

Table des matières

Introduction.....	1-4
Matériels et Méthodes.....	5-9
Description des stations d'échantillonnage	5, 6
Echantillonnage	6
Analyses élémentaires	6, 7
Extraction d'ADN	7
Amplification & Préparation des librairies pour le séquençage Illumina.....	7, 8
Analyse des séquences.....	8, 9
Analyses statistiques.....	9
Résultats.....	9-12
Biomasse microbienne du sol et de la rhizosphère de <i>Lyallia kerguelensis</i> dans les différentes stations.....	9,10
Composition des communautés bactériennes dans le sol et la rhizosphère de <i>L. kerguelensis</i>	10, 11
Composition des communautés fongiques dans le sol et la rhizosphère de <i>L. kerguelensis</i>	11 ,12
Relations avec les nécroses de la plante	12
Discussion.....	13
Biomasse microbienne du sol et de la rhizosphère de <i>Lyallia kerguelensis</i> dans les différentes stations.....	13
Composition des communautés bactériennes dans le sol et la rhizosphère de <i>L. kerguelensis</i>	13-16
Composition des communautés fongiques dans le sol et la rhizosphère de <i>L. kerguelensis</i>	16,17
Relations avec les nécroses de la plante	18
Perspectives.....	19
Conclusions	19
Références bibliographiques	20-23

Glossaire

Communautés microbiennes : Ensemble des microorganismes (bactéries, champignons, archées, virus, protistes...) vivant dans un milieu biologique présentant des conditions homogènes chaque espèce contribuant pour sa part aux fonctions de la communauté

Communautés fongiques : Ensemble de champignons de différentes espèces vivant dans un même habitat, qui pour certains aspects se comporte comme un tout

Communautés bactériennes : Ensemble de bactéries de différentes espèces vivant dans un même habitat, qui pour certains aspects se comporte comme un tout.

Nécrose : Processus de mort cellulaire caractérisée à long terme par l'apparition des tâches grises et noires

Fell-field : Région sans arbres qui se trouve au-dessus de la limite des arbres ou dans les zones froides et qui est dominée par des plantes basses ou par des herbes

Bulk soil : sol en vrac

Rhizosphère : Volume de sol soumis à l'influence des racines vivantes

Plante en coussin : Forme de croissance caractérisée par une profusion de tiges abondamment ramifiées et à entrenœuds très courts

Cluster : Regroupement de séquences similaires

Péninsule: Région entourée par la mer de tous côtés sauf un

Séquences chimériques: Bais liés à l'amplification, séquences incomplètes issues de souches différentes

Abréviations

ACP : Analyse en Composantes Principales

BET: Bromure d’Ethidium

DGGE: Electrophorèse sur gel de gradient dénaturant

FROGS: Find Rapidly OTU with Galaxy Solution “Trouver Rapidement les OTU avec la solution Galaxy

ITS: Internal Transcribed Spacer “ Espaceur Interne Transcrit”

OTU : Unité Taxonomique Opérationnelle

TAE: Tris Acétate EDTA



Figure 1: (a) *Lyallia kerguelensis*, coussin vigoureux ; (b) *Lyallia kerguelensis*, coussin nécrosé

