



**UNIVERSITE DE LA NOUVELLE-CALEDONIE
ECOLE DOCTORALE DU PACIFIQUE ED469
Institut Agronomique néo-Calédonien (IAC)
Doctorat ès Science en microbiologie des sols**

Thèse présentée par

GOURMELON Véronique

Pour obtenir le grade de
Docteur en Sciences de l'Université de la Nouvelle-Calédonie
Spécialité : Ecologie végétale et microbiologie

**Formations végétales et diversité microbienne des substrats
ultramafiques en Nouvelle-Calédonie, implication pour la
conservation et la restauration écologique**

Sous la direction de MAGGIA Laurent et le co-encadrement de CARRICONDE Fabian

Thèse soutenue publiquement le 22 août 2016 devant le jury composé de :

M.Gardes	Professeur, Université Toulouse III	Rapporteur
G.Grelet	Chercheur, Landcare Research	Rapporteur
P.Gunkel-Grillon	Maitre de Conférence, Université de la Nouvelle-Calédonie	Examineur
J.Plett	Assistant Professeur, University of Western Sydney	Examineur
F.Carriconde	Chercheur, Institut Agronomique néo-Calédonien	Co-encadrant
L.Maggia	Chercheur, CIRAD- Institut Agronomique néo-Calédonien	Directeur de thèse



RESUME

Les bactéries et champignons des sols sont impliqués dans différentes fonctions des écosystèmes terrestres. Ils sont notamment investis dans la formation des sols, la stabilité des agrégats et les successions végétales. La Nouvelle-Calédonie est un archipel subtropical, classé comme hotspot de biodiversité et dont un tiers de la surface est recouvert par les substrats ultramafiques. Ces milieux sont caractérisés par de faibles concentrations en nutriments (N, K, P) et de fortes concentrations en métaux lourds (Ni, Co, Cr, Mn). Les écosystèmes présents sur ces substrats sont originaux et diversifiés. Ils sont aussi fortement menacés par l'activité minière. Cependant, pour pouvoir correctement restaurer ces milieux et relancer les dynamiques végétales, il est important de connaître les communautés microbiennes associées à ces écosystèmes ainsi que les facteurs les structurant.

Dans un premier temps, quatre formations végétales représentant différents stades de succession et/ou de dégradation (maquis ligno-herbacés, maquis arbustifs dominés par *Tristaniopsis* spp., forêts monodominantes à *Nothofagus aequilateralis* et forêts mixtes) ont été étudiées sur deux sites, le Massif de Kopéto au Nord-Ouest et la Rivière Blanche au Sud. Ceci a permis de montrer la présence de communautés microbiennes propres à chaque formation végétale et chaque site. Les résultats ont également permis d'identifier une structuration des communautés microbiennes par les espèces végétales dominantes (i.e. *Nothofagus aequilateralis*, *Tristaniopsis* spp., *Costularia* spp.) ainsi que par les facteurs édaphiques propres à chaque formation végétale. De plus, les communautés bactériennes et fongiques interagissent entre elles suggérant ainsi que la structure des communautés microbiennes est le fruit d'interactions complexes entre couverture végétale, paramètres édaphiques, facteurs géographiques et la composition de la microflore elle-même.

Dans un second temps, ces travaux se sont intéressés aux communautés ectomycorhiziennes et saprophytiques de deux types de formations végétales (maquis et forêts) ectomycorhiziens et non-ectomycorhiziens répartis sur 4 sites : Bois du Sud et Rivière Blanche au Sud, le Massif de Kopéto au Nord-Ouest et le Massif de Tiébaghi au Nord. Les résultats montrent une « inhibition » de l'abondance des saprophytes, sans impact sur la diversité, au sein des formations ectomycorhiziennes. Cette inhibition des saprophytes par les champignons ectomycorhiziens est liée à l'effet Gadgil. Les résultats ont aussi montré qu'en milieux ectomycorhiziens, certaines lignées ectomycorhiziennes étaient plus abondantes et que ces dernières avaient la particularité de produire des enzymes de dégradations similaires à celles des champignons saprophytes et donc à suppléer aux fonctions qu'occupent couramment ces derniers dans d'autres conditions de milieu. Tous ces résultats indiquent que les formations ectomycorhiziennes, que ce soit des maquis ou des forêts, présentent des communautés fongiques ectomycorhiziennes similaires.

Dans un troisième temps, les résultats obtenus lors de la première étude ont été utilisés pour comparer les communautés microbiennes provenant de trois types de maquis du Massif de Tiébaghi et déterminer si le Massif de Tiébaghi possède des communautés microbiennes différentes des autres sites pouvant expliquer le fort taux de succès obtenus lors des essais de restauration avec le topsoil de Tiébaghi. Les résultats ont montré la présence de communautés microbiennes différentes en composition par rapport au Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, mais aussi une plus forte richesse en champignon. De même, contrairement aux deux autres sites dont les communautés microbiennes sont liées à la présence de *Tristaniopsis* et de *Nothofagus aequilateralis*, les communautés microbiennes du Massif de Tiébaghi sont quant à elles structurées par *Acacia spirorbis*.

Ce travail de recherche a permis d'améliorer nos connaissances sur les communautés microbiennes issues de différents écosystèmes des sols ultramafiques néo-calédoniens, ainsi que sur les interactions existantes entre ces microorganismes et les facteurs biotiques et abiotiques. Les résultats obtenus ont montré que chaque formation végétale et chaque site possèdent une communauté microbienne qui lui est propre, d'où l'intérêt de conserver et protéger les écosystèmes calédoniens. De plus, ces travaux ont aussi montré la capacité des communautés bactériennes et fongiques de servir de bio-indicateurs, et plus particulièrement les communautés fongiques qui sont plus sensibles aux perturbations et variations de la couverture végétale. Il a aussi été démontré qu'en maquis ou forêts monospécifiques, les communautés ectomycorhiziennes possèdent des fonctions similaires dans la production d'enzymes de dégradation de la matière organique. Ces travaux ont permis une meilleure connaissance des communautés microbiennes associées aux formations végétales des substrats ultramafiques ainsi que des facteurs les structurant. Cela devrait améliorer la mise en place des futurs chantiers de restauration de ces écosystèmes.

ABSTRACT

Soil bacteria and fungi play different functions in terrestrial ecosystems. They are implicated in soil formations, aggregate stability, and plant succession. New Caledonia is a subtropical archipelago, classified as a biodiverse hotspot and a third of its surface is covered by ultramafic soils. These soils are characterised by low concentrations of nutrients (N, K, P) and high concentrations of heavy metals (Ni, Co, Cr, Mn). Ecosystems present in these soils are original and diversified but strongly threatened by mining activity. It is a necessity to restore these ecosystems after ore exploitation. However, to correctly restore these environments and relaunch plant dynamics, it is important to identify the microbial communities associated with these ecosystems as well as the structuring factors.

In a first time, four plant formations representing different successions and/or degradation stages (herbaceous maquis, shrubby maquis dominated by *Tristaniopsis* spp., *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest and mixed rainforests) were studied on two sites, Kopéto Massif in the North-West and Rivière Blanche in the South. The results demonstrated that each plant formation and site possessed their own microbial communities. Results also demonstrated a microbial community structure by the dominant plant species (i.e. *Nothofagus aequilateralis*, *Tristaniopsis* spp., *Costularia* spp.) and by edaphic factors of each vegetation type. Moreover, bacterial and fungal communities interact together suggesting that microbial community structures were due to complex interactions between plant cover, edaphic parameters, geographical factors and microflora compositions themselves.

Secondly, the research focused on ectomycorrhizal and saprotroph communities from two types of plant formations (maquis and rainforest) ectomycorrhizal and non-ectomycorrhizal within 4 sites : Bois du Sud and Rivière Blanche in the South, Kopéto Massif in the North-West and Tiébaghi Massif in the North. Results showed an inhibition of saprotroph abundances without impacting on diversity in ectomycorrhizal plant formations. This saprotroph inhibition by ectomycorrhizal fungi is due to the Gadgil effect. Results also showed that in ectomycorrhizal environments certain ectomycorrhizal lineages were more abundant and had the particularity of being able to produce enzymes similar to those found in saprotroph fungi. Furthermore these fungi are able to compensate functions commonly occupied by saprotroph in other environmental conditions. All these results indicate that ectomycorrhizal formations whether that be maquis or rainforests present a similar ectomycorrhizal fungal community.

Thirdly, results obtained from the first study were used to compare microbial communities with three types of maquis on Tiébaghi Massif and to determine if Tiébaghi Massif possesses microbial communities different from other sites which might explain the high success rate obtained during restoration trials with Tiébaghi topsoil. Results showed the presence of microbial communities different in composition in comparison to Kopéto Massif and Rivière Blanche, but also a higher fungal richness. Moreover, unlike the two other sites of which the microbial communities are linked to the presence of *Tristaniopsis* spp. and *Nothofagus aequilateralis*, microbial communities from Tiébaghi Massif are structured by *Acacia spirobis*.

This research enabled us to improve our knowledge of microbial communities from different ecosystems on New Caledonian ultramafic substrates, as well as the interactions which exist between these microorganisms and biotic and abiotic factors. Results obtained showed that each plant formation and each site possessed its own microbial community, hence the interest in conserving and protecting New Caledonian ecosystems. Moreover, these works also showed the capacity of bacterial and fungal communities to be used as bio-indicators, and more particularly fungal communities which are more sensitive to disturbance and plant cover variations. It has also been demonstrated that in monospecific maquis and rainforests, ectomycorrhizal communities have similar functions in the production of degradative enzymes of organic matter. This research improved understanding of microbial communities associated with plant formations on ultramafic substrates as well as structuring factors. This should improve the implementation of future restoration projects on these ecosystems.

Ce travail de thèse a été effectué au sein de l'**Axe II « Diversité biologique et fonctionnelle des écosystèmes terrestres »**

Il a bénéficié de :

- l'accès à la Plateforme du Vivant de la Nouvelle-Calédonie (**IAC, IFREMER, IPNC, IRD, UNC**)

-l'appui de l'équipe de Jeff Powell du Hawkesbury Institute for the Environment de l'**University of Western Sydney**

Ce travail a été financé par :

- une bourse d'Encouragement à la Recherche, d'une durée de trois ans, délivrée par le **Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie**;

- des compléments de bourse et des frais de fonctionnement propres à l'**Institut Agronomique néo-Calédonien**;

- d'une convention de partenariat de recherche de la **Société Le Nickel (SLN)**.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Avant toutes choses, je tiens à remercier le Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie pour sa bourse d'enseignement à la recherche ainsi que la SLN, plus particulièrement Claire Guenier, pour leurs financements mais aussi leur assistance tout au long de ces trois années et demi de thèse.

Merci aussi à Christian Montagnat pour nous avoir aidé à entrer sur la mine de Kopéto et à ne pas nous y perdre. Merci à Joseph Manauté de nous avoir permis de travailler dans le Parc Provincial de la Rivière Bleue, et pour finir merci à Jérôme Payet qui nous a aidé lors de notre passage sur la mine de Tiébaghi.

Un grand merci aussi à Mr Papineau et Mr Fernandez pour nous avoir permis de loger au vieux village de Tiébaghi pendant notre mission.

Je tiens aussi à remercier l'équipe de Botaenvironnement (Alexandre Lagrange, Céline Chambrey) pour avoir réalisé les inventaires floristiques de Kopéto et de la Rivière Blanche.

Un grand merci à l'équipe d'Ecorce (notre regretté Charly Zongo, Romain Mathieu et Casimir Véa) pour leur participation à la mission de Tiébaghi et pour leurs identifications des espèces végétales. On a passé de très bons moments grâce à vous sur le site de Tiébaghi.

Merci à toute l'équipe IAC de l'IRD, Kelly Letellier, Sarah Gigante, Géraldine Bidau, Julia Soewarto, Julien Demenois, Anne Houlès, Mélanie Lelièvre, pour la bonne ambiance au bureau, les goûters, petit-déj, mais aussi pour votre soutien et votre aide, en particulier Sarah et Kelly qui ont courageusement souffert sur la Rivière Blanche pour me rapporter mes sacs de terre.

Bien sur, merci à Laurent Maggia (grand chef) et Fabian Carriconde (Petit chef) pour leurs soutiens, leurs encouragements, leurs corrections tout au long de cette thèse, sans eux je n'aurais pas réussi à la finir !

Et n'oublions pas l'équipe de l'unité SARA : Anthony Pain, Alexandre Bouarat, René Guiglion et Hippolyte Lenoir pour leurs aides lors de nos excursions sur le terrain. On en a bavé sous la pluie à Kopéto avec Alexandre et Hippolyte !! Hippolyte, plus jamais je ne te ferais confiance pour nous faire sortir d'une forêt : il nous a fallu 1h et on a traversé toute la formation avant de ressortir à l'opposé de là où nous étions sensés sortir. Et Alex qui attire la pluie ! Toutes ces expéditions sous la pluie on te les doit ! René qui malgré sa goutte à bien crapahuté en forêt avec nous ! Je vous dis un grand merci à vous tous, les gars, car je sais que mes terrains étaient loin d'être les plus faciles et que tirer les fils et recommencer de nombreuses fois car il nous manquait toujours plusieurs mètres étaient très frustrant. Vraiment, merci beaucoup.

Je tiens aussi à remercier Laurent Millet pour m'avoir laissé travailler sur la Plateforme du Vivant, et Jeff Powell et toute son équipe de l'Institut for Environment de l'University of Western Sydney, qui m'ont accueillie comme un membre de leurs équipes et m'ont aidée dans l'analyse bioinformatique des données Illumina. Merci à Jeff de m'avoir convié à manger

chez lui et merci à Coleen et Rowan ainsi qu'au reste de l'équipe pour leur bonne humeur lors des réunions du mercredi matin.

Merci aussi à l'IRD : Maureen, Quiterie, Jérémy pour leur soutien et les bons moments passés lors des divers modules que l'on a partagé, ainsi qu'à Camille Pasquet du PPME et à Brian et Magalie pour les nombreuses pauses café passées ensemble.

Merci à Charlotte pour les pauses café et les soirées kiz passées ensemble, tu m'as permis de me changer les idées pendant ces dernières années. Merci aussi à Benjamin.

Un merci très spécial à Laurent Bordez : je ne te remercierai jamais assez de ton aide en statistiques. Tu as toujours répondu présent et avec bonne humeur à toutes mes demandes malgré le fait que tu sois très occupé.

Merci à vous aussi Simon et Thomas.

Un merci particulier à Hubert, Guillaume et Aurélie qui m'ont servi de cobaye pour ma présentation à mon comité de thèse, ainsi qu'aux repas en famille qui m'ont permis de me changer les idées.

Un merci aussi à tous les bénévoles de l'aquarium ainsi qu'à l'équipe pédagogique et aquariophilie de l'aquarium des Lagons. J'ai adoré être bénévole avec vous et m'occuper des nocturnes et autres manifestations. Le meilleur moment c'était quand même après lors de l'apéro, moments où on a tous bien déconné.

Pour finir, je ne pourrais pas terminer sans remercier mes parents, mes sœurs et mon frangin pour leur soutien tous au long de ces trois ans et demi. Merci d'avoir cru en moi et de m'avoir soutenu aussi bien moralement que financièrement. Promis maintenant j'arrête les études et je me trouve un boulot mieux payé, peut être aux USA je l'espère. Bisous à vous 5. Je vous aime.

Voilà enfin la fin de trois longues années de labeur. Je suis contente d'avoir réussi à aller jusqu'au bout de ce que je m'étais promis. Maintenant, une nouvelle page s'ouvre j'espère aussi riche que celle que je tourne.

A Charly Zongo partie trop tôt.

AVERTISSEMENT

Le contenu de cette thèse est bilingue. L'introduction générale, le matériel et méthodes général, le chapitre 3 ainsi que la conclusion générale sont rédigés en français. Les chapitres 1 et 2 présentent deux articles scientifiques rédigés en anglais, dont l'un a été soumis à Plos One et accepté avec révisions majeures et l'autre est en cours de finalisation pour soumission à Fungal Ecology.

WARNING

The content of this thesis is bilingual. The main introduction, the main material and methods, the chapters 3 and the main conclusion are written in French. The chapters 1 and 2 present two scientific articles written in English, one has been submitted in Plos One and accepted with major revisions and the other is in process of finalisation for submission to Fungal Ecology.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
1. Microorganismes du sol	1
1.1. Abondance et diversité des microorganismes du sol	1
1.2. Facteurs structurant les microorganismes du sol.....	3
1.3. Rôles des bactéries et champignons dans les dynamiques et successions végétales.....	4
2. La Nouvelle-Calédonie	6
2.1. Localisation	6
2.2. Climat.....	7
2.3. Biodiversité calédonienne	7
2.4. Histoire géologique.....	9
2.5 Substrats ultramafiques.....	10
2.6. Indicateurs biologiques d'état et de dynamique en vue de la conservation et la restauration écologique	12
3. Objectifs du travail de thèse.....	13
MATERIELS ET METHODES	15
1. Critères de sélection des sites d'études	15
2. Sites d'études.....	16
3. Les Formations végétales étudiées	19
4. Parcelles.....	23
5. Relevés phytosociologiques des parcelles.....	24
6. Echantillonnage du sol	25
7. Analyse physico-chimique du sol.....	25
8. Détermination de la diversité en microorganismes	27
8.1. Broyage.....	27
8.2. Extraction de l'ADN total	27
8.3. Amplification de l'ADN génomique total et séquençage par Illumina MiSeq	28
8.4. Analyses bioinformatiques	29
7.6. Analyses statistiques.....	30
CHAPITRE I.....	32
CHAPITRE 2.....	99
CHAPITRE 3.....	139
1. INTRODUCTION	139
2. MATERIELS ET METHODES	143
2.1. Site d'étude, échantillonnage, amplification et séquençage	143
2.2. Analyse bioinformatique	143
2.3. Analyses des données.....	143
3. RESULTATS	144
3.1. Analyse bioinformatique	144
3 .2. Diversité microbienne.....	145
3.2. Structure de la communauté.....	148
3.3. Espèces végétales structurant la communauté microbienne du sol.....	151
4. DISCUSSION.....	154
5. CONCLUSION	155
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	157
1. Communautés microbiennes des substrats ultramafiques de Nouvelle-Calédonie	157

2. Effets des champignons ectomycorhiziens sur la composition des communautés de champignons saprophytes	158
3. Etude d'un cas particuliers: le Massif de Tiébaghi	159
REFERENCES	161
ANNEXES	173
METHODES DE NGS	173
1. 454 Roche ou Pyroséquençage.....	173
2. Illumina	177
3. SOLiD.....	180

LISTE DES FIGURES

INTRODUCTION GENERALE

Figure 1: Localisation de la Nouvelle-Calédonie dans le Pacifique Sud-Ouest (A). Archipel de la Nouvelle-Calédonie avec représentés en rouge les substrats ultramafiques (B).

Figure 2 : Cartes de répartition de la forêt humide (A) et sèche (B) avant l'arrivée des premiers européens et aujourd'hui. (D'après Jaffré et al., 1997).

Figure 3: Répartition du substrat ultramafique sur l'ensemble du territoire calédonien avec les noms des différents massifs d'ultramafismes.

MATERIELS ET METHODES

Figure 4 : Répartition des quatre sites d'études indiqués par des points rouges. Les substrats ultramafiques sont représentés en gris.

Figure 5. Représentation des différentes formations végétales étudiées. (A) Maquis ligno-herbacé, (B) Maquis arbustif, (C) Maquis dominé par *Tristaniopsis* spp., (D) Maquis arbustif développé, (E) Maquis paraforestier, (F) forêt monodominante à *Arillastrum gummiferum*, (G) forêt monodominante à *Nothofagus aequilateralis* et (H) forêt mixte.

Figure 6: Localisations des parcelles sur chaque site d'étude. A : Kopéto, B : Rivière Blanche, C: Bois du Sud et D : Tiébaghi. Points noirs : formations dominées par les *Cyperaceae*, jaunes : maquis à *Tristaniopsis* spp., rouges : forêts dominées par *N. aequilateralis*, violets : forêts mixtes, verts : forêts dominées par *gummiferum*, roses : maquis arbustifs, marrons : maquis arbustifs développés et bleus : maquis paraforestiers. (Source orthophotos : D.I.T.T.T., Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie).

Figure 7 : Quadrillage des parcelles de 20m x 20m. En rouge figurent les 25 points de prélèvements de sol.

CHAPITRE 1

Figure 1: Location of New Caledonia archipelago in the South West Pacific (A), and repartition of ultramafic substrates (in grey) in New Caledonia (B). The two study sites are represented by red dots.

Figure 2: Non-MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarity for bacterial community (A) and fungal community (B). K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S= sedge-dominated formation (in black), Mq = *Tristaniopsis* spp maquis (in yellow), Na = N. aequilateralis monodominant rainforest (in red), M = mixed rainforest (in purple). Ellipses represent the 0.95 standard error calculated for each plant formation at each site.

Figure 3: Distance-based Redundancy Analysis (dbRDA) of bacterial (A) and fungal (B) communities and floristic composition. Cuno.mac = *Cunonia macrophylla*, Tabe.cer = *Tabernaemontana cerifera*, Cten.las = *Ctenopteris lasiostipes*, Poly.pan = *Polyscias pancheri*, Ptis. att = *Ptisana attenuata*, Tris. gla = *Tristaniopsis glauca*, Grev. Gil.var.gil = *Grevillea gillivrayi* var. *gillivrayi*, Bass. Gra = *Basselinia gracilis* and Noth. aeq = *Nothofagus aequilateralis*, Grev. gil = *Grevillea gillivrayi*, Codia. spa = *Codia spatulata*, Panc. Sp1 = *Pancheria* sp1, Cost. com = *Costularia comosa*, Meio. tie = *Meiogyne tiebaghiensis*, Becc. bau = *Beccariella baueri* and Gymn. cha = *Gymnostoma chamaecypris*.

Figure 4: Distance-based Redundancy Analysis (dbRDA) of (A) bacterial and (B) fungal communities and edaphic parameters.

Figure 5: Scatter plots and trending curves between bacterial and fungal communities at Kopéto site (A) and Rivière Blanche site (B).

Figure Supplémentaire 1: Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) plot based on pairwise Bray-curtis dissimilarities between plant communities. Sites: K = Kopéto, RB = Rivière Blanche; Plant formations: S= Sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp maquis, Na = *N.aequilateralis* Monodominant rainforest, M = Mixed rainforest. Ellipses represent 0.95 standard error limits for each plant formation per site.

Figure Supplémentaire 2: Orthophotos representing the repartition of the 20m x 20m plots in (A) Kopéto site and (B) Rivière Blanche site. Each plant formation is represented by a colour: Sedge-dominated formation in black, *Tristaniopsis* spp. maquis in yellow, *N.aequilateralis* monodominant rainforest in red and mixed rainforest in purple. For each plot, names are related to study site: K = Kopéto, RB= Rivière Blanche; the number of the plots in the same plant formation: P1-P4 = Plot 1 to 4; and the plant formation: S = Sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp. maquis, Na = *N.aequilateralis* monodominant rainforest, M = mixed rainforest.

Figure Supplémentaire 3: Scheme representing the grid of 20m by 20m installed in each plot. A soil core was collected at each sampling point (red dots) and grouped together to create a composite sample per plot.

Figure Supplémentaire 4: Percentage of bacterial (A) and fungal phylum (B) for each plant formation per site.

Figure Supplémentaire 5: Rank-abundance diagrams with indication of genera affiliation for the most abundant bacterial OTUs for each plant formation per site. (A) Kopéto sedge-dominated formation; (B) Kopéto *Tristaniopsis* spp. maquis; (C) Kopéto *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (D) Kopéto mixed rainforest; (E) Rivière blanche sedge-dominated formation; (F) Rivière Blanche *Tristaniopsis* spp. maquis; (G) Rivière Blanche *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (H) Rivière Blanche mixed rainforest.

Figure Supplémentaire 6: Rank-abundance diagram with indication of genera affiliation for the most abundant fungal OTUs for each plant formation per site. (A) Kopéto sedge-dominated formation; (B) Kopéto *Tristaniopsis* spp. maquis; (C) Kopéto *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (D) Kopéto mixed rainforest; (E) Rivière blanche sedge-dominated formation; (F) Rivière Blanche *Tristaniopsis* spp. maquis; (G) Rivière Blanche *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (H) Rivière Blanche mixed rainforest.

Figure Supplémentaire 7: Rarefaction curves obtained from OTU distribution for bacterial (A and B) and fungal (C and D) datasets for Kopéto (A and C) and Rivière Blanche sites (B and D). With sedge-dominated formation in black, *Tristaniopsis* spp. maquis in yellow, *N.aequilateralis* monodominant rainforest in red and mixed rainforest in purple.

Figure Supplémentaire 8: Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarities between fungal communities in soil using the 210 sequences dataset. Plant formation names: K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S= sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp maquis, Na = *N. aequilateralis* monodominant rainforest, M = mixed rainforest. Ellipses represent the 0.95 standard error limit for each plant formation at each site.

Figure Supplémentaire 9: Principal Component Analysis performed from edaphic parameters of each plots.

CHAPITRE 2

Figure 1: (A) Location of New Caledonia archipelago in the South West Pacific. (B) Location of study sites (red dots) on ultramafic substrates (in grey).

Figure 2: Proportion of ectomycorrhizal and saprotroph fungi per plant formation. Numbers in each bar indicate number of sequences. On the top of each bar is indicated the ectomycorrhizal/saprotroph ratio value. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois

du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= Tristaniopsis spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= Nothofagus aequilateralis monodominant rainforest, Ag= Arillastrum gummiferum monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

Figure 3: Proportion of number of OTU of ectomycorrhizal and saprotroph fungi per plant formation. Numbers in each bar indicate the number of OUT. On the top of each bar is indicated the ectomycorrhizal/saprotroph ratio value. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= Tristaniopsis spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= Nothofagus aequilateralis monodominant rainforest, Ag= Arillastrum gummiferum monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

Figure 4: Representation of the abundance of each ECM lineage per plant formation.

Figure 5: Representation of richness (number of OTU) of each ECM lineage per plant formation.

Figure 6: The twenty more abundant ECM OTUs for each plant formations. The five first ECM lineage were represented in different colour in each plant formation. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= Tristaniopsis spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= Nothofagus aequilateralis monodominant rainforest, Ag= Arillastrum gummiferum monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

Figure 7: Non-MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarity for ECM fungal community. MqECM= Ectomycorrhized Maquis; MqNonECM = Non-ectomycorrhized Maquis; FECM = Ectomycorrhized rainforest; FNonECM = Non-ectomycorrhized rainforest

Figure 8: Non-MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarity for saprotroph fungal community. MqECM= Ectomycorrhized Maquis; MqNonECM = Non-ectomycorrhized Maquis; FECM = Ectomycorrhized rainforest; FNonECM = Non-ectomycorrhized rainforest

Figure Supplémentaire 1: Scheme representing the grid of 20m by 20m installed in each plot. A soil core were collected at each sampling points (red dots) and grouped together to create a composite sample for each plot.

Figure Supplémentaire 2: The twenty more abundant saprotroph OTUs for each plant formations. The five first fungal genera were represented in different colour in each plant formation. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= *Tristaniopsis* spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest, Ag= *Arillastrum gummiferum* monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

CHAPITRE 3

Figure 1 : Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordonnée après calcul de l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis sur la communauté bactérienne. L'ellipse indique l'erreur standard à 0.95. K =Kopéto, RB= Rivière Blanche, S= formation dominé par les Cyperaceae (en noir), Mq= Maquis à *Tristaniopsis* spp. (en jaune), Na= forêt à monodominance de *Nothofagus aequilateralis* (en rouge), M= forêt mixte (en violet), Arbustif= maquis arbustif de Tiébaghi (en marron), Developpe= maquis arbustif développé de Tiébaghi (en bleu) et Paraforestier= maquis paraforestier de Tiébaghi (en rose).

Figure 2 : Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordonnée après calcul de l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis sur la communauté fongique. L'ellipse indique l'erreur standard à 0.95. K =Kopéto, RB= Rivière Blanche, S= formation dominé par les Cyperaceae

(en noir), Mq= Maquis à *Tristaniopsis* spp. (en jaune), Na= forêt à monodominance de *Nothofagus aequilateralis* (en rouge), M= forêt mixte (en violet), Arbustif= maquis arbustif de Tiébaghi (en marron), Developpe= maquis arbustif développé de Tiébaghi (en bleu) et Paraforestier= maquis paraforestier de Tiébaghi (en rose).

Figure 3 : distance –based redundancy analysis (dbRDA) réalisé à partir de la communauté bactérienne et de la composition floristique. Les flèches indique les espèces végétales significatives.

Figure 4 : distance –based redundancy analysis (dbRDA) réalisé à partir de la communauté fongique et de la composition floristique. Les flèches indique les espèces végétales significatives.

ANNEXES

Figure 1: Méthode utilisée par Roche pour amplifier les copies d'ADN simple brins (ADNsb) à partir d'une librairie de fragment sur bille d'agarose. Un mélange de fragments d'ADN avec des billes d'agarose contenant les oligonucléotides complémentaires des adaptateurs en fin de fragments sont mélangé pour un ratio d'environ 1 :1. Le mélange est encapsulé par vortexage vigoureux dans des gouttelettes aqueuses qui contiennent les réactifs PCR entourées par de l'huile, et pipetté dans une plaque microtiter de 96 puits pour l'amplification par PCR. Les billes résultantes sont décorées avec approximativement 1 million de copies du fragment simple brin original, ce qui fournit un signal de force suffisante pendant la réaction de pyroséquençage qui suit pour détecter et identifier les événements d'incorporation de nucléotides (d'après Mardis ,2008).

Figure 2: Le séquençage Illumina par synthèse. La création de clusters par pont d'amplification est amorcée et les quatre nucléotides marqués par fluorescence et bloqué en 3'OH sont ajoutés dans les lignes de la cellule avec l'ADN polymérase. Un nucléotide est

ajouté aux clusters. Après l'étape d'incorporation, les nucléotides non-utilisés et les molécules d'ADN polymérase sont lavés et retirés, un tampon de scannage est ajouté dans les lignes de la cellule, et le système d'optique scanne chaque ligne de la cellule. Une fois l'imagerie complétée, il y a addition sur la cellule de produits permettant de cliver chimiquement les marqueurs fluorescents et le groupe bloquant le 3'OH, ce qui prépare les clusters pour un autre cycle d'incorporation de nucléotides fluorescents (d'après Mardis ,2008).

Figure 3 : (a) Séquençage médié par ligase du séquenceur SOLiD de Applied Biosystème. D'une manière similaire à l'émulsion PCR de Roche/454, les fragments d'ADN du séquençage par SOLiD sont amplifiés à la surface de billes magnétiques de 1µm pour fournir suffisamment de signal pendant les réactions de séquençage, et sont ensuite déposés sur lame de verre de la cellule. Le séquençage médié par ligase commence par l'hybridation d'une amorce partageant les séquences de l'adaptateur sur chaque fragment amplifié, ensuite l'ADN ligase est fourni avec des octamères marqués par un fluorochrome spécifique, dont les bases 4 et 5 sont encodées par le groupe fluorescent attaché. Chaque étape de ligation est suivie par une détection de la fluorescence, après laquelle une étape de régénération retire les bases de l'octamère ligé (incluant le groupe fluorescent) et prépare en même temps l'amorce étendue pour un autre tour de ligation. (b) Principe de l'encodage par 2 bases. Comme chaque groupe fluorescent est lié à un octamère dont la combinaison de 2 bases est identifiée, la lecture de la séquence résultante peut être triée par erreur de base versus vrai polymorphisme versus délétion d'une seule base en alignant les lectures individuelles à une séquence de référence de haute qualité (d'après Mardis ,2008).

LISTE DES TABLEAUX

MATERIELS ET METHODES

Tableau 1 : Description synthétique des quatre sites d'études.

Tableau 2 : Descriptif de chaque formation végétale étudiée. Les abréviations utilisées pour les sites et formations végétales sont présentées entre parenthèses.

Tableau 3 : Coefficient d'abondance-dominance de Braün-Blanquet

Tableau 4 : Analyses physico-chimique réalisées et les méthodes correspondantes.

Tableau 5 : Séquence des amorces utilisées pour l'amplification avec en rouge la queue flottante

CHAPITRE 1

Tableau 1: Number of OTU and representing percentage for most abundant phyla in bacterial and fungal datasets.

Tableau 2: Diversity indices: species richness (S), Chao index, Simpson index (1-D) and Pielou evenness (J) for bacteria and fungi estimated per plant formation. Standard errors are indicated between brackets.

Tableau 3: The effect of plant formation, site and their combination on the structure of bacterial and fungal communities revealed by PERMANOVA.

Tableau Supplémentaire 1: Number of sequences remaining after each analysis step for bacterial and fungal datasets.

Tableau Supplémentaire 2: Two-way ANOVA tables for the abundance of Basidiomycota for each pair of comparison.

Tableau Supplémentaire 3: Diversity indices: species richness (S), Chao index, Simpson index (1-D) and Pielou evenness (J) for bacteria and fungi estimated per plot.

Tableau Supplémentaire 4: Two-way ANOVA table for the effect of vegetation type, site, and their interaction on bacterial and fungal diversity indices (S: species richness, 1-D: Simpson index and J: Pielou evenness index)

Tableau Supplémentaire 5: Two-way ANOVA tables for species richness (S), Simpson index (1-D) and Pielou evenness index (J) for each pair of comparison. Bacteria results are presented in the bottom-half of the table and fungi in the top-half for the three tables.

Tableau Supplémentaire 6: The effect of plant formation, site and their combination on the structure of the 210 sequences fungal community dataset revealed by PERMANOVA.

Tableau Supplémentaire 7: Permutation tests in redundancy ordination for floristic composition.

Tableau Supplémentaire 8: Permutation test in redundancy ordination for edaphic parameters.

CHAPITRE 2

Tableau 1: Description of the plant formations investigated.

Tableau Supplémentaire 1: Number of sequences remaining after each analysis steps for fungal dataset.

Tableau Supplémentaire 2: The effect of dominance, formation, site and their combination on the structure of ectomycorrhizal and saprotroph communities revealed by PERMANOVA.

CHAPITRE 3

Tableau 1: Nombre de séquences restantes après les étapes d'analyse bioinformatique

Tableau 2: Richesse spécifique S (nombre d'OTU) pour les bactéries et champignons par parcelle et par formation végétale. K = Kopéto ; RB = Rivière Blanche; T = Tiébaghi ; S = formation dominée par les Cyperaceae ; Mq = maquis à *Tristaniopsis* spp. ; Na = forêt à

monodominance de *N. aequilateralis* ; M = forêt mixte ; MqA = maquis arbustif ; MqAD = maquis arbustif développé et MqP = maquis paraforestier.

Tableau 3: Résultats des ANOVA pour chaque paire de comparaison. En bas du tableau sont indiqués les résultats des bactéries et en haut les champignons. Le code de couleur indique la significativité. Jaune : $p > 0.05$, orange : $p > 0.01$ et rouge : $p > 0.001$. K = Kopéto ; RB = Rivière Blanche; T = Tiébaghi ; S = formation dominée par les Cyperaceae ; Mq = maquis à *Tristaniopsis* spp. ; Na = forêt à monodominance de *N. aequilateralis* ; M = forêt mixte ; MqA = maquis arbustif ; MqAD = maquis arbustif développé et MqP = maquis paraforestier.

Tableau 4: Résultat de la PERMANOVA réalisé sur chaque communauté microbienne pour les formations végétales, le site et l'interaction entre les deux. Df = degré de liberté ; SumOfSqs = somme des carrés ; MeanSqs = moyenne des carrés ; R^2 = variation observé et $\text{Pr}(> F)$ = valeur de significativité.

Tableau 5: Espèces végétales structurant significativement les communautés bactériennes et fongiques, obtenu par test de permutation. Df = degré de liberté, AIC= Critère d'information Akaike et $\text{Pr}(> F)$ = valeur de significativité.

ANNEXES

Tableau 1: Comparaison des trois plateformes de séquençage haut-débit (454, Illumina, SOLiD)

LEXIQUE

Amplicon : fragment d'ADN amplifié par PCR.

Carpophore : organe reproducteur des champignons

Champignon ectomycorhizien ou ECM : symbiose entre la racine d'une plante et un champignon, les hyphes ne s'infiltrant pas à l'intérieur des cellules racinaires mais constituant un manchon autour de la racine

Champignon endomycorhizien ou Mycorhize à Arbuscule (AM): symbiose entre la racine d'une plante et un champignon, les hyphes de ce dernier s'infiltrant à l'intérieur des cellules racinaires, dans l'espace intracellulaire.

Champignon saprophyte : organisme capable de se nourrir de matière organique non vivante, à la suite d'une réaction enzymatique libérant les nutriments présents dans la matière à ingérer.

Conspécifique : plante de la même espèce

Exsudat racinaire: Liquide excrété par les racines des végétaux et constitué d'eau, de sels minéraux, de glucides, d'acides organiques, d'acides aminés, d'enzymes, de vitamines...

Hétérospécifique : plante d'espèces différentes

Indicateur biologique : organisme (végétale, animal, fongique ou autre) ou groupe d'espèces, ou groupement végétal, dont la présence, ou l'état, renseigne sur certaines caractéristiques écologiques (physico-chimique, microclimatique, biologique, et fonctionnelle) de l'environnement

Métagénomique : étude des organismes, sans l'étape de culture in vitro, de l'ensemble des génomes présents dans les niches environnementales, les plantes ou les animaux hôtes

Monodominance : forêt où plus de 50% de la canopée est composée par une seule espèce végétale

Monospécifique : formation végétale constituée par une espèce

Mycelium : partie végétative des champignons, composée d'un ensemble de filaments, plus ou moins ramifiés, appelés hyphes

Obduction : phénomène géologique consistant par le chevauchement d'une croûte continentale sous une croûte océanique

Ophiolite : ensemble de roches appartenant à une portion de la plaque océanique, charriées sur une plaque continentale lors d'un phénomène d'obduction

Operational Taxonomic Unit (OTU) ou Unité Opérationnelle Taxonomique : Une OTU est un regroupement d'individus d'une même espèce dont les séquences d'ADN présentent une similitude de plus de 97,5%.

Paramètre édaphique : facteur lié aux caractéristiques géologiques et physico-chimiques du substrat

Péridotites : roches magmatiques constituants majeurs du manteau terrestre et principalement composées d'olivine et de pyroxènes

Réseau mycelien commun (CMN) : réseau constitué d'hyphes fongiques permettant le partage des ressources avec les espèces végétales associées à ce réseau

Restauration écologique : processus d'assistance à l'auto-régénération des écosystèmes qui ont été dégradés, endommagés ou détruits

Serpentinite : roche métamorphique constituée majoritairement de serpentine. Elle provient de l'altération d'une péridotite en présence d'eau

Subduction : processus géologique par lequel une plaque tectonique océanique s'incurve et plonge sous une autre plaque avant de s'enfoncer dans le manteau

Texture du sol ou granulométrie : quantité de sable, limon et argile

INTRODUCTION GENERALE

1. Microorganismes du sol

Le sol est un compartiment à double composantes biotiques et abiotiques. Il est essentiel aux bons fonctionnements de la biosphère en général et apporte de multiples ressources et services aux sociétés humaines. C'est un capital naturel générant des services écosystémiques en réponse à des besoins humains. Ces services sont traditionnellement classés en 4 catégories : services d'approvisionnements (e.g. production d'aliments pour l'homme, les animaux d'élevage et production de bois pour la construction ou l'énergie), services de régulation (e.g. stockage et régulation flux hydrique, recyclage des déchets), services culturels (e.g. esthétique des paysages, conservatoire de la mémoire et de l'empreinte humaine) et services d'auto-entretien ou de support (e.g. cycle de l'eau, cycle des nutriments,) (Walter et al., 2013). Le bon fonctionnement du sol est lié à la présence de différents organismes et microorganismes.

1.1. Abondance et diversité des microorganismes du sol

Le sol est considéré comme l'écosystème le plus riche en organismes tels que bactéries, champignons, virus, protozoaires. En moyenne, un gramme de sol peut contenir entre 10 millions à 1 milliard de bactéries, 100 000 à 1 million de champignons (ou environ cinquante kilomètres d'hyphes fongiques) et 10 000 à 60 000 protozoaires (Gobat et al., 2010; Jeffery et al., 2010; Leake et al., 2004). Les deux grands groupes de microorganismes que sont les bactéries et les champignons constituent à eux seuls 80 à 85% de la biomasse vivante du sol. Ces microorganismes du sol sont très diversifiés. Le nombre d'espèces bactériennes présentes sur terre oscillerait entre 600 000 et 6 milliards, or à date, seules 7 300 espèces ont été décrites et identifiées. Les champignons quant à eux seraient représentés par environ 1 à 5

millions d'espèces (Blackwell, 2011) dont seulement 100 000 ont été identifiés pour l'instant. Le problème majeur dans l'identification de ces espèces est dû à l'impossibilité de cultiver in vitro la plupart d'entre elles. En effet, moins de 1% des bactéries et 3% des champignons sont pour l'instant cultivables.

Dans les années 2000, de nouvelles techniques de séquençage, appelées séquençage à haut-débit, sont apparues (Margulies et al., 2005). Grâce à ces techniques de nouveaux domaines de recherche ont émergé tels que la métagénomique*. Le terme métagénome est apparu pour la première fois en 1998. Il définissait l'analyse fonctionnelle des génomes confondus de la microflore du sol (Handelsman et al., 1998). Par la suite, le terme de métagénomique a de plus en plus été employé et il est maintenant défini comme l'étude des organismes, exempt de culture in vitro, de l'ensemble des génomes présents dans les niches environnementales, les plantes ou les animaux hôtes (Petrosino et al., 2009). Le développement de ces techniques a permis une meilleure connaissance des communautés microbiennes des sols. Depuis, de nombreuses études ont analysé la diversité bactérienne des sols en étudiant les amplicons* d'ADNr 16S (Fierer and Jackson, 2006; Jiang et al., 2013; Lauber et al., 2009; Staley et al., 2013). D'autres se sont focalisées sur la diversité fongique des sols de forêts (ou agricoles) en s'intéressant aux amplicons des portions de l'espaceur intergénique transcrit, l'ITS (Jumpponen et al., 2010; Tedersoo et al., 2010b). Cependant, peu d'études ont été réalisées sur les communautés microbiennes des sols tropicaux, alors que d'après la théorie du gradient latitudinal (Gaston, 1996), les tropiques renfermeraient une plus grande richesse spécifique qu'ailleurs dans le monde. De plus, la diversité des communautés microbiennes et leurs structures apparaissent influencées par différents facteurs environnementaux.

1.2. Facteurs structurant les microorganismes du sol

Différents paramètres biotiques et abiotiques influent sur la structure des communautés de microorganismes du sol, tels que la diversité végétale, les paramètres édaphiques* ou encore les interactions entre les microorganismes eux-mêmes (Boer et al., 2005; Fierer and Jackson, 2006; Garbeva et al., 2004). L'effet structurant dû à la présence des plantes, sur les communautés microbiennes, procède de différents mécanismes. Les racines des plantes par exemple participent à cette structuration notamment à l'échelle de la rhizosphère en créant de nombreux microhabitats (Berg and Smalla, 2009). La composition de leurs exsudats*, substances chimiques excrétées par les racines, admettent des variations d'une espèce végétale à l'autre, et parmi eux certains auront la particularité d'être attracteurs vis-à-vis de certains types de microorganismes qui à leur tour se révéleront bénéfiques, ou non, à la plante (Broeckling et al., 2008; Haichar et al., 2008). Des symbioses s'opèrent également entre de nombreuses espèces végétales et certains microorganismes du sol (e.g. champignons mycorhiziens, bactéries fixatrices d'azote) (Dickie, 2007; He and Critchley, 2008; Martínez-García and Pugnaire, 2011; Zhang et al., 1991), ce qui influence aussi l'organisation et la composition des communautés microbiennes des rhizosphères concernées. Vivant au sein d'un même écosystème, les bactéries et champignons interagissent aussi entre eux et participent donc également à leurs structurations. Certaines bactéries vivent même sur les carpophores* de champignons ou sur du mycelium* et se nourrissent des composés chimiques qu'excrètent leurs hôtes (Danell et al., 1993; Mansfeld-Giese et al., 2002). Encore une fois, la composition des exsudats, bien que fongiques cette fois ci, pourra produire un effet attracteur sur certains groupes de bactéries bénéfiques aux développements de ces champignons (Boer et al., 2005; Frey et al., 1997). Parmi ces bactéries se trouvent les « Mycorrhiza Helper Bacteria » (MHB), qui ont la propriété de stimuler le développement de certains champignons

ectomycorhiziens (ECM)* (Duponnois and Plenchette, 2003; Frey-Klett et al., 2007; Garbaye, 1994).

Du côté des paramètres édaphiques, de la température, de l'humidité, ou de la texture* même du sol, d'autres effets structurants sur les communautés microbiennes des sols sont identifiables (Brockett et al., 2012; Meier et al., 2010; Schechter and Bruns, 2012). En effet, un sol argileux ou sableux est composé de nombreuses petites anfractuosités qui se révèlent être de véritables microhabitats pour les bactéries et les champignons qui les colonisent (Chiu et al., 2006; Hemkemeyer et al., 2015; Zaller et al., 2011). De même, ces microorganismes sont affectés par les variations de température et d'humidité, notamment à l'occasion des changements de saisons (Brockett et al., 2012; Habekost et al., 2008; Zhang et al., 2014). Par ailleurs, le pH du sol impacte également la diversité en microorganismes des sols et plus particulièrement celles des bactéries qui sont plus sensibles aux variations d'état de ce facteur que les champignons (Fierer and Jackson, 2006; Lauber et al., 2009; Rousk et al., 2010).

Enfin, il faut noter que si la structuration des communautés de microorganismes est influencée par leur environnement, en retour, ces communautés agissent elles aussi sur la structuration générale des écosystèmes qu'ils fréquentent.

1.3. Rôles des bactéries et champignons dans les dynamiques et successions végétales

Les microorganismes du sol sont des acteurs importants intervenant dans la dynamique des communautés végétales (Knelman et al., 2012). Ils sont en effet très fortement impliqués dans la reprise des dynamiques végétales des écosystèmes dégradés, voire totalement à nu (e.g. après un incendie, une activité minière ou une éruption). Leurs contributions à l'enrichissement des sols en azote et carbone favorise la recolonisation

naturelle des espaces dégradés par des espèces végétales (Jangid et al., 2013; Knelman et al., 2012). Ainsi, au fur et à mesure de l'enrichissement des sols par les microorganismes et les plantes (Cázares et al., 2005), les communautés microbiennes et végétales évoluent et se diversifient, mettant en place de nouvelles dynamiques spatiales et temporelles à l'échelle des écosystèmes concernés (Tarlara et al., 2008).

La présence de certains microorganismes dans le sol peut entraîner le développement de faciès végétaux particuliers comme par exemple ceux des forêts monodominantes (Torti et al., 2001). Dans les forêts, qu'elles soient boréales, tempérées ou tropicales, certaines espèces végétales sont connues pour former des groupements quasi monospécifiques*. Sous les tropiques, ce type de forêt est nommée forêts monodominantes*. Les espèces végétales constitutives de ces forêts sont fréquemment associées à des champignons ectomycorhiziens (Gross et al., 2000; Hart, 1990). La symbiose ectomycorhizienne constitue l'une des hypothèses expliquant le maintien de ce type de forêt (Hart, 1990; Hart et al., 1989; Peh et al., 2011). Environ 75% des espèces végétales (Brundrett, 2009) sont associées à des champignon endomycorhizien (AM)* et seulement 2% avec des ECM. Les ECM contrairement aux AM auraient une croissance plus grande et une reprise plus rapide en cas de destructions des hyphes. Ils possèdent et expriment aussi des gènes impliqués dans la dégradation des polymères organiques permettant une plus grande acquisition de ressources organiques. La présence de champignon ECM et du réseau ectomycorhizien commun (CMN)* favoriseraient le recrutement des plantules conspécifiques, aux dépend d'hétérosécifiques (McGuire, 2007). Par ailleurs, les champignons ECM inhibent le développement des champignons saprophytes* entraînant une baisse du taux de décomposition de la litière et, à terme, une accumulation de celle-ci (McGuire et al., 2010), jusqu'à un seuil où cela deviendrait préjudiciable à l'installation d'autres espèces végétales, créant une réelle barrière physique entre la graine et le sol (Torti et al., 2001).

2. La Nouvelle-Calédonie

2.1. Localisation

La Nouvelle-Calédonie est un archipel localisé dans le Pacifique Sud-Ouest (en Mélanésie) à 1500 km à l'Est de l'Australie et à 2 000 km au Nord de la Nouvelle-Zélande (Figure 1). Elle est formée d'une île principale, la « Grande Terre » et de plusieurs îles dont les Belep à l'extrémité Nord, l'île des Pins à l'extrémité Sud, les îles Loyauté (Ouvéa, Maré, Lifou et Tiga) à l'Est, et les îles Chesterfields plus loin à l'Ouest. L'île principale d'une superficie de 18 575 km², s'étend du Nord-Ouest au Sud-Est sur près de 450 km de long et 40 à 70 km de large. Elle est entourée d'un récif corallien de 1600 km de long. La Grande Terre est traversée sur toute sa longueur par une chaîne montagneuse culminant au Nord-Est au Mont Panié à 1628 m. Cette formation montagneuse sépare l'île en deux « zones », la Côte Est et la Côte Ouest possédant chacune des caractéristiques propres. La Côte Est, exposée aux Alizées est plus humide avec une végétation plus dense et des pentes plus abruptes. Par comparaison, la Côte Ouest, sous le vent, est plus découpée, plus sèche et présente de larges plaines favorables à la culture et à l'élevage, alternées avec des massifs miniers.

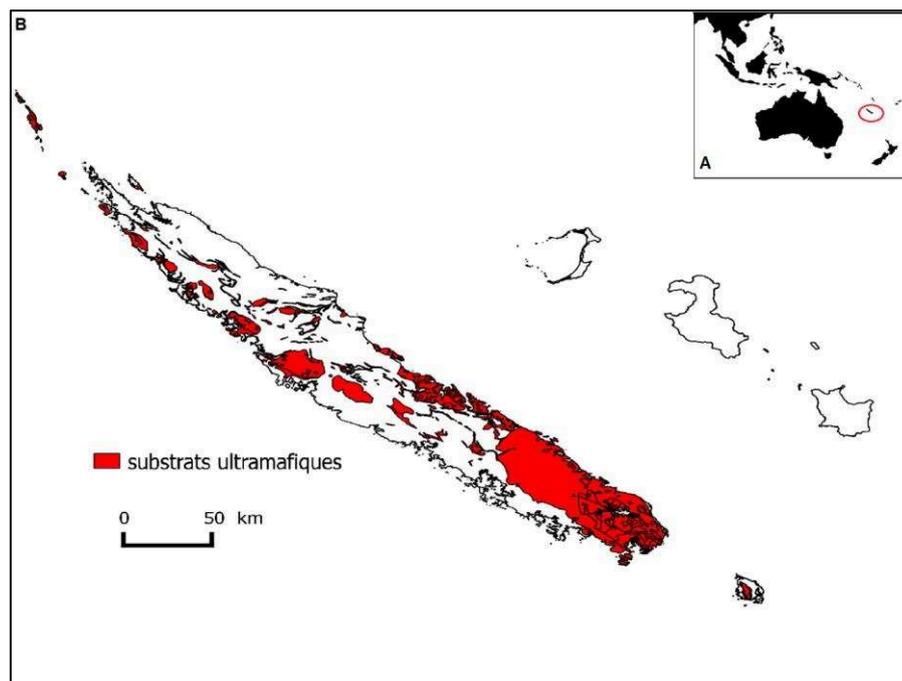


Figure 1: Localisation de la Nouvelle-Calédonie dans le Pacifique Sud-Ouest (A). Archipel de la Nouvelle-Calédonie avec représentés en rouge les substrats ultramafiques (B).

2.2. Climat

La Nouvelle-Calédonie possède un climat subtropical. La température moyenne annuelle est d'environ 23,5°C. La pluviométrie annuelle est de 1700 mm avec de très fortes variations pouvant atteindre moins de 1000 mm pour certaines zones de la Côte Ouest et plus de 4000 mm au niveau des sommets les plus élevés. Deux saisons et intersaisons peuvent être distinguées. C'est ainsi qu'une saison chaude et humide, appelé aussi été austral, s'étendant de mi-novembre à mi-avril, est définie par des températures maximales entre 28 et 32°C et un fort taux d'humidité. Puis une saison sèche de transition s'installe entre mi-avril et mi-mai, période pendant laquelle les précipitations diminuent et les températures peuvent atteindre 20 à 25°C. Celle-ci est suivie par une saison froide, appelée hiver austral, qui s'étend de mi-mai à mi-septembre avec des températures comprises entre 15 et 25°C et une pluviométrie faible. Enfin, une saison sèche de transition ayant lieu entre mi-septembre et mi-novembre avec des températures comprises entre 18 et 26°C et de très faibles précipitations. Selon les années les variations saisonnières peuvent être très importantes comme par exemple en période de phénomène El-niño (ENSO).

2.3. Biodiversité calédonienne

Le terme « hotspot » de biodiversité est apparu pour la première fois en 1988 (Myers, 1988). Un hotspot de biodiversité est une zone géographique présentant une exceptionnelle concentration d'espèces (appartenant aux plantes vasculaires et aux 4 groupes de vertébrés : mammifères, oiseaux, reptiles et amphibiens) avec un fort taux d'endémisme et soumis à une perte d'au minimum 70% de sa végétation originelle. Selon ces critères, en 2000, 25 hotspots

ont été définis. La Nouvelle-Calédonie est l'un d'entre eux. Ce territoire possède à lui seul 3352 espèces de plantes dont 2551 endémiques (Myers et al., 2000), soit 0,9% de la totalité des espèces mondiales répertoriées, 190 espèces de vertébrés avec 84 d'entre-elles endémiques, et celui-ci a subi une perte de 72% de sa forêt primaire, passant de 18 600 km² à 5 200 km² (Myers et al., 2000). D'après l'organisation « Conservation International », la Nouvelle-Calédonie est un des lieux les plus riches de la planète en terme de biodiversité, et aussi un des endroits où la diversité est le plus menacée (Bequette, 1997). Elle possède un des plus haut taux d'endémisme chez les plantes vasculaires (74%) (Jaffré et al., 2001a).

