

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

DIVERSITÉ MICROBIENNE ET MULTIFONCTIONNALITÉ
DES ÉCOSYSTÈMES FORESTIERS BORÉAUX DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ
COMME EXIGENCE PARTIELLE DE LA
MAÎTRISE EN SCIENCES DE L'ENVIRONNEMENT

PAR
ROXANNE GIGUÈRE-TREMBLAY

JUIN 2020

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

*À mes parents
qui me donnent la force et les encouragements
de réussir tout ce que j'entreprends*

*La vie n'est facile pour aucun de nous.
Mais quoi, il faut avoir de la persévérance,
et surtout de la confiance en soi. [...]*

- Marie Curie

REMERCIEMENTS

Je souhaite remercier très sincèrement mes deux directeurs de recherche, Vincent Maire et Hugo Germain pour m'avoir fait confiance pour mener à bien ce gros projet de maîtrise. Je remercie Vincent pour les nombreuses discussions qui m'ont permis d'alimenter ma pensée critique et scientifique et pour le soutien émotionnel durant tout ce parcours qui n'a pas été de tout repos. Je remercie Hugo de m'avoir permis de vivre plusieurs expériences en lien avec ma formation d'étudiante de 2^e cycle, comme la participation à un congrès international ainsi qu'une formation professionnelle sur les champignons comestibles. J'oublie sans doute d'autres raisons pour lesquels je tiens à vous remercier, mais merci! Je tiens également à remercier François Guillemette, membre sur mon comité d'orientation, pour m'avoir aidé sans hésitation durant les analyses de colorimétrie puis pour les discussions sur l'avancement de mon projet. Je souhaite également remercier ma collègue et amie, Geneviève Laperrière, pour les nombreuses questions, aides et inquiétudes auxquelles tu as toujours si gentiment répondu, pour m'avoir fait connaître le merveilleux monde des champignons comestibles puis pour les nombreuses discussions « vides cœurs ». Je n'aurais pu demander une meilleure personne avec qui réaliser conjointement ce projet.

Je souhaite aussi remercier chaleureusement mon conjoint, mon amoureux, Arthur de Grandpré, pour tout le soutien moral ainsi que la grande confiance qu'il me porte et qui me permet de me dépasser en tant que Femme en Sciences ainsi qu'à tous les jours de notre vie. Je remercie tout aussi chaleureusement mes parents, Sophie et Yves, pour leurs nombreux encouragements et de m'avoir transmis la force et la persévérance que j'ai aujourd'hui qui me permet de réussir ce que j'entreprends. Je les remercie aussi pour toute l'adaptation à laquelle ils ont, eux aussi, eu à vivre lorsque j'ai décidé de poursuivre des études universitaires. Je remercie également mon frère, ma marraine et mes grands-parents pour les nombreux encouragements tout au long de mon parcours scolaire. Je tiens aussi à remercier mes beaux-parents, Chantal et François, pour tous les petits gestes qu'ils réalisent au quotidien et qui aident grandement à notre bien-être.

Merci du fond du cœur!

RÉSUMÉ

La forêt boréale représente près du tiers des forêts mondiales et est un important puits de CO₂ atmosphérique. La captation de ce CO₂ fait partie des multiples fonctions écosystémiques qu'apporte simultanément cet écosystème boréal aux sociétés humaines. La compréhension des facteurs contrôlant cette multifonctionnalité de l'écosystème est essentielle afin de pouvoir effectuer des efforts de conservation efficace des ressources naturelles. Les micro-organismes sont omniprésents dans les sols et plusieurs chercheurs semblent démontrer qu'ils ont un rôle clé dans le maintien de la multifonctionnalité participant à la décomposition et à la minéralisation de la matière organique des sols, entre autres. Plusieurs études ont démontré que la multifonctionnalité est soutenue par la biodiversité microbienne principalement dans les écosystèmes arides et tempérés. Cependant, une seule étude à ce jour s'est concentrée sur l'écosystème boréal et montrait un faible rôle de la diversité microbienne. Le premier objectif de l'étude est de tester et généraliser l'existence de la relation entre la diversité des micro-organismes (richesse et composition) et la multifonctionnalité des écosystèmes forestiers boréaux. Le second objectif est de déterminer si le potentiel d'hydrogène et d'oxydoréduction des sols sont des facteurs directs de la multifonctionnalité des écosystèmes ou indirects via la modulation de la diversité microbienne, comme cela a été montré fréquemment dans la littérature. Pour parvenir à caractériser l'écosystème boréal, plusieurs mesures en laboratoire ont été réalisées sur des sols en provenance de l'Abitibi-Témiscamingue (115 sites) et de la Haute-Mauricie (50 sites). Des valeurs en lien avec le cycle de l'azote, du carbone et du phosphore ont été mesurées ainsi que des analyses de photos et d'imagerie satellitaire comme indicateur de la productivité primaire. De la métagénomique a été effectuée sur des échantillons de sols afin de pouvoir obtenir une représentation des espèces de bactéries et de champignons présents sur chacune des parcelles. Puis, des variables abiotiques telles que le pH, Eh, % matière organique ou encore la température ont été mesurés ou tirés de base de données. Des modèles d'analyse de pistes ont été utilisés afin de bien comprendre les effets de causalité. Similairement aux études précédentes, cette étude montre une relation positive entre la diversité microbienne et la multifonctionnalité des écosystèmes. Dans notre étude, une diversité élevée entraînait une augmentation de la productivité primaire et de l'activité enzymatique de recyclage des nutriments du sol ainsi qu'une diminution de l'émission des gaz à effet de serre par unité de matière organique des sols. Notre étude a spécifiquement montré que la diversité bêta des bactéries et la quantité de matière organique des sols étaient les deux facteurs les plus importants agissant sur la multifonctionnalité des forêts boréales. Toutefois, le rôle positif direct de la diversité était d'une importance relativement faible en comparaison avec le rôle négatif de la quantité de matière organique des sols. Ce dernier est bien connu en écosystème boréal et réfère au phénomène de paludification, où plus il y a une accumulation importante de matière organique au sol, plus la végétation se trouve loin des nutriments provenant de la roche-mère et de la nappe phréatique et limite alors la productivité. La richesse spécifique fongique était principalement déterminée par le Eh tandis que la diversité bêta des bactéries était déterminée principalement par le pH. Cela suggère que ces deux types de micro-organismes n'occupent pas les mêmes niches écologiques. De plus, le pH et le Eh ont d'importants effets indirects sur la multifonctionnalité en régulant la présence de l'un ou l'autre de ces micro-organismes. La matière organique, le pH et le Eh sont ainsi des facteurs abiotiques clés dans la régulation du fonctionnement écosystémique forestier boréal.

Mots-clés : bactéries; BEF; champignons; Eh; forêt boréale; multifonctionnalité; pH

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iv
RÉSUMÉ.....	v
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES FIGURES	xi
 CHAPITRE I	
INTRODUCTION.....	1
1.1 Problématique.....	1
1.2 Objectifs détaillés et prédictions.....	5
1.3 Références.....	7
 CHAPITRE II	
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE	10
2.1 La multifonctionnalité et ses indices	10
2.2 Biodiversité microbienne.....	12
2.2.1 Les champignons	13
2.2.2 Les bactéries	15
2.3 Indices de biodiversité microbienne	17
2.3.1 La diversité alpha (α).....	18
2.3.2 La diversité bêta (β).....	22
2.4 Description de l'habitat.....	26
2.5 Potentiel hydrogène (pH), redox (Eh) et fonctions écologiques.....	28
2.6 Potentiel hydrogène, biodiversité et théorie du pool d'espèces régional.....	30
2.7 Références.....	32
 CHAPITRE III – ARTICLE SCIENTIFIQUE 1.....	37
BOREAL FOREST MULTIFUNCTIONALITY IS PROMOTED BY LOW SOIL ORGANIC MATTER CONTENT AND HIGH REGIONAL BACTERIAL BIODIVERSITY IN NORTH-EASTERN CANADA.....	37
3.1 Contribution des auteurs.....	37
3.2 Résumé de l'article	38

3.3	Article complet en anglais : Boreal forest multifunctionality is promoted by low soil organic matter content and high regional bacterial biodiversity in North-Eastern Canada.....	39
	Abstract.....	39
	Introduction.....	39
	Materials and methods	42
	Study sites	42
	Forest polygons Sampling	43
	Abiotic measurements.....	43
	Ecosystem functions	44
	Extraction and PCR amplification	47
	Multifunctionality and microbial diversity indexes.....	47
	Statistical analysis.....	48
	Results	49
	Dimensions of the ecosystem functioning	49
	Response of ecosystem functioning dimensions to microbial biodiversity	50
	Causal effects of biodiversity and environment on ecosystem functioning	53
	Microbial biodiversity and the multifunctionality of boreal forests	55
	Discussion.....	57
	Multifunctionality and microbial diversity	58
	A predominant role of the environment on ecosystem multifunctionality.....	59
	Environmental role in determination of microbial biodiversity	60
	Conclusion	61
	Supplementary Materials	62
	References.....	63
	CHAPITRE IV	
	AUTRES ASPECTS DU PROJET ET CONCLUSION	68
4.1	Autres résultats intéressants à explorer.....	68
4.1.1	Composition bactérienne du sol de la forêt boréale Québécoise	68
4.1.2	Séparation régionale de la diversité	70

4.1.3	Groupements fonctionnels fongiques et multifonctionnalité.....	75
4.2	Forêt multifonctionnelle vs non-multifonctionnelle.....	80
4.3	Pourquoi est-ce que la relation diversité microbienne – multifonctionnalité est particulièrement faible dans les écosystèmes boréaux?.....	82
4.4	Limites et améliorations du projet	83
4.4.1	Campagne d'échantillonnage.....	83
4.4.2	Composantes abiotique et biotiques	84
4.5	Conclusion	89
4.6	Références.....	91
ANNEX A – ARTICLE SCIENTIFIQUE 2		
ESTIMATION OF FUNGAL DIVERSITY AND IDENTIFICATION OF MAJOR ABIOTIC DRIVERS INFLUENCING FUNGAL RICHNESS AND COMMUNITIES IN NORTHERN TEMPERATE AND BOREAL QUEBEC FORESTS		92
Authors contribution		92
Abstract		93
Introduction		94
Materials and Methods.....		95
Study Sites and Soil Sampling.....		95
Clustering of Sites into Climatic Domains		97
Site Characterization.....		98
Soil Analyses		99
Soil DNA Extraction, Amplification, and Sequencing.....		99
Bioinformatic Analysis.....		100
Statistical Analysis.....		101
Results		102
Taxonomic Diversity		102
Fungal Richness.....		103
Fungal Community Composition		106
Discussion		111
Fungal Diversity in Temperate and Boreal Quebec Forest		111
Abiotic Drivers of Fungal Richness		112
Drivers of Fungal Community Composition		115

Conclusion	117
References.....	118

ANNEX B

AFFICHE SCIENTIFIQUE PRÉSENTÉ EN 2018 AU <i>NORTHEAST NATURAL HISTORY CONFERENCE</i>, BURLINGTON, USA.....	129
---	------------

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Page
<u>Chapitre II</u>	
2.1 Comparaison des anciennes méthodes d'analyses de la multifonctionnalité des écosystèmes et présentation de celle qui devrait maintenant être utilisée (Tiré de Byrnes <i>et al.</i> , 2014)	12
2.2 Synthèse des différents indices de biodiversité utilisés dans la littérature.....	22
2.3 Synthèse des différentes équations les plus couramment utilisées permettant de calculer un indice de diversité β (Tiré du recensement effectué par Koleff <i>et al.</i> , 2003)	26
<u>Chapitre III</u>	
1. Description of abiotic variables	44
2. Description of ecosystem functioning variables	46

LISTE DES FIGURES

Figure	Page
<u>Chapitre I</u>	
1.1 Graphiques de la relation BEF avec (A) les plantes de 777 126 forêts autour du globe et (B) la diversité microbienne de 224 sites situés mondialement dans différents types de milieux arides avec un indice d'aridité se situant entre 0.05 et 0.65. (Tirés des articles de Liang <i>et al.</i> , 2016 et de Delgado-Baquerizo <i>et al.</i> , 2016.)	3
1.2 Schéma conceptuel des objectifs et prédictions du projet.....	7
<u>Chapitre II</u>	
2.1 Principales fonctions des champignons dans les écosystèmes : (a) humicole, (b) saprophytes de la litière, (c) saprophyte lignicole, (d) parasites, (e) mycorhizien. (Tirée de Gobat <i>et al.</i> , 2010.).....	14
2.2 Schéma conceptuel des mécanismes par lesquels la diversité locale influence la multifonctionnalité. (Tiré de Loreau <i>et al.</i> , 2001.).....	19
2.3 Schéma conceptuel d'une communauté microbienne (pouvant différer d'une parcelle à l'autre) contenant des espèces généralement abondantes et ubiquistes, des espèces plutôt généralistes spécialistes puis plusieurs espèces rares très spécialisées à certains types de micro-écosystèmes qui diffèrent souvent à chaque parcelle.....	25
2.4 Diagramme de Pourbaix représentant la présence des différentes formes d'azote dans le sol dépendamment de son Eh et de son pH. (Tiré de Husson, 2013.).....	29
2.5 Disponibilité des différents minéraux essentiels du vivant en fonction du pH de la solution du sol (Truog, 1944)	30
<u>Chapitre III</u>	
1 PCA of ecosystem functions measured in the boreal forest to perform a grouping	50
2 Relations between fungal α and β biodiversity and the ecosystem functions analyzed by GLM and a Gaussian law grouped with PCA axes.....	51

3	Relations between bacterial α and β biodiversity and the ecosystem functions analyzed by GLM and a Gaussian law grouped with PCA axes.....	52
4	Causal relationships between abiotic variables, fungal diversity and ecosystem functioning.....	53
5	Causal relationships between abiotic variables, bacterial diversity and ecosystem functioning.....	54
6	Key predictors of multifunctionality	56
7	Causal relationships between abiotic variables, microbial diversity and multifunctionality.....	57

Chapitre IV

4.1	Abondance et Composition des phylotypes de bactéries dominantes mondialement. (Tirée de Delgado-Baquerizo <i>et al.</i> , 2018.).....	68
4.2	Abondance relative des différents phylotypes bactériens de la forêt boréale du Québec.....	69
4.3	Abondance relative des Protéobactéries et des Acidobactéries, les deux phylums les plus abondants dans nos sols, et l'abondance relative de tous les autres phylums	70
4.4	Carte des parcelles des polygones forestiers échantillonnés en 2017 en forêt boréale au Québec, plus précisément en Abitibi-Témiscamingue (juin-juillet) et en Haute-Mauricie (septembre-octobre)	71
4.5	Modèle linéaire généralisé entre les différents groupements de fonctions écosystémiques et la richesse spécifique (a-d) et la diversité Sorensen (e-h) des champignons selon une famille de distribution gaussienne.....	72
4.6	Modèle linéaire généralisé entre les différents groupements de fonctions écosystémiques et la richesse spécifique (a-d) et la diversité Sorensen (e-h) des bactéries selon une famille de distribution gaussienne	74
4.7	Prédicteurs clés de la multifonctionnalité. Analyse en arbres de décisions randomisée (RandomForest) entre la multifonctionnalité et les variables biotiques et abiotiques.....	76
4.8	SEM des groupements fonctionnels fongiques en forêt boréale. Relations causales entre les variables abiotiques de l'environnement, la diversité α fongique séparée en groupes fonctionnels et la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux du Québec.....	77

4.9	SEM des groupements fonctionnels fongiques en forêt boréale. Relations causales entre les variables abiotiques de l'environnement, la diversité β fongique séparée en groupes fonctionnels et la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux du Québec.....	79
4.10	Carte des points GPS des parcelles classer selon si les peuplements échantillonnés sont peu (blanc), moyen (bleu pâle) ou fortement multifonctionnelle (bleu foncé).....	81
4.11	À quoi ressemble une forêt qui est multifonctionnelle : a) très multifonctionnelle, b) dans la moyenne et c) faiblement.....	82
4.12	Schéma permettant d'expliquer comment les communautés microbiennes peuvent changer à la suite d'une perturbation de leur environnement (Tiré de Allison <i>et al.</i> , 2008.).....	88

CHAPITRE I

INTRODUCTION

1.1 Problématique

La forêt boréale représente près du tiers des forêts mondiales et le biome boréal recouvre environ 11 % de la superficie terrestre (Kuusela, 1992; Clemmensen *et al.*, 2013). Par sa large distribution, la forêt boréale est considérée comme étant un puits de CO₂ pouvant capter de 87 à 105 PgC y⁻¹ et 198 à 271 PgC y⁻¹ dans la biomasse végétale et dans les sols respectivement (Bradshaw et Warkentin, 2015). Cette caractéristique est possiblement due à l'expansion de la forêt boréale à la suite de la dernière glaciation, mais qui semble toutefois tendre vers un flux de carbone neutre ou encore devenir une source d'émission (Bradshaw et Warkentin, 2015).

La captation de carbone fait partie des services écosystémiques que nous offrent les écosystèmes forestiers boréaux. Ces services sont maintenus grâce à de multiples fonctions permettant la régulation et le soutien des écosystèmes (FAO, 2018). Les services culturels (avantages immatériels) et d'approvisionnement (produits alimentaires, ressources médicinales, etc.) en sont d'autres qui sont essentiels aux populations humaines (FAO, 2018). Plus précisément, les services de régulation maintiennent, par exemple, la qualité de l'air, la pollinisation et le stockage de carbone. Les services de soutien sont les fonctions permettant le maintien d'une diversité génétique et d'une diversité d'habitat pour la biodiversité des espèces. Ainsi en Suède où la forêt boréale représente 51 % de la surface du territoire, six fonctions (production de bois, stockage du carbone dans le sol, production de petits fruits, potentiel de production de chasse, réservoir de biodiversité d'espèces de sous-bois et occurrence de bois mort pour la production secondaire) ont été clairement définies et suivies à travers 4500 parcelles permanentes et se répartissent dans les services de régulation, d'approvisionnement alimentaire et de services culturels (Gamfeldt *et al.*, 2013). Les multiples fonctions et services qu'apportent simultanément

un écosystème sont représentés par le terme multifonctionnalité (Hector et Bagchi, 2007; Cardinale *et al.*, 2011). Ce terme synthétise un espace multidimensionnel où chaque fonction écosystémique peut varier indépendamment des autres ou covarier avec d'autres fonctions le long d'une unique dimension de manière positive ou négative. Il intègre ainsi la notion de compromis fonctionnel, où l'augmentation d'une fonction/un service écosystémique se fait aux dépens d'une/un autre. En forêt boréale, Gamfeldt *et al.* (2016) ont par exemple montré qu'une production forestière des épicéas se faisait aux dépens de la production de petits fruits et du potentiel de production de chasse. Le terme multifonctionnalité devra alors définir le niveau où ces fonctions seront en moyenne co-optimisées.

De toutes les diverses fonctions écosystémiques, la productivité des plantes et le recyclage des nutriments sont parmi les plus importants pour soutenir le bien-être humain (Díaz *et al.*, 2006). Les forêts boréales sont caractérisées par une relative faible productivité, limitée entre autres, par la disponibilité en azote (Högberg *et al.*, 2017) et l'accumulation de la matière organique peu décomposée qui éloigne les racines des minéraux de la roche-mère (c'est-à-dire la paludification; Paquette et Messier, 2011; Renard *et al.*, 2016). Elles sont aussi caractérisées par une faible décomposition et une capacité à stocker sur le long terme la biomasse végétale. Elles sont enfin caractérisées par une forte capacité à accumuler de la chaleur compte tenu de leur canopée dense et sombre, une fonction particulièrement importante dans le contexte du changement climatique (Jarvis *et al.*, 2001). Comprendre les facteurs contrôlant les multiples fonctions liées à la productivité végétale et le cycle des nutriments ainsi que leur « co-optimisation » est, par conséquent, essentiel pour préserver et gérer les ressources naturelles et humaines dans un environnement en évolution.

Les multiples fonctions d'un écosystème semblent être soutenues par la biodiversité qu'ils abritent (Ratcliffe *et al.*, 2017). Ces observations sont réalisées depuis les vingt dernières années en milieux contrôlés et en milieux naturels avec les végétaux et la diversité microbienne (Wang *et al.*, 2007; Steinauer *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2016). Dans la littérature, la relation entre la biodiversité et les fonctions écosystémiques

a pour acronyme BEF (*Biodiversity-Ecosystem Functioning*). De nombreuses preuves expérimentales dans des écosystèmes prairiaux et forestiers ont démontré que cette relation est saturante chez les plantes (Figure 1.1A; Paquette et Messier, 2011; Liang *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2016; Grâce *et al.*, 2016). Ainsi, le fonctionnement de l'écosystème, en utilisant la productivité comme indicateur, augmentera rapidement au début du gradient de biodiversité. Cette augmentation ralentira rapidement à des niveaux intermédiaires du gradient, puis atteindra un plateau saturant à des niveaux élevés du gradient. Cela signifie que dans les écosystèmes riches en espèces, une perte de diversité n'entraînera peu ou pas de modification(s) du fonctionnement de l'écosystème contrairement aux écosystèmes pauvres en espèces qui verront leur productivité diminuée (Liang *et al.*, 2016). Au contraire des végétaux, il semblerait que cette relation soit linéaire chez les micro-organismes (Figure 1.1B; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016). Ce résultat est majeur, car il indique d'une part que chaque perte de diversité entraîne une perte de fonctionnement de l'écosystème, et ainsi que la perte de diversité a des conséquences partout sur la planète. D'autre part, elle est également majeure pour tous les gestionnaires des écosystèmes qui tentent de préserver la biodiversité et que chaque gain d'espèces promouvra la multifonctionnalité du système.

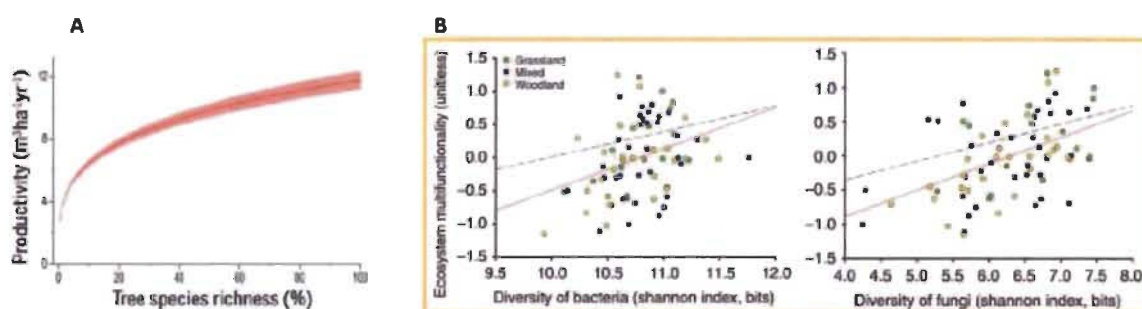


Figure 1.1 Graphiques de la relation BEF avec (A) les plantes de 777 126 forêts autour du globe et (B) la diversité microbienne de 224 sites situés mondialement dans différents types de milieux arides avec un indice d'aridité se situant entre 0.05 et 0.65. (Tirés des articles de Liang *et al.*, 2016 et de Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016.)

Par son omniprésence, la diversité microbienne du sol possède un rôle clé dans le maintien de la multifonctionnalité de l'écosystème sur les processus tels que la décomposition de la litière et la minéralisation de la matière organique

(Bertrand *et al.*, 2011), qui permettent le transfert de matière et d'énergie entre les communautés au-dessus et au-dessous du sol (Hooper *et al.*, 2000; Wardle *et al.*, 2004). Si cette relation se confirme, il est alors nécessaire de comprendre ce qui module la biodiversité à l'échelle locale afin de pouvoir bénéficier de son effet sur la multifonctionnalité de l'écosystème. Parmi les variables de l'habitat modulant la biodiversité des micro-organismes, le potentiel hydrogène (pH) du sol apparaît comme une variable primordiale selon plusieurs études dans la littérature (Fierer et Jackson, 2006; Lauber *et al.*, 2009; Soliveres *et al.*, 2014; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018). La relation entre la diversité microbienne et le pH présente principalement une forme quadratique avec un optimum tournant autour de $\text{pH} = 7$ (Lauber *et al.*, 2009). Cependant, la littérature ne semble pas encore très claire sur ce qui a construit cette relation. Le pH du sol est une variable physico-chimique qui contrôle la vitesse des réactions enzymatiques se déroulant dans le sol, modulant les fonctions écosystémiques, telles que la biomasse microbienne (Serna-Chavez *et al.*, 2013), la décomposition de la litière (Ste-Marie et Pare, 1999), le recyclage des nutriments (Husson, 2013), mais également la productivité primaire (Maire *et al.*, 2015). Dissocier le rôle direct de l'environnement physique versus son rôle indirect via la régulation de la biodiversité microbienne est essentiel pour comprendre la régulation de la multifonctionnalité des écosystèmes, et particulièrement les forêts boréales.

Une étude réalisée en 2019 en Chine a mis en évidence les effets positifs de l'humidité, du pH du sol ainsi que l'effet direct de la composition des communautés fongiques sur la multifonctionnalité de l'écosystème forestier, tandis que les bactéries (composition et richesse spécifique) n'avaient pas d'effet (Li *et al.*, 2019). Plus précisément, à l'aide d'un modèle *random forest*, ils montrent que l'environnement explique en majorité la variation de la multifonctionnalité, tandis que la diversité fongique avait un rôle mineur (Li *et al.*, 2019). Il n'est cependant pas clair si ce faible rôle de la biodiversité microbienne est contexte dépendant ou s'il s'agit d'un résultat généralisable. Cette étude se déroulait dans l'écozone paléarctique proche de la limite Sud du biome boréale dans un contexte où la dernière glaciation remonte à plusieurs millions d'années. Mis à part cette étude, à ma connaissance, il n'y a pas d'autres études sur le lien entre

multifonctionnalité et biodiversité en forêt boréale. Afin de tester l'universalité de cette relation positive entre la biodiversité et la multifonctionnalité, il serait intéressant de la confronter dans un contexte régional détenant un réservoir différent de biodiversité et une régulation différente des fonctions écosystémiques.

1.2 Objectifs détaillés et prédictions

L'objectif principal de ce mémoire est de mieux comprendre les déterminismes biotiques et abiotiques de la multifonctionnalité des forêts boréales en Amérique du Nord-Est. Le premier objectif de l'étude est de tester l'existence de la relation positive entre la biodiversité des micro-organismes du sol et la multifonctionnalité des écosystèmes forestiers boréaux. Bien que cette relation ait récemment été étudiée en Chine en écozone paléarctique (Li *et al.*, 2019), elle n'a jamais été testée en écozone néarctique et particulièrement dans un contexte régional acide et relativement jeune comme l'on retrouve au Québec sur le Bouclier canadien. Notre étude permettra une comparaison entre ces deux milieux boréaux.

Plusieurs hypothèses sont formulées :

- (1) Il existe une relation positive entre la biodiversité microbienne et la multifonctionnalité de l'écosystème. Plus la diversité augmente, plus il y a de chance qu'elle contienne une espèce permettant d'augmenter l'efficacité d'une fonction de l'écosystème, ou alors un groupe d'espèces qui augmente la complémentarité de l'utilisation des ressources dans l'espace et dans le temps et l'efficacité d'une fonction de l'écosystème.
- (2) Il n'existe pas de relation entre la biodiversité microbienne et la multifonctionnalité de l'écosystème. Cela peut arriver si (i) les fonctions écosystémiques sont soutenues par des facteurs aléatoires, c'est-à-dire les micro-organismes sont présents et diversifiés, mais leur contribution au fonctionnement de l'écosystème est redondante et une augmentation de la biodiversité ne signifie pas une augmentation de la multifonctionnalité;

(ii) si un seul groupe (ou quelques-uns) de bactéries ou de champignons soit le/les pilier(s) de la multifonctionnalité de l'écosystème et que les autres groupes présents ne font que profiter de la disponibilité d'une niche écologique; (iii) si les facteurs édaphiques du sol aient davantage d'effet sur les fonctions de l'écosystème que dans les climats tempérés, arides et semi-arides où les micro-organismes du sol ont longtemps co-évolué avec leur écosystème (dû au jeune âge de la forêt boréale par rapport à la dernière glaciation).

Le second objectif sera de déterminer si le pH et le Eh sont des facteurs clés dans la régulation de la diversité et de la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux de l'Amérique du Nord-Est (Figure 1.2). Afin de répondre à cet objectif, deux hypothèses sont formulées selon deux théories; évolutive puis agronomique. Puisque le microbiome du sol a évolué dans un contexte régional acide, (i) la biologie évolutive prédirait que le maximum de diversité devrait se retrouver sur des sols acides, menant à une relation négative entre le pH des sols et la biodiversité microbienne. Toutefois (ii) les théories agronomiques prédisent une relation positive entre le pH et la biodisponibilité des éléments minéraux et par extension les fonctions écologiques. Ce rôle opposé du pH du sol sur les deux faces de la relation biodiversité-multifonctionnalité devrait empêcher l'observation une forte relation. Notre étude se distinguera également par l'étude du potentiel redox (Eh) puisqu'il semble être une variable essentielle, mais n'apparaît que rarement dans les études en écologie. Puisque le Eh est une variable physico-chimique du sol, il est possible que tout comme le pH, les micro-organismes soient adaptés à un certain intervalle de Eh qui favoriseraient leur développement comme démontré par Seo et DeLaune (2010) dans des marécages forestiers.

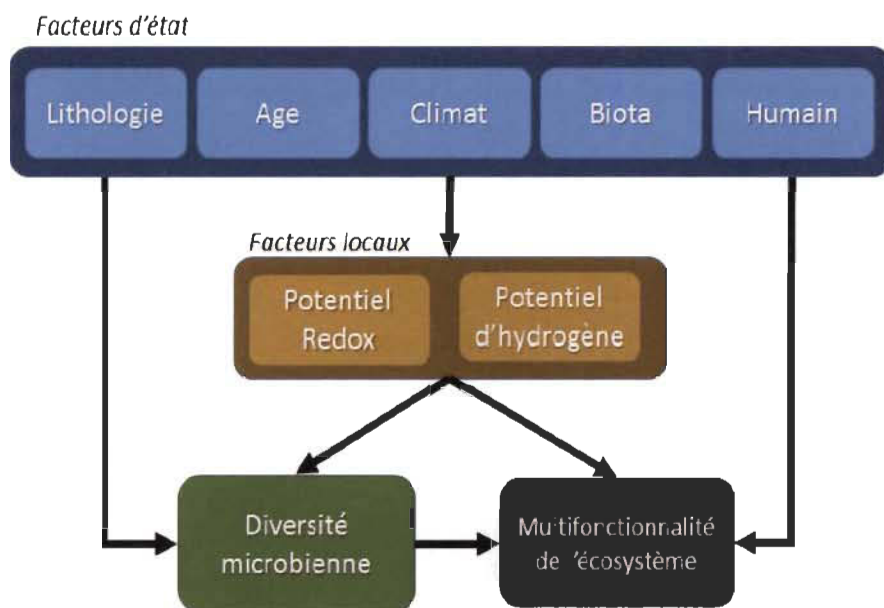


Figure 1.2 Schéma conceptuel des objectifs et prédictions du projet.

Les relations de causalité de l'ensemble de ces variables de l'habitat sur la relation BEF seront testées.

1.3 Références

- Bertrand, J.-C.; Caumette, P.; Lebaron, P.; Matheron, R.; Normand, P. *Écologie Microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropisés*; Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour : Charenton-le-Pont, France, 2011.
- Bradshaw, C.J.; Warkentin, I.G. Global estimates of boreal forest carbon stocks and flux. *Glob. Planet. Chang.* **2015**, *128*, 24-30.
- Cardinale, B.J.; Matulich, K.L.; Hooper, D.U.; Byrnes, J.E.; Duffy, E.; Gamfeldt, L.; Balvanera, P.; O'Connor, M.I.; Gonzalez, A. The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* **2011**, *98*, 572-592.
- Clemmensen, K.E.; Bahr, A.; Ovaskainen, O.; Dahlberg, A.; Ekblad, A.; Wallander, H.; Stenlid, J.; Finlay, R.D.; Wardle, D.A.; Lindahl, B.D. Roots and Associated Fungi Drive Long-Term Carbon Sequestration in Boreal Forest. *Science* **2013**, *339*, 1615-1618.
- Delgado-Baquerizo, M.; Oliverio, A.M.; Brewer, T.E.; Benavent-González, A.; Eldridge, D.J.; Bardgett, R.D.; Maestre, F.T.; Singh, B.K.; Fierer, N. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science* **2018**, *359*, 320-325.
- Delgado-Baquerizo, M.; Maestre, F.T.; Reich, P.B.; Jeffries, T.C.; Gaitan, J.J.; Encinar, D.; Berdugo, M.; Campbell, C.D.; Singh, B.K. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 10541.

- Díaz, S.; Fargione, J.; Chapin III, F.S.; Tilman, D. Biodiversity loss threatens human well-being. *PLoS Biol.* **2006**, *4*, 1300-1305.
- FAO, 2018. Services Écosystémiques et Biodiversité.
- Fierer, N.; Jackson, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 626-631.
- Gamfeldt, L., Snäll, T., Bagchi, R. *et al.* Higher levels of multiple ecosystem services are found in forests with more tree species. *Nat. Commun.* **2013**, *4*, 1340.
- Grace, J., Anderson, T., Seabloom, E. *et al.* Integrative modelling reveals mechanisms linking productivity and plant species richness. *Nature* **2016**, *529*, 390-393.
- Hector, A.; Bagchi, R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature* **2007**, *448*, 188-190.
- Hooper, D.U.; Bignell, D.E.; Brown, V.K. *et al.* Interactions between Aboveground and Belowground Biodiversity in Terrestrial Ecosystems: Patterns, Mechanisms, and Feedbacks. *BioScience* **2000**, *50*, 1049-1061.
- Husson, O. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: A transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil* **2013**, *362*, 389-417.
- Jarvis, P.G., Saugier, B. & Schulze, E. Terrestrial Global Productivity: Productivity of Boreal Forests. San Diego, Calif: Academic Press **2001**. 211-244.
- Kuusela, K. Les forêts boréales : tableau d'ensemble. *Unasylva* **1992**, *43*.
- Lauber, C.L.; Hamady, M.; Knight, R.; Fierer, N. Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 5111-5120
- Li, J.; Delgado-Baquerizo, M.; Wang, J.-T.; Hu, H.-W.; Cai, Z.-J.; Zhu, Y.-N.; Singh, B.K. Fungal richness contributes to multifunctionality in boreal forest soil. *Soil Biol. Biochem.* **2019**, *136*, 107526.
- Liang, J.; Zhou, M.; Tobin, P.C.; McGuire, D.; Reich, P.B. Biodiversity influences plant productivity through niche–efficiency. *PNAS* **2015**, *112*, 5738-5743.
- Liang, J.; Crowther, T.W.; Picard, N. *et al.* Positive biodiversity-productivity relationship predominant in global forests. *Science* **2016**, *354*.
- Maire, V.; Wright, I.J.; Prentice, I.C.; Batjes, N.H.; Bhaskar, R.; Van Bodegom, P.M.; Cornwell, W.K.; Ellsworth, D.; Niinemets, Ü.; Ordonez, A.; *et al.* Global effects of soil and climate on leaf photosynthetic traits and rates. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2015**, *24*, 706-717.

- Paquette, A.; Messier, C. The effect of biodiversity on tree productivity: from temperate to boreal forests. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2010**, *20*, 170-180.
- Ratcliffe, S.; Wirth, C.; Jucker, T. *et al.* Biodiversity and ecosystem functioning relations in European forests depend on environmental context. *Ecol. Lett.* **2017**, *20*, 1414-1426.
- Renard, S.M.; Gauthier, S.; Fenton, N.J.; Lafleur, B.; Bergeron, Y. Prescribed burning after clearcut limits paludification in black spruce boreal forest. *For. Ecol. Manag.* **2016**, *359*, 147-155.
- Seo, D.C.; DeLaune, R.D. Effect of redox conditions on bacterial and fungal biomass and carbon dioxide production in Louisiana coastal swamp forest sediment. *Sci. Total Environ.* **2010**, *408*, 3623-3631.
- Serna-Chavez, H.M.; Fierer, N.; van Bodegom, P.M. Global drivers and patterns of microbial abundance in soil. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2013**, *22*, 1162-1172.
- Soliveres, S.; Maestre, F.T.; Eldridge, D.J.; Delgado-Baquerizo, M.; Luis Quero, J.; Bowker, M.A.; Gallardo, A. Plant diversity and ecosystem multifunctionality peak at intermediate levels of woody cover in global drylands. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2014**, *23*, 1408-1416.
- Steinauer, K.; Tilman, D.; Wragg, P.D.; Cesarz, S.; Cowles, J.M.; Pritsch, K.; Reich, P.B.; Weisser, W.W.; Eisenhauer, N. Plant diversity effects on soil microbial functions and enzymes are stronger than warming in a grassland experiment. *Ecology* **2015**, *96*, 99-112.
- Ste-Marie, C.; Pare, D. Soil , pH and N availability effects on net nitrification in the forest floors of a range of boreal forest stands. *Soil Biol. Biochem.* **1999**, *31*, 1579-1589.
- Wang, Z.; Yang, C.; Yang, L.; Zhou, Z.; Rao, J.; Yuan, L.; Li, J. Relationship and its ecological significance between plant species diversity and ecosystem function of soil conservation in semi-humid evergreen forests, Yunnan Province, China. *Front. Forest. China* **2007**, *2*, 18-27.
- Wardle, D.A.; Bardgett, R.D.; Klironomos, J.N.; Setälä, H.; van der Putten, W.H.; Wall, D.H. Ecological Linkages between Aboveground and Belowground Biota. *Science* **2004**, *304*, 1629-1633.

CHAPITRE II

ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

2.1 La multifonctionnalité et ses indices

La multifonctionnalité représente la capacité d'un écosystème à maintenir plusieurs fonctions écosystémiques simultanément. Grâce à ces fonctions, les écosystèmes maintiennent à leur tour les services écosystémiques utiles aux sociétés humaines (Cardinale *et al.*, 2011; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016). Afin de pouvoir caractériser cette multifonctionnalité, il faut principalement étudier les fonctions écosystémiques à la base des services de régulation de l'écosystème. Il est commun dans la littérature d'analyser la productivité primaire, le recyclage des nutriments ainsi que le stockage du carbone dans les sols représentant la capacité du système à limiter la sortie de carbone. L'azote et le phosphore sont les nutriments les plus étudiés dans les études sur la multifonctionnalité puisqu'ils sont ceux qui peuvent être majoritairement limitants pour la productivité primaire. De plus, les capacités de l'écosystème à recycler ces éléments et à maintenir la fertilité du milieu constituent ainsi des fonctions importantes à la base de ce service de régulation de l'écosystème.

Si les entrées, le recyclage et le stockage des nutriments ainsi que les sorties d'énergies covariaient ensemble, il serait possible de ne mesurer que l'une de ces trois dimensions afin d'avoir une idée de ce qui se passe dans les deux autres. Cependant, ces trois dimensions ne covariant généralement pas entre elles. L'indice de multifonctionnalité a ainsi pour but l'estimation d'un indice unique représentant les capacités de l'écosystème à acquérir du carbone, à structurer sa matière, à recycler ses nutriments efficacement et à limiter les pertes en éléments.

Cet indice peut être mesuré selon plusieurs méthodes. Dans la littérature, différentes approches ont été proposées pour quantifier la multifonctionnalité de l'écosystème

(Tableau 2.1). Certains auteurs ont utilisé la moyenne de plusieurs fonctions précédemment normalisées (Zavaleta *et al.*, 2010; Mouillot *et al.*, 2011), d'autres ont utilisé des critères d'information pour identifier les espèces végétales qui affectent une ou plusieurs fonctions de l'écosystème (Hector et Bagchi, 2007). Seulement cette dernière approche est peu applicable pour les micro-organismes puisqu'elle nécessite de la redondance taxonomique au sein des espèces référencées. Cependant, chez les micro-organismes il y a beaucoup d'espèces abondantes et présentes sur plusieurs parcelles, mais il y en a encore plus qui sont uniques et rares. Il est alors difficile d'appliquer la méthode d'« overlap » dû à un manque de redondance taxonomique d'espèces. D'autres ont établi des seuils minimaux pour chaque fonction, puis évalué comment les combinaisons de différentes espèces affectent la proportion de plusieurs fonctions au-dessus de ces seuils (Gamfeldt *et al.*, 2008). L'utilisation d'un indice de multifonctionnalité basé sur la moyenne centrée-réduite moins l'écart-type de toutes les fonctions a également été proposé (Gotelli *et al.* 2011). Cette dernière alternative a d'ailleurs fait ses preuves dans de nombreux articles de la littérature (Maestre *et al.*, 2012; Delgado-baquerizo *et al.*, 2016). Elle fournit une mesure simple et facilement interprétable de la capacité des différentes communautés à soutenir simultanément plusieurs fonctions. Cette approche a toutefois le désavantage de masquer les fonctions qui pourraient se compenser. Les avantages et inconvénients de chacune des méthodes sont recensés dans le tableau 2.1 ci-dessous.

