29: 120–131.
- Good, J.E.G., H.L. Wallace, P.A. Stevens, and G.L. Radford. 1999. "Translocation of herb-rich grassland from a site in wales prior to opencast coal extraction." *Restoration Ecology* 7: 336–347.
- Henry, F. 2009. "Origine et dynamique à long terme d'un écosystème herbacé pseudo steppique, le cas de la plaine de la Crau (Bouches-du-Rhône, France)." PhD diss.: Université Paul Cézanne, Marseille.
- Hirst, A.H., R.F. Pywell, R.H. Marrs, and P.D. Putwain. 2003. "The resistance of a chalk grassland to disturbance." *Journal of Applied Ecology* 40: 368–379.
- Hirst, A.H., R.F. Pywell, R.H. Marrs, and P.D. Putwain. 2005. "The resilience of calcareous and mesotrophic grasslands following disturbance." *Journal of Applied Ecology* 42 (3): 498–506.
- Holling, C.S. 1973. "Resilience and stability of ecological systems." *Annual review of Ecology and Systematics* 4: 1–23.
- Holling, C.S., and L.H. Gunderson. 2002. "Resilience and adaptive cycles." In: *Understanding transformations in human and natural systems*, edited by L.H. Gunderson, and C.S. Holling, 25–62. Panarchy, Washington: Island Press.
- Jaunatre, R., E. Buisson, and T. Dutoit. 2012. "First year results of a multi-treatment steppe restoration experiment in La Crau (Provence, France)." *Plant Ecology and Evolution* 145: 13–23.
- Jaunatre, R., E. Buisson, and T. Dutoit. 2014. "Can ecological engineering restore Mediterranean rangeland after intensive cultivation? A large-scale experiment in southern France." *Ecological Engineering* 64: 202–212.
- Kiehl, K., A. Kirmer, T.W. Donath, L. Rasran, and N. Hölzel. 2010. "Species introduction in restoration projects – Evaluation of different techniques for the establishment of semi-natural grasslands in Central and Northwestern Europe." *Basic and Applied Ecology* 11: 285–299.
- Lee, T.D., M.G. Tjoelker, D.S. Ellsworth, and P.B. Reich. 2001. "Leaf gas exchange responses of 13 prairie grassland species to elevated CO₂ and increased nitrogen supply." *New phytologist* 150(2): 405–418.
- Luh, H.K., and S.L. Pimm. 1993. "The assembly of ecological communities: a minimalist approach." *Journal of Animal Ecology* 62: 749–765.
- Masson, P., and E. Estrangin. 1928. "Le mouvement économique: l'agriculture. Le bilan du XIX^e siècle." *Encyclopédie départementale des Bouches-du-Rhône* 10: 353–379.
- McLean, I.F.G., 2003. *A habitats translocation policy of Britain*. Joint Nature Conservation Committee on behalf of The Countryside Council for Wales, English Nature and Scottish Natural Heritage.
- Molinier, R., and G. Tallon. 1950. "La végétation de la Crau (Basse-Provence)." *Revue générale de botanique* 56: 1–111.
- Oksanen, J., F.G. Blanchet, R. Kindt, P. Legendre, P.R. Minchin, R.B. O'Hara, G.L. Simpson, P. Solymos, M.H.H. Stevens, and H. Wagne. 2012. "Vegan: community ecology package." *R package version 2.0-5*. Accessed March 12 2014. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Pielou, E.C. 1969. *An introduction to mathematical ecology*. New York: Wiley-Interscience.
- Pimm, S.L. 1991. *The balance of nature? Ecological issues in the conservation of species and communities*. Chicago: University of Chicago Press.
- Poschold, P., and M.F. WallisdeVries. 2002. "The historical and socioeconomic perspective of calcareous grasslands: lessons from the distant and recent past." *Biological Conservation* 104: 361–376.
- Pywell, R.F., N.R. Webb, and P.D. Putwain. 1995. "A comparison of techniques for restoring heathland on abandoned farmland." *Journal of Applied Ecology* 32: 400–411.
- R foundation for Statistical computing. 2014. "The R project for Statistical Computing." Accessed March 12. <http://www.r-project.org/index.html>.
- Rainaud, A. 1893. "La Crau." *Annales de géographie* 2: 189–211.
- Römermann, C., O. Tackenberg, and P. Poschold. 2005. "How to predict attachment potential of seeds to sheep and cattle coat from simple morphological seed traits." *Oikos* 110: 219–230.
- Saunders, D.A., R.J. Hobbs, and C.R. Margules. 1991. "Biological consequences of ecosystem fragmentation: a review." *Conservation Biology* 5: 18–32.
- SER International Primer on Ecological Restoration. 2004. "Society for Ecological Restoration International Sciences and Policy Working Group." Accessed March 12 2014. <https://www.ser.org/resources/resources-detail-view/ser-international-primer-on-ecological-restoration>.
- Stroh, M., C. Storm, A. Zehm, and A. Schwabe. 2002. "Restorative grazing as a tool for directed succession with diaspore inoculation: the model of sand ecosystem." *Phytocoenologia* 32: 595–625.
- Tatin, L., A. Wolff, J. Boutin, E. Colliot, and T. Dutoit. 2013. *Écologie et conservation d'une steppe méditerranéenne: la plaine de Crau*. Versailles: Éditions Quae.
- Trueman, I., D. Mitchell, and L. Besenyei. 2007. "The effects of turf translocation and other environmental variables on the vegetation of a large species-rich mesotrophic grassland." *Ecological Engineering* 31: 79–91.
- Vécrin, M.P., and S. Muller. 2003. "Top-soil translocation as a technique in the re-creation of species-rich meadows." *Applied Vegetation Science* 6: 271–278.
- Weihner, E., and P.A. Keddy. 1999. *Ecological assembly rules: perspectives, advances, retreats*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Wells, T.C.E. 1969. "Botanical aspects of conservation management of chalk grasslands." *Biological Conservation* 2 (1): 36–44.
- Willems, J.H. 2001. "Problems, approaches and results in restoration of Dutch calcareous grassland during the last 30 years." *Restoration ecology* 9(2): 147–154.
- Wolff, A. 2014. "Risques industriels dans les espaces naturels: retour d'expérience après la rupture d'un pipeline." In: *Écologie et conservation d'une steppe méditerranéenne, La plaine de Crau*, edited by L. Tatin, A. Wolff, J. Boutin, E. Colliot and T. Dutoit, 309–323. Versailles: Éditions Quae.
- Young, T.P., D.A. Petersen, and J.J. Clary. 2005. "The ecology of restoration: historical links, emerging issues and unexplored realms." *Ecology Letters* 8: 662–673.

Annexe 3: Jaunatre, R., Buisson, E., Coiffait-Gombault, C., Bulot, A. & Dutoit, T. (2014). Restoring Species-Rich Mediterranean Dry Grassland in France Using Different Species-Transfer Methods. pp. 160-181. In: Kiehl, K., Kirmer, A., Shaw, N., Tischew, S. (eds). « *Guidelines for native seed production and grassland restoration* ». Cambridge University press, Cambridge, 301pp.

CHAPTER 4.3

RESTORING SPECIES-RICH MEDITERRANEAN DRY GRASSLAND IN FRANCE USING DIFFERENT SPECIES-TRANSFER METHODS

RENAUD JAUNATRE, ELISE BUISSON,
CLEMENTINE COIFFAIT-GOMBAULT,
ADELINE BULOT AND THIERRY DUTOIT

Abstract

Mediterranean dry grasslands are characterized by high biodiversity, which is threatened by significant changes in land-use in recent centuries. The *La Crau* area is the only French Mediterranean steppe located in south-eastern France. Of the 45,000 ha present in the 16th century, only 11,500 ha currently remain. Moreover, numerous studies have shown that this vegetation type exhibits very low resilience to major disturbances, such as cultivation, even following recovery periods of as much as 150 years. This stresses the importance of conserving remnant intact patches of the original plant community and restoring degraded areas. Several experiments testing species-transfer methods have been carried out in the last decade. In 2002 the transplantation of two dominant perennial target species, *Thymus vulgaris* and *Brachypodium retusum*, into former cultivated fields showed that their establishment was successful if the stone cover had been previously restored. The transfer of vacuum-harvested hay was assessed in 2007 on an area disturbed when a pipeline was buried. This method produced a plant composition close to that of the reference community, with many target annual species, but without the dominant perennial species successfully transferred by transplantation in the first experiments. In 2009 a multi-treatment experiment was implemented on a larger area disturbed by intense peach cultivation where hay or soil transfer (i.e. the translocation of the whole habitat: soil,

propagules and associated micro-organisms), alone or combined with topsoil removal were tested. The best results were obtained when abiotic conditions were restored (topsoil removal, which removes the nutrient-rich soil layer; transfer of a nutrient-poor soil layer) and species were transferred. In 2011 large-scale soil transfer with or without soil compaction were implemented on an area degraded by an oil spill followed by polluted soil excavation. In the very short term, soil transfers produced a species-rich community composed of numerous target species. Results from these ten years of experiments and monitoring highlight the difficulties of restoring this unique habitat. Nevertheless they provide insights in possibilities for approaching the target communities, especially when the transfer of the whole community through soil or hay transfer is combined with the restoration of appropriate abiotic conditions (low soil fertility through topsoil removal or soil transfer) and transplantation of the perennial dominant species that provide structure in the reference herbaceous plant community.

Conservation and restoration issues of a Mediterranean dry grassland

Dry grasslands are among the most diverse and species-rich ecosystems in Europe (Hutchings & Stewart 2002). While they have been widely studied in northwestern countries (Tansley 1939, Hillier et al. 1990, Dutoit & Alard 1995, Willems 2001, Poschlod & WallisDeVries 2002), they remain less known in the South, although some studies have been carried out recently (Puerto et al. 1990, Buisson & Dutoit 2006). Although the structure of these communities is more or less similar in the North and the South, there are significant differences in patterns of plant succession due to the Mediterranean climate in the South. Dryness and heat could lead to very different vegetation dynamics.

Mediterranean dry grasslands are characterized by very slow recovery after changes in land use, especially after the abandonment of cultivation phases (Blondel & Aronson 1999, Römermann et al. 2005). Despite the fact that the Mediterranean Basin is one of 25 main hotspots of biodiversity (Medail & Quezel 1997, Myers et al. 2000), its ecosystems appear among the natural areas that have undergone the largest changes in land-use in recent centuries (Groves & Di Castri 1991, Pausas & Vallejo 1999, Blondel et al. 2010).

Mediterranean dry grasslands and steppe ecosystems are among the most threatened ecosystems due to intensive cultivation, grazing abandonment, urban development or increased fire frequency (Russi et al. 1992, Noy-Meir 1995, Bonanomi et al. 2006). According to the Forage and Grazing Terminology committee, a steppe is "a semi-arid, sparse to rolling grassland characterized by short to medium-height grasses occurring with other herbaceous vegetation and occasional shrubs" (Allen et al. 2011). The designation "steppe" is usually attributed when the origin of these ecosystems is driven by climatic conditions. Steppes receiving a mean annual rainfall between 100 and 400 mm are designated arid or semi-arid steppes (Le Houérou 2001). When other factors, such as agricultural practices (e.g. grazing), are as important as climatic factors with regard to plant community origin, the word "pseudo-steppe" is usually preferred.

The total surface area of Mediterranean steppe has considerably declined in recent decades and now covers only 3,700,00 ha in the European part of the Mediterranean Basin and 63,000,000 ha in North Africa (Le Houérou 1995). The *La Crau* area is the former Durance River delta (45,000 ha) located in southeastern France (43°33'N, 4°52'E), which has been shaped by millennia of interactions between soil, climatic conditions and sheep grazing. The 40 cm deep soil contains 50% siliceous stones and lies on a calcareous conglomerate, which cannot be penetrated by plant roots (Devaux et al. 1983).

The climate is Mediterranean, with high inter-annual variability, an average of 540 mm yearly precipitation, falling mainly in spring and autumn, and 110 days per year with wind speed exceeding 50 km/h (Devaux et al. 1983). Extensive sheep grazing has occurred in the *La Crau* area for more than 2000 years (Badan et al. 1995, Henry et al. 2010), as has occurred in many typical Mediterranean rangelands (Le Houérou 1995). This ecosystem is related to ecosystems of *Dehesas* in Spain (3 million ha) and *Montado* in Portugal (700,000 ha). Its unique species-rich plant community is dominated by *Brachypodium retusum* (Pers.) P. Beauv., *Asphodelus cyvardii* Jahand. & Maire, *Thymus vulgaris* L. and *Stipa capillata* L. (Devaux et al. 1983). The community is also characterized by a high number of annual species, such as *Aegilops ovata* L., *Asterolinon linum-stellatum* (L.) Duby, *Euphorbia exigua* L., *Evax pygmaea* (L.) Brot., *Filago gallica* L., *Linum trigynum* L., *Plantago bellardii* All., *Salvia verbenaca* L., *Taeniatherum caput-medusa* (L.) Nevski, *Vulpia* spp., etc. Because discontinuities in vegetation cover

disappear when sheep grazing is removed from the *La Crau* ecosystem (Fadda 2006), the proper term for describing the *La Crau* plant community would be “pseudo-steppe”. However for the sake of clarity, the word “steppe” will be used hereafter, because it has already been widely used in *La Crau*-related literature, and because sheep grazing is the traditional and historical land-use (Devaux et al. 1983).

Of the 45,000 ha ecosystem created by the former delta of the Durance River 10,000 years ago, only 11,500 ha remained in the early 2000s. Cultivation (e.g. hay meadows, market gardening or intensive fruit cultivation), quarries, military activities and industrialization occurring from the early 20th century to the present day, have all contributed to the decline of the original steppe area (Deverre 1996, Gaignard 2003, Buisson & Dutoit 2006). Along with implementation of conservation actions in the *La Crau* area (Buisson & Dutoit 2006), several research questions have been addressed, mainly dealing with vegetation dynamics after disturbance and the potential for restoration of these disturbances (Dutoit et al. 2011).

One of the first studies highlighted the very slow recovery of the steppe plant community 25 years after the end of exogenous disturbances such as cultivated phases (Römermann et al. 2005). Buisson et al. (2006) identified two main barriers to spontaneous plant recolonization: i) the low number of target species in the internal species pool, i.e. the seed bank was depleted by the studied disturbances (Hutchings & Booth 1996, Buisson et al. 2006, Bossuyt & Honnay 2008), and the low dispersal potential of the target species (Bakker et al. 1996, Münzbergová & Herben 2005, Buisson et al. 2006); and ii) the high dispersal and establishment potential of non-target species, in particular due to increased fertility in the formerly cultivated areas (Marrs 2002).

Such disturbed ecosystems require active restoration which should focus on these thresholds. Dispersal has been identified as a major limiting factor for spontaneous succession of target communities (Hutchings & Booth 1996, Bischoff 2002), and strengthening dispersal of propagules is becoming a major topic in ecological restoration (Kiehl 2010, Kiehl et al. 2010, Hölzel et al. 2012). Of all the experiments carried out in the *La Crau* area to assess the efficiency of restoration methods, we present here three that involve species transfer: i) transplantation or seeding of structuring species, ii) hay transfer and iii) soil transfer. These experiments have been implemented in four different contexts (Table 4.3-1, Fig. 4.3-1), two former cultivations where soils were ploughed and fertilized: *Old fields*,

which had been melon fields established in the steppe in the 1970s and were abandoned in the 1980s (Römermann et al. 2005) and *Former orchard*, which was a 357 ha orchard cultivated intensively from 1987 to 2006 and rehabilitated to a steppe habitat in 2008 (Jaunatre et al. 2012); a *Pipeline* which was buried in 2006 resulting in destruction of the vegetation and physical soil disturbance (Coiffait-Gombault et al. 2012b); and one *Oil spill* caused by a 2009 break in an old pipeline where the soil was excavated and then rehabilitated in 2011 (Dutoit 2011). Some of these experiments were carried out with and without sheep grazing because grazing can enhance dispersal and induce changes in micro-environmental conditions for seed germination (e.g. light) and in plant interactions, such as competition or facilitation (Fischer et al. 1996, Dobarro et al. 2010).

Table 4.3-1: Characteristics of the four different experimental contexts (D+n indicates the number of years after last disturbance; R+n indicates the number of years of monitoring after restoration implementation).

Site names	Type of disturbance	Date of last disturbance	Restoration	Last monitoring
<i>Old fields</i>	Former melon fields (ploughed, fertilized)	2006	Seed sowing	2009 (D+3, R+3)
		1975	Seedling transplantation	2004 (D+23, R+2)
<i>Former orchard</i>	Former intensive orchard (ploughed, fertilized)	2006	Hay transfer	2012 (D+6, R+3)
		2006	Soil transfer	2012 (D+6, R+3)
<i>Pipelines</i>	Pipeline burying (physical disturbance)	2006	Hay transfer	2009 (D+3, R+3)
<i>Oil spill</i>	Oil spill (soil excavation in 2010)	2010	Soil transfer	2012 (D+2, R+2)

Fig. 4.3-1 (next page): Location of the *La Croix* area in southeastern France, distribution of study sites and experimental designs.

Restoring Species-Rich Mediterranean Dry Grassland in France





Fig. 4.3-2: The *Ler Crane* area steppe ecosystem (A) and dispersal strengthening restoration methods: seedling transplantation with stone cover restoration (B), seed gathering for hay transfer with a leaf vacuum, manual (C) or truck operated (D), and soil transfer spreading (E).

Transplantation and seeding of structuring species

Plant communities determine the ecological value of the habitat and thus, by incorporating the structure of the plant communities into restoration designs, we can start to create systems which serve an intended function as well as replace some of the ecological value lost during disturbance (Orson 1996). With this aim, we tried to reintroduce some of the steppe-structuring species to areas disturbed by cultivation. Three species were used: *B. retusum* and *T. vulgaris* are two of the few perennial species of the steppe and are also dominant species, and *Trifolium subterraneum* is a native clover which provides good ground cover. Two experiments were conducted on former melon fields (*Old fields*, Fig. 4.3-1, Table 4.3-1) in order to reintroduce i) structuring plant species using seedling transplantation (*B. retusum* and *T. vulgaris*, Buisson 2005) and ii) the same two species and *T. subterraneum* by seeding (Coiffait-Gombault et al. 2012a).