La Nouvelle-Calédonie est fortement menacée par l'exploitation minière qui s'est développée depuis le 19^{ème} siècle. Dans les premiers temps, les sols et roches de déblaiement, considérés comme des « stériles » par l'exploitation minière, étaient repoussés dans les pentes, entraînant des dégradations dans les écosystèmes avoisinants. Même si aujourd'hui des efforts sont réalisés de la part des miniers pour limiter l'impact de leurs exploitations sur les écosystèmes, il reste cependant indéniable que le développement des mines demeure l'une des principales perturbations environnementales en Nouvelle-Calédonie (Pascal et al., 2008). L'exploitation forestière très développée au début du 20^{ème} siècle dans le grand Sud a elle aussi été responsable de la disparition d'une grande partie de la forêt humide néo-calédonienne (Bequette, 1997). Avant l'arrivée des premiers colons, les forêts humides recouvraient près de 70% du territoire (Jaffré et al., 1997), aujourd'hui seul 15% persistent encore soit 4000 km² (Figure 2A). La forêt humide possède un taux d'endémisme d'environ 80% (Jaffré et al., 2009) et abrite plus de 2000 espèces végétales (Isnard et al., 2016). Des réserves ont été créées pour protéger et préserver une partie de ces forêts. Deux de ces réserves sont aujourd'hui des Parcs Provinciaux (le Parc de la Rivière Bleue et le Parc des Grandes Fougères), les autres réserves provinciales existantes ne sont pas ouvertes aux publics et sont d'un accès restreint. La deuxième cause de destruction de la biodiversité

calédonienne est due à un des effets de l'activité humaine, les incendies. A lui seul, le feu détruit en moyenne 50 000 hectares de végétation par an. Il est avec le développement de l'agriculture, une des causes principales de la disparition de la quasi-totalité de la forêt sèche calédonienne. Avant la colonisation, la forêt sèche recouvrait sur la Côte Ouest environ 30% du territoire, soit 4 500 km², aujourd'hui, seul 1% (45 km²) de cette forêt subsiste (Figure 2B) (Gillespie and Jaffré, 2003). Il s'agit d'un des écosystèmes les plus menacés de la planète (Bouchet et al., 1995). Il abrite 456 espèces de plantes vasculaires dont 252, soit 57,5% sont endémiques (Gillespie and Jaffré, 2003). Ces forêts possèdent une faune diversifiée, composée d'insectes, de gastéropodes, de reptiles et d'oiseaux. Cet écosystème est caractérisé par une adaptation remarquable à la sécheresse. Il ne possède cependant que de faibles capacités colonisatrices (Gillespie and Jaffré, 2003). Les forêts sèches sont extrêmement fragmentées et sensibles aux introductions d'espèces envahissantes. Ces invasions menacent fortement la survie des espèces d'origines qui y sont inféodées (Gillespie and Jaffré, 2003).

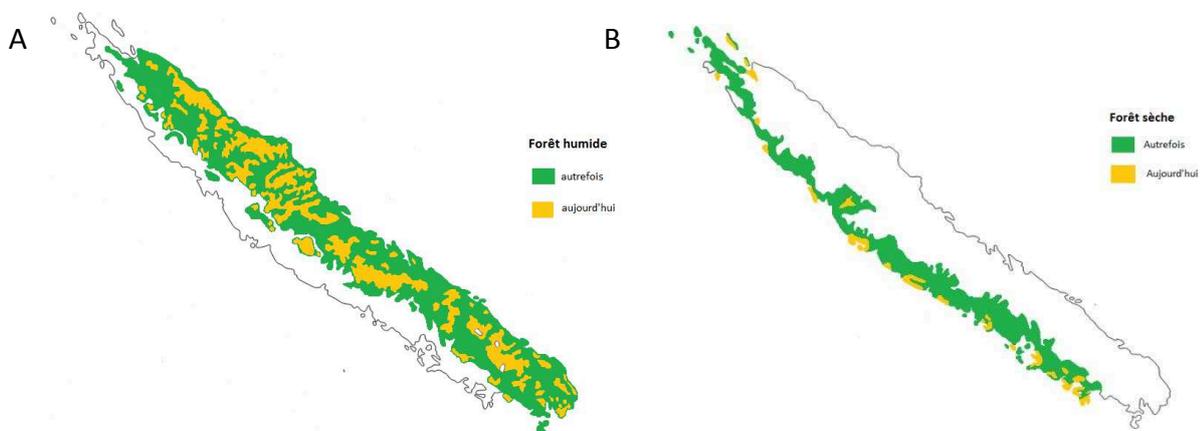


Figure 2 : Cartes de répartition de la forêt humide (A) et sèche (B) avant l'arrivée des premiers européens et aujourd'hui. (D'après Jaffré et al., 1997)

2.4. Histoire géologique

Il y a environ 90 millions d'années, à la fin du Crétacé supérieur, la Nouvelle-Calédonie s'est séparée du Gondwana et a dérivé vers l'Est avec la Nouvelle-Zélande. Lors de

l'Eocène, une collision entre les plaques Pacifique et Indo-Australienne (sur laquelle est située la Nouvelle-Calédonie) a entraîné la submersion totale de l'île. La faible densité de la Nouvelle-Calédonie a ainsi bloqué le mécanisme de subduction* entraînant une obduction* de la plaque Océanique sur la plaque Pacifique, et un fragment de croûte océanique et de la partie supérieure du manteau va recouvrir la majorité de la surface de la Grande Terre (Cluzel et al., 2012; Pelletier, 2006). Ces ophiolites* sont à l'origine des substrats ultramafiques et leurs altérations est à l'origine des massifs de roches ultramafiques. L'émersion finale de la Nouvelle-Calédonie a lieu lors de l'Eocène supérieur, vers -37 millions d'années, et cette nouvelle émergence permet une recolonisation de l'île alors vierge de toute vie

2.5 Substrats ultramafiques

2.5.1 Définition et composition

Les péridotites* constituant les substrats ultramafiques possèdent des teneurs très faibles en aluminium, calcium et potassium, ainsi que des taux très élevés en magnésium (40%) et fer (6-8%). Elles sont aussi très riches en métaux comme le nickel (0,3%), le chrome (0,6%), le cobalt (0,2%) et le manganèse (0,3%) généralement classés parmi les éléments traces des roches. Du fait de ces caractéristiques chimiques, les sols ultramafiques sont naturellement déficients en azote, phosphore, potassium, calcium, et fortement déséquilibré dans leur ratio Ca/Mg. Ils présentent également une faible capacité de rétention d'eau et possèdent des concentrations en magnésium biodisponible et métaux lourds (nickel, chrome et cobalt) potentiellement toxiques pour les plantes (harrisson and rajakaruna, 2011). En Nouvelle-Calédonie, les péridotites constituent la roche mère ultramafique des gisements nickélifères. Selon leurs profondeurs ou leurs caractéristiques physico-chimiques, plusieurs types de sols peuvent être distingués au sein de ces péridotites. Les sols appelés « terres rouges » correspondent aux péridotites altérées des climats chauds et humides alors que les

sols bruns hypermagnésiens correspondent aux serpentinites*. Les « terres rouges », appelés aussi latérites ou sols ferrallitiques ferritiques, sont les sols les plus communs des massifs calédoniens. Ils sont caractérisés par des fortes teneurs en nickel, chrome et cobalt. Les sols bruns hypermagnésiens se retrouvent généralement à la base des massifs, et sont caillouteux et peu épais. Ils sont riches en magnésium, d'où leurs noms. Leurs teneurs en nickel et manganèse sont variables (L'Huillier et al., 2010).

2.5.2. Répartition géographique

Malgré une faible représentation à l'échelle mondiale, les roches ultramafiques sont cependant présentes sur tous les continents en plus ou moins grandes proportions (Brooks, 1987). En Nouvelle-Calédonie, ces roches recouvrent 30% de l'ensemble du territoire, soit 5 500 km². Elles s'étendent de la Grande Terre aux Iles Belep au Nord et à l'Ile des Pins au Sud. Elles sont réparties en plusieurs massifs dont le plus important est celui du Sud représentant à lui seul 3 015 km², et appelé Massif du Grand Sud. Il s'étend du Sud jusqu'à Kouaoua sur la Côte Est. Au total, ce massif occupe 43% de la Province Sud (Figure 3). Le long de la Côte Ouest, les substrats ultramafiques sont fragmentés en petits massifs isolés répartis du Nord du Massif du Sud jusqu'à l'extrémité Nord de la Grande Terre.

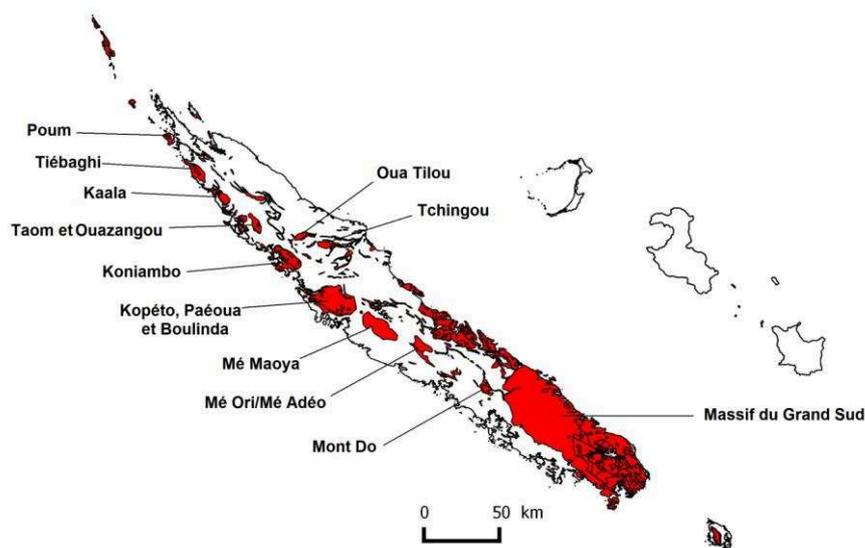


Figure 3: Répartition du substrat ultramafique sur l'ensemble du territoire calédonien avec les noms des différents massifs d'ultramafismes.

2.6. Indicateurs biologiques d'état et de dynamique en vue de la conservation et la restauration écologique

La restauration écologique* est définie comme le processus assistant l'autoréparation d'un écosystème dégradé, endommagé ou détruit (Society for Ecological Restoration international, SER 2002). Les microorganismes peuvent être utiles en restauration notamment dans le but d'améliorer la croissance des plantes utilisées (Laminou Manzo et al., 2009; Sarasin, 2011). En Nouvelle-Calédonie, la restauration impliquant l'utilisation de microorganismes est peu utilisée. Quelques essais réalisés sur substrats ultramafiques, ont fait appel à l'utilisation d'endomycorhizes afin de favoriser la croissance de certaines espèces végétales endémiques utilisées en restauration (e.g. *Costularia comosa*)(Amir et al., 2013; Lagrange et al., 2011).

Dans le cadre de la conservation des écosystèmes menacés, l'élaboration et l'utilisation d'indicateurs biologiques sont nécessaires. Un indicateur biologique*, ou bio-indicateur, est un organisme ou un groupe d'organismes, dont la présence, ou l'état, renseigne sur certaines caractéristiques environnementales (physico-chimique, microclimatique, biologique, et fonctionnelle). Les bio-indicateurs sont sensibles aux modifications de l'environnement. Les fourmis sont par exemple, communément utilisées comme bio-indicateur de la santé des sols agricoles (Peck et al., 1998) ou pour appréhender le succès de la restauration (Andersen, 1993; Andersen and Sparling, 1997; Ottonetti et al., 2006). L'activité enzymatique des microorganismes du sols sert également de bio-indicateur pour mesurer l'efficacité de la restauration écologique (Izquierdo et al., 2005), ainsi que la biomasse microbienne pour définir l'état de santé des sols (Ndiaye et al., 2000). Les communautés microbiennes du sol font de bon bio-indicateurs du fait de leurs capacités à rapidement évoluer en fonction des

perturbations environnementales subies (Harris, 2009). En Nouvelle-Calédonie, ce type d'indicateur n'a pour l'instant jamais été utilisé en restauration et est en cours de développement. La Nouvelle-Calédonie, de par son statut de hotspot de biodiversité, est un terrain où le développement d'outils pour la restauration et la conservation est impératif. Il est donc nécessaire de mettre en place des bio-indicateurs spécifiques de chaque écosystème présent afin de mieux les protéger contre les dégradations possibles et de mieux prédire leurs trajectoires évolutives.

3. Objectifs du travail de thèse

La Nouvelle-Calédonie, en tant que hotspot de biodiversité, possède une faune et une flore riches et endémiques qui sont fortement menacées. Sur les substrats ultramafiques, les écosystèmes sont dégradés par l'activité minière qui décape les sols et les laisse à nu après extraction des minerais. Après exploitation, les sociétés minières ont aujourd'hui pour obligation de restaurer les milieux impactés par leurs activités. Or, la difficulté première dans la restauration des écosystèmes concernés repose sur le manque de connaissance du fonctionnement de ces milieux, notamment ceux qui sont essentiels à une meilleure compréhension de leurs dynamiques végétales. De plus, les substrats ultramafiques sont des milieux contraignants où la réimplantation végétale est lente et difficile. Il est donc nécessaire d'améliorer les connaissances de ces milieux, plus particulièrement celles axées sur le fonctionnement des interactions impliquant les bactéries, les champignons, les sols et les plantes, au bénéfice du rétablissement de leurs dynamiques. Les microorganismes restent jusqu'à présent peu connus malgré leurs rôles prépondérants dans le fonctionnement des écosystèmes. L'identification des communautés microbiennes, ainsi que les facteurs les structurant sont essentiels en particulier pour les écosystèmes des substrats ultramafiques.

Dans le cadre de cette thèse nous tenterons de répondre aux trois principales questions suivantes :

- Les communautés bactériennes et fongiques des terrains miniers néo-calédoniens sont-elles structurées en fonction des facteurs environnementaux, i.e. en fonction du type de couverture végétale et des paramètres édaphiques ?
- Existe-il une structure géographique des communautés microbiennes (bactéries et champignons) présentes dans les substrats ultramafiques ?
- Les communautés de champignons ectomycorhiziennes ont-elles des effets variables, selon le type de formation végétale, sur les communautés de champignons saprophytiques ?

MATERIELS ET METHODES

1. Critères de sélection des sites d'études

Pour répondre aux différentes questions soulevées dans ce travail de thèse, quatre sites d'étude ont été sélectionnés : les Bois du Sud et la Rivière Blanche au Sud, le Massif de Kopéto au Nord-Ouest et finalement le Massif de Tiébaghi au Nord.

Dans un premier temps, il s'agissait de caractériser les communautés microbiennes aux sein de différentes formations végétales sur substrats ultramafiques, ainsi que de déterminer les facteurs influençant leurs structures (voir Chapitre 1). Pour cela, deux sites, le Massif de Kopéto et la Rivière Blanche, ont été sélectionnés. Ces sites ont été choisis selon les 3 critères présentés ci-après :

- la présence de quatre formations végétales représentant une potentielle chronoséquence, (i.e. maquis herbacé dominé par des Cyperaceae, maquis dominé par *Tristaniopsis* spp., forêt à monodominante à *Nothofagus aequilateralis* et forêt mixte) (voir section 3 du Matériels et Méthodes),
- une surface de chacune des formations permettant de mettre en place le dispositif de parcelles,
- et, la représentation des deux types de substrats ultramafiques présent en Nouvelle-Calédonie, i.e. Massif du Grand Sud versus îlot isolé.

Dans un second temps, une comparaison des communautés des champignons ectomycorhiziens et saprophytiques au sein de maquis et de forêts dominés et non-dominés par des plantes ectomycorhiziennes a été réalisée (voir chapitre 2). Quatre sites ont ainsi été sélectionnés : les sites de la Rivière Blanche et du Massif de Kopéto au sein desquels des maquis à *Tristaniopsis* spp, arbustes ectomycorhiziens, des forêts dominées au niveau de la

canopée par l'arbre ectomycorhizien *Nothofagus aequilateralis* et des forêts mixtes, i.e. non dominées par une espèce de plante non-ectomycorhiziennes étaient présents; le site de Bois du Sud pour la présence d'une forêt dominée par l'espèce d'arbre ectomycorhizienne, *Arillastrum gummiferum* ; et enfin le Massif de Tiébaghi sur lequel sont largement représentés des maquis où aucun arbuste ectomycorhizien ne domine et qui représente différents stades de développement : maquis arbustifs, maquis arbustifs développés et maquis paraforestiers.

Dans un troisième temps, il s'agissait de comparer les communautés microbiennes obtenues sur les sites du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche avec ceux provenant du Massif de Tiébaghi, ce dernier étant connu pour un topsoil donnant de très bons résultats lors d'actions de révégétalisation (voir Chapitre 3).

2. Sites d'études

Le site de Kopéto (21°10'S-165°0'E) est localisé au Nord-Ouest de la Nouvelle-Calédonie sur le Massif de Kopéto, au sein de la concession minière de la Société Le Nickel (SLN) (Figure 6, Tableau 1). C'est un massif ultramafique isolé, distant du Massif du Grand Sud de 160km et situé entre le massif du Koniambo au Nord (à 20km) et le Massif du Me Maoya au Sud (à 10km). Ce site se situe à 1200 m d'altitude et reçoit entre 1100 et 1500 mm de pluie par an. L'activité minière sur le Massif de Kopéto a été conduite avec de petites concessions minières de 1880 à 1920. A partir de 1968, la SLN s'y est installée. De 1983 à 1994 il y a eu une rupture de l'exploitation mais depuis, la mine est toujours en activité.

Le site de la Rivière Blanche (22°9'S-166°41'E) est localisé au Sud au sein du Massif du Grand Sud dans le Parc Provincial de la Rivière Bleue (Figure 6, Tableau 1). Il est situé entre 300 et 500m d'altitude et reçoit en moyenne par an plus de 3000 mm d'eau. Le Parc Provincial de la Rivière Bleue est une réserve depuis 1980. Des extractions de minerais de

manganèse et de chrome ainsi qu'une importante activité forestière ont impacté ce site au début du 19^{ème} siècle.

La réserve du Bois du Sud (22°10'S-166°46'E), tout comme la Rivière Blanche est située dans le Sud sur le Massif du Grand Sud tout près de celui-ci (10 km) (Figure 6, Tableau 1). Une ancienne scierie maintenant disparue y était présente.

Le site de Tiébaghi (20°27'S-164°12'E) est situé au Nord de la Nouvelle-Calédonie sur le Massif de Tiébaghi au sein de la concession minière de la SLN (Figure 6, Tableau 1). C'est un massif ultramafique isolé, distant du Massif du Grand Sud de 260 km et du Massif de Kopéto de 113km, et situé entre le Massif de Poum au Nord (à 20km) et le Massif du Kaala au Sud (à 15km). Ce site se situe à 500 m d'altitude et reçoit environ 760 mm de pluie par an. L'activité minière (Cobalt et Chrome) a commencé en 1885 et s'est arrêté en 1964. La SLN a ouvert une petite exploitation de Nickel en 1997 et une plus grosse exploitation a débuté à partir de 2001 celle-ci étant toujours en cours.

La Figure 4 présente la situation géographique de chacun des quatre sites d'études. Un rapide descriptif de chaque site est présenté dans le tableau 1.

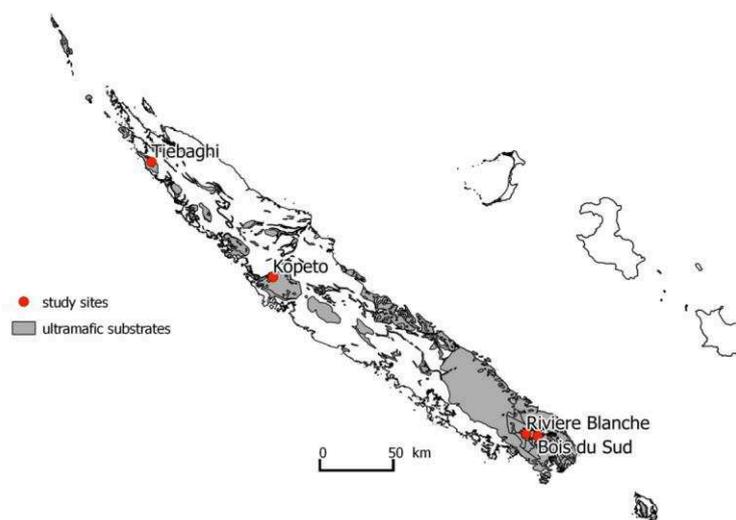


Figure 4 : Répartition des quatre sites d'études indiqués par des points rouges. Les substrats ultramafiques sont représentés en gris.

Tableau 1 : Description synthétique des quatre sites d'études.

Site	Coordonnées	Altitude	Pluviométrie	Historique
Kopéto	21°10'S- 165°0'E	1200m	1100- 1500mm	Activité minière de 1880-1920 (petites concessions minières). A partir de 1968, installation de la SLN jusqu'en 1983, réouverture en 1994 et toujours en activité.
Rivière Blanche	22°9'S- 166°41'E	300- 500m	3000mm	Réserve provinciale depuis 1980. Extractions de minerais de manganèse et de chrome Importante activité forestière au début du 19ème siècle.
Bois du Sud	22°10'S- 166°46'E	300- 500m	3000mm	Réserve depuis 1980. Extractions de minerais de manganèse et de chrome Importante activité forestière au début du 19ème siècle.
Tiébaghi	20°27'S- 164°12'E	500m	760mm	Activité minière (cobalt et chrome) de 1885 à 1964. Mine de nickel (SLN) depuis 1997, toujours en activité.

3. Les Formations végétales étudiées

Sept formations végétales ont été étudiées : 5 type de maquis, i.e. maquis ligno-herbacé, maquis arbustif, maquis à *Tristaniopsis* spp., maquis arbustif développé, maquis paraforestier, et 3 types de forêts, i.e. forêts monodominantes à *Arillastrum gummiferum*, forêts monodominantes à *Nothofagus aequilateralis* et forêts mixtes (Tableau 2, Figure 5).

Les maquis sont des formations végétales communément présentes sur substrats ultramafiques et sont constitués d'arbustes ne dépassant pas 5-6 mètres de hauteur (Jaffré et al., 2001a). Les maquis ligno-herbacés sont caractérisés par une faible couverture végétale avec une strate herbacée dominée par des *Cyperaceae* tels que *Costularia* spp. ainsi que des fougères, tel que *Gleichenia dicarpa*, et une strate arbustive constituée d'espèces héliophiles comme *Tristaniopsis glauca*. Les maquis arbustifs sont des formations végétales composées d'arbustes dont la strate supérieure ne dépasse pas 5m de haut. Certaines familles sont prédominantes tels que les *Myrtacées*. Les maquis à *Tristaniopsis* spp. sont des maquis arbustifs dominés par des arbustes du genre *Tristaniopsis*. Ce genre appartient à la famille des *Myrtaceae* et comprend 13 espèces toutes endémiques et inféodées aux maquis miniers. Parmi les 13 espèces, certaines admettent de larges distributions spatiales à l'échelle du territoire et d'autres sont inféodées à des zones très restreintes. Sur ces 13 espèces, 6 sont connues comme étant ectomycorhizées (Amir and Ducouso, 2010). Concernant, les maquis arbustifs développés se sont des maquis plus développés que les maquis arbustifs (hauteur de strate de 5 à 10m). Finalement, les maquis paraforestiers possèdent une strate supérieure d'environ 10m de hauteur. Ce genre de formation est nommé paraforestier car leur évolution semble figée (probablement en raison de l'absence d'apports de semences forestières) (Jaffré and L'Huillier, 2010).

Les forêts à monodominances sont définies (1989) (Connell and Lowman, 1989) comme des forêts dont 50 à 100% des arbres constituant la canopée appartiennent à une seule et même espèce.

Les forêts monodominantes à *Arillastrum gummiferum*, sont des forêts dominées au niveau de la caopée par *Arillastrum gummiferum*. Cette espèce appartient à la famille des Myrtacées et ce genre endémique n'est constitué que d'une seule espèce connue pour être ectomycorhizienne et inféodée aux substrats ultramafiques du Massif du Grand Sud (Papineau, 1989).

Les forêts monodominantes à *Nothofagus aequilateralis* sont des forêts au sein desquelles l'espèce *N. aequilateralis* domine la canopée. Le genre *Nothofagus* appartient à la famille des Nothofagaceae et est définie comme étant pionnier de forêts (Chatain et al., 2009). Il est constitué de 5 espèces endémiques inféodées aux substrats ultramafiques. Sur les 5 espèces, 4 sont connues comme étant ectomycorhiziennes (F. Carriconde, observation personnelle). L'espèce *Nothofagus aequilateralis* a été choisie car celle-ci est communément présente sur toute la Grande Terre.

Les forêts mixtes sont, contrairement aux forêts monodominantes, constituées d'espèces d'arbres dont aucune ne domine la canopée. Dans ce type de forêt, certaines espèces sont potentiellement ectomycorhizées, mais à l'heure actuelle celles-ci ne sont pas connues.

Tableau 2 : Descriptif de chaque formation végétale étudiée. Les abréviations utilisées pour les sites et formations végétales sont présentées entre parenthèses.

Sites	Formation végétales	Descriptions	Statut ectomycorhizien
Kopéto (K) et Rivière Blanche (RB)	Maquis ligno-herbacé (S)	Couverture végétale faible constituée majoritairement Cyperaceae (<i>Costularia</i> spp.) et de fougères (<i>Gleichenia dicarpa</i>) de.	Non-ectomycorhizien
	Maquis à <i>Tristaniopsis</i> spp. (Mq)	Maquis dominé par des arbustes du genre <i>Tristaniopsis</i> (Myrtaceae) dont la strate supérieure ne dépasse pas les 5 à 6 m, Treize espèces endémiques sont présentes au sein de ce genre en Nouvelle-Calédonie. Certaines présentent une large répartition géographique, tandis que d'autres sont restreintes à certaines localités..	Ectomycorhizien
	Forêt monodominante à <i>Nothofagus aequilateralis</i> (Na)	L'espèce d'arbre <i>Nothofagus aequilateralis</i> (Nothofagaceae) domine la canopée. C'est une espèce pionnière de forêt. Cinq espèces sont présentes en Nouvelle-Calédonie et endémiques au territoire. <i>N.aequilateralis</i> se retrouve du Sud au Nord de la Grande Terre, sur le Massif du Grand Sud et sur les Massifs ultramafiques isolés.	Ectomycorhizien
	Forêt mixte (M)	Constituée de plusieurs espèces, aucune ne domine la canopée et la composition floristique peut varier entre les sites.	Non-ectomycorhizien
Bois du Sud (BS)	Forêt monodominante à <i>Arillastrum gummiferum</i> (Ag)	L'espèce d'arbre <i>Arillastrum gummiferum</i> (Myrtaceae) domine la canopée. Ce genre endémique à la Nouvelle-Calédonie est constitué d'une seule espèce, restreinte au Massif du Grand Sud.	Ectomycorhizien
Tiébaghi (T)	Maquis arbustif (MqA)	Maquis dont la strate supérieure ne dépasse pas les 5 à 6 m. Constitué de nombreuses espèces appartenant en grande partie à la famille des Myrtaceae.	Non-ectomycorhizien
	Maquis arbustif développé (MqAD)	Maquis dont la strate supérieure atteint les 5 à 10 m. Constitué des mêmes espèces que celle présent en maquis arbustifs.	Non-ectomycorhizien
	Maquis paraforestier (MqP)	Maquis dont la strate supérieure dépasse les 10 m. Formation qui semble figée (probablement en raison de l'absence d'apports de semences forestières)	Non-ectomycorhizien

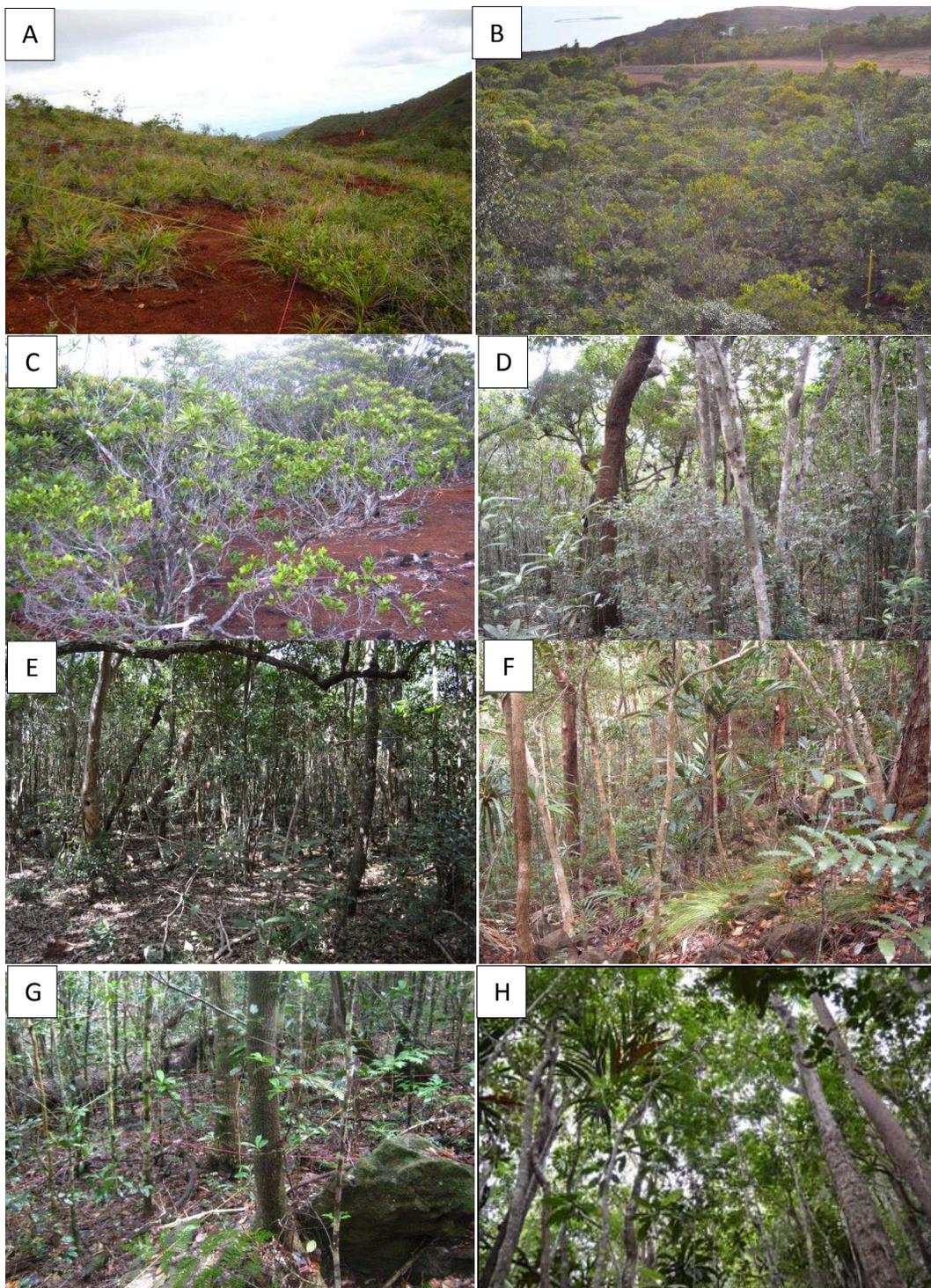


Figure 5. Représentation des différentes formations végétales étudiées. (A) Maquis ligno-herbacé, (B) Maquis arbustif, (C) Maquis dominé par *Tristaniopsis* spp., (D) Maquis arbustif

développé, (E) Maquis paraforestier, (F) forêt monodominante à *Arillastrum gummiferum*, (G) forêt monodominante à *Nothofagus aequilateralis* et (H) forêt mixte.

4. Parcelles

Au sein de chaque site et pour chaque formation végétale, 4 parcelles de 20m x 20m ont été installées (Figure 6). Chaque parcelle est située à plus de 100m de la limite de la formation, et ce afin d'éviter l'effet lisière. Les parcelles ont été placées à au moins 100m les unes des autres (Figure 8).

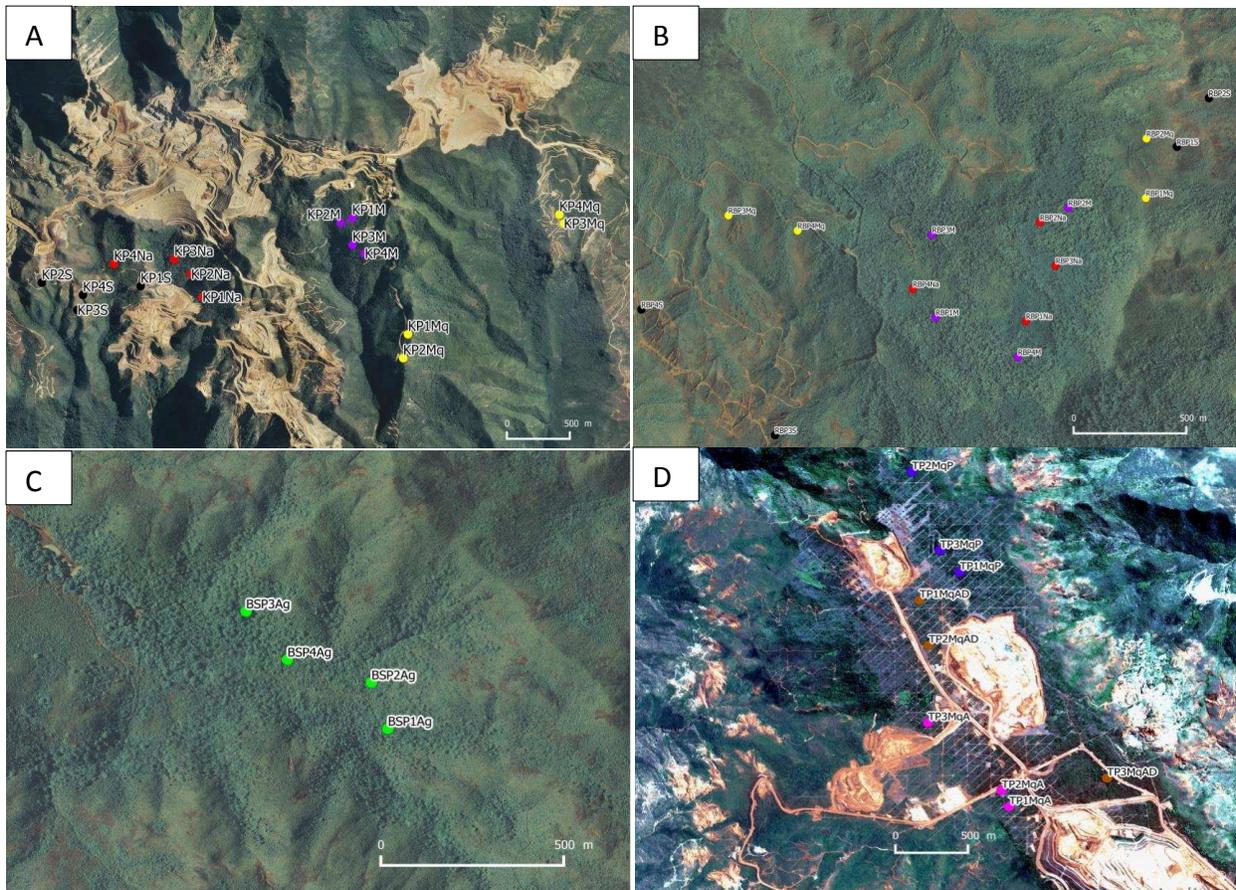


Figure 6: Localisations des parcelles sur chaque site d'étude. A : Kopéto, B : Rivière Blanche, C: Bois du Sud et D : Tiébaghi. Points noirs : formations dominées par les Cyperaceae, jaunes : maquis à *Tristaniopsis* spp., rouges : forêts dominées par *N. aequilateralis*, violets : forêts mixtes, verts : forêts dominées par *gummiferum*, roses : maquis arbustifs, marrons : maquis arbustifs développés et bleus : maquis paraforestiers. (Source orthophotos : D.I.T.T.T., Gouvernement de la Nouvelle-Calédonie).

5. Relevés phytosociologiques des parcelles

Sur chaque parcelle, le bureau d'étude BotaEnvironnement (à l'exception du site de Tiébaghi pour lequel les relevés ont été effectués par l'IAC) a réalisé un inventaire de la flore présente pour chaque strate (herbacée, arbustive et arborescente), ainsi que pour toutes les strates confondues, à l'aide de l'indice phytosociologique de Braun-blanquet (Braun-Blanquet et al., 1932). Cet indice indique un pourcentage de recouvrement pour chaque espèce représentée par un coefficient allant de + à 5. La signification de chaque coefficient utilisé est indiquée dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Coefficient d'abondance-dominance de Braun-Blanquet

Code	Description	Abondance/ Recouvrement
+	Individu ou peuplement isolé	<1%
1	Plusieurs petits peuplements	1-5%
2	Peuplements moyennement abondants	6-25%
3	Peuplements abondants	26-50%
4	Peuplements très abondants	51-75%
5	Quasi mono-spécifique	76-100%

6. Echantillonnage du sol

Au sein de chaque parcelle de 20m x 20m, 25 prélèvements de sol ont été réalisés à chaque intersection du quadrillage tracé (Figure 7). A chaque point de prélèvement, la litière a été retirée, et un échantillon cylindrique de sol de 10cm de profondeur et de 5cm de diamètre a été prélevé à l'aide d'un plantoir à bulbe. Lorsque sur un point de prélèvement un obstacle était présent, le prélèvement a été réalisé à proximité dans un rayon de 50cm par rapport au point de prélèvement prévu. Une fois l'échantillon de sol prélevé, celui-ci a été déposé dans un sac à autoclave stérile avec les 25 autres prélèvements réalisés sur la parcelle de manière à constituer un échantillon de sol composite. L'échantillon composite a ensuite été homogénéisé et conservé à -20°C.

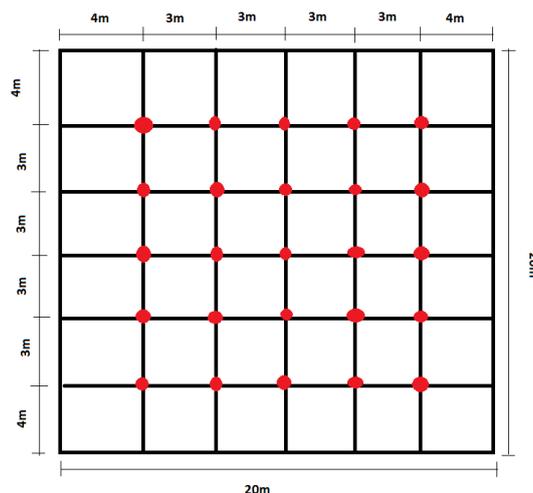


Figure 7 : Quadrillage des parcelles de 20m x 20m. En rouge figurent les 25 points de prélèvements de sol.

7. Analyse physico-chimique du sol

A partir des échantillons de sol collectés, 1 kg de sol a été envoyé au Canada au laboratoire d'analyses ACTLab, afin de réaliser les analyses physico-chimiques du sol de chaque parcelle. Pour chaque échantillon de sol, la granulométrie, la quantité de matière

organique (carbone et azote), la présence de base échangeable (calcium, manganèse, sodium et potassium), la présence d'acide échangeable (aluminium), le pH, le phosphore total et la présence d'éléments totaux (fer, nickel, silice, aluminium, manganèse, chrome, cobalt, potassium, sodium, calcium et magnésium) ont été mesurés selon les techniques indiquées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Analyses physico-chimique réalisées et les méthodes correspondantes.

Paramètre mesuré		Méthode utilisée
Granulométrie		Hydromètre
pH		pH mètre
Matière organique		Perte au feu pendant 3h à 360°C
Carbone organique		Détection par infra-rouge (IR)
Azote		Extraction KCl
Azote total		Combustion
Eléments totaux	Na	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Mg	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Al	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	K	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Ca	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Cr	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Mn	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Co	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Ni	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Fe	couplage plasma induit par haute fréquence - spectrométrie de masse (ICP-M)
	Si	extraction à l'acide acétique
Eléments échangeables	P	Bicarbonate Olsen
	K	Extraction par acétate d'ammonium
	Ca	Extraction par acétate d'ammonium
	Mg	Extraction par acétate d'ammonium
	Na	Extraction par acétate d'ammonium
	S	Extraction DTPA
	Mn	Extraction par acide phosphorique
	Fe	Extraction DTPA
CEC		Par calcul

8. Détermination de la diversité en microorganismes

8.1. Broyage

A partir de chaque échantillon de sol, 8 grammes ont été prélevés et broyés à l'aide de trois billes d'agate de 20mm et cinq de 10mm et du broyeur Retsh PM100 pendant 30 minutes à 365 rotations par minute (rpm). Huit broyages ont été réalisés par échantillon composite. Le sol une fois broyé a été placé dans des tubes eppendorf de 2mL et conservé à -20°C. A l'issue de chaque broyage, le bol et les billes du broyeur ont été désinfectés pendant 30 minutes dans une solution composée d'éthanol 95°, de javel 10° et de Tween 80, puis rincés à l'eau distillée avant d'être séchés.

8.2. Extraction de l'ADN total

L'ADN total présent dans les échantillons broyés a été extrait à l'aide des kits d'extraction PowerSoil DNA Isolation kit (MoBio, USA), selon le protocole défini par le fabricant avec ajout d'un prétraitement de 15 minutes au bain marie à 70°C. Toutes les 5 minutes les tubes contenant le sol, les billes et la solution préconisée ont été mélangés à l'aide d'un agitateur. Les tubes ont été agités pendant 20 minutes au lieu des 5 à 10 minutes initialement prévues. Cette méthode permet de réaliser une lyse chimique et mécanique. Au final, l'ADN génomique total extrait a été capturé sur une membrane de silice à partir de laquelle, par élution, l'ADN a été récupéré. Une extraction d'ADN a été réalisée par broyage, soit 8 extractions au total pour les 8 broyats d'un échantillon composite. Une fois l'ADN récupéré, les 8 échantillons représentant une parcelle ont été regroupés en un seul échantillon final. Les échantillons ont été conservés à -20°C.

8.3. Amplification de l'ADN génomique total et séquençage par Illumina

MiSeq

Les extraits d'ADN obtenus ont ensuite été amplifiés. Pour l'amplification des bactéries, les amorces 515f (Caporaso et al., 2011) et 806r (Caporaso et al., 2011) ont été utilisées. Ces amorces ciblent la région variable V4 de la portion codante de l'ADNr 16S. Pour les champignons, les amorces FITS7 (Ihrmark et al., 2012) et ITS4 (White et al., 1990) ont permis d'amplifier la portion ITS2 de l'espaceur intergénique transcrit (Internal Transcribed Spacer), l'ITS. En position 5' de chaque amorce, une queue flottante a été ajoutée pour permettre le séquençage par Illumina MiSeq (Tableau.5). L'ADN a été amplifié par réaction de polymérisation en chaîne (PCR : Polymerase Chain Reaction) à l'aide d'un Thermocycleur Veriti Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems). Chaque PCR a été réalisée 8 fois pour chaque échantillon. Le mélange réactionnel, d'un volume final 50 μ L, comprenait 1 μ L d'ADN, 2,5 μ L de chaque primer (10 μ M), 25 μ L de MasterMix Phusion GC buffer (New England Biolabs, Canada). L'amplification a été réalisée selon les conditions suivantes : une dénaturation initiale à 98°C pendant 30 secondes, suivit de 27 cycles à 98°C pendant 10 secondes (dénaturation), 60°C pendant 30secondes (appariement) et 72°C pendant 45 secondes (synthèse), plus une extension finale à 72°C pendant 7 minutes. Un mélange équimolaire a été réalisé à partir des 8 amplifiats afin d'obtenir un échantillon PCR composite d'une concentration finale de 5ng/ μ L. Les échantillons ont alors été purifiés à l'aide du kit Clean PCR (Clean NA, GC Biotech BV, Netherlands). Ceux-ci ont ensuite été séquencés par la technique dite d'Illumina MiSeq. Toutes les étapes d'amplifications ainsi que les séquençages haut-débits ont été réalisées par la Plateforme Génome-Transcriptome de l'Université de Bordeaux.

Tableau 5 : Séquence des amorces utilisées pour l'amplification avec en rouge la queue flottante

Amorces	Séquences
515f	5'- CTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTGTG CCAGCMGCCGCGGTAA-3'
806r	5'- GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'
fITS7	5'- CTTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCTG TGARTCATCGAATCTTTG-3'
ITS4	5'- GGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'

8.4. Analyses bioinformatiques

L'analyse bioinformatique des données brutes obtenues après séquençage Illumina a été réalisée à l'aide du logiciel Mothur 1.34.0 (Schloss et al., 2009). La plupart des étapes sont communes pour les bactéries et les champignons et sont décrites ci-dessous.

8.4.1. Communautés bactériennes

A partir des séquences brutes obtenues après séquençage par Illumina, les reads sens et anti-sens ont été assemblées pour constituer des « contigs ». Afin de diminuer la taille du jeu de données et le temps d'analyse, les séquences identiques ont été regroupées sous une seule et unique séquence. Celles-ci ont ensuite été alignées par comparaison avec celles existantes dans la base de données internationales SILVA.V4 (Quast et al., 2013). Une fois alignées, les séquences ont été épurées en retirant celles possédant des bases ambiguës ou des homopolymères supérieurs à 8 pb. Les séquences dont la longueur était inférieure à 150 pb ou supérieure à 350pb ont également été retirées. Par la suite les séquences possédant deux paires de base identiques ou moins, sont regroupées dans un même cluster, et ce afin de réduire la taille du jeu de données et le temps de traitement informatique. Les potentiels motifs chimériques ont ensuite été recherchés à l'aide de l'algorithme UCHIME (Edgar et al., 2011), en utilisant les séquences les plus fréquentes du jeu de données comme références. Elles ont

ensuite été assignées taxonomiquement par rapport à la base de données SILVA.V4. Pour des raisons statistiques, le nombre de séquences par échantillon doit être normalisé. En effet, tous les échantillons vont être réduits au même nombre de séquences représentatives compte tenu de l'échantillon le plus petit. Pour cela, les séquences vont être choisies aléatoirement au sein de chaque échantillon. Les OTUs* (« Operational Taxonomic Unit ») ont ensuite été déterminées en utilisant un seuil d'homologie de 97%.

7.5.2. Communautés fongiques

L'analyse de données issues du séquençage pour les champignons est réalisée en suivant les mêmes étapes que celles décrites pour les bactéries avec quelques différences. Les séquences obtenues sont épurées de celles contenant des bases ambiguës, des homopolymères supérieurs à 8pb ou celles de longueur inférieure à 150pb. Contrairement aux bactéries, les séquences ont été assignées taxonomiquement à l'aide de la base de données internationales UNITE (Kõljalg et al., 2005)

7.6. Analyses statistiques

Pour chaque jeu de donnée, les indices de diversité (richesse spécifique, Shannon, Simpson et équitabilité de Pielou) (Pielou, 1966; Simpson, 1949) ont été calculés. La richesse spécifique (S) indique le nombre d'espèces présentes dans un milieu donné, et correspond ici au nombre d'OTUs. L'indice de Shannon (H') donne une idée de la diversité spécifique d'un milieu et la répartition des individus au sein de ces espèces. Cet indice est sensible aux espèces rares. L'indice de Simpson (1-D), tout comme l'indice de Shannon, indique la répartition des espèces au sein d'un milieu. Celui-ci est compris entre 0 et 1. Contrairement à l'indice de Shannon, cet indice est sensible aux espèces abondantes. L'indice d'équitabilité de

Pielou est proche de 1 quand toutes les espèces sont réparties de façon homogène dans un milieu et proche de 0 quand une espèce domine le milieu.

Afin d'observer la structure des communautés bactériennes, fongiques et végétales l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis (qui quantifie la différence de composition entre deux parcelles par un indice allant de 0 à 1 a été calculé, puis ordonné par la méthode d'ordination « Non metric MultiDimensional Scaling » (NMDS) (Kruskal, 1964). Pour évaluer les interactions entre les facteurs structurant les communautés microbiennes, des PERMANOVAs ont été réalisés ainsi que des ANOVAs afin d'observer si la différence observée est significative.

Selon les hypothèses à tester, diverses analyses ont été réalisées, tels qu'une distance-based Redundancy Analysis (dbRD pour observer les relations entre communautés microbiennes et certaines variables tout particulièrement les facteurs édaphiques et la composition floristique.

Des tests de Mantel ont aussi été effectués pour voir les corrélations entre deux matrices, et des Analyses en Composantes Principales (ACP) afin de déterminer les paramètres édaphiques propres à chaque formation végétale. Toutes ces analyses ont été réalisées à l'aide du logiciel R.3.1.1 (R foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria)

CHAPITRE I

Environmental and geographical factors structure soil microbial diversity on New Caledonian ultramafic substrates: a metagenomic approach

Ce chapitre fait l'objet d'un article scientifique soumis dans la revue Plos ONE et accepté avec modifications.

Les écosystèmes terrestres abritent de nombreux microorganismes (e.g. bactéries et champignons) (Gobat et al., 2010; Leake et al., 2004). Ceux-ci sont connus pour leurs rôles essentiels dans le fonctionnement des écosystèmes, notamment dans les cycles biogéochimiques des éléments (Falkowski et al., 2008; Madsen, 2011), dans la stabilisation du sol (Aspiras et al., 1971; Forster, 1990), ou encore dans l'installation, le développement et la dynamique de la couverture végétale (Chapin et al., 1994; Fierer et al., 2009; Fujiyoshi et al., 2006; Gömöryová et al., 2009). Ces microorganismes peuvent aussi être responsables du développement de certains faciès végétaux particuliers, comme les forêts tropicales dominées au niveau de la canopée par une seule espèce d'arbre, on parle de forêts monodominantes (Peh et al., 2011; Torti et al., 2001). A l'inverse, les bactéries et champignons du sol peuvent être influencés par différents facteurs biotiques et abiotiques (e.g. couverture végétale, qualité de la litière, autres microorganismes, pH) (Boer et al., 2005; Broeckling et al., 2008; Duponnois and Plenchette, 2003; Fierer and Jackson, 2006; Johansson et al., 2004; Lauber et al., 2009; Pfeiffer et al., 2013; Tripathi et al., 2012). Néanmoins, à ce jour la plupart des

études sur les communautés microbiennes du sol ont été conduites en milieux tempérés et très peu de travaux ont été menés dans les tropiques (Alexander and Selosse, 2009).

Il s'agit dans ce premier chapitre de thèse de s'attacher à identifier les communautés microbiennes du sol, plus précisément les bactéries et champignons, présents au sein de quatre formations végétales susceptibles de représenter différents états d'une succession végétale ou différents niveaux de dégradation de végétation sur substrats ultramafiques. Nous avons également cherché à déterminer quels sont les facteurs qui peuvent structurer ces communautés microbiennes. Pour cela, nous avons sélectionné deux sites, l'un qui constitue un massif isolé situé au Nord-Ouest, le Massif de Kopéto, et, l'autre localisé sur le Massif du Grand Sud, appelé la Rivière Blanche. Ces deux sites ont été sélectionnés selon les critères indiqués dans le chapitre Matériels et méthodes général.

Cette partie d'étude s'est donc attachée à répondre aux deux questions suivantes :

- Les communautés bactériennes et fongiques des terrains miniers néo-calédoniens sont-elles structurées en fonction des facteurs environnementaux, i.e. en fonction du type de couverture végétale et des paramètres édaphiques ?
- Existe-il une structure géographique des communautés microbiennes (bactéries et champignons) présentes sur les substrats ultramafiques ?

Les résultats obtenus indiquent tout particulièrement une prédominance chez les communautés bactériennes, au niveau de chaque formation végétale, du phylum des Planctomycetes. Pour ce qui est des communautés fongiques le phylum des Ascomycota était de façon relative plus abondant dans les formations dominées par les Cyperaceae, les maquis à *Tristaniopsis* spp., ainsi que dans les forêts mixtes du Massif de Kopéto. Ces groupes sont potentiellement supposés être des marqueurs de dégradations anciens pour les Planctomycetes

(Buckley et al., 2006; Buckley and Schmidt, 2003), et de dégradations récentes pour les Ascomycota (Castro et al., 2008; Orgiazzi et al., 2012).

Certaines variables environnementales apparaissent comme des facteurs structurants des communautés microbiennes du sol. En effet, les communautés de bactéries et de champignons semblent structurées en fonction du type de couvert végétal et les espèces dominantes semblent largement impliquées dans cette structure. Ceci pourrait être lié à la présence de symbioses mutualistes (He and Critchley, 2008; Navarro et al., 1999; Zhang et al., 1991) et d'une certaine spécificité vis-à-vis des plantes hôtes (préférence d'hôte)(Dickie, 2007; Martínez-García and Pugnaire, 2011; Tedersoo et al., 2008).

Dans une moindre mesure, un effet site a également été détecté. Ceci pourrait être expliqué par l'importance et/ou l'isolement géographique des substrats ultramafiques calédoniens les uns par rapport aux autres. Ainsi, les deux types de formations ultramafiques du territoire, le grand ensemble du Massif du Grand Sud d'un côté et les îlots isolés du Nord de l'autre, pourraient être comparées à un système île-continent. Cette configuration imposerait des limites à la dispersion des microorganismes dans le cas des îlots du Nord au regard de ce qui se passerait à l'échelle du Massif du grand Sud, à l'image de ce qui est expliqué dans la théorie de la biogéographie insulaire (MacArthur and Wilson, 1963). L'effet site observé pourrait aussi être dû à une différence de flore liée à l'isolement des îlots ultramafiques.

Les facteurs édaphiques, propres à chaque formation végétale, jouent aussi un rôle dans la structuration des communautés microbiennes. De même, les bactéries et champignons interagissent aussi entre eux comme dans le cas de l'excrétion de molécules par des champignons, ce qui a pour effet d'attirer certaines bactéries (Boer et al., 2005; Frey et al., 1997). Plus encore, certaines bactéries exercent un effet facilitateur sur le développement des

symbioses mycorhiziennes (Duponnois and Plenchette, 2003; Founoune et al., 2002; Frey-Klett et al., 2007).

Au final, cette étude a permis de démontrer que chaque formation végétale et chaque site possédaient une communauté microbienne qui lui était propre et que ces communautés étaient très certainement influencées par un ensemble complexe d'interactions entre facteurs biotiques et abiotiques. Ces résultats démontrent également que les bactéries et champignons des sols constituent de bons bio-indicateurs d'état des écosystèmes. Plus particulièrement les champignons se révèlent être sensibles aux variations de la couverture végétale, ou plus généralement aux perturbations subies.

Afin de déterminer si les substrats ultramafiques fonctionnent réellement selon un modèle îles-continent, un échantillonnage plus large sur de nouveaux sites et au sein de mêmes formations végétales devrait être réalisé. De plus, la comparaison de ces substrats ultramafiques aux deux autres grands types de substrats présents sur le territoire, i.e. volcano-sédimentaires et calcaires, permettrait de définir dans quelles mesures les communautés du sol sont structurées ou non selon les mêmes variables environnementales. Finalement, de façon plus fine, l'identification des différents groupes fonctionnels de microorganismes du sol permettrait de mieux appréhender le fonctionnement de ces écosystèmes. En effet certains de ces groupes, tout particulièrement les champignons ectomycorhiziens et les champignons saprophytiques, sont connus pour agir l'un sur l'autre ce qui peut potentiellement ainsi influencer divers processus, tels que la dégradation de la matière organique.

**Environmental and geographical factors structure soil microbial diversity
on New Caledonian ultramafic substrates: a metagenomic approach**

Véronique Gourmelon^{1*}, Laurent Maggia^{1,2}, Jeff R Powell³, Sarah Gigante¹,
Sara Hortal³, Claire Gueunier⁴, Kelly Letellier¹ & Fabian Carriconde^{1*}

¹Institut Agronomique néo-Calédonien (IAC), Axe 2 “Diversités biologique et fonctionnelle des écosystèmes
terrestres”, BP 18239, 98800 Nouméa, New Caledonia

²CIRAD, UMR AGAP, 98800 Nouméa, New Caledonia

³Hawkesbury Institute for the Environment, Western Sydney University, Locked Bag 1797, Penrith NSW 2751,
Australia

⁴Société Le Nickel (SLN) – Groupe ERAMET, Département Environnement, BP E5, 98848, Nouméa, New
Caledonia

*corresponding authors

E-mail: carriconde@iac.nc

E-mail: gourmelon@iac.nc

Short title: Soil microbial diversity on ultramafic substrates in New Caledonia

Abstract

Soil microorganisms play key roles in ecosystem functioning, and are known to be influenced by biotic and abiotic factors, such as the plant cover or edaphic parameters. New Caledonia, a biodiversity hotspot located in the South-West Pacific, is covered on one third of its territory by ultramafic substrates. These types of soils are notably characterised by low nutrient contents and high heavy metal concentrations. Ultramafic outcrops harbour diverse vegetation types and remarkable plant diversity. In this study, we aim to assess soil bacterial and fungal diversity in New Caledonian ultramafic substrates, and determine whether floristic composition, edaphic parameters and geographical factors affect this microbial diversity. For this, four plant formation types at two distinct sites were studied. These formations represent different stages of a potential chronosequence. Soil cores, according to a given sampling procedure, were collected in order to assess microbial diversity using a metagenomic approach, and to characterise the physico-chemical parameters. A botanical inventory was also performed. Our results showed that microbial richness, composition and abundance were linked to the plant cover type and the dominant plant species. Furthermore, large proportion of Ascomycota phylum (fungi) mostly in non-rainforest formations and Planctomycetes phylum (bacteria) in all formations were observed. Interestingly, such patterns could be indicators of past disturbances occurring at different time scales. In addition, bacteria and fungi were influenced by diverse edaphic parameters, as well as by the interplay between these two soil communities. Another striking finding is the existence of a site effect. Difference in microbial communities between geographical locations might be explained by dispersal limitation in the context of the biogeographical island theory. In conclusion, each plant formation in each site possesses its own microbial community resulting from multiple interactions between abiotic and biotic factors.