Tableau 2.1

Comparaison des anciennes méthodes d'analyses de la multifonctionnalité des écosystèmes et présentation de celle qui devrait maintenant être utilisée (Tiré de Byrnes *et al.*, 2014)

Approach	Question addressed	Unique information	Limitations	References
Previous approaches				
1. Single functions	Do more functions achieve high values in a diverse mixture than for any single species?	Direct information about each individual function	Qualitative Does not provide a metric relating diversity and multifunctionality	Duffy <i>et al.</i> (2003)
2. Turnover	Do different species promote different functions?	Indicates whether different species drive different processes	Does not consider negative effects Does not measure multifunctionality directly Requires extensive data	Hector & Bagchi (2007), He <i>et al.</i> (2009), Isbell <i>et al.</i> (2011)
3. Averaging	Does the average level of multiple functions increase with the number of species?	Indicates average diversity effect on functions	Single functions can have large impact. Cannot distinguish between (i) two functions at similar level and (ii) one function at high level and other function at low level	Hooper & Vitousek (1998), Mouillot <i>et al.</i> (2011), Maestre <i>et al.</i> (2012a,b)
4. Single threshold	Does the number of functions exceeding a threshold increase with the number of species?	Indicates whether multiple functions have high value	Threshold is arbitrary Does not indicate extent to which threshold is exceeded or not	Gamfeldt <i>et al.</i> (2008), Zavaleta <i>et al.</i> (2010), Peter <i>et al.</i> (2011)
Our approach 5. Multiple thresholds	Does diversity influence the level of performance of multiple functions?	Provides a measure of how diversity simultaneously influences multiple functions Multiple informative metrics describe different aspects of multifunctionality	Produces a curve rather than a single number	This paper

Malgré les preuves de l'efficacité de cette méthode et de son acceptation dans des études récentes, elle est remise en question dans la littérature. Byrnes *et al.* (2014) suggèrent plutôt une approche de seuils multiples. Cette méthode consiste à visualiser graphiquement la forme de la courbe de la relation entre la diversité et la multifonctionnalité pour tous les seuils (0-100 %). Ces deux méthodes seront évaluées dans notre étude. Cependant, afin de faciliter la modélisation des analyses de pistes *SEM* la moyenne sera l'indice utilisé.

2.2 Biodiversité microbienne

Les micro-organismes sont capables de coloniser tous les milieux et possèdent un potentiel adaptatif très élevé (Bertrand *et al.*, 2011). De plus, avec leur importante biomasse, leur large diversité métabolique et leur facilité d'adaptation ils sont essentiels à l'évolution et au fonctionnement des écosystèmes via leur importance dans les cycles

biogéochimiques (Bertrand *et al.*, 2011). Puisqu'ils font partie des organismes les plus abondants et les plus diversifiés, il n'est donc pas surprenant de retrouver une relation linéaire forte entre la biodiversité microbienne (bactéries et champignons) des sols et la multifonctionnalité dans plusieurs écosystèmes (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016a; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016b; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2017).

2.2.1 Les champignons

Les champignons sont des organismes qui ne font pas de photosynthèse et qui absorbent leurs nutriments à l'aide de leur mycélium composé d'hyphes (Kendrick, 1992). Les mycéliums peuvent avoir une très grande aire de répartition dans les sols comme le cas d'un seul individu d'*Armillaria bulbosa* ((Barla) Kile et Watling) qui s'étend sur 15 hectares (Gobat *et al.*, 2010). Avec cette taille importante, les champignons permettent une translocation de l'eau et des nutriments d'un endroit à l'autre, d'une particule d'humus à une racine. Cette translocation de nutriments leur a permis de faire des symbioses mutuelles avec les plantes (mycorhizes), qui elles, leur fournissent les nutriments qu'ils ne peuvent aller chercher tels des composés de carbone riches en énergie (Kendrick, 1992; Gobat *et al.*, 2010). Ils augmentent aussi la cohésion des particules du sol grâce à la structure ramifiée de leur mycélium (Gobat *et al.*, 2010). Les eumycètes possèdent des enzymes permettant la digestion de substrats récalcitrants telles la chitine, la cellulose et la lignine. Ainsi, avec leurs hyphes et ces enzymes ils peuvent exploiter des substrats que même les bactéries, qui sont leurs grandes compétitrices, ne parviennent pas à utiliser.

Il est possible d'effectuer une classification du règne des champignons contenant plusieurs milliers d'espèces. Ces derniers sont souvent classifiés selon leur fructification et leur méiosporanges, c'est-à-dire les asco- et basidiomycètes. Cependant, cette classification n'est pas utile pour comprendre le rôle des champignons sur le fonctionnement de l'écosystème. Une classification intéressante et qui est aussi utilisée est celle qui permet de différencier en groupes fonctionnels, c'est-à-dire en groupes qui possèdent une fonction particulière pour le fonctionnement de l'écosystème. La figure 2.1 est une bonne représentation des différents groupes fonctionnels existants

chez les champignons. On peut ainsi distinguer cinq grands groupes : ectomycorhizes, parasites d'animaux et mycoparasites, lichens et champignons lichénicoles, pathogènes des plantes et les saprotrophes (Geml *et al.*, 2016).

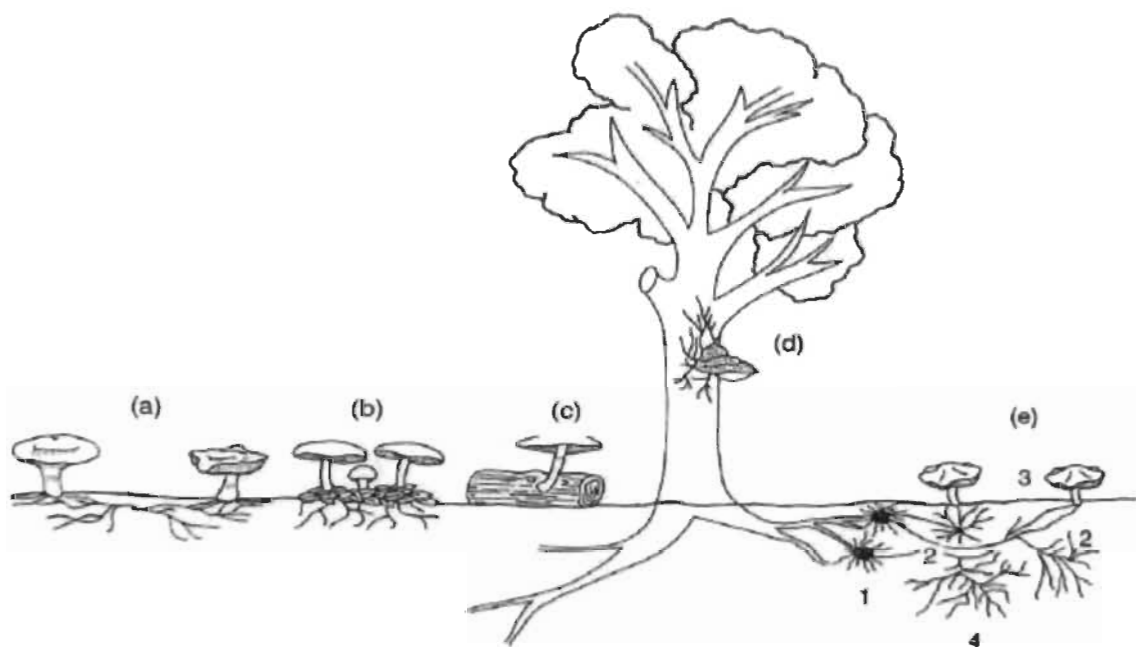


Figure 2.1 Principales fonctions des champignons dans les écosystèmes : (a) humicole, (b) saprophytes de la litière, (c) saprophyte lignicole, (d) parasites, (e) mycorhizien. (Tirée de Gobat *et al.*, 2010.)

Les mycorhizes, comme décrites ci-dessus, sont une symbiose mutuelle ayant évoluée entre les plantes et les champignons permettant un transfert de nutriments (Kendrick, 1992). Il y a deux types de mycorhizes, les endo- et les ectomycorhizes. Les endomycorhizes sont présentes à l'intérieur même des racines des plantes tandis que le deuxième type est plutôt présent sur la face extérieure des racines. Beaucoup de basidiomycètes sont des ectomycorhizes. On peut supposer que ce groupe aura un rôle important pour la disponibilité des nutriments dans le sol pour les êtres vivants et, particulièrement, la nutrition des producteurs primaires.

Certains champignons poussant sur des plantes, des animaux ou d'autres champignons font du parasitisme, c'est-à-dire que ces champignons vivent aux dépens de leur hôte en s'y nourrissant. Son hôte finira alors par mourir avec le temps. Pour illustrer

quelques exemples, on peut penser au champignon parasite du bouleau blanc et jaune, le Chaga (*Inonotus obliquus* (Persoon) Pilát), ou encore aux champignons utilisés en biocontrôle d'infection de plantes aux champignons telle que dans le cas de l'ergot du blé (Kendrick, 1992). On peut supposer que ce groupe fonctionnel agira particulièrement sur la mortalité des producteurs primaires et l'ouverture de la voute forestière.

Les lichens et les champignons lichénicoles forment un duo avec une algue afin de combiner leurs forces. Le champignon peut donc obtenir l'eau, les nutriments, construire de forts thalles et se reproduire tandis que les algues vivent dans les thalles et font de la photosynthèse et permettent de contribuer à la nutrition que le champignon n'a pas pu obtenir (Kendrick, 1992). Ces champignons peuvent faire cette symbiose avec des chlorophytes (eucaryotes) ou bien avec des cyanobactéries (procaryotes).

Finalement, les saprotrophes sont les champignons qui se nourrissent de matière en décomposition et ont certainement un rôle à jouer dans la capacité de l'écosystème à recycler sa litière (Figure 2.1) (Gobat *et al.*, 2010).

2.2.2 Les bactéries

Récemment, Delgado-Baquerizo *et al.* (2018) ont réussi à identifier les phylotypes les plus abondants et de catégoriser chacun de ces phylums selon différents rôles et facteurs environnementaux (Delgado-Baquerizo, Oliverio, *et al.*, 2018). Autour de 41 % de l'abondance relative était représentée par seulement 2 % (511) des phylotypes étudiés (24 713). De ce faible pourcentage, cinq phylotypes sont particulièrement abondants. En effet, les Alpha protéobactéries et Bêta protéobactéries, Actinobactérie, Acidobactéries et les Planctomycètes sont, dans l'ordre, les phylotypes les plus susceptibles d'être retrouvés dans les sols (Delgado-Baquerizo, Oliverio, *et al.*, 2018). De plus, selon l'atlas global de la figure 4 de Delgado-Baquerizo *et al.* (2018), il serait plus probable au Québec d'obtenir une grande abondance de bactéries catégorisées dans les pH faibles, c'est-à-dire principalement des alphaprotéobactéries et acido-bactéries.

Les protéobactéries sont un phylum à Gram négatif très vaste et varié tant au niveau de la diversité en espèce que dans la diversité métabolique. Ce groupe comprend des bactéries faisant de la phototrophie, de la chimio-organotrophie et de la chimiolithotrophie. Deux groupes de ce phylum sont particulièrement abondants dans les sols, les alphaprotéobactéries et les bêta-protéobactéries (Bertrand *et al.*, 2011).

Les alphaprotéobactéries sont souvent des chimio-organotrophes, mais ont des niches écologiques très différentes. Elles peuvent être des saprophytes du sol ou encore des pathogènes de plantes ou d'animaux. Pour certaines d'entre celles qui ne sont pas pathogènes, elles seront en interaction avec des hôtes (plantes ou animaux). Dans cette classe on retrouve les rhizobiales qui sont importantes dans la fixation de l'azote et dont certaines sont nitrifiantes (ex. : *Nitrobacter*) (Bertrand *et al.*, 2011).

Les bêta-protéobactéries peuvent aussi être des chimio-organotrophes ou bien des chimiolithotrophes et ont aussi des niches écologiques plutôt variées. Contrairement à la classe précédente, celle-ci interagit davantage avec le cycle de l'azote. En effet, on y retrouve beaucoup de bactéries nitrifiantes et dénitrifiantes et quelques-unes qui sont fixatrices (Bertrand *et al.*, 2011).

Les actinobactéries sont un phylum à Gram positif. Le caractère morphologique le plus marquant dans ce phylum est le fait qu'elles produisent des formes mycéliennes unicellulaires avec des hyphes, démontrant une convergence évolutive avec les champignons. Dû à leur structure de dissémination et leur grande capacité de synthèse antibiotique, elles sont très présentes dans les sols et très compétitives. Elles sont surtout présentes dans les sols qui sont riches en matière organique et sont capables de dégrader la cellulose, les macromolécules et les polymères. Elles peuvent aussi dégrader les polluants organiques, sont saprophytes des sols et font des associations symbiotiques avec les végétaux (ex. : *Frankia*). Comme elles possèdent une grande résistance aux perturbations environnementales, on retrouve plusieurs espèces dans ce phylum qui sont pathogènes à l'être humain (ex. : Tuberculose, Lèpre) (Bertrand *et al.*, 2011).

Deux derniers phylums sont abondants dans les sols, les planctomycètes et les acido-bactéries. Ces dernières n'ont cependant pas de rôle précis au sein du cycle de l'azote et ses espèces sont surtout des chimio-organotrophes. Finalement, les planctomycètes étaient initialement classés avec les champignons, car ce sont des bactéries ayant comme particularité une membrane interne qui permet l'isolation de l'ADN au reste du cytoplasme. Ces dernières sont capables d'effectuer les réactions anammox et de faire la transformation du nitrate en ammonium (Bertrand *et al.*, 2011).

Contrairement aux champignons, la classification des bactéries s'effectue principalement avec des groupes basés sur comment celles-ci sont influencées par l'habitat (par exemple les acido-bactéries dans les milieux ayant un pH acide). Au sein d'un même groupe, on voit qu'il existe une diversité de fonctions pour l'écosystème. Il est alors difficile d'utiliser cette classification, à l'instar des champignons, comme étant fonctionnelle. L'obtention d'une classification basée sur les fonctions qu'elles ont au sein des écosystèmes reste à être effectuée. Avec de tels groupements, la comparaison des rôles respectifs entre les champignons et les bactéries au sein des écosystèmes serait plus juste et plus facilement interprétable tout en étant complémentaire aux groupements taxonomiques.

2.3 Indices de biodiversité microbienne

Afin de pouvoir comprendre le rôle de la biodiversité microbienne sur le fonctionnement de l'écosystème, il faut obtenir des paramètres décrivant la biodiversité des micro-organismes. Pour obtenir cette biodiversité microbienne, il serait peu pratique de cultiver et d'identifier les différents micro-organismes du sol, puisqu'il est bien connu qu'il n'y a qu'une seule fraction des micro-organismes qui sont cultivables. La biodiversité serait ainsi grandement sous-estimée. Récemment, la biodiversité microbienne a alors été approchée par la technique de métagénomique, le *metabarcoding*, qui certes peut surestimer la biodiversité microbienne, mais qui est surtout très rapide, de quelques semaines à quelques mois pour extraire l'ADN, l'amplifier, l'interroger et obtenir une liste de séquences, c'est-à-dire une liste d'OTUs (*Operational Taxonomic*

Units). Il est possible de considérer les OTUs comme indicateurs au concept d'espèces en écologie. Plus précisément, les OTUs sont utilisés en génétique afin de regrouper des organismes selon leur niveau de similarité génétique sur une section courte d'un gène de leur génome. Le niveau de similarité est généralement situé à un seuil de 97 % (Blaxter *et al.*, 2005). Si un seuil de fiabilité est trop faible, p. ex. 90-95 %, des séquences appartenant à plusieurs espèces pourraient être regroupées (Blaxter *et al.*, 2005; Caron *et al.*, 2009; Schloss *et al.*, 2009). Cette technologie d'ADN environnementale permet alors d'obtenir une matrice d'OTUs et le nombre de copies séquencées pour chacun d'entre eux. Bien que les OTUs soient considérés comme des proxys aux espèces, on ne peut toutefois pas considérer qu'une copie d'ADN est équivalente à un individu. Cela est principalement dû au fait qu'il est possible chez les champignons que les cellules soient diploïdes, c'est-à-dire qu'il est possible d'avoir deux noyaux contenant l'ADN. Même si les bactéries sont haploïdes, il serait tout aussi erroné de considérer les copies comme des individus puisqu'elles sont multipliées dans l'étape d'amplification de l'ADN. Il est ainsi préférable de transformer cette matrice d'OTUs sous forme de présence-absence pour obtenir un nombre d'espèces plutôt que leur abondance relative. C'est ensuite avec cette matrice transformée qu'il est possible de mesurer la diversité microbienne selon différents indices de biodiversité.

2.3.1 La diversité alpha (α)

La diversité α représente la diversité présente localement et peut être observée sous forme de richesse spécifique et/ou d'abondance au sein d'une communauté d'organismes (Mori *et al.*, 2018). Via l'effet combiné de la richesse spécifique et de l'abondance relative des espèces présentes, la biodiversité bactérienne semble avoir un rôle important au sein des écosystèmes (Delgado-baquerizo *et al.*, 2017).

Différents mécanismes permettent d'expliquer l'effet de la biodiversité α sur le fonctionnement de l'écosystème. Bien que nombre de mécanismes aient été proposés (Silvertown *et al.*, 2001), les effets de sélection et de complémentarité sont les mécanismes principaux. Un schéma conceptuel de ces mécanismes est représenté dans la figure 2.2

tirée de Loreau *et al.* (2001). L'effet de sélection postule qu'en augmentant la diversité, les chances d'inclure, par hasard, une espèce très productive/fonctionnelle dans la communauté de micro-organismes augmente (Huston, 1997). Dans un cas comme celui-ci, il n'y aurait pas d'effet direct de la biodiversité sur la multifonctionnalité, mais principalement l'effet de quelques espèces très productives ayant des traits particuliers leur permettant de dominer les mélanges à forte diversité (Tilman *et al.*, 1997; Hooper et Dukes, 2004).

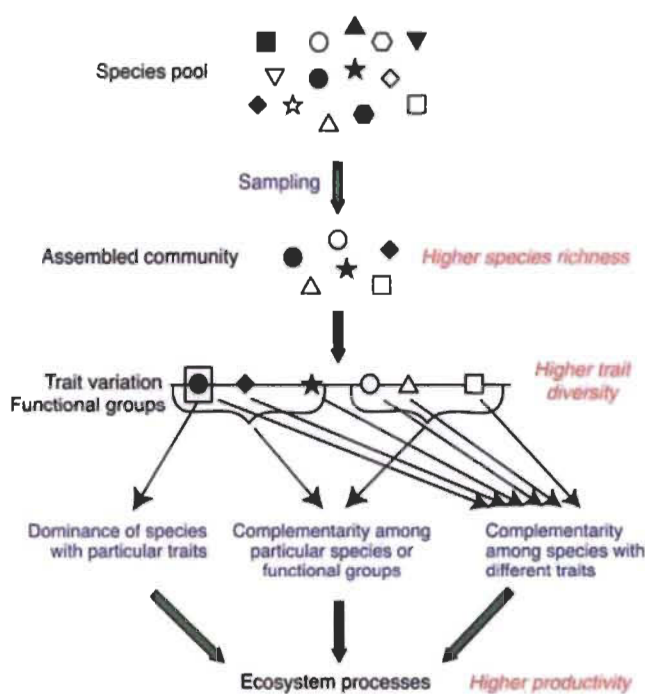


Figure 2.2 Schéma conceptuel des mécanismes par lesquels la diversité locale influence la multifonctionnalité. (Tiré de Loreau *et al.*, 2001.)

Suite à un biais d'échantillonnage, il est possible que la diversité phénotypique détermine les processus écosystémiques selon deux mécanismes soit : l'effet de sélection d'espèces dominantes et l'effet de complémentarité entre les espèces avec des traits phénotypiques différents.

L'effet de complémentarité serait réellement lié à une propriété de biodiversité en postulant qu'une diversité d'organismes, ayant des besoins spécifiques, sera plus à même d'utiliser dans l'espace et dans le temps les ressources de l'environnement. Cette augmentation de prélèvement et d'utilisation des ressources par la communauté permettra alors une maximisation du fonctionnement de l'écosystème. Le mécanisme de

complémentarité entre groupes fonctionnels est intermédiaire entre le mécanisme précédent est celui de sélection. En effet, les légumineuses sont le seul groupe de plantes capable de fixer l'azote atmosphérique (complémentarité), augmentant la fourniture azotée au sol pour une meilleure croissance de la communauté (facilitation).

En plus de ces deux mécanismes d'action de la biodiversité sur la multifonctionnalité, il existe aussi une relation entre la diversité et la stabilité de l'écosystème. À une échelle locale, la biodiversité pourrait avoir un effet stabilisant sur son écosystème (Loreau & de Mazancourt, 2013). En effet, la variabilité de la population en présence d'une forte richesse spécifique augmente, bien que la synchronisation des espèces à répondre à une fonction soit réduite (Wang & Loreau, 2014). Autrement dit, une grande biodiversité permettra de répondre à plusieurs besoins fonctionnels des espèces de la communauté et stabilisera le fonctionnement de l'écosystème.

Il existe de nombreux indices de biodiversité en écologie microbienne. Parmi tous ces indices, on retrouve dans plusieurs articles la richesse spécifique, l'hétérogénéité de Shannon, l'exponentielle de Shannon, Simpson et la réciproque de Simpson pour mesurer la richesse taxonomique (Tableau 2.2) (Delgado-baquerizo *et al.*, 2016; Colombo *et al.*, 2016; Hill, 1964). La diversité phylogénétique est aussi importante à mesurer et se fait à l'aide de la construction d'un arbre phylogénétique (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016).

L'indice de l'hétérogénéité de Shannon (H') est régulièrement utilisé dans la littérature portant sur la relation BEF avec les micro-organismes (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016; Li *et al.*, 2019; Delgado-Baquerizo, Reith, *et al.*, 2018). Elle permet de calculer la diversité spécifique d'un milieu donné (Éq. 1) et d'obtenir une mesure de l'hétérogénéité de la biodiversité d'une parcelle (Spellerberg et Fedor, 2003). Plus l'abondance des espèces est semblable dans les parcelles, plus la valeur de Shannon sera élevée. Au contraire, si l'abondance est très inégale H' tendra vers zéro.

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad p(i) = n_i / N \quad \text{Éq. 1}$$

où l'indice i représente l'espèce, S représente la richesse spécifique et n_i représente le nombre d'individus de l'espèce, et N représente l'effectif total.

L'indice de diversité de Simpson, λ , permet de voir le degré de concentration lorsque les individus sont classés en types. Autrement dit, l'indice permet de calculer la probabilité que deux données prises au hasard soient du même type (Simpson, 1949; Hill, 1964). L'indice sera faible pour une diversité élevée (Éq. 2).

$$\lambda = \sum_{i=1}^R p_i^2, \quad \text{Éq. 2}$$

où l'indice i représente l'espèce, l'indice R représente le nombre total d'espèces, n_i représente le nombre d'individus de l'espèce, et N représente l'effectif total.

L'une des limites importantes de ces deux indices de diversité microbienne se retrouve au niveau du dénombrement des OTUs. Comme mentionné précédemment, le nombre d'OTUs retrouvé dans un échantillon ne peut pas être considéré comme un nombre d'individus, bien qu'il soit toutefois discuté et utilisé ainsi dans la littérature. Afin de pouvoir obtenir un nombre effectif d'espèces, c'est-à-dire d'obtenir une mesure continue et non pas un compte d'individus, il est préférable d'utiliser comme indice l'exponentielle de l'entropie de Shannon, la réciproque de l'indice de Simpson ou bien tout simplement la richesse spécifique (Hill, 1964).

Tableau 2.2

Synthèse des différents indices de biodiversité utilisés dans la littérature

Indices	Description	Limites
Richesse spécifique	Compte du nombre d'espèces présentes sur un site donné. $N_0 = Nb\ sp.\ totale$	Ne permet pas d'obtenir d'information sur la composition relative d'une communauté, permet seulement de connaître qui en fait partie.
Entropie de Shannon	Diversité spécifique d'un milieu en tenant compte de la richesse spécifique et de la distribution des espèces. $H' = \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad p_i = n_i/N$	Lecture du nombre de copies d'OTUs ne peut être considéré comme des étant des individus. Transformation binaire nécessaire et accorde ainsi la même importance aux différentes espèces, abondantes ou rares.
Exponentielle Shannon	$N_1 = \exp(H)$	Avec la définition de l'Entropie de Shannon, cela revient à calculer la richesse spécifique.
Simpson	Probabilité que deux individus appartiennent à la même espèce, lorsque sélectionnée aléatoirement $\lambda = \sum_{i=1}^R p_i^2$	Les espèces rares ont un grand poids dans le calcul.
Réciproque de Simpson	$D_2 = \frac{1}{\sum_{i=1}^S p_i^2}$	Accorde moins d'importance aux espèces rares.

2.3.2 La diversité bêta (β)

Le taux de renouvellement des espèces entre sites d'une région, ou diversité β , indique à quel point un site partage les mêmes espèces que les autres sites de la région. Il définit ainsi la spécificité d'une communauté au sein d'une région. Plus le taux de renouvellement sera élevé, plus la communauté aura un caractère unique au sein de la région. Tout comme la diversité α , la diversité β est calculée avec le nombre d'espèces et l'abondance, mais permet toutefois de comparer la variation au sein de ces assemblages (Mori *et al.*, 2018). Récemment, des études ont démontré que la diversité β était importante afin de pouvoir moduler la multifonctionnalité (Grman *et al.*, 2018; Hautier

et al., 2018) et que ce taux de renouvellement pourrait stabiliser les dynamiques écosystémiques régionales (Arago *et al.*, 2011; Wang & Loreau, 2014).

Récemment, Mori *et al.* (2018) ont réalisé une synthèse de mécanismes et processus par lesquels la *diversité β* pourrait avoir des effets sur la multifonctionnalité des écosystèmes. On retrouve en premier lieu les processus déterministes qui impliquent de tenir compte de l'ajustement des espèces selon leurs caractéristiques aux différents habitats présents dans un milieu. Il y a par la suite les processus stochastiques qui sont principalement reliés à l'histoire évolutive des régions et qui vont faire varier la diversité d'une région à une autre. Afin de comprendre comment ces mécanismes diffèrent entre la *diversité α* et la *diversité β* , il est important de se rappeler que la β représente la différence entre les parcelles entre les espèces de micro-organismes. Dans des parcelles très homogènes entre elles (faible diversité β), un milieu donné possèdera plusieurs espèces abondantes qui sont des généralistes et seront sensiblement les mêmes d'une parcelle à une autre. À forte diversité β , les espèces généralistes-spécialistes pourraient diverger entre parcelles, mais ce sont surtout les espèces rares qui sont davantage spécialistes des micro-écosystèmes qui risquent d'être unique à l'écosystème de la parcelle et d'élever la diversité β . Plus la communauté d'une parcelle s'éloignera de la communauté de la parcelle « moyenne », plus il y a de chance que cette dernière puisse réaliser de fonctions ou des fonctions différentes des parcelles moyennes. Le schéma de la figure 2.3 permet de mieux visualiser ce propos.

De plus, on retrouve le phénomène de dispersion des micro-organismes dans les différents environnements où une diversité β élevée proviendrait d'un milieu où il y a beaucoup d'espèces spécialistes. Sriswasdi *et al.* (2017) ont réussi à bien illustrer ce phénomène évolutif. En effet, prenons un milieu donné séparé d'un deuxième milieu par des barrières environnementales; Dans chacun de ces milieux habite une communauté microbienne spécialiste de son environnement. Par les phénomènes d'évolutions, de ces spécialistes pourrait émerger des généralistes capables de se disperser au-delà des barrières environnementales existantes entre les deux milieux. Ces généralistes pourront coloniser plusieurs milieux et à leur tour devenir spécialistes d'un milieu. Ce cycle permet

ainsi d'introduire beaucoup d'espèces dans plusieurs types d'habitats (Sriswasdi *et al.*, 2017).

Ainsi, la *diversité β* peut jouer sur le fonctionnement écosystémique principalement via le mécanisme de complémentarité qui permet une différenciation entre les communautés microbiennes. Les espèces rares qui permettraient une telle différenciation (hétérogénéité vs homogénéité) vont ainsi permettre une meilleure captation et utilisation des nutriments disponibles. Il est toutefois possible qu'avec l'effet de sélection environnementale, une communauté diffère des autres parce qu'elle contient des espèces abondantes généralistes et généralistes-spécialistes très différentes des autres communautés.

Les différents mécanismes et processus décrits ci-dessus sont importants au niveau de la stabilisation des écosystèmes. En effet, il existe différents milieux au sein d'un même écosystème et ces derniers peuvent être à un stade de développement différent des uns aux autres. Les organismes présents sont donc adaptés à l'âge et au stade de développement actuel de leur milieu de vie plutôt qu'à celui de l'écosystème global. Une étude réalisée en 2019, à l'aide de la métagénomique, on réussit à démontrer l'importance de la *diversité β* sur la multifonctionnalité puis les auteurs expliquent leurs résultats à l'aide des différentes notions présentées ci-dessus (Almoyna *et al.*, 2019).

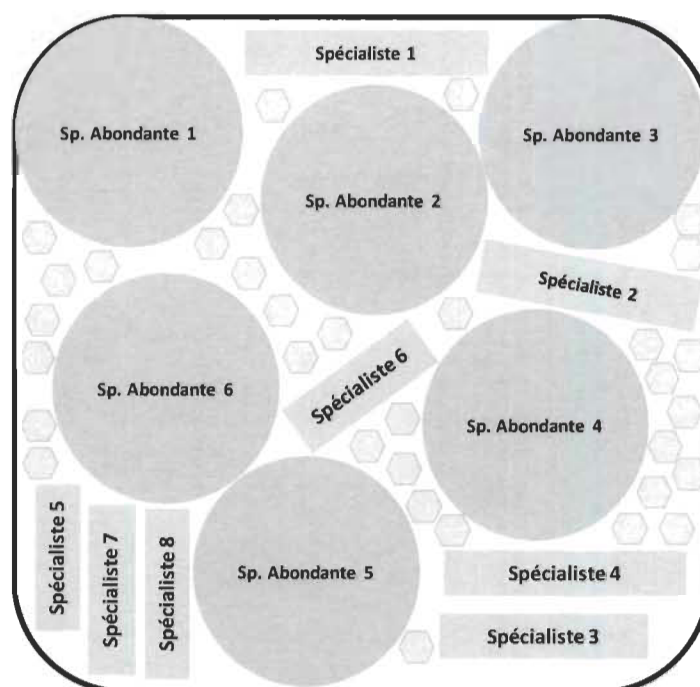


Figure 2.3 Schéma conceptuel d'une communauté microbienne (pouvant différer d'une parcelle à l'autre) contenant des espèces généralement abondantes et ubiquistes, des espèces plutôt généralistes spécialistes puis plusieurs espèces rares très spécialisées à certains types de micro-écosystèmes qui diffèrent souvent à chaque parcelle.

Dans la littérature il existe de nombreuses équations permettant de calculer un indice de β diversité. Les plus connues sont celles de Whittaker, de Jaccard, de Sørensen et de Pielou. Ces indices sont tous basés sur un ratio entre le nombre d'espèces total et la richesse sur un site donné, mais diffèrent tout de même dans la manière de les calculer (Tableau 2.3). L'indice de diversité β de Whittaker se base sur un ratio entre le nombre d'espèces total (tous les sites) et la richesse spécifique (à un site donné). L'indice de Jaccard est le ratio entre le nombre d'espèces dans un quadrat et la somme des espèces dans les quadrats avoisinants et accorde de l'importance aux espèces uniques d'un site donné (Hao *et al.*, 2019). Puis l'indice de Sørensen est sensiblement la même chose que celle de Jaccard, mais possède une multiplication par deux au niveau du quadrat à comparer avec les autres permettant d'accorder plus d'importance aux espèces partagées entre deux sites donnés (Hao *et al.*, 2019). Chacune de ces mesures peut aussi être appliquée lorsque nous avons une matrice de données sous forme de présence/absence (Koleff *et al.*, 2003). Ces indices varient généralement entre 0 et 1 ; signifiant une complète homogénéité (0) et complète hétérogénéité (1) entre les différents sites à l'étude.

Tableau 2.3

Synthèse des différentes équations les plus couramment utilisées permettant de calculer un indice de diversité β (Tiré du recensement effectué par Koleff *et al.*, 2003)

Indices	Formule originale	Formule revisitée
Whittaker	$\beta_w \frac{S}{\bar{\alpha}} \text{ or } \frac{S}{\bar{\alpha}} - 1$	$\frac{a + b + c}{(2a + b + c)/2} \text{ or } \frac{a + b + c}{(2a + b + c)/2} - 1$
Jaccard	$\beta_j \frac{a}{\alpha_1 + \alpha_2 - a}$	$\frac{a}{a + b + c}$
Sørensen	$\beta_{sc} \frac{2a}{\alpha_1 + \alpha_2}$	$\frac{2a}{2a + b + c}$

S = Nombre total d'espèces dénombrer pour tous les quadrats;

$\bar{\alpha}$ = Nombre moyen d'espèces au sein d'un quadrat;

α_1 = Nombre total d'espèces au sein d'un quadrat;

α_2 = Nombre total d'espèces dénombrer dans le quadrat voisin;

a, b, c = Différents quadrats à l'étude.

2.4 Description de l'habitat

Bien que les micro-organismes soient souvent perçus comme ubiquistes, leur diversité et abondance restent déterminées, entre autres, par leur habitat (Delgado-Baquerizo, Oliverio, *et al.*, 2018). Plus précisément, l'habitat d'un écosystème se caractérise par six grands facteurs d'états : âge, climat, roche-mère, topographie, biome et l'humain (Chapin *et al.*, 2011). Les écosystèmes sont souvent classifiés selon ces facteurs, par exemple, les biomes terrestres, peuvent être regroupés et décrits selon leur fonction (type de végétation, température, pluviométrie) (Ricklefs *et al.*, 2015). Ces facteurs d'état influencent les facteurs directs qui représentent la disponibilité des éléments essentiels (eau, nutriment, température, énergie) nécessaires à la survie, croissance et reproduction des êtres vivants résidant au sein de l'habitat.

Le premier facteur, le temps (ou l'âge) détermine le stade de développement d'un écosystème et est déterminant pour expliquer les fonctions et de manière plus générale,

l'homéostasie d'un écosystème (Odum, 1969). Il faudra distinguer l'âge du peuplement végétal de l'âge réel de l'écosystème qui est souvent déterminé par la dernière perturbation ayant remis le sol à nu, tel le retrait d'un glacier ou d'un feu suffisamment intense. L'âge sera un indicateur important de la limitation en azote et en phosphore de la productivité primaire. Un écosystème jeune est généralement considéré comme limité en azote, un écosystème vieux comme limité en phosphore et un écosystème d'âge intermédiaire comme co-limité par ces deux ressources (Vitousek *et al.*, 2010).

Le climat de l'habitat dépend principalement de la position géographique du site sur le globe. Il déterminera la quantité d'ensoleillement, la température et la pluviométrie du site. Ces variables constituent des ressources essentielles à la régulation de la productivité primaire et de la respiration autotrophe et hétérotrophe de l'écosystème. La température sera notamment un régulateur important de l'activité des enzymes et de tous les processus microbiens telles la minéralisation ou la nitrification (Knoepp et Vose, 2007). Le climat sera également un acteur majeur de l'évolution des sols. Un site recevant davantage de précipitations avancera plus vite en âge relatif et pourra avoir un effet indirect sur l'état de la limitation par l'azote ou le phosphore du site.

La topographie d'un milieu influencera également l'exposition du site au soleil, son ensoleillement, la quantité d'eau qui pourra s'infiltrer dans le sol, la lixiviation, le lessivage et donc la disponibilité des éléments minéraux, ou encore la taille des particules minérales qui seront disponibles pour constituer le sol et la matière organique humifiée du sol.

Le biota est la composition spécifique des acteurs régulant les fonctions écosystémiques. Par exemple, la diversité des végétaux a été démontrée comme déterminante pour expliquer la multifonctionnalité de l'écosystème (Tilman *et al.*, 1997). Par exemple, les légumineuses sont un groupe d'espèces capable d'ajouter de l'azote dans le système (Marie-Victorin *et al.*, 1995) et en modifier son fonctionnement (Aber et Melillo, 2001). La diversité végétale est également déterminante pour expliquer la diversité des micro-organismes que l'on peut retrouver dans un sol.

La roche-mère constitue la roche sous-jacente au sol et le réservoir principal des éléments minéraux nécessaires aux organismes vivants, à l'exception de l'azote. En plus d'être un déterminant majeur de la quantité d'éléments minéraux, la roche-mère déterminera les propriétés physiques du sol et sa capacité à retenir l'eau. On pourra distinguer ainsi des milieux qui resteront humides ou secs en permanence ou qui subiront de grandes variations d'humidité.

Ces facteurs d'état et leurs interactions détermineront quels seront les facteurs écologiques qui réguleront à la fois les taux auxquels les fonctions écosystémiques fonctionneront ainsi que la diversité des micro-organismes.

2.5 Potentiel hydrogène (pH), redox (Eh) et fonctions écologiques

Parmi les facteurs plus directs influençant le fonctionnement de l'écosystème tel que la température ou encore la disponibilité en eau, par exemple, deux facteurs du sol semblent particulièrement importants à observer et dont les rôles sont souvent sous-estimés ou mal-compris dans la littérature. En effet, le potentiel hydrogène (pH) et le potentiel redox (Eh) sont deux caractéristiques chimiques de l'environnement qui régulent le type et la vitesse des transformations chimiques et donc la biodisponibilité des éléments nécessaires à la vie. Le Eh caractérise la vitesse de déplacement des électrons dans le milieu (Husson, 2013). Lorsque le Eh est élevé, l'énergie d'activation nécessaire à la plupart des réactions d'oxydoréduction sous-jacentes aux fonctions écosystémiques sera plus facilement atteinte. L'oxygénation du milieu influence beaucoup le Eh, car il facilite le déplacement des électrons. Similairement, le pH détermine la facilité avec laquelle les particules H^+ vont être échangées (Husson, 2013). Ce potentiel déterminera alors la vitesse des réactions d'oxydoréductions, mais également les réactions acide-base, particulièrement importantes dans le cycle du phosphore (Gobat *et al.*, 2010). Le diagramme de Pourbaix réunit ces deux variables au sein d'un même diagramme pour comprendre sous quelle forme les éléments se retrouveront dans le sol suivant les réactions physico-chimiques qui seront favorisées selon la combinaison pH-Eh (Figure 2.4).

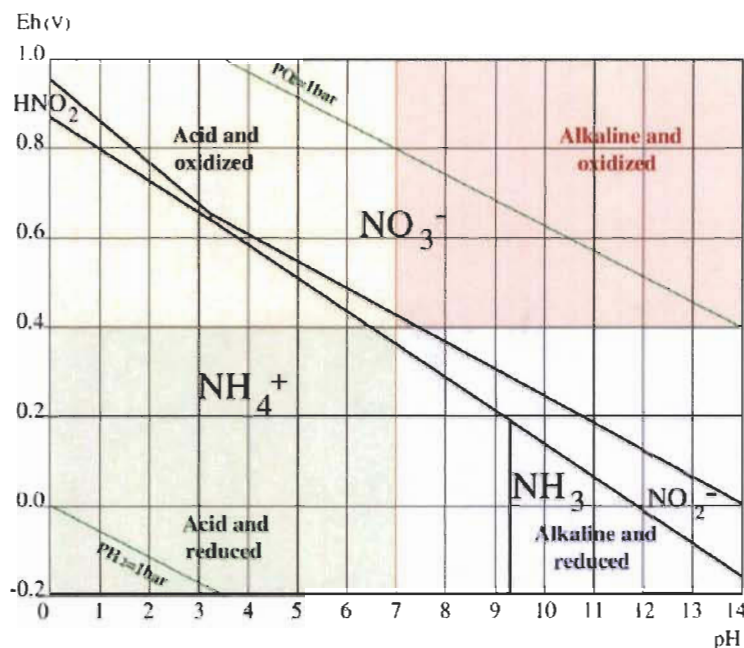


Figure 2.4 Diagramme de Pourbaix représentant la présence des différentes formes d'azote dans le sol dépendamment de son Eh et de son pH. (Tiré de Husson, 2013.)