One-year old seedlings of *B. retusum* and *T. vulgaris* were manually transplanted in a multi-factorial experiment testing the effect of grazing and stone cover restoration (Fig. 4.3-1; Buisson 2005). Because large stones (15 cm to 30 cm diameter) that cover about 50% of the ground in the steppe had been removed for cultivation, we tested stone cover restoration to 50% vs. non-restored stone cover (<50% composed of pebbles; Fig. 4.3-2B). Results showed that exclusion of grazing in the first year led to a better establishment of seedlings, but that grazing had to be reintroduced later to prevent competitive species from reducing colonization of target species (Henry 2005). Restoration of the stone cover allowed for better establishment of transplanted species. Stones may cause significant changes in microhabitat conditions, by altering micro-climate, allowing root development (Steinberger 2001, Elmarsdottir et al. 2003), limiting the proximity of potential competitive species and providing protection from grazers. The ideal combination of treatments for *B. retusum* and *T. vulgaris* seedling transplantation included the removal of grazing during the first year and restoration of the stone cover (Buisson 2005).

Although this first experiment was successful, transplantation is expensive and labour-intensive and therefore cannot be implemented on a large scale. We therefore tested seeding of *B. retusum* and *T. vulgaris* on large areas (Coiffait-Gombault et al. 2012a). *T. subterraneum* was added to the seed mixture because we expected it to grow and cover the ground

quickly and thus to reduce non-target establishment. The seed mixture was composed of 47 kg/ha of *B. retusum*, 13 kg/ha of *T. subterraneum* and 3 kg/ha of *T. vulgaris*. Two years after sowing, the three species were well established, and covered more than 20% of the ground. Contrary to the transplantation experiment, sheep grazing appeared important even the first year as it limited clover competitiveness and increased the cover of perennial species (Bork et al. 1998, Hoshino et al. 2009), in particular *B. retusum*. Sowing seed had a positive effect on plant community composition. It eliminated or reduced some non-target species establishment (e.g. *Centaurea solstitialis*, *Bromus madritensis*), and it increased the cover of target forbs and grasses (e.g. *Aira cupaniana*, *Euphorbia exigua*, *Dactylis glomerata*, Coiffait-Gombault et al. 2012a).

The presence of structuring species may have improved target species establishment by improving soil moisture and preventing herbivory and desiccation (Hutchings & Booth 1996, Padilla & Pugnaire 2006). An additional experiment was conducted to determine if sowing structuring species can be beneficial to other steppe species. The establishment of four additionally sown target steppe species (*Asphodelus ayardii*, *Evax pygmaea*, *Linum strictum* and *Taeniatherum caput-medusae*) was surveyed. *L. strictum* and *A. ayardii* survived better where structuring species were sown and sheep grazing occurred (Coiffait-Gombault et al. 2012a). Despite these encouraging results, successional processes remained slow and community composition and structure were not restored after two years. Species composition is still different from the reference ecosystem, suffering from a lack of most annual target species.

These transplanting and sowing restoration techniques involved significant energy, financial and human costs, mainly because the target species are seldom available from commercial seed vendors and they do not produce large amounts of seed in the wild (especially *B. retusum*; Caturla et al. 2000, Coiffait-Gombault et al. 2011). Although the reintroduction of these species can improve the establishment of target species, it does not accelerate their dispersal and therefore their colonization, highlighting the need to develop restoration techniques that increase the dispersal of larger numbers of local target species at relatively low costs.

Hay transfer methods

As commercial regional seed mixtures are rarely available for species-rich communities (Jongepierová et al. 2007), the reintroduction of propagules gathered from the reference ecosystem can provide a very useful substitution (Kiehl et al. 2010). The transfer of seed-containing hay is a traditional technique used in agriculture to improve grasslands (Bonn & Poschlod 1998). It is now used for ecological restoration of various grasslands (Riley et al. 2004, Kiehl & Wagner 2006, Rasran et al. 2006, Edwards et al. 2007, Graf & Rochefort 2008, Hölzel et al. 2012), particularly those with limited dispersal capacity (Hölzel & Otte 2003, Donath et al. 2007, Kiehl et al. 2010, Klimkowska et al. 2010). Gathered hay contains viable seeds from a regional species pool, allowing their reestablishment (Rasran et al. 2006). Although this method is commonly used in temperate ecosystems, its use in Mediterranean dry grasslands has been poorly documented. Transfer of hay harvested from the steppe reference ecosystem was tested, first at high concentrations on small scales (a few square meters in the *Pipeline* experiments) then at lower concentrations on large scales (20 ha in the *Former orchard* experiments). The low vegetation height and the high stone cover in the reference ecosystem do not allow harvesting by mowing as is done in temperate grasslands. The hay gathering technique was therefore adapted to this particular environment.

It was performed using a leaf vacuum, which is usually used to gather leaves (Fig. 4.3-2 C & D). The relatively high grazing pressure on the steppe tends to lower the potential for gathering seeds. Thus in both experiments hay was gathered in areas where grazing was very low or absent for several years, but which exhibited a similar vegetation composition and structure to the reference area. Moreover, the donor sites had been connected and grazed by sheep from Neolithic times until the establishment of cultivation in the La Crau area in the 1970's (Fabre 1997) (Fig. 4.3-1).

The experiment carried out on the *Pipeline* site was implemented in 2006. Hay was manually mown and gathered in an enclosure during the seed production peak in July, stored at 5°C and spread after the first autumn rains in September. Hay was spread at 700 g/m² on 40x40cm quadrats and monitored beginning 6 months and continuing to three years after transfer. Species richness started to increase 6 months after hay transfer and continued to increase throughout the three years of surveys.

At the end of this period, the restored community composition was close to that of the reference community with 65% of the target species present. Most of these were stress tolerant species, such as *Aegilops ovata*, *Psilurus incurvus*, *Taeniatherum caput-medusae* or *Brachypodium distachyon* (Coiffait-Gombault et al. 2011) which do not colonize spontaneously by natural dispersal processes. Despite the establishment of most reference community species, we noted the absence of a characteristic dominant perennial species of the reference ecosystem: *B. retusum*. Grazing only had an effect where hay was transferred: it increased its effectiveness by increasing species-richness. Grazing may have limited competition and created additional safe sites for germination of the transferred species, thus improving hay transfer results as mowing or sheep grazing did in another hay transfer experiment (Kiehl & Pfadenhauer 2007).

The experiment carried out on the *Former orchard* site was implemented in 2009. Hay material was gathered in summer using a leaf vacuum truck at a donor site located less than 5 km away from the restoration site (Fig. 4.3-1, Fig. 4.3-2D). The material was then spread over two 10 ha areas in the rehabilitated orchard (trees removed and soils levelled) with a 1:3 ratio: gathering seeds on 1 ha, then spreading them on 3ha, which represented 1.5 kg/ha. The community created in year n+1 was not significantly different from the area where no hay was spread, but the trend was promising because we observed germination of some steppe species such as *Trifolium angustifolium*, *Convolvulus cantabrica*, *Sherardia arvensis*, *Plantago lagopus* and *Catapodium rigidum* (Jaunatre et al. 2012). However after three years, hay transfer the vegetation showed very few changes compared to first year results. Species-richness was not significantly higher than without hay transfer. Although it exhibited some target forbs, such as *P. lagopus*, *S. arvensis* or *S. atropurpurea*, the community was dominated by *Bromus* spp. and was, therefore, very different from the reference community. These results contrast with the increase in target species richness and abundance that was observed in the small-scale hay transfer experiment at the *Pipeline* site (see above).

The two hay transfer experiments exhibited contrasting results: the *Pipelines* experiment resulted in establishment of a greater number of target species than the *Former orchard* experiment. Three main differences in experiment implementation could be hypothesized to explain these results: i) hay quantity, ii) hay gathering date and iii) environmental conditions. Lower hay quantity and the later gathering date, which could have resulted in a loss of some early fruiting species, cannot

be valid explanations for the relative failure of hay transfer in the *Former orchard* experiment. In an additional experiment in *Former orchard*, the same hay was spread with the same ratio (1:3) after topsoil removal and this treatment was equally successful as the *Pipeline* experiment (Jaunatre et al. 2013). Environmental conditions in the *Former orchard* experiment without topsoil removal (i.e. higher nutrient content due to cultivation remnants, insufficient grazing pressure and a greater number of non-target species in the seed bank) may, therefore, be the best explanation. The transferred seeds of target species had to face a dense cover of competitive species (mainly *Bromus* spp.) favoured by high nutrient availability and, therefore, failed to germinate or establish in the restored area.

In both cases the dominant species of the reference community, *B. retusum*, was absent. This species colonizes by vegetative reproduction of rhizomes and has a limited capacity to produce seeds (Caturla et al. 2000). A transfer method which allows gathering not only seeds produced by sexual reproduction, but also propagules, such as rhizomes produced by asexual reproduction, may allow the transfer of a more representative number of target species, especially for dominant perennials.

Soil transfer methods

Soil transfer, a more powerful, but also more destructive restoration method than hay transfer can be used to increase the dispersal of a large number of species from a regional species pool. The technique involves gathering soil from a donor site and depositing it on the restoration area. This method has proven successful for recreating species-rich plant communities in mesophilous grasslands, calcareous grasslands and heathlands (Pywell et al. 1995, Bullock 1998, Good et al. 1999, Box 2003, Vécrin & Muller 2003, Trueman et al. 2007, Eichberg et al. 2010), allowing the restoration of a plant community similar to that of the donor site. Although this technique requires destruction of the donor area, it is a very efficient means of transferring not only seeds from the seed bank, but also clonal material of species that reproduce primarily by vegetative means. Soil transfer is also expected to provide habitat similar to that of the reference site as it contains soil microorganisms from the donor site. It is also expected to lower nutrient content by mixing soil from the reference ecosystem with that from the degraded site. Several methods can be used: transfer of raked plant material and litter including few soil particles, soil spreading or turf transfer (Kiehl et al. 2010). Gathering soil in bulk is cheaper and easier and soil spreading has provided similar

results to whole turf transfer for restoring species richness and composition of herb-rich mesic grassland communities (Good et al. 1999).

The soil spreading method has been tested twice in the La Crau area with the steppe plant community as a donor site and hence as the reference area. The first experiment was conducted on *Former orchard* while the second experiment was conducted on the *Oil spill* (cf Table 4.3-1). The donor site for both experiments is a future quarry located less than 2 km from the restoration sites, which had the permission to exploit soil underneath the steppe plant community, thus causing its destruction (Fig. 4.3-1). The topsoil was gathered at the location of the future quarry, transported and transferred on *Former orchard* site. The transfer ratio was 1:3 (i.e. one gathered hectare transferred on three hectares) on *Former orchard* and 1:1 on *Oil spill*. The gathering of soil in bulk, transport, and spreading were carried out within a maximum of two days in early September, a few days before first significant autumn rains. Topsoil donor sites and restored sites were connected and grazed by sheep from Neolithic times until the establishment of cultivation in the La Crau area in the 1970's (Fabre 1997).

The *Former orchard* soil transfer experiment was implemented in 2009 on three 1 ha areas and was monitored for three years. Species richness recovered in the first year, and did not significantly change after that (Jaunatre et al. 2014). Although the restored vegetation included many target species, vegetation structure remained slightly different from that of the steppe. The target species abundances did not significantly change during the three years while the density of some species which are not dominant in the reference area increased with time. Grasses, such as *A. barbata* and *Bromus* spp., are becoming dominant and may represent a threat to the success of these restoration experiments. It was expected that the cover produced by these grasses would be managed by sheep grazing. Nevertheless, the results scarcely reached these expectations, most likely due to a combination of i) two years out of three with greater than average rainfall, ii) the presence of fertilizer remnants in the soil, and iii) difficulties encountered by sheep herders in increasing their flock size.

The *Oil spill* soil transfer was implemented after an oil pipeline broke in 2009, which led to a 5.5 ha terrestrial oil spill on the steppe vegetation (Fig. 4.3-1). The polluted soil was excavated and the resulting hole (5.5 ha x 40 cm average depth) was filled in 2010. Among the different fill materials tested, one was composed of topsoil from the donor site (i.e. as

described for the *Former orchard* soil transfer but at the 1:1 ratio). In order to prevent the transferred soil from being colonized by a dense cover of non-target grasses, a soil compaction treatment was also tested. Compaction was accomplished with a steamroller and was expected to lower root penetration efficiency and hence, growth of plant species. After two years of monitoring, numerous target species were successfully established on both types of soil transfer: compacted or not compacted. Surprisingly, in both soil transfers, the density of non-target species was very low and not significantly different. Although species richness and composition were not affected by compaction, target species abundance was significantly lowered. Compaction can, therefore, not be recommended for improving soil transfer success in this habitat.

Experiments at *Former orchard* and *Oil spill* showed that soil transfer accomplished by soil spreading allows rapid restoration of species richness and composition of a target community in a Mediterranean steppe vegetation context. These very positive results, even in the short-term, are in accordance with previous experiments in more temperate grasslands (Bullock 1998, Good et al. 1999, Box 2003, Trueman et al. 2007, Eichberg et al. 2010). Previous soil transfer experiments have shown that maintaining such high conservation value is not always possible due to unsuitable management practices (Bullock 1998, Box 2003). In the experiments presented, the future dynamic will depend at least partly on maintenance of the traditional management practice, grazing, which is known to maintain a relatively low density of the most competitive species and allow low competitive, stress-tolerant target species to persist (Gibson & Brown 1992, Stroh et al. 2002). Despite the high restoration success potential of soil transfer, a major drawback has to be highlighted: this method is based on the destruction of a portion of the reference area, and therefore cannot be a substitute for *in situ* conservation (McLean 2003).

Conclusions

The experiments conducted in the La Crau area to restore the steppe plant community show that the three methods described each have pros and cons (Fig. 4.3-3). The transplanting or sowing of structuring species allows restoring one attribute of the reference community, the presence and abundance of its dominant species. This method has, however, severe drawbacks: i) less dominant species are lacking, despite the fact that their presence is important to characterize the steppe plant community; ii) it is expensive and hardly achievable due to the low availability of the species

		Did the disturbance induce changes in abiotic conditions?	
		Almost not, low nutrient content	Yes, higher nutrient content
Which species transfer method was used?	Transplantation or seeding of dominant species	Not tested	Successful establishment of transferred species, no colonisation of other target species
	Hay transfer	Successful establishment of most of the target species but lack of some dominant target species	Establishment of few target species
	Soil transfer	Successful establishment of most of the target species but lack of some dominant target species	Successful establishment of most of the target species but lack of some dominant target species

Fig. 4.3-3: Summary scheme of results obtained depending on changes of abiotic conditions before restoration and on dispersal strengthening method used for restoration. Darker backgrounds within the table indicate more successful results.

in commerce; and iii) the sown species issued from cultivated varieties that could have been selected for specific traits such as productivity and, therefore, could have different functional attributes that could alter the expected dynamics of the restored community (Chapters 2.1 & 2.2). Hay transfer seems to be a promising method for restoring community composition. This method, however, does not allow recolonization of the dominant species (*B. retusum*) and has low efficiency when abiotic conditions have been severely modified by previous cultivation and nutrient availability is not reduced. On the contrary, the transfer of nutrient-poor soil from reference sites allows the near complete restoration of plant community composition and species-richness, although the community structure remains slightly different. Nevertheless this method requires the destruction of an intact reference ecosystem area and is, therefore, more a rescue method than a restoration method.

These three methods can serve different goals in Mediterranean steppe restoration depending on the degradation level, spatial scales, abiotic conditions and on the restoration objectives, which could be the rehabilitation of a steppe like habitat, the restoration of a *B. retusum* dominated community, or restoration of a species-rich plant community containing many annual target species. The question of time is very important. Some characteristics of the community may recover rapidly, while other characteristics may recover spontaneously only after long periods of time. Soil transfer allowed for restoration of 50% of the reference community composition within in a few years, which accelerated the recolonization of these species compared to what is observed in spontaneous succession. However this did not include *B. retusum*. As *B. retusum* does not disperse seeds, soil transfer would not be effective for establishing this species.

In the short-term, transplantation or sowing of structuring species allows restoration of only a low percentage of the community composition, but it does permit establishment of the dominant species. As it is known that previously cultivated areas spontaneously recover 50% of their species composition, but not *B. retusum*, in 40 years it could be expected that areas where structuring species have been sown or transplanted would exhibit good results after 40 years. A large percentage of target species composition would spontaneously recolonize and *B. retusum* would be present as the dominant species. Another way to optimize the efficiency of these restoration methods would be to combine them. In formerly cultivated areas, reducing fertility by topsoil removal enhances the effects of other restoration techniques, such as hay transfer (Kiehl et al. 2010, Jaunatre et al. 2013). Moreover, delaying hay transfer until nutrient availability has spontaneously decreased (Semelová et al. 2008) or after the dominant species have been reintroduced offers alternative means of optimizing restoration of the whole plant community.

References

- Allen, V. G., C. Batello, E. J. Berretta, J. Hodgson, M. Kothmann, X. Li, J. Melvor, J. Milne, C. Morris & A. Peeters. 2011. An international terminology for grazing lands and grazing animals. *Grass and Forage Science* 66: 2–28.
- Badan, O., J-P. Brun & G. O. Congès. 1995. Les bergeries romaines de la Crau d'Arles. Les origines de la transhumance en Provence. *Gallia* 52: 263–310.