1. Introduction

L'Antarctique et le Subantarctique sont caractérisés par une biodiversité faible avec des écosystèmes d'une structure trophique relativement simple (Smith and Steenkamp, 1990; Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007), le subantarctique étant connu pour son climat océanique extrême combinant de fortes précipitations, de faibles rayonnements incidents, de forts vents froids, des températures basses, des sols peu fertiles et de faible productivité (Dorey, 2017a). Ces régions sont également soumises à un changement climatique parmi les plus rapides et intenses de la planète, par exemple, des changements de températures moyennes parmi les plus grands ont été observés dans la région subantarctique (Whinam, Copson and Chapuis, 2006). Un changement climatique correspondant à une augmentation progressive des températures et une baisse des précipitations a été observé sur de nombreuses îles subantarctiques : Iles Marion, Iles Macquarie, Iles Kerguelen, ou Iles Falkland (Dorey, 2017a). Les conséquences de ce réchauffement climatique sans précédent sur les écosystèmes antarctiques restent pour la plupart inconnues (Yergeau, Kang, *et al.*, 2007) mais il se pourrait qu'elles soient nombreuses et diverses. A cet égard, il a été rapporté que les îles subantarctiques ont beaucoup à offrir pour une meilleure connaissance des effets biologiques et écologiques du changement climatique. Le climat devenant plus chaud, il facilite l'envahissement de ces îles par les espèces exotiques (Smith, 2002; Frenot *et al.*, 2005).

Les îles Kerguelen (49°21'S -70°13'E, 6600 km²) sont situées dans la région subantarctique au sud de l'océan indien (Lebouvier, 2001). Elles sont riches en espèces végétales endémiques telles que *Lyallia kerguelensis*, notre modèle d'étude (Hennion and Walton, 1997). *Lyallia kerguelensis* (Montiaceae) est une plante en coussin, pérenne, à longue durée de vie et à croissance lente (Wagstaff and Hennion, 2007). Le coussin est une forme de vie commune, dominante et un trait caractéristique des espèces vivant dans les habitats extrêmes (Dorey, 2017b). Il est principalement caractérisé par une profusion de tiges abondamment ramifiées et à entrenœuds très courts. On trouve *L. kerguelensis* souvent en petites populations très exposées aux vents et aux gelées fréquentes avec une distribution très limitée et inégale sur l'archipel Kerguelen, sur des substrats de type graviers, scories ou dépôts de moraine (Wagstaff and Hennion, 2007). Certaines de ces populations sont actuellement touchées par des nécroses qui n'avaient jamais été décrites auparavant. Ces nécroses correspondent à un dessèchement des rameaux et apex du coussin comme illustré sur la figure 1a-b.

La composition taxonomique des communautés microbiennes du sol a été très peu étudiée dans la zone subantarctique en général et aux îles Kerguelen en particulier. La seule étude disponible aux Kerguelen s'est focalisée sur les modifications des communautés fongiques du sol suite à l'introduction des lapins (Pansu *et al.*, 2015). Les données disponibles aujourd'hui sur les communautés microbiennes du sol en Antarctique sont pour la plupart issues d'études effectuées sur des gradients latitudinaux croissants couvrant plusieurs zones dont la péninsule antarctique et ses îles voisines, l'antarctique maritime et continental (Lawley *et al.*, 2004; Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007; Yergeau, Kang, *et al.*, 2007; Yergeau, Newsham, *et al.*, 2007; Desantis *et al.*, 2009; Dennis *et al.*, 2011; Ganzert, 2011).