Depuis plusieurs siècles, les agronomes, pédologues, botanistes et physiologistes utilisent le pH du sol comme une clef de leur discipline respective (Truog, 1944; Albrecht, 1957; Rengel, 2002). L'idée générale est qu'une relation positive quadratique existe entre le pH et la biodisponibilité des nutriments dans le sol, comme le présente le célèbre diagramme de Truog (Figure 2.5). En écologie, à des échelles régionales et planétaires, des travaux empiriques récents montrent que le pH du sol est capable de moduler l'accumulation de micronutriments (Han *et al.*, 2011), la productivité des feuilles (Maire *et al.*, 2015) et l'efficacité d'utilisation de l'eau par les végétaux (Cornwell *et al.*, 2018). Malgré ce consensus sur son rôle pour la fertilité du sol, l'effet du pH sur la biodisponibilité des nutriments pour les plantes n'est pas si clair à la vue de la littérature récente sur les différents processus de la transformation de la matière organique en N disponible (minéralisation, solubilisation, nitrification, remobilisation...) (Cheng *et al.*, 2013). D'ailleurs, une étude récente de Delgado *et al.* (2016) montre que la relation entre le pH et la multifonctionnalité est tantôt positive, tantôt négative selon la région d'étude. Cependant, le pH reste le facteur édaphique le plus important pour la relation positive présente en milieu aride et alcalin. Cette relation se retrouvait dans un contexte régional neutre et le pH avait un effet positif sur la multifonctionnalité de l'écosystème. Il faudra

rester particulièrement attentif à comment placer cette relation dans le contexte régional de cette étude.

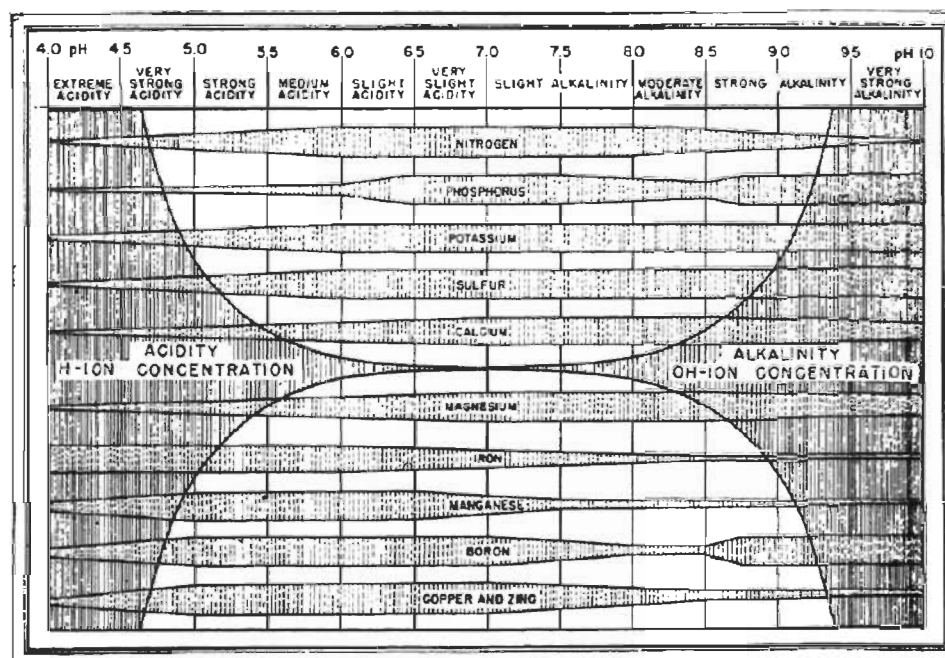


Figure 2.5 Disponibilité des différents minéraux essentiels du vivant en fonction du pH de la solution du sol (Truog, 1944).

2.6 Potentiel hydrogène, biodiversité et théorie du pool d'espèces régional

Le pH et le Eh sont également des variables clés pour comprendre la diversité des micro-organismes (Husson, 2013). Ces variables peuvent même déterminer les types de communautés bactériennes d'un milieu. L'évolution a fait en sorte que chaque organisme soit adapté à des conditions plutôt spécifiques de Eh et avec un intervalle restreint dans lequel il peut maintenir un taux de croissance positif. Par exemple, les champignons sont plus propices à se développer dans des conditions réductrices modérées tandis qu'on observe le contraire chez les bactéries; celles-ci seront plus abondantes dans des conditions réductrices élevées (Seo et Delaune, 2010). Ces variations peuvent ainsi avoir un grand effet sélectif sur la composition physiologique et phénotypique des communautés bactériennes (Fierer et Jackson, 2006; Lauber *et al.*, 2009). De la même manière, les micro-organismes sont aussi adaptés à survivre dans un intervalle particulier

de pH spécifique à leurs fonctions, raison pour laquelle il est un facteur clé au niveau de la diversité des communautés microbiennes.

Le pH du sol apparaît souvent comme une des meilleures variables de l'habitat pour expliquer la diversité des êtres vivants y résidant. Dans le règne végétal, cette relation est tantôt positive, tantôt négative selon le contexte régional. La théorie du pool d'espèces régionales de Meelis Pärtel (2002) postule que la modulation de la relation diversité-pH est reliée à l'histoire évolutive de la géologie régionale (Pärtel, 2002). La roche-mère établit le pH initial d'un sol et crée un contexte environnemental dans lequel les espèces peuvent évoluer sur de longues échelles de temps (centaine de milliers à millions d'années). Ainsi, la taille du pool d'espèces calcicoles est supposée plus grande en Europe que celui des espèces calcifuges à cause de la prédominance des environnements alcalins au cours du Pléistocène (Grime, 2006). Localement, si le pH de l'habitat est comparable au pH régional historique, alors il y aura statistiquement plus de chance de sélectionner des espèces capables de supporter le pH local, l'inverse se produisant lorsque le pH local est très différent du pH régional.

Pour les micro-organismes, la relation entre le pH et la biodiversité est positive soit de manière linéaire (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016), soit de manière quadratique (Fierer et Jackson, 2006), mais les études s'intéressant à cette relation sont relativement limitées. La plupart des travaux du chercheur Delgado-Baquerizo se situent en milieu aride dans un contexte régional alcalin qui a ainsi pu forcer la perception d'une relation toujours positive. Le contexte régional de cette étude est surtout situé sur le Bouclier canadien constitué d'une roche-mère métamorphique avec une géologie granitique à tendance acide datant du Précambrien (< 540 Ma) (Lamoureux, 2007). D'après la relation du pool d'espèce régionale, il devrait plutôt y avoir une relation négative entre le pH du sol et la biodiversité microbienne dû au contexte régional acide que l'on retrouve au Québec.

Comme la mesure du Eh des sols est une mesure très peu explorée dans la littérature, il n'existe pas à ma connaissance d'information sur une potentielle relation avec la diversité microbienne, mais sera toutefois explorée dans ce mémoire.

2.7 Références

- Aber, J.D.; Melillo, J.M. *Terrestrial Ecosystems*. Californie, Brooks Cole Publishing, 2001.
- Albrecht, W.A. Soil Fertility and Biotic Geography. *American Geographical Society* **1957**, 47, 86-105.
- Aragón, R.; Oesterheld, M.; Irisarri, G.; Texeira, M. Stability of ecosystem functioning and diversity of grasslands at the landscape scale. *Landscape Ecol.* **2011**, 26, 1011-1022.
- Bertrand, J.-C.; Caumette, P.; Lebaron, P.; Matheron, R.; Normand, P. *Écologie Microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropisés*. Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour : Charenton-le-Pont, France, 2011.
- Blaxter, M.; Mann, J.; Chapman, T.; Thomas, F.; Whitton, C.; Floyd, R.; Abebe, E. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **2005**, 360, 1935-1943.
- Byrnes, J.E.K.; Gamfeldt, L.; Isbell, F.; Lefcheck, J.S.; Griffin, J.N.; Hector, A.; Cardinale, B.J.; Hooper, D.U.; Dee, L.E.; Duffy, J.E. Investigating the relationship between biodiversity and ecosystem multifunctionality: Challenges and solutions. *Methods Ecol. Evol.* **2014**, 5, 111-124.
- Cardinale, B.J.; Matulich, K.L.; Hooper, D.U.; Byrnes, J.E.; Du_y, E.; Gamfeldt, L.; Balvanera, P.; O'Connor, M.I.; Gonzalez, A. The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* **2011**, 98, 572-592.
- Caron, D.A.; Countway, P.D.; Savai, P.; Gast, R.J.; Schnetzer, A.; Moorthi, S.D.; Dennett, M.R.; Moran, D.M.; Jones, A.C. Defining DNA-based operational taxonomic units for microbial-eukaryote ecology. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, 75, 5797-5808.
- Chapin III, F.S.; Matson, P.A.; Vitousek, P. *Principles of Terrestrial Ecosystem Ecology*. New York, Springer-Verlag, 2011.
- Cheng, Y.; Wang, J.; Mary, B.; Zhang, J.B.; Cai, Z.C.; Chang, S.X. Soil pH has contrasting effects on gross and net nitrogen mineralizations in adjacent forest and grassland soils in central Alberta, Canada. *Soil Biol. Biochem.* **2013**, 57, 848-857.
- Cornwell, W.K.; Wright, I.J.; Turner, J. *et al.* Climate and soils together regulate photosynthetic carbon isotope discrimination within C3 plants worldwide. *Global Ecol. Biogeogr.* **2018**, 27, 1056-1067.
- Delgado-Baquerizo, M.; Oliverio, A.M.; Brewer, T.E.; Benavent-González, A.; Eldridge, D.J.; Bardgett, R.D.; Maestre, F.T.; Singh, B.K.; Fierer, N. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science* **2018**, 359, 320-325.

- Delgado-Baquerizo, M.; Reith, F.; Dennis, P.G.; Hamonts, K.; Powell, J.R.; Young, A.; Singh, B.K.; Bissett, A. Ecological drivers of soil microbial diversity and soil biological networks in the Southern Hemisphere. *Ecology* **2018**, *99*, 583-596.
- Delgado-Baquerizo, M.; Maestre, F.T.; Reich, P.B.; Jeffries, T.C.; Gaitan, J.J.; Encinar, D.; Berdugo, M.; Campbell, C.D.; Singh, B.K. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* **2016a**, *7*, 10541.
- Delgado-Baquerizo, M.; Grinyer, J.; Reich, P.B.; Singh, B.K. Relative importance of soil properties and microbial community for soil functionality: insights from a microbial swap experiment. *Funct. Ecol.* **2016b**, *30*, 1862-1873.
- Delgado-baquerizo, M.; Trivedi, P.; Trivedi, C.; Eldridge, D.J.; Reich, P.B.; Jeffries, T.C.; Singh, B.K. Microbial richness and composition independently drive soil multifunctionality. *Funct. Ecol.* **2017**, *31*, 2330-2343.
- Fierer, N.; Jackson, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 626-631.
- Gamfeldt, L.; Hillebrand, H.; Jonsson, P.R. Multiple Functions Increase the Importance of Biodiversity for Overall Ecosystem Functioning. *Ecology* **2008**, *89*, 1223-1231.
- Geml, J.; Semenova, T.A.; Morgado, L.N.; Welker, J.M. Changes in composition and abundance of functional groups of arctic fungi in response to long-term summer warming. *Biol. Lett.* **2016**, *12*.
- Gobat, J.-M.; Aragno, M.; Matthey, W. Le sol vivant : Bases de pédologie – Biologie des sols. Lausanne, PPUR, 2017.
- Gotelli, N.J.; Ulrich, W.; Maestre, F.T. Randomization tests for quantifying species importance to ecosystem function. *Methods Ecol. Evol.* **2011**, *2*, 634-642.
- Grime, J.P. Plant Strategies, Vegetation Processes, and Ecosystem Properties. London, John Wiley & Sons, 2006.
- Grman, E.; Zirbel, C.R.; Bassett, T.; Brudvig, L.A. Ecosystem multifunctionality increases with beta diversity in restored prairies. *Oecologia* **2018**, *188*, 837-848.
- Hao, M.; Corral-Rivas, J.J.; González-Elizondo, M. S. *et al.* Assessing biological dissimilarities between five forest communities. *For. Ecosyst.* **2019**, *6*, 30.
- Han, W.X.; Fang, J.Y.; Reich, P.B.; Woodward, F.I.; Wang, Z.H. Biogeography and variability of eleven mineral elements in plant leaves across gradients of climate, soil and plant functional type in China. *Ecol. Lett.* **2011**, *14*, 788-796.
- Hautier, Y.; Isbell, F.; Hector, A. *et al.* Local loss and spatial homogenization of plant diversity reduce ecosystem multifunctionality. *Nat. Ecol. Evol.* **2018**, *2*, 50-56.

- Hector, A.; Bagchi, R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nature* **2007**, 448, 188-190.
- Hill, M.O. Diversity and evenness: a unifying notation and its consequences. *Ecology* **1973**, 54, 427-432.
- Hooper, D.U.; Dukes, J.S. Overyielding among plant functional groups in a long-term experiment. *Ecol. Lett.* **2004**, 7, 95-105.
- Husson, O. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: A transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil* **2013**, 362, 389-417.
- Huston, M.A. Hidden treatments in ecological experiments: re-evaluating the ecosystem function of biodiversity. *Oecologia* **1997**, 110, 449-460.
- Kendrick, B. The Fifth Kingdom. Indianapolis, Hackett Publishing, 1992.
- Knoepp, J.D.; Vose, J.M. Regulation of nitrogen mineralization and nitrification in Southern Appalachian ecosystems: Separating the relative importance of biotic vs. abiotic controls. *Pedobiologia* **2007**, 51, 89-97.
- Koleff, P.; Gaston, K.J.; Lennon, J.J. Measuring Beta Diversity for Presence-Absence Data. *J. Anim. Ecol.* **2003**, 72, 367-382.
- Lamoureux, P. 2007. « Taux d'altération des sols de la bordure sud du Bouclier canadien, Québec, Canada : description physique des sols et modélisation de l'altération avec le modèle profile » Mémoire. Montréal (Québec, Canada), Université du Québec à Montréal, Maîtrise en géographie.
- Lauber, C.L.; Hamady, M.; Knight, R.; Fierer, N. Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, 75, 5111-5120.
- Li, J.; Delgado-Baquerizo, M.; Wang, J.-T.; Hu, H.-W.; Cai, Z.-J.; Zhu, Y.-N.; Singh, B.K. Fungal richness contributes to multifunctionality in boreal forest soil. *Soil Biol. Biochem.* **2019**, 136, 107526.
- Loreau, M.; Naeem, S.; Inchausti, P.; Bengtsson, J.; Grime, J. P.; Hector, A.; Hooper, D.U.; Huston, M. A.; Raffaelli, D.; Schmid, B.; Tilman, D.; Wardle, D. A. Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Science* **2001**, 294, 804-808.
- Loreau, M.; de Mazancourt, C. Biodiversity and ecosystem stability: a synthesis of underlying mechanisms. *Ecol. Lett.* **2013**, 16, 106-115.
- Colombo, F.; Macdonald, C.A.; Jeffries, T.C.; Powell, J. R.; Singh, B. K. Impact of forest management practices on soil bacterial diversity and consequences for soil processes. *Soil Biol. Biochem.* **2016**, 94, 200-210.

- Maestre, F.T.; Quero, J. L.; Gotelli, N. J. *et al.* Plant Species Richness and Ecosystems Multifunctionality in Global Drylands. *Science* **2012**, 335, 214-218.
- Maire, V.; Wright, I. J.; Prentice, I. C. *et al.* Global effects of soil and climate on leaf photosynthetic traits and rates. *Global Ecol. Biogeogr.* **2015**, 24, 706-717.
- Marie-Victorin, F.; Rouleau, E.; Brouillet, L. Flore Laurentienne. Paris, G. M. Éditeur, 1995.
- Mori, A.S.; Isbell, F.; Seidl, R. β -Diversity, Community Assembly, and Ecosystem Functioning. *Trends Ecol. Evol.* **2018**, 33, 549-564.
- Mouillot, D.; Villéger, S.; Scherer-Lorenzen, M.; Mason, N. W. H. Functional Structure of Biological Communities Predicts Ecosystem Multifunctionality. *PLoS ONE* **2011**, 6, 17476.
- Odum, E.P. The Strategy of Ecosystem Development. *Science* **1969**, 164, 262-270.
- Pärtel, M. Local plant diversity patterns and evolutionary history at the regional scale. *Ecology* **2002**, 83, 2361-2366.
- Rengel, Z. Handbook of plant growth: pH as the master variable. New York, Marcel Dekker, 2002.
- Ricklefs, R.; Relyea, R.; Richter, C. Ecology: The Economy of Nature. Londres, W. H. Freeman and Company, 2014.
- Schloss, P.D.; Westcott, S. L.; Ryabin, T. *et al.* Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microb.* **2009**, 75, 7537-7541.
- Seo, D.C.; DeLaune, R.D. Effect of redox conditions on bacterial and fungal biomass and carbon dioxide production in Louisiana coastal swamp forest sediment. *Sci. Total Environ.* **2010**, 408, 3623-3631.
- Simpson, E. Measurement of diversity. *Nature* **1949**, 163, 688.
- Spellerberg, I.F.; Fedor, P.J. A tribute to Claude Shannon (1916-2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the “Shannon-Wiener” Index. *Global Ecol. Biogeogr.* **2003**, 12, 177-179.
- Sriswasdi, S.; Yang, C.-C.; Iwasaki, W. Generalist species drive microbial dispersion and evolution. *Nat. Commun.* **2017**, 8, 1162.
- Tilman, D.; Knops, J.; Wedin, D.; Reich, P.; Ritchie, M.; Siemann, E. The Influence of Functional Diversity and Composition on Ecosystem Processes. *Science* **1997**, 277, 1300-1302.
- Truog, E. The Liming of Soils. In *Yearbook of Agriculture*. Washington, USDA, 1944.

- Vitousek, P.M.; Porder, S.; Houlton, B. Z.; Chadwick, O. A. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen–phosphorus interactions. *Ecol. Appl.* **2010**, *20*, 5-15.
- Wang, S.; Loreau, M. Ecosystem stability in space: α , β and γ variability. *Ecol. Lett.* **2014**, *17*, 891-901.
- Zavaleta, E.S.; Pasari, J. R.; Hulvey, K. B.; Tilman, D. Sustaining multiple ecosystem functions in grassland communities requires higher biodiversity. *PNAS* **2010**, *107*, 1443-1446.

CHAPITRE III – ARTICLE SCIENTIFIQUE 1

BOREAL FOREST MULTIFUNCTIONALITY IS PROMOTED BY LOW SOIL ORGANIC MATTER CONTENT AND HIGH REGIONAL BACTERIAL BIODIVERSITY IN NORTH-EASTERN CANADA

Le contenu de ce chapitre a fait l'objet d'un article soumis (9 décembre 2019), révisé (22 janvier 2020), accepté (24 janvier 2020) et publié (29 janvier 2020) en anglais dans la revue *Forests* (facteur d'impact de 2.116) dans un numéro spécial portant sur les communautés microbiennes des forêts et les processus écosystémiques.

La référence de cet article est la suivante : Giguère-Tremblay, R.; Laperrière, G.; de Grandpré, A.; Morneau, A.; Bisson, D.; Chagnon, P.-L.; Germain, H.; Vincent, M. Boreal Forest Multifunctionality Is Promoted by Low Soil Organic Matter Content and High Regional Bacterial Biodiversity in Northeastern Canada. *Forests* **2020**, *11*, 149.

3.1 Contribution des auteurs

Tous les auteurs ont contribué soit à la rédaction et/ou à la révision majeure de l'article. Plus précisément, Vincent Maire, Hugo Germain et moi avons pensé le projet, et écrit l'article puis j'ai effectué les analyses statistiques, des manipulations sur le terrain et en laboratoire pour mesurer les variables d'intérêt puis les PCR pour obtenir la diversité bactérienne. Genevieve Laperrière a réalisé la campagne d'échantillonnage ainsi que les extractions d'ADN et les PCR fongiques. Elle a aussi aidé à la réalisation des PCR sur les bactéries et à la bio-informatique. Arthur de Grandpré a contribué de manière significative aux analyses statistiques et aux analyses spatiales. Amélie Morneau a réalisé son projet de fin de baccalauréat sur ce projet. Elle a ainsi participé à la campagne d'échantillonnage et aux analyses de pH et de Eh. Danny Bisson nous a permis d'avoir accès aux cartes écoforestières et nous a fourni une assistance technique tout au long du projet. Pierre-Luc Chagnon a collaboré au niveau des indices de biodiversité. Finalement, Hugo Germain et Vincent Maire ont co-supervisé le projet global et l'article.

3.2 Résumé de l'article

Cet article porte sur le contenu global de mon projet de maîtrise; savoir s'il existe une relation BEF (biodiversité microbienne – Fonctionnement écosystémique) au sein des écosystèmes forestiers boréaux du Québec. Nous avons aussi voulu démontrer l'importance de pH et du Eh comme mesure pour les communautés microbiennes. L'échantillonnage a été réalisé en 2017 en Abitibi-Témiscamingue et à La Tuque (Haute-Mauricie) à la fin des mois de juin et septembre respectivement. Un total de 156 polygones forestiers a été échantillonné dans le milieu boréal. Afin de caractériser nos milieux, douze variables abiotiques et douze variables biotiques ont été mesurées, estimées ou calculées en plus de la métagénomique effectuée pour obtenir la biodiversité fongique et bactérienne. L'utilisation de deux indices de diversité, soit alpha et beta, a permis de mieux comprendre les effets de la biodiversité sur la multifonctionnalité. Les résultats présentés dans l'article montrent que 50 % de la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux du Québec est expliqué d'abord par le pH et la matière organique du sol puis par la diversité bêta bactérienne et par la diversité alpha fongique. Il est toutefois étonnant que la température ne semble avoir qu'un faible effet sur la multifonctionnalité dans notre modèle puisque cette variable semble être particulièrement importante dans les autres études présentes dans la littérature. Notre modèle montre aussi que le Eh a le plus d'effet sur la diversité fongique tandis que c'est surtout le pH chez les bactéries. Cette étude apporte de nouvelles connaissances sur les forêts boréales gérées et pourra permettre de mieux comprendre l'importance de la préservation des sols qui contiennent le microbiome nécessaire au bon fonctionnement des écosystèmes.

3.3 Article complet en anglais : Boreal forest multifunctionality is promoted by low soil organic matter content and high regional bacterial biodiversity in North-Eastern Canada

Abstract

Boreal forests provide important ecosystem services, most notably being the mitigation of increasing atmospheric CO₂ emissions. Microbial biodiversity, particularly the local diversity of fungi, has been shown to promote multiple functions of the boreal forests of Northeastern China. However, this microbial biodiversity-multifunctionality relationship has yet to be explored in Northeastern Canada, where historical environment have shaped a different regional pool of microbial diversity. This study focuses on the relationship between the soil microbiome and ecosystem multifunctionality, as well as the influence of pH and redox potential (Eh) on the regulation of such relationship. Structural equation modelling (SEM) was used to explore the different causal relationships existing in the studied ecosystems. In a managed part of the Canadian boreal forest, 156 forest polygons were sampled to (1) estimate the α - and β -diversity of fungal and bacterial communities and (2) measure 12 ecosystem functions mainly related to soil nutrient storage and cycling. Both bacteria and fungi influenced ecosystem multifunctionality, but on their own respective functions. Bacterial β -diversity was the most important factor increasing primary productivity and soil microbial biomass, while reducing soil emitted atmospheric CO₂. Environmental characteristics, particularly low levels of organic matter in soil, were shown to have the strongest positive impact on boreal ecosystem multifunctionality. Overall, our results were consistent with those obtained in Northeastern China; however, some differences need to be further explored especially considering the history of forest management in Northeastern Canada.

Introduction

The boreal forest covers over 11% of the globe's surface and provides crucial ecosystem functions and services to human society, such as wood production, nutrient cycling, and climate regulation. The boreal forest can respectively store between

87 to 105 PgC y⁻¹ and 198 to 271 PgC y⁻¹ into standing biomass and soils, i.e., more than one third of the atmospheric pool [1,2]. In temperate and dryland ecosystems, soil microbial diversity has been suggested to be key in maintaining ecosystem multifunctionality [3,4]. The role of boreal microbial diversity is particularly low in importance when compared to other biomes, which might be expected considering the lower level of microbial diversity inhabiting the boreal biome [5,6]. In addition, only the role of fungal biodiversity was found to be significant in boreal systems, while bacterial and fungal diversity were found to be equally comparable in other biomes [4,5,7,8,9]. However, the role of microbial biodiversity in boreal forests was only explored in Northeastern China, which impedes a definitive conclusion on the large-scale importance and the relative roles of bacterial vs fungal biodiversity on ecosystem multifunctionality.

Fungi provide crucial roles to ecosystems through the use of an extensive mycelial network translocating water and nutrients, breaking down organic compounds and improving soil aggregation [10,11]. In boreal forests, fungi seem adapted to low pH values and recalcitrant carbon sources, which results in a higher biodiversity than bacteria [12]. However, bacteria, which have been shown to be essential to the dynamics of ecosystem functioning, possess a very high adaptive potential and a wide metabolic diversity. As such, they can colonize all environments and their diversity and abundance can rapidly be shaped by the abiotic habitat [13,14]. Their diversity and role in ecosystems should therefore depend on the historical regional context and the conditions in which the region's microorganisms evolved in during the last millennia [15]. According to the regional species pool hypothesis, microbial diversity should be higher in an acidic environment at local scale if the historical regional context of that environment has been acidic [15]. As such, the soil microbial biodiversity-multifunctionality relationship has never been tested in an acidic historical regional context as provided by the Eastern Canadian Shield, and where bacterial biodiversity might be expected to be as important as fungal biodiversity in the modulation of the boreal forest multifunctionality [4,9,16,17].

As described by Hector and Bagchi (2007), the concept of multifunctionality represents the ability of ecosystems to simultaneously maintain multiple functions

[4,18,19]. The multiple functions provided by the ecosystem are considered to be spread along independent dimensions representing ecosystem services. Boreal forests are mainly managed to promote one particular dimension, which is wood production. Fungal biodiversity might be important for the wood production dimension, whereas bacterial biodiversity may be more related to another multifunctionality dimension, such as the N biogeochemical cycle (e.g., nitrification). We then propose to disentangle the specific roles of bacteria and fungi on the dimension of productivity, as well as their respective role on each additional dimension of the ecosystem multifunctionality.

One important way to characterize microbial diversity is with the α -diversity index, which represents the number of operational taxonomic units (OTUs) observed at local scale (vegetation patch) [20,21]. In relation with the multifunctionality index, α -diversity indicates both the complementary roles that multiple species can play on ecosystem multifunctionality and the chance to select a species with a predominant role [22]. Recent studies in plant ecology have also demonstrated that the spatial variation in community composition (i.e., β -diversity) can also modulate ecosystem multifunctionality, such that a heterogeneous landscape provides higher multifunctionality [21,23]. It is particularly important to study this relationship in boreal forest where significant forest management (54% in Canada) may have led to a spatial heterogenization of the landscape [24,25]. Decoupling α - and β -diversity both for microorganisms and for boreal forest to determine its impact on multifunctionality has yet to be tested.

Environmental conditions regulate microbial community structure [14]. Among abiotic variables that modulate microbial diversity, soil pH is a strong driver at a landscape level, potentially reflecting variations in parent material [6,14,26]. In boreal forests, soil pH is expected to be strongly associated with the accumulation of soil organic matter releasing H^+ and therefore may have less of an influence on the structure of microbial biodiversity. Redox potential (Eh), which should be less covaried with soil organic matter content, is another key variable for understanding the diversity of microorganisms [17]. Like pH, microbial communities have been selected to live within a range of narrow and specific Eh conditions [17]. For example, fungi are more likely to grow under oxidative

conditions ($E_h > + 250$ mV), while bacteria will be more abundant under reducing conditions ($E_h < 0$ mV) [27]. Although E_h variations are expected to have a large selective effect on the physiological and phenotypic composition of soil communities, its effect on microbial diversity and modulation of the biodiversity-multifunctionality relationship has yet to be explored.

The following study evaluates the microbial diversity-multifunctionality relationship based on 156 forest stands, which were chosen from ecoforestry maps in order to maximize the variation in environmental conditions within the regions of Abitibi-Témiscamingue and Haute-Mauricie. The sites were located on the Canadian Shield and a managed part of the boreal forest. The aims of this study were (i) to test the existence of a relationship between soil microbial biodiversity and the multiple functions of the Eastern-Canadian boreal forest ecosystems; (ii) to determine the respective role of local and regional heterogeneity of fungal and bacterial biodiversity beyond this relationship; and (iii) to determine if pH and E_h are key drivers in regulating this relationship through their influence on microbial diversity. To achieve these aims, total bacterial and fungal diversity was measured using next-generation sequencing. Ecosystemic functioning and abiotic parameters were measured in the laboratory, while climate data were extracted from online data bases, and primary productivity was estimated by satellite remote sensing. Relationships were established using structural equation modelling (SEM).

Materials and methods

Study sites

Our study was conducted in boreal forest ecosystems located on the Canadian Shield in Abitibi-Témiscamingue (AT, N48°14'3.25", W79°1'7.62") and Haute-Mauricie (HM, N47°26'18.026" W72°47'2.151") in the province of Quebec, Canada. The Canadian Shield is a large area of North America that exposes Precambrian igneous and metamorphic rocks and is characterized by a thin acidic layer of soil [16]. Using a forest

inventory database including 75 parameters and 33,000 stands released in 2009 through the Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP), 156 polygonal forest stands were selected to maximize the environmental contrast of five habitat variables: surface deposits (sand, till, clay, fluvial, peatland), drainage (low, medium, high), as well as the stand age (young 0-80 years, old > 80 years) and the dominant tree species (*Betula papyrifera* Marsh., *Picea glauca* (Moench) Voss, *Picea mariana* (P. Mill.) B.S.P., *Populus tremuloides* Michx., *Pinus banksiana* Lamb., *Abies balsamea* (L.) P. Mill.). The 156 polygons represent the boreal forest subset of the polygons used by Laperriere *et al.* (2019) [28].

Forest polygons Sampling

The sampling was done during summer of 2017 in late June for AT and in September for HM. The sampling of each forest polygon consisted of establishing a quadrat of 400 m² in which we collected six soil samples that were transferred and mixed into a common Ziplocs bag to get a homogeneous and representative soil of the quadrat. A subsample of this mixture was collected and immediately placed in a cooler for DNA measurements. The remaining soil was split evenly in two Ziplocs bag; one was refrigerated (4 °C) while the other was left open to allow the soil to air dry. Two additional soil cores (10 cm-length by 6 cm-diameter) were sampled to get soil bulk density. During the sampling, we maintained sterile conditions using new sterile equipment at each quadrat in order to avoid cross-contamination between forest polygons.

Abiotic measurements

We used air-dried soil to measure the following soil characteristics: water holding capacity (WHC) (adapted from [29]), organic matter concentration (Mo) by loss on ignition (adapted from [30]), soil texture (Fritsch Analyzer 22 microtech plus), and pH and Eh using a platinum probe (5 × 5 mm) and an Ag/AgCl electrode coupled to a voltmeter (based on [31], refer to [28]). Soil porosity and water-filled pore space (WFP) were calculated using WHC and bulk density [29,32]. Fresh soil was used to measure the

water content (Teau). For climatic data, we used a public dataset from the government of Canada [33]. With the geographic coordinates of the polygons, we extracted the following historical data: mean annual temperature ($^{\circ}\text{C}$, TEMP_MOY), average cumulative precipitation during the growing season (mm, PPT), average length of the frost-free season (day, SGEL4), average length of the growing season (SC), and average base days of 0°C (DJ_0). A brief summary description of these variables is available in Table 1.

Table 1. Description of abiotic variables.

Variables	Description	Type	Source
TEMP_MOY	Mean temperature, calculated with DJ0 and SC ($^{\circ}\text{C}$).	Climate	E
PPT	Average cumulative precipitation during the growing season (mm) between 1974 and 2003.	Climate	E
DJ0	Average base days 0°C accumulated between April 1 and October 31 between 1979 and 2008 (days).	Climate	E
SC	Average length of the growing season ($T_{\text{moy}} \geq 5.5^{\circ}\text{C}$) based on the period 1979 to 2008 (days).	Climate	E
SGEL4	Average length of the frost-free season (days) with a minimum temperature above a frost temperature threshold of -4°C (1979-2008).	Climate	E
WHC	Water Holding Capacity. Maximum water retention of the soil.	Soil	M
Teau	Quantity of water present in the fresh soil one month after the sampling.	Soil	M
Poro	Porosity of the soil. Calculate using WHC and bulk density	Soil	C
WFP	Water-filled pore space	Soil	C
pH	Hydrogen potential.	Soil	M
Eh	Redox potential.	Soil	M
Mo	Soil organic matter measured by loss on ignition.	Soil	M

*E = Estimated M = Measured C = Calculated

Ecosystem functions

Ecosystem functioning was estimated by a series of functions representing the capacity of the ecosystem to capture, transform, and recycle energy, matter, and nutrients. The primary productivity was estimated using satellite imagery and photos taken at 45 degrees under the tree cover and was used to measure two proxies: the top of canopy

normalized difference vegetation index (NDVI) and a bottom of canopy green index (Green). NDVI was derived from 30 m resolution Landsat 8 surface reflectance products, as obtained from the United States Geological Survey (USGS) [34]. Images with a cloud cover of less than 10% were selected to minimize gaps in data and average NDVI was calculated from a total of 8 images (from June to August 2014-2018) in every forest polygon according to the following equation:

$$\text{NDVI} = (\text{NIR} - \text{R}) / (\text{NIR} + \text{R}) \quad (1)$$

where NIR is the near infrared and R is the red in the image's composition. Bottom of canopy green index (Green) was measured at the four corners of each quadrat as well as canopy opening (Canopy) with R software and imaging analysis.

We used DNA concentration as a proxy to measure soil microbial biomass in each quadrat [3,4,35]. DNA concentration was realized by fluorescence using Synergy H1 microplate reader and Quant-it Picogreen dsDNA kit (Thermo fisher). The read was made by using the fluorometric method, using a wavelength excitation of 480 nm and an emission of 520 nm. DNA concentration was calculated with a standard calibration curve, as described in the Quant-it Picogreen dsDNA kit protocol.

The soil ability to cycle nutrients was assessed using soil mineral nitrogen content (Ni), rate of nitrogen mineralization (Nmin), respiration rate (Resp0 and Resp), and bioavailability of soil orthophosphates (P). Respiration rate and mineralization of soil nitrogen were measured on dried soil by quantifying CO₂ emission and mineral nitrogen dynamic after adding 0.2 g of cellulose to at least 15.0 g of rewetted soil (60% of its field capacity), then incubated in 200 mL glass jars sealed with lids fitted with a silicone septum for 14 days at 25 °C. Mineralization was quantified by measuring the initial and final concentrations of nitrate, nitrite, and ammonium. These concentrations, as well as those in orthophosphates (Mehlich-III (IV-07)), were measured at the Laboratory of Organic and Inorganic Chemistry (Directorate of Forestry Research) of the MFFP. CO₂ emission measurements were taken after the pre-incubation time (0) and then after 2, 4, 8, and 14 days of incubation using a gas analyzer (LI-COR LI-7810).

The rate of nutrient cycling was quantified, according to the Steinweg and McMahon (2012) protocol, by measuring extracellular enzyme activities commonly used in the literature, such as: β -1-4-glucosidase (BGL), β -1-4-N-acetylglucosaminidase (NAG), and phosphatases (PHO) [36,37,38], using 4-methylumbelliferone-attached substrates (MUB). Measurements were made by spectrofluorometry, with an excitation wavelength of 365 nm and an emission wavelength of 450 nm. As for the abiotic variables, a short description of each variable is available in Table 2.

Table 2. Description of ecosystem functioning variables.

Variables	Description	Type	Source
<i>BGL</i>	Activity of the extracellular enzyme β -1,4-glucosidase (MUB release $\text{h}^{-1} \text{g}_{\text{soil}}^{-1}$). It allows the breakdown of cellulose into glucose before being assimilated by microorganisms.	C cycle	<i>M</i>
<i>NAG</i>	Activity of the extracellular enzyme β -1,4-N-acetylglucosaminidase (MUB release $\text{h}^{-1} \text{g}_{\text{soil}}^{-1}$). It allows the degradation of chitin.	N cycle	<i>M</i>
<i>PHO</i>	Activity of the extracellular enzyme acid phosphatase (MUB release $\text{h}^{-1} \text{g}_{\text{soil}}^{-1}$). It allows the hydrolysis of phosphatases from phosphosaccharides and phospholipids.	P cycle	<i>M</i>
<i>P</i>	Quantity of phosphorus in the soil (mg Kg^{-1}). Mehlich-III method was used.	P cycle	<i>M</i>
<i>NDVI</i>	Normalized difference vegetation index. Index sensitive to vigor and quantity of vegetation present.	Primary productivity	<i>E</i>
<i>Canopy</i>	Estimation of the openness of the canopy. "Quantity of visible sky in the plot".	Primary productivity	<i>E</i>
<i>Green</i>	"Amount" index of chlorophyll present in the plot using photo taken under the canopy.	Primary productivity	<i>E</i>
<i>Resp0</i>	Quantity of CO_2 (ppm) emitted following preincubation of soil for 48 hrs (T0).	C cycle	<i>M</i>
<i>Resp</i>	Maximum respiration rate ($\text{ppm g}_{\text{driedsoil}}^{-1}$) of the soil measured for 12 days (T12).	C cycle	<i>M</i>
<i>Ni</i>	Amount of N initially present in soils prior to the 12-day mineralization incubation (mg Kg^{-1}).	N cycle	<i>M</i>
<i>Nmin</i>	Mineralization rate following 12 days of incubation (mg Kg^{-1}).	N cycle	<i>M</i>
<i>ADN</i>	Total amount of DNA found in soil composite ($\text{ADN g}_{\text{soil}}^{-1}$).	Soil microbial biomass	<i>M</i>

*E = Estimated M = Measured

Extraction and PCR amplification

The extraction of total DNA was carried out using a commercial kit (PowerSoil kit QIAGEN) on frozen samples. For fungal diversity, extractions were amplified by PCR using the primer pair fITS7-ITS4. Each PCR was done at three different temperatures (48, 51, and 58 °C) to allow the primers to combine with as many species as possible (see [28]). For bacterial diversity, the same DNA extractions were amplified by PCR at a single temperature of 48 °C with the 16S specific 515F-805R primer pair with a CS1 (ACACTGACGACATGGTTCTACAGTGCCA GCMGCCGCGG) and CS2 (TACGGTAGCAGAGACTTGGTCTGACTACHVGGGTATCTAATCC) tag added at the final 5' extremities [39]. PCR were performed using the same master mix preparation as Laperriere *et al.* (2019) [28]. PCR reaction was made with the following thermocycling conditions: 34 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at 48 °C, and 40 s at 72 °C. Reactions were preceded by a 3 min denaturation step at 94 °C and terminated with a 5 min elongation step at 72 °C. In all cases, all amplicons were verified on agarose gel before analysis and sent to for sequencing with the Illumina MiSeq method to GenomeQuébec Innovation Center of McGill University.

Multifunctionality and microbial diversity indexes

In order to calculate the microbial diversity index, taxonomy was obtained by comparing our DNA sequences to those of public databases. For fungi, bioinformatics was performed with Vsearch (see [28]), while for bacteria, it was done using the DADA2 package on R software (version 3.5.1). Specifically, DADA2 was used as a pipeline to cut and filter DNA sequences. The merging of forward and reverse sequences took place in Galaxy [40]. The combined DNA sequences were then downloaded and manipulated again in R to perform dereplication, remove chimeras, and assign taxonomy (see [28] for details). The public databases used were utax_reference (UNITE datasets v.7.2) and SILVA (SILVA_132_SSURef_tax_silva) for fungi and bacteria, respectively.

The transformation of genomic information to an alpha (α) and beta (β) diversity index was done by calculating the species richness (α -fungi and α -bacteria) and the

Sørensen's dissimilarity (SOR, β -bacteria and β -fungi) by using the “diversity” and “betadiver” functions from package Vegan in R. The SOR index equation was calculated as follows:

$$\text{SOR} = (2*a)/(2(a+b+c)) \quad (2)$$

where a is the number of species shared between two polygons and b and c are the number of unique species not shared between each polygon [41]. The SOR index ranges from 0 to 1, where 0 indicates that a polygon shared all its species with other polygons, while 1 defined a polygon where all inhabiting species were different from other polygons [21]. With the final matrices (one for fungi and one for bacteria), we then calculated the mean to obtain one value per polygon.