- Bakker, J. P., P. Poschlod, R. J. Strykstra, R. M. Bekker & K. Thompson. 1996. Seed banks and seed dispersal: important topics in restoration ecology. *Acta Botanica Neerlandica* 45: 461–490.
- Bischoff, A. 2002. Dispersal and establishment of floodplain grassland species as limiting factors in restoration. *Biological Conservation* 104: 25–33.
- Blondel, J. & J. Aronson, eds. 1999. *Biology and wildlife of the Mediterranean region*. Oxford: Oxford University Press.
- Blondel, J., J. Aronson, J. Y. Bodiou & G. Boeuf, eds. 2010. *The Mediterranean region: biological diversity through time and space*. Oxford: Oxford University Press.
- Bonanomi, G., S. Caporaso & M. Allegranza. 2006. Short-term effects of nitrogen enrichment, litter removal and cutting on Mediterranean grassland. *Acta Oecologica* 30: 419–425.
- Bonn, S. & P. Poschlod, eds. 1998. *Ausbreitungsbiologie der Pflanzen Mitteleuropas*. Wiesbaden: Quelle & Meyer.
- Bork, E. W., N. E. West & J. W. Walker. 1998. Cover components on long-term seasonal sheep grazing treatments in three-tip sagebrush steppe. *Journal of Range Management* 51: 293–300.
- Bossuyt, B. & O. Honnay. 2008. Can the seed bank be used for ecological restoration? An overview of seed bank characteristics in European communities. *Journal of Vegetation Science* 19: 875–884.
- Box, J. 2003. Critical factors and evaluation criteria for habitat translocation. *Journal of Environmental Planning and Management* 46: 839.
- Buisson, E. 2005. *Ecological restoration of Mediterranean grasslands in Provence and California*. Thèse de Doctorat. Université Paul Cézanne, Marseille.
- Buisson, E. & T. Dutoit. 2006. Creation of the natural reserve of La Crau: Implications for the creation and management of protected areas. *Journal of Environmental Management* 80: 318–326.
- Buisson, E., T. Dutoit, F. C. Torre, C. Römermann & P. Poschlod. 2006. The implications of seed rain and seed bank patterns for plant succession at the edges of abandoned fields in Mediterranean landscapes. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 115: 6–14.
- Bullock, J. M. 1998. Community translocation in Britain: Setting objectives and measuring consequences. *Biological Conservation* 84: 199–214.
- Caturla, R. N., J. Raventós, R. Guàrdia & V. R. Vallejo. 2000. Early post-fire regeneration dynamics of *Brachypodium retusum* Pers. (Beauv.) in old fields of the Valencia region (eastern Spain). *Acta Oecologica* 21: 1–12.

- Elmarsdottir, A., A. L. Aradottir & M. J. Trlica. 2003. Microsite availability and establishment of native species on degraded and reclaimed sites. *Journal of Applied Ecology* 40: 815–823.
- Fabre, P. 1997. Hommes de la Crau, des coussouls aux alpages. L. Clergeaud & J. L. Giard, eds. Thoard, Fr.: Cheminements.
- Fadda, S. 2006. *Organisation des communautés de coléoptères terricoles en écosystème multi-perturbé: le cas des écosystèmes de pelouses sèches*. Thèse de Doctorat. Université Paul Cézanne, Marseille.
- Fischer S. F., P. Poschlod, & B. Beinlich. 1996 Experimental studies on the dispersal of plants and animals on sheep in calcareous grasslands. *Journal of Applied Ecology* 33: 1206–1222.
- Gaignard, P. 2003. *Changements d'usages agricoles et dynamique spatio-temporelle de la steppe de Crau depuis 1955, secteur de ZPS (Zone de Protection Spéciale)*. Rapport de DES. Université d'Aix-Marseille III.
- Gibson, C. W. D. & V. K. Brown. 1992. Grazing and vegetation change: deflected or modified succession? *Journal of Applied Ecology* 29: 120–131.
- Good, J. E. G., H. L. Wallace, P. A. Stevens & G. L. Radford. 1999. Translocation of herb-rich grassland from a site in Wales prior to opencast coal extraction. *Restoration Ecology* 7: 336–347.
- Graf, M. D. & L. Rochefort. 2008. Techniques for restoring fen vegetation on cut-away peatlands in North America. *Applied Vegetation Science* 11: 521–528.
- Groves, R. H. & F. Di Castri, eds. 1991. *Biogeography of mediterranean invasions*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Henry, F. 2005. *Succession secondaire post-pastorale dans un écosystème herbacé steppique: le cas de la plaine de la Crau (Bouches-du-Rhône, France)*. Rapport de Master 2. Université d'Aix-Marseille III.
- Henry, F, B. Talon & T. Dutoit. 2010. The age and history of the French Mediterranean steppe revisited by soil wood charcoal analysis. *The Holocene* 20: 25–34.
- Hillier, S. H., D. W. H. Walton & D. A. Wells, eds. 1990. *Calcareous grassland: ecology and management*. Huntingdon: Bluntisham Books.
- Hölzel, N., E. Buisson & T. Dutoit. 2012. Species introduction – a major topic in vegetation restoration. *Applied Vegetation Science* 15: 161–165.
- Hölzel, N. & A. Otte. 2003. Restoration of a species-rich flood meadow by topsoil removal and diaspore transfer with plant material. *Applied Vegetation Science* 6: 131–140.
- Hoshino, A., K. Tamura, H. Fujimaki, M. M. Asano, K. Ose & T. Higashi. 2009. Effects of crop abandonment and grazing exclusion on available

- soil water and other soil properties in a semi-arid Mongolian grassland. *Soil and Tillage Research* 105: 228–235.
- Le Houérou, H. N. 1995. Considérations biogéographiques sur les steppes arides du nord de l'Afrique. *Sécheresse* 6: 167–182.
- . 2001. Biogeography of the arid steppeland north of the Sahara. *Journal of Arid Environments* 48: 103–128.
- Hutchings, M. J. & K. D. Booth. 1996. Studies on the feasibility of re-creating chalk grassland vegetation on ex-arable land. I. The potential roles of the seed bank and the seed rain. *Journal of Applied Ecology* 33: 1171–1181.
- Hutchings, M. J. & A. J. A. Stewart. 2002. Calcareous grasslands. In: M. R. Perrow & A. J. Davy., eds. *Handbook of ecological restoration*, 419–442. Cambridge: Cambridge University Press.
- Jaunatre, R., E. Buisson & T. Dutoit. 2012. First-year results of a multi-treatment steppe restoration experiment in La Crau (Provence, France). *Plant Ecology and Evolution* 145: 13–23.
- Jaunatre, R., E. Buisson & T. Dutoit. 2013. Topsoil removal improves various restoration treatments of a Mediterranean steppe (La Crau, south-eastern France). *Applied Vegetation Science*. DOI: 10.1111/avsc.12063.
- Jaunatre, R., E. Buisson & T. Dutoit. 2014. Can ecological engineering restore Mediterranean rangeland after intensive cultivation? A large-scale experiment in southern France. *Ecological Engineering* 64: 202–212.
- Jongepierová, I., J. Mitchley & J. Tzanopoulos. 2007. A field experiment to recreate species rich hay meadows using regional seed mixtures. *Biological Conservation* 139: 297–305.
- Kiehl, K. 2010. Plant species introduction in ecological restoration: Possibilities and limitations. *Basic and Applied Ecology* 11: 281–284.
- Kiehl, K., A. Kirmer, T. W. Donath, L. Rasran & N. Hölzel. 2010. Species introduction in restoration projects—Evaluation of different techniques for the establishment of semi-natural grasslands in Central and Northwestern Europe. *Basic and Applied Ecology* 11: 285–299.
- Kiehl, K. & J. Pfadenhauer. 2007. Establishment and persistence of target species in newly created calcareous grasslands on former arable fields. *Plant Ecology* 189: 31–48.
- Kiehl, K. & C. Wagner. 2006. Effect of hay transfer on long-term establishment of vegetation and grasshoppers on former arable fields. *Restoration Ecology* 14: 157–166.
- Klimkowska, A., W. Kotowski, R. Van Diggelen, A. P. Grootjans, P. Dzierża & K. Brzezińska. 2010. Vegetation re-development after fen

- meadow restoration by topsoil removal and hay transfer. *Restoration Ecology* 18: 924–933.
- Marrs, R. H. 2002. Manipulating the chemical environment of the soil. In: M. R. Perrow & A. J. Davy, eds. *Handbook of ecological restoration*, 155–183. Cambridge: Cambridge University Press.
- McLean, I. F. G. 2003. *A habitats translocation policy for Britain*. Peterborough, UK: Joint Nature Conservation Committee.
- Médail, F. & P. Quézel. 1997. Hot-spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84: 112–127.
- Münzbergová, Z. & T. Herben. 2005. Seed, dispersal, microsite, habitat and recruitment limitation: identification of terms and concepts in studies of limitations. *Oecologia* 145: 1–8.
- Myers, N., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. Da Fonseca & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.
- Noy-Meir, I. 1995. Interactive effects of fire and grazing on structure and diversity of Mediterranean grasslands. *Journal of Vegetation Science* 6: 701–710.
- Orson, R. A. 1996. The importance of plant community structure on form and function of created wetland systems. In: C. Bathala, ed. *North American water and environment congress & destructive water, 1197–1202*. New York, USA: American Society of Civil Engineers.
- Padilla, F. M. & F. I. Pugnaire. 2006. The role of nurse plants in the restoration of degraded environments. *Frontiers in Ecology and the Environment* 4: 196–202.
- Pausas, J. G. & V. R. Vallejo. 1999. The role of fire in European Mediterranean ecosystems. In: E. Chuvieco, ed. *Remote sensing of large wildfires*, 3–16. Berlin: Springer-Verlag.
- Poschlod, P. & M. F. WallisDeVries. 2002. The historical and socioeconomic perspective of calcareous grasslands—lessons from the distant and recent past. *Biological Conservation* 104: 361–376.
- Puerto, A., M. Rico, M. D. Matias & J. A. Garcia. 1990. Variation in structure and diversity in Mediterranean grasslands related to trophic status and grazing intensity. *Journal of Vegetation Science* 1: 445–452.
- Pywell, R. F., N. R. Webb & P. D. Putwain. 1995. A comparison of techniques for restoring heathland on abandoned farmland.

Annexe 4: Dutoit, T., Buisson, E., Fadda, S., Henry, F., Coiffait-Gombault, C., Jaunatre, R., Alignan, J.F., Masson, S. & Bulot, A. (2013). The pseudo-steppe of La Crau (South-Eastern France): origin, management and restoration of a Mediterranean rangeland. pp. 287-301. In: Traba J. & Morales M. (eds.). “*Steppe Ecosystems: Biological Diversity, Management and Restoration*”. Nova Publishers, USA. 347pp.

*Chapter The Pseudo-Steppe of La Crau
(South-Eastern France): Origin, Management and Restoration of a Mediterranean Rangeland*

Thierry Dutoit, Elise Buisson, Sylvain Fadda,
Frédéric Henry, Clémentine Coiffait-Gombault,
Renaud Jaunatre, Jean-François Alignan, Solène Masson
and Adeline Bulot*

Mediterranean Institute of Biodiversity and Ecology.
UMR CNRS-IRD IMBE. Université d'Avignon. France

Abstract

The Crau plain in the Bouches-du-Rhône county, between the cities of Arles, Salon-de-Provence and Fos-sur-Mer in south-eastern France, is considered as a Mediterranean steppe in Western Europe. In a landscape covered by short herbaceous vegetation (*Coussouls* de Crau), this ecosystem displays an exceptional range of biodiversity with regard to vegetation and fauna. Resulting from particular climatic and soil conditions, but also from the centuries-old practice of itinerant sheep grazing, this original ecosystem is also considered such as the grazed pastures in Western Iberia as outposts in the northern part of the Mediterranean Basin of North African semi-arid steppe. Its area has been reduced by more than 80% as the result of military, industrial and agricultural intensive land-use since the 16th century. Since 2000, major research programs have been undertaken with the aim of, (i) identifying the impact of land-use changes (intensification of agricultural practices) on biodiversity; (ii) identifying the original and reference ecosystems; (iii) setting up ecological restoration operations. Our results based on field and lab experiments show that despite the progress made in ecological rehabilitation, the existing knowledge and techniques in ecological engineering are still inadequate to restore the integrity of the destroyed ecosystems.

Keywords: herbaceous plant communities, coleoptera, orthoptera, biodiversity, palaeoecology, plant ecology, entomology, ecological engineering

* Corresponding Author address: Mediterranean Institute of Biodiversity and Ecology. UMR CNRS-IRD IMBE. Université d'Avignon. Site Agroparc BP 61207. 84911 Avignon cedex 09, France, Email: thierry.dutoit@imbe.fr

Introduction

The Mediterranean basin has been identified as one of the 34 'hotspots' of biodiversity worldwide (Médail & Quézel, 1997). This high level of biodiversity may be correlated with a particular development of Mediterranean flora and fauna, but the diversity of the landscapes and ecosystems found there cannot be explained without reference to thousands of years of interaction with man. These interactions have been the cause of the creation and maintenance of highly original ecosystems (Grove & Racham, 2001) whose natural capital has been in some cases maintained to a greater or lesser extent by millennia of sustainable agricultural practices (Blondel *et al.*, 1996) but have also sometimes generated severe degradation in terms of loss of biodiversity and functions of some ecosystems.

This is particularly the case for the Plain of Crau in the county of the Bouches-du-Rhône in Provence, in the south-east of France (Buisson *et al.*, 2009). This plain, with a surface area of 600 km², forms an isosceles triangle whose side measure is 30 km, between the cities of Arles, Salon de Provence and Fos-sur-Mer. It is situated between the Alpilles to the north, the Berre Lagoon to the east, the Camargue wetlands to the west and the Mediterranean Sea to the south (Figure 1). The vegetation that characterizes the plain over more than 100 km², is a short herbaceous plant community, with numerous patches of bare soil, with neither trees nor bushes. Called *Coussouls* or *Coussous* (from lat. *cursorium*, the place one tramples underfoot), this vegetation is made up of more than 50% of annual species and may be related to the vegetation of the semi-arid steppe of North Africa, of which La Crau constitutes an isolated 'outpost' on the northern shore of the Mediterranean.

The Coussoul is composed of the unique phytosociological association *Asphodelletum fistulosii* (Devaux *et al.*, 1983) found nowhere else in Europe, and also holds a quite remarkable avifauna, including the little bustard (*Tetrax tetrax*), the pin-tailed sandgrouse (*Pterocles alchata*) and the lesser kestrel (*Falco naumanni*), as well as numerous insect species, some of them endemic such as *Prionotropis hystrix rhodanica* and *Acmaeoderella cyanepennis perroti*.

The biological spectrum of this vegetation is also related to the vegetal formations of the *Dehesas* in Spain (3 million hectares) and the *Montado* in Portugal (700,000 hectares), but with differences in floristic composition. The absence of trees throughout the centre of the plain, the maintenance of herbaceous vegetation leaving bare patches of soil and the ubiquity of sheep grazing over a period of at least 2000 years (Badan *et al.*, 1995) have favored the use of the term 'steppe' to refer to this vegetation (Devaux *et al.*, 1983). We prefer however the term 'pseudo-steppe' since in the phyto-geographical sense, the climatic conditions and in particular the average rainfall (545 mm/year) do not justify classifying this dry grassland vegetation with the semi-arid steppe of North Africa which is rather characterized by average rainfall values between 100 and 400 mm/year (Le Houérou, 1995).

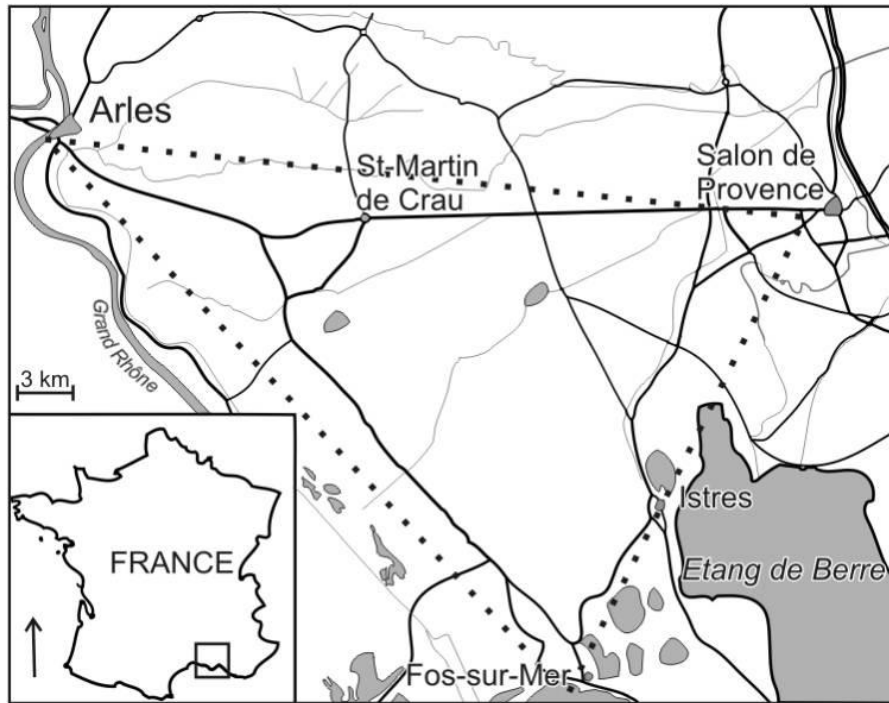


Figure 1. Localization of the La Crau plain in South-Eastern France.

It is only over the past thirty years or so that awareness has developed of the exceptional biodiversity of this area and of the threats that it has faced since the conversion from the 16th century of its steppe-type vegetation to hay meadows, vegetable crops, cereal production or orchards after the construction of submersion irrigation networks. To these changes in agricultural uses were added military and industrial installations favored by the low demography of the area. This development resulted in the destruction of over 80% of the pseudo-steppe in four centuries, with a marked acceleration in the 19th and 20th centuries (Buisson & Dutoit, 2006).

Although there has been research on Crau since the beginning of the 19th century, this was initially of naturalistic and agronomic character, and it is only since 1975 that there has been research applied to the conservation of species and ecosystems in parallel with the introduction of different levels of protection. Protection was established in 2001 (74 km²) to preserve the last remaining patches left over from the fragmentation of the pseudo-steppe. The first research program was undertaken to rehabilitate and/or restore this ecosystem in 2001, although the impact of the changes in land-use on the flora and fauna was the focus of research since the early 1980s (Devaux *et al.*, 1983).