Notre étude est donc la première à évaluer la composition taxonomique des bactéries, archées et champignons du sol et de la rhizosphère d'une plante endémique aux îles subantarctiques de Kerguelen. En Antarctique, plusieurs études sur les communautés microbiennes du sol sont disponibles et celles-ci sont dominées par des microorganismes capables de s'adapter et de résister à des conditions difficiles (Ruisi *et al.*, 2007). Le climat n'étant pas uniforme le long de ce continent, il est possible de distinguer plusieurs régions climatiques avec des communautés fongiques très diversifiées et cosmopolites. Il a été signalé que 99,4 % des champignons en Antarctique continentale sont des levures et champignons filamenteux, de forme anamorphe, appartenant principalement aux *Chytridiomycètes*, *Zygomycètes*, *Ascomycètes* et *Basidiomycètes*. Les espèces telles que *Cryptococcus vishniacii*, *Geomyces pannorum* et *Thelebolus microsporus* ont été fréquemment isolées à partir de sites et substrats divers en Antarctique (Ruisi *et al.*, 2007). Par ailleurs, une (Lawley *et al.*, 2004) avait déjà étudié la diversité de ces eucaryotes dans les sols antarctiques à travers un gradient latitudinal compris entre les îles Signy (South Orkney Islands 60°S) et la Gorce Mountains (87°S) en passant par les îles Adelaïde (Péninsule Antarctique 67°S). Aucune diminution de la diversité fongique entre les latitudes n'a été observée, mais la distinction habitats maritimes / habitats continentaux expliquait les différences observées au sein des communautés fongiques. En outre la composition taxonomique à l'échelle de la classe a été déterminée dans cette étude, les principaux phyla identifiés sur les différents sites sont les *Ascomycètes*, les *Basidiomycètes* et les *Zygomycètes*. Ces observations rejoignent celles effectuées par (Ruisi *et al.*, 2007). La région subantarctique est très distincte de la région antarctique continentale (Wace, 1960). Malgré les points communs, ces régions connaissent d'importantes différences telles que le biote (Selkirk, 2007), les précipitations plus abondantes, les températures hivernales et estivales moins basses, le sol beaucoup plus humide dans la région subantarctique. Il serait donc intéressant de savoir ce qu'il en est de la biodiversité microbienne dans les sols des îles subantarctiques et plus précisément aux îles Kerguelen. Des études préliminaires, pour la plupart très anciennes (année 1906), sur la composition des communautés fongiques en se basant sur leurs caractéristiques morphologiques (morpho-espèces) avaient été effectuées en Antarctique, subantarctique et aux îles Falkland revu par (Pegler, Spooner and Smith, 1980). La flore fongique du subantarctique et des îles Falkland était remarquablement similaire à celle des régions tempérées du nord-arctique. Les espèces telles que *Barlaeina kerguelensis*, *Lachnea antarctica* et *Lachnea werthiana* avaient été identifiées dans le sol des îles Kerguelen.

Dans le domaine bactérien, des études ont montré que différents sols minéraux en antarctique abritaient une forte abondance de bactéries atteignant 10^9 cellules/ g de sol sec (Ganzert, 2011). Ce nombre est comparable aux données des forêts tempérées ou encore aux terres basses de toundra arctiques sibériennes. Sur l'île Livingston située au nord de l'Antarctique, les structures des communautés bactériennes du sol ont été étudiées par la méthode d'électrophorèse sur gel de gradient dénaturant (DGGE) basées sur le gène codant l'ARNr 16S.

Ces communautés étaient dominées par les *Bacteroidetes* appartenant pour la plupart à la classe des *Sphingobactéries*, mais aussi les *Acidobactéries*, les *Firmicutes*, les *Actinobactéries* et les *Betaproteobactéries* (Ganzert, 2011). Le profil de la diversité bactérienne dans une gamme de sols antarctiques / subantarctiques allant des îles Falkland (51°S), en passant par la Géorgie du sud (île subantarctique 54°S) jusqu'aux montagnes Ellsworth (78 ° S) a été examiné par (Yergeau, Newsham, *et al.*, 2007). Les groupes phylogénétiques présents dans les sols du transect étudié sont à peu près similaires à ceux observés par (Ganzert, 2011), avec une abondance des *Bacteroidetes* (Ordre des *Sphingobactériales*) dans les sols des montagnes d'Ellsworth. Les autres groupes bactériens les plus représentés comprenaient les *Acidobactéries*, les *Actinobactéries*, les *Cyanobactéries*, les *Alphaproteobactéries*, les *Gammaproteobactéries* et les *Verrucomicrobies*. Il existe quelques études consacrées aux communautés d'archées dans les milieux antarctiques (Desantis *et al.*, 2009; Soo *et al.*, 2009) mais il n'existe pas de données les concernant dans la région subantarctique. Ces communautés joueraient un rôle crucial dans le cycle de l'azote car elles font partie des microorganismes qui oxydent l'ammonium (Hu *et al.*, 2013). Ces Archées oxydant l'ammonium ont été phylogénétiquement classées dans l'embranchement des *Thaumarchaeota* (He, Hu and Zhang, 2012). Une analyse par micro puce des communautés d'archées dans une gamme d'habitats antarctiques allant des îles Falkland (51 ° S) au Nunatak charbon (72 ° S) a été effectuée par (Desantis *et al.*, 2009). Les auteurs avaient notamment observé des corrélations positives entre les *Crenarchaeota* et les concentrations d'ammonium dans le sol mais aussi une diminution de la diversité des *Euryarchaeota* lorsque la latitude augmentait. Dans une autre étude sur les communautés thermophiles des sols chauds de Tramway Ridge (Mount Erebus, Antarctique), toutes les séquences obtenues appartenaient également au clade des *Crenarchaeota*, ce phylum serait commun dans les sols du monde entier (Hu *et al.*, 2013). Il a été également signalé que leur influence sur l'écologie des microorganismes reste encore inconnue mais qu'il pourrait jouer un rôle majeur dans la nitrification chimioautotrophe.