Statistical analysis

All statistical analyses were performed using the R software. All variables were normalized in order to perform two principal component analyses (PCA) to extract the main dimensions describing abiotic environment and ecosystem multifunctionality. Sites with missing data were excluded from the analysis, and only the principal components of eigenvalue > 1 were selected. Polygons' scores on these PCA axes were used in the following analyses. Generalized linear models (GLM) were then constructed between ecosystem functioning dimensions and α and β fungal and bacterial diversity. Fungal and bacterial α -diversity and β -diversity were transformed when necessary using a Box Cox transformation (boxcox function in MASS package version 7.3-50) to get a normal distribution. Gaussian GLM family was used to account for a range of values comprised between $[-\infty, +\infty]$. GLM between abiotic environment variable and diversity were also used to understand their drivers (see complementary materials). We also tested the addition of categorical variables, which were used to select our sites as random factors in all GLM models. They were excluded because they did not improve model performance (Supplementary Material Table S2.3). The Byrnes *et al.* (2014) R pipeline was used to calculate the multifunctionality index using the averaging method [42]. The method uses the average of multiple functions, previously normalized, and the standard deviation in

order to get an index that is easy to interpret (see [42] for details). To perform SEM, all variables were also scaled to reduce the variance. SEM was performed with the “OpenMx”, “lavaan”, and “semPlot” packages in R to determine the causal effects of microbial diversity and environmental conditions on ecosystem multifunctionality [43]. It is important to note that the first and the fourth dimensions of ecosystem functioning were inverted (multiplication by -1) in the multifunctionality index and the SEM. In the latter, the first and second dimensions of environmental variables were also inverted in order to make the results easier to interpret in terms of benefits from ecosystem functions.

Results

Dimensions of the ecosystem functioning

The first four components of the PCA explained 66.1% of the variation in ecosystem functions (Figure 1, Supplementary Material Table S1.1 and Figure S1.1). The first PCA component was related to soil C emission opposing soils with high enzymatic activities and high respiration rate to soils where carbon was less emitted to the atmosphere. The second PCA component was related to primary productivity and soil microbial biomass opposing forests with high canopy cover (NDVI) and high soil DNA biomass to forests with the opposing syndrome. The third component was related to soil N mineralization opposing soils with high nitrification rate to soils with high content in mineral nitrogen. Finally, the fourth selected PCA component was related to canopy opening and phosphorus limitation opposing forest with low soil available phosphate to sites with high canopy aperture, probably resulting from low phosphorus fertility.

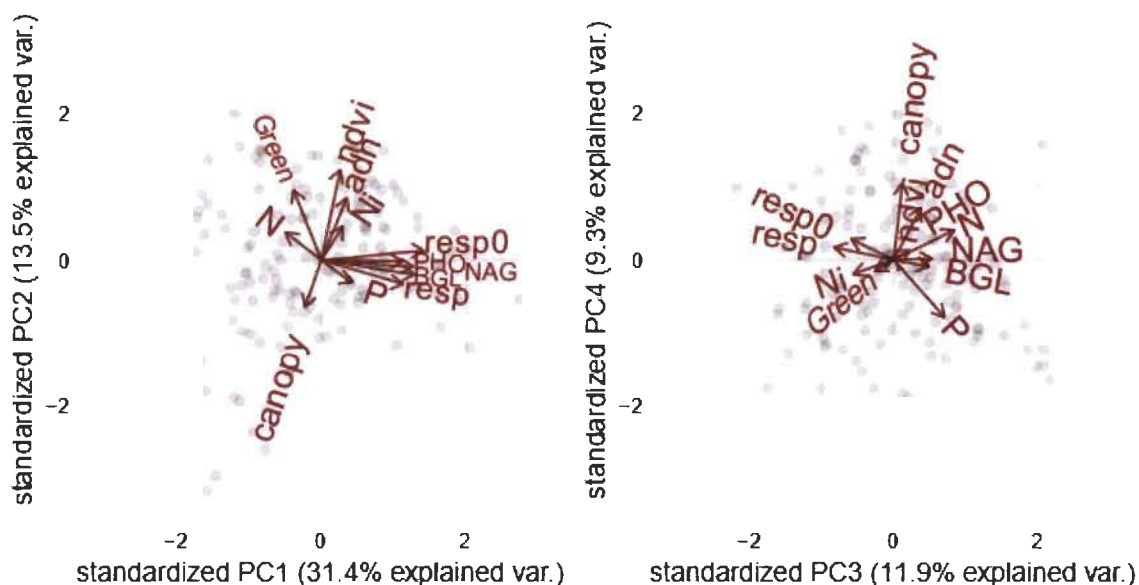


Figure 1 PCA of ecosystem functions measured in the boreal forest to perform a grouping.

The graphs represent in a) the dimensions 1 and 2 and in b) the dimensions 3 and 4. The grouping goes as follows: F1 = Soil C emission, F2 = Primary productivity and soil microbial biomass, F3 = N mineralization and F4 = Canopy opening and phosphorus limitation. $n = 156$. (For more information, please refer to Supplementary Material Table S1.1).

A PCA performed with abiotic environmental variables (Figure S1.3 in Supplementary Material) explained almost 80% of the variance in three principal components (Figure S1.2 and Table S1.2a in Supplementary Material). Dimensions were defined as follows: the first environmental dimension opposed soils with high organic matter content, silt content, porosity, and WHC to soils with high pH; the second dimension was negatively related to atmospheric temperature; finally, the third dimension was a climate-soil axis opposing forests with high mean annual precipitation to the ones with high soil oxidative capacity and clay content (Table S1.2b in Supplementary Material).

Response of ecosystem functioning dimensions to microbial biodiversity

A total of 9794 OTUs of fungi (26 to 760 per site) and 24,936 OTUs (45 to 1196 per site) of bacteria were retrieved from the 156 forest polygons. Alpha-diversity ranged

between 74 and 1196 for bacteria and between 26 and 700 for fungi. Beta-diversity of bacteria varied from 0.019 to 0.301, while fungal varied from 0.013 to 0.120.

Figure 2 shows the relationship between fungal diversity and the multiple functions of boreal forests. There was a statistically significant negative correlation between the soil C emission and both α - and β -diversity, thus suggesting that local and regional fungal diversity decreased both the extracellular breakdown of organic matter and the emission of CO₂. Fungal α -diversity was found to be significantly related to the N mineralization dimension, so that the low diversity was associated with low rates of mineralization but with high concentration of mineral N in soil solution. Fungal diversity tended to be related with higher canopy openness and low soil phosphorus concentration, but the relationship was not significant.

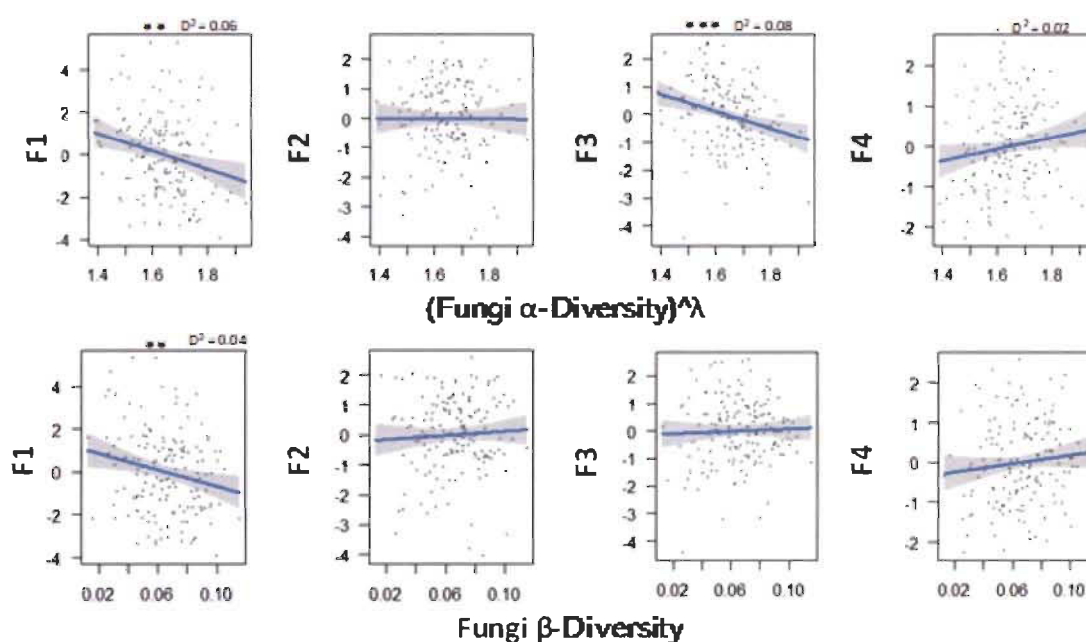


Figure 2 Relations between fungal α and β biodiversity and the ecosystem functions analyzed by GLM and a Gaussian law grouped with PCA axes.

Transformation parameter λ was equaled to 0.10 for fungal α -diversity. Threshold of significance go as follows: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1. D2 represents the adjusted amount of deviance for GLM (Dsquared function in modEvA package v1.3.2.). Even though it explains only 8.0% of the variance, fungal diversity explains best the N cycle. n = 156.

Figure 3 indicates that bacterial diversity strongly influence ecosystem multifunctionality. As for fungal diversity, bacteria tended to limit soil CO₂ emission when they were more diverse locally and regionally. In addition, both diversity metrics were correlated with primary productivity and soil microbial biomass. Finally, in contrast with fungi, there was a strong positive correlation between the N mineralization and β -diversity. This may suggest that the more communities differed from one another, the more the ecosystem tended to have a bigger mineralization rate, and in return, a lower soil mineral N content that was susceptible to lixiviation. No tendency appeared between P-cycle and bacterial diversity.

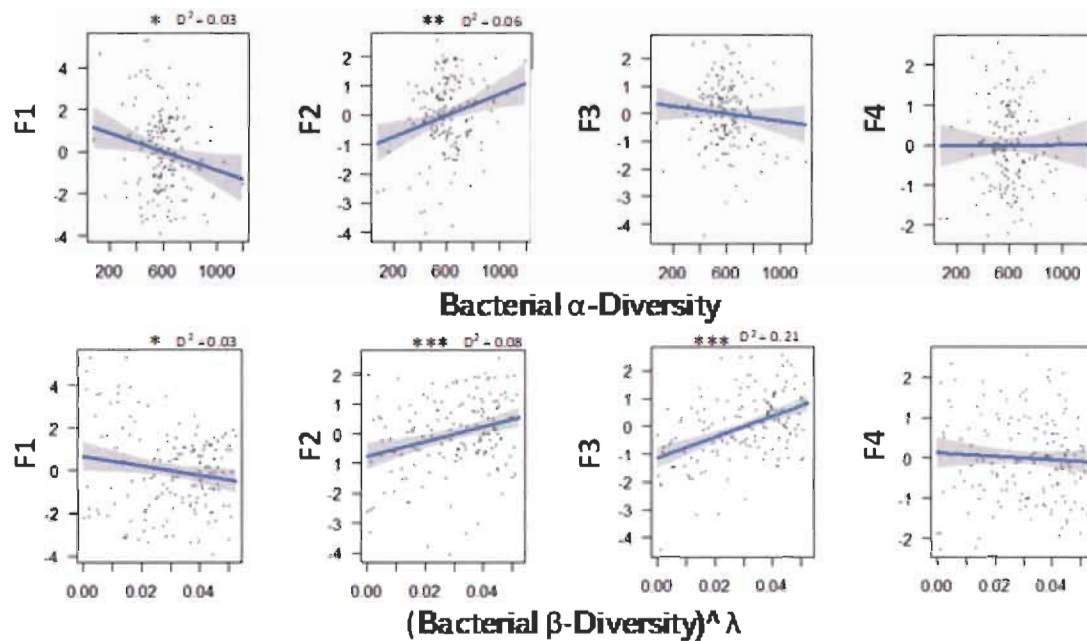


Figure 3 Relations between bacterial α and β biodiversity and the ecosystem functions analyzed by GLM and a Gaussian law grouped with PCA axes. Transformation parameter λ was equaled to 2.45 for fungal β -diversity. Threshold of significance go as follows: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 " 1. D^2 represents the adjusted amount of deviance for GLM (*Dsquared* function in *modEvA* package v1.3.2). Bacterial diversity explains best the primary productivity and soil microbial biomass (F2) and the N cycle (F3) with 8.0% and 21.0% of the variance, respectively. $n = 156$.

Causal effects of biodiversity and environment on ecosystem functioning

Regarding both bacteria and fungi (Figure 4 and Figure 5), SEM revealed that biodiversity has a direct effect on ecosystem functioning. In addition, this effect was organism-, function-, and biodiversity metric-dependent. We also observed that the direct effects of biodiversity on ecosystem functioning was relatively low compared with the direct effects of environmental drivers.

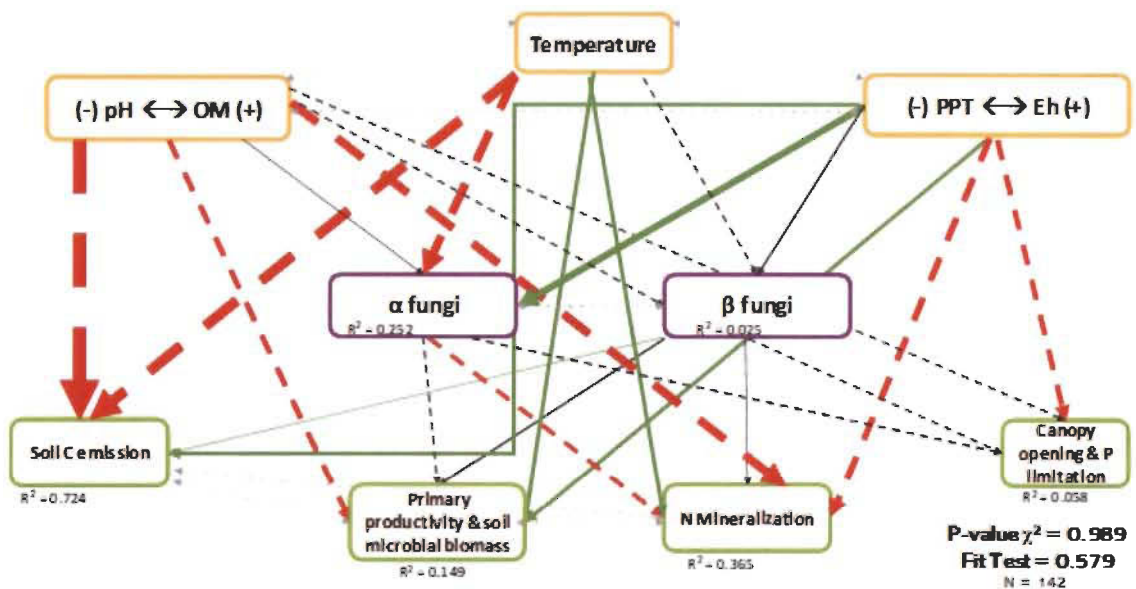


Figure 4 Causal relationships between abiotic variables, fungal diversity and ecosystem functioning.

Structural equation model of boreal forest ecosystems in Quebec. The direction of the arrows indicates the direction of the regression existing between the variables. The solid (green) arrows represent a positive correlation, while the dotted (red) arrows represent negative correlations (*Supp. Material Table S3.1*). The small pale gray arrows show the covariation. The black arrows are the non-significant correlations at a threshold of 0.1. The thickness of these arrows informs about the strength of the correlation. The R^2 shows the proportion of the variance explained for each variable and the model's P -value and *Fit Test* indicates the acceptability of the model. The strongest relationships are between organic matter (and pH) and temperature related variables and the soil C emission. $n = 142$.

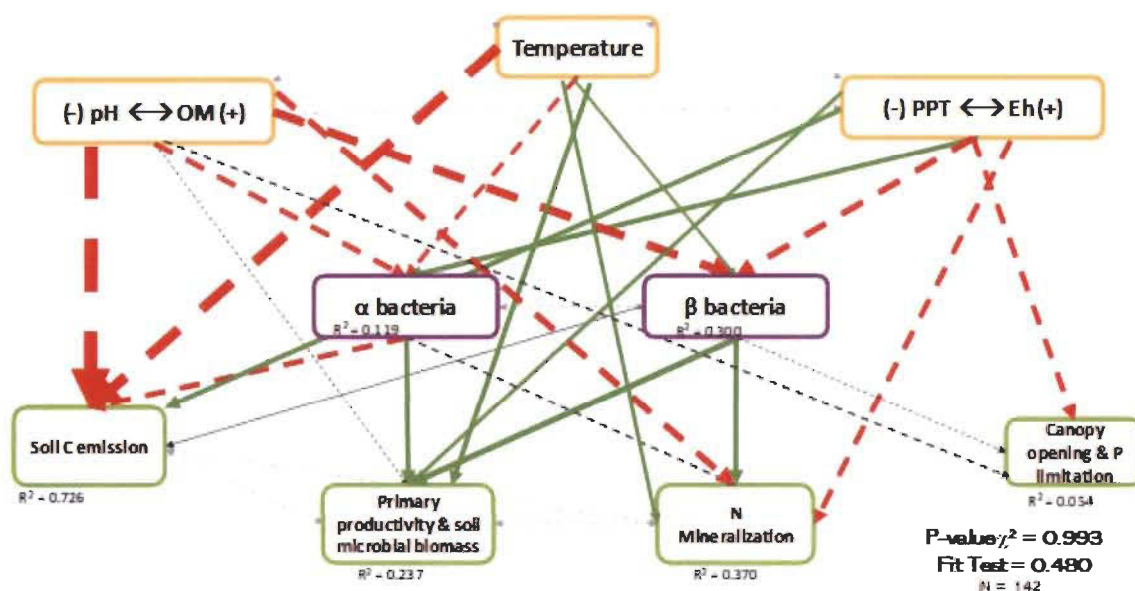


Figure 5 Causal relationships between abiotic variables, bacterial diversity and ecosystem functioning.

Structural equation model of boreal forest ecosystems in Quebec. The direction of the arrows indicates the direction of the regression existing between the variables. The solid (green) arrows represent a positive correlation, while the dotted (red) arrows represent negative correlations (*Supp. Material Table S3.2*). The small pale gray arrows show the covariation. The black arrows are the non-significant correlations at a threshold of 0.1. The thickness of these arrows informs about the strength of the correlation. The R^2 shows the proportion of variance explained for each variable and the model's P -value and Fit Test indicates the acceptability of the model. The strongest relationships are between organic matter (and pH) and temperature related variables and the soil C emission, but there are also non neglectable relationships between the diversity and three ecosystem functions (F1, F2 and F3). $n = 142$.

Figure 4 shows the least-rejected SEM model for fungal diversity, which explained 72.4%, 14.9%, 36.5%, and 0.06% of the variation in soil C emission, primary productivity and soil microbial biomass, soil N mineralization and P limitation dimensions, respectively. Relationships between fungal biodiversity and ecosystem functions were similar in Figure 2, except for the soil C emission dimension. The latter occurred because the effect of biodiversity shown in Figure 2 was mainly indirect, probably due to the influence of temperature on both the fungal biodiversity and on the soil C emission dimension. The abiotic variables, mainly temperature and Eh dimension, explained 25.2% of the variation of fungal α -diversity, while fungal β -diversity was poorly explained (see Table S3.1). It is very important to note the existence of the covariation between α - and

β -diversity (Coef. = 0.506), which, without it, reduced the performance of the model, thus demonstrating the importance of the interaction between the two types of diversity.

Figure 5 shows the least-rejected SEM model for bacterial diversity, which explained 72.6%, 23.7%, 37.0%, and 0.05% of the variation in soil C emission, primary productivity and soil microbial biomass, soil N mineralization, and P limitation dimensions, respectively. Relationships between bacterial biodiversity and ecosystem functions were similar to Figure 3, thus revealing that the effects of biodiversity on multifunctionality were mainly direct. Although it is well described in the literature that bacteria depend on the environment, only 11.9% of the variation in α -diversity (Coef.OM = -0.196, Coef.Temperature = -0.161, Coef.Eh = 0.231) was explained by the three environmental dimensions. The environment explained more for the β -diversity (30.0%, Coef.OM = -0.437, Coef.Temperature = 0.155, Coef.Eh = -0.303) than the α -diversity. Again, we noted the importance of the existing covariation between the two types of diversity in bacteria (Coef = 0.033).

Finally, the importance of pH and Eh on microbial diversity in boreal forest could be observed (Figure 4 and Figure 5). The role of soil pH cannot be distinguished from soil organic matter, as they are strongly covaried in the first principal component (C-cycle dimension). By analyzing the regression standardized coefficients (Supplementary Material Tables 3.1 and 3.2), we noted that the α -diversity of fungi and bacteria was driven positively by precipitation and soil pH and negatively by temperature. Bacterial β -diversity was particularly positively driven by soil pH and Eh.

Microbial biodiversity and the multifunctionality of boreal forests

To study the respective role of fungal and bacterial diversity on ecosystem functioning, we pooled all functions into a multifunctionality index in order to get an interpretable result. In that sense, the first and fourth principal components of ecosystem functions were inverted to take into consideration the benefits that a lower soil CO₂ emission and P availability have on ecosystem functioning and human society. As such,

ecosystems that had a high value of multifunctionality index were characterized by low atmospheric CO₂ emission, high primary productivity and soil microbial biomass, low mineral N content in soil solution preventing N lixiviation but high enzymatic ability to provide N whenever required, and finally high soil P content.

Figure 6 shows the result of decision trees (RandomForest) used to analyze what variables seemed to have the greatest effect on multifunctionality. Multifunctionality was mainly influenced by the pH-OM dimension, as well as by the β -diversity of both bacteria and fungi (bB, bF) (Figure 6). Interestingly, and such as before (Figure 4 and Figure 5), the temperature appeared to have little effect on multifunctionality when compared to the PPT-Eh dimension. Local diversity (aB, aF) had a low effect on multifunctionality.

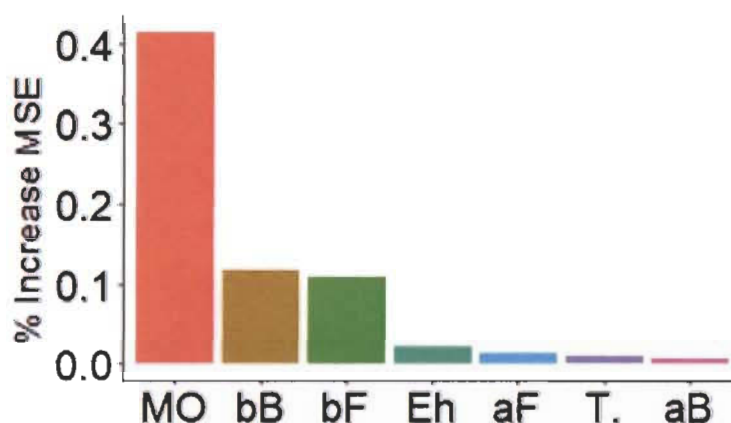


Figure 6 Key predictors of multifunctionality.

These are the main predictors, according to decision trees (Random Forest) performed with 5000 iterations. The importance of these predictors is observed according to the increase of the % of MSE (Mean Square Error). MO = Organic Matter related variables (41.5%), bB = Bacterial β -diversity (12.0%), bF = Fungal β -diversity (10.9%), Eh = redox potential (2.1%), aF = Fungal α -diversity (1.4%), T. = Temperature related variables (1.0%) and aB = Bacterial α -diversity (0.7%).

Figure 7 shows the least-rejected model by SEM, which explained 50.2% of the variation in the multifunctionality of boreal forests. As shown previously, abiotic variables were the dominant explicative factors of multifunctionality, while bacterial β -diversity and fungal α -diversity showed lower but significant effects. Bacterial β -diversity had a positive effect on the multifunctionality (Coef. = 0.209), while the effect of

fungal α -diversity was negative (Coef. = -0.072). As mention before, although several variables influenced microbial diversity, pH (Coef. = -0.434) and Eh (Coef. = 0.367) had the most important effect on bacterial β -diversity and fungal α -diversity, respectively. Because the sign of the correlation between microbial diversity, Eh, and pH differed, it may suggest that fungi and bacteria tended to have different habitats. When the pH is acidic and the Eh shows high reducing conditions, the bacterial community will be promoted, and fungi will be promoted with higher pH and moderated reducing conditions.

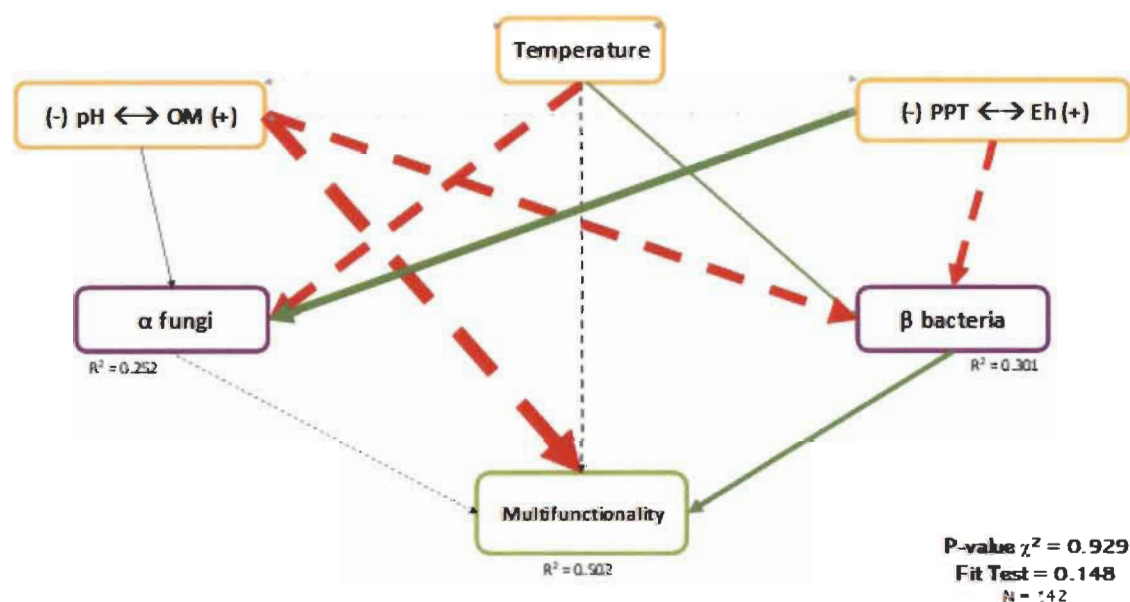


Figure 7 Causal relationships between abiotic variables, microbial diversity and multifunctionality.

Structural equation model of boreal forest ecosystems in Quebec. The direction of the arrows indicates the direction of the regression existing between the variables. The solid (green) arrows represent a positive correlation, while the dotted (red) arrows represent negative correlations (*Supp. Material Table S3.3*). The small pale gray arrows show the covariation. The black arrows are the non-significant correlations at a threshold of 0.1. The thickness of these arrows informs about the strength of the correlation. The R^2 shows the proportion of variance explained for each variable and the model's P -value and *Fit Test* indicates the acceptability of the model. $n = 142$.

Discussion

Our study provides a better understanding of the ecosystem multifunctionality of the Northeastern Canadian boreal forest, with a final model that explained up to 50% of

variation across 156 sites. We were able to show that soil organic matter, through a negative relationship, and microbial β -diversity, through a positive relationship, were the two key drivers of ecosystem multifunctionality in managed boreal forests. This level of explained variation in ecosystem multifunctionality is comparable to other studies, where 53% of variation was described in drylands around the world, 38% in Scotland, and 65% in the boreal forests of Northeastern China [4,5].

Multifunctionality and microbial diversity

We found that both fungal and bacterial biodiversity played a role in the ecosystem functions and multifunctionality of the boreal forests. Despite the relatively short time period since the last glaciation in Northeastern America to constitute a large diversity pool, microbial biodiversity that has developed on the acidic and reducing environment of the Canadian shield evolved to promote primary productivity and soil microbial biomass as well as limit soil organic breakdown and soil CO₂ emission, both of which contribute to the mitigation of increasing atmospheric CO₂ concentrations [44].

Although we found significant roles that local diversity (α -diversity) played on specific dimensions of ecosystem multifunctionality, the heterogeneity of bacterial communities (β -diversity) was found to act as a main contributor to the whole biodiversity effect. While such results were observed in plant species, to our knowledge, this study is the first to show such an impact through microbes [23,45]. The importance of heterogeneity in the regional pool of species may suggest that there were only a few groups (or families) of dominant microorganisms that acted as fundamental pillars to the multifunctionality of boreal ecosystems and other groups of an ecological niche. Recently, Delgado-Baquerizo *et al.* (2018) demonstrated that 41% of the relative abundance of total bacteria sequenced were only represented in 2% of the phylotypes studied. For instance, 30% of the relative abundance of bacteria in boreal environments were Proteobacteria [14]. As a result, this dominant group may have favored a strong composition effect on the bacteria of our study. For instance, Li *et al.* (2019) demonstrated that fungal biodiversity composition represented half of the microbial biodiversity effect in boreal forests.

In addition, we were able to show that microbial α -diversity in the boreal forest of Northeastern Canada had a minor role on ecosystem multifunctionality. The effect of local microbial diversity was significant on two particular functions (C-cycle and N-cycle for fungi and C-cycle and ecosystem productivity for bacteria), but this disappeared when looking at all functions together. Conversely, local fungal diversity remained in the final model but with a moderately negative effect on ecosystem multifunctionality, particularly through its negative impact on N mineralization and its positive impact on soil mineral N concentration. These results partially contradict the literature, which states that fungal biodiversity has been found to promote ecosystem multifunctionality [4]. However, these studies were conducted in temperate, semi-arid, and arid climates where microorganisms have long coevolved with their environment. The positive role of local fungal biodiversity was also observed in the boreal forest of Eastern China. When compared to Canada, Eastern China was not covered by ice during the last glaciation, which may have provided a longer timescale for the development of a larger and more specialized regional pool of fungal biodiversity in order to promote ecosystem multifunctionality [44,46].

Finally, both the significant role of β -diversity and bacteria, and the minor role of α -diversity and fungi, may come from the management activities of our sites within the Canadian boreal forest. The forest management involved consisted of an average forestry rotation period of 100 years, which increases both regional heterogeneity and local homogeneity of landscape [25]. Such a human disturbance may promote a preference for a particular adapted microbial species and unfavored the network of mycelium and the complementarity role of fungal biodiversity.

A predominant role of the environment on ecosystem multifunctionality

As in northeastern China, our study showed that environmental conditions were a predominant driver of ecosystem multifunctionality in boreal forests. Soil organic matter was specifically the main environmental driver (in bivariate regressions, determination coefficient, $r^2_{\text{SOM-Multifunctionality}} = 46\%$, while it was less than 39% between

humidity variables and multifunctionality), which differs from Li *et al.* (2019) who found that it was mainly soil humidity. As soil humidity usually strongly covaries with soil organic matter [47], we suggested that the high concentration of soil organic matter increased soil humidity, which increased soil CO₂ emission, soil mineral N content, and potentially its leaching and also decreased primary productivity and soil microbial biomass, altogether leading to lower multifunctionality.

The negative effect of soil organic matter on multifunctionality can be explained by the average very high organic matter content of the soils studied (median 9.7%, mean = 16.5%). According to ecosystem development dynamics, soils that have accumulated such an amount of organic matter content may enter a stage of retrogression that is characterized by lower total soil base fertility and ecosystem primary productivity [48,49,50]. This may be particularly true in managed boreal forests where fire disturbance is strongly reduced, which limits the burn of humus bulk and drives away the root system from the parent rock [51,52].

Temperature had a minor effect on multifunctionality, which can be explained by its positive role on primary productivity and soil microbial biomass that cancelled out the positive effect on soil CO₂ emission towards the atmosphere. The soil Eh had no clear direct effect on ecosystem functions, but rather had a clear indirect effect by distinctively modulating fungal and bacterial biodiversity.

Environmental role in determination of microbial biodiversity

We found that physicochemical variables (pH and Eh), organic matter, and temperature influenced soil microbial biodiversity. Bacterial diversity was mainly increased by a reducing Eh and a neutral pH (Figure 5), which corresponded to the optimal conditions of bacteria [17]. Our results are in agreement with many study conclusions that showed the importance of soil pH for biodiversity modulation [6,14,26]. At the macroecological scale, the relationship between microbial diversity and pH is mainly quadratic, with an optimum around a pH = 7 [26]. Even though we do not have the whole

pH gradient, we also observed a positive correlation with a maximum bacterial heterogeneity near a pH = 7. This positive relationship is however in contradiction with the regional species pool hypothesis, who stated that biodiversity is shaped according to the historical regional context and the conditions in which microorganisms of the region evolved during the last millennia [15]. As such, in the regional acidic Canadian shield environment, we should have found a negative relationship between soil pH and local biodiversity. Instead, we found that in an acidic environment, there is a more homogeneous, ubiquitous, and less diverse bacterial community.

The local fungal community seems, however, to respond to this theory, with high diversity when the soil pH is more acidic. It is known that pH is a great driver of diversity, but very few studies have demonstrated the importance of Eh in the regulation of diversity. It has been shown in forest swamp sediment that fungi are more likely to grow under oxidative conditions in opposition of bacteria which will be more abundant under reducing conditions [17,27]. The mean Eh in our study was 0.22, which may have favored great regional bacterial diversity and a weak effect of the fungal diversity. As such, both pH and Eh were observed to be key factors in the regulation of microbial biodiversity in boreal forests.

Conclusion

This study allowed for a better understanding of the boreal forest multifunctionality in the acidic and reducing regional context of the Eastern Canadian Shield. Our study provides a clear indication of the complementary role that both fungal and bacterial biodiversity had on respective functions encapsulated into the multifunctionality index. We also were able to determine the respective and dominant role of microbial β -diversity over α -diversity on ecosystem multifunctionality. These results need to be put into perspective with regards to disturbances resulting from boreal forest management. Even though microbial diversity is important, we were able to highlight the predominant role of soil organic matter on multifunctionality.

Supplementary Materials

The following are available online at <https://www.mdpi.com/1999-4907/11/2/149/s1>, Figure S1.1: Visualization of the elbow (a) and variance explanation percentage (b) to establish the number of dimensions to be retained in the PCA of ecosystem function variables., Figure S1.2: Visualization of the elbow (a) and percentage of explanation of variance (b) to establish the number of dimensions to be retained in the PCA of environmental variables., Figure S1.3: PCA of abiotic variables measured in the boreal forest to perform a grouping., Figure S2.1: GLM of fungal alpha (α) and beta (β) biodiversity and abiotic environment variables., Figure S2.2: GLM of bacterial alpha (α) and beta (β) biodiversity and abiotic environment variables., Figure S2.3: GLMs explanation comparison with and without random variables of bacterial and fungal alpha (α) and beta (β) biodiversity and biotic environment variables., Table S1.1: Ecosystem functioning variables., Table S1.2: Abiotic variables., Table S3.1: Fungal SEM regressions correlations coefficients values., Table S3.2: Bacterial SEM regressions correlations coefficients values., Table S3.3: Multifunctionality SEM regressions correlations coefficients values.

Funding: The study was funded by MITACS Accélération, from the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC), the Consortium de Recherche Bioindustrielle du Québec (CRIBIQ) and private funding from Progigraph Inc. and Temiskiming First Nation.

Acknowledgments: We would like to thank Dany Bouchard for his invaluable help in the laboratory of the RIVE (UQTR), Alexandre Brisson and Mathias Bisailon as research assistants, Roger Larivière and Marcel Otis for their expertise about boreal forest fungi, the team involved in sampling (Isabelle Gosselin, Joëlle Rancourt, Ingrid Berenice and Perrine Juillion), and Emily Pesci for reviewing the grammar of the paper.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Clemmensen, K.E.; Bahr, A.; Ovaskainen, O.; Dahlberg, A.; Ekblad, A.; Wallander, H.; Stenlid, J.; Finlay, R.D.; Wardle, D.A.; Lindahl, B.D. Roots and Associated Fungi Drive Long-Term Carbon Sequestration in Boreal Forest. *Sci.* **2013**, *339*, 1615-1618.
2. Bradshaw, C.J.; Warkentin, I.G. Global estimates of boreal forest carbon stocks and flux. *Glob. Planet. Chang.* **2015**, *128*, 24-30.
3. Maestre, F.T.; Quero, J.L.; Gotelli, N.J.; Escudero, A.; Ochoa, V.; Delgado-Baquerizo, M.; García-Gómez, M.; Bowker, M.A.; Soliveres, S.; Escolar, C.; *et al.* Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Sci.* **2012**, *335*, 214-8.
4. Delgado-Baquerizo, M.; Maestre, F.T.; Reich, P.B.; Jeffries, T.C.; Gaitan, J.J.; Encinar, D.; Berdugo, M.; Campbell, C.D.; Singh, B.K. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 10541.
5. Li, J.; Delgado-Baquerizo, M.; Wang, J.-T.; Hu, H.-W.; Cai, Z.-J.; Zhu, Y.-N.; Singh, B.K. Fungal richness contributes to multifunctionality in boreal forest soil. *Soil Boil. Biochem.* **2019**, *136*, 107526.
6. Fierer, N.; Jackson, R.B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2006**, *103*, 626-631.
7. Luo, P.; Han, X.; Wang, Y.; Han, M.; Shi, H. Influence of long-term fertilization on soil microbial biomass, dehydrogenase activity, and bacterial and fungal community structure in a brown soil of northeast China. *Ann. Microbiol.* **2015**, *65*, 533-542.
8. Jing, X.; Sanders, N.J.; Shi, Y.; Chu, H.; Classen, A.T.; Zhao, K.; Chen, L.; Shi, Y.; Jiang, Y.; He, J.-S. The links between ecosystem multifunctionality and above- and belowground biodiversity are mediated by climate. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8159.
9. Delgado-Baquerizo, M.; Grinyer, J.; Reich, P.B.; Singh, B.K. Relative importance of soil properties and microbial community for soil functionality: insights from a microbial swap experiment. *Funct. Ecol.* **2016**, *30*, 1862-1873.
10. Kendrick, B. The Fifth Kingdom, *Mycologue Publications*, Ed.; 2nd ed.; Focus Information Group Inc.: Newburyport, United States, 1992.
11. Gobat, J.-M.; Aragno, M.; Matthey, W. *Le sol vivant : Bases de pédologie – Biologie des sols*; Presses polytechniques et universitaires romandes : Lausanne, Suisse; 2010.
12. Rousk, J.; Bååth, E.; Brookes, P.C.; Lauber, C.L.; Lozupone, C.; Caporaso, J.G.; Knight, R.; Fierer, N.; B, E. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* **2010**, *4*, 1340-1351.

13. Bertrand, J.-C.; Caumette, P.; Lebaron, P.; Matheron, R.; Normand, P. *Écologie Microbienne : Microbiologie des milieux naturels et anthropisés*; Presses universitaires de Pau et des Pays de l'Adour : Charenton-le-Pont, France, 2011.
14. Delgado-Baquerizo, M.; Oliverio, A.M.; Brewer, T.E.; Benavent-González, A.; Eldridge, D.J.; Bardgett, R.D.; Maestre, F.T.; Singh, B.K.; Fierer, N. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Sci.* **2018**, *359*, 320-325.
15. Pärtel, M. Local plant diversity patterns and evolutionary history at the regional scale. *Ecology* **2002**, *83*, 2361-2366.
16. Hengl, T.; Jesus, J.M. De; Heuvelink, G.B.M.; Ruiperez, M.; Kilibarda, M.; Blagoti, A.; Shangguan, W.; Wright, M.N.; Geng, X.; Bauer-marschallinger, B.; *et al.* SoilGrids250m: Global gridded soil information based on machine learning. *PLoS One* **2017**, *12*(2), 1-40.
17. Husson, O. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant Soil* **2013**, *362*, 389-417.
18. Hector, A.; Bagchi, R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality. *Nat.* **2007**, *448*, 188-190.
19. Cardinale, B.J.; Matulich, K.L.; Hooper, D.U.; Byrnes, J.E.; Duffy, E.; Gamfeldt, L.; Balvanera, P.; O'Connor, M.I.; Gonzalez, A. The functional role of producer diversity in ecosystems. *Am. J. Bot.* **2011**, *98*, 572-592.
20. Blaxter, M.; Mann, J.; Chapman, T.; Thomas, F.; Whitton, C.; Floyd, R.; Abebe, E. Defining operational taxonomic units using DNA barcode data. *Philos. Trans. R. Soc. B: Boil. Sci.* **2005**, *360*, 1935-1943.
21. Hautier, Y.; Isbell, F.; Borer, E.T.; Seabloom, E.W.; Harpole, W.S.; Lind, E.M.; Macdougall, A.S.; Stevens, C.J.; Adler, P.B.; Alberti, J.; *et al.* Local loss and spatial homogenization of plant diversity reduce ecosystem multifunctionality. *Nat. Ecol. Evol.* **2018**, *2*, 50-56.
22. Loreau, M.; Naeem, S.; Inchausti, P.; Bengtsson, J.; Grime, J.P.; Hector, A.; Hooper, D.U.; Huston, M.A.; Raffaelli, D.; Schmid, B.; *et al.* Biodiversity and Ecosystem Functioning: Current Knowledge and Future Challenges. *Sci.* **2001**, *294*, 804-808.
23. Grman, E.; Zirbel, C.R.; Bassett, T.; Brudvig, L.A. Ecosystem multifunctionality increases with beta diversity in restored prairies. *Oecologia* **2018**, *188*, 837-848.
24. Kurz, W.; Shaw, C.; Boisvenue, C.; Stinson, G.; Metsaranta, J.; Leckie, D.; Dyk, A.; Smyth, C.; Neilson, E. Carbon in Canada's boreal forest – A synthesis. *Environ. Rev.* **2013**, *21*, 260-292.