Since 2001, the relict and degraded areas of pseudo-steppe in the Crau Plain have been a real workshop for research in restoration ecology. Ecological restoration was initially undertaken at experimental spatial and time scales. Nevertheless, only the acquisition of knowledge and of techniques in ecological engineering has made possible the application of operational ecological restoration. These operations concern several hundred hectares scientifically monitored over a period of at least 30 years (Dutoit *et al.*, 2013).

A survey of our results from experimental researches in community ecology (vegetation and insects), population ecology (plants) and palaeoecology (wood charcoal analyses) will be presented here on the basis of the three axes which have provided the basic structure of our research in this area over the past ten years: (1) identification of the human-generated degradation of biodiversity and the pseudo-steppe dynamics; (2) research on the original and reference ecosystem or ecosystems with a view to (3), designing operations aimed at rehabilitating certain functions of the ecosystem or orienting it towards a trajectory that will enable it in the shorter or longer term to recover the state prior to disturbances and its place in the traditional sheep breeding sector.

Methods

Since the beginning of the 21st century, our research has been carried out mainly on patches of pseudo-steppe and degraded areas nearby, but where the level of ecological disturbance had not been enough to cross thresholds of irreversibility, which can be defined as levels where ecosystems cannot be restored from their natural resilience, precluding the rehabilitation and/or restoration of the reference pre-existing ecosystem. If many such thresholds have been crossed, it becomes no longer viable from the biological or socio-economic points of view to return to an earlier ecosystem. In such case it may be preferable the neo-formation of a new ecosystem, also known as re-allocation (Muller *et al.*, 1998).

In order to select areas to apply restoration management, we have consulted aerial photographs taken since 1944. The maintenance of steppe patches can be confirmed on more than 10 000 ha of the 55 000 ha potentially existing originally, and for more than 1 500 ha of fallow land resulting from the abandonment of vegetable crops between the 1960s and the 1980s. These fallow areas were chosen for the restoration of the pseudo-steppe since they presented no major changes in the substratum (preservation of the layer of conglomerate composed of pebbles embedded in a matrix of calcium carbonate at an average depth of 40 cm) and were all to a greater or lesser extent implanted in a landscape matrix still including patches of pseudo-steppe that had not been destroyed by cultivation.

In order to measure the impacts of land abandonment on vegetation and coleoptera assemblages, we select 6 sites distributed at random throughout the plain, in which we performed soil analyses (particle sizes, major chemical elements, organic matter, pH, etc.), vegetation sampling (10 x 4m² quadrats sampled on a presence-absence basis in 25 40 x 40 cm sub-quadrats) and coleopterans catching with pit fall traps (3 pit fall traps arranged in a triangle with 1m sides at random in the fallow land with repetitions in three representative fallow areas; traps were sampled every 15 days from April to November). These experimental designs were undertaken to measure the impact of the early cultivation phases on the composition and richness of the plant communities and of the assemblages of terrestrial coleopterans compared to the non-destroyed neighbouring patches of pseudo-steppe. This monitoring procedure was also applied every meter on 10 m transects placed perpendicularly (3 transects replicated within each plot with a 10 m space between each on three plots of different fallow areas with

contrasting cultivation histories) at the edges of the fallow areas limiting with patches of pseudo-steppe in order to measure possible edge effects (Buisson & Dutoit, 2004).

There is a consensus on the choice of the pseudo-steppe as reference ecosystem, based on the strong socio-cultural references linked to migratory sheep raising (transhumance), the maintenance of the local breed (*Mérinos d'Arles*) and the tourism attraction of this area. Nevertheless, knowledge on the original ecosystem (prior to the first significant human impact) was insufficient as a basis for determining whether the restoration should be passive (*via* natural reconstitution or resilience) or whether it should be active (with human intervention, Etienne *et al.*, 1998 ; Molinier & Tallon, 1950).

In order to identify the origin of the ecosystem at a scale compatible with the existence of steppe vegetation, we have chosen to sample wood carbon contained in the soil (Thinon, 1992). In order to improve our chances of finding carbon in soils that had experienced at least 2000 years of sheep grazing, major groundwater and wind induced erosion, we carried out sampling within the undisturbed steppe vegetation and also beneath the foundations of old sheepfolds . In all, 14 pits were dug, enabling the sampling of 60 layers of soil between 0 and 40 cm depth, or a total of 900 litres of soil sampled, from which were extracted 597 wood carbon samples, of which only 23 could be identified and dated (Henry *et al.*, 2010).

Restoration operations have consisted in forcing of the processes of dispersal by transfer of hay in exclosures (areas fenced off to prevent sheep grazing) installed in patches of pseudo-steppe without destruction in order to maximise the harvesting of seeds produced (Coiffait *et al.*, 2011b). Because of the presence at the surface of large stones, this harvesting of hay is carried out by aspiration in undisturbed patches of the reference steppe and the hay thus harvested is spread over the soil at a rate of 700g/m² in quadrats (3 repetitions of 4 pseudo-repetitions of 40 x 40 cm) in presence or absence of grazing. As control, this operation was also carried out in the pseudo-steppe vegetation. In all, there were thus 48 quadrats with spreading of hay and 48 quadrats without spreading of hay that were monitored over three years (2007 – 2009). Since the seeds of the perennial species which dominate the steppe, namely the ramose false brome (*Brachypodium retusum*) and the common thyme (*Thymus vulgaris*), are very rarely produced and are thus scarcely represented in the hay, they were directly sown mixed with common commercial seeds of subterranean clover (*Trifolium subterraneum*). The mixture is composed of 73% of ramose false brome (47kg/ha), 20% of subterranean clover (13 kg/ha) and 7% of Common thyme (4 kg/ha). The hypothesis behind sowing these species is that they will produce a drop in the density of the weeds and an increase in safe sites favourable for the establishment of species typical of the pseudo-steppe when this mixture is grazed.

Twelve repetitions of 12.5 x 25 m were sown with this mixture, half of them accessible for grazing and the others not accessible. Monitoring was carried out over a period of two years (2008 – 2009) using 3 quadrat (1m²) pseudo-replicas in each treatment, 72 quadrats per year. In addition, comparisons were made with three quadrats in the control pseudo-steppe and the three quadrats in the fallow area without treatment but with traditional grazing for these last two lots (for more details on the experimental design, see Coiffait-Gombault *et al.*, 2012b).

In order to measure the effects of restoration treatments on Coleoptera assemblages, small areas (1,5 x 3m) randomly distributed were again covered with stones with or without the exclusion of grazing in order to assess their importance with regard to the distribution of Coleoptera in a fallow area (12 repetitions of each treatment). This protocol was also carried out in the relictual pseudo-steppe in order to measure the impact of withdrawal of the stones and of grazing (also 12 repetitions of each treatment). Ninety six quadrats were monitored over four years after finishing the rehabilitation protocol in order to avoid the negative impact of the disturbance due to its application. The Coleoptera were trapped using the same method as that described for measuring the impact of degradations.

Finally, as part of a conservation operation following the construction of a logistical platform, the steppe vegetation and its soil were removed from the surface layer to a depth of between 10 and 20 cm, depending on the technical capacity of the mechanical digger. In spring 2009, the soil was transported and spread the same day onto the soil of fallow area resulting from the uprooting of an intensive orchard area abandoned in 2006. In all, 3000 m² were removed and transferred from the donor site and spread over 9 000 m² on the receiver site.

In all, 600 m³ of soil were spread, on a ratio of one to three, which corresponds to what is generally recommended for the restoration of dry grassland by soil spreading (Kiehl *et al.*, 2010). Monitoring has been done one year after soil spreading on three pseudo-replica quadrats of 4m² sampled on a presence-absence basis with attribution of a cover coefficient for each species. They were compared with 18 quadrats positioned in the control pseudo-steppe and 18 in the fallow area without soil spreading.

All the data were analysed using ANOVA tests after verification of the standardisation of the data (Shapiro-Wilk test) and the homogeneity of variance (Levene test, calculation statistics version R 3.0.1.2005). Different post-hoc tests were used as *a posteriori* tests. More details on data analyses can be found in our references cited in the bibliography.

Results

Our results showed that even 30 years after its cessation, cultivation still has a significant impact on the plant species composition, structure and specific richness in plant species of fallow areas compared to the pseudo-steppe (Figure 2). In particular, a significant drop in the specific richness of fallow areas was apparent, whether they were cultivated for the production of melons or of cereals, along with a drastic change in floristic composition, which became commoner than the heterogeneous composition of the steppe vegetation in relation with a north-south climatic gradient (Römermann *et al.*, 2005). The most typical species of the pseudo-steppe (dominant species and characteristic species) disappeared in favour of a flora composed of weeds from cultivated areas (Römermann *et al.*, 2005). This strong persistence of the effects of cultivation was more marked when the cultivation phase was long, but the date of abandonment of the fallow land had little influence on the current floristic composition (Römermann *et al.*, 2005). This impact on the vegetation may also be explained by changes in the soil chemistry of the

formerly cultivated areas which still possessed levels of total phosphorus, potassium, calcium and calcium carbonate contents that were significantly higher than in the soils of the pseudo-steppe (Römermann *et al.*, 2005). These changes should be related to the impact of cultivation practices, including the presence of relictual fertilization (phosphorus, potassium in particular) and the raising of carbonates resulting from deep ploughing, that also caused an increase in pH, admittedly of only 0.5 of a unit, but which was enough to transform the pH of the pseudo-steppe from slight acidity to neutrality.

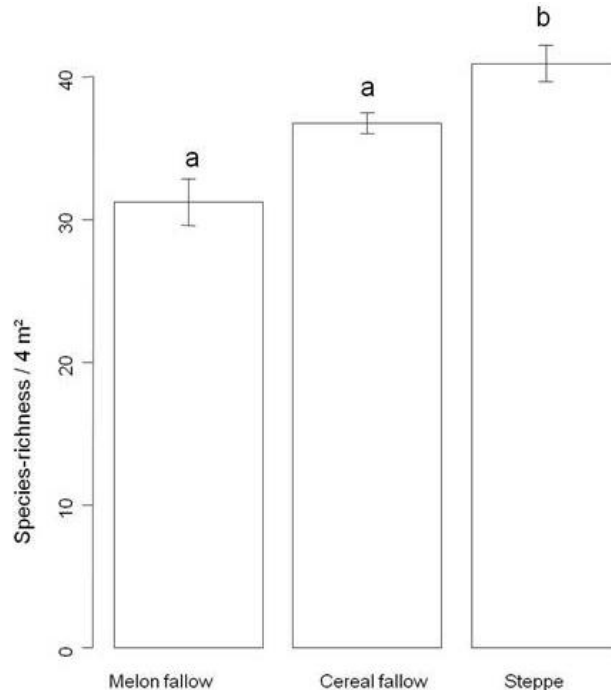


Figure 2. Species richness (mean \pm SE) of the original steppe area, cereal fallow and melons fallow in the La Crau plain, South-Eastern France. Different letters for ANOVAs with subsequent post-hoc LSD tests (least significant difference) indicate a significant difference for $p < 0.001$ ($N = 60$) (Römermann *et al.* 2005, modified).

The sampling of the seed rain and the permanent and transitory seed bank of the soil showed that the seeds of species typical of the pseudo-steppe were rarely wind-dispersed and are of poor viability in the soil, in contrast with the results obtained for the seeds of weed species (Buisson *et al.*, 2006).

For the Coleoptera, the results obtained were quite the opposite, showing greater richness of Coleoptera in the old abandoned cultivated areas compared to the relictual pseudo-steppe (Fadda *et al.*, 2007 ; Fadda *et al.*, 2008b).

For the edges, we did not record any significant increase in plant species richness and terrestrial coleopterans assemblages along the transect in relation with the distance from the edge (Buisson & Dutoit, 2004; Fadda *et al.*, 2008a). For the vegetation, an edge effect was only apparent in the first three meters of the transect.

Considering the origin of the steppe, of the 23 carbon samples identified, none corresponded clearly to the dominant species of old forests (> 200 years) under Mediterranean climate (*Quercus ilex*) in situations without trace of human occupation. At the end of the Neolithic Age, an increase in the frequency of fires may be noted, probably correlated with more widespread human exploitation (Figure 3).

Considering restoration experiments, from the first year of monitoring, our results showed a significant increase in the species richness of the quadrats (Coiffait *et al.*, 2011a) where the hay was spread. A change in composition was also measured that allowed the establishment of numerous pseudo-steppe species (Figure 4).

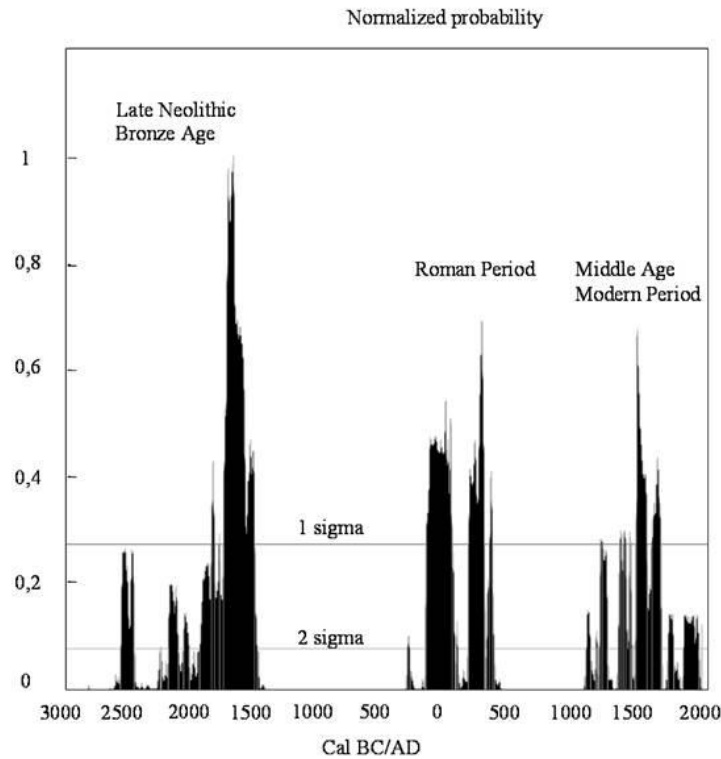


Figure 3. Temporal distribution of ¹⁴C dates for the 23 charcoals sampled in the steppe of La Crau, South-Eastern France (Henry *et al.* 2010, modified).

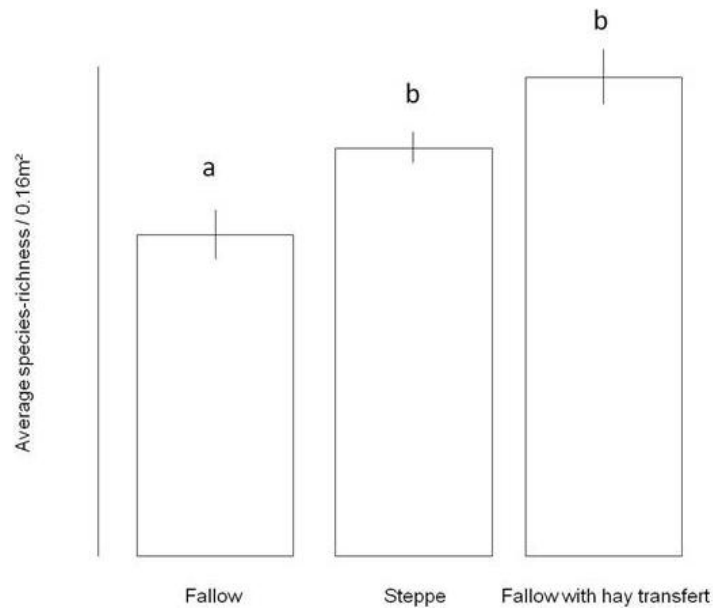


Figure 4. Species-richness (mean \pm SE) one year after steppe hay transfer in a former cultivated land for its restoration in the La Crau plain, South-Eastern France. Different letters for ANOVAs with Bonferroni tests indicate a significant difference for $p < 0.001$ ($N = 12$) (Coiffait *et al.*, 2012b, modified).

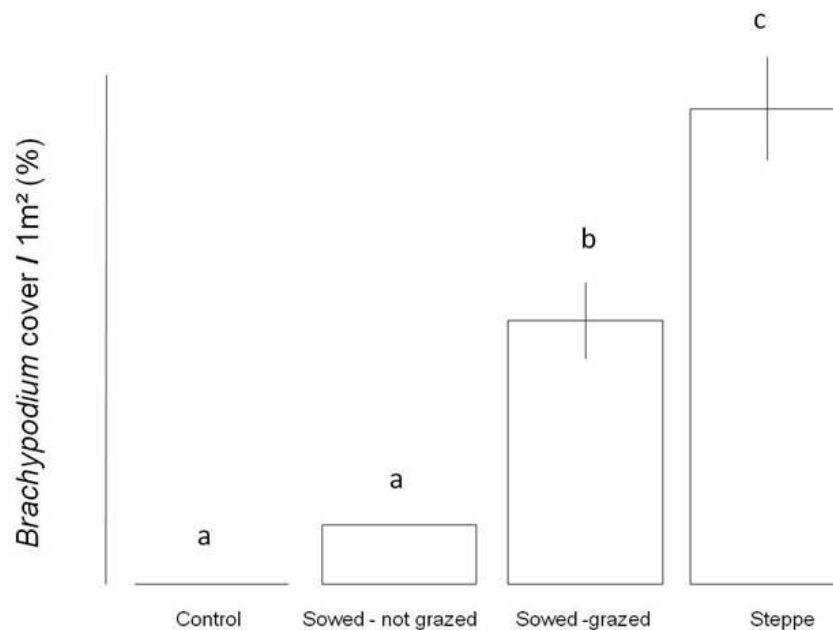


Figure 5. Cover of *Brachypodium retusum* (mean \pm SE) cover one year after it has been sowing in a former cultivated area for its restoration in the La Crau plain, South-Eastern France. Different letters for ANOVAs with Bonferroni tests indicate a significant difference for $p < 0.001$ ($N = 30$) (Coiffait *et al.*, 2012b, modified).