De manière générale, différents facteurs influencent les communautés microbiennes dans les sols. Les écosystèmes terrestres dans la région antarctique et subantarctique n'y font pas exception. (Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007) ont montré que l'abondance microbienne était positivement corrélée à la végétation et les propriétés du sol qui y sont associées (la teneur en eau, le carbone organique, l'azote total) alors que sa structure était principalement liée à la latitude et à des facteurs qui en dépendent (température moyenne, NO₃, pH). Les dits facteurs pourraient varier d'un domaine microbien à un autre. Aux îles subantarctiques de Marion, les abondances de bactéries et champignons dans le sol en relation avec les propriétés physico-chimiques du site avaient été évaluées par une approche de culture sur boîte (Smith and Steyn, 1982). Le pH du sol et la teneur en azote inorganique influençaient les abondances fongiques tandis que l'abondance bactérienne était sous l'influence négative du climat devenant de plus en plus sec à cause du réchauffement climatique et une influence positive des concentrations de carbone organique et d'azote comme observée par (Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007).

Le pH du sol a été également signalé par (Fierer and Jackson, 2006) comme étant le principal facteur qui influençait les bactéries, les fortes diversités ayant été observées dans les sols neutres et les faibles dans les sols acides. Le ratio Carbone organique/N total a été mis en évidence par (Dennis *et al.*, 2011) comme un facteur influençant la composition des communautés fongiques du sol en Géorgie du Sud (54 ° S, 38 ° W) dans la zone subantarctique et à Mars Oasis (72 ° S , 68 ° W) sur l'île Alexander dans le sud de l'antarctique maritime. L'influence des communautés végétales sur la composition des microorganismes du sol a été relevée dans des études en antarctique (Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007; Yergeau, Newsham, *et al.*, 2007) et dans les milieux alpins (Zinger *et al.*, 2011) ayant un climat froid comme celui des îles subantarctiques.

Les espèces végétales par leur architecture racinaire, leur métabolisme et leur croissance affectent la qualité et la quantité de matière organique du sol via les exsudats racinaires. Les flux de carbone dans la rhizosphère fournissent d'importantes quantités de substrats organiques et molécules signal pouvant réguler la densité des microbes du sol. En raison de l'importance des interactions mutualistes / parasitaires décrites entre plantes et microbes et entre les réseaux trophiques microbiens, il serait possible d'observer des effets importants des espèces de plantes sur les communautés fongiques et bactériennes du sol (Zinger *et al.*, 2011) et inversement. Nous nous intéressons dans cette étude aux microorganismes du sol de la rhizosphère de *Lyallia kerguelensis* et à sa possible relation avec le taux de nécrose des coussins observé chez cette plante.