25. Boucher, D.; De Grandpré, L.; Kneeshaw, D.; St-Onge, B.; Ruel, J.-C.; Waldron, K.; Lussier, J.-M. Effects of 80 years of forest management on landscape structure and pattern in the eastern Canadian boreal forest. *Landsc. Ecol.* **2015**, *30*, 1913-1929.
26. Lauber, C.L.; Hamady, M.; Knight, R.; Fierer, N. Pyrosequencing-Based Assessment of Soil pH as a Predictor of Soil Bacterial Community Structure at the Continental Scale. *Appl. Environ. Microbiol.* **2009**, *75*, 5111-5120.
27. Seo, D.C.; Delaune, R.D. Effect of redox conditions on bacterial and fungal biomass and carbon dioxide production in Louisiana coastal swamp forest sediment. *Sci. Total. Environ.* **2010**, *408*, 3623-3631.
28. Genevieve, L.; Pierre-Luc, C.; Roxanne, G.-T.; Amélie, M.; Danny, B.; Vincent, M.; Hugo, G.; Laperriere, G.; Chagnon, P.-L.; Giguère-Tremblay, R.; *et al.* Estimation of Fungal Diversity and Identification of Major Abiotic Drivers Influencing Fungal Richness and Communities in Northern Temperate and Boreal Quebec Forests. *For.* **2019**, *10*, 1096.
29. Noggle, G.R.; Wynd, F.L. The determination of selected chemical characteristics of soil which affect the growth and composition of plants. *Plant Physiol.* **1941**, *16*, 39-60.
30. Détermination de la matière organique par incinération : méthode de perte au feu (PAF), Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec : Québec, Canada, 1-9 ; **2003**.
31. Husson, O.; Husson, B.; Brunet, A.; Babre, D.; Alary, K.; Sarthou, J.-P.; Charpentier, H.; Durand, M.; Benada, J.; Henry, M. Practical improvements in soil redox potential (Eh) measurement for characterisation of soil properties. Application for comparison of conventional and conservation agriculture cropping systems. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *906*, 98-109.
32. Robertson, G.P.; Coleman, D.C.; Bledsoe, C.S.; Sollins, P. Soil Structural and Other Physical Properties. Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research, 1; Oxford University Press, Inc: New York, United States.; 1999;(1, 75-78).
33. Gouvernement ouvert. Available online: <https://ouvert.canada.ca>. (accessed on 10 February 2019).
34. Earth Explorer. Available online: <http://earthexplorer.usgs.gov/> (accessed on 31 January 2019).
35. Johnson, S.; Kuske, C.R.; Carney, T.D.; Housman, D.C.; Gallegos-Graves, L.V.; Belnap, J. Increased temperature and altered summer precipitation have differential effects on biological soil crusts in a dryland ecosystem. *Glob. Chang. Biol.* **2012**, *18*, 2583-2593.

36. Microplate Enzyme Assay Using Fluorescence Original. Available online: http://enzymes.nrel.colostate.edu/assets/nrel_files/projects/enzymes/docs/microplatefluorescenceassay20120109.pdf (accessed on 2 September 2017).
37. Sinsabaugh, R.L.; Hill, B.H.; Shah, J.J.F. Eoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nat.* **2009**, *462*, 795-798.
38. Sinsabaugh, R.L.; Gallo, M.E.; Lauber, C.; Waldrop, M.P.; Zak, D.R. Extracellular Enzyme Activities and Soil Organic Matter Dynamics for Northern Hardwood Forests receiving Simulated Nitrogen Deposition. *Biogeochem.* **2005**, *75*, 201-215.
39. Huyben, D.; Sun, L.; Moccia, R.; Kiessling, A.; Dicksved, J.; Lundh, T. Dietary live yeast and increased water temperature influence the gut microbiota of rainbow trout. *J. Appl. Microbiol.* **2018**, *124*, 1377-1392.
40. Afgan, E.; Baker, D.; Batut, B.; Beek, M.V.D.; Bouvier, D.; Čech, M.; Chilton, J.; Clements, D.; Coraor, N.; A Grüning, B.; *et al.* The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, W537-W544.
41. Koleff, P.; Gaston, K.J.; Lennon, J.J. Measuring beta diversity for presence-absence data. *J. Anim. Ecol.* **2003**, *72*, 367-382.
42. Byrnes, J.E.K.; Gamfeldt, L.; Isbell, F.; Lefcheck, J.S.; Griffin, J.N.; Hector, A.; Cardinale, B.J.; Hooper, D.U.; Dee, L.E.; Duffy, J.E. Investigating the relationship between biodiversity and ecosystem multifunctionality: challenges and solutions. *Methods Ecol. Evol.* **2014**, *5*, 111-124.
43. Boker, S.; Neale, M.; Maes, H., & al. OpenMx: An Open Source Extended Structural Equation Modeling Framework. *Psychometrika* **76**, 306-317 (**2011**).
44. Kutzbach, J.; Gallimore, R.; Harrison, S.; Behling, P.; Selin, R.; Laarif, F. Climate and biome simulations for the past 21,000 years. *Quat. Sci. Rev.* **1998**, *17*, 473-506.
45. Pasari, J.R.; Levi, T.; Zavaleta, E.S.; Tilman, D. Several scales of biodiversity affect ecosystem multifunctionality. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2013**, *110*, 10219-10222.
46. CLIMAP (**1981**) Seasonal reconstructions of the earth's surface at the last glacial maximum. Geological Society of America Map Chart Series, MC-36.
47. Maire, V.; Wright, I.J.; Prentice, I.C.; Batjes, N.H.; Bhaskar, R.; Van Bodegom, P.M.; Cornwell, W.K.; Ellsworth, D.; Niinemets, Ülo; Ordonez, A.; *et al.* Global effects of soil and climate on leaf photosynthetic traits and rates. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2015**, *24*, 706-717.
48. Givnish, T.J. Ecological constraints on the evolution of plasticity in plants. *Evol. Ecol.* **2002**, *16*, 213-242.

49. Richardson, S.J.; Peltzer, D.A.; Allen, R.B.; McGlone, M.S.; Parfitt, R.L. Rapid development of phosphorus limitation in temperate rainforest along the Franz Josef soil chronosequence. *Oecologia* **2004**, *139*, 267-276.
50. Lambers, H.; Raven, J.A.; Shaver, G.R.; Smith, S.E. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends Ecol. Evol.* **2008**, *23*, 95-103.
51. Sirén, G. On the development of spruce forests on raw humus sites in north Finland and its ecology. *Acta For. Fenn.* **1955**, *62*, 408.
52. Simard, M.; LeComte, N.; Bergeron, Y.; Bernier, P.Y.; Paré, D. Forest productivity decline caused by successional paludification of boreal soils. *Ecol. Appl.* **2007**, *17*, 1619-1637.

CHAPITRE IV

AUTRES ASPECTS DU PROJET ET CONCLUSION

4.1 Autres résultats intéressants à explorer

4.1.1 Composition bactérienne du sol de la forêt boréale Québécoise

En 2018, Delgado-Baquerizo *et al.* ont réalisé une étude portant sur la caractérisation de certaines familles de bactéries présentes dans les différents biomes terrestres (Figure 4.1). Dans la présente section, j'ai voulu reproduire des figures semblables afin de pouvoir mieux comparer leur étude avec la nôtre dans le but de voir si les prédictions de leur atlas global correspondent aux familles de bactéries retrouvées au Québec avec des données terrain. Les principaux phylotypes à l'étude étaient très semblables dans les deux cas.

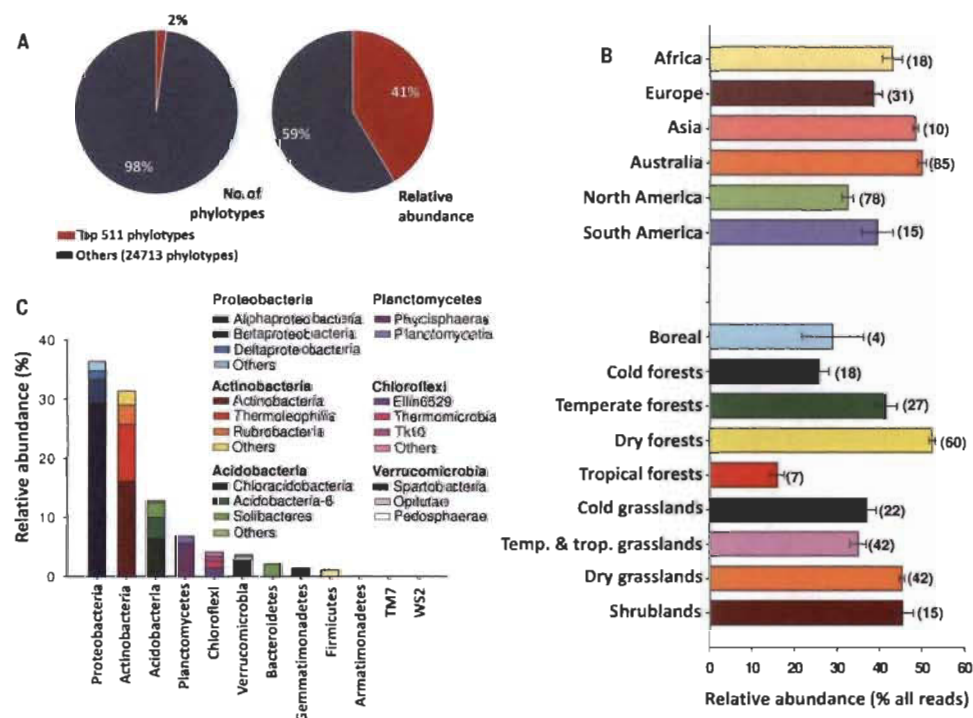


Figure 4.1 Abondance et Composition des phylotypes de bactéries dominantes mondialement. (Tirée de Delgado-Baquerizo *et al.*, 2018.)

La figure suivante montre le pourcentage de distribution de ces phylotypes de bactéries dans l'échantillonnage total des polygones forestiers boréaux (Figure 4.2). Il est possible de comparer cette dernière avec la figure 4.1B et 4.1C et d'observer que dans les deux études, les Protéobactéries sont les plus abondantes du milieu boréal.

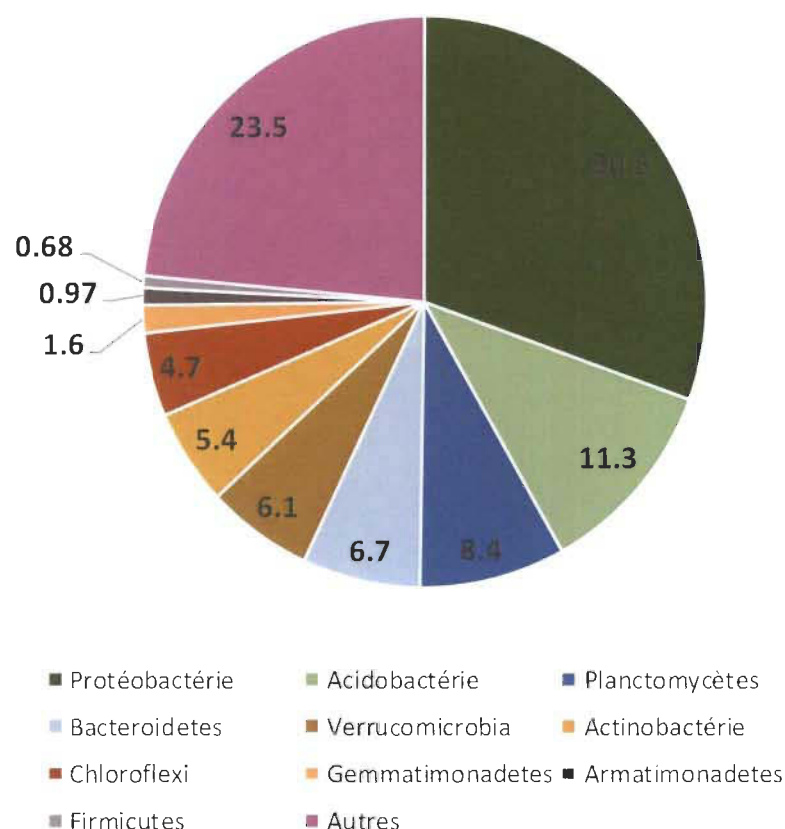


Figure 4.2 Abondance relative des différents phylotypes bactériens de la forêt boréale du Québec.

Les phylotypes analysés dans le graphique ci-dessus sont les mêmes que ceux sélectionnés par Delgado-Baquerizo *et al.* (2018). Les abondances relatives diffèrent toutefois entre leur étude et la nôtre.

L'abondance relative des deux phylotypes les plus abondants dans le milieu boréal québécois, soit les Protéobactéries et les Acidobactéries, représente près de 42 % des espèces présentes (Figure 4.3). Ce résultat est très semblable à celui de l'étude mentionnée précédemment dans laquelle seulement 2 % des phylotypes présents représentaient 41 % de l'abondance relative des communautés bactériennes échantillonnées (Figure 4.1A). Ce qui est d'autant plus intéressant à comparer entre les études est que les auteurs ont

effectué un atlas global avec des prédictions des phylotypes qui seraient les plus abondants suivant différentes variables environnementales. Lorsqu'on observe la carte de prédictions selon la variable environnementale de faible pH, il était prédit de retrouver davantage d'espèces liées à un pH acide. Avec les figures 4.2 et 4.3, on observe qu'effectivement les Acidobactéries sont très abondantes dans les forêts boréales du Québec. Avec les résultats présentés dans cette section-ci, la théorie du pool régional d'espèces de Meelis Pärtel semble se confirmer, en ce sens où une grande partie de la biodiversité microbienne présente au Québec est adaptée à son contexte régional acide.

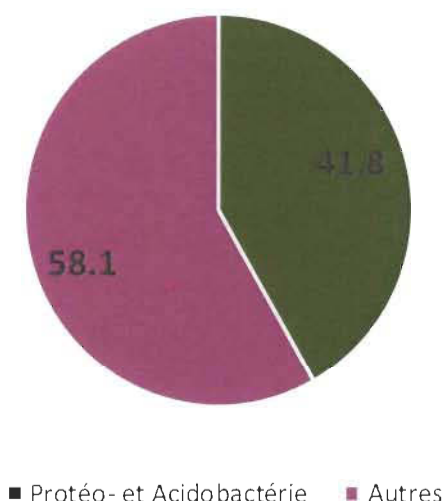


Figure 4.3 Abondance relative des Protéobactéries et des Acidobactéries, les deux phylums les plus abondants dans nos sols, et l'abondance relative de tous les autres phylums.

Les proportions retrouvées ici sont très similaires à celles trouvées par Delgado-Baquerizo *et al.* (2018).

4.1.2 Séparation régionale de la diversité

Comme expliqué dans le chapitre II et montré dans le chapitre III, la diversité α et β des micro-organismes jouent un rôle important dans le maintien de la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux. Il semble alors intéressant et important de mieux comprendre la distribution de la diversité microbienne au niveau régional afin de mieux expliquer le rôle de celle-ci sur les multiples fonctions. Dans notre étude, deux grandes régions étaient à l'étude soit l'Abitibi-Témiscamingue (AT) et la Haute-Mauricie (HM) autour de la ville

de La Tuque. Bien que ces deux régions soient situées en forêt boréale, HM était surtout situé sur les latitudes au sud de la région AT (qui allait plus au nord) (Figure 4.4). Les petites différences des contextes régionaux, par exemple leur âge, le taux d'exploitation forestière ou encore les perturbations humaines liés à la taille des grandes villes au centre de ces régions (densité HM = 0,39 hab./km², AT = 7,2 hab./km²), pourraient permettre de mieux comprendre l'effet de la biodiversité sur les fonctions écosystémiques.

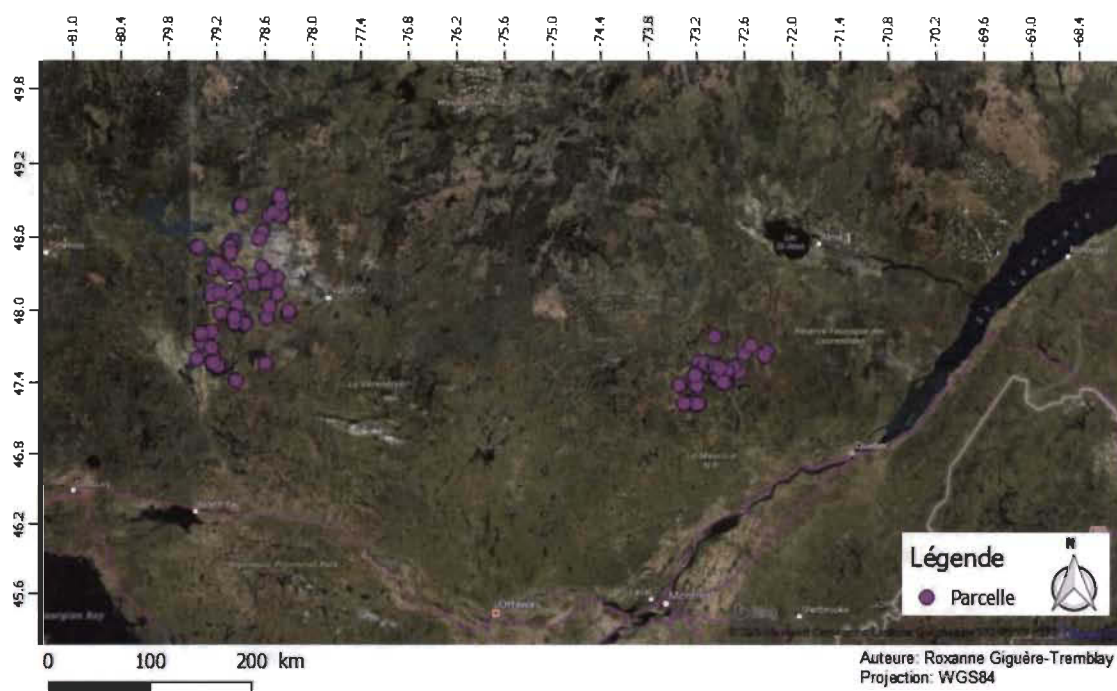


Figure 4.4 Carte des parcelles des polygones forestiers échantillonnés en 2017 en forêt boréale au Québec, plus précisément en Abitibi-Témiscamingue (juin-juillet) et en Haute-Mauricie (septembre-octobre).

Les figures suivantes montrent les corrélations entre les quatre composantes principales des fonctions écosystémiques (voir méthodologie Chapitre III) et les diversités α et β des champignons et des bactéries. Tout d'abord, il est important de constater que lorsque les deux régions sont regardées séparément, leur distribution est principalement gaussienne (à l'exception de la richesse spécifique fongique où une transformation *log* a été appliqué) alors que lorsque analysées ensemble, une transformation *box cox* selon le meilleur *lambda* a dû être appliquée sur la richesse spécifique des fungi et sur la diversité Sorensen des bactéries. De plus, il est important de mentionner que le nombre de parcelles dans la région AT était supérieur à celles de la

région HM (~ 110 vs 50). Cela dit, il n'est pas étonnant d'observer de légères différences au sein des relations entre la richesse spécifique des fungi et les fonctions écosystémiques (Figure 4.5). Bien que la composante principale 1 (FD1) soit reliée positivement avec la richesse spécifique dans la région HM et négativement avec la région AT, la tendance générale s'y dégageant n'est pas différente d'une région à l'autre (Figure 4.5a). La relation avec la FD3 est intéressante puisqu'il ne semble pas y avoir d'effets dans chacune des régions, mais leur interaction à un effet négatif sur cette fonction (minéralisation de l'azote) (Figure 4.5c). Visuellement, la richesse en espèces est plus restreinte, moins diffuse, dans la région HM que dans la région AT. Globalement, le patron général des graphiques de cette figure semble suivre le patron de chaque région.

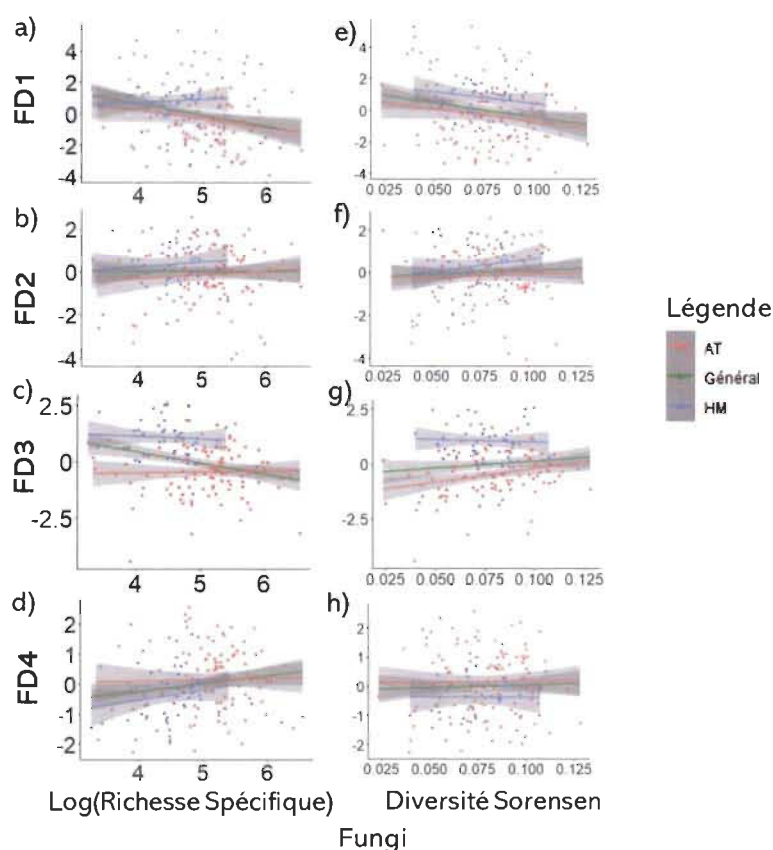


Figure 4.5 Modèle linéaire généralisé entre les différents groupements de fonctions écosystémiques et la richesse spécifique (a-d) et la diversité Sorensen (e-h) des champignons selon une famille de distribution gaussienne. Les points et lignes rouges représentent les polygones forestiers échantillonnés en AT et en bleu ceux de HM. $N_{\text{tot}} = 156$.

Comme pour la richesse spécifique, la relation entre la FD3 et la diversité Sorensen des champignons est différente dans chacune des régions (Figure 4.5g). Effectivement, dans la région HM aucune relation ne semble ressortir tandis que l'on observe clairement une corrélation positive dans la région AT. Comme mentionné précédemment, le fait que la tendance générale se dégageant de cette relation soit positive relève probablement de la quantité de parcelles associée à la région AT contrairement à HM.

Ainsi, mis à part les relations entre la FD3 et la diversité α et β des champignons (Figure 4.5c,g), les autres corrélations ne sont pas différentes de la tendance générale dans chacune des deux régions. En effet, on le remarque principalement par le fait que les intervalles de confiances des droites sont imbriqués dans l'intervalle de confiance générale. De plus, on peut remarquer que la distribution de la diversité β est semblable dans les deux régions.

Comme précédemment, la richesse spécifique bactérienne est, visuellement, moins diffuse, dans la région HM que dans la région AT (Figure 4.6). Toutefois, contrairement à la distribution plutôt homogène de la diversité β fongique, on remarque une nette distinction entre les deux régions chez les bactéries. En effet, les polygones forestiers sont plus hétérogènes, probablement avec des espèces plus spécialisées, dans la région HM.

Dans les deux régions, les patrons de corrélations entre la richesse spécifique bactérienne et les fonctions écosystémiques sont semblables et similaires au résultat obtenu dans le chapitre II. Toutefois, la fonction FD3 diffère d'une région à l'autre selon un patron semblable aux champignons, c'est-à-dire dans la région AT et selon la tendance générale on observe une corrélation faiblement négative tandis qu'une relation neutre se dessine dans la région HM (Figure 4.6c). On remarque davantage de différence entre les deux régions et la tendance générale lorsque l'on analyse la diversité de Sorensen et les fonctions écosystémiques. Tout d'abord, on remarque pour la FD1 que dans les deux régions il y a des corrélations négatives, mais que généralement la relation est surtout neutre (Figure 4.6e). Toutefois, les résultats présentés dans le Chapitre III avaient subi une modification *box cox* et pas ici. Les deux régions présentent alors un patron similaire au

résultat des GLM du Chapitre III. Encore une fois, la FD3 diffère d'une région à l'autre et la région HM diffère aussi d'avec la tendance générale (Figure 4.6g). Pour les autres corrélations, tout comme précédemment, ne semblent pas être différente de la tendance générale ni des résultats obtenus dans le Chapitre III lorsque l'on regarde les emboitements des intervalles de confiance.

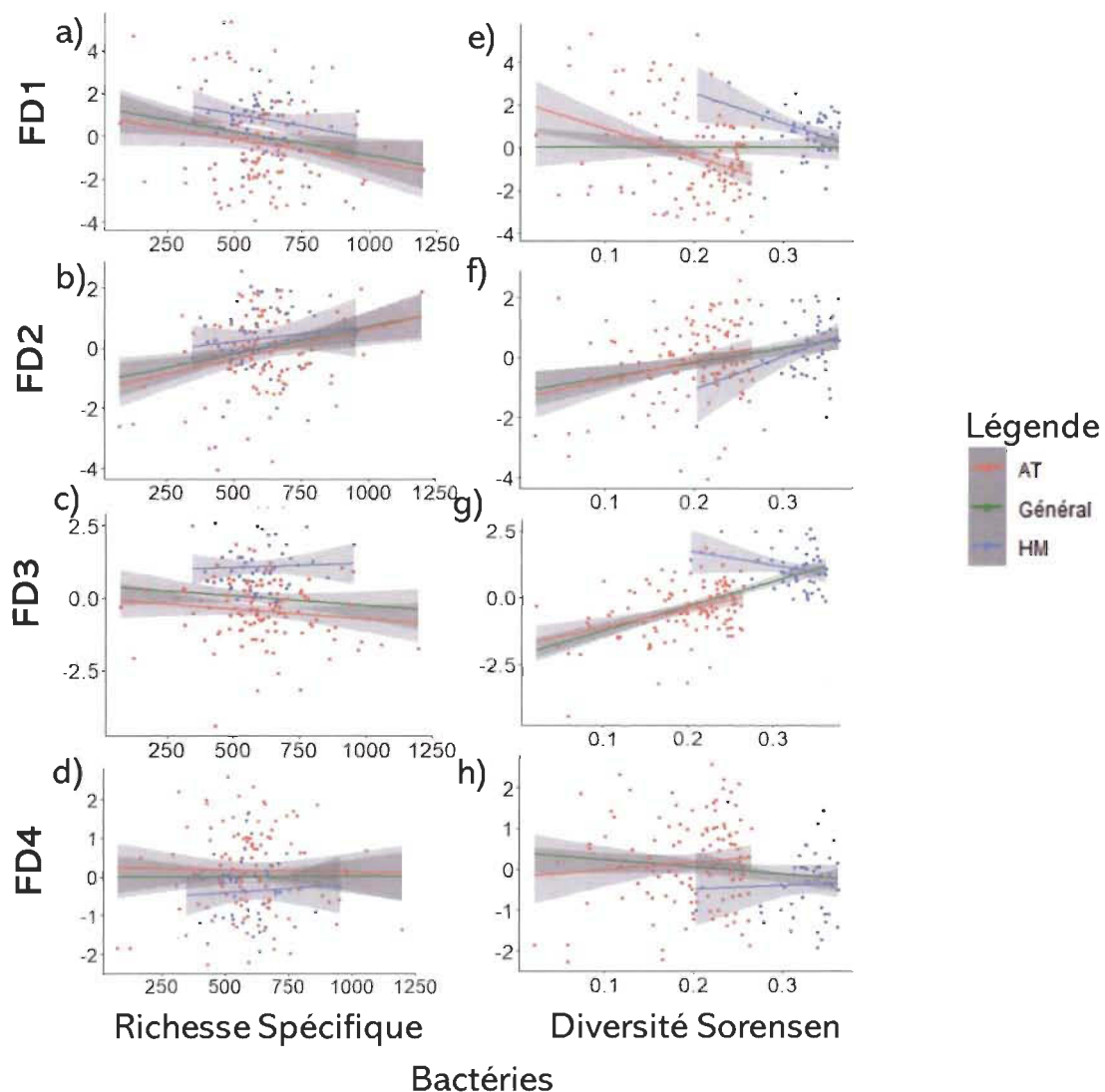


Figure 4.6 Modèle linéaire généralisé entre les différents groupements de fonctions écosystémiques et la richesse spécifique (a-d) et la diversité Sorensen (e-h) des bactéries selon une famille de distribution gaussienne. Les points et lignes rouges représentent les polygones forestiers échantillonnés en AT et en bleu ceux de HM. $N_{\text{tot}} = 156$.

Globalement, les principaux résultats de l'article du Chapitre III sont aussi vrais dans chacune des régions à l'étude. Il y a toutefois la minéralisation de l'azote, c'est-à-dire la FD3, qui diffère légèrement d'une région à l'autre. Ces différences pourraient être liées aux transformations de données appliquées sur la richesse spécifique des fungi et sur la diversité Sorensen des bactéries. Bien que semblable, l'effet d'interaction entre les deux régions lorsque toutes les données sont analysées ensemble ne semble pas être négligeable. Avoir séparé selon les régions à l'étude vient, à la fois, renforcer nos principaux résultats en démontrant que le patron global suit généralement celui de chacun des régions puis ajouter une touche de compréhension supplémentaire, sur ce qui se passe au niveau du cycle de l'azote (minéralisation-nitrification) particulièrement, au sein des écosystèmes boréaux du Québec.

Nos prédictions de départ dans le projet par rapport au comportement de la biodiversité microbienne sur le fonctionnement écosystémique étaient soit que quelques groupes de micro-organismes sont les piliers du fonctionnement des écosystèmes ou bien que les micro-organismes soient présents et diversifiés sans soutenir le fonctionnement écosystémique. Avec les différents résultats présentés dans ce mémoire, principalement dans cette section en séparant les deux régions, il est possible de confirmer que la vérité se situe entre ces deux hypothèses. C'est-à-dire que plusieurs espèces sont présentes et généralistes, soutenant peu les fonctions et que peu d'espèces spécialistes soutiennent davantage le fonctionnement écosystémique.

4.1.3 Groupements fonctionnels fongiques et multifonctionnalité

Contrairement aux bactéries, il est possible de classifier les champignons en groupes fonctionnels selon leur mode de nutrition. Comme décrit précédemment, les saprotrophes, les symbiotrophes et les pathotrophes sont les groupements les plus fréquemment utilisés. Effectuer des SEM à l'aide de ces groupements plutôt qu'avec tous groupements confondus pourrait nous permettre de mieux comprendre comment les champignons jouent sur la multifonctionnalité. Dans le Chapitre III, nous avons montré dans la figure de SEM finale qu'au niveau des champignons, seule la diversité α semblait avoir un rôle

sur la multifonctionnalité. Les variables abiotiques permettaient aussi d'expliquer davantage la diversité α que la β .

Les arbres décisionnels randomisés permettent d'obtenir les prédictors clés de la multifonctionnalité lorsque toutes les variables sont assemblées dans un modèle (Figure 4.7). C'est souvent une première étape pour déterminer les ingrédients clefs à intégrer au sein des SEM. Dans la figure 4.7, il est assez évident que peu importe le SEM effectué, la variable qui prédominera la multifonctionnalité sera la composante environnementale 1 (ED1), c'est-à-dire la matière organique (et le pH). Il est toutefois intéressant de constater que la diversité β soit à la fois non négligeable et plus importante que la diversité α . En effet, la diversité Sorensen des champignons saprotrophe (*bsa*) et des symbiotrophes (*bs*) sont les deux variables les plus importantes, $\sim 13\%$ et 7% respectivement, pour expliquer le modèle à effets directs de la multifonctionnalité. Après ces trois premières variables, il semble y avoir une « cassure » dans le pourcentage d'explication et résulte en de faible pourcentage explicatif.

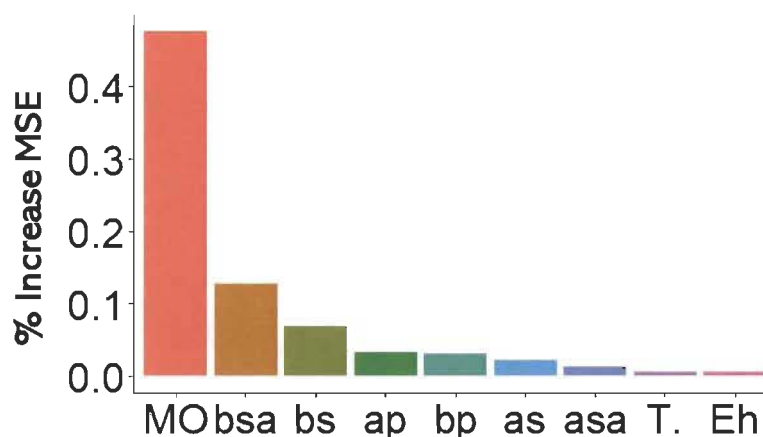


Figure 4.7 Prédictors clés de la multifonctionnalité. Analyse en arbres de décisions randomisée (RandomForest) entre la multifonctionnalité et les variables biotiques et abiotiques.

L'importance des variables s'observe selon le % Increase MSE. Suite à 5000 itérations, la matière organique (et le pH) est la variable prédominante pour expliquer la variance de la multifonctionnalité. *MO* = groupement Matière Organique – pH (47.6 %); *bsa* = diversité β saprotrophes (12.7 %); *bs* = diversité β symbiotrophes (6.8 %); *ap* = diversité α pathotrophes (3.1 %); *bp* = diversité β pathotrophes (3.0 %); *as* = diversité α symbiotrophes (2.0 %); *asa* = diversité α saprotrophes (1.3 %); *T* = Températures (0.5%); *Eh* = potentiel redox (0.4 %).

Bien que dans la figure 4.7 la diversité α n'était pas une variable permettant d'expliquer beaucoup la variance de la multifonctionnalité, cette dernière était toutefois bien présente dans la figure SEM finale du Chapitre III. Dans la figure 4.8, la variance de la richesse spécifique des pathogènes est expliquée à 25.6 %, celle des saprotrophes à 22.0 % et des symbiotrophes à 17.7 % par les variables abiotiques. Ce résultat montre ainsi que les variables environnementales ont effectivement un rôle important sur la distribution des espèces fongiques. La richesse spécifique des champignons pathogènes semble avoir une corrélation positive faible avec la multifonctionnalité bien que celle-ci ne soit pas considérée significative. Cependant, ni la richesse spécifique des saprotrophes ni celle des symbiotrophes ne semblent avoir un effet sur la multifonctionnalité. Ces résultats reflètent ceux de la figure 4.7, mais contredisent cependant notre résultat du Chapitre III. Lorsque nous divisons la richesse spécifique par groupement, nous observons que le lien entre les champignons et la multifonctionnalité est positif (vs. négatif). Ces résultats n'affectent toutefois pas nos conclusions générales présentées au Chapitre III, d'abord parce que le lien entre les champignons et la multifonctionnalité est considéré non-significatif puis parce que la multifonctionnalité reste principalement expliquée par la matière organique (et le pH) du sol.

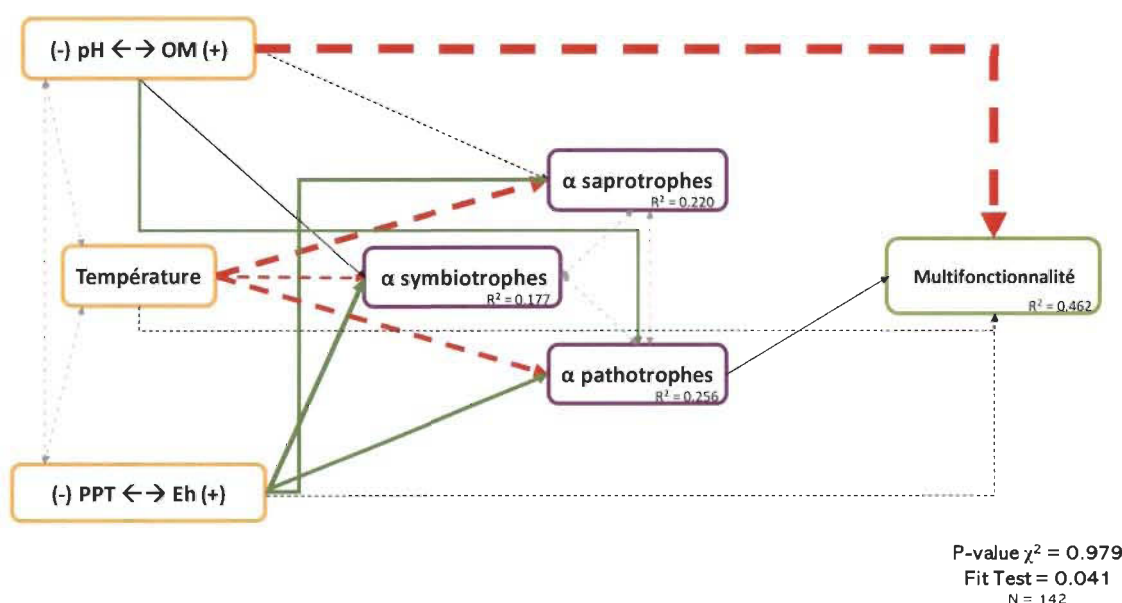


Figure 4.8 SEM des groupements fonctionnels fongiques en forêt boréale. Relations causales entre les variables abiotiques de l'environnement, la diversité α

fongique séparée en groupes fonctionnels et la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux du Québec.

La direction des flèches indique la direction de la relation existante entre deux variables. Les flèches pleines (vertes) représentent les corrélations positives, tandis que celles en pointillées (rouge) sont des corrélations négatives. Les flèches gris pâle montrent les covariations. Celles qui sont noires représentent les corrélations non significatives à un seuil de 0.1. L'épaisseur des flèches représente la force de la corrélation. Les r^2 montrent la proportion de variances expliquée pour chaque variable et le Chi-carré et le *Fit Test* indiquent l'acceptabilité du modèle. Dans cette figure, la corrélation la plus importante se trouve entre la matière organique (et le pH) et la multifonctionnalité calculée avec la méthode *averaging*. $n_{\text{utilisé}} = 142$ (sur un total de 156).

Comme prédit dans la figure 4.7, la diversité β des différents groupements fongiques joue un rôle plus important sur la multifonctionnalité (Figure 4.9). En effet, dans ce modèle ~ 53 % de la variance de la multifonctionnalité est expliquée, ce qui représente environ 9 % de plus que le modèle précédent et proviendrait ainsi probablement du rôle de la diversité β des groupements fongiques. Les variables environnementales abiotiques permettent d'expliquer 19 % de la diversité Sorensen des saprotrophes, 12 % de celle des pathotrophes et seulement que 0.04 % des symbiotrophes. Bien que sa variance soit peu expliquée, la diversité Sorensen des symbiotrophes est reliée positivement (et significativement) avec la multifonctionnalité. Bien que non significative, la diversité Sorensen des saprotrophes est elle aussi corrélée positivement avec la multifonctionnalité comparativement aux pathotrophes. Ainsi, un changement d'espèces entre les sites semble favoriser une diversification de fonctions ainsi qu'une augmentation du recyclage des nutriments (fonctionnalité plus élevée) et mener à une multifonctionnalité plus grande. Ceci représenterait donc un effet principalement direct des champignons sur la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux.