However, if these results were particularly encouraging for the annual species, this was not the case for the dominant perennial species (ramose false brome and common tyme in particular) which were not transplanted by this method because of insufficient production of seeds accessible at the time of collection by the aspirators (beginning of July 2006 during the peak fructification of the steppe species).

Consequently, these two dominant species were sown mixed with the subterranean clover. From 2008 to 2009, our results showed that these sown species were indeed implanted in the fallow areas. In addition, grazing had a favourable impact on ramose false brome that covered more soil compared to the non-grazed exclosures (Figure 5). The action of mixture sowing did not have any significant effect of on the richness of species present spontaneously in fallow land as compared with the ploughed area without sowing treatment. However, a significant increase in plant species richness was recorded when mixture sown areas were compared to control areas with grazing only.

With regard to the composition, the areas grazed and sown with the mixture differed from other treatments. In particular, they presented plants from the family Poaceae also present in the pseudo-steppe (*Lolium perenne*, *Catapodium rigidum*, *Bromus hordeaceus*, *Taenatherum caput-medusae*), which thus proved capable of spontaneously colonising these areas under the influence of structuring sown species and of grazing (Coiffait et al., 2012b).

In relation to coleopterans, the reestablishment of the stone cover and the exclusion of grazing in the fallow land resulted in a significant increase in the density of the Coleoptera especially *Asida sericea* (Figure 6) but not in their overall species-richness (Blight *et al.*, 2011; Fadda *et al.*, 2008a).

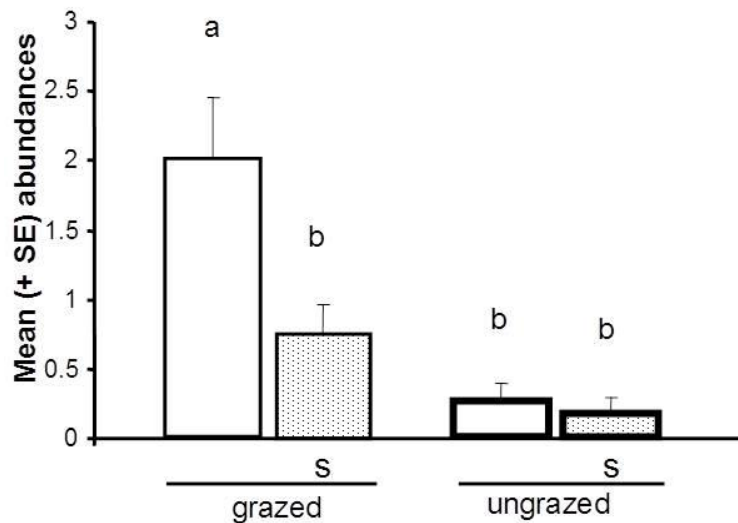


Figure 6. Abundance of *Asida sericea* (mean ± SE) on formerly-cultivated field subplots, ungrazed (thick line) and stone (dash area). Different letters for ANOVAS with subsequent Tukey post-hoc test indicate a significant difference for $p < 0.001$ (N=12) (Blight *et al.*, 2011, modified).

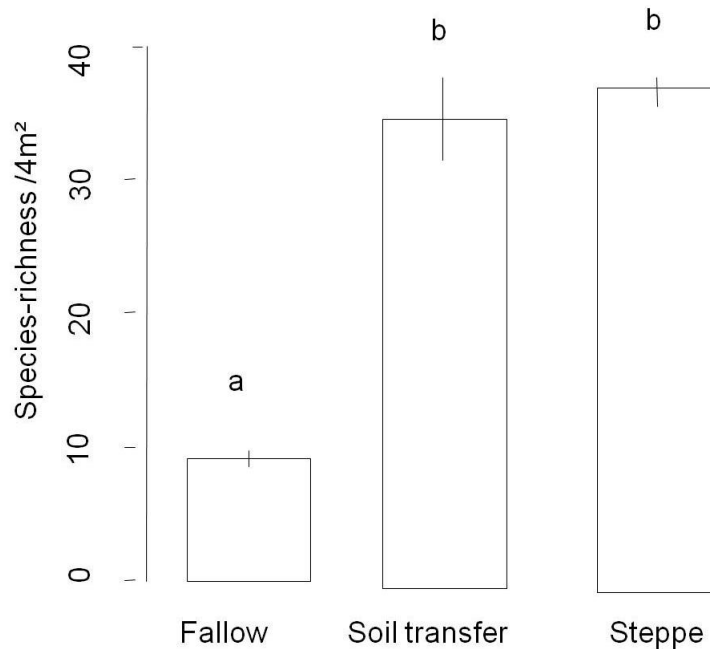


Figure 7. Plant species-richness (mean \pm SE) one year after soil spreading of the soil from the original steppe into a former cultivated fallow for its restoration in the La Crau plain, South-Eastern France. Different letters for ANOVAS with subsequent Tukey post-hoc test indicate a significant difference for $p < 0.001$ ($N = 18$) (Jaunatre *et al.*, 2012, modified).

For the transfer of soil carried out in the spring of 2009 (Jaunatre *et al.*, 2012; Jaunatre *et al.*, 2013; Jaunatre *et al.*, *in press a*), the measurements taken a year later showed a significant increase in species richness compared to the control fallow land without spreading and also in relation to the control steppe (Figure 7).

Discussion

Our results have evidenced the undeniable impact of the phases of cultivation on plant species-richness and composition of the steppe vegetation. Thirty years after the abandonment of cultivation and even after the immediate reintroduction of grazing, the vegetation of the formerly cultivated areas remains poor and less heterogeneous than that of the pseudo-steppe. The assemblages of terrestrial coleopterans show the inverse result for the species richness. These results show the interest of monitoring several biodiversity compartments with a view to achieving a better assessment of the responses of living organisms to disturbances.

These results also show the very low natural resilience of the steppe vegetation after a phase of cultivation. Even if such a phase resulted in an increase in the fertility of the soil, that is still apparent 30 years after the abandonment of cultivation (phosphorus and potassium content, in particular). This low resilience might also be explained by the strategies of the species that make up the steppe vegetation (Saatkamp *et al.*, 2010). We would offer here the hypothesis that it is the tolerant species, adapted to stress (water deficiency) and to recurrent intermediate disturbances (itinerant sheep grazing) but are

poorly productive that have seeds that remain poorly viable in the soil and are little transported by the wind. This hypothesis however would now need to be tested by experiments involving burial and aerial traps for seeds. The presence of a matrix of pseudo-steppe vegetation and / or patches of relictual pseudo-steppe is of little use for speeding up regeneration of the steppe vegetation and of its entomofauna. It would require at least several tens of years before even half of the steppe species colonise solely the edges of the formerly cultivated areas (Buisson & Dutoit 2004 ; Buisson *et al.*, 2006).

The very low resilience of certain plant communities has however already been identified for the forest communities (Plue *et al.*, 2008) and also for the pseudo-steppe of Crau where the impact of sheep breeding practices during antiquity and in particular the concentration of flocks in sheep folds is still perceptible in the chemical composition of the soil, its seed bank and the vegetation that grows 1500 to 2000 years after they were abandoned (Henry *et al.*, 2010). Our investigations in paleoecology confirm the ancient origin of the herbaceous vegetation of the pseudo-steppe type which may date back at least to 5 000 to 6 000 years BP and result from the exploitation of a Matorral type of vegetation at the end of the Neolithic period. This very early origin exacerbates the fragility of the vegetation with regard to any disturbance other than that with which it has 'co-evolved' (sheep grazing for at least 2 000 years). Although the physiognomy of this vegetation has remained herbaceous over the centuries, its composition has probably changed, enabling the constitution of ancient meadows or mature meadows. These are composed of numerous annual species but dominated by a perennial, the ramose false brome which here takes the place in the dry grassland Mediterranean ecosystem of the trees known as 'climax' (*Q. ilex*, *Q. pubescens*) for the Mediterranean forest ecosystems (Gaillard *et al.*, 2009).

Like many semi-arid steppe areas in North Africa (Le Houérou, 1995), the vegetation of the plain of Crau is not an original or 'climax' ecosystem, which explains even further its low natural resilience which would not lead spontaneously to the chosen reference ecosystem. This corresponds rather to an old agro-ecosystem which has evolved under the recurrence of sustainable traditional grazing practices, since the current grazing pressure is comparable to that practised by Roman shepherds two thousand years ago (Badan & Brun, 1995). The Crau pseudo-steppe also constitutes a culture-based ecosystem in the sense of Clewell & Aronson (2013) which therefore requires the application of active rehabilitation and / or restoration operations in order to set it on a trajectory that would enable it to recover its former ecological integrity.

The main thresholds of irreversibility for the natural resilience of the steppe vegetation after phases of cultivation consist in the destruction of this vegetation over large areas (1 500 ha in all), an increase in the chemical fertility of the plots but also the colonisation of these areas by numerous common species of weeds. The restoration of the pseudo-steppe vegetation, or of the Coleoptera assemblages, would therefore require the forcing of the process of dispersion in order to bring the seeds and the clones of the steppe species to the formerly cultivated areas (transfer of hay or soil), and also the limitation of the cover of weed species from formerly cultivated areas by the sowing of covering species. The transfer of soil and the transfer of hay give very good results for the restoration of part of the plant composition typical of the pseudo-steppe, in particular for the annual species. These results have however been

obtained over a very short term and regular monitoring surveys should now be carried out at least every five years.

The transfer of soil is not however in itself a restoration operation since the pseudo-steppe of the donor site is destroyed. What remains to be studied is the possibility of transferring slabs or mats of different sizes and spacing in order to test their role as 'graft' or 'nucleus' via spontaneous colonisation starting from the edges of the transplanted mats. But it is also necessary to study the 'scarring' at the places where the mats of pseudo-steppe have been removed. This technique is based on the results of the reintroduction of small areas covered with stones at sites that had initially been cleared of stones for cultivation, and which showed an increase in the density of Coleoptera four years after the application of the experimental protocol. It is thus possible to envisage restoration operations on small areas that are spatially functional in order to reduce the cost of this kind of operation.

The operations of soil transfer or of mats of steppe of course involve a high cost, and should only be envisaged for the restoration of small areas of an agro-ecosystem of high patrimonial value, as in the case of a technological accident following the leakage of an oil pipeline, for example. Such operations cannot of course be transposed to the restoration of large areas of the semi-arid steppe of North Africa (Aronson *et al.*, 1993; Pontannier *et al.*, 1995) where as shown by our results, it would be preferable to the transfer of hay from non-degraded areas and the sowing of covering species, if possible the perennial species dominating the non-degraded steppe. Finally, it appears to be the combination of these two practices that would offer the best results, both with regard to rehabilitation of part of the specific composition of the steppe vegetation (in particular annuals) but also to its structuring through the implantation of the dominant species (Coiffait *et al.*, 2012b), and would be capable of creating micro-sites favourable for the establishment of other steppe species via their transport in the fleece or the digestive system of domestic herbivores used for itinerant grazing. Our first results from the sowing of *Brachypodium retusum* confirm the feasibility of its implantation by mechanical means but its impact in terms of facilitating the colonisation of fallow lands by species typical of the pseudo-steppe seems to require several years. In order to speed up this process, operations of soil removal and transfer (to reduce the fertility of the soil and the stock of seeds of weed species) of the soil were carried out in 2009 as well as hay transfer operations where the *Brachypodium* sown seemed to be already well implanted (Jaunatre *et al.*, 2012; Jaunatre *et al.*, *in press b*). Our first results show the undeniable impact of soil transfer on the reduction of the number of weed species issuing from the ground seed bank (e.g. *Chenopodium album*) but the role of the *Brachypodium* facilitating the implantation of seeds transferred by the hay still requires confirmation in the medium term (Coiffait *et al.*, 2011a; Coiffait *et al.*, 2011b).

Conclusion

Ten years of research on the pseudo-steppe vegetation of the plain of Crau have enabled us to identify the major impact of its degradation by phases of cultivation and the origin of the development of this ecosystem and provided encouraging results in terms of restoration. In addition to numerous

complementary studies, notably on the role of landscape aspects in the spontaneous dynamic of the vegetation of formerly cultivated areas and of the combination of certain restoration practices (sowing of dominant perennial species, then spreading of hay several years later), the validation of these results will require the long term monitoring of the protocols tested and their transfer during operations of rehabilitation or restoration over large areas with the necessary ecological engineering methods adapted to use in developing countries. This should be the role of a workshop site established in the plain of Crau, a real experimental platform for research on the rehabilitation and restoration of Mediterranean steppe rangelands.

Acknowledgments

We would particularly like to thank the CEN-PACA and the *Réserve Naturelle des Coussouls de la Crau* for granting permission for access to the study sites, and the shepherds, sheep breeders and private landowners. We are also grateful to the companies GRT/GAZ, SAGESS, Gagneraud Constructions and CDC-Biodiversité for funding part of the experiments; the *Région Provence-Alpes-Côte-d'Azur* for funding PhD theses. Our work has also been carried out within the framework of various programmes of the *Ministère de l'Ecologie, de l'Energie, du Développement Durable et de la Mer*, the programme *Espaces Protégés* (2001-2006) and the *Institut d'Ecologie et Environnement du CNRS (INEE)*, programmes *Ingéco* (2007-2009) et *Ingécotech* (2010-2011). Thanks to Mr. Paul Michael for correcting the English version.

References

- Aronson, J., Floret, C., Le Floc'h, E., Ovalle, C., Pontanier, R. (1993). Restoration and rehabilitation of degraded ecosystems of arid and semiarid lands. I. A view of the south. *Restoration Ecology* 1, 8-17.
- Badan, O., Brun, J.P., Congès, G. (1995). Les bergeries romaines de La Crau d'Arles. *Gallia* 52, 263-310.
- Blight, O., Fadda, S., Orgeas, J., Ponel, P., Buisson, E., Dutoit, T. (2011) Using stone cover patches and grazing exclusion to restore ground-active beetle communities in a pseudo-steppe. *Journal of Insect Conservation* 15, 561-572.
- Blondel, J., Aronson, J., Bodiou, J.Y., Bœuf, G. (2010). *The Mediterranean Basin - Biological Diversity in Space and Time*. Oxford University Press, Oxford.
- Buisson, E., Dutoit, T., Roche, P., Duhem, C., Campagne, P., Tatoni, T. (2009). A cultural landscape of southern France: the plain of La Crau. In : Krzywinski K, O'Connell M., Küster H. (eds.), *Cultural landscapes in Europe: Fields of Demeter, Haunts of Pan*. Aschenbeck Media, Bremen, Germany.
- Buisson, E., Dutoit, T., Torre, F., Römermann, C., Poschlod, P. (2006). The implications of seed rain and seed bank patterns for plant succession at the edges of abandoned fields in Mediterranean landscapes. *Agriculture Ecosystems and Environment* 115, 6-14.
- Buisson, E., Dutoit, T. (2004). Colonisation by native species of abandoned farmland adjacent to a remnant patch of Mediterranean steppe. *Plant Ecology* 174, 371-384.
- Buisson, E., Dutoit, T. (2006). Creation of the Natural Reserve of La Crau: implications for the creation and management of protected areas. *Journal of Environmental Management* 80, 318-326.

- Clewell, A.F., Aronson, J. (2013). *Ecological Restoration. Principles, Values, and Structure of an Emerging Profession*. Second Edition. Island Press, Washington, USA.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, E., Dutoit, T. (2011a) Hay transfer and sowing structuring species: two complementary ecological engineering techniques to restore dry grassland communities. *Procedia Environmental Sciences* 9, 33-39.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, C., Dutoit, T. (2011b). Hay transfer promotes establishment of Mediterranean steppe vegetation on soils disturbed by pipeline construction. *Restoration Ecology* 19, 214-222.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, E., Dutoit, T. (2012a). Are old Mediterranean grasslands resilient to human disturbances? *Acta Oecologica* 43, 86-94.
- Coiffait-Gombault, C., Buisson, E., Dutoit, T. (2012b). Using a two-phase sowing approach in restoration – sowing foundation species to restore and subordinate species to evaluate restoration success. *Applied Vegetation Science* 15, 277-289.
- Devaux, J.P., Archiloque, A., Borel, L., Bourrelly, M., Louis Palluel, J. (1983). Notice de la carte phytosociologique de la Crau. *Biol. Ecol. Med.* 10, 5-54.
- Dutoit T. Jaunatre R., Buisson E. (2013). Mediterranean steppe restoration in France. In: Clewell A., Aronson J. (eds.) *Ecological Restoration Principles, Values, and Structure of an Emerging Profession*, pp. 60-64. Second Edition. Island Press, Washington.
- Etienne, M., Aronson, J., Le Floc'h, E. (1998). Abandoned lands and land use conflicts in Southern France. *Ecological Studies* 136, 127-140.
- Fadda, S., Henry, F., Orgeas, J., Ponel, P., Buisson, E., Dutoit, T. (2008a). Consequences of the cessation of 3000 years of grazing on dry Mediterranean grassland ground-active beetle communities. *Comptes Rendus de Biologie* 331, 532-546.
- Fadda, S., Orgeas, J., Ponel, P., Buisson, E., Dutoit, T. (2008b). Conservation of grassland patches failed to enhance colonization of ground-active beetles on formerly cultivated plots. *Environmental Conservation* 35, 109-116.
- Fadda, S., Orgeas, J., Ponel, P., Buisson, E., Dutoit, T. (2007). Past cultivation as a driving factor for the organisation of dry grassland beetle communities (plain of la Crau, Bouches-du-Rhône, France). *Environmental Conservation* 34, 132-139.
- Gaillard, M.J., Dutoit, T., Hjelle, K., Koff, T., O'Connell, M. (2009). European cultural landscape - insights into origins and development. In: Krzywinski K, O'Connell M, Küster H, (eds.), *Cultural landscapes in Europe: Fields of Demeter, Haunts of Pan*. Aschenbeck Media, Bremen.
- Grove, A.T., Rackham, O. (2001). *The nature of Mediterranean Europe: An Ecological History*. Yale University Press, Yale.
- Henry, F., Talon, B., Dutoit, T. (2010). The age and history of the French Mediterranean steppe vegetation revisited by soil wood charcoal analysis. *The Holocene* 20, 25-34.
- Jaunatre, R., Buisson, E., Dutoit, T. (2012). First-year results of a multi-treatment steppe restoration experiment in La Crau (Provence, France). *Plant Ecology and Evolution* 145, 13-23.
- Jaunatre, R. Buisson, E., Muller, I. Morlon, H., Mesléard, F, Dutoit T. (2013). New synthetic indicators to assess community resilience and restoration success. *Ecological Indicators* 29, 468-477.
- Jaunatre, R. Buisson, E., Dutoit, T., Using ecological engineering to restore an abandoned intensive cultivation in a Mediterranean rangeland. *Ecological Engineering*, in press a.
- Jaunatre, R. Buisson, E., Dutoit, T., Topsoil removal improves various restoration treatments of a dry Mediterranean grassland (La Crau , south-eastern France). *Applied Vegetation Science*, in press b.
- Kiehl, K., Kirmer, A., Donath, T.W., Rasran, L., Hölzel, N. (2010). Species introduction in restoration projects – Evaluation of different techniques for the establishment of semi-natural grasslands in Central and Northwestern Europe. *Basic and Applied Ecology* 11, 285-299.