Key words: New Caledonia, ultramafic substrates, soil bacterial and fungal communities, metagenomic, plant cover, edaphic parameters, site effect.

Introduction

Soil microorganisms play crucial roles in ecosystems functioning [1,2], such as in biogeochemical cycles, soil stability, plant growth and plant community dynamic [3–6]. One gram of soil can harbour millions to billions of bacteria, hundreds meters of fungal hyphae, and a large species diversity [7]. Soil microorganism communities have been shown to be influenced by abiotic and biotic factors [8–11]. Among the edaphic parameters, pH is the factor that strongly influence soil bacterial communities [10,12]. Some studies have also shown that phosphorus [9,13,14] and soil texture [15] can shape soil bacterial community. Effect of abiotic parameters were more rarely demonstrated for fungal communities [11,16]. Regarding the biotic factors, several studies have clearly shown that above-ground plant cover influences the fungal community structure and the functional diversity in forest soils [17–22]. In contrario, plant community composition has little or no effect on bacterial communities [16,20]. Furthermore, soil bacteria and fungi are also known to interact on each other. Some bacteria called Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB) improve the development of mycorrhiza, and are fungal specific [23,24]. Concerning fungi, they are able to excrete compounds, that according to their chemical composition, attract different bacteria taxa [25,26]. Nevertheless, despite the large diversity and the significance of these microorganisms to terrestrial ecosystem processes, factors influencing their richness, composition and abundance remain largely unknown.

To date, most studies on soil microbial diversity have been performed in temperate areas and very few works have been undertaken in tropical and subtropical areas [27]. New Caledonia is a subtropical archipelago located in southwest Pacific, between 20° and 23°

South latitude and 164° and 167° East longitude. In this territory, endemism rate in vascular plants is about 74% [28,29]. Taking in consideration the land surface, New Caledonia exhibits the world's highest plant endemism richness [30]. However, this diversity is strongly threatened by bushfire and mining activity [31,32]. Due to this high endemism rate and the anthropogenic threats, Myers et al. [33] identified New Caledonia as a biodiversity hotspot, i.e. a priority conservation area. This high rate of endemism is due to different factors, such as the geographical isolation of the archipelago and its particular geological history which has led to a mosaic of soils. The island is dominated by three types of substrates: (1) ultramafic substrates (c.a. 30% surface coverage), (2) volcano-sedimentary substrates (c.a. 48% surface coverage), and (3) calcareous substrates (c.a. 21% surface coverage).

Ultramafic substrates (also named serpentine soils) are mainly characterised by poor nutrients availability (e.g. nitrogen, potassium and phosphorus), and high concentrations of heavy metals (e.g. nickel, chromium and manganese). It has been suggested that these particular substrates do not limit the bacterial and fungal diversity [34–36]. In New Caledonia, soils derived from ultramafic rocks are represented in two different types of massif: the 'Massif du Grand Sud' and fragmented isolated islets [37]. The 'Massif du Grand Sud' forms a continuous southern unit covering 3015 km² of the main island (Fig 1). The second type of ultramafic substrates is situated on the North-West coast in the form of isolated massifs, representing ultramafic islets surrounded by volcano-sedimentary substrates. Ultramafic outcrops host diverse vegetation types [38]. This vegetation is mainly represented by sclerophyllous shrubland formations, called 'maquis miniers', and in a lesser extent by the rainforest. Maquis are floristically and physiognomically varied and can often be dominated by a single species or few species, in particular by the Myrtaceous plant species belonging to the genus *Tristaniopsis* [38]. These plant formations represent mostly secondary vegetation resulting from the degradation of the initial rainforests [39]. Regarding rainforests, they have

been fragmented and occupy currently restricted areas (20% of ultramafic surface). New Caledonian rainforests encompass a large array of formation types, from mixed rainforests to monodominant stands, i.e. forests dominated at the canopy layer by one species, such as by the *Nothofagus* (Nothofagaceae) plant species [36,38]. Based on the geographical discontinuity of ultramafic massifs and the existence of different plant formations, habitats on ultramafic outcrops are consequently heterogeneous, and could potentially harbour distinct microbial communities. Studies performed in New Caledonia on these types of soils have focused on bacterial and fungal adaptation to nickel [40,41], the effects of mining activities and restoration on microbial community structure [42], the mycorrhizal status of different plants growing on these substrates [43,44], or again the effects of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on plant adaptations to nickel-rich substrates [45,46]. However, none of them studied soil microbial composition on ultramafic substrates in different plant formations and at different sites along New Caledonia.

Due to the own characteristics of ultramafic substrates, i.e. plant composition, heterogeneity and discontinuity of habitats, in this study we tested two hypotheses: (i) environmental factors, i.e. plant cover and edaphic parameters, have an effect on bacterial and fungal community structure, and (ii) geographical discontinuity of ultramafic massifs in New Caledonia impacts microbial biodiversity. To this purpose, we worked on two sites on New Caledonian ultramafic substrates. In each site, four plant formations going from sedge-dominated formation to well-established mixed rainforest were studied. These represent four stages of a chronosequence constituting a pattern of plant succession. By using high-throughput sequencing (illumina MiSeq) soil microbial diversity associated to each plant formation was assessed. Furthermore, a botanical inventory and soil physico-chemical analysis at each plant formation in each site were also performed to study relationships between environmental parameters and soil microbial communities.

Materials and Methods

Ethics statement

Collecting permits were obtained from the 'Province Sud' and 'Province Nord' of New Caledonia.

Study sites

Kopéto site is a nickel mine on Kopéto Massif, a fragmented isolated islet of ultramafic substrate, situated on the North West of the main island ($21^{\circ}10'S$ - $165^{\circ}0'E$), culminating at 1,100m and receiving about 1,200-1,500 mm of rainfall per year on average. The mining activity occurred in first time between 1880 and 1983, restarted in 1994 and is still active today. Rivière Blanche site, in the 'Rivière Bleue' Provincial Park, is a reserve since 1980, located in the South of New Caledonia on the 'Massif du Grand Sud' ($22^{\circ}9'S$ - $166^{\circ}41'E$). This site has an altitude comprised between 300 and 500 m and an average annual precipitation of 3,000 mm. At the beginning of the 20th century, chromium mines and forestry took place in this area but are now stopped.

These two study sites (Fig 1) were selected according to three main criteria: (i) represent the two possible forms of ultramafic substrates present in the main island: i.e. fragmented isolated islet and 'Massif du Grand Sud', (ii) the presence of the four plant formations of interest constituting a potential vegetal succession: i.e. sedge-dominated formation, *Tristaniopsis* spp. maquis, and the two types of rainforests: a *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest according to Connell and Lowman criteria [47] and a mixed rainforest, and finally (iii) the presence of the four plant formations of interest in significant size to allow installation of our plot system.

Fig 1. Location of New Caledonia archipelago in the South West Pacific (A), and repartition of ultramafic substrates (in grey) in New Caledonia (B). The two study sites are represented by red dots.

Vegetation type studied using a chronosequence

The four plant formations studied: (i) sedge-dominated formation (S), (ii) *Tristaniopsis* spp. maquis (Mq), (iii) monodominant *Nothofagus aequilateralis* rainforest (Na) and (iv) mixed rainforest (M) represent different stages of a potential vegetal succession.

(i) Sedge-dominated formation, in this study, are described as a plant formation with a vegetation constituted in its majority by sedges (Cyperaceae) and ferns covering between 15 and 80% of the ground.

(ii) Maquis is an open sclerophyllous shrubland formation, with a top stratum of less than 5 to 6m [48]. *Tristaniopsis* belong to Myrtaceae and are ubiquitous in maquis. In New Caledonia this genus is represented by 13 species, which are endemic and some of them have a highly restricted geographical distribution. Six out of the 13 species are to date known to be associated with ectomycorrhizal fungi [49].

(iii) *Nothofagus aequilateralis* is a forest pioneer tree [50]. This species is known to form monodominant stands in rainforest (i.e. more than 50% of the canopy is represented by this species) [36]. In New Caledonia, five endemic species of *Nothofagus* are present on the mainland. *N. aequilateralis* is one of the most common and is found between 150 and 1,250 m of altitude, with a repartition from the South to the North of the main island [36]. Four out of the five species are to date characterise to form ectomycorrhizal symbiosis.

(iv) Mixed rainforest is defined as a forest which is not dominated at its canopy by a single tree species. Nevertheless, plant species known to form monodominant stands can be present but as isolated trees.

Study design and soil sampling

At each site, we established sixteen plots of 20m x 20m. Four plots per vegetation types were set up. All plots were at least separated from each other by 100m. Nonmetric MultiDimensional Scaling conducted on botanical inventory of each plot indicates that all the four plots from a same plant formation grouped together (S1 Fig.). This allows us to consider them as repetitions for each plant formation. Positioning of plots at Kopéto and Rivière Blanche sites is shown in S2 Fig. In each plot, a grid was drawn following the design on S3 Fig. Per plot, a total of 25 soils cores of 5cm diameter and 10cm depth were sampled at each grid junction and bulk together to make a composite sample. These soil samples were conserved in a cool place in the field and then stored at -20°C in the next three hours.

S1 Fig. Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) plot based on pairwise Bray-curtis dissimilarities between plant communities. Sites: K = Kopéto, RB = Rivière Blanche; Plant formations: S= Sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp maquis, Na = *N.aequilateralis* Monodominant rainforest, M = Mixed rainforest. Ellipses represent 0.95 standard error limits for each plant formation per site.

S2 Fig. Orthophotos representing the repartition of the 20m x 20m plots in (A) Kopéto site and (B) Rivière Blanche site. Each plant formation is represented by a colour: Sedge-dominated formation in black, *Tristaniopsis* spp. maquis in yellow, *N.aequilateralis* monodominant rainforest in red and mixed rainforest in purple. For each plot, names are related to study site: K = Kopéto, RB= Rivière Blanche; the number of the plots in the same plant formation: P1-P4 = Plot 1 to 4; and the plant formation: S = Sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp. maquis, Na = *N.aequilateralis* monodominant rainforest, M = mixed rainforest.

S3 Fig. Scheme representing the grid of 20m by 20m installed in each plot. A soil core was collected at each sampling point (red dots) and grouped together to create a composite sample per plot.

Botanical inventory

For each plot, plant coverage was assessed using the Braun-Blanquet abundance index [51]. This method measures percentage of plant coverage by using coefficients rank from + (representing less than 1% of coverage) to 5 (between 75 and 100% of coverage). Plants were identified for most of them at species level with the support of the Herbarium of IRD (NOU) (Nouméa, New Caledonia). For further analysis, epiphytes and liana species were removed from the dataset to keep only species in relationship with soil.

Soil physical-chemical analysis

Soil cores were sent to ActLab (Ancaster, Ontario, Canada) to perform physico-chemical analyses. Soil texture, pH, organic matter, organic carbon, nitrogen (N), ratio calcium/magnesium (Ca/Mg), potassium/magnesium (K/Mg), total element (iron (Fe), nickel (Ni), silica (Si), aluminium (Al), manganese (Mn), chromium (Cr), cobalt (Co), potassium (K), sodium (Na), calcium (Ca) and magnesium (Mg)), exchangeable elements (sulphur (S), calcium, magnesium, sodium, potassium and aluminium) and total phosphorus (P) were measured for each soil sample. Soil texture (sand, silt and clay percentage) was determined by using a hydrometer. Organic matter content was measured by loss on ignition during 3 hours at 360°C and organic carbon by Infra Red (IR) detection. The determination of soil total nitrogen was performed by combustion, whereas content of exchangeable element of soils such as K, Ca, Mg and Na were obtained by nitrate extraction. Exchangeable S and Fe were

measured by acetate extraction, Mn by phosphoric acid extraction and P by Olsen bicarbonate. Soil pH was quantified in 1:1 (W/V) suspension of soil in distilled water. Total elements were measured by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-M) except for total Si element, which was performed by acetic acid extraction. See Pansu and Gautheyrou [52] for descriptions of analysis methods.

DNA extraction, amplification and sequencing

Each composite sample representing a plot was divided in 8 subsamples. Prior to DNA extraction, soil subsamples were grinded 30 minutes at 365 rpm with Retsch PM 100. For all these subsamples, total DNA was extracted from 0.25g of soil using PowerSoil DNA Isolation kit (MOBIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) following the manufacture recommendations. Thereafter, extracted DNAs were pooled together to obtain a composite sample of DNA representing each plot. Verification of DNA quality was performed by gel electrophoresis in a 0.8% agarose gel stained with ethidium bromide.

The V4 region of the bacterial 16S RNA gene was amplified by using primers 515f and 806r (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') [53] for bacterial community, and the ITS2 region of the nuclear ribosomal RNA gene for fungal community by using primers fITS7 [54] and ITS4 [55]. Eight independent PCRs were performed for each DNA sample under the following conditions: 1µL of template DNA, 2.5µL of each primer (10µM), 25µL of Master Mix Phusion GC buffer (New England Biolabs, Canada) in a final volume of 50µL. Amplification was run on a Veriti Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems) according to the following conditions: 98°C for 30 s, 27 cycles of 10 s at 98°C, 60°C for 30 s and 72°C for 45 s, followed by 7 min at 72°C. An equimolar mix was performed with the eight PCR products to create a composite PCR sample with a final concentration of 5ng/µL for each sample. Samples were then purified by Clean PCR (Clean NA, GC Biotech BV, Netherlands) and

paired end 2x250bp length fragments were sequenced by Illumina (MiSeq) following Illumina recommendation. The Plateforme Génome-Transcriptome of the Université de Bordeaux conducted PCR amplifications and Illumina sequencing.

Illumina data processing

Illumina sequence reads were processed using Mothur version 1.34.0 [56]. Sequences forward and reverse were aligned to generate ‘contigs’ for each sample. Sequences that contained one or more ambiguous reads and homopolymers greater than 8 bp were removed. Reads shorter than 250 bp and longer than 300 bp for bacteria, and shorter than 150 bp for fungi were discarded. Identical sequences were regrouped in unique sequences to shorter computational time. Then, putative chimeras were checked and removed using UCHIME [57]. Number of sequences for each sample was normalised to have the same number that the smallest number of sequences found in a sample. Bacteria subsampling were performed for 3,025 sequences per sample. Compare to bacteria, fungal dataset had to be analysed twice. In a first time, all samples were normalised at 210 sequences corresponding to the lowest number of reads found in our samples. The four Rivière Blanche sedge-dominated formations had the lowest number of sequences (between 210 and 300) which might be due to a low fungal richness explained by the particularly low plant cover on this plant formation (see results and discussion sections). In a second time, to avoid an underestimation of fungal richness present in other plant formations, the four Rivière Blanche sedge-dominated formation samples were removed and the remaining dataset was subsampled at 1,591 sequences per sample. Once normalised, uncorrected pairwise distances between DNA sequences were calculated, then sequences were clustered to assign sequences to OTUs with 97% of homology as commonly admitted [58–60] using furthest neighbour method [61]. Each sequences, then each OTU were assigned to a taxonomy by using the database UNITE [62] for fungi and SILVA v4 for bacteria [63]. Once

all steps done, all OTUs sequences obtained in the first analysis (210 sequences subsampling) for Rivière Blanche sedge-dominated formations were compared one by one with OTUs sequences from the second dataset (1,591 sequences subsampling) and merged to create the final dataset. A total of 798,073 reads for bacteria and 288,957 reads for fungi were obtained after the first sequence processing step (Table 1). After filtering, numbers of remaining sequences fell to 322,807 reads for bacteria and 245,137 reads for fungi. Finally, 12,493 OTUs for bacteria and 3,741 OTUs for fungi were identified. After exclusion of singletons 6,539 OTUS for bacteria and 2,600 OTUs for fungi were used for further analyses.

S1 Table. Number of sequences remaining after each analysis step for bacterial and fungal datasets.

Data analysis

Species richness (S), which correspond to the number of OTUs, Chao index [64], Simpson index (1-D) [65] and Pielou Evenness Index [66] were calculated for each sample and by plant formation (i.e. by grouping the plots from the same vegetation type). Diversity indices were compared by two-way Analysis of Variance (ANOVA). The OTUs defined for bacteria and fungi were used to perform rarefaction curves and rank-abundance diagrams. Bray-Curtis dissimilarity index was calculated and ordinate by Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) [67] to observe dissimilarities of each microbial community composition per plot. Congruence of NMDS was tested by PERMANOVA analyses [68], which were used to analyse the effects of plant formation and site on microbial communities. Edaphic parameters per plots were analysed by a Principal Component Analysis (PCA) [69]. Relationships between bacterial and fungal communities were studied by plotting the Bray-Curtis distance matrix obtained for bacterial and fungal dataset. To this plot a trending curve was drawn.

Finally, to determine the relationships between bacterial or fungal community and environmental parameters (botanical inventory and edaphic parameter), distance-based Redundancy Analyses (dbRDA) [70] were conducted and significant parameters were determined by performing a permutation test. Mantel tests between bacteria and fungi distance matrix and each environmental factors distance matrix were also run for each site independently. All analysis were performed using R 3.1.1 (R Core Team 2014) and the 'vegan' R package.

Results

Bacterial and fungal composition and diversity

Taxonomic assignment of most OTUs found in this study indicates that members of Proteobacteria, Planctomycetes and Acidobacteria phyla were the most predominant in our bacterial dataset, followed by Actinobacteria and Verrucomicrobia (Table 1). For fungi, Basidiomycota and Ascomycota were the most dominant phyla, with other phyla representing less than 10% of all OTUs (e.g. Zygomycota, Glomeromycota, Chytridiomycota) (Table 1).

Table 1. Number of OTU and representing percentage for most abundant phyla in bacterial and fungal datasets.

Bacteria	Nb. OTUs	percentage	Fungi	Nb. OTUs	percentage
Proteobacteria	2,013	30.8	Basidiomycota	1119	45.4
Planctomycetes	1,315	20.1	Ascomycota	953	38.6
Acidobacteria	930	14.2	Zygomycota	169	6.9
Actinobacteria	666	10.2	Glomeromycota	52	2.1
Verrucomicrobia	527	8.1	Chytridiomycota	35	1.4
Firmicutes	338	5.2	Rozellomycota	19	0.8
Chloroflexi	325	5.0	Unclassified Fungi	118	4.8
Bacteroidetes	131	2.0	Fungi phylum Incertae Sedis	1	0.04

Phylum composition for each plant formation per site showed that most predominant bacterial phyla are the same regardless of the plant formation or site (S4A Fig). For fungi, barplot per plant formation and sites demonstrate that Basidiomycota was the most abundant phylum in the two type of rainforest in Rivière Blanche and in Nothofagus dominant rainforest in Kopéto, whereas Ascomycota was the most abundant in all other plant formations (S4B Fig and S2 Table).

S4 Fig. Percentage of bacterial (A) and fungal phylum (B) for each plant formation per site.

S2 Table. Two-way ANOVA tables for the abundance of Basidiomycota for each pair of comparison.

Rank-abundance diagrams obtained from bacterial and fungal OTUs showed that for each plant formation and site only few numbers of OTUs were abundant (S5 and S6 Fig). For bacteria, one genus was predominantly present in each plant formation: Spartobacteria genera Incertae sedis (S5 Fig). However, for fungi no genus predominated in all plant formation and site (S6 Fig).

S5 Fig. Rank-abundance diagrams with indication of genera affiliation for the most abundant bacterial OTUs for each plant formation per site. (A) Kopéto sedge-dominated formation; (B) Kopéto *Tristaniopsis* spp. maquis; (C) Kopéto *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (D) Kopéto mixed rainforest; (E) Rivière blanche sedge-dominated formation; (F) Rivière Blanche *Tristaniopsis* spp. maquis; (G) Rivière Blanche *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (H) Rivière Blanche mixed rainforest.

S6 Fig. Rank-abundance diagram with indication of genera affiliation for the most abundant fungal OTUs for each plant formation per site. (A) Kopéto sedge-dominated formation; (B) Kopéto *Tristaniopsis* spp. maquis; (C) Kopéto *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (D) Kopéto mixed rainforest; (E) Rivière blanche sedge-dominated

formation; **(F)** Rivière Blanche Tristaniopsis spp. maquis; **(G)** Rivière Blanche N. aequilateralis monodominant rainforest; **(H)** Rivière Blanche mixed rainforest.

In order to assess the level of diversity within bacterial and fungal communities, species richness (S) (here, the number of OTUs), Chao index, Simpson index (1-D) and Pielou evenness (J) were calculated by plots (S3 Table) and by plant formation per site (Table 2). ANOVA analyses indicated that for bacteria the species richness was significantly different between sites and as well as the interaction between formations and sites (S4 Table). Plant formations were slightly non-significant ($p = 0.055$). Regarding fungi, ANOVA showed that the species richness was significantly different between plant formations, between sites and as well as their interaction (S4 Table). Furthermore, we observed a lowest species richness for Rivière Blanche sedge-dominated formation for bacteria and fungi (S5 Table). This low species richness at Rivière Blanche in sedge-dominated vegetation could be explained by the low plant coverage.

S3 Table. Diversity indices: species richness (S), Chao index, Simpson index (1-D) and Pielou evenness (J) for bacteria and fungi estimated per plot.

Table 2. Diversity indices: species richness (S), Chao index, Simpson index (1-D) and Pielou evenness (J) for bacteria and fungi estimated per plant formation. Standard errors are indicated between brackets.

Microorganism	Plant formation	Site	S (± SE)	Chao (± SE)	1-D (± SE)	J (± SE)	
Bacteria	Sedge-dominated formation	Kopéto	2792 (± 58)	4376 (± 107)	0.997 (± 0.001)	0.885 (± 0.015)	
		Rivière Blanche	1845 (±13)	2654 (± 71)	0.983 (± 0.033)	0.796 (± 0.097)	
	Tristaniopsis spp maquis	Kopéto	2761 (±39)	4305 (± 106)	0.996 (± 0.001)	0.872 (± 0.006)	
		Rivière Blanche	2540 (±27)	3744 (± 87)	0.994 (± 0.007)	0.853 (± 0.048)	
	Nothofagus rainforest	Kopéto	2953 (±23)	4681 (± 114)	0.998 (± 0.001)	0.895 (± 0.012)	
		Rivière Blanche	2466 (±29)	3953 (± 109)	0.995 (± 0.001)	0.851 (± 0.006)	
	Mixed rainforest	Kopéto	2420 (±42)	3681 (± 92)	0.996 (± 0.003)	0.858 (± 0.029)	
		Rivière Blanche	2610 (±30)	4086 (± 103)	0.995 (± 0.001)	0.86 (± 0.009)	
	Fungi	Sedge-dominated formation	Kopéto	626 (± 38)	1366 (± 102)	0.983 (± 0.588)	0.807 (± 0.071)
			Rivière Blanche	168 (± 10)	310 (± 36)	0.979 (± 0.420)	0.864 (± 0.056)
		Tristaniopsis spp maquis	Kopéto	739 (± 17)	1114 (± 48)	0.988 (± 0.489)	0.821 (± 0.076)
			Rivière Blanche	573 (± 24)	967 (± 58)	0.968 (± 0.401)	0.766 (± 0.058)
Nothofagus rainforest		Kopéto	709 (± 28)	1439 (± 95)	0.988 (± 0.356)	0.814 (± 0.056)	
		Rivière Blanche	600 (± 22)	1251 (± 92)	0.974 (± 0.354)	0.748 (± 0.050)	
Mixed rainforest		Kopéto	730 (± 31)	1374 (± 81)	0.985 (± 0.454)	0.804 (± 0.061)	
		Rivière Blanche	844 (± 13)	1494 (± 103)	0.989 (± 0.361)	0.847 (± 0.049)	

S4 Table. Two-way ANOVA table for the effect of vegetation type, site, and their interaction on bacterial and fungal diversity indices (S: species richness, 1-D: Simpson index and J: Pielou evenness index)

S5 Table. Two-way ANOVA tables for species richness (S), Simpson index (1-D) and Pielou evenness index (J) for each pair of comparison. Bacteria results are presented in the bottom-half of the table and fungi in the top-half for the three tables.

Rarefaction curves were performed for each site on bacterial and fungal datasets. Bacterial and fungal curves did not reach a plateau (S7 Fig) but fungal curves had lower slopes than bacterial curves. However, the slope seems to start to level off for fungal curves. This clearly indicates that the all species diversity has not been yet assessed.

S7 Fig. Rarefaction curves obtained from OTU distribution for bacterial (A and B) and fungal (C and D) datasets for Kopéto (A and C) and Rivière Blanche sites (B and D). With sedge-dominated formation in black, *Tristaniopsis* spp. maquis in yellow, *N.aequilateralis* monodominant rainforest in red and mixed rainforest in purple.

Bacterial and fungal community structure

Floristic and site effects

To compare OTU composition and abundance of the bacterial and fungal communities Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordinations, based on the Bray-Curtis dissimilarity, were performed (Fig 2). The NMDS ordination showed a distinction between forest and non-forest formations. Moreover, a distinction between monodominant and mixed rainforests was also visible. In order to corroborate NMDS result, PERMANOVA were carried out (Table 3). The results indicated that the bacterial and fungal communities were significantly partitioned by the vegetation type, the geographical origin and the interaction

between those two variables (Table 3). Plant formations explained 28.4% and 18.9% of the observed variation for bacterial and fungal communities, respectively. Regarding the geographical origin (site), it explained 6.2% of the variation for bacteria and 5.7% for fungi. Interaction between both variables explicated 15.8% and 14.8% of the variability of bacterial and fungal communities, respectively. PERMANOVA and NMDS were also conducted on the 210 sequences fungal dataset and similar results to the 1591 sequences dataset were obtained (S8 Fig and S6 Table). Overall, our microbial community were structured by the vegetation type, then by the plant formation x site interaction, and finally by the site.

Fig 2. Non-MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarity for bacterial community (A) and fungal community (B). K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S= sedge-dominated formation (in black), Mq = Tristaniopsis spp maquis (in yellow), Na = N. aequilateralis monodominant rainforest (in red), M = mixed rainforest (in purple). Ellipses represent the 0.95 standard error calculated for each plant formation at each site.

Table 3. The effect of plant formation, site and their combination on the structure of bacterial and fungal communities revealed by PERMANOVA.

Community	Permanova result	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	Variation	Pr(>F)
Bacteria	formation	3	2.3521	0.78404	4.6087	0.28461	0.001
	site	1	0.5196	0.51961	3.0544	0.06287	0.001
	formation x site	3	1.3097	0.43655	2.5661	0.15847	0.001
	Residuals	24	4.0829	0.17012	0.49404		
	Total	31	8.2643	1			
Fungi	formation	3	2.576	0.85867	2.5164	0.18991	0.001
	site	1	0.7785	0.77852	2.2815	0.05739	0.001
	formation x site	3	2.0203	0.67344	1.9736	0.14894	0.001
	Residuals	24	8.1896	0.34123	0.60375		
	Total	31	13.5645	1			

S8 Fig. Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarities between fungal communities in soil using the 210 sequences dataset. Plant formation names: K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S= sedge-dominated formation, Mq = Tristaniopsis spp maquis, Na = N. aequilateralis monodominant rainforest, M = mixed rainforest. Ellipses represent the 0.95 standard error limit for each plant formation at each site.

S6 Table. The effect of plant formation, site and their combination on the structure of the 210 sequences fungal community dataset revealed by PERMANOVA.

The dbRDA performed for bacteria revealed that the bacterial communities (Fig 3A) were significantly related, for instance, to the following plant species: *Cunonia macrophylla* (Cunoniaceae), *Tabernaemontana cerifera* (Apocynaceae), *Ctenopteris lasiostipes* (Polypodiaceae), *Polyscias pancheri* (Araliaceae), *Ptisana attenuate* (Marattiaceae), *Tristaniopsis glauca* (Myrtaceae), *Grevillea gillivrayi* var. *Gillivray* (Proteaceae), *Basselinia gracilis* (Arecaceae), *Nothofagus aequilateralis* (Nothofagaceae) and *Costularia comosa* (Cyperaceae) (S7 Table). This link between bacterial community and floristic composition was confirmed by Mantel tests (Kopéto: $r=0.548$, $p=0.001$; Rivière Blanche: $r=0.6657$, $p=0.001$).

Fig 3. Distance-based Redundancy Analysis (dbRDA) of bacterial (A) and fungal (B) communities and floristic composition. Cuno.mac = *Cunonia macrophylla*, Tabe.cer = *Tabernaemontana cerifera*, Cten.las = *Ctenopteris lasiostipes*, Poly.pan = *Polyscias pancheri*, Ptis. att = *Ptisana attenuata*, Tris. gla = *Tristaniopsis glauca*, Grev. Gil.var.gil = *Grevillea gillivrayi* var. *gillivrayi*, Bass. Gra = *Basselinia gracilis* and Noth. aeq = *Nothofagus aequilateralis*, Grev. gil = *Grevillea gillivrayi*, Codia. spa = *Codia spatulata*, Panc. Sp1 = *Pancheria sp1*, Cost. com = *Costularia comosa*, Meio. tie = *Meiogyne tiebaghiensis*, Becc. bau = *Beccariella baueri* and Gymn. cha = *Gymnostoma chamaecyparis*.

S7 Table. Permutation tests in redundancy ordination for floristic composition.

Such as bacteria, fungal community was also significantly related to several plant species (Fig 4 B), namely: *Tristaniopsis glauca* (Myrtaceae), *Grevillea gillivrayi* (Proteaceae), *Codia spatulata* (Cunoniaceae), *Nothofagus aequilateralis* (Nothofagaceae), *Pancheria* sp1 (Cunoniaceae), *Costularia comosa* (Cyperaceae), *Meiogyne tiebaghiensis* (Annonaceae), *Grevillea gillivrayi* var. *gillivrayi* (Proteaceae), *Beccariella baueri* (Sapotaceae) and *Gymnostoma chamaecyparis* (Casuarinaceae). As well as bacteria, Mantel tests between fungi and floristic composition showed a significant correlation between them (Kopéto: $r=0.6588$, $p=0.001$; Rivière Blanche: $r=0.6395$, $p=0.001$). Interestingly, only four species were found to be significantly related to both bacterial and fungal communities: *Costularia comosa*, *Tristaniopsis glauca*, *Nothofagus aequilateralis* and *Grevillea gillivrayi* var. *gillivrayi*.

Edaphic parameters

Prior to dbRDA analyses for edaphic parameter, a Principal Component Analysis (PCA) was performed to determine which edaphic parameters were related to each plant formation (S9 Fig). The first axis explained 59.20% of observed variance and second axis 15.46%. There was a clear distinction between non-forest (on the left of the plots) and forest formations (on the right of the plot) (S9 Fig). The parameter factor map showed that parameters related to plant growth such as nutrients (phosphorus (P), sodium (Na), magnesium (Mg) and potassium(K)), organic matter (Mat.Orga) and total nitrogen (Total.N) were on the right side of the map such as rainforests (S9 Fig). To the opposite, on the left side of the map were grouped edaphic parameters which usually are associated with low soil fertility, high contents of sulphur (S) and total iron (Fe.tot), and high potassium/magnesium ratio (ratio.K.Mg) (S9 Fig). A gradient seems to be observable from sedge-dominated

formation with a low fertility soil to rainforests where soil fertility parameters are high. In the middle of the map are plotted *Tristaniopsis*-dominated maquis with average values for each edaphic parameters present in the PCA analysis (S9 Fig).

S9 Fig. Principal Component Analysis performed from edaphic parameters of each plots.

The dbRDA conducted between microbial communities and edaphic parameters showed a relationship between bacterial and fungal community structures and the edaphic parameters (Fig 4). Permutation test performed on edaphic parameters show a significant relationship between bacterial community and exchangeable sulphur (S), total calcium (Ca.tot), total iron (Fe.tot), pH, clay, exchangeable Manganese (Mn), exchangeable zinc (Zn), sand, exchangeable sodium (Na), total silica (Si.tot) and ratio potassium/magnesium (ratio.K.Mg) (S8 Table). Concerning fungi, the permutation test indicated that exchangeable sulphur (S), total iron (Fe.tot), total calcium (Ca.tot), exchangeable zinc (Zn), sand, total silica (Si.tot), pH, organic matter (Mat.Orga) and total manganese (Mn.tot) were significantly related to this soil microbial community (S8 Table). Overall, bacterial and fungal communities are thus related to the soil fertility, such as the organic matter and the nutrient contents.

Fig 4. Distance-based Redundancy Analysis (dbRDA) of (A) bacterial and (B) fungal communities and edaphic parameters.

S8 Table. Permutation test in redundancy ordination for edaphic parameters.

Relationships between bacterial and fungal communities

The scatter plots of distance matrices of bacterial and fungal communities suggested a strong correlation between bacteria and fungi within each geographical location (Fig 5). This

observation is confirmed by the Mantel test results ($r = 0.7004$ and $p=0.001$ for Kopéto; $r = 0.7568$ and $p=0.001$ for Rivière Blanche).

Fig 5. Scatter plots and trending curves between bacterial and fungal communities at Kopéto site (A) and Rivière Blanche site (B).

Discussion

Effect of plant cover on soil microbial diversity

The different vegetation types studied present different levels of field openness. This discrepancy in plant cover seems to have an impact on soil microbial richness. Indeed, the sedge-dominated formation at Rivière Blanche site showed the lowest fungal and bacterial OTUs richness. This formation is characterised by a very low plant coverage (between 15 and 30%), contrarily to the others which are covered at 70 to 95%. Similarly, a decrease of bacterial and fungal richness was observed among Rivière Blanche and Kopéto maquis (shrubland formations). Indeed, maquis at Rivière Blanche have a lower plant cover and are less dense than Kopéto maquis. The difference in soil microbial community due to plant cover had been demonstrated by Knelman et al. [12], who showed that the presence or absence of vegetation in a primary succession after glacier retreat has an impact on soil microbial community structure. A study conducted on unvegetated and forest soils on primary succession also observed a difference in microbial community [71].

NMDS and PERMANOVA analyses clearly showed that bacterial and fungal communities were both structured by the plant formation type. Thus, vegetation covers, in plus to affect the species richness as indicated above, impact species composition and their abundance. Furthermore, we also revealed that both soil microorganisms' communities were related to the dominant plant species, especially to *N. aequilateralis* and *T. glauca*. Such effect of plant formation on microbial communities might be due to different factors, notably to host preference and litter quality [72,73]. *Nothofagus* and *Tristaniopsis* species are known to be involved in a mutualistic association with fungi, called the ectomycorrhizal symbiosis [49]. Several studies have showed host preference in ectomycorrhizal fungal communities [74–76]. Bacteria can also present a host preference [77,78]. Indeed, nitrogen fixing bacteria are associated with roots of certain plant groups. For instance, *Rhizobium* is commonly

associated with leguminous plants [77], or Actinomycetes such as Frankia with Casuarina plants [78]. In our dataset, ECM fungi and bacteria such as Bradyrhizobium were presented and might subsequently explain the plant formation structure observed for microbial communities. Plant species might also indirectly impact soil microbial community via the type of litter produced [79]. To sum up, effect of plant formation and plant species on microbial communities might be explained by the narrow relationship existing between soil microorganisms and the plant composition.

Microbial diversity and perturbation effect along the chronosequence

A higher proportion of Ascomycota phylum than Basidiomycota phylum in sedge-dominated formations, Tristaniopsis-dominated maquis and Kopéto mixed rainforest was detected. Numerous studies have shown pattern of greater representation of Ascomycota than Basidiomycota in managed lands, such as in pastures and vineyards [80–82]. In contrary, within rainforests Basidiomycota were detected as the most abundant phylum [83,84]. The larger representation of Ascomycota would be an indicator of ecosystems' degradation. Indeed, sedge- and Tristaniopsis-dominated formations are known to result from past bushfire perturbations. In the same way, the mixed rainforest at Kopéto site seems to correspond to a degraded rainforest.

Regarding bacterial communities, Planctomycetes phylum was highly present within all plant formations studied. To our knowledge, such abundance of Planctomycetes in the soil has never been shown [85–88]. Buckley et al. [89] had observed a higher abundance of this phylum in soil that has been cultivated 50 years ago compared to soil still actively managed. Planctomycetes has been revealed to be sensitive to soil history [89,90]. Planctomycetes phylum could be an indicator of an ancient environmental disturbance. Finally, presence of

Ascomycota and Planctomycetes in higher abundances could represent biological indicators of past disturbance that occurred at different time scales.

Relationship between soil microbial communities and edaphic parameters

The dbRDA and Mantel test analyses showed that bacterial and fungal communities were related to several edaphic parameters. The most striking results were the higher content of iron, sulphur and potassium/magnesium ratio in sedge-dominated and *Tristaniopsis*-dominated formations, and also the higher content of nutrients and organic matter in the rainforests. The upper presence of nutrients in rainforests might be simply explained by a larger litter production in these systems. Not mutually exclusive, this could also result from higher decomposition rates. Litter decomposition depends of the type of litter and the decomposers involved in the degradation process [91,92].

This difference in litter degradation between forest and non-forest formation could also be due to solar radiations that reach the ground and act indirectly on soil microorganisms. Indeed, in presence of scarce vegetation on ground, solar radiations that interact with soil was much higher than in rainforest soil, which have effects on microbial activity leading to a change in microbial litter composition [93]. This solar radiation decreased litter degradation and affect soil carbon cycling by a loss of carbon released directly to atmosphere rather than in soil organic matter pool [94].

Site effect on soil microbial diversity

A very recent study conducted at one site on a different isolated ultramafic Massif in New Caledonian, namely ‘Koniambo Massif’, showed using a 454 pyrosequencing approach

an effect of the aboveground vegetation and edaphic parameters on the microbial composition and abundance [95]. As previously indicated, the results obtained in the present study confirm such patterns. However, NMDS and PERMANOVA analyses clearly revealed a geographical structure of the bacterial and the fungal communities. In other words, each site harbours its own microbial community. In New Caledonia there is a geographical discontinuity of ultramafic substrates, which might limit the dispersion of microorganisms. MacArthur and Wilson [96] with their biogeographical island theory argued that richness of organisms decreased when the distance of the island from the continent increase, causing an isolation of the population. Peay et al. [97,98] revealed such pattern in ectomycorrhizal fungi. Ultramafic substrates in New Caledonia are represented by two types: a big massif covering the South of the main island ('Massif du Grand Sud') and several isolated islets distributed in majority along the West coast. In some way, this type of distribution might be compared to a continent versus islands system, where the 'Massif du Grand Sud' might be considered as the mainland with the isolated islands more or less distant from this 'continent'. Difference in soil microbial communities between sites might thus be explained by dispersal limitation in the context of the biogeographical island theory. In order to validate such hypothesis, in the future a new sampling campaign must be undertaken by adding sites from the 'Massif du Grand Sud' and from other isolated ultramafic islets, and using the same field and molecular procedures.

Relationship between soil bacterial and fungal communities

We have previously seen that bacterial and fungal soil communities are related to the plant cover, the edaphic variables and the geographical factors. However, these soil communities might be related to other parameters, such as the interplays between them. Indeed, mantel tests revealed a significant correlation between bacteria and fungi at both sites. Some bacteria are commonly found on fungal hyphae, spores, mycorrhizal roots, fruiting

bodies and inside fungi [99,100]. For these bacteria, fungi are required for their survival. Furthermore, fungi produce some exudates which are major or exclusive nutrients sources for these bacteria [25]. These compounds seem to be used as a mechanism to select groups of bacteria associated with ECM fungi [26]. These groups of bacteria, named Mycorrhiza Helper Bacteria (MHB), were showed to improved fungal mycorrhization [23], such as *Pseudomonas monteilii* which increased ECM, AM colonisation, as well as the formation of rhizobial nodules on *Acacia holoserica* [24]. The effect of MHB was demonstrated to not be plant specific but fungal specific [24]. In our dataset, bacteria genera known to be MHB were detected, which might partially explain the relationship shown between bacteria and fungi.

Conclusion

In the present work, a metabarcoding approach was used to assess the bacterial and fungal diversity and the biotic and abiotic factors potentially shaping this diversity on ultramafic outcrops in New Caledonia. Four distinct plant formations of a potential chronosequence on two distinct sites located in the South and North of the main island were studied. Microbial richness, composition and abundance were linked to the plant cover type and especially to the dominant plant species, namely *N. aequilateralis* and *T. glauca*. Interestingly, a larger proportion of Ascomycota was observed in non-rainforest formations and within the mixed rainforest at Kopéto site, which may be an indicator of ecosystem degradation. Bacterial phyla composition showed a very high proportion of Planctomycetes. To our knowledge such pattern has never been observed [85,88,95] and could be, as for Ascomycota, an indicator of past disturbances but occurring there longer. In addition, soil bacterial and fungal communities were influenced by diverse edaphic parameters, as well as by the interplay between them. One other very interesting finding is the existence of a site effect. Difference in microbial communities between geographical locations might be

explained by dispersal limitation in the context of the biogeographical island theory of MacArthur and Wilson [96]. Finally, each plant formation in each site possesses its own microbial community resulting from complex interactions between abiotic and biotic factors. Such observations have direct implications in conservation purposes. Indeed, they support the fact that the efforts for protecting the remaining rainforest fragments have to be strongly maintained.

Acknowledgements

We thank the Government of New Caledonia and the 'Institut Agronomique néo-Calédonien' (IAC) for the scholarships awarded to Veronique Gourmelon. We thank the Société Le Nickel (SLN – Groupe ERAMET) for its partnership and for funding this project. We thank the 'Direction des Infrastructures, de la Topographie et des Transports Terrestres (DITTT)' of the Government of New Caledonia for providing the orthophotos. We thank the 'Plateforme du Vivant' (Nouméa, New Caledonia) for its facilities access, and also the 'Plateforme Génome-Transcriptome' of Bordeaux University (Bordeaux, France) for performing illumina MiSeq. We thank Christian Montagnat and Joseph Manauté who allow us to access to the Kopéto mine and 'Rivière Bleue' Provincial Park, respectively. Thanks to the field worker crew of IAC ('Unité SARA'): Alexandre Bouarat, René Guiglion, Anthony Pain and Hyppolite Lenoir for their substantial assistance on the fields. Finally, a special thanks to Laurent Bordez and Thomas Ibanez for their help in data analysis.

References

1. Schulz S, Brankatschk R, Dümig A, Kögel-Knabner I, Schloter M, Zeyer J. The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation. *Biogeosciences*. 2013;10: 3983–3996. doi:10.5194/bg-10-3983-2013
2. Buscot F, Varma A. *Microorganisms in soils roles in genesis and functions* [Internet]. Berlin; New York: Springer; 2005. Available: <http://public.eblib.com/choice/publicfullrecord.aspx?p=303973>
3. Madsen EL. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Curr Opin Biotechnol*. 2011;22: 456–464. doi:10.1016/j.copbio.2011.01.008
4. Tisdall JM. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils. *Plant Soil*. 1994;159: 115–121.
5. Lisitskaya TB, Troshcheva TD. Microorganisms stimulating plant growth for sustainable agriculture. *Russ J Gen Chem*. 2013;83: 2765–2774. doi:10.1134/S1070363213130252
6. Hartnett DC, Wilson GWT. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands. *Plant Soil*. 2002;244: 319–331. doi:10.1023/A:1020287726382
7. Gobat J-M, Aragno M, Matthey W. *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols*. PPUR Presses polytechniques; 2010.
8. Brodie E, Edwards S, Clipson N. Bacterial Community Dynamics across a Floristic Gradient in a Temperate Upland Grassland Ecosystem. *Microb Ecol*. 2002;44: 260–270. doi:10.1007/s00248-002-2012-1
9. de Vries FT, Manning P, Tallowin JRB, Mortimer SR, Pilgrim ES, Harrison KA, et al. Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities. *Ecol Lett*. 2012;15: 1230–1239. doi:10.1111/j.1461-0248.2012.01844.x

10. Fierer N, Jackson RB. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103: 626–631.
11. Li J-J, Zheng Y-M, Yan J-X, Li H-J, He J-Z. Succession of plant and soil microbial communities with restoration of abandoned land in the Loess Plateau, China. *J Soils Sediments*. 2013;13: 760–769. doi:10.1007/s11368-013-0652-z
12. Knelman JE, Legg TM, O’Neill SP, Washenberger CL, González A, Cleveland CC, et al. Bacterial community structure and function change in association with colonizer plants during early primary succession in a glacier forefield. *Soil Biol Biochem*. 2012;46: 172–180. doi:10.1016/j.soilbio.2011.12.001
13. Grayston SJ, Campbell CD, Bardgett RD, Mawdsley JL, Clegg CD, Ritz K, et al. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. *Appl Soil Ecol*. 2004;25: 63–84. doi:10.1016/S0929-1393(03)00098-2
14. Allison VJ, Yermakov Z, Miller RM, Jastrow JD, Matamala R. Using landscape and depth gradients to decouple the impact of correlated environmental variables on soil microbial community composition. *Soil Biol Biochem*. 2007;39: 505–516. doi:10.1016/j.soilbio.2006.08.021
15. Carson JK, Gonzalez-Quiñones V, Murphy DV, Hinz C, Shaw JA, Gleeson DB. Low Pore Connectivity Increases Bacterial Diversity in Soil. *Appl Environ Microbiol*. 2010;76: 3936–3942. doi:10.1128/AEM.03085-09
16. Bonito G, Reynolds H, Robeson MS, Nelson J, Hodkinson BP, Tuskan G, et al. Plant host and soil origin influence fungal and bacterial assemblages in the roots of woody plants. *Mol Ecol*. 2014;23: 3356–3370. doi:10.1111/mec.12821
17. Hackl E, Zechmeister-Boltenstern S, Bodrossy L, Sessitsch A. Comparison of Diversities and Compositions of Bacterial Populations Inhabiting Natural Forest Soils.

- Appl Environ Microbiol. 2004;70: 5057–5065. doi:10.1128/AEM.70.9.5057-5065.2004
18. Lejon DPH, Chaussod R, Ranger J, Ranjard L. Microbial Community Structure and Density Under Different Tree Species in an Acid Forest Soil (Morvan, France). *Microb Ecol.* 2005;50: 614–625. doi:10.1007/s00248-005-5130-8
 19. White C, Tardif JC, Adkins A, Staniforth R. Functional diversity of microbial communities in the mixed boreal plain forest of central Canada. *Soil Biol Biochem.* 2005;37: 1359–1372. doi:10.1016/j.soilbio.2004.12.007
 20. Urbanová M, Šnajdr J, Baldrian P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biol Biochem.* 2015;84: 53–64. doi:10.1016/j.soilbio.2015.02.011
 21. Zak DR, Holmes WE, White DC, Peacock AD, Tilman D. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology.* 2003;84: 2042–2050. doi:10.1890/02-0433
 22. Li H, Ye D, Wang X, Settles ML, Wang J, Hao Z, et al. Soil bacterial communities of different natural forest types in Northeast China. *Plant Soil.* 2014;383: 203–216. doi:10.1007/s11104-014-2165-y
 23. Frey-Klett P, Garbaye J. Mycorrhiza helper bacteria: a promising model for the genomic analysis of fungal–bacterial interactions. *New Phytol.* 2005;168: 4–8. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01553.x
 24. Duponnois R, Plenchette C. A mycorrhiza helper bacterium enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian Acacia species. *Mycorrhiza.* 2003;13: 85–91. doi:10.1007/s00572-002-0204-7

25. Boer W de, Folman LB, Summerbell RC, Boddy L. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiol Rev.* 2005;29: 795–811. doi:10.1016/j.femsre.2004.11.005
26. Frey P, Frey-Klett P, Garbaye J, Berge O, Heulin T. Metabolic and Genotypic Fingerprinting of Fluorescent Pseudomonads Associated with the Douglas Fir-*Laccaria bicolor* Mycorrhizosphere. *Appl Environ Microbiol.* 1997;63: 1852–1860.
27. Alexander IJ, Selosse M-A. Mycorrhizas in tropical forests: a neglected research imperative. *New Phytol.* 2009;182: 14–16.
28. Jaffré T, Morat P, Veillon J-M, Rigault F, Dagostini G. composition et caractérisation de la flore indigène de nouvelle-calédonie. *IRD Doc Sci Tech.* 2001; 1–139.
29. Morat P, Jaffré T, Tronchet F, Munzinger J, Pillon Y, Veillon J-M, et al. Le référentiel taxonomique Florical et les caractéristiques de la flore vasculaire indigène de la Nouvelle-Calédonie. *Adansonia.* 2012;34: 179–221. doi:10.5252/a2012n2a1
30. Kier G, Kreft H, Lee TM, Jetz W, Ibisch PL, Nowicki C, et al. A global assessment of endemism and species richness across island and mainland regions. *Proc Natl Acad Sci.* 2009;106: 9322–9327.
31. Bequette F. New Caledonia: Threats to biodiversity. *The Unesco Courier.* 199750: 38–41.
32. Jaffré T, Latham M, Schmid M. Aspects de l'influence de l'extraction du minerai de nickel sur la végétation et les sols en Nouvelle-Calédonie. *Cah ORSTOM Sér Biol.* 1977;12: 307–321.
33. Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da Fonseca GA, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature.* 2000;403: 853–858.
34. Branco S, Ree RH. Serpentine Soils Do Not Limit Mycorrhizal Fungal Diversity. Stajich JE, editor. *PLoS ONE.* 2010;5: 1–7. doi:10.1371/journal.pone.0011757

35. Fitzsimons MS, Miller RM. Serpentine soil has little influence on the root-associated microbial community composition of the serpentine tolerant grass species *Avenula sulcata*. *Plant Soil*. 2010;330: 393–405. doi:10.1007/s11104-009-0213-9
36. Read J, Hope GS. Ecology of *Nothofagus* forests of New Guinea and New Caledonia. *The Ecology and Biogeography of Nothofagus Forests*. Yale University Press; 1996.
37. schmidt M. Endémisme et spéciation en Nouvelle Calédonie. *C r Séances Société Biogeogr*. 1982;48: 52–60.
38. Jaffré T, L’Huillier L. La végétation des roches ultramafiques ou terrains miniers. *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration*. Païta: Institut Agronomique Néo-Calédonien; 2010. pp. 45–103. Available: <http://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010057555>
39. Isnard S, L’huillier L, Rigault F, Jaffré T. How did the ultramafic soils shape the flora of the New Caledonian hotspot? *Plant Soil*. 2016; doi:10.1007/s11104-016-2910-5
40. Héry M, Nazaret S, Jaffré T, Normand P, Navarro E. Adaptation to nickel spiking of bacterial communities in neocaledonian soils. *Environ Microbiol*. 2003;5: 3–12.
41. Majorel C, Hannibal L, Soupe M-E, Carriconde F, Ducouso M, Lebrun M, et al. Tracking nickel-adaptive biomarkers in *Pisolithus albus* from New Caledonia using a transcriptomic approach. *Mol Ecol*. 2012;21: 2208–2223. doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05527.x
42. Lenczewski M, Rigg L, Enright N, Jaffre T, Kelly H. Microbial communities of ultramafic soils in maquis and rainforest at Mont Do, New Caledonia. *Austral Ecol*. 2009;34: 567–576. doi:10.1111/j.1442-9993.2009.01962.x
43. Perrier N, Amir H, Colin F. Occurrence of mycorrhizal symbioses in the metal-rich lateritic soils of the Koniambo Massif, New Caledonia. *Mycorrhiza*. 2006;16: 449–458. doi:10.1007/s00572-006-0057-6

44. Lagrange A, Ducouso M, Jourand P, Majorel C, Amir H. New insights into the mycorrhizal status of Cyperaceae from ultramafic soils in New Caledonia. *Can J Microbiol.* 2011;57: 21+.
45. Amir H, Perrier N, Rigault F, Jaffré T. Relationships between Ni-hyperaccumulation and mycorrhizal status of different endemic plant species from New Caledonian ultramafic soils. *Plant Soil.* 2007;293: 23–35. doi:10.1007/s11104-007-9238-0
46. Amir H, Lagrange A, Hassaïne N, Cavaloc Y. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. *Mycorrhiza.* 2013;23: 585–595. doi:10.1007/s00572-013-0499-6
47. Connell JH, Lowman MD. Low-Diversity Tropical Rain Forests: Some Possible Mechanisms for Their Existence. *Am Nat.* 1989;134: 88–119.
48. Jaffré T, Rigault F, Dagostini G, Tinel-Fambart J, Wulff A, Munzinger J. Input of the different vegetation units to the richness and endemism of the New Caledonian flora. *Flora.* 2009;162: 54–9.
49. Amir H, Ducouso M. Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques. *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration.* Païta: Institut Agronomique Néo-Calédonien; 2010. pp. 129–146. Available: <http://www.documentation.ird.fr/hor/fdi:010057555>
50. Chatain A, Read J, Jaffré T. Does leaf-level nutrient-use efficiency explain Nothofagus-dominance of some tropical rain forests in New Caledonia? *Plant Ecol.* 2009;201: 51–66. doi:10.1007/s11258-008-9477-z
51. Braun-Blanquet J (Josias), Fuller GD (George D, Conard HS. *Plant sociology; the study of plant communities;* [Internet]. New York and London, McGraw-Hill book company, inc.; 1932. Available: <http://archive.org/details/plantsociologist00brau>

52. Pansu M, Gautheyrou J. Handbook of soil analysis: mineralogical, organic and inorganic methods. Berlin ; New York: Springer; 2006.
53. Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108: 4516–4522. doi:10.1073/pnas.1000080107
54. Ihrmark K, Bödeker ITM, Cruz-Martinez K, Friberg H, Kubartova A, Schenck J, et al. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol Ecol*. 2012;82: 666–677. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x
55. White, J T, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics [Internet]. 1990. Available: http://www.researchgate.net/publication/223397588_White_T._J._T._D._Bruns_S._B._Lee_and_J._W._Taylor._Amplification_and_direct_sequencing_of_fungal_ribosomal_RNA_Genes_for_phylogenetics
56. Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, et al. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Appl Environ Microbiol*. 2009;75: 7537–7541. doi:10.1128/AEM.01541-09
57. Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinforma Oxf Engl*. 2011;27: 2194–2200. doi:10.1093/bioinformatics/btr381
58. STACKEBRANDT E, GOEBEL BM. Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *Int J Syst Evol Microbiol*. 1994;44: 846–849. doi:10.1099/00207713-44-4-846