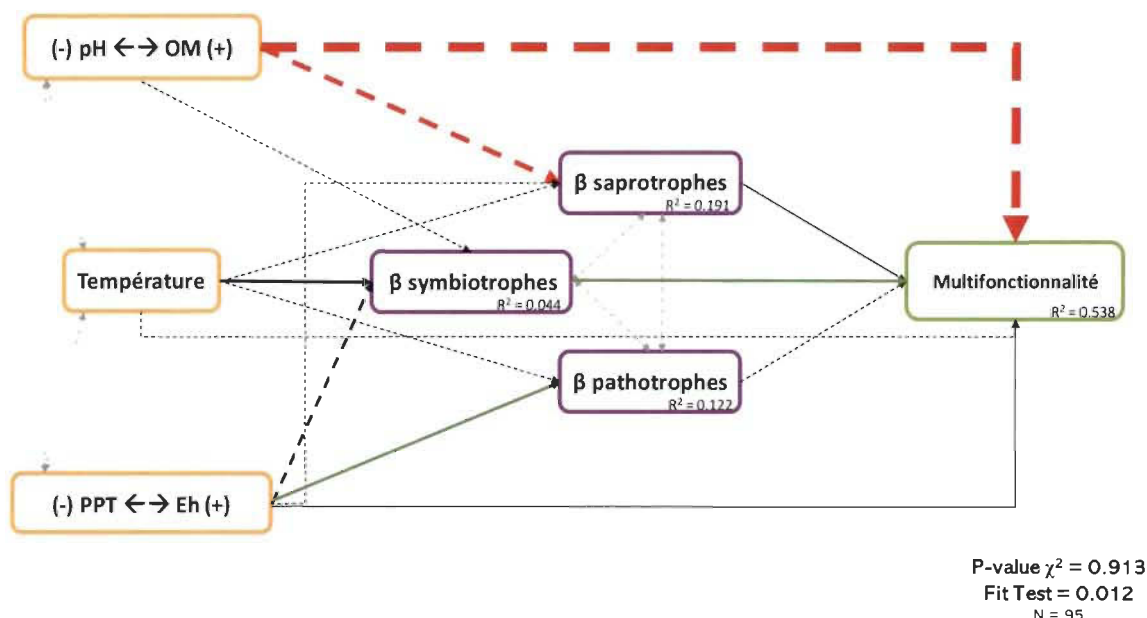


Figure 4.9 SEM des groupements fonctionnels fongiques en forêt boréale. Relations causales entre les variables abiotiques de l'environnement, la diversité β fongique séparée en groupes fonctionnels et la multifonctionnalité des écosystèmes boréaux du Québec.

La direction des flèches indique la direction de la relation existante entre deux variables. Les flèches pleines (vertes) représentent les corrélations positives, tandis que celles en pointillées (rouge) sont des corrélations négatives. Les flèches gris pâle montrent les covariations. Celles qui sont noires représentent les corrélations non significatives à un seuil de 0.1. L'épaisseur des flèches représente la force de la corrélation. Les r^2 montrent la proportion de variances expliquée pour chaque variable et le Chi-carré et le *Fit Test* indiquent l'acceptabilité du modèle. Dans cette figure, la corrélation la plus importante se trouve entre la matière organique (et le pH) et la multifonctionnalité calculée avec la méthode *averaging*. $n_{\text{utilisé}} = 95$ (sur un total de 156).

Bien que ces nouveaux résultats avec les champignons montrent que c'est plutôt la diversité β qui a un effet sur la multifonctionnalité, cela démontre tout de même qu'il faut faire davantage d'études en intégrant à la fois la diversité α et la diversité β puisqu'ils sont complémentaires au niveau des informations qu'elles fournissent sur le fonctionnement des écosystèmes. Par exemple, la diversité α informe davantage sur comment l'environnement régule les micro-organismes et la diversité β plutôt sur les effets de ceux-ci sur la multifonctionnalité. Comme mentionné précédemment, la variance de chacun des groupements est relativement bien expliquée par les variables abiotiques, mais expliquent très peu la multifonctionnalité, ce qui semble montré surtout peu d'effet ou un effet indirect via les pathogènes (Figure 4.8). Toutefois, on observe le contraire dans

la figure 4.9, c'est-à-dire que les variables abiotiques expliquent moins la diversité Sorensen, mais les groupements ont des effets surtout directs sur la multifonctionnalité.

Finalement, ces résultats montrent l'importance d'observer à de plus fines échelles pour pouvoir en comprendre de plus grandes. On peut penser, par exemple, à la théorie du gène à l'écosystème qui, en sélectionnant différents génotypes chez plusieurs espèces, aura des conséquences sur les populations, les communautés puis sur les écosystèmes. Ainsi, plus il y aura un changement d'espèces entre les sites, plus il risque d'y avoir des gènes qui seront sélectionnés pour augmenter telle ou telle fonction de l'écosystème et pourraient ainsi faire accroître la multifonctionnalité globale.

4.2 Forêt multifonctionnelle vs non-multifonctionnelle

Cette section sert tout simplement à nous permettre de visualiser spatialement la multifonctionnalité de différentes parcelles. La figure 4.10 nous permet premièrement de constater qu'il n'y a pas d'autocorrélation spatiale évidente, c'est-à-dire que les niveaux de multifonctionnalité sont répartis sans patron particulier sur les territoires étudiés. Cela permet d'écarter notamment l'effet d'une concentration urbaine importante sur nos résultats. On remarque aussi dans la figure 4.10 comme dans la figure 4.6 que la région HM est en moyenne davantage multifonctionnelle que la région AB.

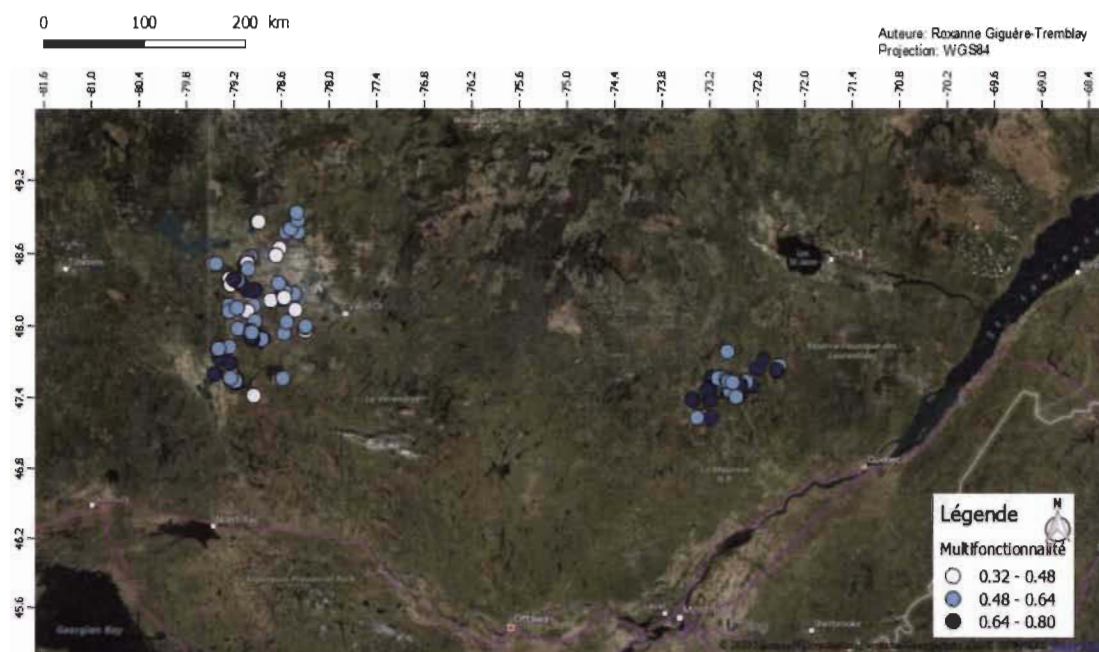


Figure 4.10 Carte des points GPS des parcelles classées selon si les peuplements échantillonnés sont peu (blanc), moyen (bleu pâle) ou fortement multifonctionnelle (bleu foncé).

La région à droite est la Haute-Mauricie (HM) et à gauche on retrouve l'Abitibi-Témiscamingue (AT).

En regardant les photos prises lors de la campagne d'échantillonnage de la parcelle ayant une forte, moyenne ou faible multifonctionnalité, on y aperçoit des caractéristiques visuelles. En effet, une forêt étant capable de réaliser de multiples fonctions semble se caractériser par un mélange de feuillus et de résineux avec de la régénération forestière puis quelques espèces d'herbacées (Figure 4.11a). On y voit du sol à nu, sans végétaux. Au contraire, la parcelle qui était le moins multifonctionnelle dans nos sites se caractérise par une forêt de résineux sans régénération ni herbacée avec un très fort couvert de mousse au sol et une densité d'arbres importantes (Figure 4.11c). Une forêt avec une multifonctionnalité moyenne aura des caractéristiques empruntées à chacun des deux extrêmes. C'est-à-dire ayant des herbacées au sol puis quelques « patch » de mousse, mais laissant toutefois du sol à nu (Figure 4.11b). Ces parcelles moyennes se caractérisent avec la présence de résineux, de feuillus ou un mélange des deux.



Figure 4.11 À quoi ressemble une forêt qui est multifonctionnelle : a) très multifonctionnelle, b) dans la moyenne et c) faiblement.

Les catégories ont été sélectionnées selon la multifonctionnalité maximale et minimale dans les parcelles de forêt boréale. Les trois photos présentées dans cette image se retrouvent dans la région de AT.

4.3 Pourquoi est-ce que la relation diversité microbienne – multifonctionnalité est particulièrement faible dans les écosystèmes boréaux?

Un résultat fort et similaire dans l'étude de Li *et al.* (2019) est la faible importance des rôles des micro-organismes dans le maintien de la multifonctionnalité. En effet, dans les deux études, les variables environnementales abiotiques (l'humidité du sol et la matière organique et le pH, respectivement) ont des effets plus importants que le microbiome. Cette faible importance du microbiome pourrait résider dans l'histoire évolutive de la forêt boréale qui est relativement jeune par rapport aux autres biomes où le niveau et l'influence de la biodiversité étaient plus importants (Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016, 2017). Lors d'une glaciation puis d'une déglaciation, les mouvements du glacier mettent la roche à nue et réinitialise la biodiversité et le fonctionnement de l'écosystème. Lors de la dernière grande glaciation (−33 à −10 000 ans), tandis que les glaciers recouvraient entièrement les terres en Amérique du Nord-Est, une végétation de toundra occupait la Chine du Nord-Est (CLIMAP, 1981; Pinxian et Xiangjunb, 1994). La dernière glaciation en Chine remonte probablement à plusieurs centaines de milliers d'années mais beaucoup d'incertitudes demeurent sur les phénomènes de glaciation en Asie (Zhisheng et Porter, 1997). Ces temps géologiques de mise en place d'une biodiversité sont relativement faibles au regard des autres biomes terrestres. Il reste qu'au regard du temps de génération des populations microbiennes, il est très important et pourrait être considéré comme non important pour expliquer une moindre régulation de la

multifonctionnalité par la biodiversité. Pour conclure, la relation biodiversité microbienne – multifonctionnalité est relativement faible pour ces deux sites boréaux comparativement aux autres biomes terrestres. D'autres études seront nécessaires pour en expliquer les raisons.

Au sein des deux régions boréales, on retrouve tout de même des divergences. En effet, en Chine, la richesse en espèces et la composition des communautés fongiques avaient un plus fort effet sur la multifonctionnalité que la diversité bactérienne. Toutefois, au Québec comme démontré dans le Chapitre III, c'est surtout un changement dans la diversité des communautés bactériennes qui semblait avoir un plus grand impact sur les multiples fonctions. En considérant le pH acide de notre site d'étude, nous nous serions attendus à ce que les champignons aient un rôle plus important que les bactéries car leur optimum de niche est généralement considéré en sol acide. Ces divergences pourraient, elles aussi, résider dans l'histoire évolutive de la forêt boréale mais restent une question ouverte de ma maîtrise.

4.4 Limites et améliorations du projet

4.4.1 Campagne d'échantillonnage

Ce projet de maîtrise a été réalisé conjointement avec une candidate au Doctorat en biologie cellulaire et moléculaire, Geneviève Laperrière. Puisque la campagne d'échantillonnage a été réalisée pour son projet ainsi que le mien, plusieurs équipes d'aide sur le terrain ont dû être déployées (~ cinq équipes).

L'ampleur de cette campagne d'échantillonnage a toutefois intégré certains biais d'échantillonnage principalement causé par les différentes équipes présentes. Il aurait probablement été pertinent de quantifier l'erreur de manipulation due aux équipes sur les variables amasser directement sur les parcelles telles que les photographies ayant servi au calcul de l'indice de vert et à l'ouverture de la canopée arborescente.

Un autre biais pourrait être lié à la fois à l'ampleur de la campagne de terrain et aux différentes équipes est la date de récolte des échantillons. En effet, la récolte des échantillons en Abitibi-Témiscamingue a été réalisée fin juin, début juillet, alors que ceux récoltés en Haute-Mauricie ont plutôt été faits en septembre-octobre, période à laquelle les champignons sont beaucoup plus présents. Ce décalage dans les dates d'échantillonnage a probablement pu causer des erreurs au niveau des espèces de champignons et de bactéries retrouvés dans les parcelles. En effet, en Abitibi-Témiscamingue les espèces développées à ce temps de l'année devaient être celles résistantes aux températures plus fraîches tandis qu'en septembre-octobre, celles plus résistantes aux températures tempérées. Cela a probablement pu avoir un impact au niveau de la diversité Sorensen des champignons et des bactéries entre les deux régions. Peut-être que si l'échantillonnage avait été réalisé au même moment, la diversité β aurait été plus similaire. En effet, il est connu qu'au niveau des espèces fongiques le temps de l'année est important puisqu'on ne retrouve pas les mêmes espèces tout au long de la saison de croissance. Ce phénomène n'est toutefois pas connu au niveau des espèces bactériennes.

4.4.2 Composantes abiotique et biotiques

4.4.2.1 Environnement de l'habitat

Les variables environnementales sélectionnées dans ce projet étaient basées sur ceux qui sont généralement étudiés dans les études semblables à la nôtre. Toutefois, la température qui semble être très importante dans beaucoup d'études sur la relation BEF ne l'était presque pas dans cette étude. Je crois que ça pourrait être lié à la méthode que nous avons utilisée afin d'obtenir nos variables de températures. En effet, bien que nous ayons fait ressortir des données historiques de température, ceux-ci n'étaient pas précisément « mesurés » au centre de nos parcelles. Il aurait été intéressant d'installer de petites stations météo à l'aide de logger dans nos parcelles afin de pouvoir vraiment avoir les microclimats de chacune de nos parcelles. Puisque les micro-organismes sont sensibles à ce qui se passe à proximité d'eux, la température mesurée plutôt que calculée aurait probablement pu faire ressortir davantage son effet sur les micro-organismes.

Il aurait aussi été intéressant d'ajouter à ces variables, liées aux facteurs d'états, la perturbation humaine dans nos parcelles. En effet, l'ajout de variables telles que le nombre de coupes de forestière que les parcelles ont subi, la proximité à la grande ville la plus proche ou encore la présence de mines à proximité aurait permis de savoir comment la perturbation anthropique affecte la présence de nos micro-organismes ainsi que la multifonctionnalité des écosystèmes à l'aide de relations causales.

4.4.2.2 *Fonctionnement écosystémique*

Tout comme les variables abiotiques, les variables reliées au fonctionnement écosystémique sont tirées de la littérature sur le sujet. Toutefois, la productivité primaire aurait pu être mesurée plus directement qu'à l'aide du NDVI qui est souvent critiqué, lorsqu'utilisé comme indicateur de la productivité primaire. En effet, le NDVI ainsi que l'indice de vert arborescent mesurent le feuillage présent dans nos parcelles, mais la productivité primaire contient aussi, mais pas exclusivement, la production de biomasse de bois. L'utilisation d'un proxy plus directement lié à la productivité primaire, telle que l'estimation d'un volume marchand, aurait peut-être changé les corrélations observées. En effet, les deux indices utilisés dans notre étude montraient probablement une différence entre les feuillus et les conifères (feuillus vert plus élevé que conifère) malgré le fait que la biomasse de bois soit potentiellement comparable dans les deux cas.

Dans notre étude, le cycle du phosphore ne semblait pas être influencé par les micro-organismes alors qu'il est bien connu que les micro-organismes sont importants dans chacun des cycles biogéochimiques. La mesure utilisée et traitée comme étant le « cycle du P » était la quantité en mg kg^{-1} de Phosphore inorganique et donc biodisponible pour les plantes. Cependant, le phosphore qui est principalement utilisé par les micro-organismes est le P organique provenant de la litière et de la fertilisation des sols. Il aurait été pertinent de réaliser une expérience de minéralisation comme celle effectuée pour la minéralisation de l'azote. Cela nous aurait permis d'obtenir un taux de minéralisation du phosphore et donc de l'activité microbienne directement relié au phosphore disponible.

Mis à part ces fonctions qui auraient pu être améliorées, je crois que les mesures de fonctionnement utilisé dans le cadre de ce projet sont suffisantes afin d'effectuer une caractérisation partielle du fonctionnement écosystémique permettant de répondre à notre questionnement initial. Bien évidemment, les fonctions que nous avons utilisées sont reliées au service écosystémique de fonctionnement, mais d'autres variables pourraient être mesurées afin de caractériser d'autres types de services écosystémiques.

4.4.2.3 *Classification des micro-organismes*

Il est possible d'effectuer une classification des champignons soit selon leur taxonomie ou bien selon leur mode de nutrition. Toutefois, mis à part une classification taxonomique aucune autre méthode complète n'est présentement comparable pour les bactéries en écologie terrestre. En effet, il serait très pertinent d'obtenir de nouvelles catégories de bactéries classifiées selon leur type de fonctions au sein des écosystèmes. Ce type de classification permettrait de mieux expliquer le rôle respectif des champignons et des bactéries sur les écosystèmes.

Une piste ayant été explorée, mais qui aurait demandé trop de temps à réaliser dans le cadre de ce projet de maîtrise, était d'effectuer une classification basée sur la présence de gènes (KEGG), qui eux, auraient été reliés à une ou plusieurs fonctions écosystémiques. Plus précisément, les bases de données KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) permettent de comprendre les significations fonctionnelles et utilités d'un organisme à partir de ses informations génomiques (Kanehisa *et al.*, 2004). En effet, afin de pouvoir réaliser une fonction biochimique quelconque comme c'est le cas dans les cycles biogéochimiques dans les écosystèmes, certains gènes précis doivent être présents dans les organismes afin de pouvoir être réalisé. Récemment, une équipe de chercheurs du Canada a réalisé une étude en jumelant les différents gènes associés aux cycles de l'azote et du carbone dans cinq biomes de l'Amérique du Nord. Ils ont réussi à associer à chaque étape des cycles biogéochimiques un gène chez les bactéries et chez les archées qui permettait de réaliser l'étape biochimique puis réaliser un tableau reliant le gène (et son abondance) à la taxonomie bactérienne (Cardenas *et al.*, 2018). Il faudrait ainsi

être en mesure de réaliser ce même type de classification allant du gène à l'écosystème pour plusieurs fonctions écosystémiques. Non seulement les cycles de l'azote et du carbone, mais aussi les autres cycles du système *CHNOPS* nécessaire à la productivité primaire et au grand recyclage des nutriments essentiels pour effectuer les différents services écosystémiques.

Une analyse basée sur la présence de KEGG aurait permis d'obtenir de l'information à savoir s'il existe de la redondance fonctionnelle au sein des communautés microbiennes étudiées et aurait peut-être permis d'expliquer davantage la faible importance des communautés microbiennes dans la régulation de la multifonctionnalité en forêts boréales Québécoise. En effet, lorsqu'une communauté microbienne subit une perturbation dans son environnement, elle peut réagir de plusieurs manières. Elle pourrait être résistante, c'est-à-dire que la composition de celle-ci ne changera pas, pourrait être résiliente où la composition est altérée, mais peut retourner à sa composition initiale, être redondante fonctionnellement où la composition est altérée définitivement, mais performera comme la composition originale ou être complètement changer autant dans la composition que la performance (Figure 4.12).

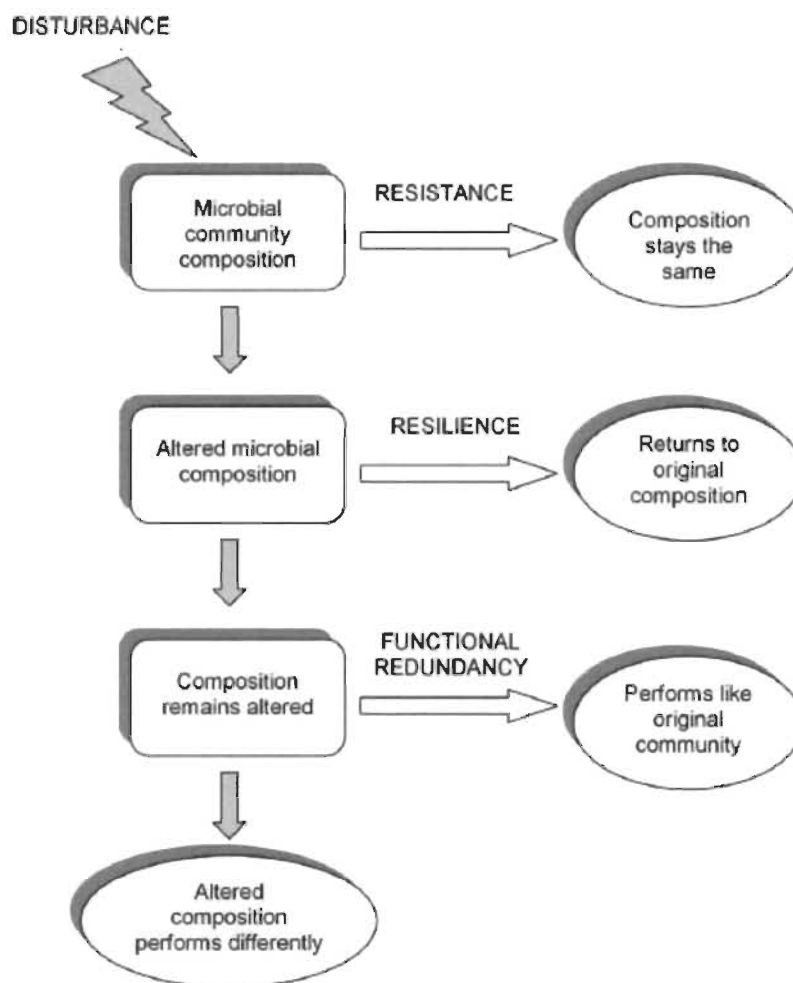


Figure 4.12 Schéma permettant d'expliquer comment les communautés microbiennes peuvent changer à la suite d'une perturbation de leur environnement. (Tiré de Allison *et al.*, 2008.)

La redondance fonctionnelle est toutefois difficile à étudier et à établir puisque, selon la définition de la figure 4.12, il faut avoir une bonne connaissance de la composition et de la performance fonctionnelle de la communauté avant une perturbation et pouvoir l'étudier suite à celle-ci. De plus, une communauté qui serait fonctionnellement redondante sous certaines conditions environnementales pourrait ne pas l'être sous d'autres conditions (Allison *et al.* 2008). Une étude menée en eau douce (microcosmes et lacs) sur la diversité des communautés bactériennes par Delgado-Baquerizo *et al.* (2016) a permis de démontrer qu'il y a un manque de redondance fonctionnelle au sein de la relation BEF. Ce résultat suggère que la perte d'un petit nombre d'espèces pourrait avoir des conséquences négatives sur le fonctionnement de l'écosystème (Delgado-Baquerizo

et al., 2016). Cependant, l'utilisation du nombre d'OTUs a pu mener à ce manque de redondance fonctionnelle. En 2018, Louca *et al.* (2018) ont analysé la redondance fonctionnelle selon la composition taxonomique (familles et OTUs) et selon la composition génomique (KEGG et groupes métaboliques). Leur résultat de la figure 2 (Chapitre III) démontre bien qu'il existe une conservation, une redondance, au niveau des gènes et des fonctions métaboliques dans la communauté comparativement à lorsque le tout est analysé à l'aide de la taxonomie (Louca *et al.*, 2018).

Finalement, comme discuté précédemment, la redondance fonctionnelle est un concept intéressant et pertinent à inclure dans les études portant sur la relation BEF chez les micro-organismes, mais est toutefois difficile à mesurer. L'approche basée sur les KEGG et les groupes métaboliques semble être la plus adaptée pour étudier la redondance, mais présente aussi des difficultés puisqu'il faut créer soi-même les différents groupes métaboliques. Aucun groupe métabolique n'est actuellement, à ma connaissance, uniforme entre les études.

4.5 Conclusion

Les différents résultats présentés dans ce mémoire ont permis de répondre à notre questionnement initial qui était de savoir s'il existe une relation entre les micro-organismes de sol (champignons et bactéries) et les multiples fonctions écosystémiques. Nous souhaitons aussi mieux comprendre comment des variables abiotiques comme le pH et le Eh, qui est très rarement étudié, pouvaient moduler les communautés microbiennes.

Il existe bel et bien une relation BEF chez les micro-organismes de la forêt boréale du Québec. Cette relation est principalement modulée par la matière organique puis par l'hétérogénéité des communautés bactériennes. Le pH et le Eh ont des effets surtout indirects sur la multifonctionnalité via la régulation de la présence des bactéries et des champignons, respectivement, laissant croire que ces micro-organismes ne sont pas présents dans les mêmes niches écologiques. Ces trois variables abiotiques sont ainsi des

facteurs clés dans la régulation du fonctionnement écosystémique boréal. De plus, notre étude permet d'appuyer davantage la force de l'histoire évolutive et de l'effet de la dernière glaciation sur les écosystèmes ainsi que de comparer deux milieux boréaux maintenant étudiés, c'est-à-dire au Québec et en Chine. En effet, les champignons semblent avoir plus d'impact sur la régulation des fonctions écosystémiques lorsque les sols des écosystèmes sont âgés et que les communautés bactériennes ont libéré des niches. Les fonctions seraient d'abord soutenues par des facteurs aléatoires puis par des phylotypes plus spécialisés par la suite.

Ce projet de maîtrise ajoute de nouvelles informations sur le milieu boréal québécois qui n'était jusqu'à présent, à notre connaissance, inexistant dans la littérature sur les relations BEF. Elle servira potentiellement comme base comparative à de nouvelles études sur le sujet au Québec. De plus, les gestionnaires des écosystèmes pourront utiliser ces nouvelles informations afin de mieux gérer le territoire en protégeant et limitant les perturbations du sol menant à des changements en qualité et quantité de matière organique. Par exemple, au lieu d'utiliser de la chaux pour tenter de réguler le pH du sol, il serait pertinent de mettre les efforts d'abord sur la matière organique disponible puis viendra la régulation du pH et les micro-organismes adaptés au fonctionnement de l'écosystème. Nous avons d'autant plus réussi à montré l'importance du potentiel redox comme variable abiotique et devrait être davantage utilisé dans les études portant sur la compréhension écosystémique. Pour de futures recherches sur le sujet, il pourrait être intéressant de réaliser ces mêmes mesures à l'échelle des différents biomes du Québec, du sud au nord, afin de comprendre davantage l'héritage de la dernière glaciation et de l'histoire évolutive. Cela permettrait aussi de mieux comprendre à l'échelle régionale nos écosystèmes et permettrait potentiellement d'effectuer des recommandations quant à la gestion des écosystèmes dans des contextes de changements climatiques.

4.6 Références

- Allison, S. D.; Martiny, J. B. H. Resistance, resilience, and redundancy in microbial communities. *PNAS* **2008**, 105, 11512-11519.
- Cardenas, E.; Orellana, L. H.; Konstantinidis, K. T.; Mohn, W. W. Effects of timber harvesting on the genetic potential for carbon and nitrogen cycling in five North American forest ecozones. *Sci. Rep. UK* **2018**, 8, 3142.
- Delgado-Baquerizo, M.; Maestre, F.T.; Reich, P.B.; Jeffries, T.C.; Gaitan, J.J.; Encinar, D.; Berdugo, M.; Campbell, C.D.; Singh, B.K. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* **2016**, 7, 10541.
- Delgado-Baquerizo, M.; Giaramida, L.; Reich, P. B.; Khachane, A. N.; Hamonts, K.; Edwards, C.; Lawton, L. A.; Singh, B. K. Lack of functional redundancy in the relationship between microbial diversity and ecosystem functioning. *J. Ecol* **2016**, 104, 936-946.
- Delgado-Baquerizo, M.; Bissett, A.; Eldridge, D. J.; Maestre, F. T.; He, J.-Z.; Wang, J.-T.; Hamonts, K.; Liu, Y.-R.; Singh, B. K.; Fierer, N. Palaeoclimate explains a unique proportion of the global variation in soil bacterial communities. *Nat Ecol Evol.* **2017**, 1, 1339-1347.
- Delgado-Baquerizo, M.; Oliverio, A.M.; Brewer, T.E.; Benavent-González, A.; Eldridge, D.J.; Bardgett, R.D.; Maestre, F.T.; Singh, B.K.; Fierer, N. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science* **2018**, 359, 320-325.
- CLIMAP. Seasonal reconstructions of the earth's surface at the last glacial maximum. Geological Society of America Map Chart Series, MC-36. 1981.
- Kanehisa, M.; Goto, S.; Kawashima, S.; Okuno, Y.; Hattori, M. The KEGG resource for deciphering the genome. *Nucleic Acids Res.* **2004**, 32, 277-280.
- Louca, S.; Polz, M. F.; Mazel, F.; *et al.* Function and functional redundancy in microbial systems. *Nat Ecol Evol* **2018**, 2, 936-943.
- Pinxiana, W.; Xiangjunb, S. Last glacial maximum in China: comparison between land and sea. *Catena.* **1994** 23, 341-353.
- Zhisheng, A.; Porter, S.C. Millennial-scale climatic oscillations during the last interglaciation in central China. *Geology*, **1997**, 25(7), 603-606.

ANNEX A – ARTICLE SCIENTIFIQUE 2

ESTIMATION OF FUNGAL DIVERSITY AND IDENTIFICATION OF MAJOR ABIOTIC DRIVERS INFLUENCING FUNGAL RICHNESS AND COMMUNITIES IN NORTHERN TEMPERATE AND BOREAL QUEBEC FORESTS

Le contenu de cette annexe a fait l'objet d'un article publié le 2 décembre 2019 (soumis le 29 octobre 2019, accepté le 29 novembre 2019) en anglais dans la revue *Forests* (facteur d'impact de 2.116) dans un numéro spécial portant sur les communautés microbiennes des forêts et les processus écosystémiques.

La référence de cet article est la suivante : Geneviève, Laperrière; Pierre-Luc, Chagnon; Roxanne, Giguère-Tremblay; Amélie, Morneau; Danny, Bisson; Vincent, Maire; Hugo, Germain. Estimation of Fungal Diversity and Identification of Major Abiotic Drivers Influencing Fungal Richness and Communities in Northern Temperate and Boreal Quebec Forests. *Forests* 2019, 10, 1096.

Authors contribution

L.G. contributed to the overall process of the experimental design, field sampling, laboratory manipulations, data analysis and manuscript drafting; C.P.-L. contributed with his expertise, made comments for the community analysis and ecological parts, and helped for R coding and statistical analysis; G.-T.R. participated to field sampling, executed the soil analysis, helped for R coding, and made comments; M.A. participated to field sampling, executed the pH-Eh soil analysis, and made comments; B.D. contributed with his technical support and expertise in geomatics; M.V. contributed with his expertise, made comments for the statistical and ecological parts, participated in field sampling, and contributed to the experimental design; G.H. supervised the project, participated to field sampling, contributed to the experimental design, reviewed the manuscript, made comments, and obtained funding.

Abstract

Fungi play important roles in forest ecosystems and understanding fungal diversity is crucial to address essential questions about species conservation and ecosystems management. Changes in fungal diversity can have severe impacts on ecosystem functionality. Unfortunately, little is known about fungal diversity in northern temperate and boreal forests, and we have yet to understand how abiotic variables shape fungal richness and composition. Our objectives were to make an overview of the fungal richness and the community composition in the region and identify their major abiotic drivers. We sampled 262 stands across the northern temperate and boreal Quebec forest located in the region of Abitibi-Témiscamingue, Mauricie, and Haute-Mauricie. At each site, we characterized fungal composition using Illumina sequencing, as well as several potential abiotic drivers (e.g., humus thickness, soil pH, vegetation cover, etc.). We tested effects of abiotic drivers on species richness using generalized linear models, while difference in fungal composition between stands was analyzed with permutational multivariate analysis of variance and beta-diversity partitioning analyses. Fungi from the order Agaricales, *Helotiales*, and *Russulales* were the most frequent and sites from the north of Abitibi-Témiscamingue showed the highest OTUs (Operational Taxonomic Unit) richness. Stand age and moss cover were the best predictors of fungal richness. On the other hand, the strongest drivers of fungal community structure were soil pH, average cumulative precipitation, and stand age, although much of community variance was left unexplained in our models. Overall, our regional metacommunity was characterized by high turnover rate, even when rare OTUs were removed. This may indicate strong environmental filtering by several unmeasured abiotic filters, or stronger than expected dispersal limitations in soil fungal communities. Our results show how difficult it can be to predict fungal community assembly even with high replication and efforts to include several biologically relevant explanatory variables.

Introduction

Fungi represents the most diverse groups on Earth after insects [1]. They are diverse in terms of shape, color, and lifestyle and they are distributed throughout the globe in all types of terrestrial and aquatic ecosystems, and even in extreme life conditions such as those prevailing in the Antarctic [2,3]. They play pivotal roles in ecosystem functioning by modulating nutrient cycling, organic matter decomposition, carbon storage, and plant nutrition through the formation of mutualistic symbiosis [4-7]. Several studies have shown that ecosystems functionality is altered when changes occur in soil fungal diversity [5,6] which is why they are used as a forest and soil health bioindicator [8,9]. In addition, some species, especially edibles, are an important source of income and a significant component of the diet, particularly in developing countries and remote regions [10]. Unfortunately, fungal diversity can change because of time, climate, biota, topography, natural disturbance, or human caused perturbation and contamination [11-14]. For these reasons, there is interest in developing approaches to predict various facets of fungal diversity, and how it is likely to change over space and time in natural and managed ecosystems.

Fungal species richness, an intuitive component of fungal diversity, is often used to compare habitats, as species diversity is often assumed to reflect, at least partly, niche diversity when limiting similarity drive species coexistence [15]. Fungal richness has also been linked to key ecosystem parameters and functions such as litter decomposition rates [16] or soil and plant nutrient content [7]. Many abiotic variables can influence species richness. In the case of fungi, climatic variables such as mean annual precipitation and temperature are important drivers of fungal richness at global scale [17], but other variables such as vegetation cover [18], tree species [19], and soil texture [20] can have positive or negative impacts on richness.

Beyond the simple counting of species number (i.e., α -diversity), another way to characterize biodiversity is to study the composition of the community and how it changes across sites (i.e., β -diversity). Understanding compositional pattern of species helps researchers to understand different aspects of species interaction and ecosystem function

[21,22]. β -diversity patterns can also guide conservation practices, for example by providing knowledge about the uniqueness of community composition in the landscape [23]. Community dissimilarity can stem from two mutually exclusive, and thus additive, components: richness difference (i.e., nestedness) and compositional turnover/replacement [21]. Because these components are additive fractions of community β -diversity, they can easily be mapped in a ternary plot linking nestedness, turnover, and community similarity (i.e., $1-\beta$) [22]. Such β -diversity partitioning analyses can help formulate more specific hypotheses regarding the potential drivers of community dissimilarity in a metacommunity [24].

Nevertheless, in Quebec, Canada, fungal diversity in northern temperate and boreal forests is generally poorly described. A reliable and exhaustive global description of the fungal diversity is needed for the protection and conservation of fungal species, and to further predict changes in fungal richness and community composition in our forests. This lack of data represents an obstacle for mycologist and for companies working with natural resources, and data is needed to improve forest fungal biodiversity conservation and management. The main aim of this study was to sample the northern temperate and boreal Quebec forests; to (1) make an overview of the fungal richness and the community composition; and (2) identify the main environmental drivers of these facets of fungal biodiversity.

Materials and Methods

Study Sites and Soil Sampling

The sampling design consisted of 262 sites that were located in three different regions in the province of Quebec (Canada). The sites were divided in 130 stands located in Abitibi-Témiscamingue (AT), 50 stands in Haute-Mauricie (HM), and 82 stands in Mauricie (MAU) (Figure 1). We used a forest inventory database composed of 75 abiotic variables and 33,000 stands, released in 2009, through the served to identify and locate sites according to four ecological parameters used by stakeholders: the stand age,

the dominant tree species, the level of drainage, and the surficial deposit. We selected sites to obtain the largest diversity of ecological parameters combinations that characterized each region. Sites also had to be accessible by road. Sites were sampled between June and September 2017. For each site, we used ropes to delimitate a representative area of 400 m² (20 × 20 m). In each site, two 20 m transects were established 10 m apart from one another. The forest litter was removed from the surface and 6 soil cores of 20 cm depth were collected every 5m along the transects. Soil samples were pooled, mixed and a subsample was taken for DNA analyses and stored immediately on ice and at −20 °C at the end of the day. The rest of the soil samples were sieved and stored at different temperature depending of the future analyses (see below).

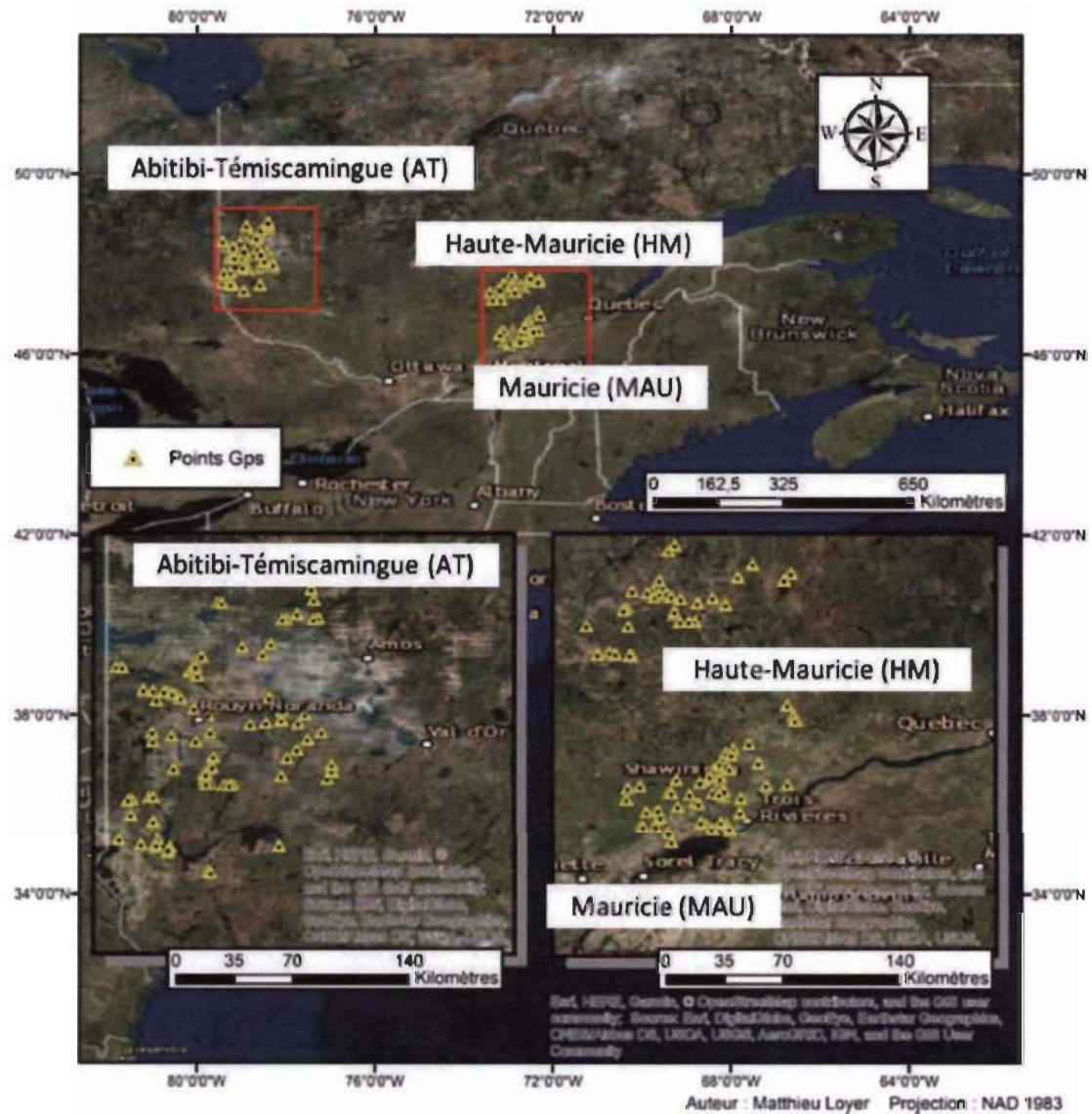


Figure 1. GPS localization of the 262 sampled sites divided in three regions representing 130 sites in Abitibi-Témiscamingue (AT), 50 sites in Haute-Mauricie (HM) and 82 sites in Mauricie (MAU). The map represents the province of Québec and each yellow triangle represents a site sampled between June and September 2017.