- Le Houérou, H.N. (1995). Considérations biogéographiques sur les steppes arides du nord de l'Afrique. *Sécheresse* 6, 167-182.
- Médail, F., Quézel, P. (1997). Hot-Spots analysis for conservation of plant biodiversity in the Mediterranean Basin. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84, 112-127.
- Molinier, R., Tallon, G. (1950). La végétation de La Crau (Basse-Provence). *Revue Générale de Botanique* 56, 1-111.
- Muller, S., Dutoit, T., Alard, D., Grevilliot, F. (1998). Restoration and Rehabilitation of species-rich grassland ecosystems in France: a review. *Restoration Ecology* 6, 94-101.
- Plue, J., Hermy, M., Verheyen, K., Thuillier, P., Saguez, R., Decocq, G. (2008). Persistent changes in forest vegetation and seed bank 1,600 years after human occupation. *Landscape Ecology* 23, 673-688.
- Pontanier, R., M'Hiri, A., Akrimi, N., Aronson, J., Le Floch, E. (1995). *L'homme peut-il refaire ce qu'il a défait ?* John Libbey Eurotext, Paris, France.
- Römermann, C., Dutoit, T., Poschlod, P., Buisson, E. (2005). Influence of former cultivation on the unique Mediterranean steppe of France and consequences for conservation management. *Biological Conservation* 121, 21-33.
- Saatkamp, A., Römermann, C., Dutoit T. (2010). Plant functional traits show non-linear response to grazing. *Folia Geobotanica* 45, 239-252.
- Thinon, M. (1992). *L'analyse pédoanthracologique. Aspects Méthodologiques et Applications*. Thèse de Doctorat ès-Sciences, Université Paul Cézanne, Marseille.

Annexe 5: Dutoit T. & Bulot A. (2014). Restauration écologique après un accident technologique: de l'ingénierie civile à l'ingénierie écologique. pp. 171-172. In: Gauthier-Clerc, M., Mesléard, F. & Blondel, J. (eds). « Sciences de la Conservation ». De Boeck éditions, Paris, 346pp.

Encadré 3.1.

Restauration écologique après un accident technologique : de l'ingénierie civile à l'ingénierie écologique

T. Dutoit et A. Bulot

Le 07 août 2009, la rupture d'une canalisation enterrée a entraîné le déversement de 4 700 m³ de pétrole brut au cœur de la Réserve Naturelle des coussouls de Crau (Bouches-du-Rhône, France). Du fait de la chaleur estivale méditerranéenne et malgré la mise en place d'opérations de pompage en surface, la majorité des hydrocarbures se sont infiltrés très rapidement dans le sol et le sous-sol (conglomérat de galets indurés à partir de 40 cm de profondeur) atteignant la nappe phréatique. La pollution résiduelle des sols par le pétrole (10 % du volume dans les quinze premiers centimètres et 3 % entre 15 et 40 cm)

a alors entraîné l'excavation de 72 000 tonnes de terres polluées sur une surface d'environ 5 ha. Ces sols ont été transférés sur le site de la décharge de Bellegarde (Gard) à 30 km du lieu de l'accident où ils ont été en partie recyclés en remblais dans la décharge même (80 % du total excavé) ou orienté vers un enfouissement en décharge de classe 1 (pour les déchets industriels spéciaux présentant un caractère dangereux pour le milieu naturel ou les êtres vivants) également sur ce site (20 % du total excavé). Cette solution a été retenue car même après traitement biologique des sols sur le lieu de l'accident ou en alvéoles (piles

biologiques) sur le site de la décharge, la quantité résiduelle de pétrole dans le sol aurait encore dépassé les normes admises pour le retour du pâturage ovin. En conséquence, cet accident a créé un espace d'une superficie de 5 ha totalement dénudé au sein de la végétation de type pseudo-steppe de la plaine de Crau « les coussouls », habitat d'intérêt communautaire prioritaire (Dutoit, 2009, 2010, 2011).

Les objectifs de la restauration écologique de la biodiversité de ce site ont donc été de reconstituer au mieux, avec les connaissances scientifiques du moment, la composition et la richesse de cette formation végétale et de son entomofaune associée sachant par ailleurs ses faibles potentialités de résilience naturelle. Cette faible résilience de la végétation des coussouls de Crau après un remaniement du sol avait d'ailleurs déjà été mesurée précédemment suite à la mise en place de canalisations enterrées (Coiffait-Gombault *et al.*, 2012). Dans l'impossibilité de laisser évoluer la végétation spontanément à partir du substrat géologique mis à nu (du fait de la présence résiduelle de tâches d'hydrocarbures après chaque précipitation, le conglomérat agissant comme une éponge vis-à-vis des hydrocarbures résiduels) ; il a donc été décidé de recourir à une restauration écologique active. Une opération de recouvrement intégrale a donc été retenue à partir d'un sol identique (Figure 3.4). Le transfert de foin à partir de l'aspiration de la végétation en bon état avait démontré, quant à lui, ses limites pour l'installation des espèces pérennes (Coiffait-Gombault *et al.*, 2011).

Le sol a été prélevé à quelques kilomètres de là sur le site d'une carrière dont l'extension avait été préalablement autorisée aux dépens de surface de coussouls non intégrées dans la Réserve naturelle ou dans la zone Natura 2000. Les objectifs de cette opération étaient donc de transférer non seulement un sol identique mais surtout la majorité de ses composantes biotiques (champignons, bactéries, pédofaune, graines, etc.). Cette opération a donc été menée en flux tendus, c'est à dire sans aucun stockage des terres sur plusieurs journées, et en reconstituant à l'identique la succession des horizons pédologiques au cours d'une période propice à la reprise de la vie en région méditerranéenne (début printemps 2011).

Les tous premiers résultats montrent une reprise de la majorité des espèces annuelles caractéristiques de la végétation des coussouls mais surtout l'absence de colonisation spontanée par des espèces végétales cosmopolites et opportunistes, qu'elles soient d'origine locale ou exotique. La reprise du pâturage ovin traditionnelle devrait ensuite agir comme un filtre supplémentaire orientant la dynamique de la végétation reconstituée vers l'écosystème pseudo-steppe de référence non seulement dans sa composition mais aussi dans sa structuration. Ce processus pourrait cependant prendre de plusieurs dizaines à plusieurs centaines d'années au regard de la lente dynamique de succession des parcours méditerranéens soumis à des perturbations récurrentes, notamment le pâturage et les incendies.

Cette opération illustre les actuelles limites de nos savoir-faire en matière de restauration écologique qui ont dans ce cas nécessité la destruction de superficies identiques sans pour autant garantir leur restauration intégrale même à long terme (Dutoit *et al.*, 2011). Pour cette raison, cette opération a été accompagnée d'expérimentations en ingénierie écologique consistant notamment en l'implantation de reines fondatrices d'une espèce de fourmi moissonneuse *Messor barbarus* très commune dans la végétation steppique de Crau, avec une estimation d'un nid par 100 m². Ces reines ont été réimplantées en périphérie du site restauré afin qu'elles soient en mesure de rétablir le flux de graines d'espèces caractéristiques de la pseudo-steppe. Il est attendu que les graines, stockées aux bords de leur piste ou refusées dans les dépotoirs à l'entrée de leur nid, accélèrent non seulement la résilience de la végétation en terme de composition mais également la structure. Les fourmis semblent en effet jouer un rôle dans la redistribution des graines d'une végétation composée à plus de 50 % d'espèces annuelles. Il faudra bien évidemment attendre quelques années (5 à 10 ans) avant de pouvoir mesurer des résultats tangibles. Cependant, un premier pas a été franchi car après un an cette transplantation artificielle montre des taux de réussite déjà 500 fois supérieurs à l'implantation naturelle. Ceci est dû au fort taux de prédation au sol des reines fécondées en conditions naturelles et à la création d'un habitat favorable lors de leur implantation artificielle.



(© S. Masson / UMR CNRS-IRD IMBE.)

Figure 3.4. Remise en place des différentes couches de sol (cailloutis, horizon minéral et horizon organique) au printemps 2011 après le retrait du sol pollué par les hydrocarbures.

Annexe 6: Abondances moyennes de chaque espèce végétale identifiée aux printemps 2011, 2012 et 2013 sur le site restauré par un transfert de sol. Les valeurs correspondent aux abondances moyennes \pm écart-type. Les noms des espèces sont donnés dans la première colonne, le nom de la famille dans la seconde colonne et la classification en espèces cibles de la restauration (YES) ou non (NO) dans la troisième colonne. Les valeurs correspondent aux abondances moyennes \pm écart-type sont données pour chaque traitement de reconstitution de l'organisation verticale du sol: transferred altered bedrock (AB), transferred subsoil (SS), uncompacted transferred topsoil (UTS), compacted transferred topsoil (TS) and the reference steppe (Step.).

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

		2011					2012					2013				
Species	Target Species	AB	SS	UTS	TS	Step.	AB	SS	UTS	TS	Step.	AB	SS	UTS	TS	Step.
<i>Aegilops ovata</i> L.	Yes	0.30 ± 0.27	0.02 ± 0.07	0.18 ± 0.07	0.13 ± 0.10	2.33 ± 1.00	0.80 ± 0.40	0.07 ± 0.10	0.91 ± 0.27	0.69 ± 0.47	0.78 ± 0.44	1.00 ± 0.50	0.80 ± 0.40	1.22 ± 0.44	0.58 ± 0.50	0.71 ± 0.44
<i>Aegilops triuncialis</i> L.	Yes	0.13 ± 0.10							0.02 ± 0.07			0.02 ± 0.07				
<i>Aira cupanania</i> Guss.	Yes	0.16 ± 0.09		0.11 ± 0.10	0.02 ± 0.07	1.22 ± 0.44					0.13 ± 0.33				0.02 ± 0.07	0.31 ± 0.40
<i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb.	Yes	0.02 ± 0.07			0.02 ± 0.07				0.13 ± 0.33				0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07	
<i>Allium</i> sp.	Yes			0.02 ± 0.07												
<i>Amaranthus</i> sp.	No			0.09 ± 0.10	0.04 ± 0.09											
<i>Anthemis arvensis</i> L.	No				0.02 ± 0.07										0.07 ± 0.10	
<i>Andryala integrifolia</i> L.	Yes					0.02 ± 0.07										
<i>Arenaria leptoclados</i> (Rchb.) Guss.	Yes			0.02 ± 0.07			0.04 ± 0.09		0.11 ± 0.33				0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07		
<i>Artemisia campestris</i> L.	No				0.02 ± 0.07											
<i>Asphodelus ayardii</i> Jahand & Maire	Yes		0.02 ± 0.07	0.2 ± 2.94e-17	0.04 ± 0.09			0.04 ± 0.09		0.20 ± 0.32			0.04 ± 0.09			0.11 ± 0.10
<i>Asperula cynanchica</i> L.	Yes															1.00 ± 0.73
<i>Asterolinon linum-stellatum</i> (L.) Duby	Yes					0.56 ± 0.73				0.58 ± 0.50						0.89 ± 0.33
<i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.	No						0.04 ± 0.09									
<i>Avena barbata</i> Pott eLink	Yes	0.20 ± 2.94e-17	0.02 ± 0.07	0.09 ± 0.10	0.18 ± 0.07	1.22 ± 0.68	0.60 ± 0.48	0.53 ± 0.67	0.89 ± 0.33	0.38 ± 0.47	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.89 ± 0.60	1.11 ± 0.33	1.00 ± 0.00	1.11 ± 0.33
<i>Bellis sylvestris</i> Cirillo	Yes		0.07 ± 0.10	0.16 ± 0.09	0.20 ± 2.94e-17	1.78 ± 0.44			0.09 ± 0.10	0.18 ± 0.32	0.31 ± 0.40		0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09	0.16 ± 0.33	0.24 ± 0.30
<i>Bidens bipinnata</i> L.	No		0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.09	0.07 ± 0.10	0.02 ± 0.07			0.22 ± 0.44							
<i>Bothriochloa ischaemum</i>	Yes					1.11 ±	0.02 ±		0.11 ±		0.44 ±	0.07 ±	0.09 ±	0.07 ±	0.34 ±	0.18 ±

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

(L.) Keng					1.27	0.07		0.33		0.53	0.10	0.10	0.10	0.37	0.32	
<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) P.Beauv.	Yes	0.02 ± 0.07	0.20 ± 2.94e-17	0.18 ± 0.07	2.24 ± 1.26	0.02 ± 0.07	1.09 ± 0.90	1.00 ± 0.00	0.89 ± 0.33	1.02 ± 0.45	0.29 ± 0.41	1.33 ± 0.71	1.56 ± 1.13	1.22 ± 0.67	0.80 ± 0.40	
<i>Brachypodium retusum</i> (Pers.) P.Beauv.	Yes	0.02 ± 0.07	0.18 ± 0.07	0.02 ± 0.07	3.89 ± 0.60			1.00 ± 0.00	0.24 ± 0.66	3.67 ± 0.87			0.38 ± 0.69	0.13 ± 0.33	3.56 ± 0.88	
<i>Bromus diandrus</i> Cortis	No			0.07 ± 0.10				0.11 ± 0.33				0.02 ± 0.07		0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07	
<i>Bromus hordeaceus</i> L.	No	0.18 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.10	0.18 ± 0.07	1.00 ± 0.50	0.13 ± 0.33	0.13 ± 0.33	0.33 ± 0.50	0.80 ± 0.40	0.33 ± 0.50	0.22 ± 0.44	0.29 ± 0.41	0.80 ± 0.40	0.91 ± 0.57	0.31 ± 0.40
<i>Bromus lanceolatus</i> Roth	No	0.07 ± 0.10		0.16 ± 0.09	0.09 ± 0.10									0.11 ± 0.33		
<i>Bromus madritensis</i> L.	Yes		0.04 ± 0.09	0.18 ± 0.07	0.16 ± 0.09		0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.10	0.47 ± 0.51	0.18 ± 0.32	0.04 ± 0.09	0.47 ± 0.51	0.47 ± 0.51	0.73 ± 0.40	0.58 ± 0.50	0.29 ± 0.41
<i>Bromus rubens</i> L.	Yes	0.20 ± 2.94e-17	0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.10	0.04 ± 0.09	1.57 ± 1.33	0.09 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.33 ± 0.50	0.67 ± 0.50	0.16 ± 0.33	0.24 ± 0.43	0.40 ± 0.46	0.44 ± 0.53	0.80 ± 0.40	0.38 ± 0.47
<i>Bromus sterilis</i> L.	No							0.11 ± 0.33								
<i>Carlina corymbosa</i> L.	Yes			0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.91 ± 0.57	0.04 ± 0.09		0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07			0.33 ± 0.50	0.11 ± 0.33
<i>Carlina lanata</i> L.	Yes			0.09 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.24 ± 0.43			0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07			0.33 ± 0.50	0.11 ± 0.33
<i>Carthamus lanatus</i> L.	Yes	0.18 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.20 ± 2.94e-17	0.18 ± 0.07	1.11 ± 0.78	0.20 ± 0.32	0.36 ± 0.62	1.00 ± 0.00	0.78 ± 0.44	0.58 ± 0.50	0.09 ± 0.10	0.51 ± 0.47	1.00 ± 0.00	0.67 ± 0.50	0.58 ± 0.50
<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik	No			0.02 ± 0.07												
<i>Carduus nigrescens</i> Vill.	Yes		0.04 ± 0.09	0.18 ± 0.07	0.09 ± 0.10	0.22 ± 0.44			0.84 ± 0.58	0.11 ± 0.33		0.07 ± 0.10	0.09 ± 0.10	0.49 ± 0.49	0.28 ± 0.41	
<i>Carduus pycnocephalus</i> L.	Yes	0.07 ± 0.10			0.02 ± 0.07					0.22 ± 0.67				0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07	
<i>Catapodium rigidum</i> (L.) C.E.Hubb.	Yes	0.11 ± 0.10		0.11 ± 0.10	0.11 ± 0.10		0.02 ± 0.07	0.07 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.18 ± 0.32		0.07 ± 0.33	0.47 ± 0.51	0.49 ± 0.49	0.18 ± 0.32	0.04 ± 0.09
<i>Centaurea calcitrapa</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07							0.11 ± 0.33							
<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.	No	0.22 ± 0.44		0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07				0.02 ± 0.07		0.22 ± 0.44	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.33		
<i>Cerastium pumilum</i> Curtis	Yes												0.13 ± 0.33	0.02 ± 0.07		
<i>Centaurea melitensis</i> L.	No			0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07									0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	
<i>Centaurea solstitialis</i> L.	Yes							0.11 ± 0.33	0.38 ± 0.69							