59. Roy M, Rochet J, Manzi S, Jargeat P, Gryta H, Moreau P-A, et al. What determines Alnus-associated ectomycorrhizal community diversity and specificity? A comparison of host and habitat effects at a regional scale. *New Phytol.* 2013;198: 1228–1238. doi:10.1111/nph.12212
60. Fierer N, Breitbart M, Nulton J, Salamon P, Lozupone C, Jones R, et al. Metagenomic and Small-Subunit rRNA Analyses Reveal the Genetic Diversity of Bacteria, Archaea, Fungi, and Viruses in Soil. *Appl Environ Microbiol.* 2007;73: 7059–7066. doi:10.1128/AEM.00358-07
61. Sun Y, Cai Y, Liu L, Yu F, Farrell ML, McKendree W, et al. ESPRIT: estimating species richness using large collections of 16S rRNA pyrosequences. *Nucleic Acids Res.* 2009;37: e76–e76. doi:10.1093/nar/gkp285
62. Kõljalg U, Larsson K-H, Abarenkov K, Nilsson RH, Alexander IJ, Eberhardt U, et al. UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.* 2005;166: 1063–1068. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01376.x
63. Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 2013;41: D590–D596. doi:10.1093/nar/gks1219
64. Chao A. Estimating the Population Size for Capture-Recapture Data with Unequal Catchability. *Biometrics.* 1987;43: 783. doi:10.2307/2531532
65. Simpson E. Measurement of Diversity. *Nature.* 1949;163: 688.
66. Pielou EC. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J Theor Biol.* 1966;13: 131–144. doi:10.1016/0022-5193(66)90013-0
67. Kruskal JB. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika.* 1964;29: 1–27. doi:10.1007/BF02289565

68. Anderson MJ. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* 2001;26: 32–46. doi:10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x
69. pearson K. On Lines and Planes of Closest Fit to Systems of Points in Space. *Philosophical Mag.* 2: 559–572. doi:10.1080/14786440109462720
70. McArdle BH, Anderson MJ. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. *Ecology.* 2001;82: 290–297. doi:10.1890/0012-9658(2001)082[0290:FMMTCD]2.0.CO;2
71. Ohtonen R, Fritze H, Pennanen T, Jumpponen A, Trappe J. Ecosystem properties and microbial community changes in primary succession on a glacier forefront. *Oecologia.* 1999;119: 239–246. doi:10.1007/s004420050782
72. Dickie IA. Host preference, niches and fungal diversity. *New Phytol.* 2007;174: 230–233. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02055.x
73. Šourková M, Frouz J, Fettweis U, Bens O, Hüttl RF, Šantrůčková H. Soil development and properties of microbial biomass succession in reclaimed post mining sites near Sokolov (Czech Republic) and near Cottbus (Germany). *Geoderma.* 2005;129: 73–80. doi:10.1016/j.geoderma.2004.12.032
74. Ishida TA, Nara K, Hogetsu T. Host Effects on Ectomycorrhizal Fungal Communities: Insight from Eight Host Species in Mixed Conifer-Broadleaf Forests. *New Phytol.* 2007;174: 430–440.
75. Smith ME, Henkel TW, Catherine Aime M, Fremier AK, Vilgalys R. Ectomycorrhizal fungal diversity and community structure on three co-occurring leguminous canopy tree species in a Neotropical rainforest. *New Phytol.* 2011;192: 699–712. doi:10.1111/j.1469-8137.2011.03844.x
76. Tedersoo L, Jairus T, Horton BM, Abarenkov K, Suvi T, Saar I, et al. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed

- by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytol.* 2008;180: 479–490.
doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02561.x
77. ZHANG X, HARPER R, KARSISTO M, LINDSTRÖM K. Diversity of Rhizobium Bacteria Isolated from the Root Nodules of Leguminous Trees. *Int J Syst Evol Microbiol.* 1991;41: 104–113. doi:10.1099/00207713-41-1-104
78. He XH, Critchley C. Frankia nodulation, mycorrhization and interactions between Frankia and mycorrhizal fungi in Casuarina plants. *Mycorrhiza*. Springer; 2008. pp. 767–781. Available: http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-78826-3_36
79. Pfeiffer B, Fender A-C, Lasota S, Hertel D, Jungkunst HF, Daniel R. Leaf litter is the main driver for changes in bacterial community structures in the rhizosphere of ash and beech. *Appl Soil Ecol.* 2013;72: 150–160. doi:10.1016/j.apsoil.2013.06.008
80. Corneo PE, Pellegrini A, Cappellin L, Gessler C, Pertot I. Moderate Warming in Microcosm Experiment Does Not Affect Microbial Communities in Temperate Vineyard Soils. *Microb Ecol.* 2014;67: 659–670. doi:10.1007/s00248-013-0357-2
81. Orgiazzi A, Lumini E, Nilsson RH, Girlanda M, Vizzini A, Bonfante P, et al. Unravelling Soil Fungal Communities from Different Mediterranean Land-Use Backgrounds. *PLOS ONE.* 2012;7: e34847. doi:10.1371/journal.pone.0034847
82. Castro AP de, Quirino BF, Jr GP, Kurokawa AS, Neto EL, Krüger RH. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. *Arch Microbiol.* 2008;190: 129–139. doi:10.1007/s00203-008-0374-6
83. Buée M, Reich M, Murat C, Morin E, Nilsson RH, Uroz S, et al. 454 Pyrosequencing Analyses of Forest Soils Reveal an Unexpectedly High Fungal Diversity. *New Phytol.* 2009;184: 449–456.
84. Wubet T, Christ S, Schöning I, Boch S, Gawlich M, Schnabel B, et al. Differences in Soil Fungal Communities between European Beech (*Fagus sylvatica* L.) Dominated

- Forests Are Related to Soil and Understory Vegetation. Treseder K, editor. PLoS ONE. 2012;7: 1–14. doi:10.1371/journal.pone.0047500
85. Bruce T, Martinez IB, Maia Neto O, Vicente ACP, Kruger RH, Thompson FL. Bacterial Community Diversity in the Brazilian Atlantic Forest Soils. *Microb Ecol.* 2010;60: 840–849. doi:10.1007/s00248-010-9750-2
86. Lazzaro A, Hilfiker D, Zeyer J. Structures of Microbial Communities in Alpine Soils: Seasonal and Elevational Effects. *Front Microbiol.* 2015;6. doi:10.3389/fmicb.2015.01330
87. Miyashita NT, Iwanaga H, Charles S, Diway B, Sabang J, Chong L. Soil bacterial community structure in five tropical forests in Malaysia and one temperate forest in Japan revealed by pyrosequencing analyses of 16S rRNA gene sequence variation. *Genes Genet Syst.* 2013;88: 93–103.
88. Staley C, Unno T, Gould TJ, Jarvis B, Phillips J, Cotner JB, et al. Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River. *J Appl Microbiol.* 2013;115: 1147–1158. doi:10.1111/jam12323.
89. Buckley DH, Huangyutitham V, Nelson TA, Rumberger A, Thies JE. Diversity of Planctomycetes in Soil in Relation to Soil History and Environmental Heterogeneity. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72: 4522–4531. doi:10.1128/AEM.00149-06
90. Buckley DH, Schmidt TM. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environ Microbiol.* 2003;5: 441–452. doi:10.1046/j.1462-2920.2003.00404.x
91. Aerts R. Climate, Leaf Litter Chemistry and Leaf Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems: A Triangular Relationship. *Oikos.* 1997;79: 439–449. doi:10.2307/3546886

92. Elliott WM, Elliott NB, Wyman RL. Relative Effect of Litter and Forest Type on Rate of Decomposition. *Am Midl Nat.* 1993;129: 87–95. doi:10.2307/2426438
93. Gömöryová E, Hrivnák R, Janišová M, Ujházy K, Gömöry D. Changes of the functional diversity of soil microbial community during the colonization of abandoned grassland by a forest. *Appl Soil Ecol.* 2009;43: 191–199. doi:10.1016/j.apsoil.2009.07.007
94. Austin AT, Vivanco L. Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. *Nature.* 2006;442: 555–558. doi:10.1038/nature05038
95. Bordez L, Jourand P, Ducouso M, Carriconde F, Cavaloc Y, santini sébastien, et al. Distribution patterns of microbial communities in ultramafic landscape: a metagenetic approach highlights the strong relationships between diversity and environmental traits. *Mol Ecol.* in press.
96. MacArthur RH, Wilson EO. An Equilibrium Theory of Insular Zoogeography. *Evolution.* 1963;17: 373–387. doi:10.2307/2407089
97. Peay KG, Bruns TD, Kennedy PG, Bergemann SE, Garbelotto M. A strong species?area relationship for eukaryotic soil microbes: island size matters for ectomycorrhizal fungi. *Ecol Lett.* 2007;10: 470–480. doi:10.1111/j.1461-0248.2007.01035.x
98. Peay KG, Garbelotto M, Bruns TD. Evidence of dispersal limitation in soil microorganisms: isolation reduces species richness on mycorrhizal tree islands. *Ecology.* 2010;91: 3631–3640.
99. Danell E, Alström S, Ternström A. *Pseudomonas fluorescens* in association with fruit bodies of the ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*. *Mycol Res.* 1993;97: 1148–1152. doi:10.1016/S0953-7562(09)80519-4

100. Mansfeld-Giese K, Larsen J, Bødker L. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *FEMS Microbiol Ecol.* 2002;41: 133–140. doi:10.1111/j.1574-6941.2002.tb00974.x

Supporting information

S1 Fig. Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) plot based on pairwise Bray-curtis dissimilarities between plant communities. Sites: K = Kopéto, RB = Rivière Blanche; Plant formations: S= Sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp maquis, Na = *N.aequilateralis* Monodominant rainforest, M = Mixed rainforest. Ellipses represent 0.95 standard error limits for each plant formation per site.

S2 Fig. Orthophotos representing the repartition of the 20m x 20m plots in (A) Kopéto site and (B) Rivière Blanche site. Each plant formation is represented by a colour: Sedge-dominated formation in black, *Tristaniopsis* spp. maquis in yellow, *N.aequilateralis* monodominant rainforest in red and mixed rainforest in purple. For each plot, names are related to study site: K = Kopéto, RB= Rivière Blanche; the number of the plots in the same plant formation: P1-P4 = Plot 1 to 4; and the plant formation: S = Sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp. maquis, Na = *N.aequilateralis* monodominant rainforest, M = mixed rainforest.

S3 Fig. Scheme representing the grid of 20m by 20m installed in each plot. A soil core was collected at each sampling point (red dots) and grouped together to create a composite sample per plot.

S4 Fig. Percentage of bacterial (A) and fungal phylum (B) for each plant formation per site.

S5 Fig. Rank-abundance diagrams with indication of genera affiliation for the most abundant bacterial OTUs for each plant formation per site. (A) Kopéto sedge-dominated formation; (B) Kopéto *Tristaniopsis* spp. maquis; (C) Kopéto *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (D) Kopéto mixed rainforest; (E) Rivière blanche sedge-dominated formation; (F) Rivière Blanche *Tristaniopsis* spp. maquis; (G) Rivière Blanche *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (H) Rivière Blanche mixed rainforest.

S6 Fig. Rank-abundance diagram with indication of genera affiliation for the most abundant fungal OTUs for each plant formation per site. (A) Kopéto sedge-dominated formation; (B) Kopéto *Tristaniopsis* spp. maquis; (C) Kopéto *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (D) Kopéto mixed rainforest; (E) Rivière blanche sedge-dominated formation; (F) Rivière Blanche *Tristaniopsis* spp. maquis; (G) Rivière Blanche *N. aequilateralis* monodominant rainforest; (H) Rivière Blanche mixed rainforest.

S7 Fig. Rarefaction curves obtained from OTU distribution for bacterial (A and B) and fungal (C and D) datasets for Kopéto (A and C) and Rivière Blanche sites (B and D). With sedge-dominated formation in black, *Tristaniopsis* spp. maquis in yellow, *N. aequilateralis* monodominant rainforest in red and mixed rainforest in purple.

S8 Fig. Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarities between fungal communities in soil using the 210 sequences dataset. Plant formation names: K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S= sedge-dominated formation, Mq = *Tristaniopsis* spp maquis, Na = *N. aequilateralis* monodominant rainforest, M = mixed rainforest. Ellipses represent the 0.95 standard error limit for each plant formation at each site.

S9 Fig. Principal Component Analysis performed from edaphic parameters of each plots.

S1 Table. Number of sequences remaining after each analysis step for bacterial and fungal datasets.

S2 Table. Two-way ANOVA tables for the abundance of Basidiomycota for each pair of comparison.

S3 Table. Diversity indices: species richness (S), Chao index, Simpson index (1-D) and Pielou evenness (J) for bacteria and fungi estimated per plot.

S4 Table. Two-way ANOVA table for the effect of vegetation type, site, and their interaction on bacterial and fungal diversity indices (S: species richness, 1-D: Simpson index and J: Pielou evenness index)

S5 Table. Two-way ANOVA tables for species richness (S), Simpson index (1-D) and Pielou evenness index (J) for each pair of comparison. Bacteria results are presented in the bottom-half of the table and fungi in the top-half for the three tables.

S6 Table. The effect of plant formation, site and their combination on the structure of the 210 sequences fungal community dataset revealed by PERMANOVA.

S7 Table. Permutation tests in redundancy ordination for floristic composition.

S8 Table. Permutation test in redundancy ordination for edaphic parameters.

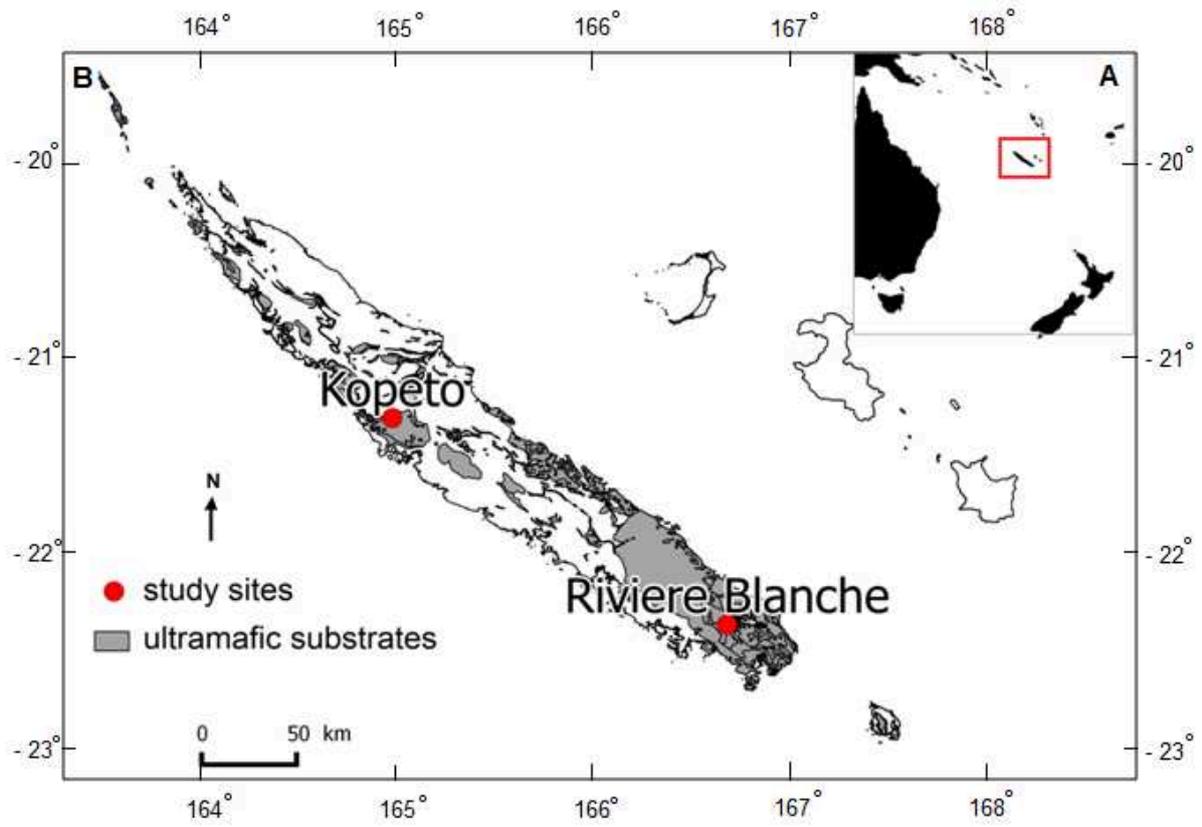


Fig 1.

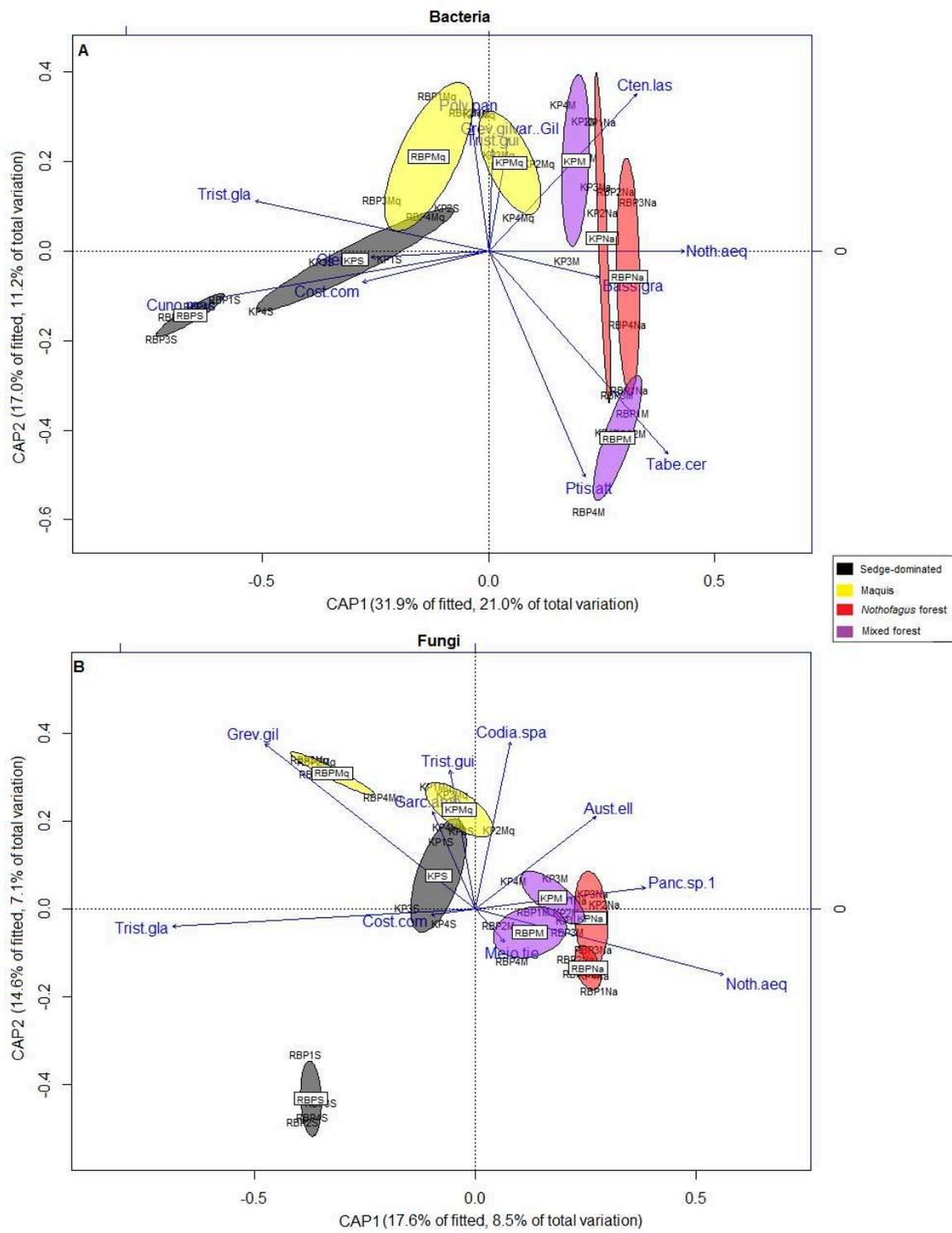


Fig 3.

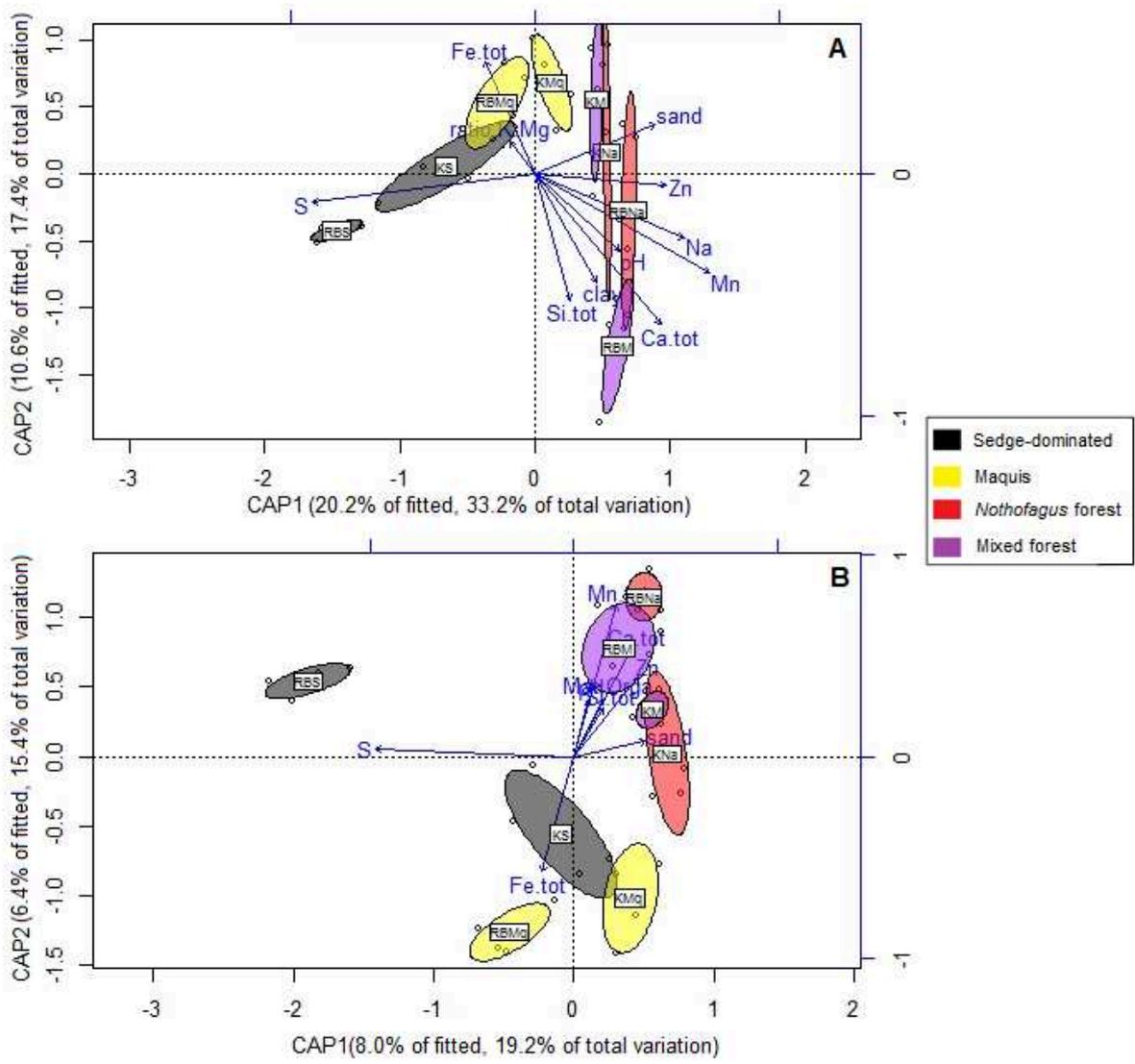


Fig 4.

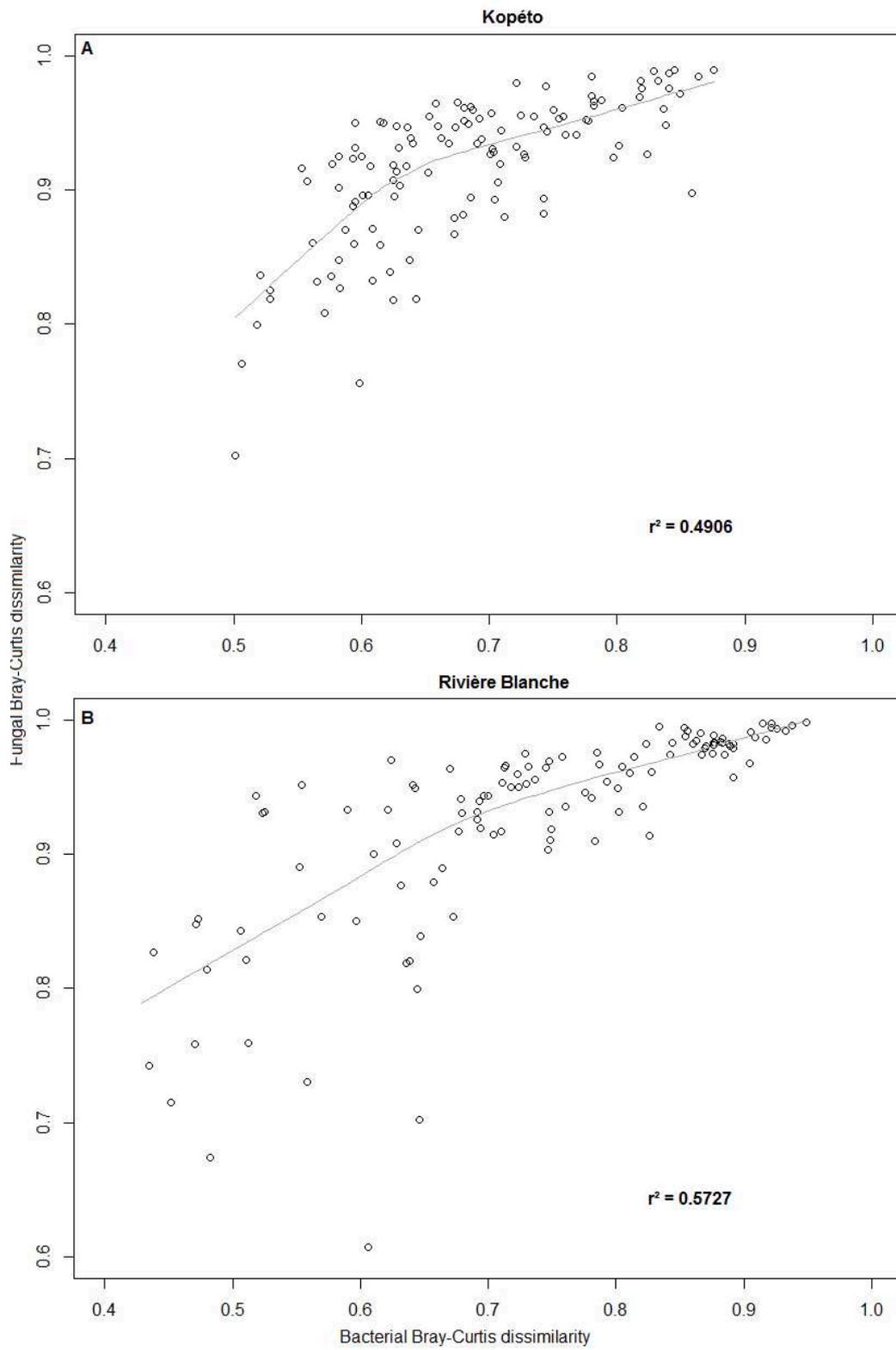
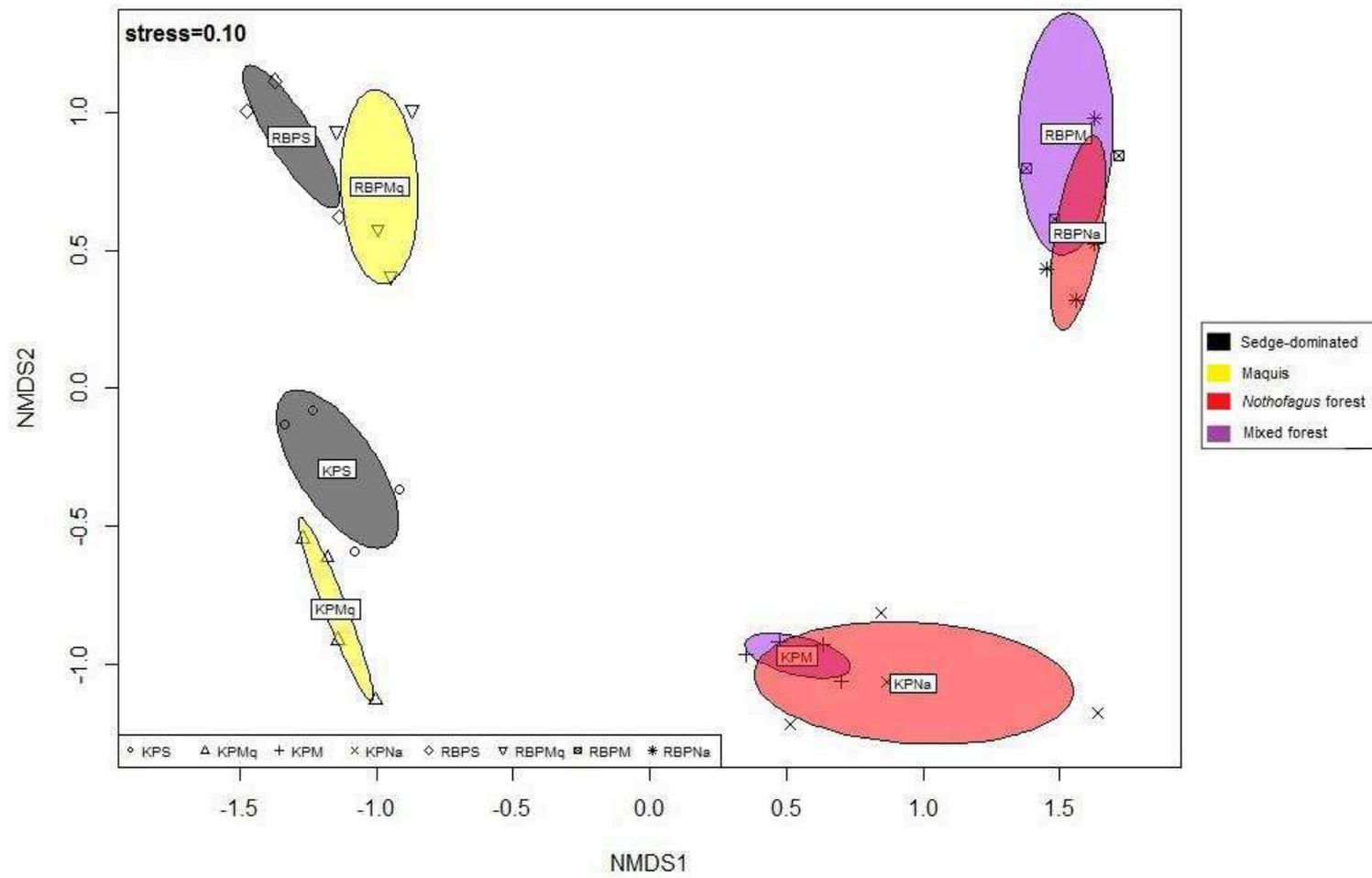
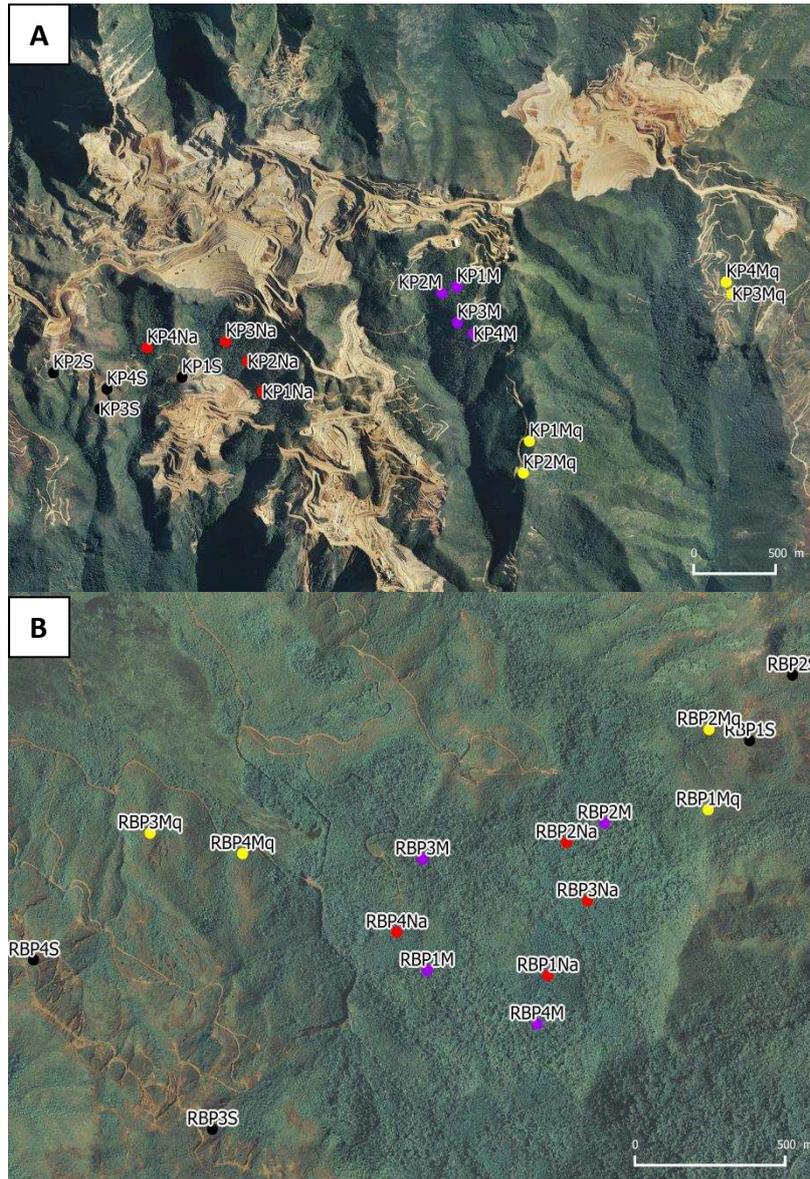


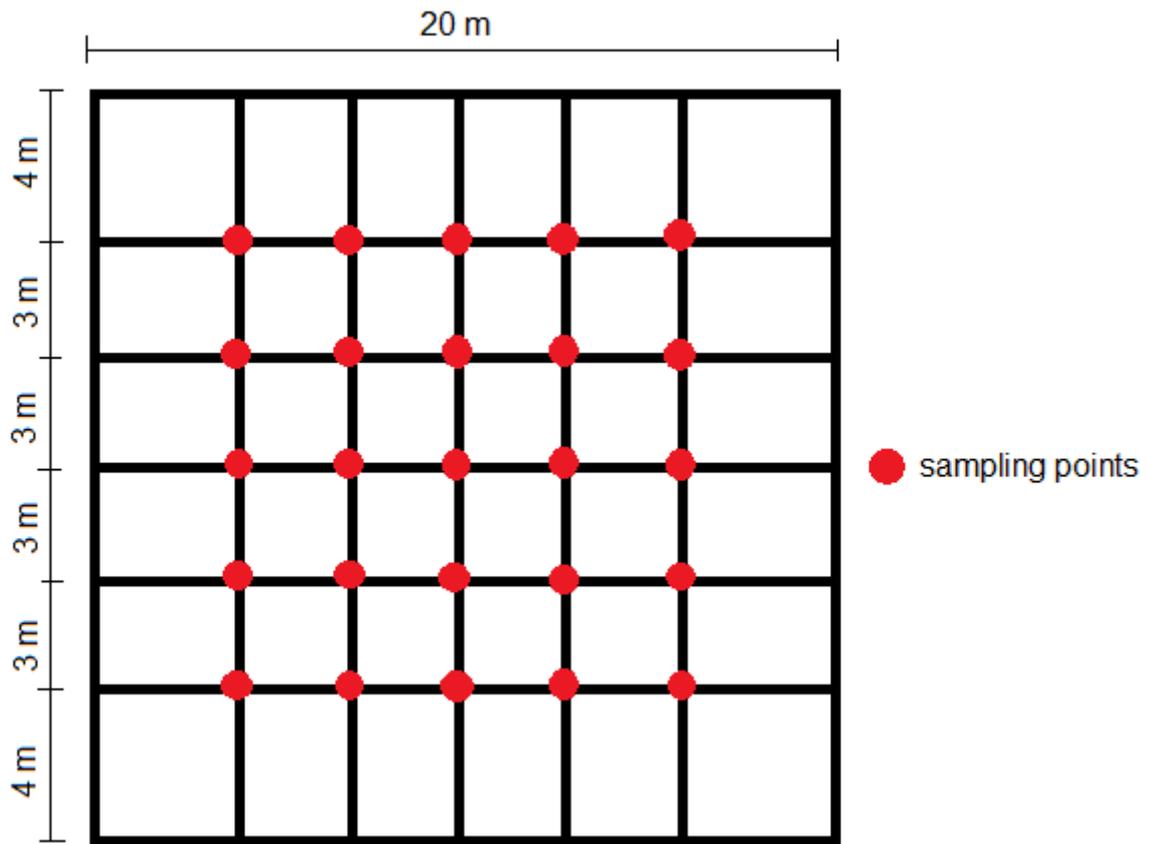
Fig 5.



S1 Fig.



S2 Fig.



S3 Fig.

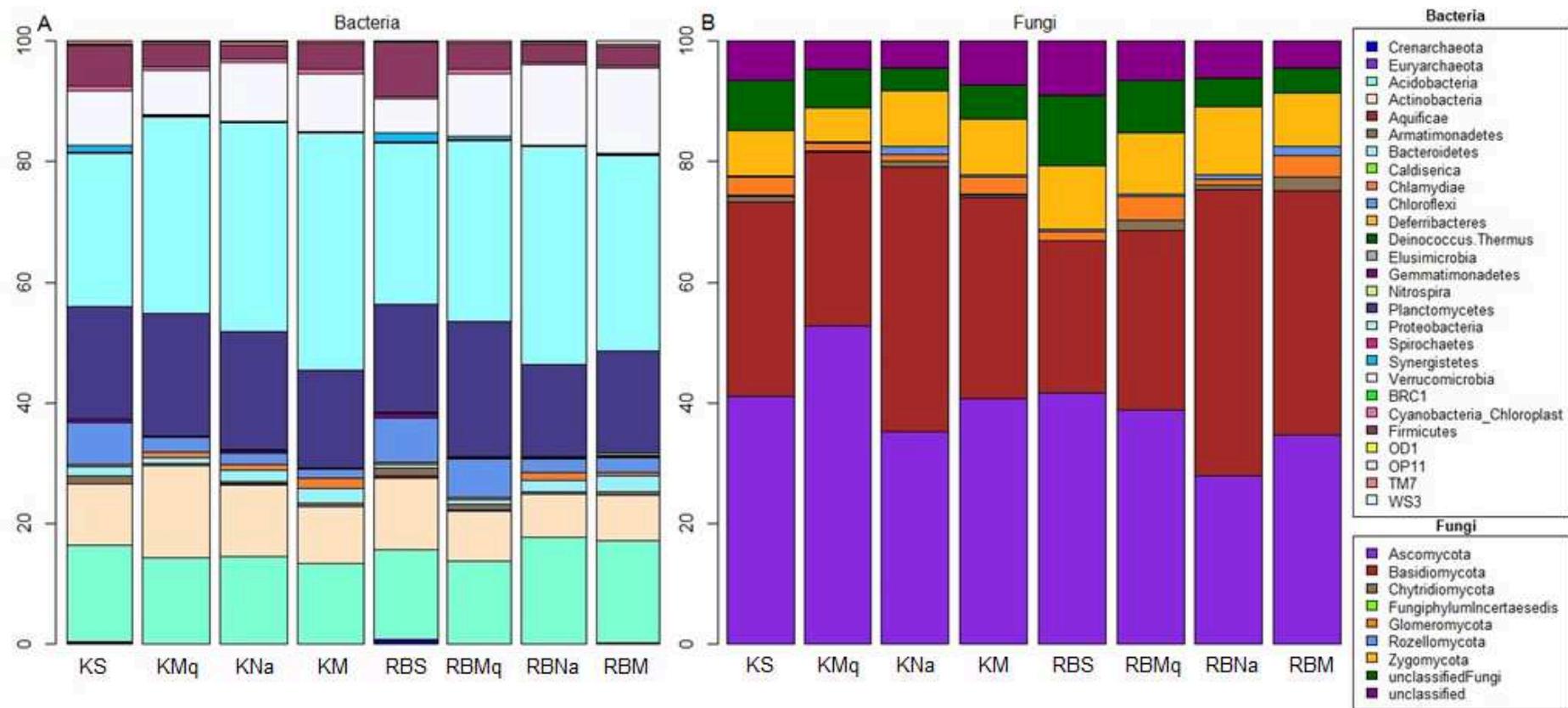
S1 Table

	Bacteria	Fungi
raw sequence	798,073	288,957
filtered sequence	322,807	245,137
pre-cluster sequence	162,812	-*
chimeric sequence	112,801	47,102
subsampling sequence	96,800	6,720**/44,548***
nb OTU	12,493	1,480**/3,741***

* This step is not realised for fungal dataset

** Number of sequences obtained for the analysis with subsampling at 210 sequences per sample

*** Number of sequences obtained for the analysis with subsampling at 1,591 sequences per sample

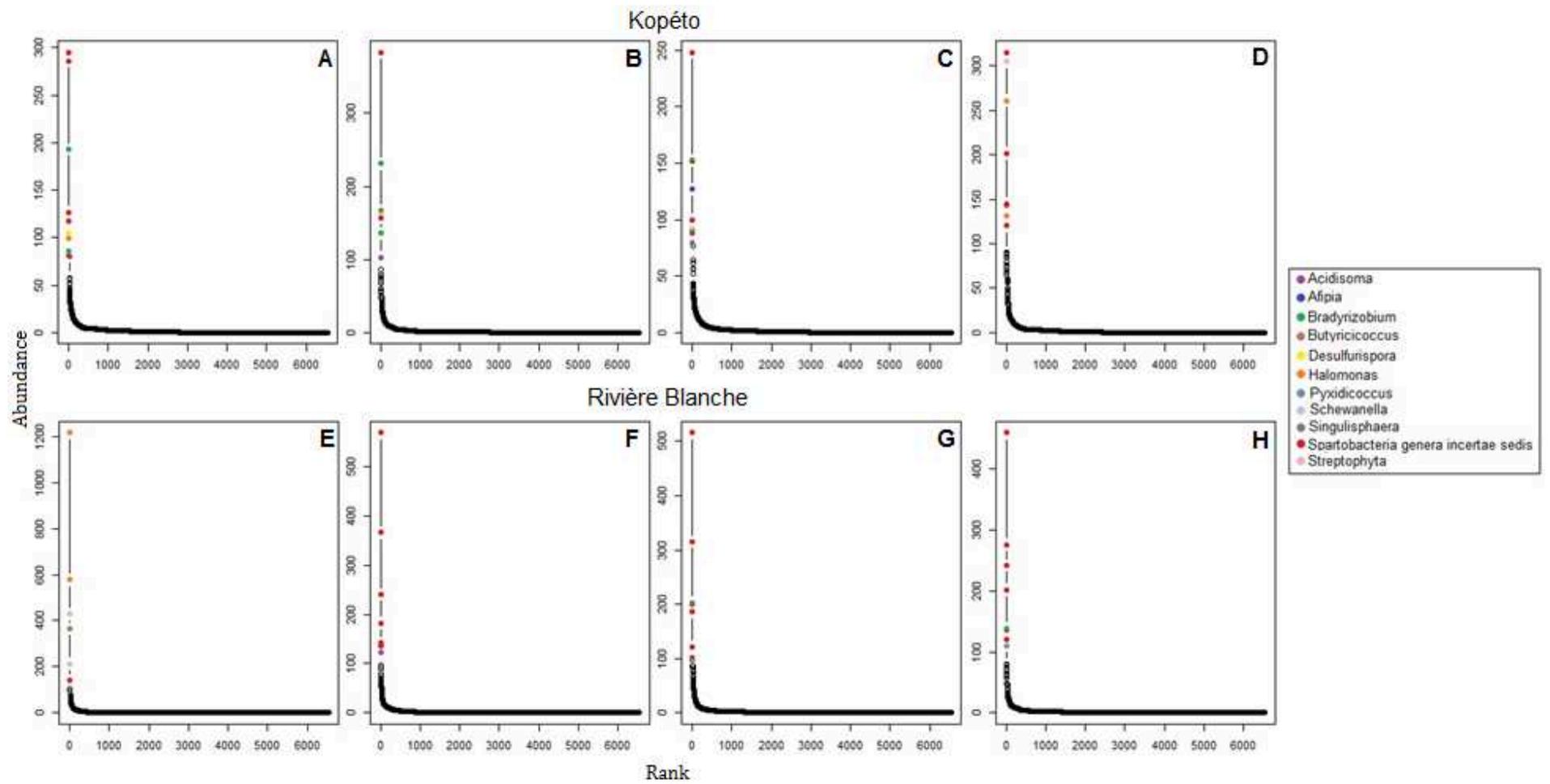


S4 Fig.

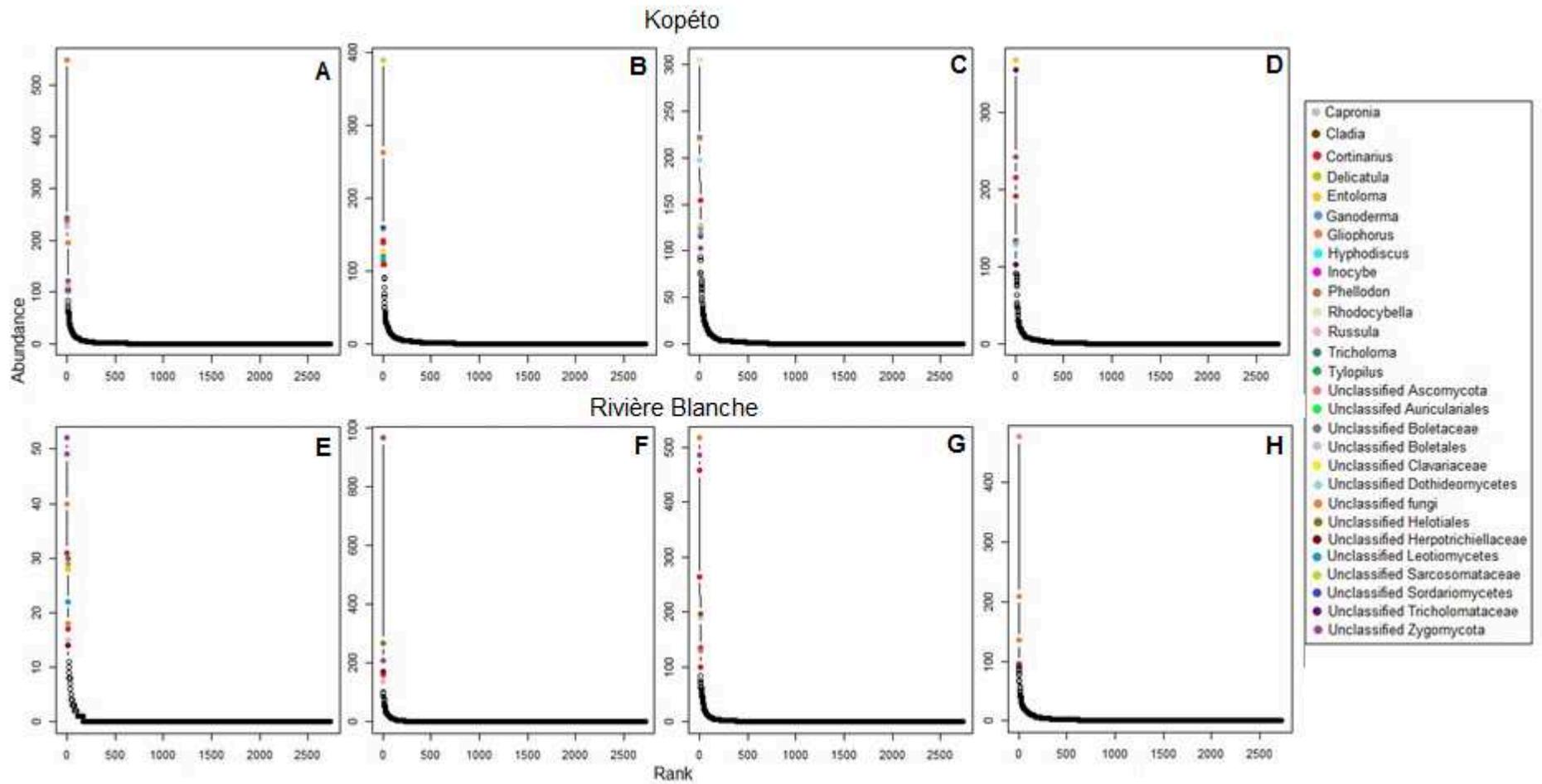
S2 Table.

Basidiomycot a	KPS	KPMq	KPNa	KPM	RBPS	RBPMq	RBPNa
KPMq	0.276						
KPNa	10.567	12.56					
KPM	0.1201	0.7863	10.701				
RBPS	0.7464	0.1656	11.037	1.3689			
RBPMq	0.314	0.013	23.455	1.1944	0.3182		
RBPNa	20.076	26.211	1.246	22.476	17.191	47.607	
RBPM	5.5555	7.4418	1.0747	5.1277	7.0743	13.733	5.2102

Significant level: $p < 0.05$ in yellow; $p < 0.01$ in orange and $p < 0.001$ in red



S5 Fig



S6 Fig.

S3 Table.

Site	plot	Bacteria			Fungi		
		S	1-D	J	S	1-D	J
Kopéto	KP1S	1,269	0.997	0.923	260	0.981	0.845
	KP2S	1,219	0.997	0.925	259	0.968	0.797
	KP3S	1,123	0.994	0.898	190	0.957	0.779
	KP4S	928	0.995	0.9	140	0.9	0.676
	KP1Mq	1,141	0.995	0.899	342	0.964	0.821
	KP2Mq	1,146	0.996	0.91	268	0.979	0.832
	KP3Mq	1,185	0.995	0.907	288	0.985	0.852
	KP4Mq	1,181	0.996	0.913	253	0.913	0.685
	KP1Na	1,175	0.995	0.907	216	0.949	0.735
	KP2Na	1,193	0.997	0.919	257	0.985	0.858
	KP3Na	1,289	0.997	0.933	265	0.947	0.752
	KP4Na	1,196	0.997	0.931	261	0.974	0.812
	KP1M	1,129	0.997	0.917	268	0.963	0.799
	KP2M	1,108	0.994	0.891	303	0.979	0.846
	KP3M	868	0.989	0.848	253	0.931	0.72
	KP4M	927	0.994	0.893	201	0.928	0.725
Rivière Blanche	RBP1S	686	0.924	0.683	59	0.947	0.86
	RBP2S	904	0.988	0.863	70	0.971	0.92
	RBP3S	734	0.99	0.869	44	0.914	0.795
	RBP4S	1,031	0.994	0.893	73	0.965	0.903
	RBP1Mq	869	0.982	0.826	184	0.877	0.688
	RBP2Mq	992	0.989	0.865	231	0.969	0.812
	RBP3Mq	1,223	0.996	0.919	243	0.969	0.809
	RBP4Mq	1,263	0.997	0.926	240	0.959	0.777
	RBP1Na	1,116	0.994	0.894	219	0.948	0.75
	RBP2Na	1,024	0.992	0.884	189	0.932	0.714
	RBP3Na	1,008	0.993	0.883	250	0.959	0.776
	RBP4Na	1,053	0.993	0.881	191	0.901	0.661
	RBP1M	1,099	0.994	0.889	321	0.974	0.845
	RBP2M	1,110	0.995	0.897	325	0.982	0.854
	RBP3M	1,060	0.993	0.884	329	0.981	0.846
	RBP4M	1,045	0.994	0.905	266	0.922	0.75

S4 Table.

Microorganisms	Bacteria			Fungi		
	S					
	df	F	p	df	F	p
Formation	3	2.8989	0.055805	3	26.319	9.188e-08 ***
Site	1	8.1206	0.008844 **	1	15.842	0.0005539 ***
Formation x Site	3	3.5529	0.029360 *	3	11.533	7.079e-05 ***
Residual	24			24		
Total	31			31		
	1-D					
Formation	3	1.128	0.3576	3	0.114	0.9513
Site	1	2.896	0.1017	1	0.596	0.4477
Formation x Site	3	1.317	0.2919	3	0.752	0.5321
Residual	24			24		
Total	31			31		
	J					
Formation	3	0.37	0.37472	3	1.6	0.21554
Site	1	0.02	0.02299 *	1	0.44	0.51417
Formation x Site	3	0.18	0.17865	3	2.87	0.05743
Residual	24			24		
Total	31			31		

Significant levels: ***p<0.001; **p<0.01; *p<0.05; NS non significant (p>0.05)

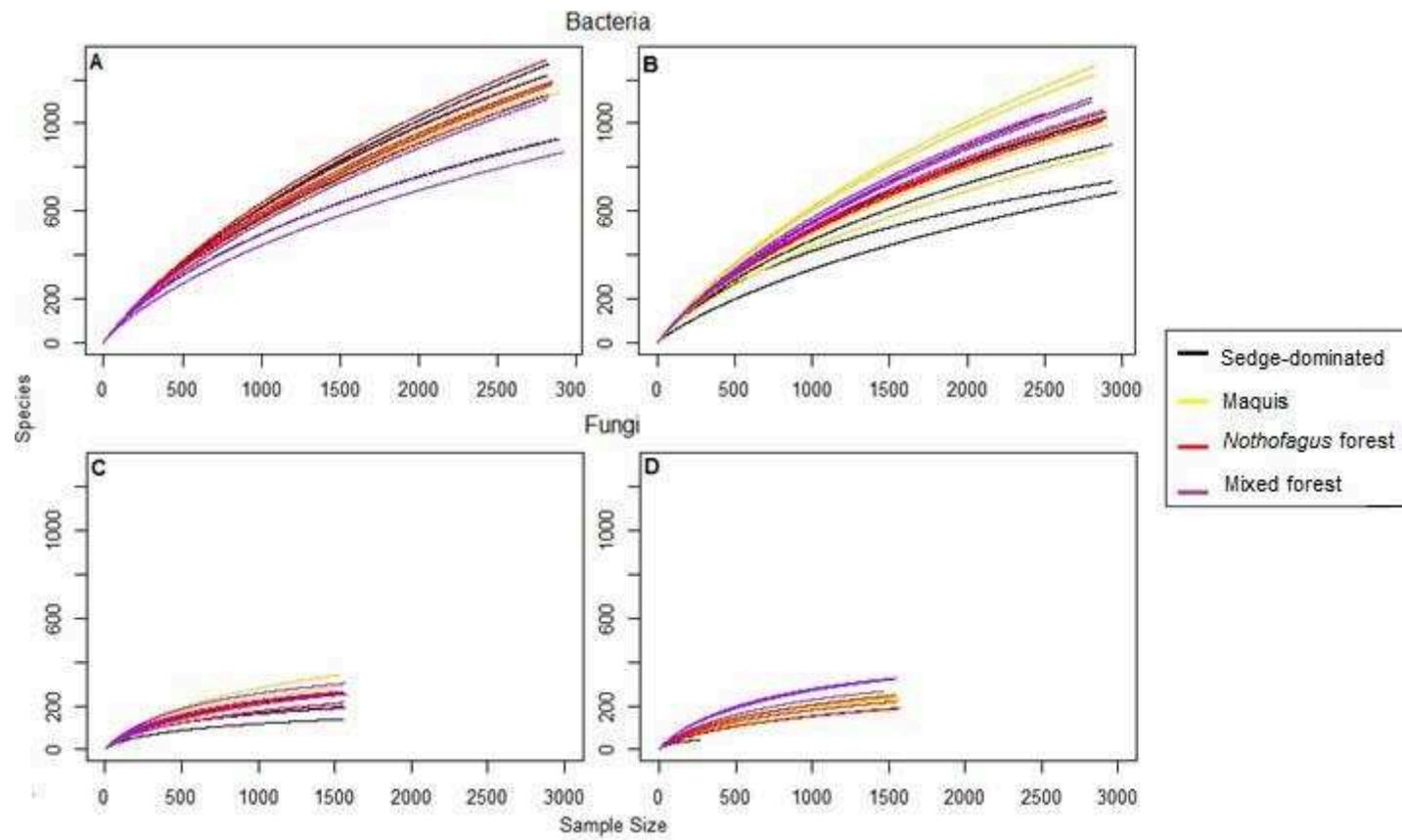
S5 Table.