L'archipel de Kerguelen ayant enregistré une augmentation de température de 1,6°C depuis les années 1960, l'hypothèse a été avancée que les nécroses de *L. kerguelensis* pourraient être liées aux changements climatiques en cours. Une étude récente a examiné la variabilité morphologique des coussins de *L. kerguelensis*, dont la quantité de nécrose, à travers plusieurs populations et ses relations avec des paramètres édaphiques et environnementaux (Dorey, 2017a). Cette étude a montré que les nécroses observées étaient liées d'une part aux traits morphologiques (forme et compacité du coussin) et d'autre part aux variables édaphiques et environnementales. Un seuil critique de 10% de surface nécrosée du coussin a été déterminé au-delà duquel les traits morphologiques ne montrent plus aucune corrélation avec les variables environnementales. Cependant, d'autres acteurs tels que les communautés microbiennes pourraient être impliqués dans l'interaction de la plante avec son environnement. Les questions posées dans la présente étude sont :

- Quelles est la composition des communautés microbiennes (bactéries, archées et champignons) du sol et de la rhizosphère de *L. kerguelensis* aux îles Kerguelen ?
- Existents-ils des liens entre les communautés microbiennes et les nécroses observées sur les *Lyallia* ?

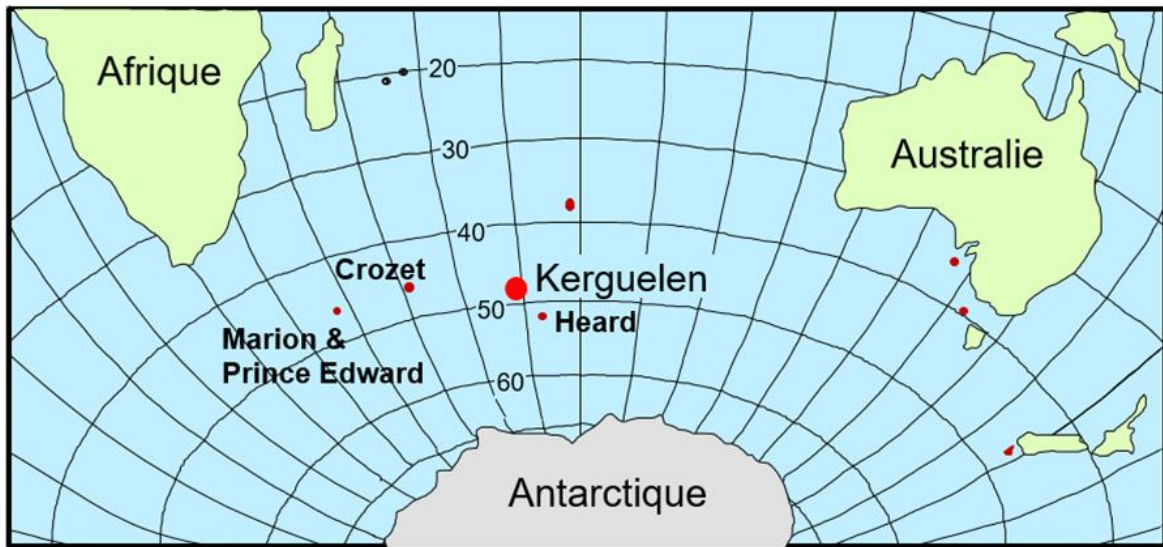


Figure 2: Localisation des îles Kerguelen dans l'hémisphère sud

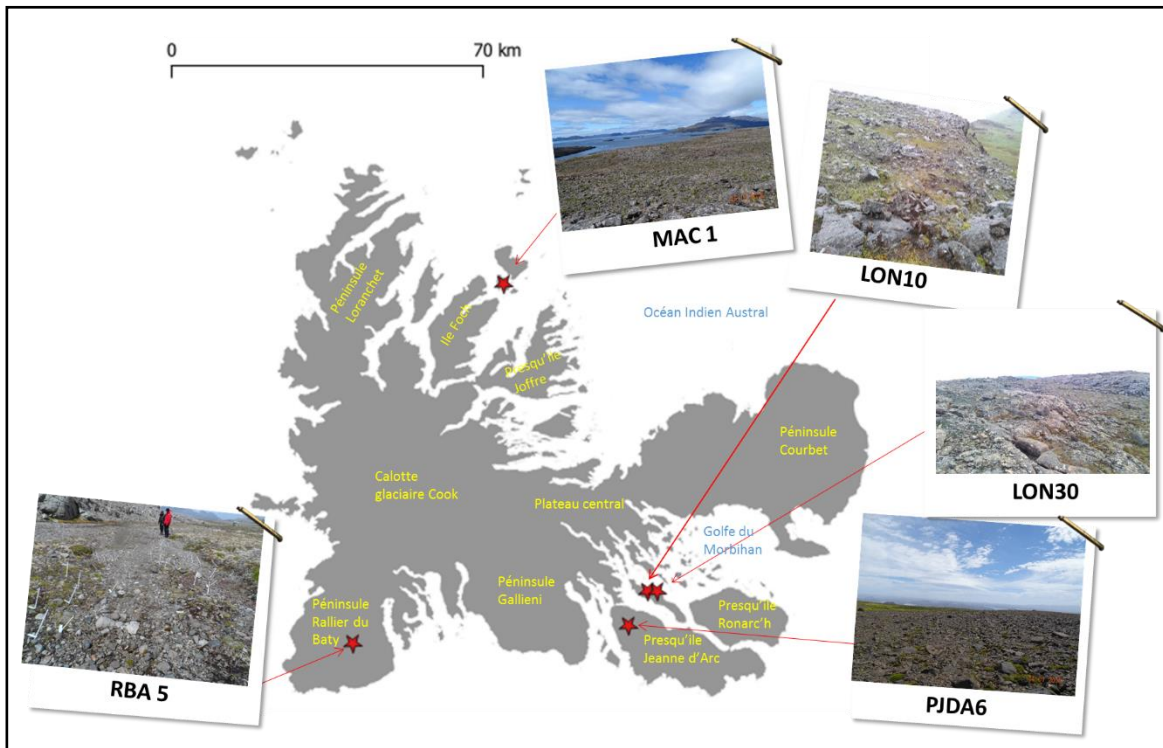