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

<i>Chenopodium album</i> L.	No	0.04 ± 0.09	0.18 ± 0.07	0.18 ± 0.07		0.18 ± 0.07										
<i>Cichorium intybus</i> L.	No														0.02 ± 0.07	
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.	No							0.02 ± 0.07								
<i>Clinopodium nepeta</i> (L.) Kuntze	No		0.04 ± 0.09													
<i>Convolvulus cantabrica</i> L.	Yes							0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.33	0.02 ± 0.07					0.02 ± 0.07	
<i>Conyza</i> sp.	No	0.04 ± 0.09						0.16 ± 0.33	0.04 ± 0.09		0.02 ± 0.07					
<i>Crucianella angustifolia</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07			0.13 ± 0.33					0.04 ± 0.09					0.02 ± 0.07	
<i>Crepis bursifolia</i> L.	Yes							0.02 ± 0.07		0.02 ± 0.07						
<i>Crepis foetida</i> L.	Yes	0.16 ± 0.09	0.16 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.38 ± 0.47	0.13 ± 0.33	0.07 ± 0.10	0.40 ± 0.46	0.18 ± 0.32	0.69 ± 0.47	0.09 ± 0.10	0.51 ± 0.47	0.78 ± 0.44	0.91 ± 0.27	0.73 ± 0.40	
<i>Crepis micrantha</i> Czerep.	Yes							0.11 ± 0.33								
<i>Crepis sancta</i> (L.) Bornm.	No	0.20 ± 2.94e-17						0.04 ± 0.09	0.07 ± 0.10	0.11 ± 0.10	0.29 ± 0.41	0.27 ± 0.28	0.07 ± 0.10	0.58 ± 0.50	0.20 ± 0.32	0.20 ± 0.32
<i>Crepis vesicaria</i> L.	Yes	0.16 ± 0.09	0.16 ± 0.09	0.11 ± 0.10	0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07		0.11 ± 0.33			0.02 ± 0.07	0.24 ± 0.43	0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	
<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	No	0.04 ± 0.09	0.07 ± 0.10	0.16 ± 0.09	0.18 ± 0.07			0.22 ± 0.67	0.60 ± 0.69	0.56 ± 0.88	0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07		0.09 ± 0.10	0.13 ± 0.33	
<i>Daucus carota</i> L.	No													0.02 ± 0.07		
<i>Dactylis glomerata</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.29 ± 0.27	0.18 ± 0.07	1.22 ± 0.67	0.16 ± 0.09	1.00 ± 0.50	0.69 ± 0.69	1.11 ± 0.60	0.44 ± 0.53		0.89 ± 0.33	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	
<i>Diplotaxis tenuifolia</i> (L.) DC.	No	0.11 ± 0.10	0.20 ± 2.94e-17	0.62 ± 0.45	0.16 ± 0.09		0.13 ± 0.10	1.69 ± 0.65	0.16 ± 0.33	1.24 ± 0.80	0.89 ± 0.33	1.00 ± 0.00	0.27 ± 0.42	0.36 ± 0.49	0.11 ± 0.33	
<i>Dittrichia viscosa</i> (L.) Greuter	No	0.02 ± 0.07		0.20 ± 2.94e-17	0.11 ± 0.10						0.04 ± 0.09		0.02 ± 0.07	0.07 ± 0.10		
<i>Echium asperrimum</i> Lam.	Yes			0.04 ± 0.09				0.22 ± 0.44			0.11 ± 0.33					
<i>Echium vulgare</i> L.	Yes								0.02 ± 0.07		0.02 ± 0.07					
<i>Eryngium campestre</i>	Yes	0.11 ± 0.10	0.18 ± 0.07	0.11 ± 0.10	1.22 ± 0.67	0.36 ± 0.37		0.24 ± 0.30	0.18 ± 0.32	1.00 ± 0.50	0.80 ± 0.40	0.13 ± 0.33	0.40 ± 0.46	0.51 ± 0.47	0.82 ± 0.35	

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Hér.	Yes	0.02 ± 0.07	0.18 ± 0.07	0.16 ± 0.09	0.67 ± 0.5	0.02 ± 0.07	0.22 ± 0.31	0.53 ± 0.44	0.53 ± 0.44	0.02 ± 0.07	0.51 ± 0.47	0.62 ± 0.45	0.82 ± 0.35	0.73 ± 0.40	0.56 ± 0.53
<i>Erucastrum incanum</i> (L.) W.D.J.Koch	No	0.02 ± 0.07	0.80 ± 0.40	0.18 ± 0.07			0.02 ± 0.07	0.51 ± 0.47	0.51 ± 0.47		0.47 ± 0.51	0.22 ± 0.31	0.42 ± 0.44	0.53 ± 0.45	
<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	Yes								0.11 ± 0.33	0.02 ± 0.07					
<i>Euphorbia exigua</i> L.	Yes	1.11 ± 0.33	0.20 ± 2.94e-17	0.04 ± 0.09	1.11 ± 0.33		0.07 ± 0.10	0.71 ± 0.44	0.42 ± 0.44	0.89 ± 0.33	0.18 ± 0.33	0.29 ± 0.41	0.69 ± 0.47	0.91 ± 0.27	
<i>Euphorbia falcata</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07	0.07 ± 0.10		0.02 ± 0.07		0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.11 ± 0.33		0.11 ± 0.33	0.20 ± 0.32	0.22 ± 0.31	0.47 ± 0.51	1.00 ± 0.00
<i>Euphorbia seguieriana</i> Neck.	Yes	0.11 ± 0.33			0.11 ± 0.33										
<i>Evax pygmaea</i> (L.) Brot.	Yes	0.33 ± 0.50	0.20 ± 2.94e-17	0.09 ± 0.10	0.33 ± 0.50		0.07 ± 0.10	0.51 ± 0.47	0.22 ± 0.31			0.16 ± 0.33	0.58 ± 0.50	0.24 ± 0.30	
<i>Filago gallica</i> L.	Yes		0.16 ± 0.09	0.09 ± 0.10			0.04 ± 0.09	0.78 ± 0.44	0.64 ± 0.42	0.38 ± 0.47	0.18 ± 0.32	0.62 ± 0.45	0.18 ± 0.32	0.62 ± 0.45	
<i>Filago minima</i> (Sm.) Dumort.	Yes													0.02 ± 0.07	0.82 ± 0.35
<i>Filago pyramidata</i> L.	Yes		0.02 ± 0.07					0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07			0.04 ± 0.09	0.22 ± 0.44	0.13 ± 0.33	0.02 ± 0.07
<i>Filago vulgaris</i> Lam.	Yes		0.09 ± 0.10	0.07 ± 0.10			0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09	0.16 ± 0.33			0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.33	0.38 ± 0.47	
<i>Galactites elegans</i> (All.) Soldano	Yes	0.18 ± 0.33		0.02 ± 0.07	0.18 ± 0.32								0.02 ± 0.07		
<i>Galium murale</i> (L.) All.	Yes		0.02 ± 0.07						0.11 ± 0.33			0.11 ± 0.33	0.07 ± 0.10	0.11 ± 0.33	
<i>Galium parisiense</i> L.	Yes	0.78 ± 0.44	0.09 ± 0.10		0.78 ± 0.44		0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.33		0.56 ± 0.53	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33		0.78 ± 0.44
<i>Gastroidium ventricosum</i> (Gouan) Schinz & Thell.	Yes	0.24 ± 0.43													
<i>Geranium molle</i> L.	Yes		0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.33					0.13 ± 0.33	0.02 ± 0.07		0.13 ± 0.33	0.04 ± 0.09	0.36 ± 0.49
<i>Glaucium flavum</i> Crantz	No		0.04 ± 0.09	0.09 ± 0.10				0.24 ± 0.66				0.02 ± 0.07			
<i>Hedypnois cretica</i> (L.) Dum.Cours.	Yes	0.07 ± 0.10	0.16 ± 0.09	0.16 ± 0.09	0.78 ± 0.44		0.04 ± 0.09	0.91 ± 0.27	0.40 ± 0.46	0.58 ± 0.50	0.13 ± 0.33	0.58 ± 0.50	0.89 ± 0.33	0.71 ± 0.44	0.80 ± 0.40
<i>Helictochloa bromoides</i> (Gouan) Romero Zarco	Yes				0.02 ± 0.07					0.02 ± 0.07					
<i>Hordeum murinum</i> L.	Yes	0.04 ± 0.09	0.18 ± 0.07	0.16 ± 0.09		0.07 ± 0.10	0.36 ± 0.37	1.22 ± 0.44	1.56 ± 0.73		0.11 ± 0.33	0.60 ± 0.50	1.78 ± 0.97	1.00 ± 0.00	0.02 ± 0.07

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

<i>Hypochaeris glabra</i> L.	Yes	0.16 ± 0.09	0.11 ± 0.10	0.11 ± 0.10	0.80 ± 0.40	0.02 ± 0.07	0.09 ± 0.10	0.13 ± 0.33	0.04 ± 0.09	0.13 ± 0.33	0.56 ± 0.53	0.29 ± 0.41	0.67 ± 0.5	0.76 ± 0.53	0.78 ± 0.44
<i>Kali soda</i> Moench	No	0.11 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.10	0.07 ± 0.10	0.16 ± 0.33	0.16 ± 0.33		0.16 ± 0.33		0.64 ± 0.42	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	
<i>Lactuca serriola</i> L.	No	0.11 ± 0.10				0.02 ± 0.07					0.11 ± 0.33				
<i>Leontodon tuberosus</i> L.	Yes									0.07 ± 0.10					
<i>Linaria arvensis</i> (L.) Desf.	Yes				0.11 ± 0.33				0.04 ± 0.09		0.22 ± 0.31	0.04 ± 0.09	0.13 ± 0.33		0.27 ± 0.42
<i>Linum strictum</i> L.	Yes	0.04 ± 0.09		0.02 ± 0.07	0.33 ± 0.50	0.02 ± 0.07							0.02 ± 0.07		
<i>Linum trigynum</i> L.	Yes		0.16 ± 0.09	0.04 ± 0.09	1.33 ± 0.50		0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09		0.60 ± 0.48	0.11 ± 0.33		0.13 ± 0.33	0.18 ± 0.32	0.80 ± 0.40
<i>Lobularia maritima</i> (L.) Desv.	Yes	0.56 ± 0.53	0.02 ± 0.07	0.47 ± 0.40	0.18 ± 0.07	0.56 ± 0.53	0.29 ± 0.41	0.75 ± 0.61	0.91 ± 0.27	1.13 ± 0.75	1.00 ± 0.00	0.80 ± 0.40	0.73 ± 0.40	0.89 ± 0.33	
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin.	Yes		0.11 ± 0.10	0.18 ± 0.07	0.18 ± 0.07			0.58 ± 0.64	1.11 ± 0.33	1.02 ± 0.45	0.13 ± 0.33	0.91 ± 0.27	1.36 ± 0.97	1.22 ± 0.44	
<i>Lysimachia arvensis</i> (L.) U.Manns & Anderb.	Yes			0.07 ± 0.10										0.11 ± 0.33	
<i>Marrubium vulgare</i> L.	Yes			0.09 ± 0.10	0.02 ± 0.07					0.11 ± 0.33				0.02 ± 0.07	
<i>Medicago minima</i> (L.) L.	Yes			0.09 ± 0.10			0.07 ± 0.10	0.73 ± 0.40	0.24 ± 0.43		0.04 ± 0.09	0.22 ± 0.44	0.44 ± 0.53	0.49 ± 0.49	
<i>Medicago monspeliaca</i> (L.) Trautv.	Yes			0.07 ± 0.10	0.09 ± 0.10		0.33 ± 0.39	0.82 ± 0.35	0.31 ± 0.40		0.02 ± 0.07	0.80 ± 0.40	0.73 ± 0.40	0.38 ± 0.47	
<i>Medicago rigidula</i> (L.) All.	Yes				0.02 ± 0.07		0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33				0.16 ± 0.33	0.27 ± 0.42	0.18 ± 0.32	
<i>Medicago sativa</i> L.	No			0.02 ± 0.07											
<i>Medicago truncatula</i> Gaertn.	Yes	0.33 ± 0.50		0.09 ± 0.10	0.04 ± 0.09	0.33 ± 0.50		0.13 ± 0.10	1.00 ± 0.00	0.60 ± 0.48	0.02 ± 0.07	0.51 ± 0.47	0.89 ± 0.33	0.91 ± 0.27	
<i>Neatostema apulum</i> (L.) I.M. Johnst.	Yes			0.09 ± 0.10				0.16 ± 0.09	0.80 ± 0.40	0.53 ± 0.45		0.24 ± 0.30	0.58 ± 0.50	0.80 ± 0.40	
<i>Onopordum illyricum</i> L.	Yes		0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09	0.11 ± 0.10		0.11 ± 0.10	0.04 ± 0.09	0.47 ± 0.40			0.53 ± 0.45	0.44 ± 0.65	0.62 ± 0.45	
<i>Petrorhagia prolifera</i> (L.) P.W.Ball & Heywood	Yes			0.02 ± 0.07			0.16 ± 0.33	0.04 ± 0.09	0.71 ± 0.44	0.07 ± 0.10	0.82 ± 0.79	0.38 ± 0.47	0.24 ± 0.43	0.18 ± 0.32	

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

<i>Plantago bellardii</i> All.	Yes	0.44 ± 0.73	0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.10	0.11 ± 0.10	0.44 ± 0.73	0.24 ± 0.43	0.04 ± 0.09	0.36 ± 0.49	0.16 ± 0.33	0.27 ± 0.42					
<i>Plantago coronopus</i> L.	Yes			0.02 ± 0.07			0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33		0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09					
<i>Plantago lagopus</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.47 ± 0.40	0.20 ± 2.94e-17	0.11 ± 0.33	0.71 ± 0.66	1.11 ± 0.78	1.33 ± 0.71	0.44 ± 0.53	0.11 ± 0.33	0.89 ± 0.33	0.69 ± 0.47	0.89 ± 0.33	0.78 ± 0.44	
<i>Plantago lanceolata</i> L.	No					0.56 ± 0.53	0.13 ± 0.33	0.44 ± 0.53	0.44 ± 0.53	0.04 ± 0.09				0.02 ± 0.07		
<i>Poa annua</i> L.	No			0.02 ± 0.07												
<i>Poa bulbosa</i> L.	Yes			0.13 ± 0.10	0.13 ± 0.10	1.22 ± 0.67	0.07 ± 0.10	0.91 ± 0.27	0.71 ± 0.44	1.11 ± 0.33	0.11 ± 0.33	1.00 ± 0.00	0.91 ± 0.27	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	
<i>Polycarpon tetraphyllum</i> (L.) L.	Yes			0.02 ± 0.07				0.13 ± 0.33			0.11 ± 0.33	0.33 ± 0.50	0.16 ± 0.33	0.11 ± 0.33		
<i>Polygonum aviculare</i> L.	No			0.11 ± 0.10	0.04 ± 0.09											
<i>Psilurus incurvus</i> (Gouan) Schinz & Thell.	Yes			0.09 ± 0.10		1.22 ± 0.83	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.31 ± 0.40	0.67 ± 0.50	0.24 ± 0.43	0.40 ± 0.46	0.58 ± 0.50	0.36 ± 0.49	0.89 ± 0.33	
<i>Ranunculus paludosus</i> Poir.	Yes											0.04 ± 0.09	0.07 ± 0.10			
<i>Reseda phyteuma</i> L.	Yes			0.11 ± 0.10	0.02 ± 0.07		0.20 ± 0.32	0.40 ± 0.46	0.40 ± 0.46		0.18 ± 0.32	0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09			
<i>Reichardia picroides</i> (L.) Roth	Yes	0.07 ± 0.10		0.16 ± 0.09	0.11 ± 0.10	1.44 ± 0.73	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.33 ± 0.20	0.11 ± 0.10	0.91 ± 0.27	0.07 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.20 ± 0.32	0.07 ± 0.10	0.91 ± 0.27
<i>Rostraria cristata</i> (L.) Tzvelev	Yes	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.09 ± 0.10	0.09 ± 0.10	0.11 ± 0.33	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.33		0.20 ± 0.32	0.29 ± 0.41	0.38 ± 0.47	0.58 ± 0.50	0.13 ± 0.33	
<i>Rumex pulcher</i> L.	Yes								0.02 ± 0.07					0.02 ± 0.07		
<i>Sagina apetala</i> Ard.	Yes			0.02 ± 0.07							0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07				
<i>Salvia verbenaca</i> L.	Yes			0.20 ± 2.94e-17	0.20 ± 2.94e-17	0.67 ± 1.00	0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.33	0.60 ± 0.48	0.33 ± 0.39	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.10	0.11 ± 0.10	0.49 ± 0.49		
<i>Sanguisorba minor</i> Scop.	Yes			0.02 ± 0.07		0.67 ± 0.50		0.02 ± 0.07	0.16 ± 0.33	0.47 ± 0.51	0.04 ± 0.09		0.11 ± 0.33	0.11 ± 0.33	0.42 ± 0.44	
<i>Scabiosa atropurpurea</i> L.	Yes					0.13 ± 0.33					0.16 ± 0.33				0.02 ± 0.07	
<i>Scorzonera laciniata</i> L.	Yes						0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33			0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.38 ± 0.47			
<i>Scandix australis</i> L.	No	0.02 ± 0.07								0.02 ± 0.07						
<i>Scolymus hispanicus</i> L.	No							0.02 ±								