S	KS	KMq	KNa	KM	RBS	RBMq	RBNa	RBM
KS		4.6465	1.4384	1.4923	25.492	0.1447	0	8.9872
KMq	0.1401		2.8446	1.1994	121.45	7.0539	9.767	0.8457
KNa	0.9741	3.1614		0.0731	205.66	2.005	4.2046	10.474
KM	1.6227	5.5215	8.6105		77.092	1.5809	2.9597	4.3579
RBS	7.3254	16.388	20.172	2.7211		114.6	91.52	234.99
RBMq	0.1589	0.6527	1.6855	0.4745	4.0654		0.3809	17.979
RBNa	1.1453	18.273	21.669	0.3718	6.5201	0.1417		22.573
RBM	0.5357	19.3350	20.202	1.1111	8.798	0.0075	0.9892	

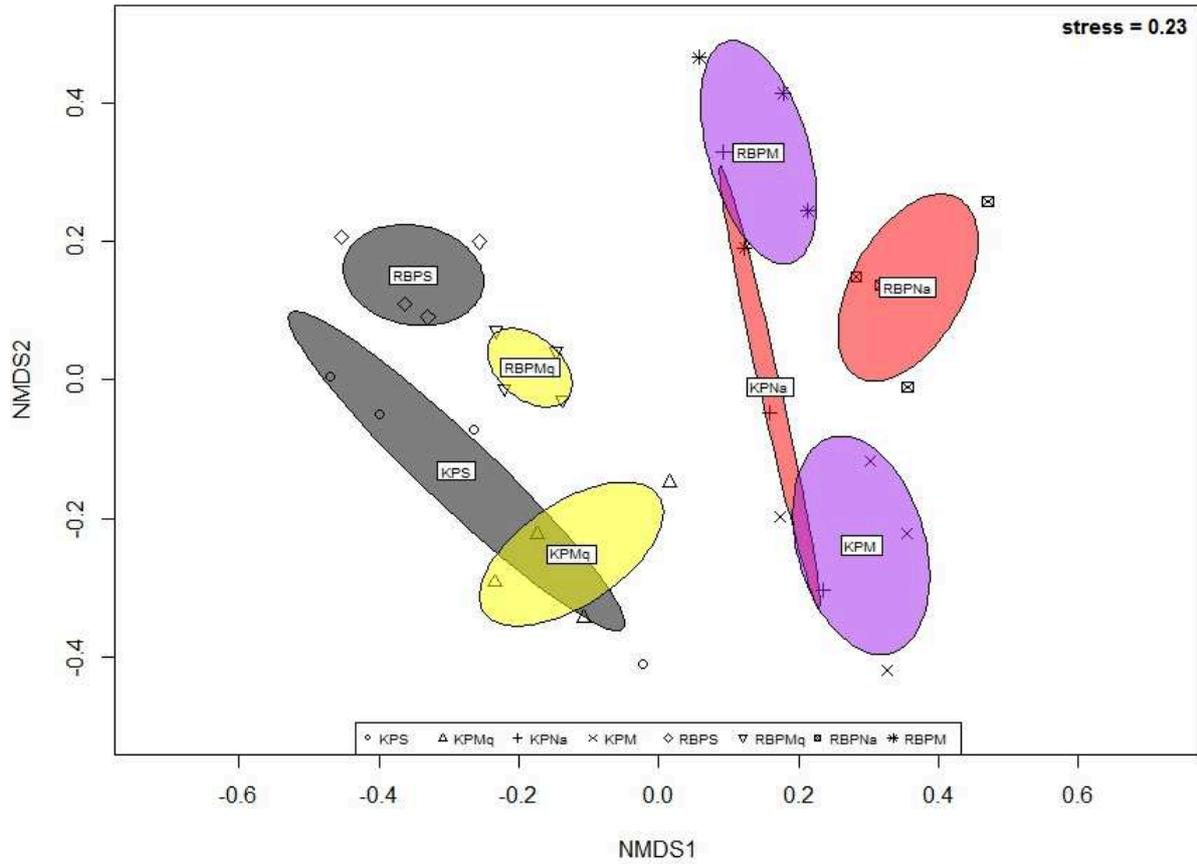
1-D	KS	KMq	KNa	KM	RBS	RBMq	RBNa	RBM
KS		0.0968	0.1389	0.8013	1.6901	1.7725	10.371	4.2
KMq	0.1306		3	1.4118	1.6543	1.6531	25	9
KNa	0.369	0.0345		3	1.8107	2.4362	29.4	15
KM	0.0033	0.2369	0.7517		1.348	0.419	0.0857	0.0857
RBS	0.0105	0.2803	0.8345	0.0031		0.9914	1.2916	1.4311
RBMq	0.0785	0.367	0.7012	0.0699	0.05		0.3243	0.7297
RBNa	0.5697	1.4941	3.3456	0.7413	0.6282	0.1101		3
RBM	0.3344	0.0427	0.0034	0.5827	0.6488	0.6422	2.4222	

J	KS	KMq	KNa	KM	RBS	RBMq	RBNa	RBM
KS		0.2938	1.3647	1.296	2.9771	1.2359	11.112	4.2781
KMq	0.1992		5.1324	1.8594	2.7346	0.9508	27.064	6.0165
KNa	0.109	0.0303		5.1279	3.8284	2.488	30.649	14.38
KM	0.0014	0.2633	0.1627		1.4224	0.0138	0.0143	0.1859
RBS	4.4416	2.3315	4.0916	5.5266		1.1182	1.4535	1.8822
RBMq	0.0036	0.2959	0.1927	6.00E-04	5.9523		0.004	0.1637
RBNa	1.2725	2.5246	2.8883	1.4435	14.902	1.4675		2.2959
RBM	1.3068	0.3353	0.8464	1.7113	1.5118	1.8883	7.8968	

Significant level: p<0.05 in yellow; p<0.01 in orange and p<0.001 in red



S7 Fig.

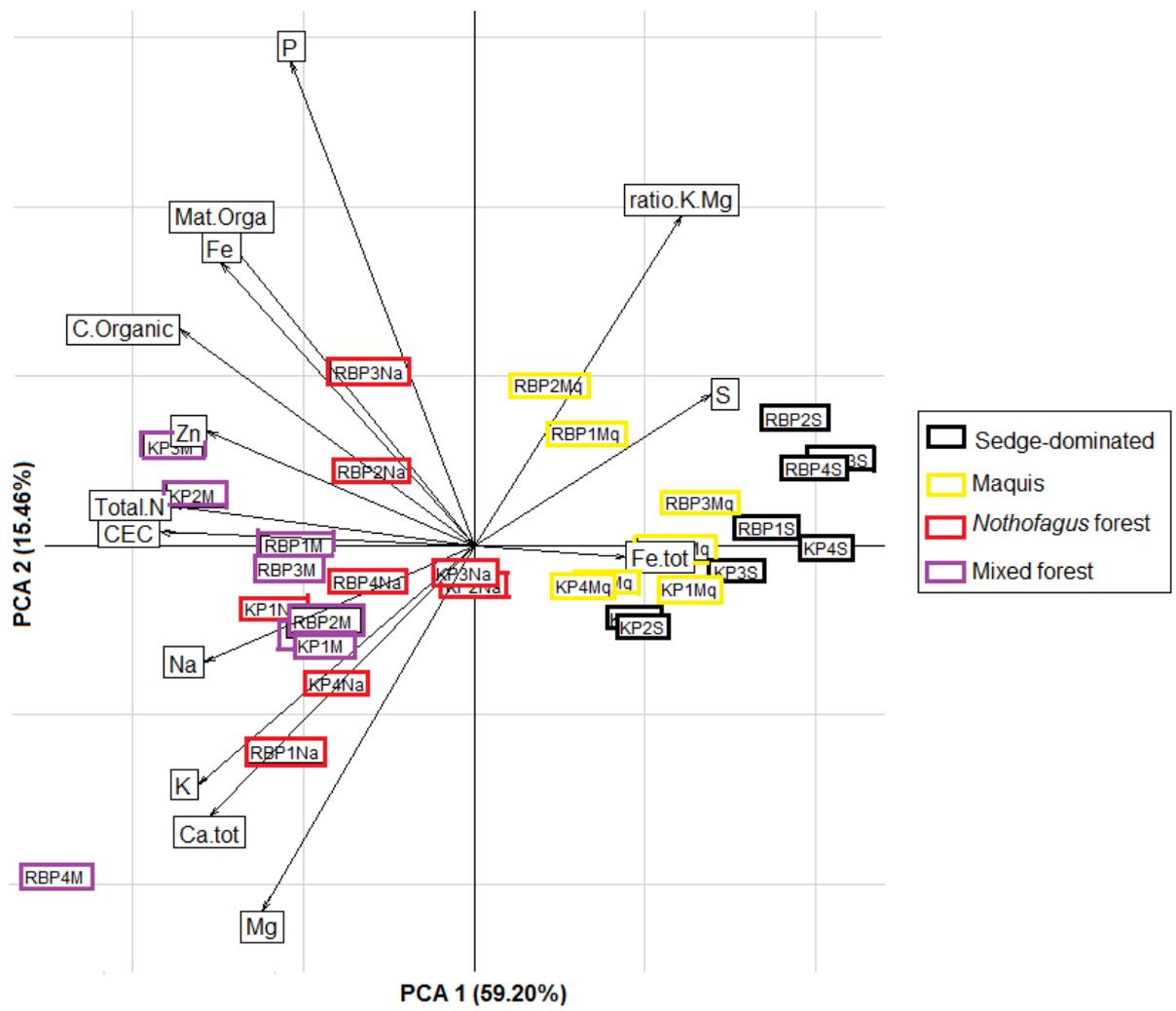


S8 Fig. S6 Table.

Permanova result	Df	SumsOfSqs	MeanSqs	F.Model	Variation	Pr(>F)
Formation	3	2.2449	0.74828	2.0348	0.16584	0.001
Site	1	0.7732	0.77323	2.1026	0.05712	0.001
Formation x site	3	1.6919	0.56396	1.5336	0.12499	0.001
Residuals	24	8.8259	0.36775	0.65204		
Total	31	13.5359	1			

S7 Table.

Community	species	abbreviation	Df	AIC	F	Pr(>F)
Bacteria	<i>Cunonia macrophylla</i>	Cuno.mac	1	66.066	4.5303	0.005
	<i>Tabernaemontana cerifera</i>	Tabe.cer	1	64.793	3.1226	0.005
	<i>Ctenopteris lasiostipes</i>	Cten.las	1	63.592	2.9461	0.005
	<i>Polyscias pancheri</i>	Poly.pan	1	62.572	2.672	0.005
	<i>Ptisana attenuata</i>	Ptis.att	1	61.477	2.6409	0.005
	<i>Tristaniopsis glauca</i>	Trist.gla	1	60.29	2.6177	0.005
	<i>Grevillea gillivrayi</i> var. gillivrayi	Grev.gilvar..Gil	1	59.413	2.2579	0.005
	<i>Basselinia gracilis</i>	Bass.gra	1	59.132	1.6989	0.01
	<i>Nothofagus aequilateralis</i>	Noth.aeq	1	58.772	1.6843	0.005
	<i>Costularia comosa</i>	Cost.com	1	57.805	1.6163	0.015
	<i>Xylosma</i> cf. <i>nervosum</i>	Xylo.cf..ner	1	57.476	1.4342	0.045
	<i>Melaleuca</i> cf. <i>gnioides</i>	Mela.cf..gni	1	57.172	1.6294	0.04
Fungi	<i>Tristaniopsis glauca</i>	Trist.gla	1	83.937	2.4234	0.005
	<i>Grevillea gillivrayi</i>	Grev.gil	1	83.616	2.1812	0.005
	<i>Codia spatulata</i>	Codia.spa	1	83.41	1.9978	0.005
	<i>Nothofagus aequilateralis</i>	Noth.aeq	1	83.249	1.8865	0.005
	<i>Pancheria</i> sp.1	Panc.sp.1	1	82.946	1.9401	0.005
	<i>Costularia comosa</i>	Cost.com	1	82.973	1.5902	0.005
	<i>Meiogyne tiebaghiensis</i>	Meio.tie	1	82.905	1.4734	0.01
	<i>Grevillea gillivrayi</i> var. gillivrayi	Grev.gilvar..Gil	1	82.858	1.4529	0.01
	<i>Beccariella baueri</i>	Becc.bau	1	82.788	1.4032	0.01
	<i>Gymnostoma chamaecyparis</i>	Gymn.cha	1	82.739	1.3227	0.04



S9 Fig.

1 **S8 Table.**

Community	edaphic parameter	Abbreviation	Df	AIC	F	Pr(>F)
Bacteria	Exchangeable Sulphur	S	1	63.592	7.3055	0.005
	Total Calcium	Ca.tot	1	62.307	3.1351	0.005
	Total Iron	Fe	1	61.375	2.6875	0.005
	Exchangeable Iron	Fe.tot	1	60.626	2.4217	0.005
	pH	pH	1	60.447	1.8322	0.005
	clay percentage	clay	1	60.373	1.6736	0.01
	Exchangeable Manganese	Mn	1	60.204	1.6836	0.005
	Exchangeable Zinc	Zn	1	59.49	1.816	0.005
	Sand percentage	sand	1	59.518	1.4623	0.005
	Exchangeable Sodium	Na	1	59.243	1.6211	0.005
	Total Silicium	Si.tot	1	58.899	1.5961	0.005
	ratio Potassium/Magnesium	ratio.K.Mg	1	58.943	1.4652	0.03
Fungi	Exchangeable Sulphur	S	1	83.84	2.5208	0.005
	Total Iron	Fe.tot	1	83.766	1.942	0.005
	Total Calcium	Ca.tot	1	83.749	1.8218	0.005
	Exchangeable Zinc	Zn	1	83.782	1.7121	0.005
	Sand percentage	sand	1	84.012	1.4787	0.005
	Total Silicium	Si.tot	1	84.002	1.6205	0.005
	pH	pH	1	84.222	1.3726	0.025
	Organic Matter	Mat.Orga	1	84.343	1.3911	0.02
	Total Manganese	Mn.tot	1	84.326	1.4314	0.015

2

3

CHAPITRE 2

4

5

6 **Ectomycorrhizal fungi inhibit saprotroph fungi in ectomycorrhizal**
7 **shrublands and rainforests in New Caledonian ultramafic**
8 **substrates.**

9

10 Ce chapitre fait l'objet d'un article scientifique qui sera soumis dans la revue *Fungal Ecology*.

11

12 Les champignons peuvent être classés en guildes, selon la façon dont ils exploitent les
13 ressources (Root, 1967), et peuvent ainsi représenter différents groupes fonctionnels. Deux des
14 guildes les plus communes sont celle des champignons mycorrhiziens et celle des champignons
15 saprophytiques. Dans les forêts tropicales, certaines ont la particularité de former des
16 groupements monospécifiques, appelés forêts à monodominance (i.e. plus de 50% de leur canopée
17 est composée d'une seule espèce végétale) (Connell and Lowman, 1989). Ce type de formation se
18 retrouve aussi sur substrat ultramafique en Nouvelle-Calédonie (e.g. forêt monodominante à
19 *Nothofagus* spp., forêt monodominante à *Arillastrum gummiferum*) (Papineau, 1989; Read and
20 Hope, 1996). De même, au sein des maquis miniers, certaines espèces végétales forment aussi
21 des groupements dominés par une espèce végétale (e.g. *Tristania* spp., *Acacia spirorbis*,
22 *Gymnostoma* spp.) (Jaffré and L'Huillier, 2010). Ces formations dominées (forêts et maquis) sont
23 pour la plupart constituées d'espèces végétales ectomycorhiziennes (Amir and Ducouso, 2010;
24 McGuire, 2014). Au sein des forêts monodominantes ectomycorhiziennes, il a été observé une
25 diminution de la proportion de saprophytes (McGuire et al., 2010) pouvant être due à un effet

26 inhibitoire des champignons ectomycorhiziens sur les saprophytes. Cela s'appelle l' effet Gadgil
27 (Gadgil and Gadgil, 1971). Cependant, cet effet n'a jamais été étudié dans d'autres types de
28 milieux comme les maquis, or cette diminution des saprophytes pourrait aussi être aussi
29 observable dans ces formations végétales.

30 Les travaux présentés dans ce chapitre de thèse se sont attachés à comparer les formations
31 végétales définies comme ectomycorhiziennes (i.e. dominées par des plantes
32 ectomycorhiziennes) et les formations non-ectomycorhiziennes (i.e. non-dominées par des
33 plantes ectomycorhiziennes), et ce d'un point de vu de l'abondance relative et de la richesse
34 spécifique de deux guildes que sont les champignons ectomycorhiziens et les champignons
35 saprophytiques. Ces travaux se sont également intéressés à la composition et à la structure de ces
36 communautés.

37 Nous avons ainsi cherché à répondre aux questions suivantes :

- 38 • Une diminution des champignons saprophytes est-elle observable dans toutes les formations
39 ectomycorhiziennes ?
- 40 • La composition des communautés ectomycorhiziennes aux sein des formations végétales
41 ectomycorhiziennes est-elle similaire ?

42 Les résultats obtenus indiquent une diminution de la proportion de saprophytes dans les
43 formations à symbioses ectomycorhiziennes contrairement à ce qui se passe en milieux non-
44 ectomycorhiziens. Cela ne diminue pas pour autant la richesse spécifique globale de l'ensemble,
45 ce qui pourrait être expliqué par l'effet Gadgil. De même, certaines lignées fongiques
46 ectomycorhiziennes telles que */cortinarius*, */russula-lactarius*, ou */tricholoma* prédominent dans
47 les formations ectomycorhiziennes par leur capacité à assurer des fonctions habituellement
48 attribuées aux saprophytes comme la dégradation de la matière organique (Bödeker et al., 2009;
49 Burke et al., 2014; Courty et al., 2007). Par ailleurs, mes résultats ont également montré

50 l'existence d'une structuration des communautés fongiques ectomycorhiziennes et saprophytes
51 liée aux types de formations végétales (maquis ectomycorhiziens, maquis non-ectomycorhiziens,
52 forêts ectomycorhiziennes ou forêts non-ectomycorhiziennes) ainsi qu'aux sites étudiés, comme
53 déjà démontré dans l'article 1. Il a aussi été observé une faible représentation de la lignée
54 /cortinarius en milieux non-ectomycorhiziens alors que celle-ci est prédominante dans toutes les
55 autres formations végétales ectomycorhiziennes. Cela suggère ainsi une plus faible capacité de
56 cette lignée à dégrader des litières complexes (comme celles présentent dans les formations
57 végétales non-dominantes) par rapport aux champignons saprophytes qui se révéleraient être dans
58 ce cas plus compétitifs. En milieux dominés par les symbioses ectomycorhiziennes, les acteurs de
59 ces symbioses possèdent des liens privilégiés entre eux d'où une prévalence de ces champignons
60 par rapport aux saprophytes, alors qu'en milieux plurispécifiques, un rééquilibrage en faveur des
61 saprophytes est observé.

62 Dans cette partie d'étude il a été mis en évidence le fait que quel que soit le type de
63 formation végétale (maquis ou forêt), lorsque celles-ci sont ectomycorhiziennes, une diminution
64 de l'abondance des saprophytes est observée. Cela peut-être potentiellement dû à la capacité
65 qu'ont certaines lignées ectomycorhiziennes à produire des enzymes de dégradations similaires à
66 celles des champignons saprophytes. Par ce fait, ils suppléent aux fonctions qu'occupent
67 couramment ces derniers dans d'autres conditions de milieu. Afin de confirmer cette hypothèse il
68 est nécessaire de conduire une étude permettant d'identifier dans les génomes de ces lignées de
69 champignons ectomycorhiziens les gènes permettant la dégradation de la matière organique et de
70 vérifier l'expression de ces derniers en conditions ad hoc.

71

72 **Ectomycorrhizal fungi inhibit saprotroph fungi in ectomycorrhizal**
73 **shrublands and rainforests in New Caledonian ultramafic**
74 **substrates.**

75

76 **Gourmelon V.^{1*}, Maggia L.^{1,2}, Letellier K.¹, Gigante S.¹ & Carriconde F.^{1*}.**

77 *1Institut Agronomique néo-Calédonien (IAC), Axe 2 "Diversités biologique et fonctionnelle des*
78 *écosystèmes terrestres", BP 18239, 98800 Nouméa, New Caledonia*

79 *²CIRAD, UMR AGAP, 98800 Nouméa, New Caledonia*

80 *Corresponding authors.

81 E-mail: carriconde@iac.nc

82 E-mail: gourmelon@iac.nc

83

84 **ABSTRACT**

85 According to resources they exploit, soil fungi can be divided in two main guilds, namely
86 mycorrhiza fungi and saprotroph fungi. Most of the monodominant rainforests found in tropic
87 are known to be associated with ectomycorrhizal (ECM) fungi. New Caledonia, is a subtropical
88 archipelago which like other tropical area present monodominant rainforests but also shrubland
89 vegetations, commonly called 'maquis minier', dominated by a single ECM plant species.
90 According to the 'Gadgil effect', presence of ECM fungi will inhibit saprotroph fungi. In our
91 study, we used a metagenomics approach to observe the relative abundance of ECM and
92 saprotroph fungi, and their composition in the soil within ECM and non-ECM maquis and
93 rainforests formations. Soil was sampled from 37 plots located in four sites, and fungal DNA was

94 sequenced by Illumina (MiSeq). A guild was assigned for each fungal species using FUNGuild
95 software. In our ECM formation, we observe a decrease of the abundance saprotroph but not of
96 the species richness, whereas for non-ECM formation, saprotroph dominate each formation but
97 no difference in abundance and richness was observed. We also see that some ECM lineages,
98 more precisely */cortinarius*, */russula-lactarius* and */tricholoma* predominated. Moreover, the
99 */cortinarius* lineage was observed to be present in each plant formation and be the dominant
100 lineage in ECM formations. All these results suggest that ECM fungi suppress saprotroph fungi
101 due to their potentiality to degrade organic matter. ECM fungi may thus, in some extent,
102 replace saprotroph in some of their functions.

103 **INTRODUCTION**

104 Soil fungi are involved in diverse processes (Anderson and Cairney, 2004). They are able
105 to breakdown and recycle organic matters (Buscot and Varma, 2005; Madsen, 2011), or by their
106 partnership with plant in mycorrhizal symbioses, they improve growth and nutrition of their
107 host plant (Smith and Read, 2008). According to their ecology, they can be classified in different
108 groups named guild ,*i.e.* groups of species that exploit the same resources in a similar manner
109 (Root, 1967), such as litter saprotroph, plant pathogen, or again ectomycorrhizal (ECM) fungi.
110 Ectomycorrhizal and saprotrophic fungi represent two of the major fungal guilds in soil. These
111 two guilds might compete for resources availabilities (Read, 1991).These competitions for
112 resources might lead to suppression of decomposition rate by inhibition of saprotrophs. This
113 phenomenon was first described in 1971 by Gadgil and Gadgil (Gadgil and Gadgil, 1971) and is
114 named 'Gadgil effect'. It seems that the 'Gadgil effect' is not related to one mechanism in
115 particular but involves several mechanisms, which can act in synergy. It had been hypothesized

116 that there is a direct competition, by production of chemical compounds or indirect, for
117 resources exploitation or predation between ectomycorrhizal fungi and saprotroph. The ‘Gadgil
118 effect’ and the effect of ectomycorrhizal fungi on saprotroph have rarely been studied in
119 temperate and tropical areas (Mayor and Henkel, 2006; McGuire et al., 2010). In the aim to
120 confirm presence of saprotroph inhibition and to understand mechanisms imply in this ‘Gadgil
121 effect’ further studies are required in tropical regions, and more particularly in plant vegetation
122 where ECM plants are largely represented.

123 New Caledonia is a subtropical archipelago located in the South West Pacific. This
124 archipelago, due to its geographical isolation and its particular geological history, possesses a
125 large plant diversity and a high endemism rate (*c.a.* 74%) (Jaffré et al., 2001b; Morat et al.,
126 2012). Anthropogenic threats, such as mining activity and bushfire, impact this biodiversity. For
127 all these reasons, Myers *et al.* has defined in 2000, New Caledonia as a biodiversity hotspot
128 (Myers et al., 2000). In New Caledonia certain rainforests have a canopy dominated at more
129 than 50% by one species (*e.g. Nothofagus spp., Arillastrum gummiferum, Codia mackeena*)
130 (Demenois et al. unpublished; Ibanez and Birnbaum, 2014; Jaffré and L’Huillier, 2010; L’Huillier
131 et al., 2010) and named monodominant rainforests. This type of rainforest is recovered in
132 different tropical regions, such as in South America and Central Africa (Connell and Lowman,
133 1989; McGuire, 2014). Several monodominant trees share the same trait of forming ECM
134 associations (McGuire, 2014). This association with ECM fungi has been suggested to be strongly
135 correlated to the development and maintenance of monodominant rainforests (Connell and
136 Lowman, 1989; McGuire, 2014; Torti et al., 2001). This ECM hypothesis supposes that the ECM
137 symbiosis procure advantages in terms of resources exploitation by improving soil exploration

138 and acquisition of Nitrogen and Phosphorus (P) (Newbery et al., 1997). Moreover, ECM fungi
139 create in soil a network of mycelia between adults and seedling of the same species. This
140 network named common mycorrhizal network (CMN) has been supposed to increase
141 survivorship of conspecific seedling and disadvantages seedling from heterospecific trees
142 (McGuire, 2007). Beside this, others hypothesis have been developed to explain presence of this
143 type of rainforest such as litter hyperaccumulation. It had been suggested that in
144 monodominant rainforest there is a higher litter production compare to mixed rainforest and
145 that there is a lower rate of decomposition (Torti et al., 2001). Some explanations were given to
146 this higher litter production and lower decomposition rates. This might be due to the fact that
147 monodominant forest has a recalcitrant litter (Mayor and Henkel, 2006). But, this lower
148 decomposition rate might also be due to a difference in microbial community composition, by
149 the fact that ECM compete with saprotroph and inhibited saprophyte community (McGuire et
150 al., 2010).

151 A third of New Caledonia main island is covered by ultramafic substrates. This type of
152 soil is characterised by is poverty in nutrients, such as nitrogen (N), phosphorus (P) and
153 potassium (K) and a high content of heavy metal, such as nickel (Ni), chromium (Cr) and
154 manganese (Mg). Certain forests found in this type of soil are dominated at the canopy layer by
155 a single species, *e.g. Nothofagus* species and *Arillastrum gummiferum*, and associated with ECM
156 fungi (McCoy, 1992; Papineau, 1989; Read and Hope, 1996; Carriconde et al. *unpublished*). In
157 ultramafic substrates, this dominance is also present in vegetation type other than rainforests.
158 Indeed, in low sclerophyllous shrubland, named 'maquis minier', species such as *Tristaniopsis*
159 (*Myrtaceae*) or *Acacia spirorbis* (*Mimosoideae*) commonly dominated this vegetation type and

160 cover large spatial areas. *Gymnostoma* spp. (Casuarinaceae) also forms dominant formation in
161 tall shrubland. Most of these species are also known to be associated with ECM fungi (Amir and
162 Ducouso, 2010; Jaffré and L’Huillier, 2010). To our knowledge, Gadgil effect has never been
163 studied in dominant vegetation types associated with ECM fungi other than rainforests.

164 In this study, according to the ‘Gadgil effect’, we postulate that in dominant ECM plant
165 formation, ECM fungi would be predominant compare to non-dominant formation and that
166 predominance of ECM would impact the saprotroph community in term of relative abundance.
167 Therefore, the aims of this study were (1) to determine the relative proportions of ECM fungi
168 and saprotrophs in different plant formation representing two types of formation, *i.e.* ECM and
169 non-ECM vegetations, in order to define whether there is an impact on the saprotroph
170 community, and (2) to observe composition of ECM and saprotroph community in these
171 different types of plant formations to see if the potential inhibition of saprotrophs is due to
172 particular lineages or ECM fungal species. For this purpose, 37 plots were installed in four
173 different sites along the mainland. As previously indicated the plant vegetations studied
174 represented two main types of formations: dominated and non-dominated by ECM plant
175 species (also indicated thereafter as ECM and non-ECM formations). These two types of plant
176 vegetations were divided in two categories: maquis and rainforests. In each plot, soil cores were
177 sampled, the total DNA was extracted, and the ITS2 region was amplified and sequenced by
178 Illumina MiSeq to assess the fungal communities.

179

180 **Material and Methods**

181 **Study sites**

182

183 In this study, four sites, two in the South, two in the North, were studied on New
184 Caledonian ultramafic substrates: Bois du Sud, Rivière Blanche, Kopéto massif and Tiébaghi
185 massif (Fig.1). Bois du Sud (22°10'S-166°46'E) and Rivière Blanche (22°9'S-166°41'E) are
186 provincial reserve situated in the South of New Caledonia Main Island on 'Massif du Grand Sud'
187 and are at an elevation comprise between 300 and 500 m. Every year, these sites received on
188 average 3000mm of rainfall. Kopéto site (21°10'S-165°0'E) is located on North West of New
189 Caledonia Main Island. It is an active nickel mine on Kopéto Massif culminating at 1100m and
190 receiving about 1200 to 1500 mm of rainfall per year. Tiébaghi site (20°27'S-164°12'E) in North,
191 is an active nickel mine on Tiébaghi Massif culminating at 500m and receiving 760mm of rainfall
192 per year on average.

193 We investigated the fungal community in seven vegetation communities. A detailed
194 description of each vegetation type is presented in Table 1. All along this study, shrubby maquis,
195 developed shrubby maquis and forest stratum maquis are defined as non-ECM maquis,
196 *Tristaniopsis* spp. maquis as ECM maquis, mixed rainforest as non-ECM rainforest and
197 *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest and *Arillastrum gummiferum*
198 monodominant rainforest as ECM rainforest.

199 **Table 1: Description of the plant formations investigated**

Sites	Plant Formation	Descriptions	ECM status
Kopéto (K) and Rivière Blanche (RB)	<i>Tristaniopsis</i> spp. maquis (Mq)	Shrubland dominated by <i>Tristaniopsis</i> genus (Myrtaceae).	ECM
	<i>Nothofagus aequilateralis</i> monodominant rainforest (Na)	More than 50% canopy represented by <i>Nothofagus aequilateralis</i> (Nothofagaceae).	ECM
	Mixed rainforest (M)	No species dominated more than 50% of the canopy. Floristic composition highly diverse and dependant of geographical location.	Non-ECM
Bois du Sud (BS)	<i>Arillastrum gummiferum</i> monodominant rainforest (Ag)	Rainforest dominated by <i>Arillastrum gummiferum</i> (Myrtaceae). Restricted to 'Massif du Grand Sud'.	ECM
Tiébaghi (T)	Shrubby maquis (MqS)	Top stratum between 5-6m.	Non-ECM
	Developped shrubby maquis (MqDS)	Maquis higher than shrubby maquis and floristic composition similar.	Non-ECM
	Forest stratum maquis (MqF)	Formation dense and higher than shrubby maquis. Floristic composition highly diverse and intermediate between maquis and rainforest.	Non-ECM

Sampling strategy

In each plant formations, four plots of 20m by 20m were installed, at the exception of the three Tiébaghi maquis were only three plots by maquis were placed. A total of 37 plots were settled. In each plot, a grid was drawn following the design on Figure S1. Soil samples were collected at each grid intersection. A total of 25 soils samples were taken per plots and grouped to create a composite sample. All soils samples were conserved at -20°C until analysis. For each plot a floristic inventory to determine plant coverage were conducted by using Braun-Blanquet cover classification (Braun-Blanquet et al., 1932). For Kopéto, Rivière Blanche and Bois du Sud, physico-chemical analysis for each soil sample were also performed by ActLab (Ancaster, Ontario, Canada).

DNA extraction and amplification

Each soil sample was grinding at 365 rpm during 30 minutes with Retsch PM100. Then, total DNA were extracted with the PowerSoil DNA isolation kit (MOBIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA) following the manufacture recommendations. The ITS2 region of the nuclear ribosomal RNA gene for fungal DNA was amplified by fITS7 (Ihrmark et al., 2012) and ITS4 (White et al., 1990) primers then sequenced by Illumina MiSeq (Plateforme Génome-Transcriptome, Université de Bordeaux, France).

Sequence analysis

Illumina sequence reads were processed using Mothur version 1.34.0 (Schloss et al., 2009). After the first sequencing steps (creating contigs with forward and reverse sequences)

604 302 sequences were obtained for fungi in total. All sequences were filtered by removing reads with ambiguous bases, and containing homopolymer higher than 8 bp. Sequences shorter than 150bp length were also removed. After the filtering step, 444 033 fungal sequences remained. All samples were normalised at 1591 sequences per sample representing 58 867 sequences. At the end of analysis, 5385 OTUs were identified (with 1598 singletons). Before analysis, all singletons were removed from the dataset. Number of sequences obtained after each steps are summed up in Table S1.

Table S1. Number of sequences remaining after each analysis steps for fungal dataset.

Guild assignation

For each OTUs, a guild (animal pathogens, Arbuscular mycorrhizal fungi, ectomycorrhizal fungi, ericoid mycorrhizal fungi, foliar endophyte, lichenicolous fungi, lichenized fungi, mycoparasites, plant pathogens, undefined root endophytes, undefined saprotroph, litter saprotroph, wood saprotroph and soil saprotroph) were assigned using FUNGuild (Nguyen et al., 2015). In this study, we kept only ectomycorrhizal and saprotroph guild. All ambiguous guilds such as ectomycorrhizal-wood saprotroph or plant pathogen-wood saprotroph were removed, and all OTUs assigned to the *Entoloma* genus (classified as ectomycorrhizal-saprotroph in FUNGuild) was classified in the ectomycorrhizal guild. To validate our ECM fungi dataset, all genera not related to one of the ECM lineage defined by Tedersoo (Tedersoo et al., 2010a) and listed on the website http://unite.ut.ee/EcM_lineages were removed, *i.e.* *Destunzia*, *Gigasperma*, *Gliophorus*, *Naucoria*, *Phaeocollybia* and *Stephanospora*. For the saprotroph

dataset, litter saprotroph, wood saprotroph, soil saprotroph and undefined saprotroph were grouped under the saprotroph guild.

Data analysis

Difference in abundance and richness for ectomycorrhizal and saprotroph fungi were determined in each plant formation. An ectomycorrhizal/saprotroph ratio was calculated for each vegetation type. The twenty more abundant OTUs were plot in a rank-abundance barchart and the five most abundant lineage were identified by a colour for ECM and genus for saprotroph fungi. Ectomycorrhizal lineage composition of each vegetation type was also assessed. A Nonmetric MulDimensional Scaling (NMDS) (Kruskal, 1964) was ordinated for ectomycorrhizal and saprotroph based on Bray-curtis dissimilarity index between each plot. In order to corroborate NMDS results, PERMANOVA (Anderson, 2001) were run to determined percentage of observed variation due to site, formation (ECM maquis, non-ECM maquis, ECM rainforest or non-ECM rainforest) and interaction between these factors. All analyses were conducted using R.3.1.1 (R Core Team 2014).

RESULTS

ECM fungi versus saprotroph

The barplot representing the proportion of ECM and saprotroph fungi according to their abundance (number of sequences) per plant formations (Figure 2), showed a higher proportion of ECM fungi (between 70 to 90%) in ECM formation. In comparison non-ECM formation saprotroph dominated at 50 to 90% these plant formations. The calculation of the ectomycorrhizal/saprotroph ratio for each plant formation indicated that this ratio was higher than 1 for each dominated (ECM) formation with a high range of value between 1.74 and 10.35 and inferior to 1 in non-ECM formation.

The same analysis was conducted on the species richness (S) for ECM fungi and saprotroph (number of OTUs) (Figure 3). In non-ECM formation, there is no difference observed between the abundance and richness of saprotroph. In contrary, ECM formation showed a lower percentage of ECM than observed in abundance. In these ECM formations, the ECM species richness was equivalent to the saprotroph species richness. Furthermore, value of ECM/saprotroph ratio was about the same that value observed for abundance. For ECM formation this ratio was lower around 1.

These results suggest that in ECM formation, ECM species richness was equivalent to saprotroph richness. The difference observed between abundance and richness in these type of vegetation suggest that some ECM species must be highly represented.

ECM lineage composition

Piechart of lineage composition per number of sequence (Figure 4) and number of OTU (Figure 5) showed that *\cortinarius* lineage are present in each plant formation at the exception of the forest stratum maquis. This lineage is more abundant in ECM formation than non-ECM formation in both abundance and richness. The *\entoloma* lineage in contrast to *\cortinarius* lineage was predominant in non-ECM formation. Finally, ECM lineage composition do not really differ between the abundance and OTU richness.

ECM fungi and saprotroph OTU composition

The twenty more abundant ectomycorrhizal OTUs for each plant formations (Figure 6) showed that *\cortinarius* is more commonly found in ECM formation (*Tristaniopsis* maquis, *N. aequilateralis* and *A. gummiferum* monodominant rainforests) (43 OTUs) than in non-ECM formation (shrubby maquis, developed shrubby maquis, forest stratum maquis and mixed forests) (10 OTUs) and *\entoloma* only in non-ECM formations (26 OTUs). By contrast, *\russula-lactarius* is present in both plant formations in a same number (15 OTUs in ECM formations and 9 OTUs in non-ECM formations).

The same analysis was realised for saprotroph (Figure S2) and three genera appeared to be found in most of the formations: *Trichospora*, *Mycena* and *Geminibasidium*.

ECM and saprotrophcfungal community structure

The Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination showed that ECM fungal communities were distinct between each vegetation type (ECM maquis, non-ECM maquis, ECM

rainforest and non-ECM rainforest) (Figure 7). By contrast, saprotroph community is distinct between the two type of maquis but rainforest formation overlap (Figure 8).

The PERMANOVA conducted on ECM and saprotroph fungi (Table S2) showed that for both community, the type of formation (ECM maquis, non-ECM maquis, ECM rainforest or non-ECM rainforest) , the site and the interaction between formation and site structure ECM and saprotroph fungal community. Site was the main factor influencing community structure (16.0% and 17.0% for ECM fungi and saprotroph respectively).

DISCUSSION

To our knowledge, this study is the first to observe the effect of ECM fungi on saprotroph community on two different vegetation types in the tropics, namely within shrubland formations, called maquis, and rainforests. Our results showed a lower relative proportions of fungal saprotrophs (ECM/saprotroph ratio ≤ 1) in ECM formation in comparison to non-ECM formations. However, these differences were not observed when looking at the relative species richness. Thus, in ECM dominated systems interactions between ECM and saprotroph fungi seems to influence the abundance and not the diversity of saprotrophs. This decrease in saprotroph abundance could be explained by the 'Gadgil effect'. Gadgil and Gadgil (Gadgil and Gadgil, 1971) demonstrated that ECM fungi inhibit saprotroph community due to an inhibition of decomposition rate. This inhibition might be due to four potential mechanisms: a competition for nitrogen resources, a chemical inhibition, a water availability retention and mycoparasitism. In ECM maquis and rainforests, the inhibition of saprotroph by ECM fungi might be due to a competition for nitrogen resources. In the case of a chemical inhibition, mycoparasitism and water availability retention, not only the abundance but also the saprotroph richness will decrease. Chemical compound might be produce to affect a large range of microorganism and not only few species. Similarly, a mycoparasite are usually a broad range of prey (Rosenheim et al., 1995) that may impact the saprotroph richness.

Among ECM formations, overall three lineages dominate the ECM fungal communities, namely the *Cortinarius*, *Russula-lactarius* and *Tricholoma* lineages. These large representations might suggest that these lineages have important functional roles. Studies have recently demonstrated the presence of genes and enzymes implicated in organic matter degradation in ECM fungi. These fungi have evolved from saprotroph ancestors, and the presence of these type

of genes result from the conservation of these coding genes (Bruns et al., 1998; Kretzer and Bruns, 1999). Among these three lineages commonly found in our ECM formation, one was the most abundant, the *Cortinarius* lineage. This lineage has already been found to dominate New Caledonian rainforests on ultramafic substrates (Carriconde *et al. unpublished*). Bödeker *et al.* (Bödeker et al., 2014) showed that *Cortinarius* genus contained the highest number of amplified Mn-peroxidase encoding gene, suggesting an important role of this genus in soil organic matter turnover (Bödeker, 2012). The author also demonstrated that this genus usually dominates in low-productive boreal forest. This dominance of *Cortinarius* species might be due to its high active transcription of Mn-peroxidase. This high expression of this gene constitutes an advantage for this genus allowing a nutrient retrieval from recalcitrant organic matter. In low nutrient availability ecosystem such as ultramafic substrates, this genus might be able to be more competitive than other ECM fungi, which are more dependent of mineral form nutrients than *Cortinarius* genus (Bödeker, 2012). This *Cortinarius* genus also possess other enzymatic activity normally related to saprotroph fungi, as production of laccase and phosphatase allowing mobilisation of nitrogen from the organic matters (Courty et al., 2006). Other lineage commonly found in our plant formations also possess saprotrophic capacity which may explain their abundance in certain of our ECM plant formations. Bödeker et al. (Bödeker et al., 2009) had demonstrated presence of gene Class II peroxidase in ECM fungi belonging to genera *Cortinarius*, *Russula* and *Lactarius*. This peroxidase allows oxidising and degrading phenolic compounds like lignin and humic acid. *Russula* genus also possesses some phenol oxidase activity higher than normally express by saprotroph (Burke et al., 2014). Moreover, a *Lactarius* species, *Lactarius quietus*, has been shown to act as a brown rot by degrading cellulose due to

presence of cellobiohydrolase, β -glucosidase, xylosidase and glucuronidase and acting as a white rot and degrade lignin by production of laccase

Presence of these lineages in ECM formation might be due to the presence of particular plant species. NMDS and PERMANOVA showed that the type of formation (ECM maquis, non-ECM maquis, ECM rainforest and non-ECM rainforest) and the site (Bois du Sud, Rivière Blanche, Kopéto and Tiébaghi) structured the ECM and saprotroph fungal communities. Furthermore, ECM fungi are known to show some host preference (Carriconde *et al.*, unpublished; Dhillon, 1992; Dickie, 2007; Ding *et al.*, 2011, Gourmelon *et al.* *unpublished*). This host preference may explain presence of *Cortinarius* lineage is high proportion in Kopéto mixed rainforest compare to the other non-ECM formation. In this plant formation, two out of the four plots present some isolated *Nothofagus aequilateralis* trees within the mixed rainforest.

Moreover, we observed that *Cortinarius* was not the abundant lineage in non-ectomycorrhized formations suggesting that, in addition to the potential host preference effect, litter composition may affect activity of this lineage. Indeed, ECM formations are dominated in their canopy by one species and the litter composition must be less complex than in non-ECM formation. The non-ECM vegetations are composed of a highly diverse plant community with a leaf composition different from each species implicating a more complex litter composition. This complexity in litter composition might necessitate a higher complex of enzymes to degrade these type of litters than enzyme found in facultative saprotroph like *Cortinarius*.

CONCLUSION

Finally, in ECM vegetation, ECM fungi seem to inhibit saprotroph abundance in maquis and rainforests, but not the richness. This inhibition seems to be due to the presence of some

ECM lineage able to degrade organic matters as the saprotroph. Mechanism imply in this inhibition might be due to competition for the nitrogen resources rather than mycoparasitism, chemical inhibition or water. Our study was the first to explore the ‘Gadgil effect’ in ECM plant formation other than forest. We thus observed that inhibition of saprotroph by ECM fungi is not restricted to the ECM forests. Finally, the ECM/saprotroph ratio within ECM maquis and ECM rainforests showed systematically values superior to 1. This ratio could thus be a good indicator of ECM dominance in all vegetation types.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank the Government of New Caledonia and the ‘Institut Agronomique néo-Calédonien’ (IAC) for the scholarships awarded to Veronique Gourmelon. We thank the Société Le Nickel (SLN – Groupe ERAMET) for its partnership and for funding this project. We thank the ‘Direction des Infrastructures, de la Topographie et des Transports Terrestres (DITTT)’ of the Government of New Caledonia for providing the orthophotos. We thank the ‘Plateforme du Vivant’ (Nouméa, New Caledonia) for its facilities accesses, and also the ‘Plateforme Génome-Transcriptome’ of Bordeaux University (Bordeaux, France) for performing illumina MiSeq. We thank Christian Montagnat, Joseph Manauté and Jérôme Payet who allow us to access to the Kopéto mine, ‘Rivière Bleue’ Provincial Park and Tiébaghi mine, respectively. Thanks to the field worker crew of IAC (‘Unité SARA’): Alexandre Bouarat, René Guiglion, Anthony Pain and Hyppolite Lenoir for their substantial assistance on the fields. Finally, a special thanks to Julien Demenois for providing Bois du Sud dataset and all informations about this site and its floristic composition.

References

- Ahmadian, A., Ehn, M., Hober, S., 2006. Pyrosequencing: History, biochemistry and future. *Clin. Chim. Acta* 363, 83–94. doi:10.1016/j.cccn.2005.04.038
- Alexander, I.J., Selosse, M.-A., 2009. Mycorrhizas in tropical forests: a neglected research imperative. *New Phytol.* 182, 14–16.
- Amir, H., Ducouso, M., 2010. Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques, in: *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration, Etudes Synthèses. Institut Agronomique Néo-Calédonien, Païta*, pp. 129–146.
- Amir, H., Lagrange, A., Hassaïne, N., Cavaloc, Y., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. *Mycorrhiza* 23, 585–595. doi:10.1007/s00572-013-0499-6
- Andersen, A.N., 1993. Ants as Indicators of Restoration Success at a Uranium Mine in Tropical Australia. *Restor. Ecol.* 1, 156–167. doi:10.1111/j.1526-100X.1993.tb00022.x
- Andersen, A.N., Sparling, G.P., 1997. Ants as Indicators of Restoration Success: Relationship with Soil Microbial Biomass in the Australian Seasonal Tropics. *Restor. Ecol.* 5, 109–114. doi:10.1046/j.1526-100X.1997.09713.x
- Anderson, I.C., Cairney, J.W.G., 2004. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environ. Microbiol.* 6, 769–779. doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00675.x
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* 26, 32–46. doi:10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x
- Aspiras, R.B., Allen, O.N., Harris, R.F., Chesters, G., 1971. The role of microorganisms in the stabilization of soil aggregates. *Soil Biol. Biochem.* 3, 347–353. doi:10.1016/0038-0717(71)90045-9
- Bequette, F., 1997. New Caledonia: Threats to biodiversity. *Unesco Cour.* 50, 38–41.
- Berg, G., Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere: Plant species, soil type and rhizosphere communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68, 1–13. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x
- Blackwell, M., 2011. The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *Am. J. Bot.* 98, 426–438. doi:10.3732/ajb.1000298
- Bödeker, I., 2012. Functional ecology of ectomycorrhizal fungi [WWW Document]. URL <http://pub.epsilon.slu.se/8829/> (accessed 5.21.16).
- Bödeker, I.T.M., Clemmensen, K.E., de Boer, W., Martin, F., Olson, Å., Lindahl, B.D., 2014. Ectomycorrhizal *Cortinarius* species participate in enzymatic oxidation of humus in northern forest ecosystems. *New Phytol.* 203, 245–256. doi:10.1111/nph.12791
- Bödeker, I.T.M., Nygren, C.M.R., Taylor, A.F.S., Olson, Å., Lindahl, B.D., 2009. ClassII peroxidase-encoding genes are present in a phylogenetically wide range of ectomycorrhizal fungi. *ISME J.* 3, 1387–1395. doi:10.1038/ismej.2009.77
- Boer, W. de, Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L., 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 795–811. doi:10.1016/j.femsre.2004.11.005
- Bouchet, P., Jaffré, T., Veillon, J.-M., 1995. Plant extinction in New Caledonia: protection of sclerophyll forests urgently needed. *Biodivers. Conserv.* 4, 415–428.
- Braun-Blanquet, J. (Josias), Fuller, G.D. (George D., Conard, H.S., 1932. *Plant sociology; the study of plant communities; New York and London, McGraw-Hill book company, inc.*
- Brockett, B.F.T., Prescott, C.E., Grayston, S.J., 2012. Soil moisture is the major factor

influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol. Biochem.* 44, 9–20. doi:10.1016/j.soilbio.2011.09.003

Broeckling, C.D., Broz, A.K., Bergelson, J., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2008. Root Exudates Regulate Soil Fungal Community Composition and Diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 738–744. doi:10.1128/AEM.02188-07

Brooks, R.R., 1987. *Serpentine and its vegetation: a multidisciplinary approach*. Dioscorides Press.

Brundrett, M.C., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320, 37–77. doi:10.1007/s11104-008-9877-9

Bruns, T.D., Szaro, T.M., Gardes, M., Cullings, K.W., Pan, J.J., Taylor, D.L., Horton, T.R., Kretzer, A., Garbelotto, M., Li, Y., 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Mol. Ecol.* 7, 257–272.

Buckley, D.H., Huangyutitham, V., Nelson, T.A., Rumberger, A., Thies, J.E., 2006. Diversity of Planctomycetes in Soil in Relation to Soil History and Environmental Heterogeneity. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 4522–4531. doi:10.1128/AEM.00149-06

Buckley, D.H., Schmidt, T.M., 2003. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environ. Microbiol.* 5, 441–452. doi:10.1046/j.1462-2920.2003.00404.x

Burke, D.J., Smemo, K.A., Hewins, C.R., 2014. Ectomycorrhizal fungi isolated from old-growth northern hardwood forest display variability in extracellular enzyme activity in the presence of plant litter. *Soil Biol. Biochem.* 68, 219–222. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.013

Buscot, F., Varma, A., 2005. *Microorganisms in soils roles in genesis and functions*. Springer, Berlin; New York.

Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4516–4522. doi:10.1073/pnas.1000080107

Castro, A.P. de, Quirino, B.F., Jr, G.P., Kurokawa, A.S., Neto, E.L., Krüger, R.H., 2008. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. *Arch. Microbiol.* 190, 129–139. doi:10.1007/s00203-008-0374-6

Cázares, E., Trappe, J.M., Jumpponen, A., 2005. Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession. *Mycorrhiza* 15, 405–416. doi:10.1007/s00572-004-0342-1

Chapin, F.S., Walker, L.R., Fastie, C.L., Sharman, L.C., 1994. Mechanisms of Primary Succession Following Deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Ecol. Monogr.* 64, 149–175. doi:10.2307/2937039

Chatain, A., Read, J., Jaffré, T., 2009. Does leaf-level nutrient-use efficiency explain Nothofagus-dominance of some tropical rain forests in New Caledonia? *Plant Ecol.* 201, 51–66. doi:10.1007/s11258-008-9477-z

Chiu, C.-Y., Chen, T.-H., Imberger, K., Tian, G., 2006. Particle size fractionation of fungal and bacterial biomass in subalpine grassland and forest soils. *Geoderma* 130, 265–271. doi:10.1016/j.geoderma.2005.01.025

Cluzel, D., Maurizot, P., Collot, J., Sevin, B., others, 2012. An outline of the geology of New Caledonia; from Permian-Mesozoic Southeast Gondwanaland active margin to Cenozoic obduction and supergene evolution. *Episodes-Newsmag. Int. Geol. Sci.* 35, 72.

Connell, J.H., Lowman, M.D., 1989. Low-Diversity Tropical Rain Forests: Some Possible Mechanisms for Their Existence. *Am. Nat.* 134, 88–119.

Courty, P.-E., Bréda, N., Garbaye, J., 2007. Relation between oak tree phenology and the

secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1655–1663. doi:10.1016/j.soilbio.2007.01.017

Courty, P.-E., Pouysegur, R., Buée, M., Garbaye, J., 2006. Laccase and phosphatase activities of the dominant ectomycorrhizal types in a lowland oak forest. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1219–1222. doi:10.1016/j.soilbio.2005.10.005

Dagostini, G., Veillon, J.M., Jaffré, T., 1997. Inventaire et caractérisation de la flore et des groupements végétaux du massif de la Tiébaghi. *Rapp. ORSTOM* 9–1997.

Danell, E., Alström, S., Ternström, A., 1993. *Pseudomonas fluorescens* in association with fruit bodies of the ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*. *Mycol. Res.* 97, 1148–1152. doi:10.1016/S0953-7562(09)80519-4

Dhillion, S.S., 1992. Evidence for host-mycorrhizal preference in native grassland species. *Mycol. Res.* 96, 359–362. doi:10.1016/S0953-7562(09)80951-9

Dickie, I.A., 2007. Host preference, niches and fungal diversity. *New Phytol.* 174, 230–233. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02055.x

Ding, Q., Liang, Y., Legendre, P., He, X., Pei, K., Du, X., Ma, K., 2011. Diversity and composition of ectomycorrhizal community on seedling roots: the role of host preference and soil origin. *Mycorrhiza* 21, 669–680. doi:10.1007/s00572-011-0374-2

Duponnois, R., Plenchette, C., 2003. A mycorrhiza helper bacterium enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* 13, 85–91. doi:10.1007/s00572-002-0204-7

Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R., 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 27, 2194–2200. doi:10.1093/bioinformatics/btr381

Falkowski, P.G., Fenchel, T., Delong, E.F., 2008. The Microbial Engines That Drive Earth's Biogeochemical Cycles. *Science, New Series* 320, 1034–1039.

Fierer, N., Jackson, R.B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 626–631.

Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecol. Lett.* 12, 1238–1249. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x

Forster, S.M., 1990. The role of microorganisms in aggregate formation and soil stabilization: Types of aggregation. *Arid Soil Res. Rehabil.* 4, 85–98. doi:10.1080/15324989009381236

Founoune, H., Duponnois, R., Ba, A.M., Sall, S., Branget, I., Lorquin, J., Neyra, M., Chotte, J.-L., 2002. Mycorrhiza helper bacteria stimulate ectomycorrhizal symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus alba*. *New Phytol.* 153, 81–89.

Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M., 2007. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* 176, 22–36. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02191.x

Frey, P., Frey-Klett, P., Garbaye, J., Berge, O., Heulin, T., 1997. Metabolic and Genotypic Fingerprinting of Fluorescent *Pseudomonads* Associated with the Douglas Fir-*Laccaria bicolor* Mycorrhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 1852–1860.

Fujiiyoshi, M., Kagawa, A., Nakatsubo, T., Masuzawa, T., 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and soil developmental stages on herbaceous plants growing in the early stage of primary succession on Mount Fuji. *Ecol. Res.* 21, 278–284. doi:10.1007/s11284-005-0117-y

Gadgil, R., Gadgil, P., 1971. Mycorrhiza and litter decomposition. *Nature* 233, 133.

Garbaye, J., 1994. Tansley Review No. 76 Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128, 197–210. doi:10.1111/j.1469-8137.1994.tb04003.x

Garbeva, P., Veen, J.A. van, Elsas, J.D. van, 2004. MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease

Suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–270.
doi:10.1146/annurev.phyto.42.012604.135455

Gaston, K.J., 1996. Biodiversity - latitudinal gradients. *Prog. Phys. Geogr.* 20, 466–476.
doi:10.1177/030913339602000406

Gillespie, T.W., Jaffré, T., 2003. Tropical dry forests in New Caledonia. *Biodivers. Conserv.* 12, 1687–1697.

Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W., 2010. *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols*. PPUR Presses polytechniques.

Gömöryová, E., Hrivnák, R., Janišová, M., Ujházy, K., Gömöry, D., 2009. Changes of the functional diversity of soil microbial community during the colonization of abandoned grassland by a forest. *Appl. Soil Ecol.* 43, 191–199. doi:10.1016/j.apsoil.2009.07.007

Gross, N.D., Torti, S.D., Feener, D.H., Coley, P.D., 2000. Monodominance in an African Rain Forest: Is Reduced Herbivory Important? 1. *Biotropica* 32, 430–439.

Habekost, M., Eisenhauer, N., Scheu, S., Steinbeiss, S., Weigelt, A., Gleixner, G., 2008. Seasonal changes in the soil microbial community in a grassland plant diversity gradient four years after establishment. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2588–2595. doi:10.1016/j.soilbio.2008.06.019

Haichar, F. el Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J.I., Prosser, J.I., Balesdent, J., Heulin, T., Achouak, W., 2008. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *ISME J.* 2, 1221–1230. doi:10.1038/ismej.2008.80

Handelsman, J., Rondon, M.R., Brady, S.F., Clardy, J., Goodman, R.M., 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem. Biol.* 5, R245–R249. doi:10.1016/S1074-5521(98)90108-9

Harris, J., 2009. Soil Microbial Communities and Restoration Ecology: Facilitators or Followers? *Science* 325, 573–574. doi:10.1126/science.1172975

harrisson, susan, rajakaruna, nishanta, 2011. *Serpentine : The Evolution and Ecology of a Model System*. University of California Press, Berkeley, CA, USA.

Hart, T.B., 1990. Monospecific dominance in tropical rain forests. *Trends Ecol. Evol.* 5, 6–11. doi:10.1016/0169-5347(90)90005-X

Hart, T.B., Hart, J.A., Murphy, P.G., 1989. Monodominant and species-rich forests of the humid tropics: causes for their co-occurrence. *Am. Nat.* 613–633.

Hemkemeyer, M., Christensen, B.T., Martens, R., Tebbe, C.C., 2015. Soil particle size fractions harbour distinct microbial communities and differ in potential for microbial mineralisation of organic pollutants. *Soil Biol. Biochem.* 90, 255–265. doi:10.1016/j.soilbio.2015.08.018

He, X.H., Critchley, C., 2008. Frankia nodulation, mycorrhization and interactions between Frankia and mycorrhizal fungi in Casuarina plants, in: *Mycorrhiza*. Springer, pp. 767–781.

Ibanez, T., Birnbaum, P., 2014. Monodominance at the rainforest edge: case study of *Codia mackeeana* (Cunoniaceae) in New Caledonia. *Aust. J. Bot.* doi:10.1071/BT14062

Ihrmark, K., Bödeker, I.T.M., Cruz-Martinez, K., Friberg, H., Kubartova, A., Schenck, J., Strid, Y., Stenlid, J., Brandström-Durling, M., Clemmensen, K.E., Lindahl, B.D., 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 82, 666–677. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x

Isnard, S., L'huillier, L., Rigault, F., Jaffré, T., 2016. How did the ultramafic soils shape the flora of the New Caledonian hotspot? *Plant Soil*. doi:10.1007/s11104-016-2910-5

Izquierdo, I., Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernández, G., Roldán, A., 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. *Appl. Soil Ecol.* 30, 3–10. doi:10.1016/j.apsoil.2005.02.004

Jaffre, T., Bouchet, P., Veillon, J.-M., 1997. Threatened plants of New Caledonia: Is the system

of protected areas adequate? *Biodivers. Conserv.* 7, 109–135.

Jaffré, T., L’Huillier, L., 2010. La végétation des roches ultramafiques ou terrains miniers, in: *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration, Etudes Synthèses*. Institut Agronomique Néo-Calédonien, Païta, pp. 45–103.

Jaffré, T., Morat, P., Veillon, J.-M., Rigault, F., Dagostini, G., 2001a. composition et caractérisation de la flore indigène de nouvelle-calédonie. *IRD Doc. Sci. Tech.* 1–139.

Jaffré, T., Morat, P., Veillon, J.-M., Rigault, F., Dagostini, G., 2001b. composition et caractérisation de la flore indigène de nouvelle-calédonie. *IRD Doc. Sci. Tech.* 1–139.

Jaffré, T., Rigault, F., Dagostini, G., Tinel-Fambart, J., Wulff, A., Munzinger, J., 2009. Input of the different vegetation units to the richness and endemism of the New Caledonian flora. *Flora* 162, 54–9.

Jangid, K., Whitman, W.B., Condrón, L.M., Turner, B.L., Williams, M.A., 2013. Soil bacterial community succession during long-term ecosystem development. *Mol. Ecol.* 22, 3415–3424. doi:10.1111/mec.12325

Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Peres, G., Römbke, J., van der Putten, W., 2010. atlas européen de la biodiversité des sols, Commission européenne, Bureau des publications de l’Union européenne, Luxembourg.

Jiang, X.-T., Peng, X., Deng, G.-H., Sheng, H.-F., Wang, Y., Zhou, H.-W., Tam, N.F.-Y., 2013. Illumina Sequencing of 16S rRNA Tag Revealed Spatial Variations of Bacterial Communities in a Mangrove Wetland. *Microb. Ecol.* 66, 96–104. doi:10.1007/s00248-013-0238-8

Johansson, J.F., Paul, L.R., Finlay, R.D., 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48, 1–13. doi:10.1016/j.femsec.2003.11.012

Jumpponen, A., Jones, K.L., David Mattox, J., Yaeger, C., 2010. Massively parallel 454-sequencing of fungal communities in *Quercus* spp. ectomycorrhizas indicates seasonal dynamics in urban and rural sites. *Mol. Ecol.* 19, 41–53. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04483.x

Knelman, J.E., Legg, T.M., O’Neill, S.P., Washenberger, C.L., González, A., Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., 2012. Bacterial community structure and function change in association with colonizer plants during early primary succession in a glacier forefield. *Soil Biol. Biochem.* 46, 172–180. doi:10.1016/j.soilbio.2011.12.001

Kõljalg, U., Larsson, K.-H., Abarenkov, K., Nilsson, R.H., Alexander, I.J., Eberhardt, U., Erland, S., Høiland, K., Kjøller, R., Larsson, E., Pennanen, T., Sen, R., Taylor, A.F.S., Tedersoo, L., Vrålstad, T., Ursing, B.M., 2005. UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.* 166, 1063–1068. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01376.x

Kretzer, A.M., Bruns, T.D., 1999. Use of *atp6* in Fungal Phylogenetics: An Example from the Boletales. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13, 483–492. doi:10.1006/mpev.1999.0680

Kruskal, J.B., 1964. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika* 29, 1–27. doi:10.1007/BF02289565

Lagrange, A., Ducouso, M., Jourand, P., Majorel, C., Amir, H., 2011. New insights into the mycorrhizal status of Cyperaceae from ultramafic soils in New Caledonia. *Can. J. Microbiol.* 57, 21+.

Laminou Manzo, O., Ibrahim, D., Campanella, B., Paul, R., 2009. Effets de l’inoculation mycorrhizienne du substrat sur la croissance et la résistance au stress hydrique de cinq espèces fixatrices de dunes: *Acacia raddiana* Savi; *Acacia nilotica* (L.) Willd Ex Del. var. *adansonii*; *Acacia senegal* (L.) Willd; *Prosopis chilensis* Stunz. et *Bauhinia rufescens* Lam.. *Geo-Eco-Trop* 33, 115–124.

- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 5111–5120. doi:10.1128/AEM.00335-09
- Leake, J., Johnson, D., Donnelly, D., Muckle, G., Boddy, L., Read, D., 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Can. J. Bot.* 82, 1016–1045. doi:10.1139/b04-060
- L'Huillier, L., Jaffré, T., Wulff, A., Lebrun, M., Maggia, L., Barré, N., Chazeau, J., Jourdan, H., Amir, H., Ducouso, M., Gâteblé, G., Fogliani, B., Zongo, C., Vea, C., 2010. Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration, Etudes Synthèses. Institut Agronomique Néo-Calédonien, Païta.
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Lin, D., Lu, L., Law, M., 2012. Comparison of Next-Generation Sequencing Systems. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, 1–11. doi:10.1155/2012/251364
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1963. An Equilibrium Theory of Insular Zoogeography. *Evolution* 17, 373–387. doi:10.2307/2407089
- Madsen, E.L., 2011. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Curr. Opin. Biotechnol., Energy biotechnology – Environmental biotechnology* 22, 456–464. doi:10.1016/j.copbio.2011.01.008
- Mansfeld-Giese, K., Larsen, J., Bødker, L., 2002. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 41, 133–140. doi:10.1111/j.1574-6941.2002.tb00974.x
- Mardis, E.R., 2008. Next-Generation DNA Sequencing Methods. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 9, 387–402. doi:10.1146/annurev.genom.9.081307.164359
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., Attiya, S., et al., 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437, 376–80.
- Martínez-García, L.B., Pugnaire, F.I., 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Appl. Soil Ecol.* 48, 313–317. doi:10.1016/j.apsoil.2011.04.003
- Martos, F., 2010. Structuration écologique et évolutive des symbioses mycorrhiziennes des orchidées tropicales. Université de la Réunion.
- Mayor, J.R., Henkel, T.W., 2006. Do ectomycorrhizas alter leaf-litter decomposition in monodominant tropical forests of Guyana? *New Phytol.* 169, 579–588. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01607.x
- McGuire, K.L., 2014. Chapitre 10: The Contribution of Ectomycorrhizal Fungal Feedbacks to the Maintenance of Tropical Monodominant Rain Forests, in: *Ectomycorrhizal Symbioses in Tropical and Neotropical Forests*. CRC Press, Boca Raton, pp. 185–199.
- McGuire, K.L., 2007. Common ectomycorrhizal networks may maintain monodominance in a tropical rain forest. *Ecology* 88, 567–574.
- McGuire, K.L., Zak, D.R., Edwards, I.P., Blackwood, C.B., Upchurch, R., 2010. Slowed decomposition is biotically mediated in an ectomycorrhizal, tropical rain forest. *Oecologia* 164, 785–795. doi:10.1007/s00442-010-1686-1
- Meier, C.L., Rapp, J., Bowers, R.M., Silman, M., Fierer, N., 2010. Fungal growth on a common wood substrate across a tropical elevation gradient: Temperature sensitivity, community composition, and potential for above-ground decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1083–1090. doi:10.1016/j.soilbio.2010.03.005
- Morat, P., Jaffré, T., Tronchet, F., Munzinger, J., Pillon, Y., Veillon, J.-M., Chalopin, M., Birnbaum, P., Rigault, F., Dagostini, G., Tinel, J., Lowry, P.P., 2012. Le référentiel taxonomique

Floral et les caractéristiques de la flore vasculaire indigène de la Nouvelle-Calédonie. *Adansonia* 34, 179–221. doi:10.5252/a2012n2a1

Myers, N., 1988. Threatened biotas: “Hot spots” in tropical forests. *Environmentalist* 8, 187–208. doi:10.1007/BF02240252

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.

Navarro, E., Jaffré, T., Gauthier, D., Gourbiere, F., Rinaudo, G., Simonet, P., Normand, P., 1999. Distribution of *Gymnostoma* spp. microsymbiotic *Frankia* strains in New Caledonia is related to soil type and to host-plant species. *Mol. Ecol.* 8, 1781–1788.

Ndiaye, E. I., Sandeno, J. m., McGrath, D., Dick, R. p., 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *Am. J. Altern. Agric.* 15, 26–36. doi:10.1017/S0889189300008432

Newbery, D.M., Alexander, I.J., Rother, J.A., 1997. Phosphorus Dynamics in a Lowland African Rain Forest: The Influence of Ectomycorrhizal Trees. *Ecol. Monogr.* 67, 367. doi:10.2307/2963460

Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S., Kennedy, P.G., 2015. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* doi:10.1016/j.funeco.2015.06.006

Orgiazzi, A., Lumini, E., Nilsson, R.H., Girlanda, M., Vizzini, A., Bonfante, P., Bianciotto, V., 2012. Unravelling Soil Fungal Communities from Different Mediterranean Land-Use Backgrounds. *PLOS ONE* 7, e34847. doi:10.1371/journal.pone.0034847

Ottonetti, 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. *Restor. Ecol.* 14, 60–66. doi:10.1111/j.1526-100X.2006.00105.x

Papineau, C., 1989. Le chene gomme (*arillastrum gummiferum*) en Nouvelle Calédonie. ministère de l’agriculture, Paris.

Pascal, M., De Forges, B.R., Le Guyader, H., Simberloff, D., 2008. Mining and Other Threats to the New Caledonia Biodiversity Hotspot. *Conserv. Biol.* 22, 498–499. doi:10.1111/j.1523-1739.2008.00889.x

Peck, S.L., Mcquaid, B., Campbell, C.L., 1998. Using Ant Species (Hymenoptera: Formicidae) as a Biological Indicator of Agroecosystem Condition. *Entomol. Pap. Sources.*

Peh, K.S.-H., Lewis, S.L., Lloyd, J., 2011. Mechanisms of monodominance in diverse tropical tree-dominated systems: Mechanisms of monodominance in diverse tropical forests. *J. Ecol.* 99, 891–898. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01827.x

Pelletier, B., 2006. Geology of the New Caledonia region and its implications for the study of the New Caledonian biodiversity. *Compend. Mar. Species New Caledonia* 17–30.

Petrosino, J.F., Highlander, S., Luna, R.A., Gibbs, R.A., Versalovic, J., 2009. Metagenomic Pyrosequencing and Microbial Identification. *Clin. Chem.* 55, 856–866. doi:10.1373/clinchem.2008.107565

Pfeiffer, B., Fender, A.-C., Lasota, S., Hertel, D., Jungkunst, H.F., Daniel, R., 2013. Leaf litter is the main driver for changes in bacterial community structures in the rhizosphere of ash and beech. *Appl. Soil Ecol.* 72, 150–160. doi:10.1016/j.apsoil.2013.06.008

Pielou, E.C., 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.* 13, 131–144. doi:10.1016/0022-5193(66)90013-0

Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596. doi:10.1093/nar/gks1219

- Read, D.J., 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47, 376–391.
doi:10.1007/BF01972080
- Read, J., Hope, G.S., 1996. Ecology of *Nothofagus* forests of New Guinea and New Caledonia, in: *The Ecology and Biogeography of Nothofagus Forests*. Yale University Press.
- Root, R.B., 1967. The Niche Exploitation Pattern of the Blue-Gray Gnatcatcher. *Ecol. Monogr.* 37, 317. doi:10.2307/1942327
- Rosenheim, J.A., Kaya, H.K., Ehler, L.E., Marois, J.J., Jaffee, B.A., 1995. Intraguild Predation Among Biological-Control Agents: Theory and Evidence. *Biol. Control* 5, 303–335.
doi:10.1006/bcon.1995.1038
- Rothberg, J.M., Leamon, J.H., 2008. The development and impact of 454 sequencing. *Nat. Biotechnol.* 26, 1117–1124. doi:10.1038/nbt1485
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* 4, 1340–1351.
- Sarasin, G., 2011. *Biotechnologie des symbioses racinaires en restauration écologique des écosystèmes dégradés à Madagascar*. Université Laval.
- Schechter, S.P., Bruns, T.D., 2012. Edaphic sorting drives arbuscular mycorrhizal fungal community assembly in a serpentine/non-serpentine mosaic landscape. *Ecosphere* 3, 1–24.
doi:10.1890/ES12-00059.1
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Horn, D.J.V., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541. doi:10.1128/AEM.01541-09
- Shendure, J., Ji, H., 2008. Next-generation DNA sequencing. *Nat. Biotechnol.* 26, 1135–1145.
doi:10.1038/nbt1486
- Shokralla, S., Spall, J.L., Gibson, J.F., Hajibabaei, M., 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* 21, 1794–1805. doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05538.x
- Simpson, E., 1949. Measurement of Diversity. *Nature* 163, 688.
- Smith, S.E., Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, Third Edition, 3 edition. ed. Academic Press.
- Staley, C., Unno, T., Gould, T.J., Jarvis, B., Phillips, J., Cotner, J.B., Sadowsky, M.J., 2013. Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River. *J. Appl. Microbiol.* 115, 1147–1158. doi:10.1111/jam.12323
- Tarlera, S., Jangid, K., Ivester, A.H., Whitman, W.B., Williams, M.A., 2008. Microbial community succession and bacterial diversity in soils during 77 000 years of ecosystem development: Microbial community succession in soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64, 129–140.
doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00444.x
- Tedersoo, L., Jairus, T., Horton, B.M., Abarenkov, K., Suvi, T., Saar, I., Kõljalg, U., 2008. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytol.* 180, 479–490.
doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02561.x
- Tedersoo, L., May, T.W., Smith, M.E., 2010a. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20, 217–263.
doi:10.1007/s00572-009-0274-x
- Tedersoo, L., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Jairus, T., Sadam, A., Saar, I., Bahram, M., Bechem,

- E., Chuyong, G., Kõljalg, U., 2010b. 454 Pyrosequencing and Sanger sequencing of tropical mycorrhizal fungi provide similar results but reveal substantial methodological biases. *New Phytol.* 188, 291–301. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03373.x
- Thomas, T., Gilbert, J., Meyer, F., 2012. Metagenomics-a guide from sampling to data analysis. *Microb Inf. Exp* 2.
- Torti, S.D., Coley, P.D., Kursar, T.A., 2001. Causes and Consequences of Monodominance in Tropical Lowland Forests. *Am. Nat.* 157, 141–153. doi:10.1086/318629
- Tripathi, B.M., Kim, M., Singh, D., Lee-Cruz, L., Lai-Hoe, A., Ainuddin, A.N., Go, R., Rahim, R.A., Husni, M.H.A., Chun, J., Adams, J.M., 2012. Tropical Soil Bacterial Communities in Malaysia: pH Dominates in the Equatorial Tropics Too. *Microb. Ecol.* 64, 474–484. doi:10.1007/s00248-012-0028-8
- Walter, C., Bispo, A., Chenu, C., Langlais-Hesse, A., Schwartz, C., 2013. Les services écosystémiques des sols : du concept à sa valorisation. *Cah. Demeter* 51–68.
- White, J. T., Bruns, T.D., Lee, S.B., Taylor, J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics.
- Zaller, J.G., Frank, T., Drapela, T., 2011. Soil sand content can alter effects of different taxa of mycorrhizal fungi on plant biomass production of grassland species. *Eur. J. Soil Biol.* 47, 175–181. doi:10.1016/j.ejsobi.2011.03.001
- Zhang, HARPER, R., KARSISTO, M., LINDSTRÖM, K., 1991. Diversity of Rhizobium Bacteria Isolated from the Root Nodules of Leguminous Trees. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 41, 104–113. doi:10.1099/00207713-41-1-104
- Zhang, X., Xu, S., Li, C., Zhao, L., Feng, H., Yue, G., Ren, Z., Cheng, G., 2014. The soil carbon/nitrogen ratio and moisture affect microbial community structures in alkaline permafrost-affected soils with different vegetation types on the Tibetan plateau. *Res. Microbiol.* 165, 128–139. doi:10.1016/j.resmic.2014.01.002
- Zhou, X., Ren, L., Meng, Q., Li, Y., Yu, Y., Yu, J., 2010. The next-generation sequencing technology and application. *Protein Cell* 1, 520–536. doi:10.1007/s13238-010-0065-3

Supplement informations

Figure S1. Scheme representing the grid of 20m by 20m installed in each plot. A soil core were collected at each sampling points (red dots) and grouped together to create a composite sample for each plot.

Table S1. Number of sequences remaining after each analysis steps for fungal dataset.

Figure S2: The twenty more abundant saprotroph OTUs for each plant formations. The five first fungal genera were represented in different colour in each plant formation

FIGURES

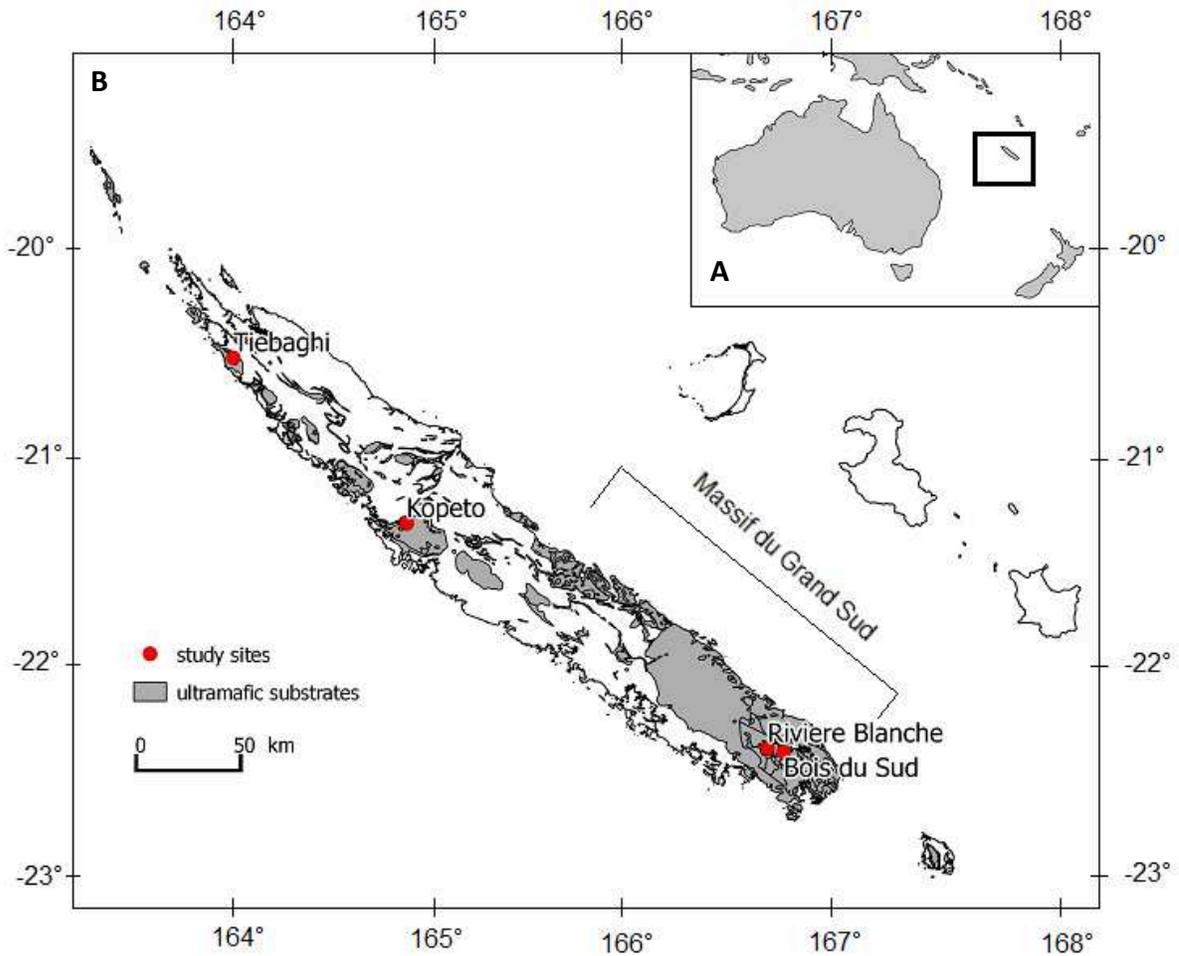


Figure 1. (A) Location of New Caledonia archipelago in the South West Pacific. (B) Location of study sites (red dots) on ultramafic substrates (in grey).

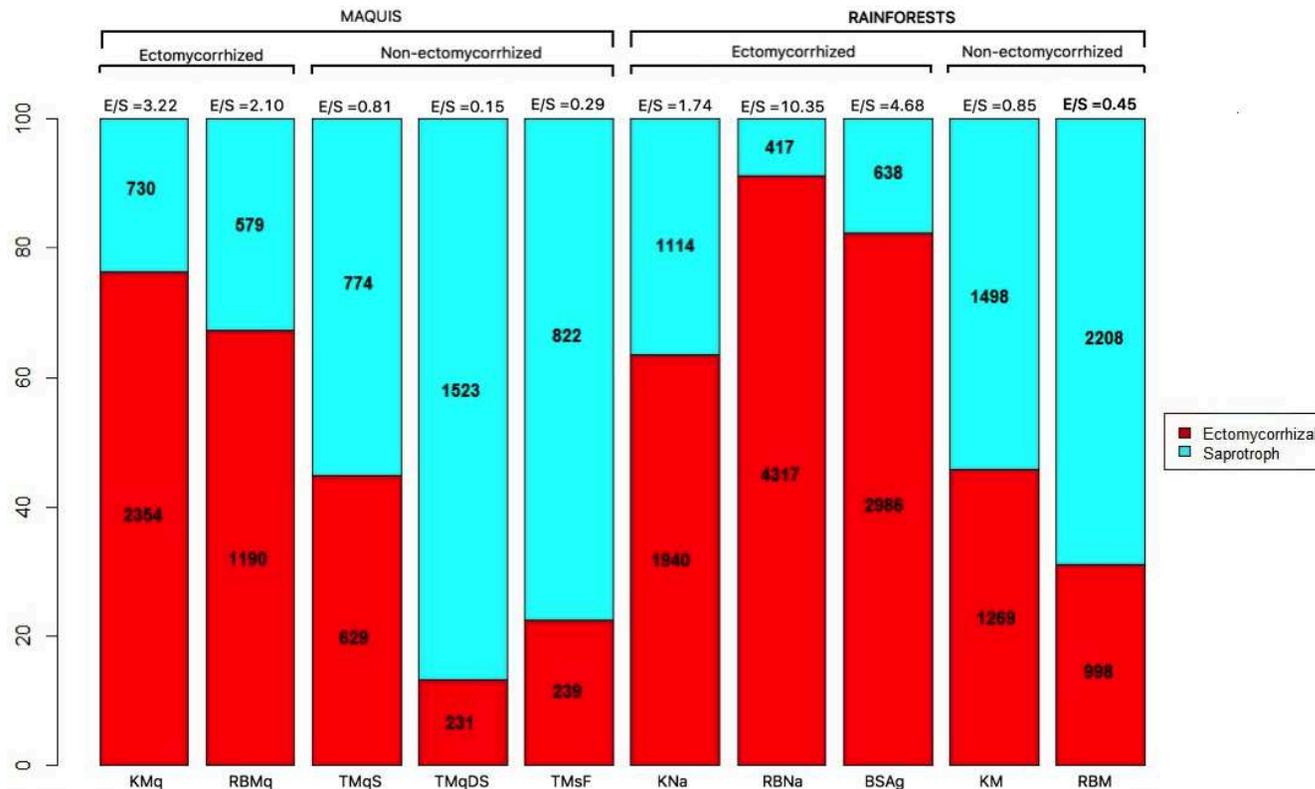


Figure 2. Proportion of ectomycorrhizal and saprotroph fungi per plant formation. Numbers in each bar indicate number of sequences. On the top of each bar is indicated the ectomycorrhizal/saprotroph ratio value. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= *Tristaniopsis* spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest, Ag= *Arillastrum gummiferum* monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

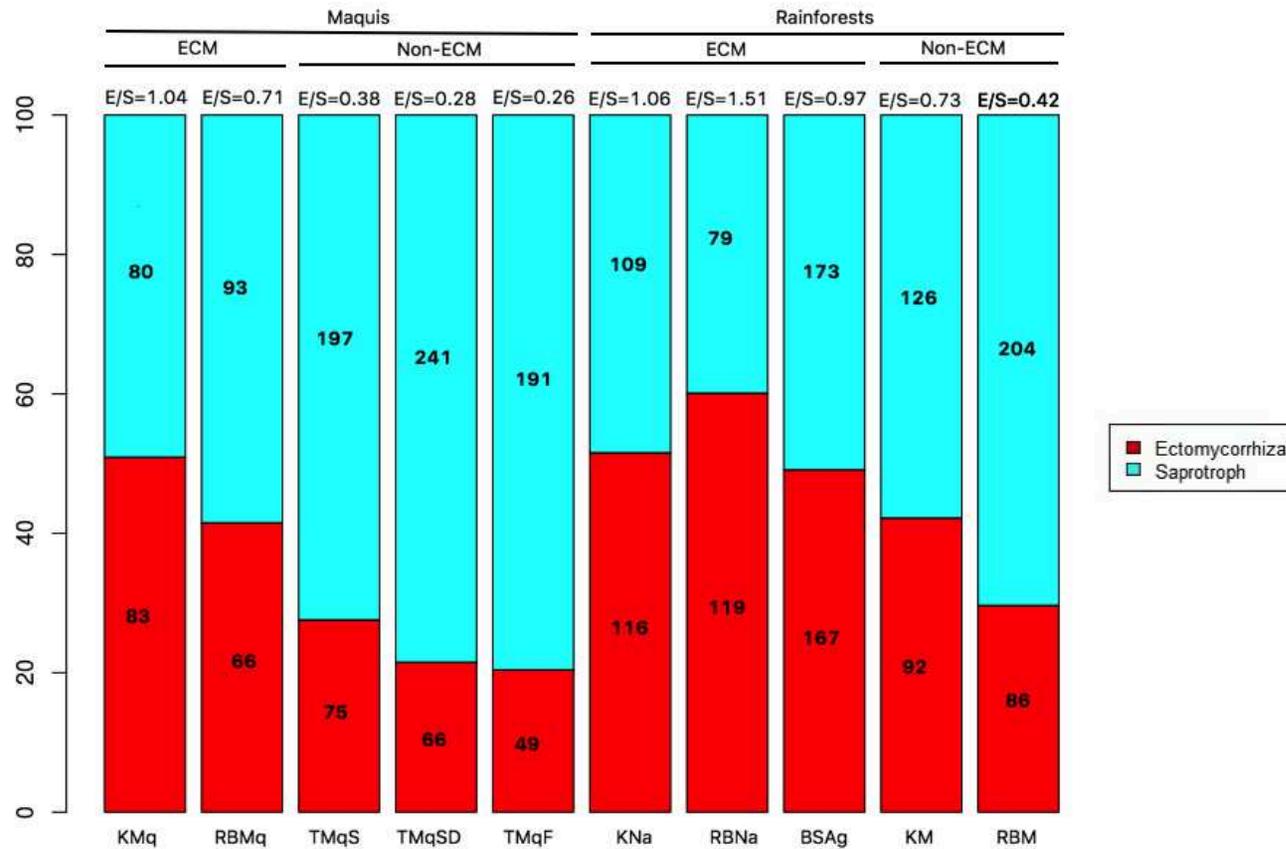


Figure 3. Proportion of number of OTU of ectomycorrhizal and saprotroph fungi per plant formation. Numbers in each bar indicate the number of OTU. On the top of each bar is indicated the ectomycorrhizal/saprotroph ratio value. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= *Tristaniopsis* spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest, Ag= *Arillastrum gummiferum* monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

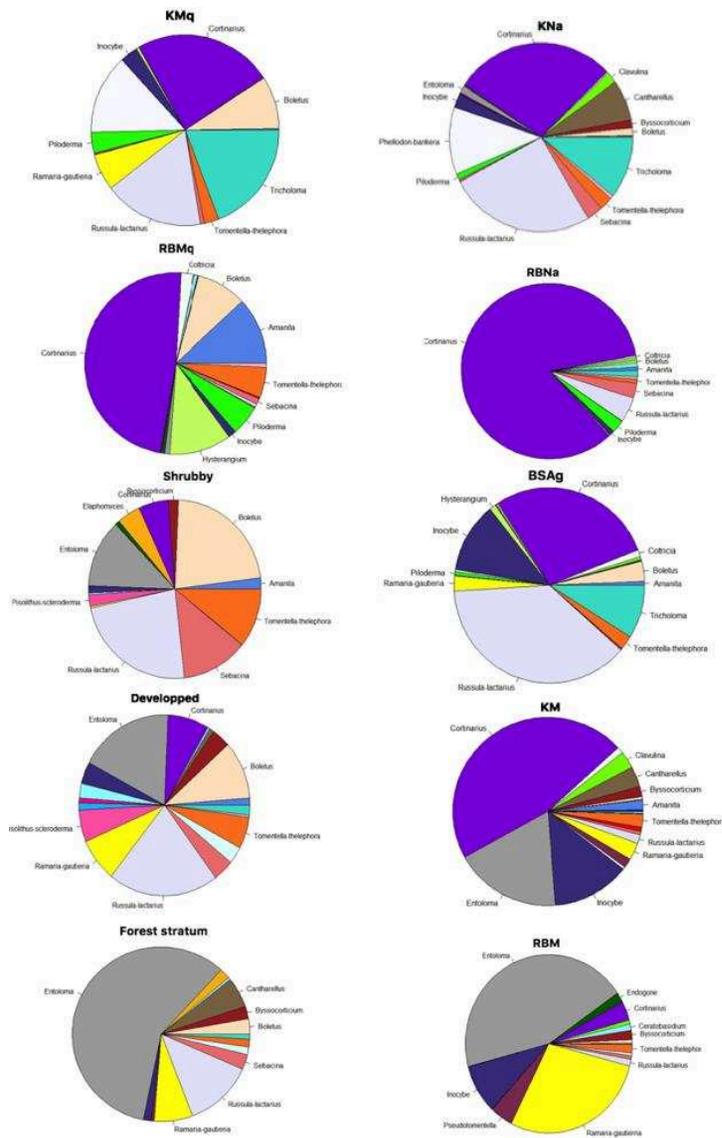


Figure 4: Representation of the abundance of each ECM lineage per plant formation.

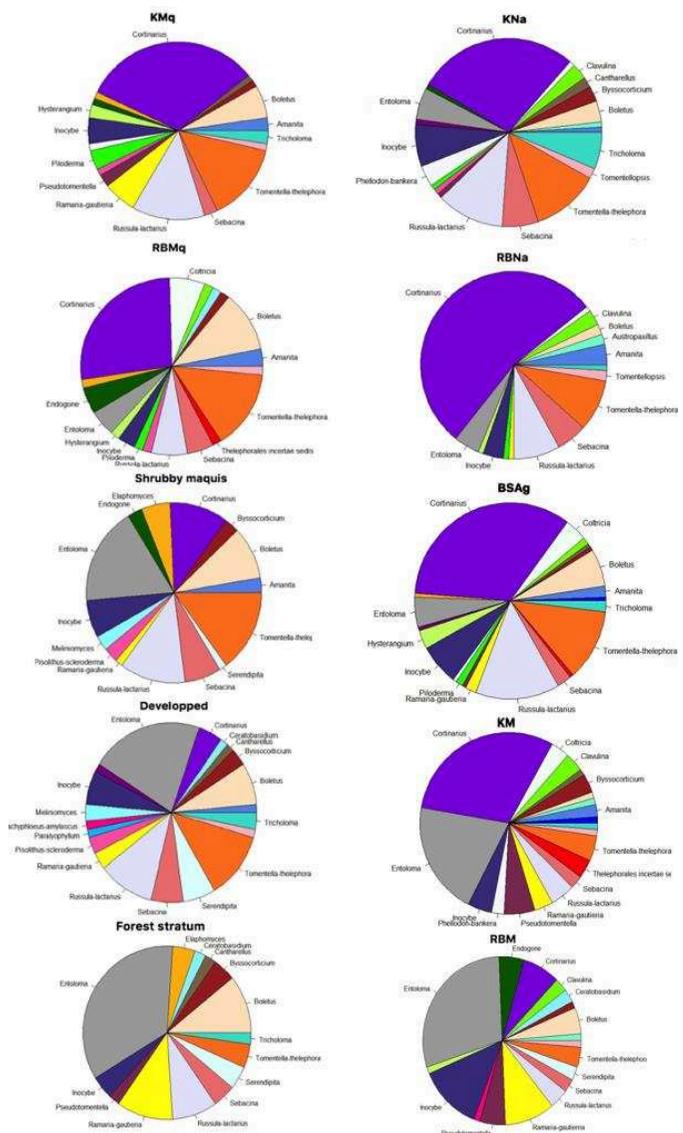


Figure 5: Representation of richness (number of OTU) of each ECM lineage per plant formation.

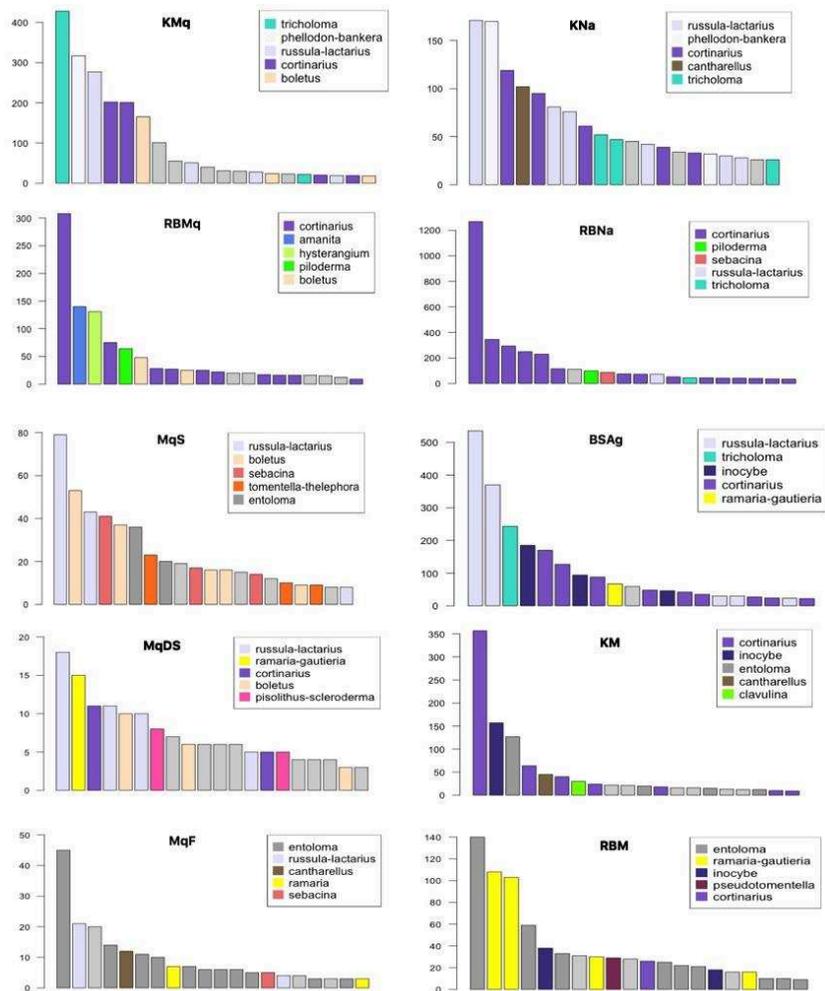


Figure 6: The twenty more abundant ECM OTUs for each plant formations. The five first ECM lineage were represented in different colour in each plant formation. K= Kopéto site, RB= Rivière Blanche site, BS= Bois du Sud site and T= Tiébaghi site. Mq= *Tristaniopsis* spp. maquis, MqS= Shrubby maquis, MqDS= Developed Shrubby maquis, MqF= Forest stratum maquis, Na= *Nothofagus aequilateralis* monodominant rainforest, Ag= *Arillastrum gummiferum* monodominant rainforest and M= Mixed rainforest.

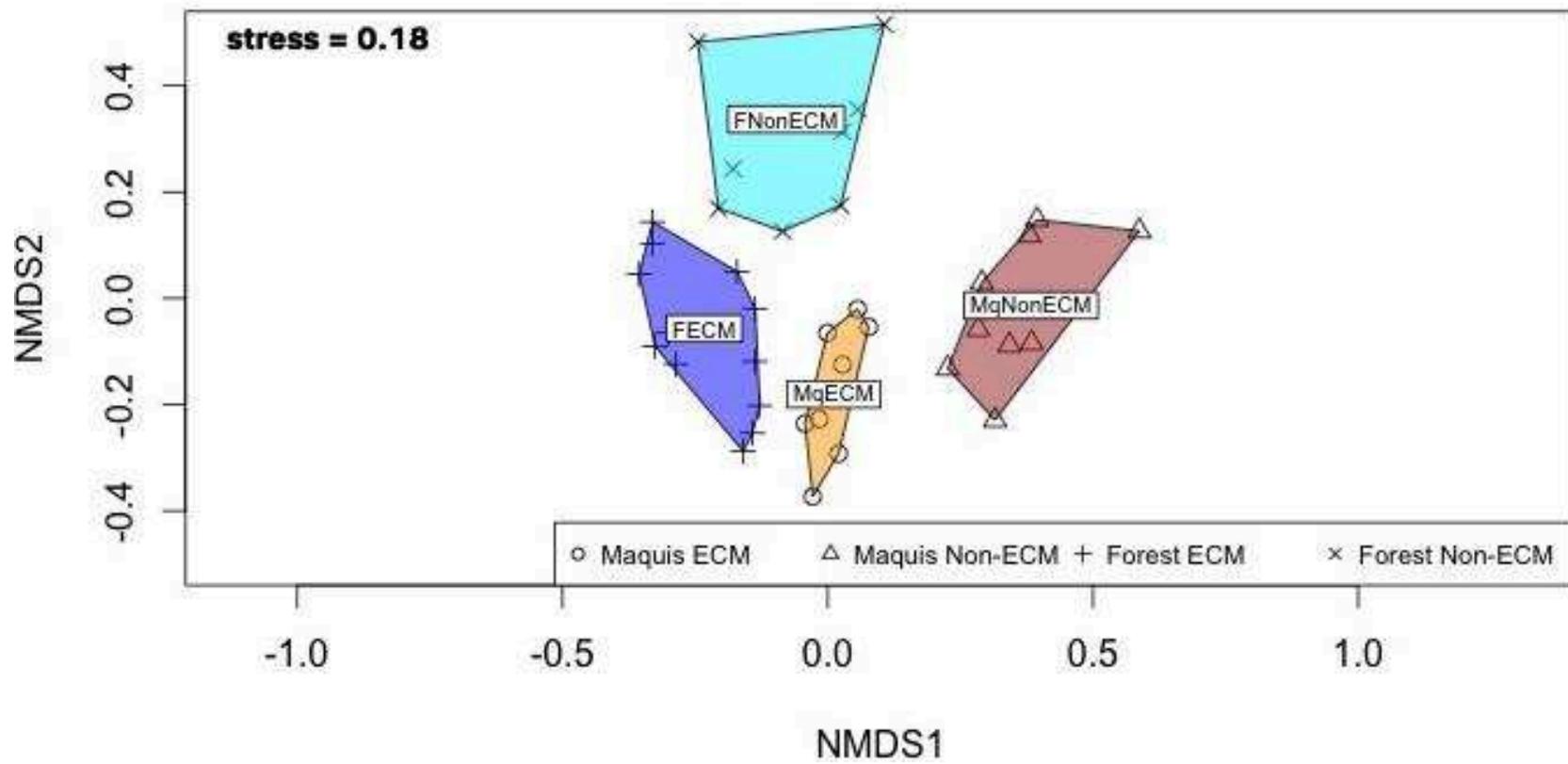


Figure 7: Non-MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarity for ECM fungal community. MqECM= Ectomycorrhized Maquis; MqNonECM = Non-ectomycorrhized Maquis; FECM = Ectomycorrhized rainforest; FNonECM = Non-ectomycorrhized rainforest.

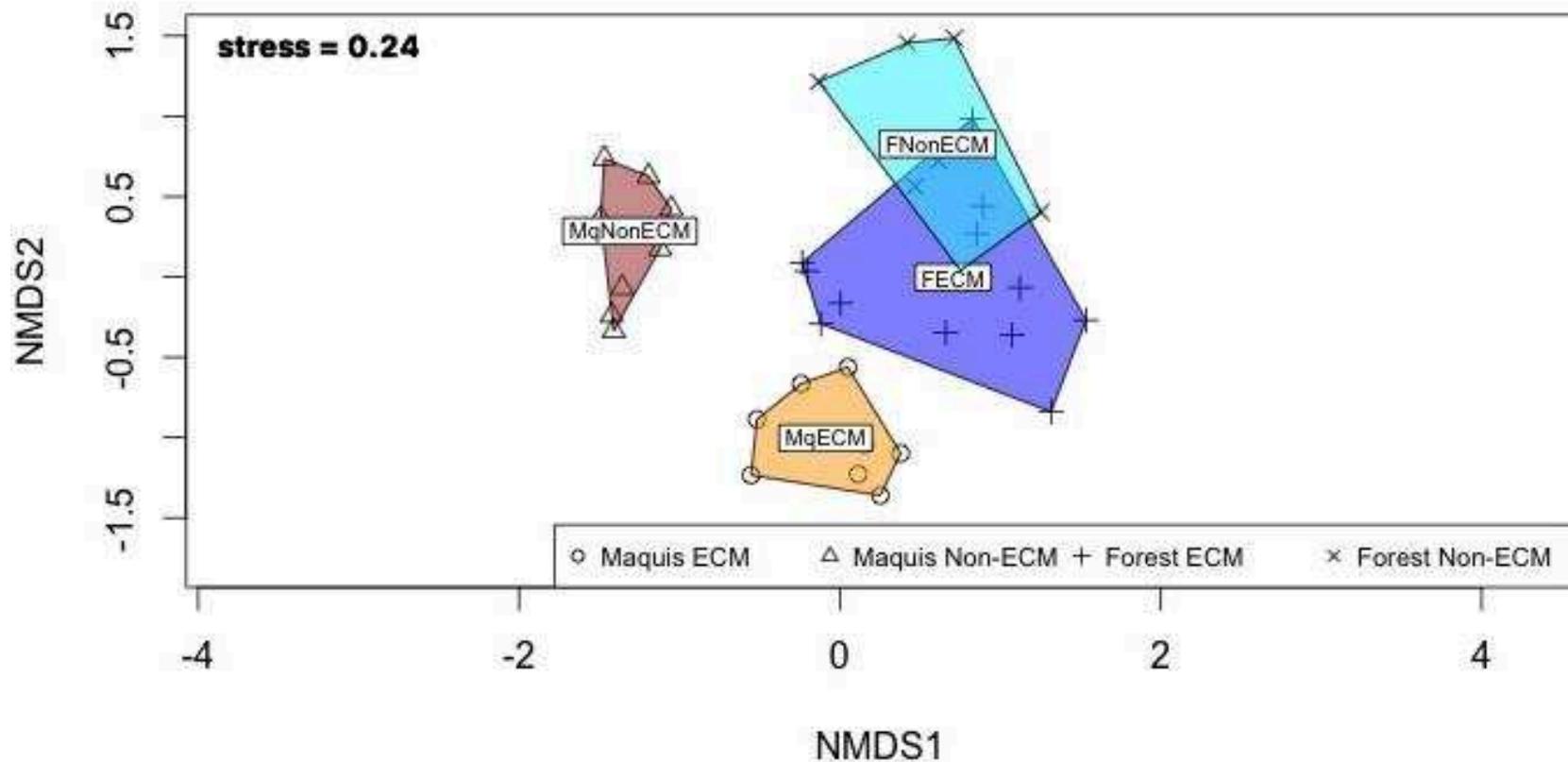


Figure 8: Non-MultiDimensional Scaling (NMDS) ordination of Bray-curtis dissimilarity for saprotroph fungal community. MqECM= Ectomycorrhized Maquis; MqNonECM = Non-ectomycorrhized Maquis; FECM = Ectomycorrhized rainforest; FNonECM = Non-ectomycorrhized rainforest

SUPPLEMENT INFORMATIONS

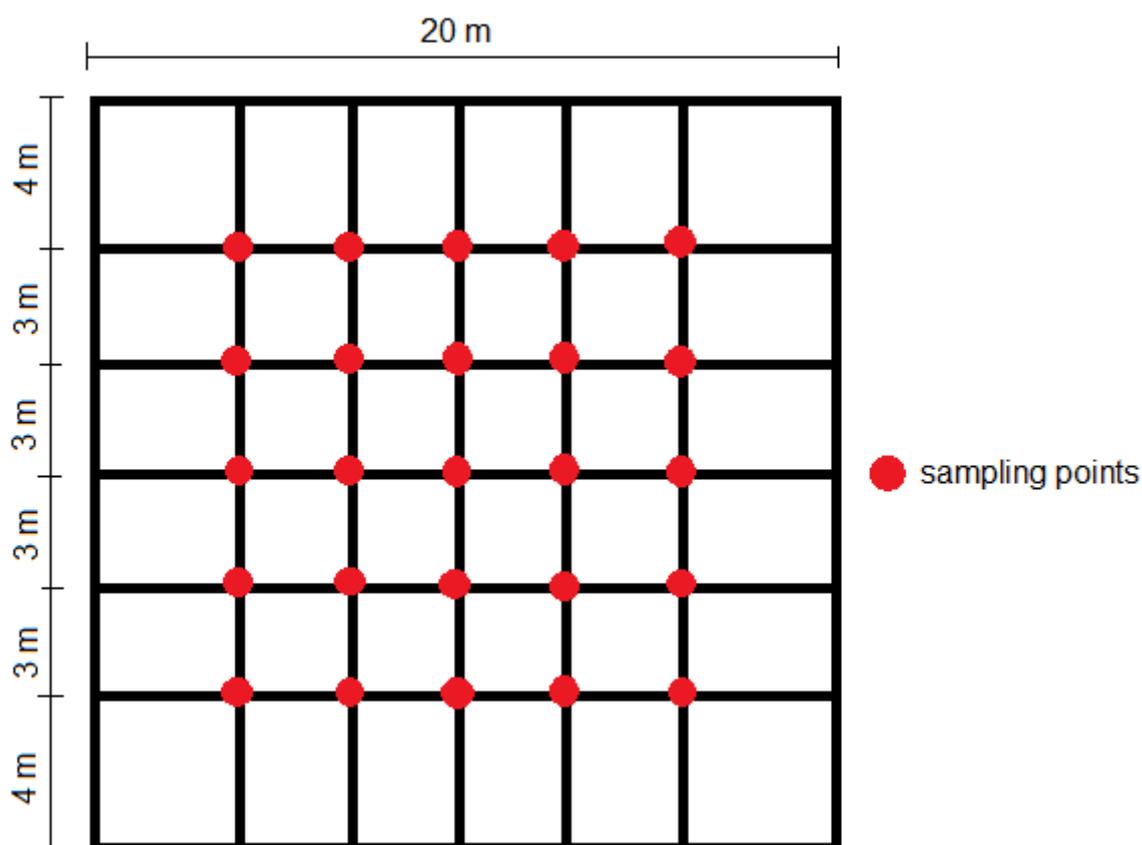


Figure S1. Scheme representing the grid of 20m by 20m installed in each plot. A soil core were collected at each sampling points (red dots) and grouped together to create a composite sample for each plot.

Table S1. Number of sequences remaining after each analysis steps for fungal dataset.

Stage	Number of reads
raw sequence	604 302
filtered sequence	444 033
chimeric sequence	442 048
subsampling sequence	58 867
number of OTU	5385

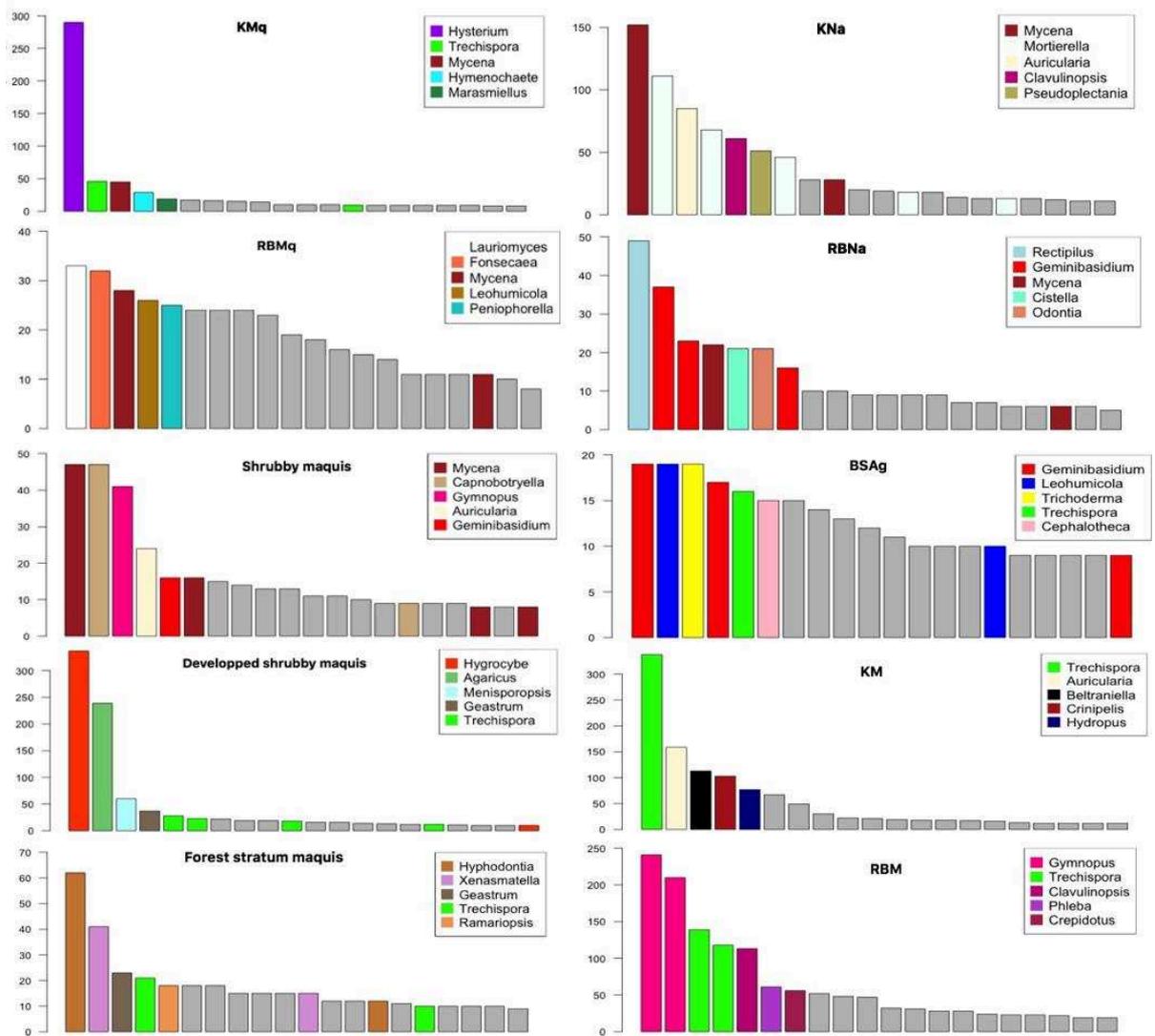


Figure S2: The twenty more abundant saprotroph OTUs for each plant formations. The five first fungal genera were represented in different colour in each plant formation.

Table S2: The effect of dominance, formation, site and their combination on the structure of ectomycorrhizal and saprotroph communities revealed by PERMANOVA.