Clustering of Sites into Climatic Domains

Using georeferenced information of the 249 stands (positive at sequencing step), we extracted historical climatic data ranging from 1974 to 2008, from the site of the government of Canada (<https://ouvert.canada.ca>) (Table S1). Total degree-days (based on 0, 5, and 10 °C), mean length of the season without frost ($T_{min} < 0$, -1, -2, -3, and

−4 °C), mean length of the growing season, average cumulative precipitation during the growing season, and the mean temperature during the growing season (calculated with the total degree-days based on 0 divided by the length of the growing season) were used for K-means clustering with kmeans function and cluster package in R software v.3.5.3 [25,26]. This resulted in three climatic domains distributed as follows: 70 sites, mostly localized at the north of Abitibi-Témiscamingue (exception of four sites in Haute-Mauricie and two in south of Abitibi), were grouped in domain 1 (NAT), domain 2 (MAU) contained 79 sites situated in Mauricie and domain 3 (SAT-HM) included 100 sites from the south of Abitibi-Témiscamingue (exception of five sites at the north) and Haute-Mauricie (Figure S1).

Site Characterization

We used forest inventory databases (see above) to get information about stand age, dominant tree species, level of drainage and surficial deposit (Table S1). In addition, we measured in the representative area a series of variables that are known to modulate fungi presence [27-29]. For the vegetation stratum (trees, shrubs (diameter at breast height (DBH) < 9 cm), herbaceous, mosses, and lichens), the coverage percentage (between 0% to 100%) values were attributed for each stratum at each end of the 400 m² area. Then, means were calculated and density cover classes was assigned according to the protocol of Ministère des Forêts du Québec, Service des Inventaires Forestiers [30]. For the statistical analysis, the density classes were changed to an ordinal scale between 0 and 7 ((81%-100%) = 7, (61%-80%) = 6, (41%-60%) = 5, (26%-40%) = 4, (6%-25%) = 3, (2%-5%) = 2, (1%) = 1, 0 = 0). Thickness of the litter layer was represented by plant residues on the surface of the soil (dead leaves, needles, and living mosses) and thickness of humus by the organic layer in the soil (represented by the horizon F and H). Both were measured in centimeter (cm).

Soil Analyses

Part of the soil sample from each site was dried at room temperature to measure pH (hydrogen potential) and Eh (redox potential) with the method proposed by Husson *et al.* [31]. Measurements were made using platinum M241Pt electrodes and a 10Mhoms resistance multimeter inside a Faraday cage. The measure was considered stable after 30 s. Because Eh and pH are strongly correlated values, Eh was standardized for a pH of 7 based on Equation (1) where the Eh is measure in volts, R the perfect gas constant ($8.314471 \text{ JK}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), F the Faraday constant ($96485.3383 \text{ C mol}^{-1}$), and T the temperature (Kelvin):

$$\text{EhpH7} = \text{Eh} - \text{RT/F} * \text{Ln}10 * (7 - \text{pH}) \quad (1)$$

Temperature and pH were taken with a pH electrode (HI 1292D HANNA) immediately after the Eh. Organic matter (OM) was measured by mass loss ignition (550°C during 5 h). After heating, the soil was analyzed for texture using a Fritsch Analysette 22 microtech plus to get the content (%) of silt, sand, and clay.

Soil DNA Extraction, Amplification, and Sequencing

Soil for DNA was kept frozen in -20°C until extraction and then DNA from 0.30 g of soil was extracted with the DNeasy PowerSoil kit (Qiagen, Montreal, QC, Canada) according to the manufacturer's instructions. 200 μL of 100 μM ammonium aluminium sulfate ($\text{AlNH}_4(\text{SO}_4)_2$) was added, as an additional step, in the column to remove inhibitors such as humic acid and increase PCR efficiency on several types of soil (clayey, sandy) [32]. DNA was eluted in 100 μL . PCR reactions were performed in a volume of 25 μL containing 2.5 μL of 10x standard Taq buffer (100mMTris-HCl, 500 mM KCl, 15mMMgCl₂), 0.5 μL of dNTPs (10 mM), 0.5 μL of primers (20 mM), 0.25 μL of standard Taq DNA polymerase, 2 μL of total soil DNA and 18.75 μL of nuclease free water. We amplified the ITS2 region with the universal fungal primers fITS7 and ITS4 with a CS1 (ACACTGACGACATGGTTCTACA) and CS2 (TACGGTAGCAGAGACTTGGTCT) tag added at the 50 extremities [33,34]. Three different melting temperatures were used

for each PCR reaction with the following thermocycling conditions: 34 cycles of 30 s at 94 °C, 30 s at three different melting temperatures of 48, 51, and 58 °C, and 1 min 30 s at 72 °C. Reactions were preceded by a 3 min denaturation step at 94 °C and terminated with a 5 min elongation step at 72 °C. If no PCR band was obtained, a 1/10 dilution of the total soil DNA was prepared. Positive PCR from the same sites (3 PCR x 256 sites) were pooled and sent for sequencing. A second PCR was done to add adapters and barcodes (one barcode per site), libraries were quantified and the sequencing was performed with Illumina MiSeq PE 300 following the procedures of Quebec Genome Innovation Center of McGill University (Montreal, QC, Canada).

Bioinformatic Analysis

Raw sequences were demultiplexed and adapters and barcodes were removed for 249 sites (7 samples didn't work at sequencing). The sequences were uploaded to the Galaxy web platform v.1.1.2-806.1 and analyzed for quality using the FastQC Read Quality reports v.0.72 [35,36]. Then sequences were filtered and trimmed (trimleft = c (19, 20), truncLen = c (230, 200), maxN = 0, maxEE = c (2, 2), minLen = 150) using dada2 package v. 1.7.9 in R [26,37]. Only sequences longer than 150 bp with a mean number of expected errors below 2 were kept, trimming these to keep only the first 230 bp for the forward reads and the 200 bp for the reverse reads. Paired-ends sequences were merged using Fastq-join (pN = 0, mN = 20) in the Galaxy web platform [38]. Then Fastq files were converted in Fasta files with FASTX-toolkit v.1.0.2 and ID sequences were changed for the unique number ID of the sites using Seqkit v 0.8.0 [39,40]. The open source software ITSx v. 1.1.1 was used to remove conserved regions (5.8S and 28S) may be present in our ITS2 amplicon [41]. Finally, dereplication procedure for each site was independently (sample level) applied using Vsearch v. 2.8.0 and then all files (249 files corresponding to 249 sites) were combined in one single Fasta file in order to obtain one OTU data file and compare fungal composition between all sites [42]. Then, the dereplication procedure was repeated, but across all sequences. We removed singletons (minuniquesize = 2) chimera sequences using the reference database (UNITE/UCHIME reference datasets v.7.2) and de novo chimeras, and we clustered

sequences (id = 0.97) and performed taxonomic assignment (id = 0.98) with our local barcode database containing 169 barcodes from fungi collected in Canada (mostly in Quebec province) (Document file S1) and public reference databases (USEARCH/UTAX reference datasets v.7.2 from UNITE and 600,000 ITS2 sequences download from the National Center for Biotechnology Information Search database (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)) using Vsearch v. 2.8.0. Non fungal OTUs were removed.

Statistical Analysis

We obtained two databases, one with the abiotic variables for each site and the one with presence/absence OTUs by site. All statistical analyses were coded in R [26]. Taxa frequency bar chart was created using ggplot2 [43]. To identify major abiotic drivers, we correlated fungal occurrences in 240 sites (we excluded 9 sites with missing environmental variables) with 18 abiotic variables from these sites (Table S1). Percentage of sand was not used because of high correlation with clay and silt content. Mean temperature during the growing season and average cumulative precipitation during the growing season were used as climatic variable for each sites. Other climatic data were excluded from the statistical analyses because of high collinearity. Continuous numerical variables were standardized prior to analysis. Generalize linear model with negative binomial family error distribution was used to identify the drivers of fungal OTU richness, using the MASS and MuMIn R packages for model selection based on dredge and importance functions [44,45]. A pairwise site dissimilarity matrix based on Jaccard's index was computed for 240 sites keeping only 14 000 OTUs appearing in these 240 sites. A PERMANOVA analysis using the adonis2 function (vegan R package) was used to explain our fungal distance/dissimilarity matrix using our set of 18 abiotic variables [46]. Prior to running the PERMANOVA analysis, we verified the assumption of multivariate dispersion using the function betadisper (vegan R package) [46]. To verify the homogeneity of variance for the continuous predictors, we quantified the distance of each sample in the ordination to the overall metacommunity-wide centroid, and correlated this value to the continuous variable. Principal coordinate analysis (PCoA) was used to

visualize fungal community composition among sites. Beta-diversity partitioning analyses were used to evaluate whether shifts in fungal community structure were mostly due to species replacement or differences in fungal richness among sites using the `beta.div.comp` function (`coef = "J"`) from Legendre (2014) [21]. This beta-diversity partitioning could be visualized on a ternary plot using the R package Ternary [47]. Species indicator analysis was used to determine whether some species were preferentially associated with specific site characteristics [48].

Results

Taxonomic Diversity

Illumina sequencing of our fungal amplicon resulted in 12,455,757 raw sequences which was pruned to 264,000 unique reads after bioinformatics treatment. Clustering at 97% yielded 14,755 OTUs (6687 singletons), out of which 4796 could be assigned to a known taxon. We merged OTUs (and their frequencies) if they received the same taxonomic assignment and removed OTUs that were assigned to non-fungal organism for a total of 252 removed OTUs. For the 249 sites, 14,503 OTUs, including 4544 OTUs with taxonomic assignment, were obtained. Figure 2 presents a global view of the taxonomic diversity, the 20 most frequent orders for all the sites and their frequency is represented for each climatic domain. The *Agaricales* represented the most frequent order with a mean of 22 OTUs per site for the bioclimatic domain NAT, 19 OTUs for domain MAU and 12 OTUs for domain SAT-HM. The second and third most frequent order were respectively the *Helotiales* and the *Russulales* with 17 and 6 mean OTUs per site for domain NAT, 13 and 4 OTUs for domain MAU and 9 and 4 OTUs for domain SAT-HM. Other common orders were *Cantharellales*, *Boletales*, and *Hypocreales* (Figure 2).

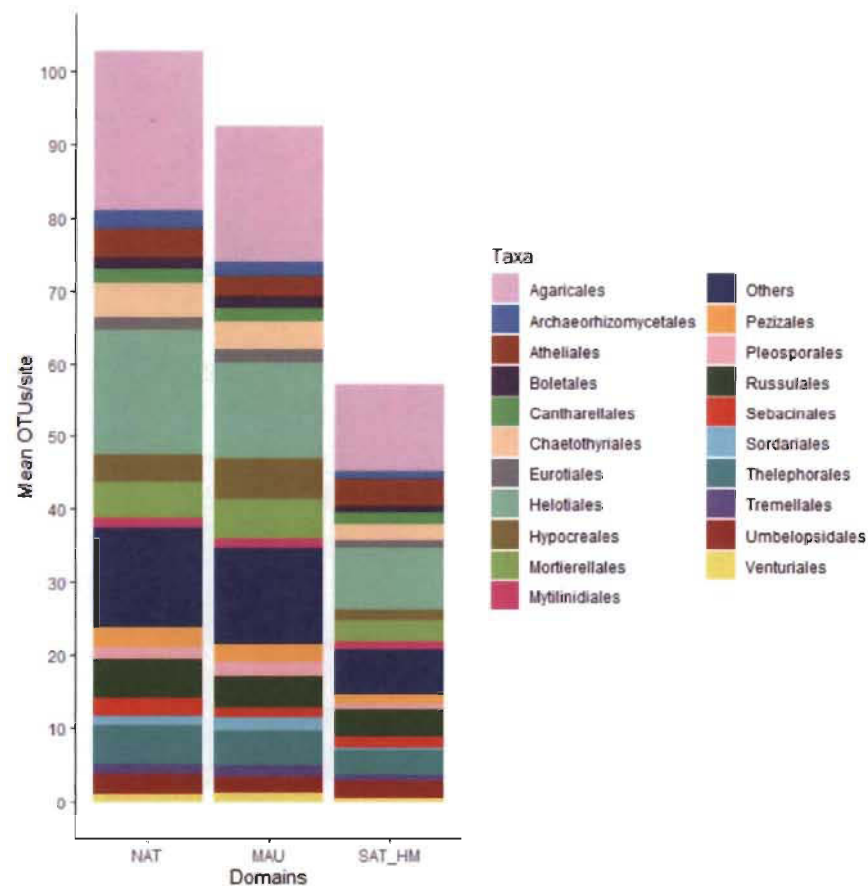


Figure 2. Taxa bar-chart for each climatic domain representing the frequency of the 20 most frequent fungal orders. In the X axis, NAT represents the sites clustered in the north of Abitibi-Témiscamingue, MAU in Mauricie, and SAT_HM in the south of Abitibi-Témiscamingue and in Haute-Mauricie. Y axis represents the mean OTUs (Operational Taxonomic Unit)/site. Each different color represents taxa.

Fungal Richness

OTUs richness varied between 26 to 825 OTUs across the sites with a mean of 193 OTUs per site. Lower OTUs richness was observed in domain SAT-HM compared with domain NAT and MAU (Figure 3). We could also observe a tendency of OTUs richness to decrease in presence of higher moss cover and in older stand age but, to increase with high herb cover (Figure 4a-c). OTUs richness also varied depending on the dominant tree species. Intolerant hardwood (IH) stands showed high fungal richness as opposed to jack pine stands (JP) (Figure 4d).

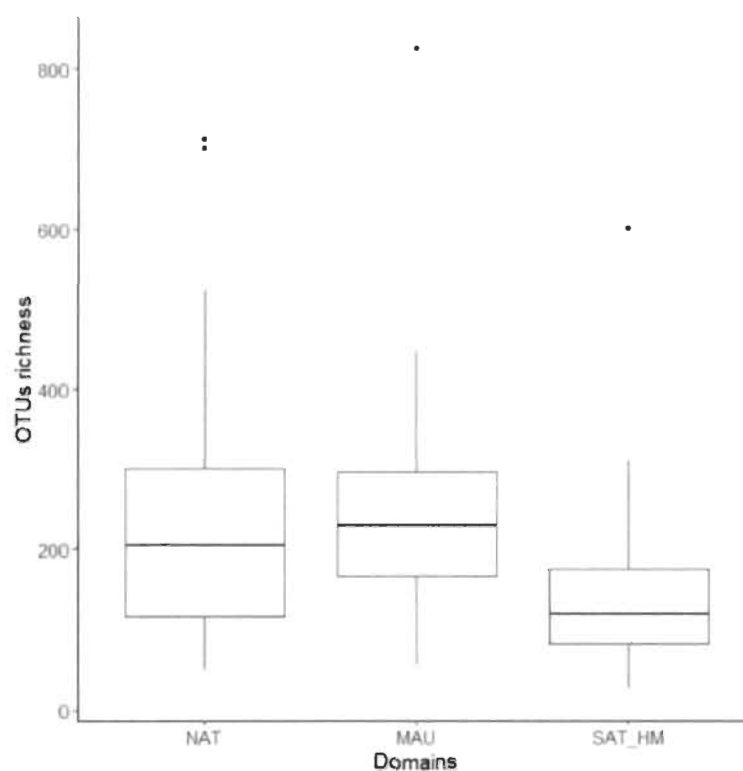


Figure 3. Box-plot indicating the distribution of the OTUs richness (249 sites) for each climatic domain. In the X axis, NAT represents the stands clustered in the north of Abitibi-Témiscamingue, MAU in Mauricie and SAT_HM in the south of Abitibi-Témiscamingue and in Haute-Mauricie. The Y axis represents the OTUs richness (number of OTUs/site).

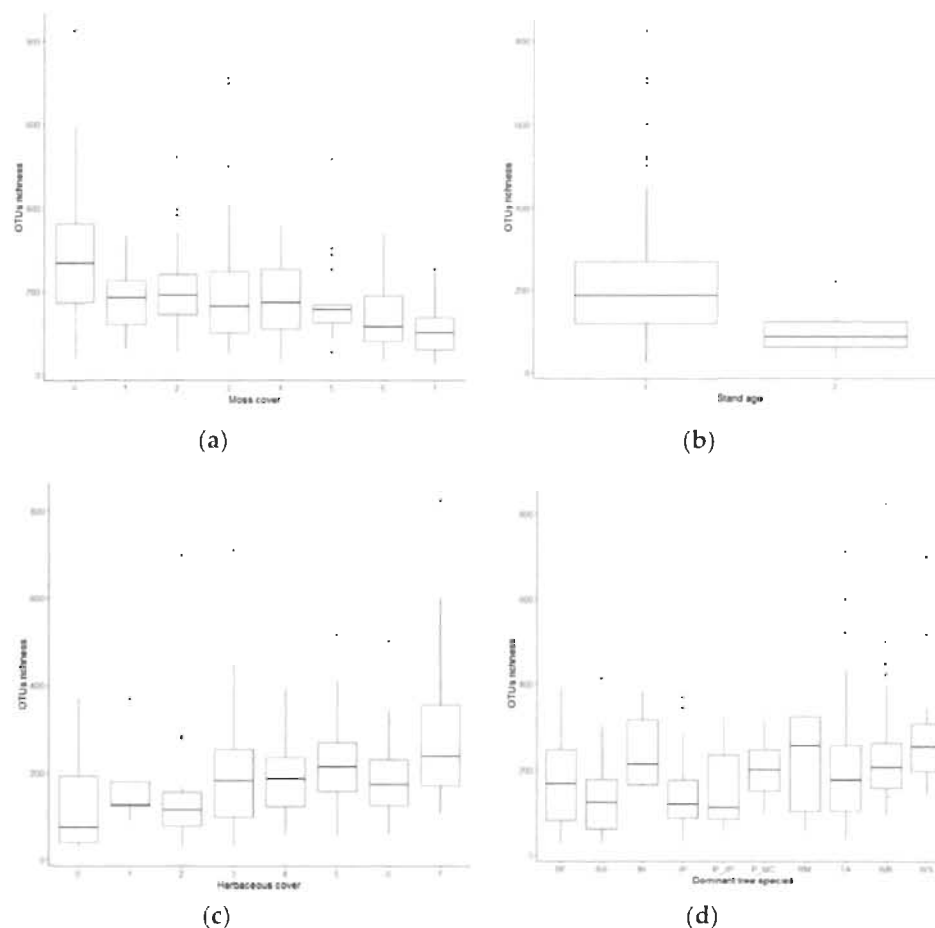


Figure 4. Box-plot representing the distribution of the OTUs richness (240 sites), depending on: **(a)** moss cover; **(b)** stand age; **(c)** herbaceous cover; **(d)** dominant tree species. For (a) and (c) X axis represents the density classes ((81%-100%) = 7, (61%-80%) = 6, (41%-60%) = 5, (26%-40%) = 4, (6%-25%) = 3, (2%-5%) = 2, (1%) = 1, 0 = 0)). For (b) X axis indicates stand age (1 = 20-79 years and 2 = 80 years and over). For (d) X axis indicates the different dominant tree species in the sites (BF = Balsam fir, BS = Black spruce, IH = Intolerant hardwood, JP = Jack pine, P_JP = Jack pine plantation, P_MC = Mixed coniferous plantation, RM = Red maple, TA = Trembling aspen, WB = White birch, and WS = White spruce). Y axis represents the OTUs richness (number of OTUs/site).

A generalized linear model was used first, with all the habitat variables, and used in dredge to performed model selection and model averaging. The dredge function generated a set of 262,144 possible combinations (Table S2). Model at the first rank (lowest AICc) included the variables stand age, average precipitation, herb cover, moss cover, soil pH and silt content, but all first six models were equivalent in weight and for Akaike's information criteria (AICc). Variables that were not included in all the first six models were deposit, drainage, EhPH7, litter, organic matter, and shrub cover. These variables also have low sum of Akaike weights, meaning they appeared in few models (Figure 5).

The moss cover and the stand age stood out as the most important predictors of fungal OTUs richness with a sum of Akaike weights close to one (appeared in almost all the models) (Figure 5). Herb cover, average precipitation, silt content and lichen cover could also important predictors of fungal richness with a sum of Akaike weights over 0.5, indicating that they appeared in half of the possible models (Figure 5).

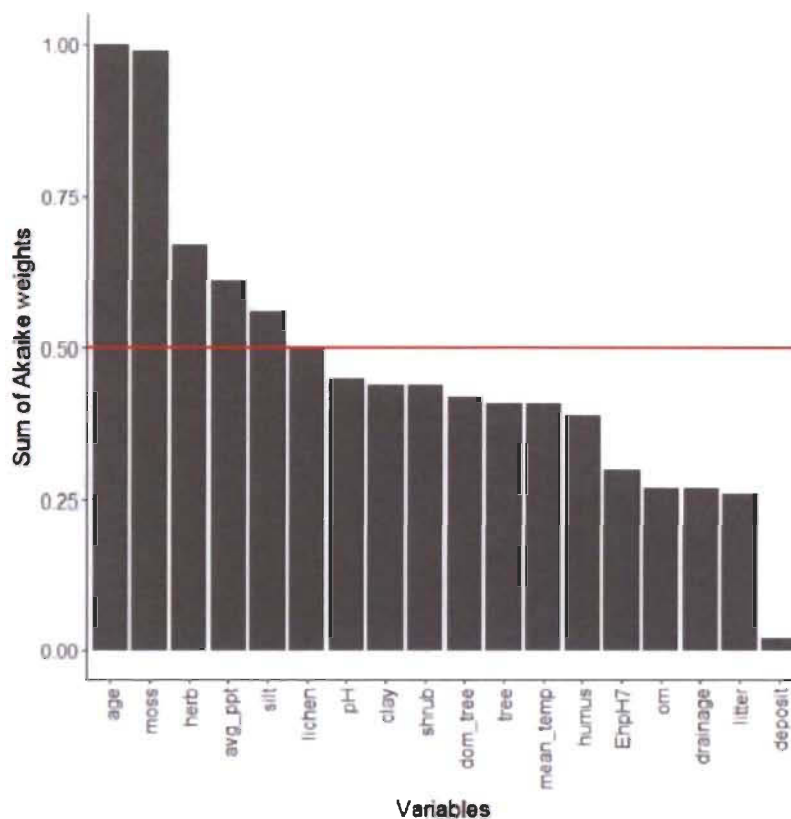


Figure 5. Bar-chart representing the importance of each of the 18 habitat variables from all possible model combinations (262,144). Y axis represents the sum of Akaike weights.

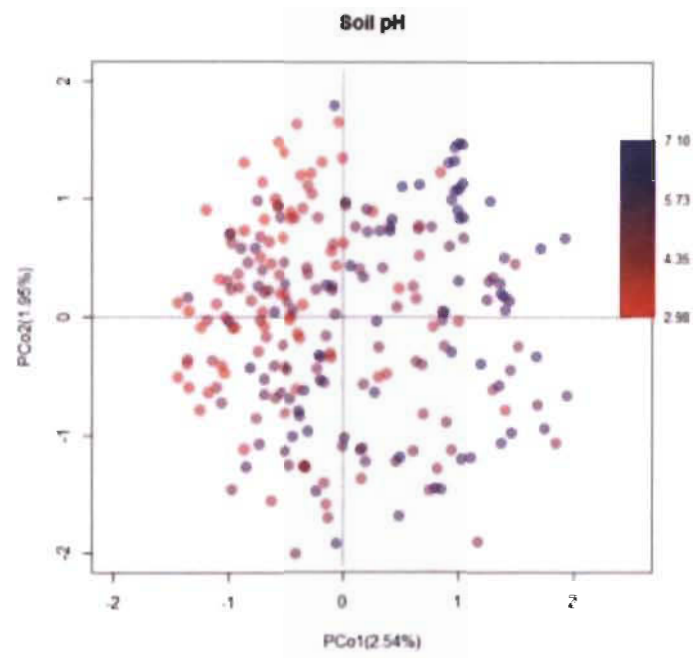
Fungal Community Composition

Soil pH has a significant effect on fungal composition, followed by the average cumulative precipitation and stand age (Table 1 and Figure 6). For stand age, older stand (blue) seemed slightly nested into those from younger stand (red) (Figure 6c). The multivariate dispersion analysis indicated that the assumption of variance homogeneity was violated for stand age ($F = 3.68$, $p = 0.06$) (Document file S2). However,

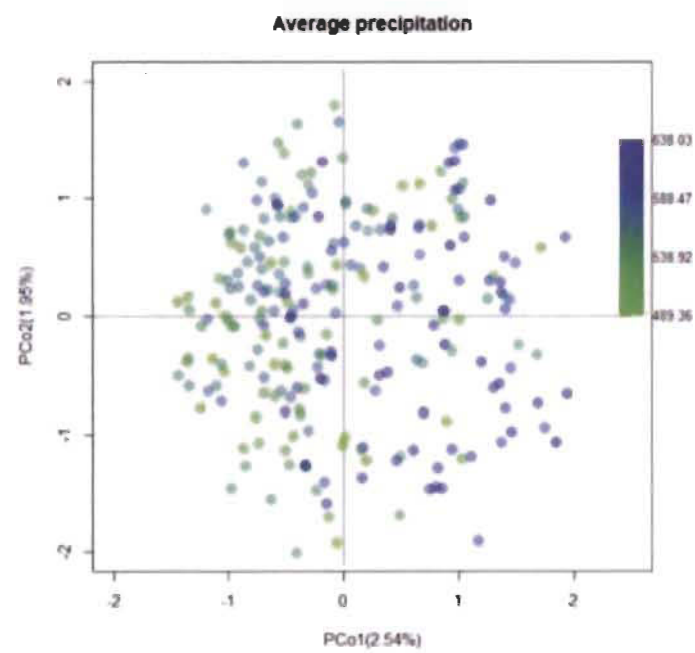
given the robustness of the PERMANOVA test to this assumption, this should not translate as a major bias in our downstream analyses [49]. For the continuous variables, no statistically significant correlations with their distance to the centroid were found for soil pH and average precipitation, the two best predictors (Document file S2 and Figure S2).

Table 1. Results of the PERMANOVA for the global fungal community. Stars indicate the p value significance *** $p < 0.001$; ** $p < 0.01$; * $p < 0.05$.

Variables	R2	F	Pr (>F)
Dominant tree species	0.040	1.123	***
Deposit	0.021	1.072	**
Drainage	0.004	1.038	
Stand age	0.005	1.301	***
Tree (%)	0.004	1.018	
Shrub (%)	0.004	1.011	
Herb (%)	0.004	1.090	
Moss (%)	0.004	1.179	**
Lichen (%)	0.004	1.229	**
Litter (cm)	0.004	1.060	
Humus (cm)	0.004	1.018	
pH	0.006	1.589	***
EhpH7	0.004	1.055	*
Organic matter (%)	0.004	1.183	**
Clay content (%)	0.005	1.245	***
Silt content (%)	0.004	1.098	*
Mean temperature	0.005	1.189	**
Average precipitation	0.006	1.385	***
Residual	0.840		



(a)



(b)

Figure 6. *Cont.*

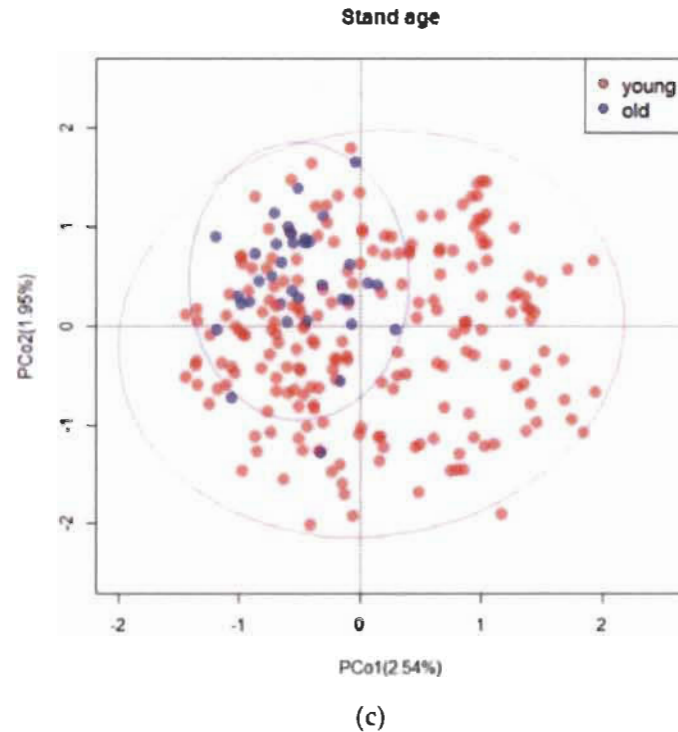


Figure 6. Sites scores for principal coordinate analysis (PCoA) with presence/absence data for 14 000 OTUs (dissimilarity matrix based on Jaccard's index) and 240 sites. Each point in the PCoA represents a site and points close to one another indicate that they are similar in their fungal composition. Values in brackets on the axes show the amount of variation in fungal composition explained by each axis; (a) Sites colored according to their soil pH values (range between 2.98 to 7.10). Color represents a gradient from low (red) to high (blue) soil pH; (b) Sites colored by their average cumulative precipitation (range between 489.36 mm to 638.03 mm). Color represents a gradient from low (green) to high (blue) average precipitation; (c) Sites colored by their stand age. Young stand (20-79 years) are colored in red and old stand (80 years and more) in blue.

We analyzed the fungal community structure with a simplex analysis of beta-diversity partitioning from pairwise comparisons of stands by using different indices that measure similarity (number of share species), relativized richness difference and relativized species replacement according to the R-script methods of Legendre *et al.* (2014) [21]. Values obtained were positioned into an equilateral triangle, the so-called ternary plot. High species turnover, perfect nestedness, and richness identity could be easily recognized because the points are positioned on a given side of the triangle. This analysis shows an alignment of the majority of the pairwise site comparison at the bottom of the ternary plot, which evidences species replacement as the major driver of community dissimilarity in this regional metacommunity (Figure 7a). This could be due

to a very high frequency of rare taxa, which could have inflated the turnover component of beta-diversity. Yet, a similar pattern of strong turnover was observed even when only the most frequent fungi (appearing in more than 30 sites) were retained for the analysis (Figure 7b). Likewise, the pattern held constant when considering only the rarer fungal taxa (Figure 7c).

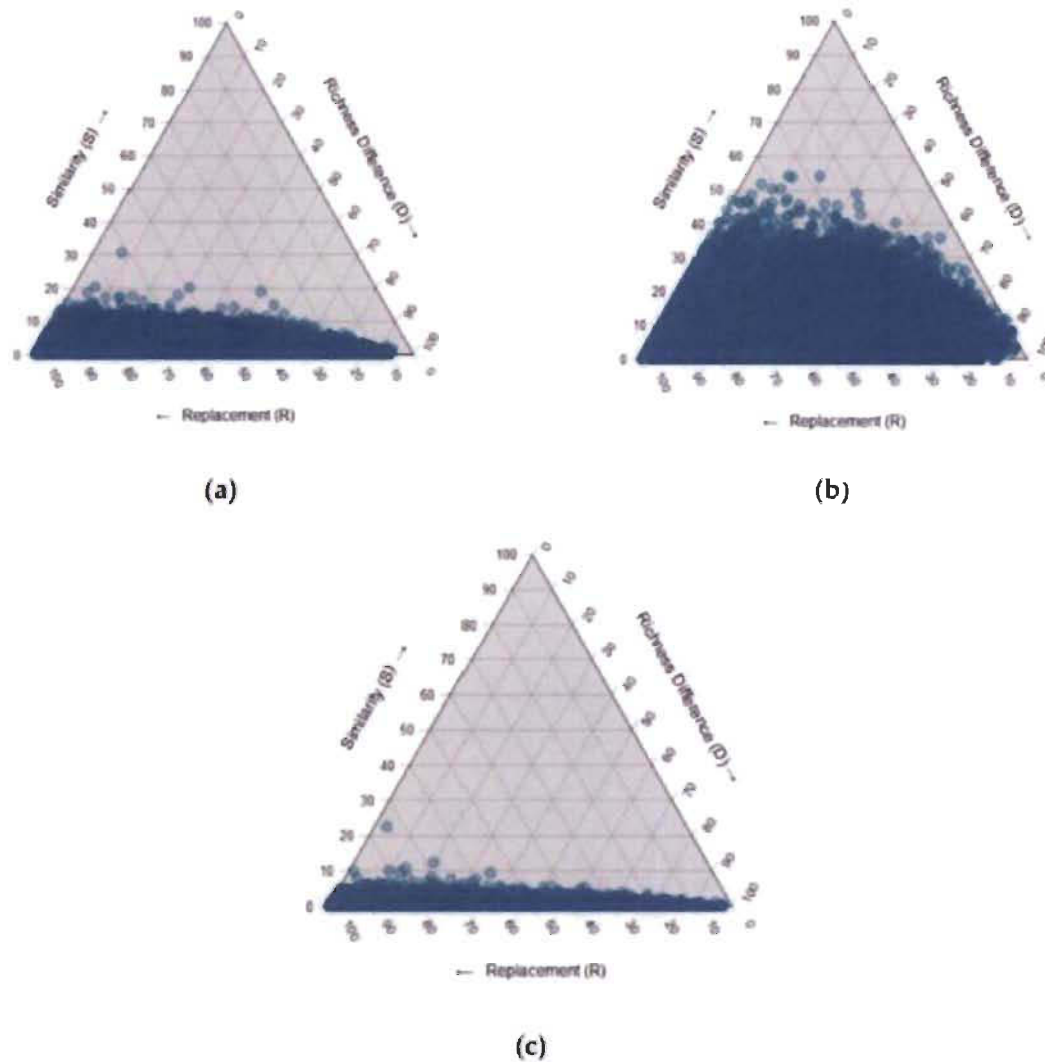


Figure 7. Triangular plot representing a beta-diversity partitioning analysis with presence/absence data with 14,000 OTUs and 240 sites: (a) including the total OTUs (14,000); (b) only the OTUs appearing in more than 30 sites; (c) rarer OTUs appearing in less than 10 sites. Each blue point represents a pair of sites and their position is determined by three indices, the relativized species replacement (R), the relativized richness difference (D) and similarity (S) (dissimilarity matrix based on Jaccard's index) calculated from the R code script from Legendre (2014), values on the axis represents the contribution in percentage of each indices.

Discussion

Fungal Diversity in Temperate and Boreal Quebec Forest

Diversity in the regional species pool could be explained by the large environmental heterogeneity across our sampled sites and the sequencing depth used. Indeed, our study gathered data on highly contrasted sites differing in dominant tree species, geological substrate origin, drainage, climate, and abiotic soil parameters (Table S1). Many studies and reviews have supported the role of environmental heterogeneity in supporting greater species diversity through niche partitioning [50-52]. A study published by Tedersoo *et al.* (2014) also reported very large fungal richness; they sampled 365 sites across the world divided in eleven different biomes (not limited to boreal and temperate forest) and detected 44,563 nonsingleton fungal OTUs that corresponded to approximately half of the described fungal species on the globe [17]. They also observed that boreal and temperate forests were also more diverse in ectomycorrhizal and several other fungal guilds than other biomes. The three most frequent orders that characterized our regions were the *Agaricales*, *Helotiales*, and *Russulales* (Figure 2). These three groups are generally dominant in boreal forest [11,53-55]. The genus *Lactarius* and *Russula*, from the order *Russulales*, are abundant and diverse ectomycorrhizal fungi in northern forests, especially because there are host generalists [14,56,57]. In our data, the genus *Russula* and *Lactarius* represented 84% of the OTUs from the *Russulales* (Table S3). *Helotiales* are common and frequently associated with roots in boreal forest [11,54], whereas the *Agaricales* are known to associate with bryophytes a dominant component of the boreal forest understory [58]. *Agaricales* and *Russulales* are also known to be abundant and diverse in temperate forests [59-63], which represented 32% of sites included in our study. In temperate forests, *Agaricales* are mostly represented by the genus *Cortinarius* and *Inocybe* [60,63]. *Cortinarius* genus represented 24% and *Inocybe* 14% of our OTUs belonging to the *Agaricales* (Table S3).

Soil was collected from June to September, which included a sampling done over two seasons (summer and beginning of fall). Fungal groups do not seem to change between season, although their abundance may change [64,65]. Active mycelium can

decrease at the soil surface in the middle of summer, because of drought, but remains detectable [66]. Season should not have an impact on the global biodiversity retrieved. Unknown OTUs also represented a large proportion of the fungal diversity in our study, which was comparable to other studies using similar high-throughput sequencing methodologies [11,17,67,68]. Despite all the progress in fungal DNA barcoding, most of the fungal species in the world remains unknown for many reasons. Some species are not easily identifiable, difficult or impossible to growth in vitro, they are only represented by only one discovered specimen and in some case it is truly the first encounter [69,70].

Abiotic Drivers of Fungal Richness

We found that predictors of the fungal richness were the stand age and the moss cover. The first ranked model included the variables stand age, average precipitation, herb cover, moss cover, soil pH and silt content, but all first six models were equivalent in weight and for Akaike's information criteria (AICc) (Table S2). Among these variables stand age and moss cover come out as the most important predictors of fungal OTUs richness (Figure 5).

For moss cover, a decrease of OTUs richness was observed when the moss cover was higher (Figure 4A). Fungi living in moss covered stand, would have considerable potential to degrade carbon substrates contained in moss residues and in peatlands [71]. Mosses are well known to be recalcitrant substrates and they can affect conditions growth by maintaining high water level and slowing down the nutrient cycle [72]. They also produce secondary metabolites which would make them difficult to digest for most decomposers [73]. Only a few specialist fungi would be able to decompose moss tissues [74,75]. This could explain a lower fungal richness compared to other type of stands.

In addition to moss cover, stand age come out as an important predictor (Figure 5). A decline of OTUs richness was observed in our older stand (Figure 4b). A general trend, observed in animals and plants, is the colonization of young stand, normally newly exposed, by opportunistic species followed by an increase of species richness [76,77].

In the case of fungi, generally mature coniferous forests can support a larger number of fungal species and provide a higher fungal richness [78,79]. Blaaid *et al.* (2012) also observed for root-associated fungi a high fungal richness in the recently exposed area (young stand), followed by a decrease to finish with an increase of richness in more established ecosystems [80]. In these studies, only one fungal guild (mycorrhizal fungi) was taken into account. In our case the total fungal composition was measured and as such included several fungal groups. Another study compared the presence of several fungal groups over three successional forest stages (2 years, 65 years, and 110 years) and they detected fewer different groups of fungi (species richness) in the older forest than in the young and intermediate forest taken together [81]. In our data, old forests are more than 80 years old (Table S1). Such a high richness in early successional stands contrasts with other findings in western Canada where fungal richness increased over time after clearcuts or fires [82]. Early-successional stands may have increased primary productivity and also potentially higher plant diversity and these two factors can determine the diversity of soil fungal guilds [83]. Mature forest may not be able to support a large diversity of fungi because of loss and changes in nutrient and plant species. Forest productivity will reach a plateau around 40 years old for most of the tree species [84,85]. After the maximum growth, we can observe a decrease of the primary production, photosynthesis, nutrients, and an increase of dead woods [86].

Other predictors appeared in more than half of all possible models as herbaceous cover, lichen cover, average precipitation, and silt content (Figure 5). In the case of herbaceous cover, an increase in OTUs richness was observed with higher herb cover (Figure 4c). Tedersoo *et al.* (2016), identified that fungal richness was positively affected by herb cover [18]. Several groups of root-inhabiting fungi are related to herbaceous plants and a majority of herbaceous plants are dependent on mycorrhizae to survive especially in phosphorus poor soil [87,88]. Higher density of herbaceous cover could provide more colonizable roots for fungi and results in a higher fungal richness [89]. For lichen cover, no information was found to explain how lichen cover can directly affect fungal richness. In our study, we evaluated cover from macrolichen living on the soil surface. One explanation would be that the type of stand where there is high abundance of lichen

is not favorable for fungi. Lichen can grow on several extreme environments: on dry and hot environments, on bare rock, walls, gravestones, roof, exposed soil surfaces, etc. In our study, high lichen cover (covering more than 40% of the area) was found in stand plantation dominated by jack pine. Pine stand is known to have lower fungal richness because of forest litter that could be more acid [18,19,90]. Tree species can differentially influence fungal richness, either because of their partner selectivity or because of the local soil conditions they create [19,90]. We can see this variation in OTUs richness depending on the dominant tree species in our sites, with especially low richness under jack pine stands (Figure 4d).