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

								0.07																																																							
<i>Scorpiurus muricatus</i> L.	No																		0.02 ± 0.07																																												
<i>Senecio vulgaris</i> L.	No	0.11 ± 0.10	0.18 ± 0.07	0.11 ± 0.10															0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.04 ± 0.09																																								
<i>Sherardia arvensis</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.13 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.33 ± 0.50													0.09 ± 0.10	1.00 ± 0.00	0.62 ± 0.45	0.02 ± 0.07	0.09 ± 0.10	0.22 ± 0.44	0.60 ± 0.48	0.91 ± 0.27	0.16 ± 0.33																																				
<i>Silene nocturna</i> L.	Yes																		0.24 ± 0.66	0.11 ± 0.33								0.56 ± 0.53	0.24 ± 0.66	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.11 ± 0.33																															
<i>Silene gallica</i> L.	Yes																																		0.73 ± 0.40																												
<i>Sideritis romana</i> L.	Yes																																			0.11 ± 0.33	0.04 ± 0.09	0.29 ± 0.41	0.29 ± 0.41	0.89 ± 0.33																							
<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill	No																																				0.11 ± 0.33	0.13 ± 0.33	0.16 ± 0.33	0.16 ± 0.33	0.20 ± 0.32	0.02 ± 0.07																					
<i>Sonchus oleraceus</i> L.	No																																					0.24 ± 0.43	0.16 ± 0.33	0.16 ± 0.33	0.51 ± 0.47	0.42 ± 0.44	0.04 ± 0.09																				
<i>Solanum nigrum</i> L.	No	0.04 ± 0.09	0.04 ± 0.09	0.16 ± 0.09	0.13 ± 0.10																																		0.02 ± 0.07																								
<i>Spergula diandra</i> (Guss.) Murb.	Yes																																						0.02 ± 0.07																								
<i>Stipa capillata</i> L.	Yes																																						0.02 ± 0.07	0.58 ± 0.50		0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07																				
<i>Stellaria media</i> (L.) Vill.	No																																							0.02 ± 0.07																							
<i>Taeniatherum caput-medusae</i> (L.) Nevski	Yes																																							0.17 ± 0.07	0.09 ± 0.10	0.13 ± 0.33	0.29 ± 0.41	0.02 ± 0.07	0.47 ± 0.51	0.16 ± 0.33	0.33 ± 0.50	0.38 ± 0.47	0.13 ± 0.33	0.36 ± 0.49	0.36 ± 0.49												
<i>Taraxacum officinalis</i> F.H.Wigg.	No																																								0.02 ± 0.07																						
<i>Teucrium chamaedrys</i> L.	Yes																																									0.04 ± 0.09	0.04 ± 0.09								0.22 ± 0.67		0.11 ± 0.33		0.11 ± 0.33								
<i>Thymus vulgaris</i> L.	Yes																																										0.07 ± 0.10	0.07 ± 0.10	0.04 ± 0.09	0.56 ± 0.53							0.49 ± 0.70	0.02 ± 0.07				0.24 ± 0.43					
<i>Tolpis barbata</i> (L.) Gaertn.	Yes																																											0.67 ± 0.50									0.07 ± 0.10	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33		0.13 ± 0.43						
<i>Tragopogon porrifolius</i> L.	No																																											0.02 ± 0.07		0.02 ± 0.07		0.02 ± 0.67		0.07 ± 0.10	0.02 ± 0.07												
<i>Trifolium arvense</i> L.	Yes																																													0.11 ± 0.33				0.11 ± 0.33													
<i>Trifolium campestre</i> Shreb.	Yes																																														0.04 ± 0.09	0.04 ± 0.09									0.27 ± 0.42	0.22 ± 0.44	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.11 ± 0.33	0.27 ± 0.42	0.36 ± 0.49

Annexe 6: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 2

<i>Trifolium cherleri</i> L.	Yes	0.04 ± 0.09	0.04 ± 0.09		0.11 ± 0.33		0.09 ± 0.10	0.38 ± 0.47	0.60 ± 0.48		0.02 ± 0.07	0.24 ± 0.43	0.67 ± 0.50	0.60 ± 0.48		
<i>Trifolium glomeratum</i> L.	Yes				0.11 ± 0.33					0.11 ± 0.33		0.13 ± 0.33		0.27 ± 0.42		
<i>Trifolium scabrum</i> L.	Yes	0.13 ± 0.10	0.13 ± 0.10	0.07 ± 0.10	0.33 ± 0.50	0.02 ± 0.07	0.53 ± 0.44	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.33	0.91 ± 0.27	0.91 ± 0.27	1.00 ± 0.00		
<i>Trifolium stellatum</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07	0.11 ± 0.10	0.11 ± 0.10	0.07 ± 0.10	0.78 ± 0.67	0.04 ± 0.09	0.22 ± 0.31	0.04 ± 0.09	0.11 ± 0.33	0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07	0.69 ± 0.47	0.36 ± 0.49		
<i>Trifolium subterraneum</i> L.	Yes	0.20 ± 2.94e-17	0.20 ± 2.94e-17	0.20 ± 2.94e-17	0.56 ± 0.88		0.13 ± 0.10	0.58 ± 0.50	0.07 ± 0.10		0.07 ± 0.10	0.62 ± 0.45	1.02 ± 0.45	1.00 ± 0.00		
<i>Trifolium suffocatum</i> L.	Yes	0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.07 ± 0.10												
<i>Trifolium tomentosum</i> L.	Yes		0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07												
<i>Tyrimnus</i> (Cass.) Cass.	Yes													0.11 ± 0.33		
<i>Urospermum dalechampii</i> (L.) Scop. ex F.W.Schmidt	Yes	0.02 ± 0.07	0.20 ± 2.94e-17	0.04 ± 0.09				0.18 ± 0.32	0.02 ± 0.07				0.04 ± 0.09	0.02 ± 0.07		
<i>Verbascum sinuatum</i> L.	Yes		0.16 ± 0.09	0.09 ± 0.10			0.16 ± 0.09	0.40 ± 0.46	0.67 ± 0.50			0.16 ± 0.33	0.16 ± 0.33	0.02 ± 0.07		
<i>Vulpia</i> sp.	Yes	0.18 ± 0.07	0.02 ± 0.07	0.20 ± 2.94e-17	0.13 ± 0.10	2.00 ± 0.00	0.02 ± 0.07	0.18 ± 0.32	0.78 ± 0.44	0.53 ± 0.45	0.78 ± 0.44	0.40 ± 0.46	0.16 ± 0.33	0.69 ± 0.47	1.00 ± 0.00	1.11 ± 0.33
<i>Valenariella</i> sp.	Yes											0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07			
<i>Xanthium spinosum</i> L.	No		0.02 ± 0.07	0.02 ± 0.07												
<i>Populus nigra</i> L.	No	0.20 ± 2.94e-17					0.22 ± 0.44				0.04 ± 0.09					

Annexe 7: Abondances moyennes de chaque espèce végétale identifiée en automne 2012 et au printemps 2013 à l'endroit des dépotoirs et dans des zones sans activité de fourmi. Les noms des espèces sont donnés dans la première colonne et le nom de la famille dans la seconde colonne. Les valeurs correspondent aux abondances moyennes \pm écart-type. Pour la banque de graines d'automne, la banque de graines du printemps et les analyses des germinations au printemps sur le terrain, les différences significatives sont annotées avec des astérisques (* p-value < 0.05, ** p-value < 0.01, * p-value < 0.001) entre les dépotoirs and les contrôles pour 70 cm³, les dépotoirs and les contrôles pour le volume total, et entre les dépotoirs tamisés et les contrôles.**

Annexe 7: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 3

Species	Autumn seed banks				Spring seed banks				Spring seedlings	
	70 cm3		total volume		70 cm3		total volume		Sieved refuse piles	Controls
	Refuse piles	Control s	Refuse piles	Control s	Refuse piles	Controls	Refuse piles	Controls		
<i>Aegilops ovata</i> L.						1.0 ± 0.11		0.1 ± 0.11	0.1 ± 0.04	0.7 ± 0.17
<i>Allium</i> sp.	0.1 ± 0.10		0.2 ± 0.20	0.1 ± 0.10						
<i>Aira cupaniana</i> Guss.	0.1 ± 0.10		0.2 ± 0.20						0.5 ± 0.15	
<i>Ajuga iva</i> (L.) Schreb.	0.1 ± 0.10	0.1 ± 0.10	0.3 ± 0.22	0.4 ± 0.21					0.7 ± 0.13	0.7 ± 0.17
<i>Amaranthus retroflexus</i> L.				0.1 ± 0.10				0.1 ± 0.11		
<i>Asphodelus ayardii</i> Jahand & Maire									0.2 ± 0.06	0.1 ± 0.04
<i>Asterolinon linum-stellatum</i> (L.) Duby	0.6 ± 0.60	0.4 ± 0.16	0.7 ± 0.33	0.8 ± 1.03						
<i>Aster squamatus</i> (Spreng.) Hieron.										
<i>Avena barbata</i> Pott eLink		0.1 ± 0.10	0.2 ± 0.20	0.2 ± 0.20						
<i>Bellis sylvestris</i> Cirillo	0.1 ± 0.10		0.4 ± 0.30						0.1 ± 0.04	0.2 ± 0.09
<i>Brachypodium distachyon</i> (L.) P.Beauv.	4.1 ± 1.14*	4.1 ± 3.57	11.0 ± 7.01*	8.0 ± 2.39					1.7 ± 0.32	3.3 ± 0.90
<i>Brachypodium retusum</i> (Pers.) P.Beauv.									0.3 ± 0.13	0.7 ± 0.17
<i>Bromus hordeaceus</i> L.									1.0 ± 0.23	
<i>Bromus</i> sp.	5.2 ± 0.81** *	0.3 ± 0.15	20.5 ± 3.50***	0.8 ± 0.34					0.6 ± 0.19	
<i>Carthamus lanatus</i> L.									0.3 ±	

Annexe 7: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 3

										0.07
<i>Cerastium glomeratum</i> Thuill.										0.3 ± 0.13
<i>Cirsium arvense</i> (L.) Scop.			0.3 ± 0.21	0.1 ± 0.10						
<i>Chenopodium album</i> L.										
<i>Convolvulus cantabrica</i> L.		0.1 ± 0.10		0.2 ± 0.20						
<i>Crassula tillaea</i> Lest.-Garl.		14.0 ± 14.0	0.1 ± 0.10	33.6 ± 33.6						
<i>Crepis foetida</i> L.	0.1 ± 0.10		0.4 ± 0.22							
<i>Crepis pulchra</i> L.	0.4 ± 0.22		0.9 ± 0.48							
<i>Crepis sancta</i> (L.) Bornm.			0.1 ± 0.10							0.1 ± 0.04
<i>Crepis vesicaria</i> L.							0.1 ± 0.11			0.1 ± 0.04
<i>Dactylis glomerata</i> L.			0.2 ± 0.20							0.5 ± 0.14
<i>Diplotaxis tenuifolia</i> (L.) DC.	0.3 ± 0.30		1.4 ± 0.86				0.4 ± 0.34			
<i>Draba verna</i> L.		0.6 ± 0.60								
<i>Erodium cicutarium</i> (L.) L'Hér.										0.1 ± 0.04
<i>Eryngium campestre</i> L.										0.1 ± 0.04
<i>Euphorbia cyparissias</i> L.	0.4 ± 0.16	0.2 ± 0.20	1.9 ± 0.41**	0.4 ± 0.40						
<i>Euphorbia exigua</i> L.										1.5 ± 0.04*
<i>Euphorbia falcata</i> L.	0.1 ± 0.10		0.3 ± 0.21							0.4 ± 0.18
<i>Evax pygmaea</i> (L.) Brot.										0.2 ± 0.06
										1.6 ± 0.42
										1.0 ± 0.26

Annexe 7: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 3

<i>Filago gallica</i> L.	1.3 ± 0.61	0.2 ± 0.13	2.9 ± 1.03*	0.4 ± 0.27					5.7 ± 1.15	
<i>Filago minima</i> (Sm.) Dumort.									1.8 ± 0.80	
<i>Filago vulgaris</i> Lam.	1.5 ± 0.48** *	0.1 ± 0.11	5.1 ± 1.42**	0.2 ± 0.20						
<i>Filago pyramidata</i> L.			1.9 ± 1.80	0						
<i>Galium murale</i> (L.) All.									0.9 ± 0.31	0.2 ± 0.09
<i>Galium parisiense</i> L.	3.7 ± 1.41**	0.3 ± 0.21	15.0 ± 5.11***	0.6 ± 0.43					0.8 ± 0.21	
<i>Geranium molle</i> L.	0.4 ± 0.30		1.1 ± 0.79	0.4 ± 0.22						
<i>Hedypnois cretica</i> (L.) Dum.Cours.	0.5 ± 0.31		2.2 ± 1.32						0.5 ± 0.10*	
<i>Hypochaeris glabra</i> L.	0.5 ± 0.31		2.3 ± 0.40***	0.3 ± 0.95					1.0 ± 0.22	1.1 ± 0.17
<i>Linaria arvensis</i> (L.) Desf.									0.3 ± 0.07	
<i>Linum strictum</i> L.	0.2 ± 0.20	0.2 ± 0.13								
<i>Linum trigynum</i> L.			0.6 ± 0.60	0.7 ± 0.37					0.2 ± 0.06	0.5 ± 0.14
<i>Lobularia maritima</i> (L.) Desv.	11.8 ± 3.49	3.9 ± 1.20	0.2 ± 0.20	0.4 ± 0.30	0.5 ± 0.25	1.0 ± 0.11	1.5 ± 0.67	0.4 ± 0.30	2.5 ± 0.23*	0.9 ± 0.20
<i>Lolium rigidum</i> Gaudin.			41.1 ± 11,70**	9.8 ± 2.86					0.1 ± 0.04	
<i>Lotus corniculatus</i> L.		0.1 ± 0.10	0.1 ± 0.10	0.4 ± 0.22						
<i>Medicago minima</i> (L.) L.	0.9 ± 0.39		4.0 ± 1.40**	0.7 ± 0.42						
<i>Medicago monspeliaca</i> (L.) Trautv.	0.1 ± 0.10	0.3 ± 0.21	0.3 ± 0.21							
<i>Medicago truncatula</i> Gaertn.			0.2 ±						0.3 ±	

Annexe 7: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 3

			0.13				0.07	
<i>Neatostema apulum</i> (L.) I.M. Johnst.							0.3 ± 0.09	0.1 ± 0.04
<i>Petrorhagia prolifera</i> (L.) P.W.Ball & Heywood	1.5 ± 0.85	0.2 ± 0.13	3.3 ± 1.66	0.5 ± 0.27				
<i>Plantago bellardii</i> All.							0.3 ± 0.09	0.1 ± 0.04
<i>Plantago coronopus</i> L.								0.2 ± 0.09
<i>Plantago lanceolata</i> L.			0.1 ± 0.10					
<i>Plantago lagopus</i> L.	0.7 ± 0.49	0.1 ± 0.10	1.7 ± 0.91	0.2 ± 0.20				
<i>Poa annua</i> L.				0.1 ± 0.10			0.1 ± 0.04	
<i>Poa bulbosa</i> L.	3.1 ± 0.85	2.2 ± 0.83	21.2 ± 4.43*	8.4 ± 8.70			1.6 ± 0.24**	0.1 ± 0.04
<i>Polycarpon tetraphyllum</i> (L.) L.	0.6 ± 0.60		4.4 ± 2.34*	0.1 ± 0.10			2.0 ± 0.36*	0.1 ± 0.04
<i>Psilurus incurvus</i> (Gouan) Schinz & Thell.	0.5 ± 0.50	0.3 ± 0.15	1.1 ± 0.99					
<i>Reichardia picroides</i> (L.) Roth	0.2 ± 0.13		0.6 ± 0.27	0.7 ± 0.30			0.1 ± 0.06	
<i>Rumex pulcher</i> L.	0.1 ± 0.10		0.2 ± 0.20	0.1 ± 0.10				
<i>Sanguisorba minor</i> Scop.	0.2 ± 0.13		1.4 ± 0.52*	0.1 ± 0.10	0.1 ± 0.11	0.1 ± 0.11	0.1 ± 0.04	
<i>Salvia verbenaca</i> L.		0.2 ± 0.20	0.4 ± 0.22	0.7 ± 0.49	0.1 ± 0.11	0.1 ± 0.11	0.3 ± 0.13	0.4 ± 0.10
<i>Scorzonera laciniata</i> L.								0.1 ± 0.04
<i>Sideritis romana</i> L.								
<i>Silene nocturna</i> L.	0.1 ± 0.10		1.4 ± 1.08*				0.1 ± 0.04	

Annexe 7: Liste des espèces végétales identifiées - chapitre 3

<i>Senecio vulgaris</i> L.	0.1 ± 0.10		0.4 ± 0.22				
<i>Sherardia arvensis</i> L.	2.7 ± 0.86	0.7 ± 0.33	8.5 ± 2.70	1.9 ± 0.69			0.4 ± 0.10 1.0 ± 0.24
<i>Sonchus oleraceus</i> L.			0.2 ± 0.13				
<i>Solanum nigrum</i> L.		0.1 ± 0.10		0.2 ± 0.20			
<i>Taraxacum officinalis</i> F.H.Wigg.							
<i>Trifolium campestre</i> Shreb.							0.1 ± 0.04 0.2 ± 0.06
<i>Trifolium glomeratum</i> L.							
<i>Trifolium scabrum</i> L.	1.0 ± 0.33	1.1 ± 0.31	6.8 ± 1.84	2.9 ± 0.71			1.7 ± 0.09 0.7 ± 0.15
<i>Trifolium subterraneum</i> L.		0.2 ± 0.13	0.1 ± 0.10	0.9 ± 0.71			0.8 ± 0.16 0.2 ± 0.06
<i>Trifolium suffocatum</i> L.			0.1 ± 0.10				
<i>Trifolium stellatum</i> L.			0.1 ± 0.10				
<i>Urtica urens</i> L.		0.1 ± 0.10		0.2 ± 0.20			
<i>Valerianella</i> sp.	0.10 ± 0.10		0.2 ± 0.20				
<i>Verbena officinalis</i> L.		0.4 ± 0.22	0.1 ± 0.10	0.8 ± 0.44			
<i>Vulpia ciliata</i> Dumort.	49.1 ± 7.91** *	2.7 ± 0.61	260.6 ± 35.30** *	7.8 ± 1.83			3.4 ± 0.57 2.0 ± 0.29