Community	Permanova parameters	Df	SumOfSqs	MeanSqs	F	R2	Pr(>F)
Ectomycorrhizal fungi	Formation	3	2.7505	0.91682	2.3206	0.16064	0.001***
	Site	2	1.6680	0.83398	2.1109	0.09742	0.001***
	Formation x site	2	1.2462	0.62312	1.5772	0.07279	0.001***
	Residuals	29	11.4571	0.39507		0.66916	
	Total	36	17.1218			1.000	
Saprotroph fungi	Formation	3	2.8059	0.93530	2.5081	0.17053	0.001***
	Site	2	1.4454	0.72270	1.9380	0.08784	0.001***
	Formation x site	2	1.3884	0.69419	1.8615	0.08438	0.001***
	Residuals	29	10.8145	0.37291		0.65725	
	Total	36	16.4542			1.000	

CHAPITRE 3

1. INTRODUCTION

Suite à l'identification des communautés bactériennes et fongiques présentes dans les sols de différentes formations végétales sur substrats ultramafiques calédoniens, ainsi que des facteurs structurants ces communautés, nous nous sommes intéressés à un autre site situé au Nord de la Nouvelle-Calédonie, le Massif de Tiébaghi. Cette étude va permettre de confirmer ou d'infirmer certains résultats obtenus lors de l'étude du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, notamment la présence ou non d'un effet site mais aussi de l'utilisation des microorganismes du sol comme bio-indicateurs des formations végétales des substrats ultramafiques. Le site de Tiébaghi est situé au sein d'une concession minière de la SLN, ouverte en 1997 et qui s'inscrit dans un programme de développement durable avec pour enjeu un impact plus faible sur l'environnement. Dans ce but, 3 réserves botaniques ont été mises en place sur le site de Tiébaghi, ainsi qu'un programme de restauration avec réutilisation de leurs topsoils. Le Massif de Tiébaghi constitue un des massifs ultramafiques isolés et, de part cet isolement géographique, le Massif de Tiébaghi possède une flore et une faune riche et unique. Un inventaire floristique réalisé en 1997, a montré la présence de 328 espèces, dont 284 endémiques. Sur ce massif, 12% des espèces végétales présentes sont restreintes à ce massif tels que *Neisosperma sevenetii* (Apocynaceae), *Plerandra polydactylis* (Araliaceae), *Bocquillonia castaneifolia* (Euphorbiaceae), *Phyllanthus guillauminii* (Euphorbiaceae), *Phyllanthus tiebaghiensis* (Euphorbiaceae), *Virotia angustifolia* (Proteaceae), *Cupaniopsis squamosa* (Sapindaceae) et *Zygogynum tieghemii* subsp. *Synchronanthum* (Winteraceae) (Dagostini et al., 1997). En plus de cette flore unique, le Massif de Tiébaghi possède une autre particularité, celle-ci probablement liée à une richesse microbienne de ces sols plus importante que dans les autres mines. En effet, la mine de Tiébaghi est connue pour son plus grand succès en revégétalisation et cela serait dû à son

topsoil plus riche en microorganismes ce qui permettrait une meilleure reprise de la dynamique végétale ainsi qu'un développement et une croissance naturelle plus importante que sur d'autres mines.

Objectifs de l'étude

Afin de déterminer si le bon fonctionnement du topsoil de la mine de Tiébaghi provient d'une microflore plus riche que celle des Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, nous allons identifier les communautés microbiennes présentes au sein de trois maquis du Massif de Tiébaghi. Nous allons ensuite comparer leurs compositions avec celles provenant des sites du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, afin de déterminer deux choses :

(i) si le site du Massif de Tiébaghi possède des communautés microbiennes différentes, en composition et richesse, de celles des deux autres sites, et

(ii) observer si ces communautés microbiennes sont liées à la présence d'espèces végétales particulières du fait de la composition floristique spécifique du Massif de Tiébaghi.

Encadré 1

Les méthodes de restauration

Sur terrains miniers, différentes méthodes de restauration sont utilisées avec plus ou moins de succès selon le type d'horizon sur lesquelles elles sont réalisées. De plus, le processus naturel de revégétalisation des zones restaurées est très lent et demeure même incomplet après plusieurs dizaines d'années en particuliers lorsque l'horizon humifère n'a pas été au moins partiellement préservé. La régénération naturel des anciens sites miniers ne dépasse jamais un recouvrement de 20% (Jaffré et al., 1994).

A. Apport de terre humifère

Cette technique est utilisée en Nouvelle-Calédonie afin d'obtenir un recouvrement végétal rapide des zones sensibles. La zone à restaurer ne possédant plus d'horizon humifère, une couche de sol fertile ensemencée avec des espèces endémiques est déposée (Jaffré et al., 1997, 1994). Dans certains cas, de la terre humifère naturelle (topsoil) issue du décapage réalisé avant extraction de minerai, est étalée. Ce topsoil est naturellement composé d'un stock de graines ainsi que d'un potentiel biologique facilitant l'implantation d'espèces naturelles des terrains miniers. Cette technique permet de rapidement masquer les sols dénudés, mais ne peut être réalisée sur de grandes surfaces du fait de son coût et du stock généralement très limité de topsoils disponibles (Jaffré et al., 1997, 1994). Cette méthode ne répond pas aux critères d'une véritable réhabilitation des sites car même si un recouvrement végétal se met rapidement en place, la végétation y est restreinte à la surface traitée (Jaffré et al., 1997). Avec cette technique, aucune fixation du sol n'est réellement permise, les racines ne prenant pas ancrage jusqu'au substrat situé sous la couche humifère déposée (Jaffré et al., 1994). Seules quelques espèces locales ubiquistes parviennent à s'y implanter sans pour autant coloniser le site (Jaffré et al., 1997; Jaffré et al., 1994).

B. Ensemencement

Dans certains cas, la revégétalisation peut se faire par ensemencement. Cette méthode est rarement utilisée car elle nécessite de posséder un stock de graines important, ce qui est difficile dans le cas d'espèces endémiques. De plus, les espèces dont un savoir technique est disponible pour leurs germination et élevage en pépinières sont en fait peu nombreuses (Jaffré et al., 1997, 1994; Jaffré and Pelletier, 1992). Les inconvénients majeurs de cette méthode sont dus aux taux de germinations faibles et à la faible survie des jeunes plants durant la période sèche. Cependant, certaines espèces de Cyperaceae comme les genres *Costularia* et *Schoenus* résistent mieux à l'aridité (Jaffré et al., 1994). Elles conservent leurs pouvoirs germinatifs dans le sol tout au long de la période sèche. Cette méthode par ensemencement est rarement utilisée seule et est souvent couplée à une autre technique de revégétalisation comme l'ajout de terre humifère avec

Des essais ont été réalisés à l'aide seulement d'ensemencements, et ils ont conduit à des résultats peu satisfaisants (Jaffré et al., 1997, 1994).

C. L'hydroseeding

L'hydroseeding est une technique mécanisée qui est utilisée pour la revégétalisation de larges surfaces généralement difficiles d'accès. Cette technique consiste à asperger la surface à revégétaliser d'un mélange constitué de graines provenant d'espèces endémiques et exotiques, enrobées d'alginate permettant ainsi une meilleure prise au substrat. Le mélange est placé dans une cuve et, à l'aide d'un jet à haute pression, il est pulvérisé sur la surface à revégétaliser. Cette technique est couramment utilisée en restauration sur mine mais est limitée là aussi par la disponibilité en graines.

D. L'utilisation de topsoil

Le topsoil est utilisé comme outil de restauration des terrains miniers dégradés. Il représente les premiers centimètres d'un sol naturellement riches en matières organiques, semences et microorganismes (qui définissent le potentiel biologique de restauration). Il est récupéré lors de l'opération précédant l'excavation du minerai et épandu sur les zones dégradées à restaurer (Sheoran et al., 2010). Le topsoil apporte l'essentiel des éléments nécessaires pour reconstituer un sol et permettre le retour de la végétation sur un site. Cette technique a l'avantage de diminuer les besoins en amendement et fertilisation. Il favorise l'implantation d'espèces naturellement présentes sur le site à restaurer avant sa dégradation. Cependant, avant d'être utilisé le topsoil est généralement stocké plusieurs mois, diminuant ainsi ses capacités du fait d'une diminution avec le temps de l'activité biologique qui y réside, et d'une dépréciation de sa banque de graine (van Etten et al., 2014). Aujourd'hui, l'utilisation des topsoils est considéré comme la technique la plus efficace et est largement employée dans de nombreux travaux de restauration minière (Sheoran et al., 2010).

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Site d'étude, échantillonnage, amplification et séquençage

L'étude a été réalisée sur le site de Tiébaghi au sein de 3 types de maquis représentant potentiellement différents stades d'une chronoséquence : maquis arbustif, maquis arbustif développé et maquis paraforestier. Le dispositif de parcelle ainsi que l'échantillonnage, l'amplification et le séquençage a été réalisé de la même méthodologie que celle présentée dans les deux premiers chapitres (cf. Matériels et Méthodes général).

2.2. Analyse bioinformatique

L'analyse bioinformatique a été réalisée comme indiqué dans le Matériels et Méthodes général. Différents jeux de données ont été constitués l'un en regroupant les communautés microbiennes du Massif de Tiébaghi, du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, et un autre composé uniquement des données provenant du site de Tiébaghi.

2.3. Analyses des données

A partir des données acquises, la richesse spécifique (S) a été déterminée à partir du jeu de données regroupant les sites du Massif de Tiébaghi, du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, et ce afin de définir si le site de Tiébaghi possède une richesse plus importante en bactéries et champignons que les deux autres. Une ANOVA a aussi été réalisée par paire de comparaison afin de déterminer si les différences de richesse observées sont significativement différentes les unes des autres. Sur ce même jeu de données, et afin de caractériser la structure des communautés bactériennes et fongiques, l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis a été calculé. A partir de cet indice les différentes parcelles sont ordonnées par une analyse Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS). Une PERMANOVA a aussi été réalisée pour corroborer les résultats observés par la NMDS. Enfin, afin d'observer s'il existe

une relation entre les communautés microbiennes et végétales sur le site de Tiébaghi, une distance-based redundancy analysis (dbRDA) a été réalisée entre les communautés microbiennes et végétales. De même, pour déterminer quelles espèces végétales ont un effet significatif sur la structure des communautés microbiennes, un test de permutation a été conduit seulement sur le jeu de données de Tiébaghi.

3. RESULTATS

3.1. Analyse bioinformatique

Le nombre de séquences restantes après les principales étapes d'analyse bioinformatique sur le jeu de données du Massif de Tiébaghi et celui regroupant les trois sites est indiqué dans le tableau 1, pour les bactéries et les champignons. Le jeu de données finales de Tiébaghi contient 8 382 OTUs de bactéries et 4 142 OTUs de champignons. Concernant le jeu de données regroupant les 3 sites, 8 476 et 3 739 OTUs de bactéries et de champignons ont été identifiés.

Tableau 1 : Nombre de séquences restantes après la réalisation des différentes étapes d'analyse bioinformatique.

	Tiébaghi		Tiébaghi + Kopéto + Rivière Blanche	
	Bactéries	Champignons	Bactéries	Champignons
Après création de contig	372 651	257 162	1 170 724	546 119
Après filtrage	163 633	171 782	468 280	416 919
Nombre de chimères	21 523	1118	55 783	1319
Nombre séquences finales	123 413	82 255	115 959	57 113
Nombre d'OTUs au final	8 382	4 142	8 476	3 739

3 .2. Diversité microbienne

Dans le but de comparer la diversité du Massif de Tiébaghi aux sites du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche, la richesse spécifique bactérienne et fongique au sein de chaque parcelle a été calculée (Tableau 2). Chez les bactéries, aucune différence de richesse n'est observée entre les 3 maquis de Tiébaghi et les autres sites même si toutefois, le nombre d'OTUs bactériens présents dans les sols de Tiébaghi est légèrement inférieur à celui retrouvé sur le massif de Kopéto et la Rivière Blanche (2 100 à 2 700 OTUs pour Tiébaghi et 2 700 à 3 200 OTUs. pour les deux autres sites). En ce qui concerne la richesse fongique, Tiébaghi possède une plus grande richesse en champignons que les autres sites. Celle-ci est comprise entre 823 et 932 OTUs alors que pour les deux autres sites ce nombre d'OTUs est compris entre 117 et 853. Il est à noter également que les maquis paraforestiers de Tiébaghi possèdent la plus faible richesse spécifique, aussi bien bactérienne que fongique en comparaison aux autres maquis de Tiébaghi. Des ANOVA ont été réalisées par paires de comparaison entre chaque formation végétale et les résultats confirment le fait qu'il n'y a pas de différence significative entre les formations au niveau de la richesse spécifique en bactérie mais par contre, pour les champignons, Tiébaghi possède bien une richesse spécifique significativement différente des autres sites (Tableau 3).

Tableau 2 : Richesse spécifique (S) (ici le nombre d'OTUs) pour les bactéries et champignons par parcelle et par formation végétale. K = Kopéto ; RB = Rivière Blanche; T = Tiébaghi ; S = formation dominée par les Cyperaceae ; Mq = maquis à *Tristaniopsis* spp. ; Na = forêt à monodominance de *N. aequilateralis* ; M = forêt mixte ; MqA = maquis arbustif ; MqAD = maquis arbustif développé et MqP = maquis paraforestier.

Parcelle	Bactérie	Champignon	Formation	Bactérie	Champignon
	S			S	
KP1S	1288	256	KS	2993	633
KP2S	1323	250			
KP3S	1171	188			
KP4S	964	142			
KP1Mq	1202	350	KMq	3061	794
KP2Mq	1258	271			
KP3Mq	1253	307			
KP4Mq	1259	253			
KP1Na	1255	231	KNa	3263	777
KP2Na	265	274			
KP3Na	1384	274			
KP4Na	1295	283			
KP1M	1208	267	KM	2695	753
KP2M	1204	311			
KP3M	945	260			
KP4M	1021	207			
RBP1S	713	50	RBS	1905	117
RBP2S	923	52			
RBP3S	740	35			
RBP4S	996	56			
RBP1Mq	956	204	RBMq	2746	582
RBP2Mq	1060	234			
RBP3Mq	1226	25			
RBP4Mq	1336	237			
RBP1Na	1224	223	RBNa	2749	630
RBP2Na	1131	197			
RBP3Na	1108	269			

RBP4Na	1057	206			
RBP1M	1217	328			
RBP2M	1167	331	RBM	2852	853
RBP3M	1133	311			
RBP4M	1061	269			
TP1MqA	1237	425			
TP2MqA	1182	352	TMqA	2505	854
TP3MqA	1240	384			
TP1MqAD	1213	403			
TP2MqAD	1346	401	TMqAD	2718	932
TP3MqAD	1369	395			
TP1MqP	1002	294			
TP2MqP	1099	426	TMqP	2133	823
TP3MqP	1150	482			

Tableau 3 : Résultats des ANOVA pour chaque paire de comparaison pour (A) les bactéries et (B) les champignons. Le code de couleur indique la significativité : jaune : $p > 0.05$, orange : $p > 0.01$ et rouge : $p > 0.001$. K = Kopéto ; RB = Rivière Blanche; T = Tiébaghi ; S = formation dominée par les Cyperaceae ; Mq = maquis à *Tristaniopsis* spp. ; Na = forêt à monodominance de *N. aequilateralis* ; M = forêt mixte ; MqA = maquis arbustif ; MqAD = maquis arbustif développé et MqP = maquis paraforestier.

A) Bactérie	KS	KMq	KNa	KM	RBS	RBMq	RBNa	RBM	TMqA	TMqAD	TMqP
KS		0,47	0,25	0,77	10,41	0,13	0,41	0,23	0,12	1,39	1,01
KMq			0,54	4,82	32,23	1,32	9,06	7,70	1,06	2,29	16,04
KNa				0,03	0,58	0,12	0,09	0,13	0,30	0,68	0,01
KM					6,90	0,22	0,22	0,46	2,45	5,92	0,02
RBS						7,61	13,73	15,54	20,46	26,07	7,23
RBMq							0,03	0,00	0,55	2,32	0,33
RBNa								0,09	4,11	9,56	0,71
RBM									3,23	8,61	1,31
TMqA										2,96	8,26
TMqAD											11,99
TMqP											

B) Champignon	KS	KMq	KNa	KM	RBS	RBMq	RBNa	RBM	TMqA	TMqAD	TMqP
KS		6,23	3,66	2,30	34,18	0,35	0,22	10,81	23,62	35,19	11,47
KMq			1,49	1,27	127,07	4,80	7,14	0,32	8,81	16,86	3,95
KNa				0,03	299,07	3,04	4,43	5,75	29,30	92,08	7,72
KM					95,42	2,47	1,98	3,57	16,67	29,93	6,92
RBS						6,24	110,94	303,98	335,61	3682,90	56,36
RBMq							0,85	6,58	11,55	14,09	8,85
RBNa								16,06	39,68	85,20	12,36
RBM									9,98	27,93	3,36
TMqA										0,35	0,05
TMqAD											0,00
TMqP											

3.2. Structure de la communauté

L'indice de dissimilarité de Bray-curtis a été calculé pour chaque parcelle et ordonné par NMDS pour les communautés bactériennes et fongiques du Massif de Tiébaghi, du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche. Les deux représentations NMDS montrent que chaque formation et chaque site sont distincts les uns des autres que ce soient pour les bactéries (Figure 1) ou pour les champignons (Figure 2). La NMDS réalisée sur la communauté

fongique est plus écartée avec une séparation nette entre les formations forestières (forêts à *Nothofagus* et forêts mixtes), les formations non forestières (maquis à *Tristaniopsis* et formations dominées par les *Cyperaceae*) et les 3 maquis de Tiébaghi. Pour chaque ordination, une valeur de stress est attribuée. Il s'agit d'un indicateur normalisé variant entre 0 et 1, la valeur nulle indiquant un ajustement parfait des axes composants la NMDS. La valeur de stress entre 0,14 et 0,16 indique une bonne représentation graphique.

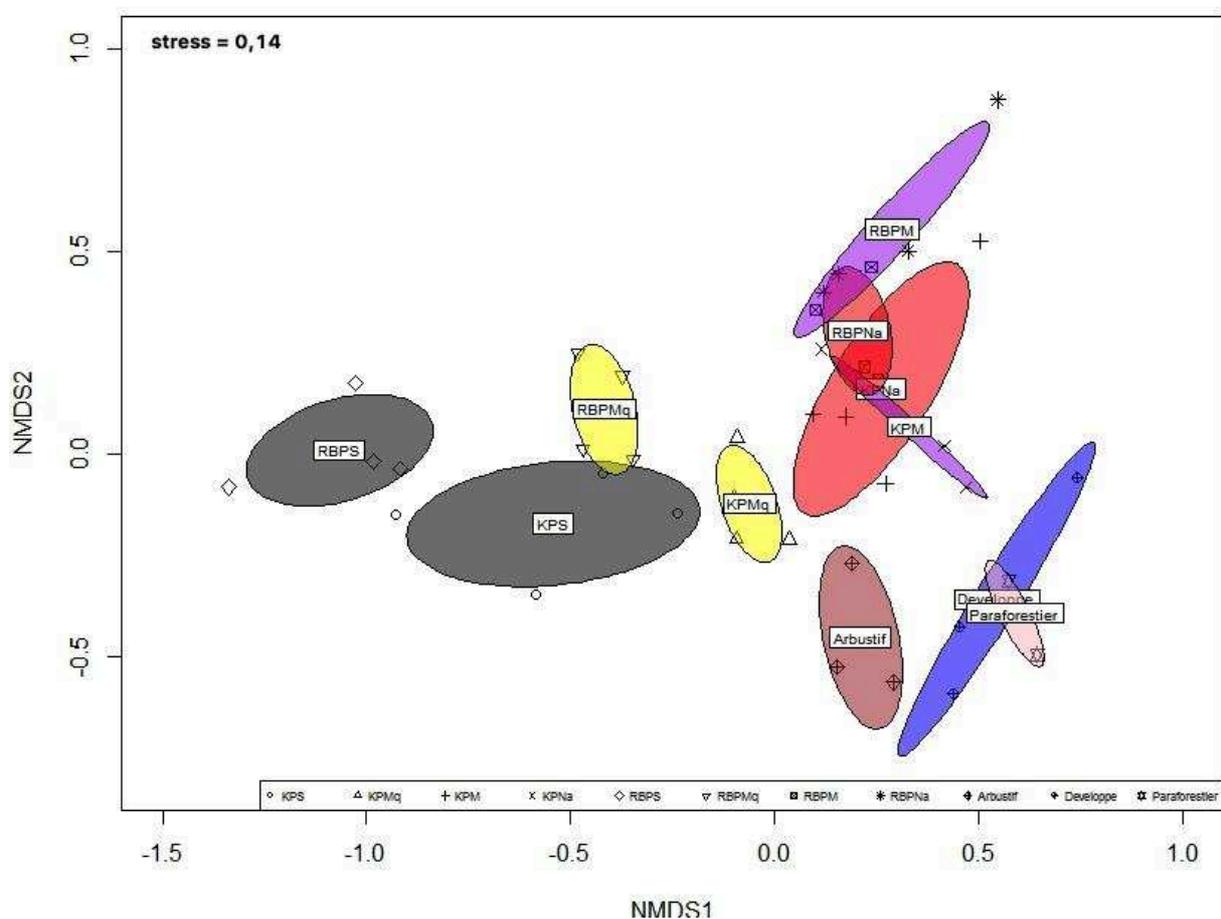


Figure 1 : Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordonnée après calcul de l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis sur la communauté bactérienne. L'ellipse indique l'erreur standard à 0,95. K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S = formation dominée par les *Cyperaceae* (en noir), Mq = Maquis à *Tristaniopsis* spp. (en jaune), Na = forêt monodominante à *Nothofagus aequilateralis* (en rouge), M = forêt mixte (en violet), Arbustif

= maquis arbustif de Tiébaghi (en marron), Développé = maquis arbustif développé de Tiébaghi (en bleu) et Paraforestier = maquis paraforestier de Tiébaghi (en rose).

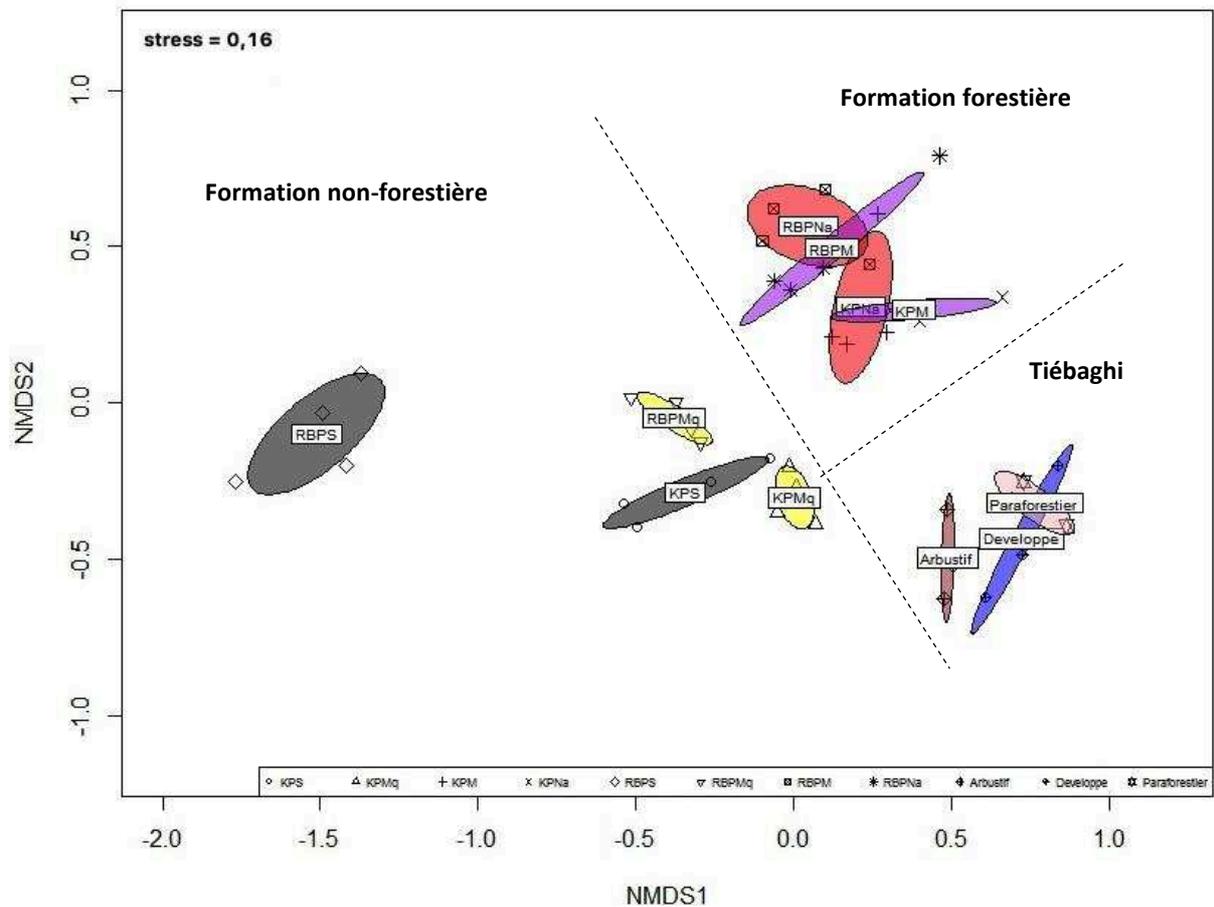


Figure 2 : Nonmetric MultiDimensional Scaling (NMDS) ordonnée après calcul de l'indice de dissimilarité de Bray-Curtis sur la communauté fongique. L'ellipse indique l'erreur standard à 0,95. K = Kopéto, RB = Rivière Blanche, S = formations dominées par les Cyperaceae (en noir), Mq = Maquis à *Tristaniopsis* spp. (en jaune), Na = forêt monodominante à *Nothofagus aequilateralis* (en rouge), M = forêt mixte (en violet), Arbustif = maquis arbustif de Tiébaghi (en marron), Développé = maquis arbustif développé de Tiébaghi (en bleu) et Paraforestier = maquis paraforestier de Tiébaghi (en rose).

Les analyses PERMANOVA réalisées pour chacune des communautés confirment les résultats de la NMDS (Tableau 4). En effet, celle-ci montre que la formation végétale, le site

et aussi l'interaction entre le site et la formation structurent les communautés microbiennes. La variation observée entre les communautés bactériennes est expliquée à 38,4% par le type de formation végétale, et à 4,5% par le site, et à 11,4% par interaction entre les deux. De même pour les champignons, la formation végétale explique 28% de la variation observée, le site 4,4%, et l'interaction entre les deux 11,3%.

Tableau 4 : Résultats des analyses PERMANOVA réalisées sur chaque communauté microbienne pour les formations végétales, le site et l'interaction entre les deux. Df = degré de liberté ; SumOfSqs = somme des carrés ; MeanSqs = moyenne des carrés ; R² = variation observée et Pr(>F) = valeur de significativité.

Microorganisme	paramètre	Df	SumOfSqs	MeanSqs	F,model	R ²	Pr(>F)
Bactéries	Formation	6	4,4559	0,74264	4,2145	0,38447	0,001***
	Site	1	0,522	0,52197	2,9621	0,04504	0,001***
	Formation x site	3	1,3254	0,4418	2,5072	0,11436	0,001***
	Résidus	30	5,2864	0,17621	0,45613		
	Total	40	11,5896	1			
Champignons	Formation	6	4,9996	0,83327	2,4939	0,28036	0,001***
	Site	1	0,7867	0,78673	2,3546	0,04412	0,001***
	Formation x site	3	2,0227	0,67425	2,0179	0,11343	0,001***
	Résidus	30	10,0238	0,33413		0,5621	
	Total	40	17,8329			1	

3.3. Espèces végétales structurant la communauté microbienne du sol

Afin de déterminer quelles espèces végétales structurent les communautés microbiennes de Tiébaghi, un test de permutation est réalisé pour déterminer les espèces ayant un effet significatif sur la structure des communautés, puis à l'aide d'une analyse de distance-based redundancy analysis (dbRDA), les communautés microbiennes et végétales sont ordonnées graphiquement (Tableau 5). Cette analyse montre que les bactéries sont structurées par 3 espèces de plantes : *Acacia spirorbis* (Mimosoidae), *Halfordia kendac* (Rutaceae) et *Melodinus aeneus* (Apocynaceae) (Figure 3). *Acacia spirorbis* est très présent

dans les maquis arbustifs et développés, et totalement absent des paraforestiers. *Halfordia kendac* est présent dans toutes les formations végétales, et *Melodinus aeneus* n'est présent que dans les maquis arbustifs. Les champignons quant à eux, sont structurés par 2 espèces : *Acacia spirorbis* et *Dendrobium odontochilum* (Orchidaceae) (Figure 4). *Dendrobium odontochilum* est présent uniquement dans les maquis arbustifs développés. Entre les bactéries et les champignons, une seule espèce est commune : *Acacia spirorbis*.

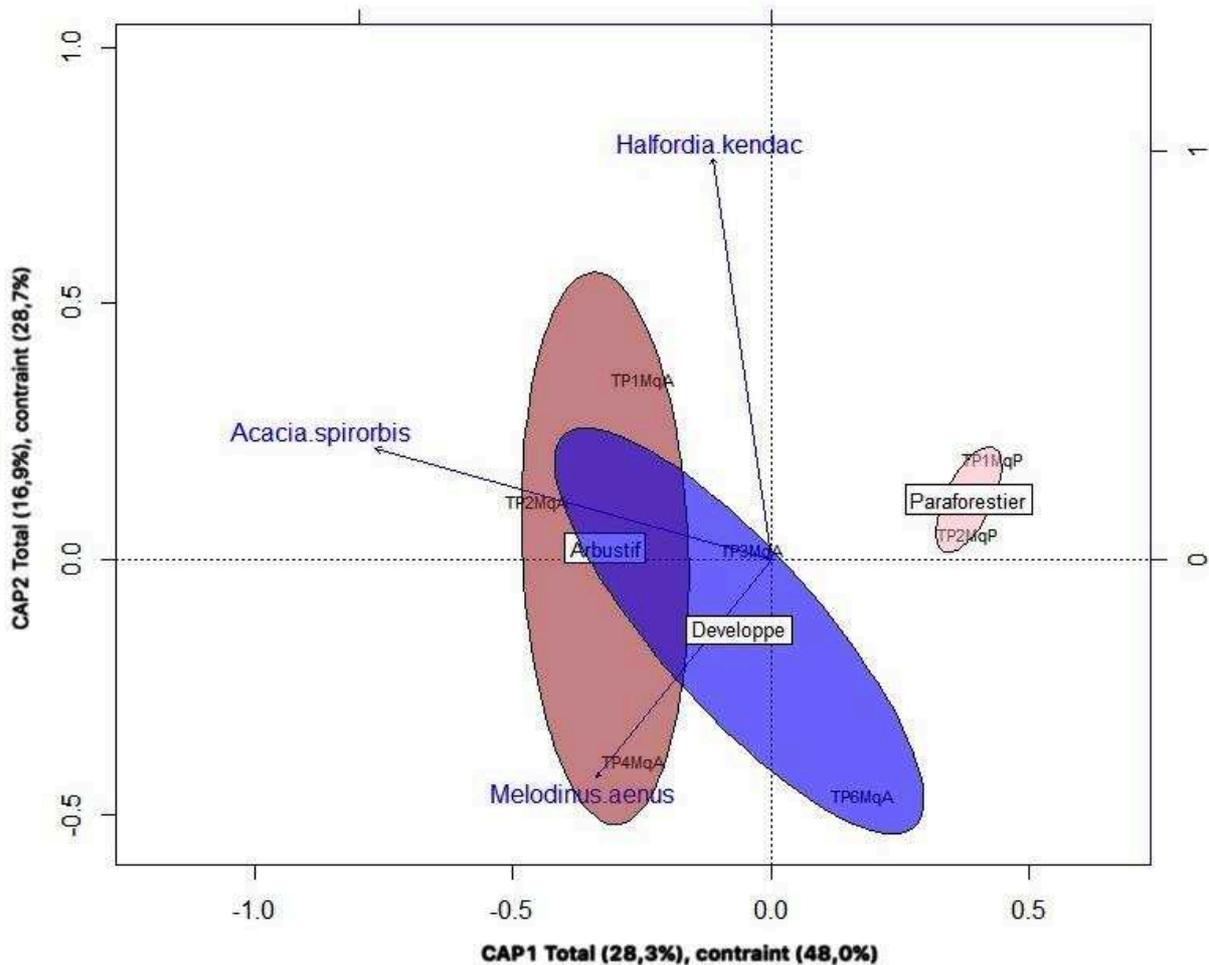


Figure 3 : distance –based redundancy analysis (dbRDA) réalisée à partir de la communauté bactérienne et de la composition floristique. Les flèches indiquent les espèces végétales qui ont une action significative sur la structure des communautés bactériennes.

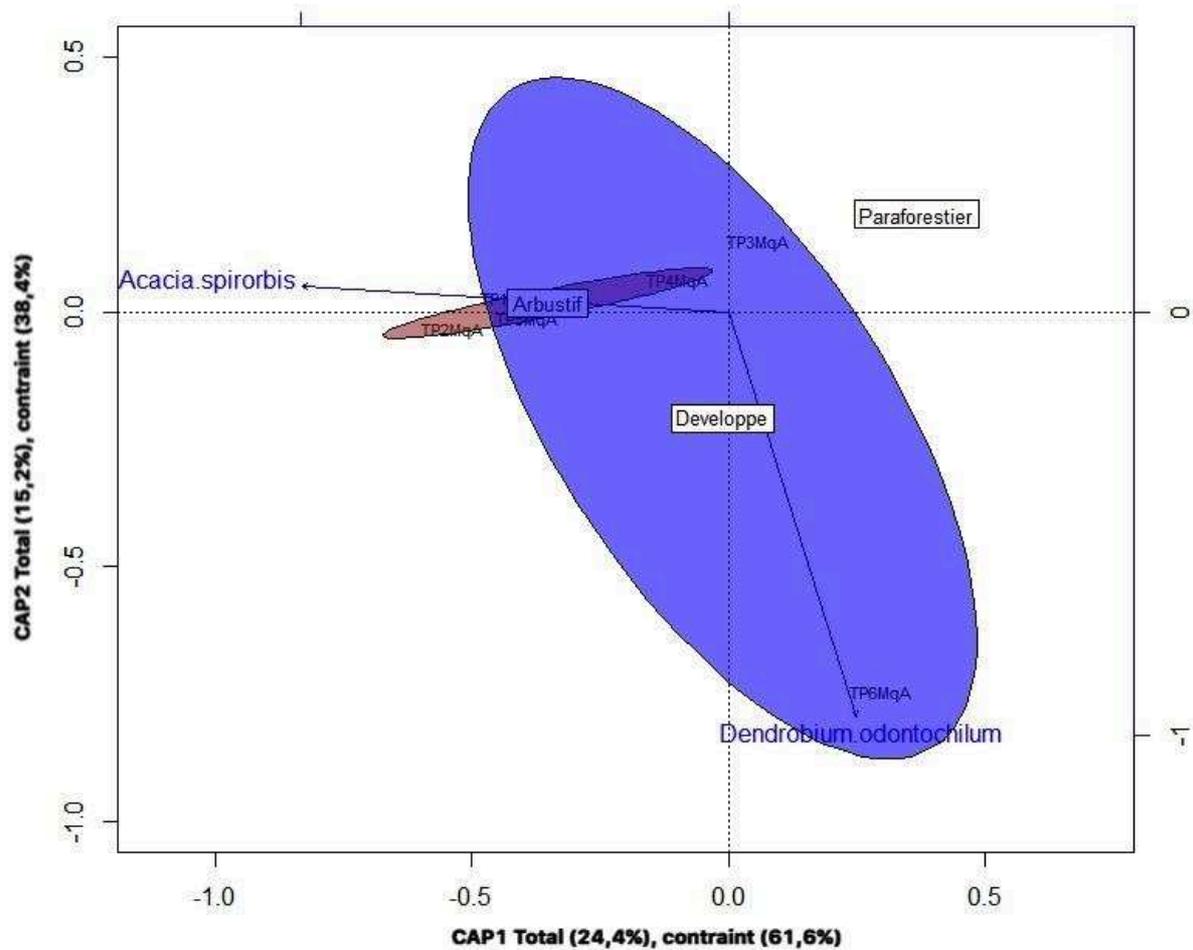


Figure 4 : distance –based redundancy analysis (dbRDA) réalisée à partir de la communauté fongique et de la composition floristique. Les flèches indiquent les espèces végétales qui ont une action significative sur la structure des communautés fongiques.

Tableau 5: Espèces végétales structurant significativement les communautés bactériennes et fongiques, obtenues par test de permutation. Df = degré de liberté, AIC= Critère d'information Akaike et Pr(>F) = valeur de significativité.

Microorganisme	Espèce	Df	AIC	F	Pr(>F)
Bactérie	Acacia spirorbis	1	1,9703	2,6517	0,005**
	Halfordia kendac	1	1,44098	1,947	0,02*
	Melodinus aenus	1	0,82132	1,6893	0,045*
Champignon	Acacia spirorbis	1	8,9929	2,2546	0,005**
	Dendrobium odontochilum	1	8,9653	1,5161	0,025*

4. DISCUSSION

Le Massif de Tiébaghi possède des communautés microbiennes qui lui sont propres et dont la composition est différente de celles provenant du massif de Kopéto et de la Rivière Blanche comme démontré par les NMDS. Les PERMANOVA ont montré une structuration selon la formation végétale et le site. La différence de communauté microbienne observée entre le Massif de Tiébaghi et le Massif de Kopéto et la Rivière Blanche peut donc être expliquée par la différence de flore entre ces trois sites ainsi que par l'éloignement et l'isolation géographique du Massif de Tiébaghi. Ces résultats confirment ceux présentés dans le chapitre 1.

L'étude a montré que les formations végétales issues de Tiébaghi possèdent une communauté fongique plus riche que celle des autres sites. Ces communautés microbiennes sont principalement structurées par la présence d'une espèce végétale particulière : *A. spirorbis* et à un moindre degré par *Dendrobium odontochilum*. *Dendrobium* est une orchidée, or celles-ci nécessitent la présence de champignons mycorhiziens pour leurs croissances et leurs survies. Cette association champignon- plante peut expliquer que la présence de cette orchidée structure les communautés fongiques (Martos, 2010). *Acacia spirorbis* est une espèce végétale qui a la particularité de posséder une triple symbiose, i.e. avec des champignons ectomycorhiziens, des champignons endomycorhiziens et des bactéries fixatrices d'azote (Amir and Ducouso, 2010). La présence de ces symbioses permet d'enrichir de façon importante le sol en microorganismes ce qui pourrait expliquer la plus forte richesse fongique observé dans les sols de Tiébaghi. De même, parmi les trois types de maquis étudiés sur le site de Tiébaghi, les maquis paraforestiers possèdent une richesse en bactéries plus faible que celle retrouvée dans les deux autres types de maquis (2 100 OTUs pour les paraforestiers au lieu de 2 500 à 2 700 OTUs pour les maquis arbustifs et arbustifs développés). Cette diminution du nombre de bactéries pourrait potentiellement être due à l'absence d'*A. spirorbis*

dans ces formations et donc d'un moindre enrichissement du sol en bactéries. Il est aussi à noter une légèrement diminution de la richesse en champignons (820 OTUs au lieu de 850 à 930 OTUs) dans ces maquis paraforestiers même si cette différence n'est pas significative. La triple symbiose d'*A. spirorbis* enrichit le sol en microorganismes et la présence de ces microorganismes en plus grand nombre stimulerait la croissance végétale d'où la plus grande fonctionnalité du topsoil de Tiébaghi.

Sur le massif de Tiébaghi, une flore diverse se développe sur les zones restaurées à l'aide de topsoil. Cette flore est majoritairement composée d'*A. spirorbis* et d'autres espèces endémiques des terrains miniers . Au bout de 20 ans, les zones restaurées par du topsoil possèdent toujours une forte diversité floristique suggérant que contrairement à l'idée reçue, *A. spirorbis* n'appauvrirait pas le milieu en empêchant le développement d'autres espèces végétales, sa présence serait plutôt bénéfique à la reconstruction de la couverture végétale. *A. spirorbis* est couramment utilisé en restauration en Nouvelle-Calédonie, car cette espèce est capable de croître sur des sols difficiles et est généralement une des seules espèces qui survit et se développe au cours du temps sur des sols dégradés. Cependant depuis quelques années, il est conseillé d'éviter d'utiliser cette espèce car elle aurait tendance à créer des formations végétales monospécifiques ce qui aurait pour conséquence d'appauvrir les milieux restaurés. Cependant aucune étude n'a réellement démontré qu'*A. spirorbis* bloquait le processus de succession végétale.

5. CONCLUSION

Les maquis de la mine de Tiébaghi possèdent une microflore des sols distincts de par leurs structures de celles issues du Massif de Kopéto et de la Rivière Blanche. De plus, les communautés fongiques de ces maquis possèdent une richesse plus importante par rapports aux autres sites. Toutes ces différences de structures et de richesses seraient dues à la

composition végétale connue pour structurer les communautés microbiennes et également à la présence d'une espèce particulière : *A.spirobis*. Celle-ci est connue pour développer une triple symbiose qui enrichirait les sols et par là stimulerait le développement et la croissance d'autres espèces. La fonctionnalité plus importante du topsoil de Tiébaghi serait donc due à une richesse fongique plus importante du fait de la présence d'*Acacia spirorbis*. Cependant, pour confirmer l'effet de cette espèce sur l'amélioration de la croissance végétale lors de la restauration, il serait nécessaire d'épandre séparément le topsoil provenant de nos trois maquis et non pas en les mélangeant comme cela se fait généralement . Cela permettrait de déterminer s'il existe une différence de croissance végétales lors de la restauration selon l'origine du topsoil et la présence d'*A.spirobis* dans les formations dont sont originaires ces topsoils.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

1. Communautés microbiennes des substrats ultramafiques de Nouvelle-Calédonie

Il est couramment admis que les communautés bactériennes et fongiques des sols sont structurées par la couverture végétale et les facteurs édaphiques. En Nouvelle-Calédonie, un tiers du territoire est recouvert de substrats ultramafiques. Ces sols sont fragmentés, très hétérogènes dans leurs compositions et possèdent une flore unique et très diversifiée. Du fait de ces caractéristiques, les communautés microbiennes associées à ces sols doivent être très diversifiées. L'approche métagénomique des populations microbiennes, issues de quatre formations végétales représentatives de différents stades de dégradation, et de succession d'une chronoséquence sur deux sites, a montré que chaque formation végétale et chaque site possède sa propre communauté bactérienne et fongique. Afin de confirmer que l'effet-site observé soit lié à la théorie de la biogéographie insulaire, il serait nécessaire de comparer les communautés microbiennes provenant de plusieurs îlots d'ultramafisme avec les communautés du Massif du Grand Sud. Cela permettrait d'observer s'il existe un effet île-continent entre les deux grandes formes de substrats ultramafiques calédoniens. De même, il a été montré que la couverture végétale, les espèces constitutives des formations végétales et les paramètres édaphiques propres à chaque formation végétale structurent les communautés microbiennes des sols. Afin d'observer les changements dans la structure des communautés microbiennes, en passant d'une formation végétale à une autre, il serait utile de tirer des transects. Ces lignes passeraient par diverses formations végétales représentant différents états de succession végétales. Cette étude donnerait une idée de l'évolution des communautés microbiennes avec les changements de facteurs biotiques et abiotiques. De plus, il a été

démontré que les communautés bactériennes et fongiques interagissent entre eux. A fin de mieux comprendre les interactions entre ces deux types de microorganismes de la métatranscriptomique pourrait être réalisé. Au final cette étude a montré que les communautés microbiennes des sols ultramafiques de Nouvelle-Calédonie sont structurées par des interactions complexes entre la couverture végétale, les paramètres édaphiques, la localisation géographique et les microorganismes eux-mêmes. Cette étude nous conforte dans l'idée qu'il est important de continuer à protéger les forêts calédoniennes car chacune d'elles abritent une diversité microbienne qui lui est propre.

2. Effets des champignons ectomycorhiziens sur la composition des communautés de champignons saprophytes

Les champignons peuvent être classés en différentes guildes selon la manière dont ils exploitent leurs ressources. Parmi ces guildes, deux sont le plus couramment présents dans les écosystèmes terrestres : les mycorhiziens et les saprophytes. Ces deux types de champignons interagissent entre eux et selon l'effet Gadgil, les champignons ectomycorhiziens inhiberaient les champignons saprophytes. Cet effet est généralement étudié dans des forêts à monodominances connues pour être ectomycorhiziennes. Cependant, en Nouvelle-Calédonie dans les maquis miniers, certaines formations végétales sont aussi dominées par une seule espèce. Aucune étude n'a regardé si dans ces formations végétales ectomycorhiziennes elles aussi, il y avait inhibition des champignons saprophytes par les champignons ectomycorhiziens. Cette étude a comparé des forêts ectomycorhiziennes et non-ectomycorhiziennes ainsi que des maquis ectomycorhiziens et non-ectomycorhiziens. Elle a montré que dans ces deux types de formations ectomycorhiziennes, les champignons ectomycorhiziens inhibent l'abondance des saprophytes sans pour autant affecter la richesse spécifique. Au sein des formations ectomycorhiziennes, certaines lignées sont abondantes

telles que *russula -lactarius* et *tricholoma*, et une est prédominante, la lignée *cortinarius*. La particularité de ces lignées est qu'elle possède des enzymes propres aux saprophytes, leurs permettant de dégrader en cas de besoin la matière organique comme le ferait un saprophyte. La lignée *cortinarius* a en plus la particularité d'avoir une surexpression d'un gène particulier impliqué dans la dégradation de la matière organique qui lui apporte un avantage par rapport aux autres champignons ectomycorhiziens. De plus, il est à noter que les champignons ectomycorhiziens et saprophytes sont structurés par la formation (maquis ectomycorhizien, maquis non-ectomycorhizien, forêt ectomycorhizienne et forêt non-ectomycorhizienne) et par le site, du fait d'une préférence d'hôte et d'une qualité de la litière différente selon la composition de la couverture végétale. Deux choses pourraient apporter des réponses pour confirmer que certains champignons ectomycorhiziens dégradent la matière organique comme les saprophytes dans les formations ectomycorhiziennes. Il faudrait effectuer de la métatranscriptomique pour déterminer les gènes exprimés lors de cette inhibition, et une étude des profils enzymatiques de ces lignées. Il serait aussi intéressant d'observer les communautés ectomycorhiziennes présentes sur d'autres substrats (volcano-sédimentaire et calcaire) afin de voir si la lignée *cortinarius* est aussi prédominante dans ces milieux ou si cette lignée n'est abondante que dans des milieux à faible disponibilité en nutriments comme les substrats ultramafiques.

3. Etude d'un cas particuliers: le Massif de Tiébaghi

La mine de Tiébaghi au Nord de la Nouvelle-Calédonie possède un topsoil très fonctionnel même après stockage contrairement à celui des autres mines. L'origine de cette fonctionnalité est inconnue et pourrait être liée à une communauté microbienne particulière et plus riche que celle des autres sites d'étude. La comparaison des communautés microbiennes de 3 maquis de Tiébaghi d'où sont originaires les topsoils avec les deux sites précédemment étudiés (Kopéto

et Rivière Blanche) a montré la présence dans les sols de Tiébaghi de communautés microbiennes différentes de celles observées dans les deux autres sites. Ces communautés sont plus riches en champignons et sont structurées par la présence d'une espèce végétale particulière, *Acacia spirorbis*. Cette espèce possède la particularité de développer une triple symbiose au niveau racinaire (ectomycorhize, endomycorhize, bactérie fixatrice d'azote). La présence de cette triple symbiose permet d'enrichir les sols en microorganismes et ainsi favoriser le développement d'autres espèces végétales. Cependant pour confirmer le rôle d'*A.spirorbis* dans la fonctionnalité du topsoil de Tiébaghi, il serait intéressant d'observer la revégétalisation après épandage du topsoil provenant de chaque formation végétale et non pas les trois mélangés comme souvent. Cela permettrait de voir si les topsoils provenant de formations où *A.spirorbis* est absent, comme dans les maquis paraforestiers, la revégétalisation est moins importante. De même, afin de déterminer si les microorganismes apportés par *A.spirorbis* se maintiennent dans le temps et sont donc responsables de la fonctionnalité et de la durabilité du topsoil de Tiébaghi, il faudrait regarder au sein de topsoil stockés comment ces communautés microbiennes évoluent avec le temps.

REFERENCES

- Ahmadian, A., Ehn, M., Hober, S., 2006. Pyrosequencing: History, biochemistry and future. *Clin. Chim. Acta* 363, 83–94. doi:10.1016/j.cccn.2005.04.038
- Alexander, I.J., Selosse, M.-A., 2009. Mycorrhizas in tropical forests: a neglected research imperative. *New Phytol.* 182, 14–16.
- Amir, H., Ducouso, M., 2010. Les bactéries et les champignons du sol sur roches ultramafiques, in: *Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration, Etudes Synthèses*. Institut Agronomique Néo-Calédonien, Païta, pp. 129–146.
- Amir, H., Lagrange, A., Hassaïne, N., Cavaloc, Y., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungi from New Caledonian ultramafic soils improve tolerance to nickel of endemic plant species. *Mycorrhiza* 23, 585–595. doi:10.1007/s00572-013-0499-6
- Andersen, A.N., 1993. Ants as Indicators of Restoration Success at a Uranium Mine in Tropical Australia. *Restor. Ecol.* 1, 156–167. doi:10.1111/j.1526-100X.1993.tb00022.x
- Andersen, A.N., Sparling, G.P., 1997. Ants as Indicators of Restoration Success: Relationship with Soil Microbial Biomass in the Australian Seasonal Tropics. *Restor. Ecol.* 5, 109–114. doi:10.1046/j.1526-100X.1997.09713.x
- Anderson, I.C., Cairney, J.W.G., 2004. Diversity and ecology of soil fungal communities: increased understanding through the application of molecular techniques. *Environ. Microbiol.* 6, 769–779. doi:10.1111/j.1462-2920.2004.00675.x
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecol.* 26, 32–46. doi:10.1111/j.1442-9993.2001.01070.pp.x
- Aspiras, R.B., Allen, O.N., Harris, R.F., Chesters, G., 1971. The role of microorganisms in the stabilization of soil aggregates. *Soil Biol. Biochem.* 3, 347–353. doi:10.1016/0038-0717(71)90045-9
- Bequette, F., 1997. New Caledonia: Threats to biodiversity. *Unesco Cour.* 50, 38–41.
- Berg, G., Smalla, K., 2009. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere: Plant species, soil type and rhizosphere communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 68, 1–13. doi:10.1111/j.1574-6941.2009.00654.x
- Blackwell, M., 2011. The Fungi: 1, 2, 3 ... 5.1 million species? *Am. J. Bot.* 98, 426–438. doi:10.3732/ajb.1000298
- Bödeker, I., 2012. Functional ecology of ectomycorrhizal fungi [WWW Document]. URL <http://pub.epsilon.slu.se/8829/> (accessed 5.21.16).
- Bödeker, I.T.M., Clemmensen, K.E., de Boer, W., Martin, F., Olson, Å., Lindahl, B.D., 2014. Ectomycorrhizal *Cortinarius* species participate in enzymatic oxidation of humus in northern

- forest ecosystems. *New Phytol.* 203, 245–256. doi:10.1111/nph.12791
- Bödeker, I.T.M., Nygren, C.M.R., Taylor, A.F.S., Olson, Å., Lindahl, B.D., 2009. ClassII peroxidase-encoding genes are present in a phylogenetically wide range of ectomycorrhizal fungi. *ISME J.* 3, 1387–1395. doi:10.1038/ismej.2009.77
- Boer, W. de, Folman, L.B., Summerbell, R.C., Boddy, L., 2005. Living in a fungal world: impact of fungi on soil bacterial niche development. *FEMS Microbiol. Rev.* 29, 795–811. doi:10.1016/j.femsre.2004.11.005
- Bouchet, P., Jaffré, T., Veillon, J.-M., 1995. Plant extinction in New Caledonia: protection of sclerophyll forests urgently needed. *Biodivers. Conserv.* 4, 415–428.
- Braun-Blanquet, J. (Josias), Fuller, G.D. (George D., Conard, H.S., 1932. *Plant sociology; the study of plant communities*; New York and London, McGraw-Hill book company, inc.
- Brockett, B.F.T., Prescott, C.E., Grayston, S.J., 2012. Soil moisture is the major factor influencing microbial community structure and enzyme activities across seven biogeoclimatic zones in western Canada. *Soil Biol. Biochem.* 44, 9–20. doi:10.1016/j.soilbio.2011.09.003
- Broeckling, C.D., Broz, A.K., Bergelson, J., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2008. Root Exudates Regulate Soil Fungal Community Composition and Diversity. *Appl. Environ. Microbiol.* 74, 738–744. doi:10.1128/AEM.02188-07
- Brooks, R.R., 1987. *Serpentine and its vegetation: a multidisciplinary approach*. Dioscorides Press.
- Brundrett, M.C., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320, 37–77. doi:10.1007/s11104-008-9877-9
- Bruns, T.D., Szaro, T.M., Gardes, M., Cullings, K.W., Pan, J.J., Taylor, D.L., Horton, T.R., Kretzer, A., Garbelotto, M., Li, Y., 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis. *Mol. Ecol.* 7, 257–272.
- Buckley, D.H., Huangyutitham, V., Nelson, T.A., Rumberger, A., Thies, J.E., 2006. Diversity of Planctomycetes in Soil in Relation to Soil History and Environmental Heterogeneity. *Appl. Environ. Microbiol.* 72, 4522–4531. doi:10.1128/AEM.00149-06
- Buckley, D.H., Schmidt, T.M., 2003. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environ. Microbiol.* 5, 441–452. doi:10.1046/j.1462-2920.2003.00404.x
- Burke, D.J., Smemo, K.A., Hewins, C.R., 2014. Ectomycorrhizal fungi isolated from old-growth northern hardwood forest display variability in extracellular enzyme activity in the presence of plant litter. *Soil Biol. Biochem.* 68, 219–222. doi:10.1016/j.soilbio.2013.10.013
- Buscot, F., Varma, A., 2005. *Microorganisms in soils roles in genesis and functions*. Springer, Berlin; New York.

- Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Lozupone, C.A., Turnbaugh, P.J., Fierer, N., Knight, R., 2011. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 108, 4516–4522. doi:10.1073/pnas.1000080107
- Castro, A.P. de, Quirino, B.F., Jr, G.P., Kurokawa, A.S., Neto, E.L., Krüger, R.H., 2008. Diversity of soil fungal communities of Cerrado and its closely surrounding agriculture fields. *Arch. Microbiol.* 190, 129–139. doi:10.1007/s00203-008-0374-6
- Cázares, E., Trappe, J.M., Jumpponen, A., 2005. Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession. *Mycorrhiza* 15, 405–416. doi:10.1007/s00572-004-0342-1
- Chapin, F.S., Walker, L.R., Fastie, C.L., Sharman, L.C., 1994. Mechanisms of Primary Succession Following Deglaciation at Glacier Bay, Alaska. *Ecol. Monogr.* 64, 149–175. doi:10.2307/2937039
- Chatain, A., Read, J., Jaffré, T., 2009. Does leaf-level nutrient-use efficiency explain Nothofagus-dominance of some tropical rain forests in New Caledonia? *Plant Ecol.* 201, 51–66. doi:10.1007/s11258-008-9477-z
- Chiu, C.-Y., Chen, T.-H., Imberger, K., Tian, G., 2006. Particle size fractionation of fungal and bacterial biomass in subalpine grassland and forest soils. *Geoderma* 130, 265–271. doi:10.1016/j.geoderma.2005.01.025
- Cluzel, D., Maurizot, P., Collot, J., Sevin, B., others, 2012. An outline of the geology of New Caledonia; from Permian-Mesozoic Southeast Gondwanaland active margin to Cenozoic obduction and supergene evolution. *Episodes-Newsmag. Int. Geol. Sci.* 35, 72.
- Connell, J.H., Lowman, M.D., 1989. Low-Diversity Tropical Rain Forests: Some Possible Mechanisms for Their Existence. *Am. Nat.* 134, 88–119.
- Courty, P.-E., Bréda, N., Garbaye, J., 2007. Relation between oak tree phenology and the secretion of organic matter degrading enzymes by *Lactarius quietus* ectomycorrhizas before and during bud break. *Soil Biol. Biochem.* 39, 1655–1663. doi:10.1016/j.soilbio.2007.01.017
- Courty, P.-E., Pouysegur, R., Buée, M., Garbaye, J., 2006. Laccase and phosphatase activities of the dominant ectomycorrhizal types in a lowland oak forest. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1219–1222. doi:10.1016/j.soilbio.2005.10.005
- Dagostini, G., Veillon, J.M., Jaffré, T., 1997. Inventaire et caractérisation de la flore et des groupements végétaux du massif de la Tiébaghi. *Rapp. ORSTOM* 9–1997.
- Danell, E., Alström, S., Ternström, A., 1993. *Pseudomonas fluorescens* in association with fruit bodies of the ectomycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*. *Mycol. Res.* 97, 1148–1152. doi:10.1016/S0953-7562(09)80519-4
- Dhillon, S.S., 1992. Evidence for host-mycorrhizal preference in native grassland species. *Mycol. Res.* 96, 359–362. doi:10.1016/S0953-7562(09)80951-9

- Dickie, I.A., 2007. Host preference, niches and fungal diversity. *New Phytol.* 174, 230–233. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02055.x
- Ding, Q., Liang, Y., Legendre, P., He, X., Pei, K., Du, X., Ma, K., 2011. Diversity and composition of ectomycorrhizal community on seedling roots: the role of host preference and soil origin. *Mycorrhiza* 21, 669–680. doi:10.1007/s00572-011-0374-2
- Duponnois, R., Plenchette, C., 2003. A mycorrhiza helper bacterium enhances ectomycorrhizal and endomycorrhizal symbiosis of Australian *Acacia* species. *Mycorrhiza* 13, 85–91. doi:10.1007/s00572-002-0204-7
- Edgar, R.C., Haas, B.J., Clemente, J.C., Quince, C., Knight, R., 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinforma. Oxf. Engl.* 27, 2194–2200. doi:10.1093/bioinformatics/btr381
- Falkowski, P.G., Fenchel, T., Delong, E.F., 2008. The Microbial Engines That Drive Earth's Biogeochemical Cycles. *Science, New Series* 320, 1034–1039.
- Fierer, N., Jackson, R.B., 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103, 626–631.
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecol. Lett.* 12, 1238–1249. doi:10.1111/j.1461-0248.2009.01360.x
- Forster, S.M., 1990. The role of microorganisms in aggregate formation and soil stabilization: Types of aggregation. *Arid Soil Res. Rehabil.* 4, 85–98. doi:10.1080/15324989009381236
- Founoune, H., Duponnois, R., Ba, A.M., Sall, S., Branget, I., Lorquin, J., Neyra, M., Chotte, J.-L., 2002. Mycorrhiza helper bacteria stimulate ectomycorrhizal symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus alba*. *New Phytol.* 153, 81–89.
- Frey-Klett, P., Garbaye, J., Tarkka, M., 2007. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytol.* 176, 22–36. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02191.x
- Frey, P., Frey-Klett, P., Garbaye, J., Berge, O., Heulin, T., 1997. Metabolic and Genotypic Fingerprinting of Fluorescent *Pseudomonads* Associated with the Douglas Fir-*Laccaria bicolor* Mycorrhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 1852–1860.
- Fujiyoshi, M., Kagawa, A., Nakatsubo, T., Masuzawa, T., 2006. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and soil developmental stages on herbaceous plants growing in the early stage of primary succession on Mount Fuji. *Ecol. Res.* 21, 278–284. doi:10.1007/s11284-005-0117-y
- Gadgil, R., Gadgil, P., 1971. Mycorrhiza and litter decomposition. *Nature* 233, 133.
- Garbaye, J., 1994. Tansley Review No. 76 Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis. *New Phytol.* 128, 197–210. doi:10.1111/j.1469-8137.1994.tb04003.x
- Garbeva, P., Veen, J.A. van, Elsas, J.D. van, 2004. MICROBIAL DIVERSITY IN SOIL:

- Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243–270.
doi:10.1146/annurev.phyto.42.012604.135455
- Gaston, K.J., 1996. Biodiversity - latitudinal gradients. *Prog. Phys. Geogr.* 20, 466–476.
doi:10.1177/030913339602000406
- Gillespie, T.W., Jaffré, T., 2003. Tropical dry forests in New Caledonia. *Biodivers. Conserv.* 12, 1687–1697.
- Gobat, J.-M., Aragno, M., Matthey, W., 2010. *Le sol vivant: bases de pédologie, biologie des sols.* PPUR Presses polytechniques.
- Gömöryová, E., Hrivnák, R., Janišová, M., Ujházy, K., Gömöry, D., 2009. Changes of the functional diversity of soil microbial community during the colonization of abandoned grassland by a forest. *Appl. Soil Ecol.* 43, 191–199. doi:10.1016/j.apsoil.2009.07.007
- Gross, N.D., Torti, S.D., Feener, D.H., Coley, P.D., 2000. Monodominance in an African Rain Forest: Is Reduced Herbivory Important? 1. *Biotropica* 32, 430–439.
- Habekost, M., Eisenhauer, N., Scheu, S., Steinbeiss, S., Weigelt, A., Gleixner, G., 2008. Seasonal changes in the soil microbial community in a grassland plant diversity gradient four years after establishment. *Soil Biol. Biochem.* 40, 2588–2595.
doi:10.1016/j.soilbio.2008.06.019
- Haichar, F. el Z., Marol, C., Berge, O., Rangel-Castro, J.I., Prosser, J.I., Balesdent, J., Heulin, T., Achouak, W., 2008. Plant host habitat and root exudates shape soil bacterial community structure. *ISME J.* 2, 1221–1230. doi:10.1038/ismej.2008.80
- Handelsman, J., Rondon, M.R., Brady, S.F., Clardy, J., Goodman, R.M., 1998. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem. Biol.* 5, R245–R249. doi:10.1016/S1074-5521(98)90108-9
- Harris, J., 2009. Soil Microbial Communities and Restoration Ecology: Facilitators or Followers? *Science* 325, 573–574. doi:10.1126/science.1172975
- harrisson, susan, rajakaruna, nishanta, 2011. *Serpentine : The Evolution and Ecology of a Model System.* University of California Press, Berkeley, CA, USA.
- Hart, T.B., 1990. Monospecific dominance in tropical rain forests. *Trends Ecol. Evol.* 5, 6–11.
doi:10.1016/0169-5347(90)90005-X
- Hart, T.B., Hart, J.A., Murphy, P.G., 1989. Monodominant and species-rich forests of the humid tropics: causes for their co-occurrence. *Am. Nat.* 613–633.
- Hemkemeyer, M., Christensen, B.T., Martens, R., Tebbe, C.C., 2015. Soil particle size fractions harbour distinct microbial communities and differ in potential for microbial mineralisation of organic pollutants. *Soil Biol. Biochem.* 90, 255–265.
doi:10.1016/j.soilbio.2015.08.018

He, X.H., Critchley, C., 2008. Frankia nodulation, mycorrhization and interactions between Frankia and mycorrhizal fungi in Casuarina plants, in: Mycorrhiza. Springer, pp. 767–781.

Ibanez, T., Birnbaum, P., 2014. Monodominance at the rainforest edge: case study of Codia mackeeana (Cunoniaceae) in New Caledonia. Aust. J. Bot. doi:10.1071/BT14062

Ihrmark, K., Bödeker, I.T.M., Cruz-Martinez, K., Friberg, H., Kubartova, A., Schenck, J., Strid, Y., Stenlid, J., Brandström-Durling, M., Clemmensen, K.E., Lindahl, B.D., 2012. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. FEMS Microbiol. Ecol. 82, 666–677. doi:10.1111/j.1574-6941.2012.01437.x

Isnard, S., L’huillier, L., Rigault, F., Jaffré, T., 2016. How did the ultramafic soils shape the flora of the New Caledonian hotspot? Plant Soil. doi:10.1007/s11104-016-2910-5

Izquierdo, I., Caravaca, F., Alguacil, M.M., Hernández, G., Roldán, A., 2005. Use of microbiological indicators for evaluating success in soil restoration after revegetation of a mining area under subtropical conditions. Appl. Soil Ecol. 30, 3–10. doi:10.1016/j.apsoil.2005.02.004

Jaffre, T., Bouchet, P., Veillon, J.-M., 1997. Threatened plants of New Caledonia: Is the system of protected areas adequate? Biodivers. Conserv. 7, 109–135.

Jaffré, T., L’Huillier, L., 2010. La végétation des roches ultramafiques ou terrains miniers, in: Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration, Etudes Synthèses. Institut Agronomique Néo-Calédonien, Païta, pp. 45–103.

Jaffré, T., Morat, P., Veillon, J.-M., Rigault, F., Dagostini, G., 2001a. composition et caractérisation de la flore indigène de nouvelle-calédonie. IRD Doc. Sci. Tech. 1–139.

Jaffré, T., Morat, P., Veillon, J.-M., Rigault, F., Dagostini, G., 2001b. composition et caractérisation de la flore indigène de nouvelle-calédonie. IRD Doc. Sci. Tech. 1–139.

Jaffré, T., Rigault, F., Dagostini, G., Tinel-Fambart, J., Wulff, A., Munzinger, J., 2009. Input of the different vegetation units to the richness and endemism of the New Caledonian flora. Flora 162, 54–9.

Jangid, K., Whitman, W.B., Condon, L.M., Turner, B.L., Williams, M.A., 2013. Soil bacterial community succession during long-term ecosystem development. Mol. Ecol. 22, 3415–3424. doi:10.1111/mec.12325

Jeffery, S., Gardi, C., Jones, A., Montanarella, L., Marmo, L., Miko, L., Ritz, K., Peres, G., Römbke, J., van der Putten, W., 2010. atlas européen de la biodiversité des sols, Commission européenne, Bureau des publications de l’Union européenne, Luxembourg.

Jiang, X.-T., Peng, X., Deng, G.-H., Sheng, H.-F., Wang, Y., Zhou, H.-W., Tam, N.F.-Y., 2013. Illumina Sequencing of 16S rRNA Tag Revealed Spatial Variations of Bacterial Communities in a Mangrove Wetland. Microb. Ecol. 66, 96–104. doi:10.1007/s00248-013-0238-8

- Johansson, J.F., Paul, L.R., Finlay, R.D., 2004. Microbial interactions in the mycorrhizosphere and their significance for sustainable agriculture. *FEMS Microbiol. Ecol.* 48, 1–13. doi:10.1016/j.femsec.2003.11.012
- Jumpponen, A., Jones, K.L., David Mattox, J., Yaeger, C., 2010. Massively parallel 454-sequencing of fungal communities in *Quercus* spp. ectomycorrhizas indicates seasonal dynamics in urban and rural sites. *Mol. Ecol.* 19, 41–53. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04483.x
- Knelman, J.E., Legg, T.M., O'Neill, S.P., Washenberger, C.L., González, A., Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., 2012. Bacterial community structure and function change in association with colonizer plants during early primary succession in a glacier forefield. *Soil Biol. Biochem.* 46, 172–180. doi:10.1016/j.soilbio.2011.12.001
- Kõljalg, U., Larsson, K.-H., Abarenkov, K., Nilsson, R.H., Alexander, I.J., Eberhardt, U., Erland, S., Høiland, K., Kjølner, R., Larsson, E., Pennanen, T., Sen, R., Taylor, A.F.S., Tedersoo, L., Vrålstad, T., Ursing, B.M., 2005. UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi. *New Phytol.* 166, 1063–1068. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01376.x
- Kretzer, A.M., Bruns, T.D., 1999. Use of *atp6* in Fungal Phylogenetics: An Example from the Boletales. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13, 483–492. doi:10.1006/mpev.1999.0680
- Kruskal, J.B., 1964. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika* 29, 1–27. doi:10.1007/BF02289565
- Lagrange, A., Ducousso, M., Jourand, P., Majorel, C., Amir, H., 2011. New insights into the mycorrhizal status of Cyperaceae from ultramafic soils in New Caledonia. *Can. J. Microbiol.* 57, 21+.
- Laminou Manzo, O., Ibrahim, D., Campanella, B., Paul, R., 2009. Effets de l'inoculation mycorrhizienne du substrat sur la croissance et la résistance au stress hydrique de cinq espèces fixatrices de dunes: *Acacia raddiana* Savi; *Acacia nilotica* (L.) Willd Ex Del. var. *adansonii*; *Acacia senegal* (L.) Willd; *Prosopis chilensis* Stunz. et *Bauhinia rufescens* Lam.. *Geo-Eco-Trop* 33, 115–124.
- Lauber, C.L., Hamady, M., Knight, R., Fierer, N., 2009. Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 5111–5120. doi:10.1128/AEM.00335-09
- Leake, J., Johnson, D., Donnelly, D., Muckle, G., Boddy, L., Read, D., 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Can. J. Bot.* 82, 1016–1045. doi:10.1139/b04-060
- L'Huillier, L., Jaffré, T., Wulff, A., Lebrun, M., Maggia, L., Barré, N., Chazeau, J., Jourdan, H., Amir, H., Ducousso, M., Gâteblé, G., Fogliani, B., Zongo, C., Vea, C., 2010. Mines et environnement en Nouvelle-Calédonie : les milieux sur substrats ultramafiques et leur restauration, Etudes Synthèses. Institut Agronomique Néo-Calédonien, Païta.
- Liu, L., Li, Y., Li, S., Hu, N., He, Y., Pong, R., Lin, D., Lu, L., Law, M., 2012. Comparison

- of Next-Generation Sequencing Systems. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, 1–11. doi:10.1155/2012/251364
- MacArthur, R.H., Wilson, E.O., 1963. An Equilibrium Theory of Insular Zoogeography. *Evolution* 17, 373–387. doi:10.2307/2407089
- Madsen, E.L., 2011. Microorganisms and their roles in fundamental biogeochemical cycles. *Curr. Opin. Biotechnol., Energy biotechnology – Environmental biotechnology* 22, 456–464. doi:10.1016/j.copbio.2011.01.008
- Mansfeld-Giese, K., Larsen, J., Bødker, L., 2002. Bacterial populations associated with mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 41, 133–140. doi:10.1111/j.1574-6941.2002.tb00974.x
- Mardis, E.R., 2008. Next-Generation DNA Sequencing Methods. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 9, 387–402. doi:10.1146/annurev.genom.9.081307.164359
- Margulies, M., Egholm, M., Altman, W.E., Attiya, S., al, et, 2005. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 437, 376–80.
- Martínez-García, L.B., Pugnaire, F.I., 2011. Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Appl. Soil Ecol.* 48, 313–317. doi:10.1016/j.apsoil.2011.04.003
- Martos, F., 2010. Structuration écologique et évolutive des symbioses mycorhiziennes des orchidées tropicales. Université de la Réunion.
- Mayor, J.R., Henkel, T.W., 2006. Do ectomycorrhizas alter leaf-litter decomposition in monodominant tropical forests of Guyana? *New Phytol.* 169, 579–588. doi:10.1111/j.1469-8137.2005.01607.x
- McGuire, K.L., 2014. Chapitre 10: The Contribution of Ectomycorrhizal Fungal Feedbacks to the Maintenance of Tropical Monodominant Rain Forests, in: *Ectomycorrhizal Symbioses in Tropical and Neotropical Forests*. CRC Press, Boca Raton, pp. 185–199.
- McGuire, K.L., 2007. Common ectomycorrhizal networks may maintain monodominance in a tropical rain forest. *Ecology* 88, 567–574.
- McGuire, K.L., Zak, D.R., Edwards, I.P., Blackwood, C.B., Upchurch, R., 2010. Slowed decomposition is biotically mediated in an ectomycorrhizal, tropical rain forest. *Oecologia* 164, 785–795. doi:10.1007/s00442-010-1686-1
- Meier, C.L., Rapp, J., Bowers, R.M., Silman, M., Fierer, N., 2010. Fungal growth on a common wood substrate across a tropical elevation gradient: Temperature sensitivity, community composition, and potential for above-ground decomposition. *Soil Biol. Biochem.* 42, 1083–1090. doi:10.1016/j.soilbio.2010.03.005
- Morat, P., Jaffré, T., Tronchet, F., Munzinger, J., Pillon, Y., Veillon, J.-M., Chalopin, M., Birnbaum, P., Rigault, F., Dagostini, G., Tinel, J., Lowry, P.P., 2012. Le référentiel taxonomique Florical et les caractéristiques de la flore vasculaire indigène de la Nouvelle-

Calédonie. *Adansonia* 34, 179–221. doi:10.5252/a2012n2a1

Myers, N., 1988. Threatened biotas: “Hot spots” in tropical forests. *Environmentalist* 8, 187–208. doi:10.1007/BF02240252

Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.

Navarro, E., Jaffré, T., Gauthier, D., Gourbiere, F., Rinaudo, G., Simonet, P., Normand, P., 1999. Distribution of *Gymnostoma* spp. microsymbiotic *Frankia* strains in New Caledonia is related to soil type and to host-plant species. *Mol. Ecol.* 8, 1781–1788.

Ndiaye, E. I., Sandeno, J. m., McGrath, D., Dick, R. p., 2000. Integrative biological indicators for detecting change in soil quality. *Am. J. Altern. Agric.* 15, 26–36. doi:10.1017/S0889189300008432

Newbery, D.M., Alexander, I.J., Rother, J.A., 1997. Phosphorus Dynamics in a Lowland African Rain Forest: The Influence of Ectomycorrhizal Trees. *Ecol. Monogr.* 67, 367. doi:10.2307/2963460

Nguyen, N.H., Song, Z., Bates, S.T., Branco, S., Tedersoo, L., Menke, J., Schilling, J.S., Kennedy, P.G., 2015. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. *Fungal Ecol.* doi:10.1016/j.funeco.2015.06.006

Orgiazzi, A., Lumini, E., Nilsson, R.H., Girlanda, M., Vizzini, A., Bonfante, P., Bianciotto, V., 2012. Unravelling Soil Fungal Communities from Different Mediterranean Land-Use Backgrounds. *PLOS ONE* 7, e34847. doi:10.1371/journal.pone.0034847

Ottonetti, 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. *Restor. Ecol.* 14, 60–66. doi:10.1111/j.1526-100X.2006.00105.x

Papineau, C., 1989. *Le chene gomme (arillastrum gummiferum) en Nouvelle Calédonie.* ministère de l’agriculture, Paris.

Pascal, M., De Forges, B.R., Le Guyader, H., Simberloff, D., 2008. Mining and Other Threats to the New Caledonia Biodiversity Hotspot. *Conserv. Biol.* 22, 498–499. doi:10.1111/j.1523-1739.2008.00889.x

Peck, S.L., Mcquaid, B., Campbell, C.L., 1998. Using Ant Species (Hymenoptera: Formicidae) as a Biological Indicator of Agroecosystem Condition. *Entomol. Pap. Sources.*

Peh, K.S.-H., Lewis, S.L., Lloyd, J., 2011. Mechanisms of monodominance in diverse tropical tree-dominated systems: Mechanisms of monodominance in diverse tropical forests. *J. Ecol.* 99, 891–898. doi:10.1111/j.1365-2745.2011.01827.x

Pelletier, B., 2006. Geology of the New Caledonia region and its implications for the study of the New Caledonian biodiversity. *Compend. Mar. Species New Caledonia* 17–30.

Petrosino, J.F., Highlander, S., Luna, R.A., Gibbs, R.A., Versalovic, J., 2009. Metagenomic

- Pyrosequencing and Microbial Identification. *Clin. Chem.* 55, 856–866.
doi:10.1373/clinchem.2008.107565
- Pfeiffer, B., Fender, A.-C., Lasota, S., Hertel, D., Jungkunst, H.F., Daniel, R., 2013. Leaf litter is the main driver for changes in bacterial community structures in the rhizosphere of ash and beech. *Appl. Soil Ecol.* 72, 150–160. doi:10.1016/j.apsoil.2013.06.008
- Pielou, E.C., 1966. The measurement of diversity in different types of biological collections. *J. Theor. Biol.* 13, 131–144. doi:10.1016/0022-5193(66)90013-0
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., Peplies, J., Glöckner, F.O., 2013. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.* 41, D590–D596. doi:10.1093/nar/gks1219
- Read, D.J., 1991. Mycorrhizas in ecosystems. *Experientia* 47, 376–391.
doi:10.1007/BF01972080
- Read, J., Hope, G.S., 1996. Ecology of Nothofagus forests of New Guinea and New Caledonia, in: *The Ecology and Biogeography of Nothofagus Forests*. Yale University Press.
- Root, R.B., 1967. The Niche Exploitation Pattern of the Blue-Gray Gnatcatcher. *Ecol. Monogr.* 37, 317. doi:10.2307/1942327
- Rosenheim, J.A., Kaya, H.K., Ehler, L.E., Marois, J.J., Jaffee, B.A., 1995. Intraguild Predation Among Biological-Control Agents: Theory and Evidence. *Biol. Control* 5, 303–335. doi:10.1006/bcon.1995.1038
- Rothberg, J.M., Leamon, J.H., 2008. The development and impact of 454 sequencing. *Nat. Biotechnol.* 26, 1117–1124. doi:10.1038/nbt1485
- Rousk, J., Bååth, E., Brookes, P.C., Lauber, C.L., Lozupone, C., Caporaso, J.G., Knight, R., Fierer, N., 2010. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* 4, 1340–1351.
- Sarasin, G., 2011. *Biotechnologie des symbioses racinaires en restauration écologique des écosystèmes dégradés à Madagascar*. Université Laval.
- Schechter, S.P., Bruns, T.D., 2012. Edaphic sorting drives arbuscular mycorrhizal fungal community assembly in a serpentine/non-serpentine mosaic landscape. *Ecosphere* 3, 1–24. doi:10.1890/ES12-00059.1
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Horn, D.J.V., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 7537–7541. doi:10.1128/AEM.01541-09
- Shendure, J., Ji, H., 2008. Next-generation DNA sequencing. *Nat. Biotechnol.* 26, 1135–1145. doi:10.1038/nbt1486

- Shokralla, S., Spall, J.L., Gibson, J.F., Hajibabaei, M., 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* 21, 1794–1805. doi:10.1111/j.1365-294X.2012.05538.x
- Simpson, E., 1949. Measurement of Diversity. *Nature* 163, 688.
- Smith, S.E., Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, Third Edition, 3 edition. ed. Academic Press.
- Staley, C., Unno, T., Gould, T.J., Jarvis, B., Phillips, J., Cotner, J.B., Sadowsky, M.J., 2013. Application of Illumina next-generation sequencing to characterize the bacterial community of the Upper Mississippi River. *J. Appl. Microbiol.* 115, 1147–1158. doi:10.1111/jam.12323
- Tarlera, S., Jangid, K., Ivester, A.H., Whitman, W.B., Williams, M.A., 2008. Microbial community succession and bacterial diversity in soils during 77 000 years of ecosystem development: Microbial community succession in soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64, 129–140. doi:10.1111/j.1574-6941.2008.00444.x
- Tedersoo, L., Jairus, T., Horton, B.M., Abarenkov, K., Suvi, T., Saar, I., Kõljalg, U., 2008. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytol.* 180, 479–490. doi:10.1111/j.1469-8137.2008.02561.x
- Tedersoo, L., May, T.W., Smith, M.E., 2010a. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20, 217–263. doi:10.1007/s00572-009-0274-x
- Tedersoo, L., Nilsson, R.H., Abarenkov, K., Jairus, T., Sadam, A., Saar, I., Bahram, M., Bechem, E., Chuyong, G., Kõljalg, U., 2010b. 454 Pyrosequencing and Sanger sequencing of tropical mycorrhizal fungi provide similar results but reveal substantial methodological biases. *New Phytol.* 188, 291–301. doi:10.1111/j.1469-8137.2010.03373.x
- Thomas, T., Gilbert, J., Meyer, F., 2012. *Metagenomics-a guide from sampling to data analysis*. *Microb Inf. Exp* 2.
- Torti, S.D., Coley, P.D., Kursar, T.A., 2001. Causes and Consequences of Monodominance in Tropical Lowland Forests. *Am. Nat.* 157, 141–153. doi:10.1086/318629
- Tripathi, B.M., Kim, M., Singh, D., Lee-Cruz, L., Lai-Hoe, A., Ainuddin, A.N., Go, R., Rahim, R.A., Husni, M.H.A., Chun, J., Adams, J.M., 2012. Tropical Soil Bacterial Communities in Malaysia: pH Dominates in the Equatorial Tropics Too. *Microb. Ecol.* 64, 474–484. doi:10.1007/s00248-012-0028-8
- Walter, C., Bispo, A., Chenu, C., Langlais-Hesse, A., Schwartz, C., 2013. Les services écosystémiques des sols : du concept à sa valorisation. *Cah. Demeter* 51–68.
- White, J. T., Bruns, T.D., Lee, S.B., Taylor, J.W., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics.
- Zaller, J.G., Frank, T., Drapela, T., 2011. Soil sand content can alter effects of different taxa

of mycorrhizal fungi on plant biomass production of grassland species. *Eur. J. Soil Biol.* 47, 175–181. doi:10.1016/j.ejsobi.2011.03.001

Zhang, HARPER, R., KARSISTO, M., LINDSTRÖM, K., 1991. Diversity of Rhizobium Bacteria Isolated from the Root Nodules of Leguminous Trees. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 41, 104–113. doi:10.1099/00207713-41-1-104

Zhang, X., Xu, S., Li, C., Zhao, L., Feng, H., Yue, G., Ren, Z., Cheng, G., 2014. The soil carbon/nitrogen ratio and moisture affect microbial community structures in alkaline permafrost-affected soils with different vegetation types on the Tibetan plateau. *Res. Microbiol.* 165, 128–139. doi:10.1016/j.resmic.2014.01.002

Zhou, X., Ren, L., Meng, Q., Li, Y., Yu, Y., Yu, J., 2010. The next-generation sequencing technology and application. *Protein Cell* 1, 520–536. doi:10.1007/s13238-010-0065-3

ANNEXES

METHODES DE NGS

En 2005, une nouvelle génération de technique de séquençage est apparue, nommée séquençage à haut débit. Celle-ci permet de générer des millions de jeux de données à partir d'échantillons environnementaux. Il n'y a pas besoin d'obtenir au préalable de culture pure pour chaque organisme à étudier (sachant que moins de 1 % des microorganismes sont cultivables), ni de passer par le clonage bactérien pour isoler des échantillons non-cultivables. Ces nouvelles technologies sont regroupées sous le nom de « Next Generation Sequencing » ou NGS. Parmi les différentes technologies existantes, trois font parties des plus utilisées : le 454 Roche, l'Illumina et le SOLiD.

Tableau 1: Comparaison des trois plateformes de séquençage haut-débit (454, Illumina, SOLiD)

Plateforme	Librairie	Principe de séquençage	Longueur des reads (pb)	Quantité de données	Temps	Coût par Mb
Roche/454	Fragment/émulsion PCR	Pyroséquençage (par synthèse)	400-1000	1M	24h	84,39\$
Illumina	Fragment/ pont PCR	Par synthèse	500-700	3G	3-10j	5 ,97\$
SOLiD	Fragment/émulsion PCR	Par ligase	50-75	1200-1400M	7-14j	5,81\$

1. 454 Roche ou Pyroséquençage

Il s'agit de la première technologie NGS mise sur le marché. Cette technique fut développée pour la première fois dans les années 1990, mais n'était pas utilisée car elle n'apportait aucun avantage par rapport aux autres techniques de génotypages utilisés. De plus, par rapport à ces techniques, les longueurs de read produites par 454 n'étaient que d'une dizaine de paires de base (pb) comparées aux autres dépassant les 400 à 1000pb (Rothberg and Leamon, 2008). En 2005, Roche commercialise une nouvelle version de cette technologie permettant une grande avancée dans l'étude des métagénomés (Margulies et al., 2005). Cette nouvelle technologie 454 de Roche ou pyroséquençage réalise du séquençage par synthèse. Le pyroséquençage nécessite l'utilisation de diverses enzymes lors du processus de séquençage comme l'ADN polymérase, l'ATP sulfurylase, la luciférase et l'apyrase. Cela nécessite donc la présence dans le milieu réactionnel des substrats de ces enzymes c'est-à-dire l'Adénosine phosphosulfate (APS), la D-luciférine et le brin matrice à séquencer. Le principe du pyroséquençage est le suivant (Figure 1) :

Dans un premier temps, deux courts adaptateurs A et B sont liés aux fragments d'ADN. Ceux-ci fournissent un site d'amorçage pour l'amplification et le séquençage. L'adaptateur B contient un « tag » 5'-biotine qui permettra l'immobilisation des fragments à séquencer. Les fragments d'ADN sont ensuite dénaturés pour être réduits à une forme de simple brin, puis capturés sur des billes magnétiques de 28 μ m de diamètre. Ces billes sont recouvertes de streptavidine qui, en présence de son substrat (la biotine) sur l'adaptateur B, va permettre la fixation des fragments d'ADN sur les billes. Les conditions de fixation des fragments sur les billes favorisent la capture d'un seul fragment par bille. Chaque bille est ensuite isolée et compartimentée dans une gouttelette d'émulsion eau-huile. Chaque gouttelette contient les produits nécessaires pour la réalisation d'amplification par PCR. Ce type d'amplification est nommé émulsion PCR (emPCR). Pendant cette étape, les doubles brins d'ADN formés sur le brin d'ADN matrice sont dénaturés. Ils relâchent ainsi le brin

complémentaire non biotinylé contenant les séquences des deux adaptateurs A et B. Ceux-ci iront se fixer sur un des adaptateurs vides de la bille pour devenir à leur tour un brin matrice. Une fois l'étape d'emPCR terminée, les gouttelettes sont cassées. Pour chaque bille, les brins matrices sont dénaturés, pour qu'au final, chaque bille soit entourée de l'ADN matrice simple brin fixé à sa surface. Les billes ne possédant aucun brin d'ADN fixé sont jetées. Dans un deuxième temps, les billes sont déposées dans les puits d'une plaque Picotiter (qui en possède plus d'un million). Chaque puits ne contient qu'une bille portant un très grand nombre de copies d'un seul fragment d'ADN. Une fois les billes déposées dans un puits, celles-ci sont recouvertes de billes contenant les enzymes nécessaires pour catalyser les étapes de séquençage. Il s'agit des enzymes de pyroséquençage (ATP sulfurylase et luciférase) et des billes de pyrophosphatase. Le tout est centrifugé afin que chaque bille avec ADN soit entourée de billes d'enzymes. Le pyroséquençage en lui même peut enfin commencer. Dans un troisième temps, les réactifs de séquençage contenus dans un tampon sont délivrés par un système de fluide ainsi que les nucléotides qui sont ajoutés un par un par flux successifs. Lorsque un nucléotide est incorporé au brin matrice par l'action de la polymérase, celle-ci entraîne le largage d'un pyrophosphate inorganique (PPi). Le PPi relâché sert de substrat à l'ATP sulfurylase qui produit alors un ATP. La luciférase, en présence d'ATP, va entraîner l'émission de lumière. Après chaque passage d'un nucléotide précis, l'émission de lumière est enregistrée pour chaque puits à l'aide d'un système CCD (Camera Coupling Device). L'intensité lumineuse émise est proportionnelle au nombre de nucléotides incorporés. Après chaque flux de nucléotides, l'apyrase dégrade les nucléotides non incorporés ainsi que l'ATP afin de permettre l'addition d'une nouvelle base différente. Ces étapes de pyroséquençage sont répétées un grand nombre de fois jusqu'au séquençage complet des fragments d'ADN (Ahmadian et al., 2006; Liu et al., 2012; Mardis, 2008; Rothberg and Leamon, 2008; Shendure and Ji, 2008; Shokralla et al., 2012; Zhou et al., 2010).

Au départ, le pyroséquençage permettait de séquencer des fragments de 100-150pb. En 2008, l'un des derniers appareils permettait d'atteindre les 700pb de long. En fin 2014, la société Roche a cessé de produire les appareils et début 2015, la production des produits nécessaires au pyroséquençage a été arrêtée (Ahmadian et al.2006; Mardis, 2008; Rothberg et Leamon ,2008; Shendure et Ji, 2008; Zhou et al. 2010; Liu et al. 2012; Shokralla et al. 2012).

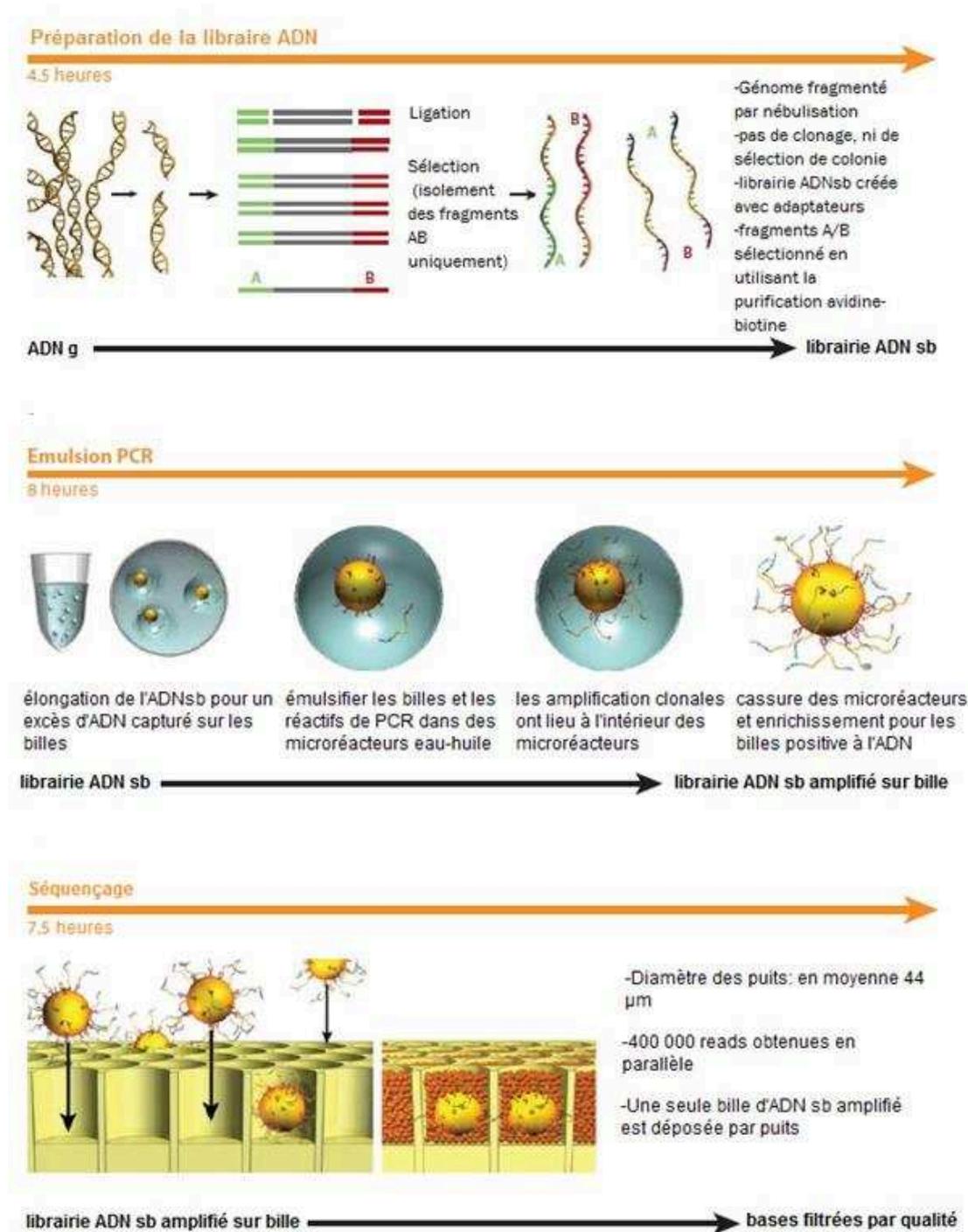


Figure 1: Méthode utilisée par Roche pour amplifier les copies d'ADN simple brin (ADNsb) à partir d'une librairie de fragments sur bille d'agarose. Un mélange de fragments d'ADN avec des billes d'agarose contenant les oligonucléotides complémentaires des adaptateurs en fin de fragments sont mélangés pour un ratio d'environ 1 :1. Le mélange est encapsulé par agitation vigoureuse dans des gouttelettes aqueuses qui contiennent les réactifs PCR entourées par de l'huile, et pipettées dans une plaque microtiter de 96 puits pour l'amplification par PCR. Les billes résultantes sont décorées avec approximativement 1 million de copies du fragment simple brin original, ce qui fournit un signal de force suffisante pendant la réaction de pyroséquençage qui suit pour détecter et identifier les événements d'incorporation de nucléotides (d'après Mardis ,2008).

2. Illumina

La technologie Illumina (précédemment Solexa) est apparue en 2006. Comme le pyroséquençage, il s'agit de séquençage par synthèse, réalisée sur puce. Cette technique permettait de séquencer environ 32 à 40pb (pour les premiers appareils), et jusqu'à 250 à 500 pb (pour les derniers), et ces séquences peuvent être lues dans les deux sens, donnant au final des séquences de 500 à 1000pb. Le séquençage est réalisé sur une puce possédant 8 lignes séparées et dont la surface interne est recouverte d'oligonucléotides attachés de façon covalentes et complémentaires des queues flottantes accrochées aux amorces (Figure 2). Les fragments d'ADN se lient aux oligonucléotides présents sur la puce grâce à une étape de ligation réalisée en chauffant activement puis en refroidissant la puce. La puce est ensuite incubée avec les réactifs et une polymérase isothermale permettant de réaliser une amplification des fragments sur la surface de la puce. Lors de cette amplification, les fragments simples brins immobilisés à la surface de la puce par une de leur extrémité, vont

créer des structures en pont par hybridation de leurs extrémités libres (possédant elles aussi la queue flottante) avec l'oligonucléotide complémentaire de la queue flottante lié au fragment d'ADN. Les adaptateurs à la surface de la puce agissent aussi comme amorces lors de l'amplification par PCR. Les ponts forment des « clusters » contenant un grand nombre de copies (environ 1000) du même fragment. Sur une ligne de la puce, quelques millions de clusters sont présents. A la fin de l'étape d'amplification, les amplicons au sein des clusters sont dénaturés pour devenir simples brins, puis linéarisés. Une amorce de séquençage est alors hybridée sur une des séquences universelles flanquant la région d'intérêt. Le séquençage des fragments d'ADN va pouvoir commencer. Le système Illumina permet d'ajouter simultanément les quatre nucléotides dans les lignes de la puce. L'ADN polymérase permet l'incorporation d'un seul nucléotide complémentaire à la fois sur le fragment matrice. Chaque nucléotide est porteur d'un marqueur fluorescent différent, et leur groupes 3'-OH est chimiquement bloqué afin qu'un seul nucléotide puisse être incorporé à chaque passage de nucléotide. Après incorporation d'un nucléotide sur le brin d'ADN, celui-ci ainsi que sa position sur la puce sont détectés grâce au marqueur fluorescent par une caméra CDD. Le groupement de protection sur le nucléotide incorporé est ensuite photoclivé par lumière ultraviolette (supérieure à 300nm). Cela restaure ainsi le groupement fonctionnel du nucléotide nouvellement ajouté et permet l'incorporation d'une nouvelle base azotée lors du passage suivant des quatre autres. Pour finir, le marqueur fluorescent est clivé chimiquement. Les étapes de séquençage sont répétées jusqu'à séquençage complet du fragment d'ADN (Liu et al., 2012; Mardis, 2008; Shendure and Ji, 2008; Shokralla et al., 2012; Thomas et al., 2012; Zhou et al., 2010).

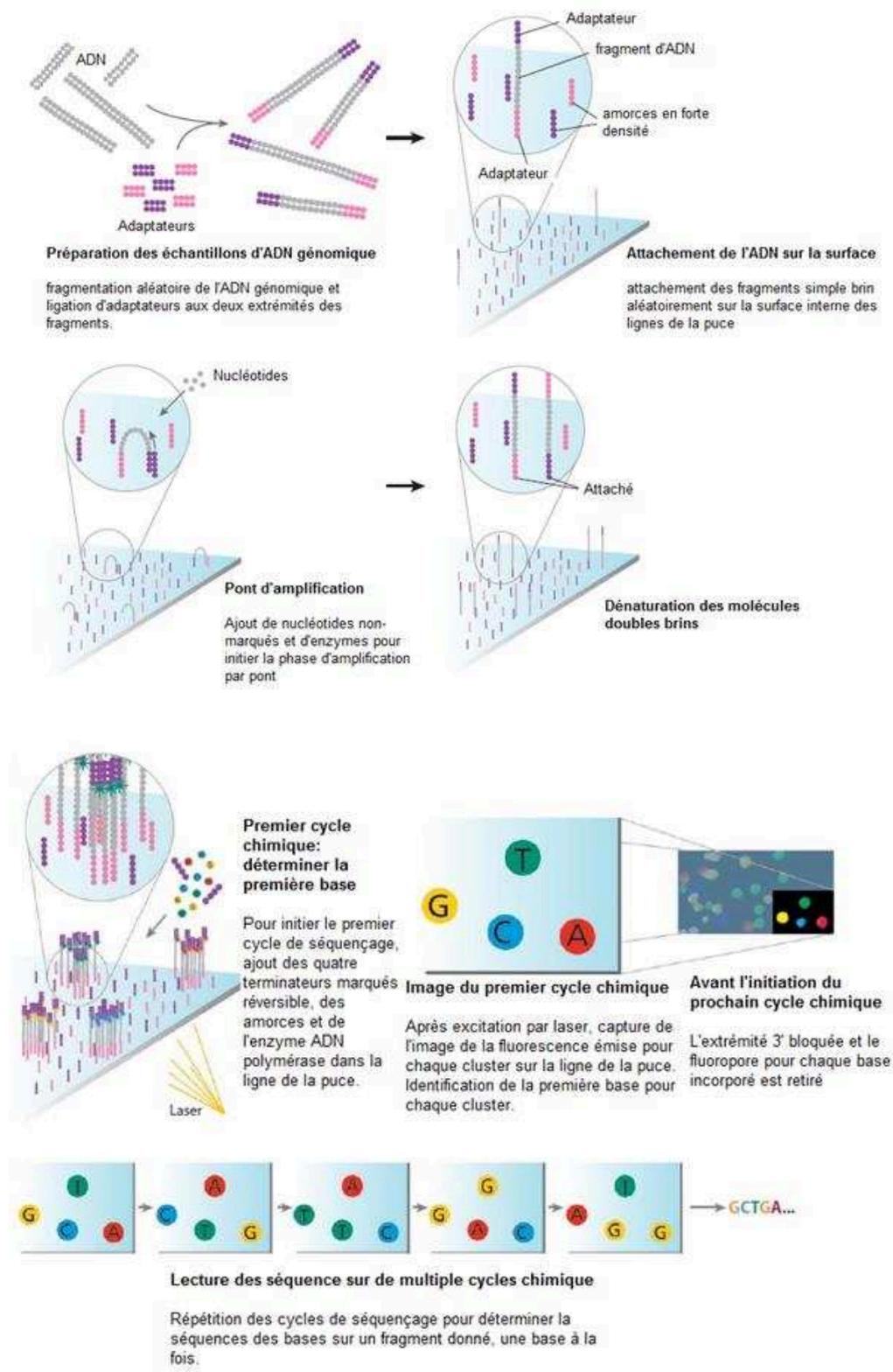


Figure 2: Le séquençage Illumina par synthèse. La création de clusters par pont d'amplification est amorcée et les quatre nucléotides marqués par fluorescence et bloqués en 3'OH sont ajoutés dans les lignes de la cellule avec l'ADN polymérase. Un nucléotide est

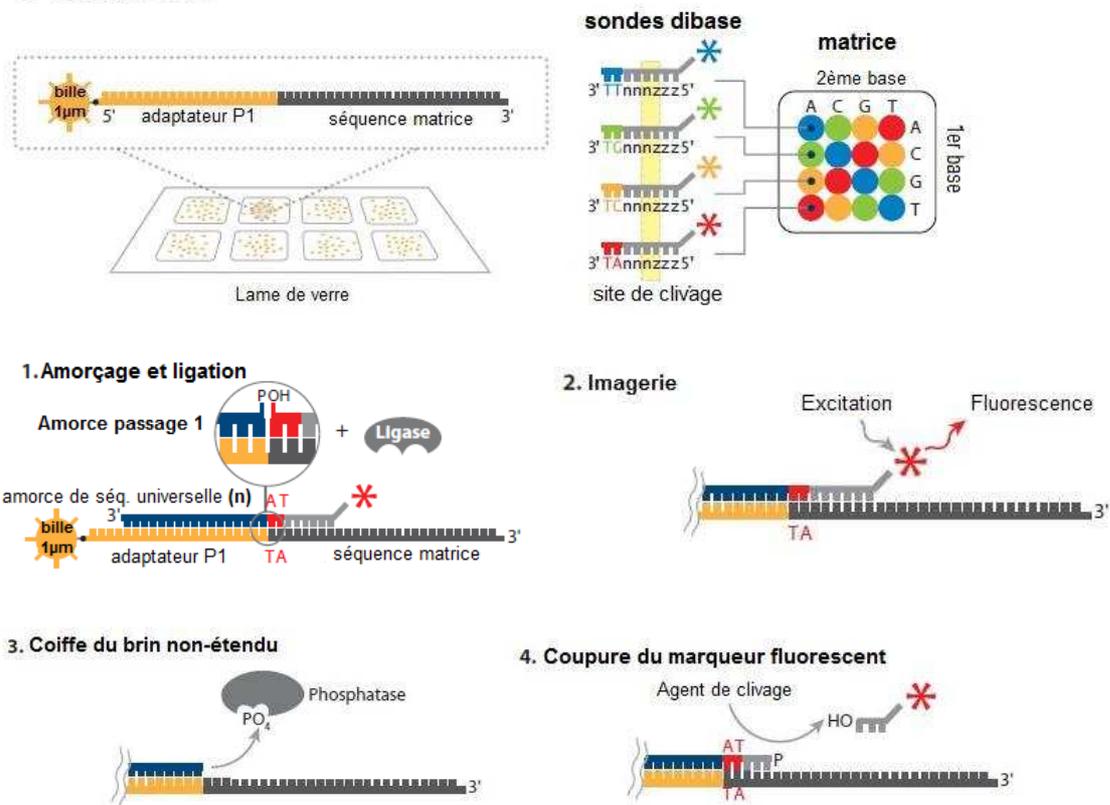
ajouté aux clusters. Après l'étape d'incorporation, les nucléotides non-utilisés et les molécules d'ADN polymérase sont lavés et retirés, un tampon de scannage est ajouté dans les lignes de la cellule, et le système d'optique scanne chaque ligne de la cellule. Une fois l'imagerie complétée, il y a addition sur la cellule de produits permettant de cliver chimiquement les marqueurs fluorescents et le groupe bloquant le 3'OH, ce qui prépare les clusters pour un autre cycle d'incorporation de nucléotides fluorescents (d'après Mardis ,2008).

3. SOLiD

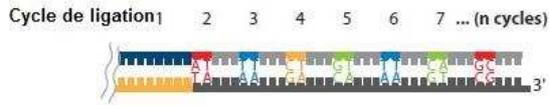
La technologie SOLiD pour « Sequencing by Oligo Ligation and Detection » a été introduite en 2007 par Applied Biosystems (Life Technologies). Il s'agit d'un processus de séquençage catalysé non pas par une polymérase mais par une ADN ligase (Figur 3). Comme pour les deux techniques précédentes, l'ADN d'intérêt est lié à un adaptateur oligonucléotidique, dont les oligonucléotides complémentaires sont immobilisés à la surface de billes magnétiques de 1µm de diamètre. Chaque bille est ensuite amplifiée par emPCR. Une fois celle-ci terminée, le brin matrice est dénaturé et subit une modification en 3' permettant la liaison covalente sur une lame de verre. La méthode de séquençage est basée sur la ligation séquentielle d'oligonucléotides marqués. Dans un premier temps, une amorce de séquençage universel est hybridé sur l'adaptateur au sein du brin matrice. Les oligonucléotides utilisés sont des octamères dont les bases 1 et 2 sont connues, et le marqueur fluorescent positionné à la fin de l'octamère diffère selon les 2 bases connues. Dans un second temps, un groupe de quatre octamères est ajouté avec l'ADN ligase. Quand un octamère est reconnu, il s'hybride au brin matrice de l'ADN et l'ADN ligase le lie au squelette phosphate. Après ligation, une détection de l'octamère ajouté est réalisée grâce au marqueur fluorescent présent, permettant de connaître les nucléotides en première et deuxième position. Tout de suite après a lieu une étape de clivage des bases de la position 6 à 8. Le marqueur fluorescent

est retiré permettant un nouveau passage d'octamères. Les cycles progressifs de ligations d'octamères permettent le séquençage de la totalité du fragment en 5 ou 7 cycles selon qu'il s'agit d'un fragment de 25 ou 35 pb. Les nucléotides dépassant du fragment sont dénaturés et lavés. A la fin des cycles, le fragment qui a été séquençé est retiré et l'amorce est alors positionnée en n-1 sur le brin matrice, et le fragment est a nouveau séquençé. A nouveau, au bout de 5 ou 7 cycles, le brin créé est retiré et l'amorce positionnée en n-2, puis n-3 et enfin n-4. Au final, chaque base a été séquençée deux fois, permettant de plus facilement identifier les erreurs de séquençage. Avec le système SOLiD, deux lames peuvent être séquençées simultanément. Quand la première lame reçoit les octamères, sur la deuxième, la fluorescence est enregistrée. Cette technique permet de diminuer de façon importante les erreurs de séquençage mais par contre, ne permet le séquençage que de fragments de 50 à 75 pb (Liu et al., 2012; Mardis, 2008; Shendure and Ji, 2008; Shokralla et al., 2012).

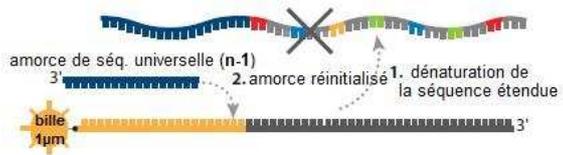
a substrat SOLiD™



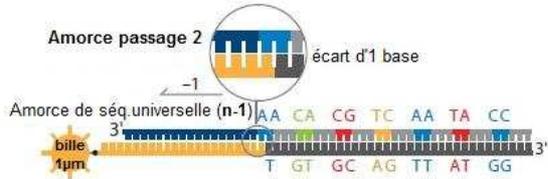
5. Répétition des étapes 1-4 pour l'extension de la séquence



6. Réinitialisation de l'amorce



7. Répétition des étapes 1-5 avec la nouvelle amorce



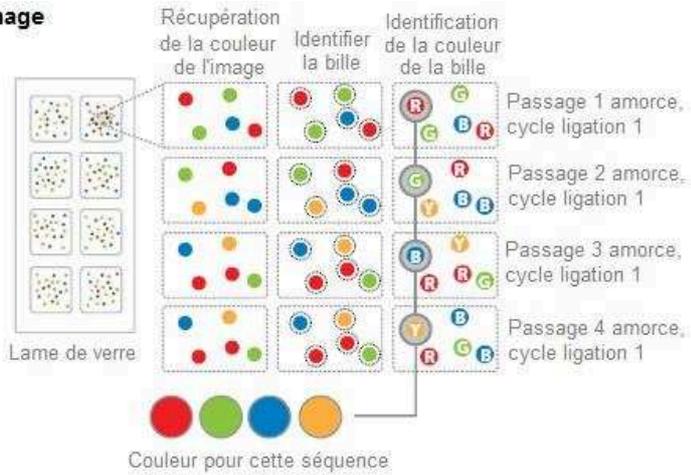
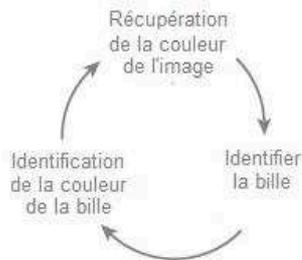
8. Répétition de la réinitialisation avec amorce en n-2, n-3, n-4

		Position de lecture																																			
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
Passage de l'amorce	1	Amorce de séq. universelle (n) 3'																																			
	2	Amorce de séq. universelle (n-1) 3'																																			
	3	Amorce de séq. universelle (n-2) 3'																																			
	4	Amorce de séq. universelle (n-3) 3'																																			
	5	Amorce de séq. universelle (n-4) 3'																																			

● Indication de la positions interrogée

Cycle de ligation 1 2 3 4 5 6 7

b Récupération des données et analyse d'image



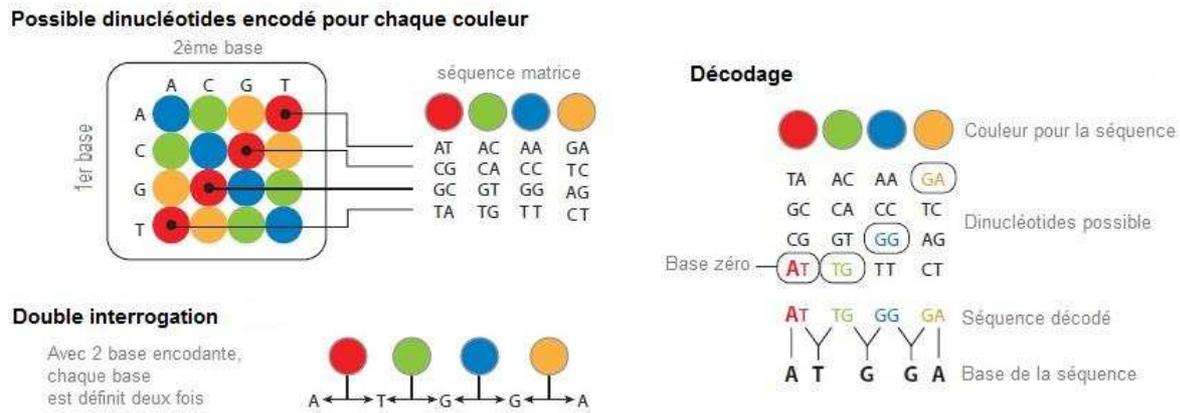


Figure 3 : (a) Séquençage médié par ligase du séquenceur SOLiD de Applied Biosystème. D'une manière similaire à l'émulsion PCR de Roche/454, les fragments d'ADN du séquençage par SOLiD sont amplifiés à la surface de billes magnétiques de 1µm pour fournir suffisamment de signal pendant les réactions de séquençage. Elles sont ensuite déposées sur lame de verre qui constitue la cellule. Le séquençage médié par ligase commence par l'hybridation d'une amorce partageant les séquences de l'adaptateur sur chaque fragment amplifié. Ensuite l'ADN ligase est fournie avec des octamères marqués par un fluorochrome spécifique, dont les bases 4 et 5 sont encodées par le groupe fluorescent attaché. Chaque étape de ligation est suivie par une détection de la fluorescence. Ensuite, une étape de régénération retire les bases de l'octamère ligué (incluant le groupe fluorescent) et prépare en même temps l'amorce étendue pour un autre tour de ligation. (b) Principe de l'encodage par 2 bases. Comme chaque groupe fluorescent est lié à un octamère dont la combinaison de 2 bases est identifiée, la lecture de la séquence résultante peut être triée par erreur de base versus vrai polymorphisme versus délétion d'une seule base en alignant les lectures individuelles à une séquence de référence de haute qualité (d'après Mardis ,2008).