One edaphic factor that appeared to be important predictor is silt content, with an importance over 0.50 and was included in the lowest AICc model (Table S2 and Figure 5). Fungal response to soil texture has been found elsewhere [91]. Higher global fungal richness was previously observed in fine-textured soils [20]. A reason for that may be the higher propensity of fine particles to be bound within aggregates. It is well known that aggregates formation can create microenvironments for soil microbes and create refuges from predators (e.g., collembolas) in inaccessible micropores [92], but also protection for desiccation [93], heat [94], and pH fluctuation [95]. Such creation of microenvironments may have favored fungal niche partitioning locally, thus potentially increasing richness [96]. Providing more isolate microhabitat demonstrated an increase in microbial species richness [97].

Average cumulative precipitation during the growing season was also an important predictor (Table S2 and Figure 5). Tedersoo *et al.* (2014), previously identified mean annual precipitation as a strongest predictor with a positive effect on global fungal diversity [17]. They compared fungal richness between tropical regions and Africa, the latter had a lower fungal richness because mean annual precipitation is relatively lower. Another study noticed that the number of soil fungal taxa increases significantly with increasing mean annual precipitation [98]. An explanation of the role of precipitation on richness would be related to the fact that most of the mesophilic fungi fail to grow at less than 96% humidity. A study from Talley *et al.* (2002), showed that relative fungal richness increase in presence of high relative humidity (> 50%) [99].

Drivers of Fungal Community Composition

Soil pH was the main driver of fungal community composition (Table 1 and Figure 6a). This is consistent with previous studies showing that soil pH is the primary driver of fungal community composition and it is a main determinant on fungal community composition across the globe [11, 17,67,100-102]. Fungi generally grow, without significant inhibition, on a wide pH ranges [103-105]. However, soil pH could drive fungal composition by changing the abundance of some fungal groups [106], on microorganism diversity [107], and soil nutrients [108]. Acidic soils are characterized by a low cation exchange capacity, particularly in magnesium and calcium, and then cations are not available to organisms, which may act as a strong environmental filter to few adapted and specialized species [109,110]. Soil pH is here confirmed as must be part of the toolkit for modeling the mushroom niche, for conservation and management purposes.

Average precipitation was also identified as important drivers of fungal community composition (Table 1 and Figure 6b). In a previous study, fungi directly responded to variation in precipitation with more abundant, diverse, and consistent communities under drought conditions and more variable communities with an increase in rainfall, but difference in the community composition was more evident when rainfall difference was over 200 mm [111]. For our sites, average cumulative precipitation range was between 489.36 mm to 638.03 mm (Table S1). Fewer sites (blue) were at the opposite of the first PCoA axis corresponding to sites with an average cumulative precipitation over 581 mm (Tables S1 and S4). Over a specific stress threshold, biotic factors such as competition will be more present and determine coexistence [96]. Hawkes *et al.* (2011) observed increase diversity in dry periods and suggested that drought stress moderates competition among fungal taxa [111]. The species have therefore acclimated to specific precipitation conditions and to a certain level of competition and then specific groups of species should be indicative of some stands depending on precipitation level. A species indicator analysis was used to identify some indicator species between the different levels of precipitation. Fourteen genera were identified as significant indicators of low average cumulative precipitation and only three as mid average cumulative

precipitation, compared to fifty-two for high average cumulative precipitation (Table S5). Species belonging to *Inocybe*, *Trichoderma*, and *Clitocybe* are examples of significant indicators of high average cumulative precipitation (Table S5).

For stand age, old stands (blue) seemed slightly nested compared to those from younger stands (red) (Figure 6c). Stands could be different in community composition, because of some species unique to an age-class [47,112]. We identified two genus as an indicator of old stand (80 years and more), *Gloioxanthomyces* and *Urnula* (Table S5). Among all the OTUs, 590 OTUs were only detected in old stand (Tables S1 and S3). Difference in fungal species composition among forest age classes was previously found in several studies. They explained the difference by changes in plant species composition, because plant communities evolves with time [113,114]. Additionally, accumulation of some recalcitrant plant litter is not favorable for the survey of some fungi [115]. One study found that fungal diversity reached a plateau in 26 years-old stand and community composition was similar for stand between 65–100 years, but differ among stand over 100 years-old [82]. Another explanation could be after the maximum growth of a stand, a decrease of the primary production, photosynthesis, nutrients, and an increase of dead woods is observed and then competition to survive could be more present. Models of fungal primary succession showed that few selected species are able to colonize new area and with time they are joined or replace with more competitive species [116,117].

The fungal community structure is however characterized by a high turnover rate across the region (Figure 7). This specifically means that there were no cosmopolitan generalist fungal taxa that were present in the vast majority of our sites. Such a high replacement or turnover of fungal OTUs could reflect either (1) narrow fungal niches and strong environmental filtering [118], (2) strong interspecific competitive exclusion, or (3) historical contingencies with priority effects allowing early colonizers to prevent the establishment of latecomers [21,22,24]. Without additional data, it is impossible to determine in our dataset what the major cause of such a strong species turnover was.

Conclusion

A global overview of the fungal diversity and richness was assessed across the northern temperate and boreal Quebec forests. It allowed to localize area with high fungal richness and identified abiotic predictors across the sampled region. This could be used as a tool to follow fungal richness through time and to anticipate future changes that could be damaging to forests. A high moss cover, old stand (over 80 years) and some dominant tree species (pine stands) are not suitable for a high fungal richness contrary to herb cover and average precipitation. The structure of the fungal community in the region was unknown and now is it characterized by a high turnover rate. Fungal composition is shaped by several abiotic drivers, but we identified soil pH, average cumulative precipitation, and stand age as the most important drivers among the sampled variables. This effort to use meta-barcoding will allow a better characterization of fungal biodiversity and community structure from soil samples across various stands in the province of Québec. Collectively, our results show how difficult it can be to predict fungal community assembly even with high replication and efforts to include several biologically relevant explanatory variables: this poses a significant challenge for fungal conservation and biodiversity management in a changing climate, as it seems that suitable fungal niches will be hard to track. The inclusion of functional traits and phylogeny could be a way to better understanding fungal biogeography [119].

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/1999-4907/10/12/1096/s1>, **Figure S1.** K-means clustering of 249 sites based on the historical climatic data extracted from the site of the government of Canada using the GPS localization. Group 1 (black) includes 70 sites, mostly localized at the north of Abitibi-Témiscamingue (exception of four sites in Haute-Mauricie and two in south of Abitibi) and represents the domain NAT. Group 2 (red) has 79 sites situated in Mauricie and named domain MAU. Group 3 (green) includes 100 sites from the south of Abitibi-Témiscamingue (exception of five sites at the north) and Haute-Mauricie and represents the domain SAT-HM. **Figure S2.** Plots representing values from soil pH (**a**) and (**b**) average precipitation and in y axis, their distances to the centroid.

Document file S1. Local fungal ITS DNA barcode reference; **Document file S2.** Multivariate dispersion results; **Table S1.** Environmental database; **Table S2.** Dredge results; **Table S3.** OTU database; **Table S4.** Ordination scores; **Table S5.** Results of species indicators analysis.

Funding: The study was funded by the Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) and the Consortium de recherche et innovations en bioprocédés industriels au Québec (CRIBIQ).

Acknowledgments: The authors would like to acknowledge Joelle Rancourt, Isabelle Gosselin, Perrine Juillion and Ingrid Sanchez for their help during field sampling. We also want to thanks Alexandre Brisson and Mathias Bisaillon for their help during laboratory manipulations.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Blackwell, M. The Fungi: 1, 2, 3: : 5.1 million species? *Am. J. Bot.* **2011**, *98*, 426-438. [CrossRef]
2. Gessner, M.; Gulis, V.; Kuehn, K.; Chauvet, E.; Suberkropp, K. 17 Fungal Decomposers of Plant Litter in Aquatic Ecosystems. *Environ. Microb. Relatsh.* **2007**, *4*, 301.
3. Rosa, L.H.; Vaz, A.B.; Caligiorme, R.B.; Campolina, S.; Rosa, C.A. Endophytic fungi associated with the Antarctic grass *Deschampsia antarctica* Desv. (Poaceae). *Polar Biol.* **2009**, *32*, 161-167. [CrossRef]
4. Clemmensen, K.; Bahr, A.; Ovaskainen, O.; Dahlberg, A.; Ekblad, A.; Wallander, H.; Stenlid, J.; Finlay, R.; Wardle, D.; Lindahl, B. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. *Science* **2013**, *339*, 1615-1618. [CrossRef]

5. Delgado-Baquerizo, M.; Maestre, F.T.; Reich, P.B.; Je_ries, T.C.; Gaitan, J.J.; Encinar, D.; Berdugo, M.; Campbell, C.D.; Singh, B.K. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nat. Commun.* **2016**, *7*, 10541. [CrossRef]
6. Li, J.; Delgado-Baquerizo, M.; Wang, J.-T.; Hu, H.-W.; Cai, Z.-J.; Zhu, Y.-N.; Singh, B.K. Fungal richness contributes to multifunctionality in boreal forest soil. *Soil Biol. Biochem.* **2019**, *136*, 107526. [CrossRef]
7. Wagg, C.; Bender, S.F.; Widmer, F.; van der Heijden, M.G. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2014**, *111*, 5266-5270. [CrossRef]
8. Egli, S. Mycorrhizal mushroom diversity and productivity—an indicator of forest health? *Ann. For. Sci.* **2011**, *68*, 81-88. [CrossRef]
9. Van Bruggen, A.H.; Semenov, A.M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Appl. Soil Ecol.* **2000**, *15*, 13-24. [CrossRef]
10. Boa, E. Wild Edible Fungi: A Global Overview of Their Use and Importance to People (No. 17); Food & Agriculture Org: Rome, Italy, 2004; p. 157.
11. Day, N.J.; Dunfield, K.E.; Johnstone, J.F.; Mack, M.C.; Turetsky, M.R.; Walker, X.J.; White, A.L.; Baltzer, J.L. Wildfire severity reduces richness and alters composition of soil fungal communities in boreal forests of western Canada. *Glob. Chang. Biol.* **2019**, *25*, 2310-2324. [CrossRef]
12. Kardol, P.; Cregger, M.A.; Campany, C.E.; Classen, A.T. Soil ecosystem functioning under climate change: Plant species and community effects. *Ecology* **2010**, *91*, 767-781. [CrossRef]
13. Monkai, J.; Hyde, K.D.; Xu, J.; Mortimer, P.E. Diversity and ecology of soil fungal communities in rubber plantations. *Fungal Biol. Rev.* **2017**, *31*, 1-11. [CrossRef]
14. Santalahti, M. Fungal Communities in Boreal Forest Soils: The Effect of Disturbances, Seasons and Soil Horizons; Dissertationes Schola Doctoralis Scientiae Circumiectalis, limentariae, Biologicae; Universitatis Helsinkiensis: Helsinki, Finland, 2018.
15. Silvertown, J. Plant coexistence and the niche. *Trends Ecol. Evol.* **2004**, *19*, 605-611. [CrossRef]
16. Štursová, M.; Žifčáková, L.; Leigh, M.B.; Burgess, R.; Baldrian, P. Cellulose utilization in forest litter and soil: Identification of bacterial and fungal decomposers. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2012**, *80*, 735-746. [CrossRef]
17. Tedersoo, L.; Bahram, M.; Põlme, S.; Kõljalg, U.; Yorou, N.S.; Wijesundera, R.; Ruiz, L.V.; Vasco-Palacios, A.M.; Thu, P.Q.; Suija, A. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* **2014**, *346*, 1256688. [CrossRef]

18. Tedersoo, L.; Bahram, M.; Cajthaml, T.; Põlme, S.; Hiiesalu, I.; Anslan, S.; Harend, H.; Buegger, F.; Pritsch, K.; Koricheva, J. Tree diversity and species identity effects on soil fungi, protists and animals are context dependent. *ISME J.* **2016**, *10*, 346. [CrossRef]
19. Saitta, A.; Anslan, S.; Bahram, M.; Brocca, L.; Tedersoo, L. Tree species identity and diversity drive fungal richness and community composition along an elevational gradient in a Mediterranean ecosystem. *Mycorrhiza* **2018**, *28*, 39-47. [CrossRef]
20. Hemkemeyer, M.; Christensen, B.T.; Tebbe, C.C.; Hartmann, M. Taxon-specific fungal preference for distinct soil particle size fractions. *Eur. J. Soil Biol.* **2019**, *94*, 103-103. [CrossRef]
21. Legendre, P. Interpreting the replacement and richness difference components of beta diversity. *Glob. Ecol. Biogeogr.* **2014**, *23*, 1324-1334. [CrossRef]
22. Podani, J.; Schmera, D. A new conceptual and methodological framework for exploring and explaining pattern in presence-absence data. *Oikos* **2011**, *120*, 1625-1638. [CrossRef]
23. Legendre, P.; De Cáceres, M. Beta diversity as the variance of community data: Dissimilarity coefficients and partitioning. *Ecol. Lett.* **2013**, *16*, 951-963. [CrossRef] [PubMed]
24. Leprieux, F.; Tedesco, P.A.; Hugueny, B.; Beauchard, O.; Dürr, H.H.; Brosse, S.; Oberdorfer, T. Partitioning global patterns of freshwater fish beta diversity reveals contrasting signatures of past climate changes. *Ecol. Lett.* **2011**, *14*, 325-334. [CrossRef] [PubMed]
25. Maechler, M.; Rousseeuw, P.; Struyf, A.; Hubert, M.; Hornik, K. *Cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions*. R Package Version 2.0. 5; 2016: 2018. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 29 October 2019).
26. Team, R.C. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. 2013. Available online: <https://www.r-project.org/> (accessed on 29 October 2019).
27. Fallu, J. *Évaluation du potentiel de récolte des champignons forestiers comestibles dans les boisés de l'Estrie, Québec*. 2004. Available online: <http://savoirs.usherbrooke.ca/handle/11143/2345> (accessed on 29 October 2019).
28. Gévry, M.-F. *Étude des Facteurs Environnementaux Déterminant la Répartition de Champignons Forestiers Comestibles en Gaspésie, Québec*; Université du Québec à Rimouski : Rimouski, QC, Canada, 2010.
29. Rochon, C.; Pare, D.; Khasa, D.P.; Fortin, J.A. Ecology and management of the lobster mushroom in an eastern Canadian jack pine stand. *Can. J. For. Res.* **2009**, *39*, 2080-2091. [CrossRef]

30. Saucier, J.; Berger, J.; Davignon, H. *Le Point d'observation Écologique : Normes Techniques*; Ministère des Forêts du Québec, Service des Inventaires Forestiers: Sainte-Foy, QC, Canada, 1994.
31. Husson, O.; Husson, B.; Brunet, A.; Babre, D.; Alary, K.; Sarthou, J.-P.; Charpentier, H.; Durand, M.; Benada, J.; Henry, M. Practical improvements in soil redox potential (Eh) measurement for characterisation of soil properties. Application for comparison of conventional and conservation agriculture cropping systems. *Anal. Chim. Acta* **2016**, 906, 98-109. [CrossRef]
32. Dong, D.; Yan, A.; Liu, H.; Zhang, X.; Xu, Y. Removal of humic substances from soil DNA using aluminium sulfate. *J. Microbiol. Methods* **2006**, 66, 217-222. [CrossRef]
33. Ihrmark, K.; Bödeker, I.T.; Cruz-Martinez, K.; Friberg, H.; Kubartova, A.; Schenck, J.; Strid, Y.; Stenlid, J.; Brandström-Durling, M.; Clemmensen, K.E. New primers to amplify the fungal ITS2 region—evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2012**, 82, 666-677. [CrossRef]
34. White, T.J.; Bruns, T.; Lee, S.; Taylor, W.J. *Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics*; Academic Press, Inc.: New York, NY, USA, 1990.
35. Afgan, E.; Baker, D.; Batut, B.; Van Den Beek, M.; Bouvier, D.; Cech, M.; Chilton, J.; Clements, D.; Coraor, N.; Grüning, B.A. The Galaxy platform for accessible, reproducible and collaborative biomedical analyses: 2018 update. *Nucleic Acids Res.* **2018**, 46, W537-W544. [CrossRef]
36. Andrews, S. FastQC: A Quality Control Tool for High Throughput Sequence Data. 2010. Available online: <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (accessed on 29 Oct. 2019).
37. Callahan, B.J.; McMurdie, P.J.; Rosen, M.J.; Han, A.W.; Johnson, A.J.A.; Holmes, S.P. DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data. *Nat. Methods* **2016**, 13, 581. [CrossRef]
38. Aronesty, E. Comparison of sequencing utility programs. *Open Bioinf. J.* **2013**, 7, 1-8. [CrossRef]
39. Gordon, A.; Hannon, G. FASTQ/A Short-Reads Pre-Processing Tools. 2010. Available online: http://hannonlab.cshl.edu/fastx_toolkit/ (accessed on 29 October 2019).
40. Shen, W.; Le, S.; Li, Y.; Hu, F. SeqKit: A cross-platform and ultrafast toolkit for FASTA/Q file manipulation. *PLoS ONE* **2016**, 11, e0163962. [CrossRef]

41. Bengtsson-Palme, J.; Ryberg, M.; Hartmann, M.; Branco, S.; Wang, Z.; Godhe, A.; DeWit, P.; Sanchez-Garcia, M.; Ebersberger, I.; de Sousa, F. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. *Methods Ecol. Evol.* **2013**, *4*, 914-919. [CrossRef]
42. Rognes, T.; Flouri, T.; Nichols, B.; Quince, C.; Mahé, F. VSEARCH: A versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* **2016**, *4*, e2584. [CrossRef] [PubMed]
43. Wickham, H. *Elegant Graphics for Data Analysis (ggplot2)*; Springer: New York, NY, USA, 2009.
44. Venables, W.; Ripley, B.; Isbn, S. *Statistics Complements to Modern Applied Statistics with S* by W.N. Venables and B.D. Ripley, 4th ed.; Springer: Cham, Switzerland, 2002.
45. Barton, K. MuMIn: Multi-Model Inference. R Package Version 0.12. 2/r18. 2009. Available online: <http://R-Forge.R-project.org/projects/mumin> (accessed on 29 October 2019).
46. Oksanen, J.; Blanchet, F.G.; Kindt, R.; Legendre, P.; O'hara, R.; Simpson, G.L.; Solymos, P.; Stevens, M.H.H.; Wagner, H. *Vegan: Community Ecology Package*. R Package Version 1.17-4. Available online: <http://cran.r-project.org> (accessed on 29 October 2019).
47. Smith, M. Ternary: An R package to generate ternary plots. *Zenodo* **2017**. [CrossRef]
48. Dufrêne, M.; Legendre, P. Species assemblages and indicator species: The need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* **1997**, *67*, 345-366. [CrossRef]
49. Anderson, M.J.; Walsh, D.C. PERMANOVA, ANOSIM, and the Mantel test in the face of heterogeneous dispersions: What null hypothesis are you testing? *Ecol. Monogr.* **2013**, *83*, 557-574. [CrossRef]
50. Ricklefs, R.E. Environmental heterogeneity and plant species diversity: A hypothesis. *Am. Nat.* **1977**, *111*, 376-381. [CrossRef]
51. Shmida, A.; Wilson, M.V. Biological determinants of species diversity. *J. Biogeogr.* **1985**, *12*, 1-20. [CrossRef]
52. Shorrocks, B.; Sevenster, J.G. Explaining local species diversity. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Biol. Sci.* **1995**, *260*, 305-309.
53. Asemaninejad, A.; Thorn, R.G.; Lindo, Z. Vertical distribution of fungi in hollows and hummocks of boreal peatlands. *Fungal Ecol.* **2017**, *27*, 59-68. [CrossRef]

54. Clemmensen, K.E.; Finlay, R.D.; Dahlberg, A.; Stenlid, J.; Wardle, D.A.; Lindahl, B.D. Carbon sequestration is related to mycorrhizal fungal community shifts during long-term succession in boreal forests. *New Phytol.* **2015**, *205*, 1525-1536. [CrossRef]
55. Männistö, M.; Vuosku, J.; Stark, S.; Saravesi, K.; Suokas, M.; Markkola, A.; Martz, F.; Rautio, P. Bacterial and fungal communities in boreal forest soil are insensitive to changes in snow cover conditions. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2018**, *94*, fiy123. [CrossRef] [PubMed]
56. Geml, J.; Laursen, G.A.; Herriott, I.C.; McFarland, J.M.; Booth, M.G.; Lennon, N.; Chad Nusbaum, H.; Lee Taylor, D. Phylogenetic and ecological analyses of soil and sporocarp DNA sequences reveal high diversity and strong habitat partitioning in the boreal ectomycorrhizal genus *Russula* (Russulales; Basidiomycota). *New Phytol.* **2010**, *187*, 494-507. [CrossRef] [PubMed]
57. Mucha, J.; Peay, K.G.; Smith, D.P.; Reich, P.B.; Stefański, A.; Hobbie, S.E. Effect of simulated climate warming on the ectomycorrhizal fungal community of boreal and temperate host species growing near their shared ecotonal range limits. *Microb. Ecol.* **2018**, *75*, 348-363. [CrossRef] [PubMed]
58. Kauserud, H.; Mathiesen, C.; Ohlson, M. High diversity of fungi associated with living parts of boreal forest bryophytes. *Botany* **2008**, *86*, 1326-1333. [CrossRef]
59. Brabcová, V.; Nováková, M.; Davidová, A.; Baldrian, P. Dead fungal mycelium in forest soil represents a decomposition hotspot and a habitat for a specific microbial community. *New Phytol.* **2016**, *210*, 1369-1381. [CrossRef] [PubMed]
60. Cline, L.C.; Huggins, J.A.; Hobbie, S.E.; Kennedy, P.G. Organic nitrogen addition suppresses fungal richness and alters community composition in temperate forest soils. *Soil Biol. Biochem.* **2018**, *125*, 222-230. [CrossRef]
61. Goldmann, K.; Schöning, I.; Buscot, F.; Wubet, T. Forest management type influences diversity and community composition of soil fungi across temperate forest ecosystems. *Front. Microbiol.* **2015**, *6*, 1300. [CrossRef]
62. Morrison, E.W.; Frey, S.D.; Sadowsky, J.J.; van Diepen, L.T.; Thomas, W.K.; Pringle, A. Chronic nitrogen additions fundamentally restructure the soil fungal community in a temperate forest. *Fungal Ecol.* **2016**, *23*, 48-57. [CrossRef]
63. Truong, C.; Mujic, A.B.; Healy, R.; Kuhar, F.; Furci, G.; Torres, D.; Niskanen, T.; Sandoval-Leiva, P.A.; Fernández, N.; Escobar, J.M. How to know the fungi: Combining field inventories and DNA-barcoding to document fungal diversity. *New Phytol.* **2017**, *214*, 913-919. [CrossRef]
64. Maheswari, S.; Rajagopal, K. Biodiversity of endophytic fungi in *Kigelia pinnata* during two different seasons. *Curr. Sci.* **2013**, *104*, 515-518.

65. Wallander, H.; Nilsson, L.O.; Hagerberg, D.; Bååth, E. Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field. *New Phytol.* **2001**, *151*, 753-760. [CrossRef]
66. Nilsson, M.; Rölcker, C. Seasonal variation of active fungal mycelium in an oligotrophic Sphagnum mire, northern Sweden. *Soil Biol. Biochem.* **1992**, *24*, 795-804. [CrossRef]
67. Nagati, M.; Roy, M.; Manzi, S.; Richard, F.; Desrochers, A.; Gardes, M.; Bergeron, Y. Impact of local forest composition on soil fungal communities in a mixed boreal forest. *Plant Soil* **2018**, *432*, 345-357. [CrossRef]
68. Schmidt, P.A.; Balint, M.; Greshake, B.; Bandow, C.; Rombke, J.; Schmitt, I. Illumina metabarcoding of a soil fungal community. *Soil Biol. Biochem.* **2013**, *65*, 128-132. [CrossRef]
69. Seifert, K.A. Progress towards DNA barcoding of fungi. *Mol. Ecol. Resour.* **2009**, *9* (Suppl. 1), 83-89. [CrossRef]
70. Xu, J. Fungal DNA barcoding. *Genome* **2016**, *59*, 913-932. [CrossRef]
71. Thormann, M.N.; Currah, R.S.; Bayley, S.E. The relative ability of fungi from Sphagnum fuscum to decompose selected carbon substrates. *Can. J. Microbiol.* **2002**, *48*, 204-211. [CrossRef]
72. Fenton, N.J.; Bergeron, Y.; Paré, D. Decomposition rates of bryophytes in managed boreal forests: Influence of bryophyte species and forest harvesting. *Plant Soil* **2010**, *336*, 499-508. [CrossRef]
73. Verhoeven, J.; Liefveld, W. The ecological significance of organochemical compounds in Sphagnum. *Acta Bot. Neerl.* **1997**, *46*, 117-130. [CrossRef]
74. Rice, A.V.; Tsuneda, A.; Currah, R.S. In vitro decomposition of Sphagnum by some microfungi resembles white rot of wood. *FEMS Microbiol. Ecol.* **2006**, *56*, 372-382. [CrossRef]
75. Thormann, M.N. Diversity and function of fungi in peatlands: A carbon cycling perspective. *Can. J. Soil Sci.* **2006**, *86*, 281-293. [CrossRef]
76. Hågvar, S. Primary succession of springtails (Collembola) in a Norwegian glacier foreland. *Arct. Antarct. Alp. Res.* **2010**, *42*, 422-429. [CrossRef]
77. Raffl, C.; Mallaun, M.; Mayer, R.; Erschbamer, B. Vegetation succession pattern and diversity changes in a glacier valley, Central Alps, Austria. *Arct. Antarct. Alp. Res.* **2006**, *38*, 421-428. [CrossRef]
78. Dejene, T.; Oria-de-Rueda, J.A.; Martín-Pinto, P. Fungal diversity and succession following stand development in Pinus patula Schiede ex Schltdl. & Cham. plantations in Ethiopia. *For. Ecol. Manag.* **2017**, *395*, 9-18.

79. Kernaghan, G. Mycorrhizal diversity: Cause and effect? *Pedobiologia* **2005**, 49, 511-520. [CrossRef]
80. Blaaliid, R.; Carlsen, T.; Kumar, S.; Halvorsen, R.; Ugland, K.I.; Fontana, G.; Kauserud, H. Changes in the root-associated fungal communities along a primary succession gradient analysed by 454 pyrosequencing. *Mol. Ecol.* **2012**, 21, 1897-1908. [CrossRef]
81. Zumsteg, A.; Luster, J.; Göransson, H.; Smittenberg, R.H.; Brunner, I.; Bernasconi, S.M.; Zeyer, J.; Frey, B. Bacterial, archaeal and fungal succession in the forefield of a receding glacier. *Microb. Ecol.* **2012**, 63, 552-564. [CrossRef]
82. Twieg, B.D.; Durall, D.M.; Simard, S.W. Ectomycorrhizal fungal succession in mixed temperate forests. *New Phytol.* **2007**, 176, 437-447. [CrossRef]
83. Hiiesalu, I.; Bahram, M.; Tedersoo, L. Plant species richness and productivity determine the diversity of soil fungal guilds in temperate coniferous forest and bog habitats. *Mol. Ecol.* **2017**, 26, 4846-4858. [CrossRef]
84. Boeraeve, M.; Honnay, O.; Jacquemyn, H. Effects of host species, environmental filtering and forest age on community assembly of ectomycorrhizal fungi in fragmented forests. *Fungal Ecol.* **2018**, 36, 89-98. [CrossRef]
85. He, L.; Chen, J.M.; Pan, Y.; Birdsey, R.; Kattge, J. Relationships between net primary productivity and forest stand age in US forests. *Glob. Biogeochem. Cycles* **2012**, 26. [CrossRef]
86. Ryan, M.; Binkley, D.; Fownes, J.H. Age-related decline in forest productivity: Pattern and process. *Adv. Ecol. Res.* **1997**, 27, 213-262.
87. Rożek, K.; Rola, K.; Błaszowski, J.; Zubek, S. Associations of root-inhabiting fungi with herbaceous plant species of temperate forests in relation to soil chemical properties. *Sci. Total Environ.* **2019**, 649, 1573-1579. [CrossRef] [PubMed]
88. Veresoglou, S.D.; Wulf, M.; Rillig, M.C. Facilitation between woody and herbaceous plants that associate with arbuscular mycorrhizal fungi in temperate European forests. *Ecol. Evol.* **2017**, 7, 1181-1189. [CrossRef]
89. Öpik, M.; Moora, M.; Zobel, M.; Saks, Ü.; Wheatley, R.; Wright, F.; Daniell, T. High diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreal herb-rich coniferous forest. *New Phytol.* **2008**, 179, 867-876.
90. 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. [CrossRef]
91. Lekberg, Y.; Koide, R.T.; Rohr, J.R.; Aldrich-wolfe, L.; Morton, J.B. Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *J. Ecol.* **2007**, 95, 95-105. [CrossRef]

92. Coleman, D.C.; Callaham, M.A.; Crossley, D., Jr. *Fundamentals of Soil Ecology*; Academic Press: Cambridge, MA, USA, 2017.
93. Bushby, H.; Marshall, K. Water status of rhizobia in relation to their susceptibility to desiccation and to their protection by montmorillonite. *Microbiology* **1977**, *99*, 19-27. [CrossRef]
94. Bitton, G.; Henis, Y.; Lahav, N. Influence of clay minerals, humic acid and bacterial capsular polysaccharide on the survival of *Klebsiella aerogenes* exposed to drying and heating in soils. *Plant Soil* **1976**, *45*, 65-74. [CrossRef]
95. Stotzky, G.; Rem, L. Influence of clay minerals on microorganisms: I. Montmorillonite and kaolinite on bacteria. *Can. J. Microbiol.* **1966**, *12*, 547-563. [CrossRef]
96. Chase, J.M.; Leibold, M.A. *Ecological Niches: Linking Classical and Contemporary Approaches*; University of Chicago Press: Chicago, IL, USA, 2003.
97. Chau, J.F.; Bagtzoglou, A.C.; Willig, M.R. The effect of soil texture on richness and diversity of bacterial communities. *Environ. Forensics* **2011**, *12*, 333-341. [CrossRef]
98. McGuire, K.L.; Fierer, N.; Bateman, C.; Treseder, K.K.; Turner, B.L. Fungal community composition in neotropical rain forests: The influence of tree diversity and precipitation. *Microb. Ecol.* **2012**, *63*, 804-812. [CrossRef] [PubMed]
99. Talley, S.M.; Coley, P.D.; Kursar, T.A. The effects of weather on fungal abundance and richness among 25 communities in the Intermountain West. *BMC Ecol.* **2002**, *2*, 7. [CrossRef] [PubMed]
100. Glassman, S.I.; Wang, I.J.; Bruns, T.D. Environmental filtering by pH and soil nutrients drives community assembly in fungi at fine spatial scales. *Mol. Ecol.* **2017**, *26*, 6960-6973. [CrossRef]
101. Köster, K.; Berninger, F.; Lindén, A.; Köster, E.; Pumpanen, J. Recovery in fungal biomass is related to decrease in soil organic matter turnover time in a boreal fire chronosequence. *Geoderma* **2014**, *235*, 74-82. [CrossRef]
102. Sun, H.; Santalahti, M.; Pumpanen, J.; Köster, K.; Berninger, F.; Raaijmakers, T.; Jumpponen, A.; Asiegbu, F.O.; Heinonsalo, J. Fungal community shifts in structure and function across a boreal forest fire chronosequence. *Appl. Environ. Microbiol.* **2015**, *81*, 7869-7880. [CrossRef]
103. Gock, M.A.; Hocking, A.D.; Pitt, J.I.; Poulos, P.G. Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi. *Int. J. Food Microbiol.* **2003**, *81*, 11-19. [CrossRef]

104. Jackson, A.; Whipps, J.; Lynch, J. Effects of temperature, pH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **1991**, *7*, 494-501. [CrossRef]
105. Yamanaka, T. The effect of pH on the growth of saprotrophic and ectomycorrhizal ammonia fungi in vitro. *Mycologia* **2003**, *95*, 584-589. [CrossRef]
106. Rousk, J.; Bååth, E.; Brookes, P.C.; Lauber, C.L.; Lozupone, C.; Caporaso, J.G.; Knight, R.; Fierer, N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *ISME J.* **2010**, *4*, 1340. [CrossRef]
107. Rousk, J.; Brookes, P.C.; Bååth, E. Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil. *Soil Biol. Biochem.* **2010**, *42*, 926-934. [CrossRef]
108. Thomas, G.W. Soil pH and soil acidity. *Methods Soil Anal.* **1996**, *3*, 475-490.
109. Finzi, A.C.; Canham, C.D.; Van Breemen, N. Canopy tree–soil interactions within temperate forests: Species effects on pH and cations. *Ecol. Appl.* **1998**, *8*, 447-454.
110. Pernes-Debuyser, A.; Tessier, D. Influence du pH sur les propriétés des sols: L’essai de longue durée des 42 parcelles à Versailles. *Rev. des Sci. de l’eau J. Water Sci.* **2002**, *15*, 27-39. [CrossRef]
111. Hawkes, C.V.; Kivlin, S.N.; Rocca, J.D.; Huguet, V.; Thomsen, M.A.; Suttle, K.B. Fungal community responses to precipitation. *Glob. Chang. Biol.* **2011**, *17*, 1637-1645. [CrossRef]
112. O’Dell, T.E.; Ammirati, J.F.; Schreiner, E.G. Species richness and abundance of ectomycorrhizal basidiomycete sporocarps on a moisture gradient in the *Tsuga heterophylla* zone. *Can. J. Bot.* **2000**, *77*, 1699-1711. [CrossRef]
113. Hernández-Rodríguez, M.; Oria-de-Rueda, J.A.; Martín-Pinto, P. Post-fire fungal succession in a Mediterranean ecosystem dominated by *Cistus ladanifer* L. *For. Ecol. Manag.* **2013**, *289*, 48-57. [CrossRef]
114. Smith, J.; Molina, R.; Huso, M.M.; Luoma, D.; McKay, D.; Castellano, M.; Lebel, T.; Valachovic, Y. Species richness, abundance, and composition of hypogeous and epigeous ectomycorrhizal fungal sporocarps in young, rotation-age, and old-growth stands of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) in the Cascade Range of Oregon, USA. *Can. J. Bot.* **2002**, *80*, 186-204. [CrossRef]
115. Last, F.; Dighton, J.; Mason, P. Successions of sheathing mycorrhizal fungi. *Trends Ecol. Evol.* **1987**, *2*, 157-161. [CrossRef]
116. Jumpponen, A.; Trappe, J.M.; Cázares, E. Occurrence of ectomycorrhizal fungi on the forefront of retreating Lyman Glacier (Washington, USA) in relation to time since deglaciation. *Mycorrhiza* **2002**, *12*, 43-49. [CrossRef]

117. Nara, K.; Nakaya, H.; Hogetsu, T. Ectomycorrhizal sporocarp succession and production during early primary succession on Mount Fuji. *New Phytol.* **2003**, *158*, 193-206. [CrossRef]
118. Buckley, L.B.; Jetz, W. Linking global turnover of species and environments. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2008**, *105*, 17836-17841. [CrossRef] [PubMed]
119. Maynard, D.S.; Bradford, M.A.; Covey, K.R.; Lindner, D.; Glaeser, J.; Talbert, D.A.; Tinker, P.J.; Walker, D.M.; Crowther, T.W. Consistent trade-offs in fungal trait expression across broad spatial scales. *Nat. Microbiol.* **2019**, *4*, 846. [CrossRef] [PubMed]

Environmental Effect on Enzymatic Activities of Boreal and Temperate Forest Soils

Roxanne Giguère-Tremblay¹, Amélie Morneau¹, Genevieve Laperrière¹, Isabelle Gosselin¹, Danny Bisson², Hugo Germain¹, Vincent Malre¹

¹ Université du Québec à Trois-Rivières, QC, G9A 5H7, Canada ² Prolograph, QC, J9P 0S1, Canada

contact : roxanne.giguere-tremblay@uqtr.ca



Introduction

Ecosystem productivity is partly determined by organic matter recycling efficiency. To estimate recycling, enzymatic activity can be quantified for enzymes catalyzing terminal reactions producing bioavailable nutrients for plants¹. This study aims to better understand (1) how ecosystems habitat variables regulate enzymatic activities within carbon (C), nitrogen (N) and phosphorus (P) cycles and (2) if enzymes are regulated independently from each other

Hypothesis

- For habitat variables, we predict a stronger influence of internal factors (draining, surface deposits...) on enzymatic activities than external factors (climate).
- Every ecosystem will be limited by a different nutrient based on environmental conditions limiting interactions between enzymes and nutrients

Methods

Study site

- 260 forest sites across Abitibi-Témiscamingue and Mauricie, Québec, Canada
- 4 soil cores of 20 cm depth from every sites

Habitat variables (Ecoforestry maps)

- Soil deposits: 5 levels
- Draining: 3 levels
- Forest age: 2 levels
- Bioclimatic domain: 5 levels
- Duplicate of every combination

Enzymatic activity quantification²

- Enzymes extraction in solution
- Fluorescence by spectrofluorimetry

Enzymes	Fonctions	Cycle
β-D-glucosaminidase (BG)	Triglycérides	C
β-D-méthylglucosaminidase (MG)	Chlorure d'ammonium	N
Phosphatase (PH)	Minéraux	P

Results

Table 1 : ANOVA of habitat variables of enzymes.

Variables	BG		MG		PH	
	F-value	P-value	F-value	P-value	F-value	P-value
Draining	0.8		2.5		1.9	
Deposits	3.8	*	12.5		37.8	**
Bioclimatic domain	22.7	**	11.8	***	38.8	***
Forest age	2.8		0.2		0.2	
Tree species	40.8	*	10.0	**	24.5	
pH	16.8	***	16.1	***	18.8	**
adj	0.02		1.3		0.7	
Adjusted R ²			0.346		0.325	
P-value	***		***		***	

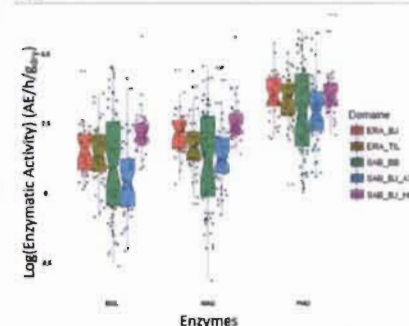


Figure 1 : Enzyme activity in different bioclimatic domains of Québec : sugar maple-yellow birch (ERA_BJ), sugar maple-basswood (ERA_TL), Balsam fir-white birch (SAB_BB) and the Balsam fir-yellow birch (SAB_BJ) in Abitibi-Témiscamingue (AT) and Mauricie (HM).

Table 2 : Ratio (C: N: P) of log enzymatic activity in all habitats. Mean ratios correspond to the expected values from the literature.

Enzymatic ratios	Slope ± Std. Error	R ²	P-value
BG : NAG	0.99 ± 0.04	0.77	***
BG : PHO	1.10 ± 0.05	0.68	***
NAG : PHO	0.95 ± 0.04	0.65	***
Mean	1.01 ± 0.04		

Conclusion

The bioclimatic domain and hydrogen potential (pH) of soils are the strongest predictors of measured enzymatic activity from the habitat. Also, as depicted in the literature, we observed a regulation between enzymes maintaining an equal ratio at all times. An enzyme representation in soil would allow to predict the activity of the other enzymes using a linear slope of $a=1$

Perspectives

These results insert themselves into my master's project, having for main objectives to (1) verify the existence of a relationship between microbial diversity and ecosystem multifunctionality and (2) to better understand the importance of pH and redox potential in boreal and temperate forests soils. We will look at the results by modelisation using path analysis.



Acknowledgments

We wish to thank Marcel Otis, Roger Lanvière, Dany Bouchard, Alexandre Bisson, Mathias Bisailon, Mélodie Plourde and everyone from Hugo Germain's Lab who helped on the field.



References

- Sinsabaugh, R. L., B. H. Hill, and J. J. Follstad Shah. 2009. Ecoenzymatic stoichiometry of microbial organic nutrient acquisition in soil and sediment. *Nature* 462:795–798.
- Steinweg, M., and Shawna McMahon. 2012. Microplate Enzyme Assay Using Fluorescence Original:11.