Figure 3: Localisation des stations d'échantillonnage sur les îles Kerguelen

2. Matériels et Méthodes

2.1 Description des stations d'échantillonnage

L'étude comprend 5 stations réparties sur 4 régions de Kerguelen (Ile Mac Murdo, Péninsule Rallier-du-Baty, Ile Longue (2 stations) et Port Jeanne d'Arc) fig. 1a&b. L'échantillonnage a été effectué en été austral 2017-2018.

Les caractéristiques données pour chaque station d'échantillonnage ressortent d'une Analyse en Composantes Principales (ACP)

2.1.1 Mac Murdo (MAC)

L'île Mac Murdo est située au Nord-Est de Kerguelen. Elle est celle ayant subi le moins de pressions anthropiques, avec l'absence d'animaux introduits et une faible présence humaine. La population (50m x 20m) ciblée est située à 55 m d'altitude et s'étend sur un fell-field xérique, à recouvrement dominant de blocs, sur le plateau principal de l'île orienté Sud-Est avec une distance à la mer de 0.5 km. Ce plateau exposé au vent est particulièrement riche en matière organique mais aussi en *Lyallia kerguelensis* avec des formes en coussin très développées et visuellement vigoureuses (peu d'apex nécrosés). La population sur la station d'échantillonnage (MAC1) ne présente pas d'orientation particulière. Le sol est relativement riche en sels tels que le sodium ou le calcium mais aussi en matière organique.

2.1.2 Port Jeanne d'Arc (PJDA)

Ancien site à forte activité industrielle situé sur la Grande Terre au Sud-Est de l'archipel, il se caractérise par l'introduction de nombreuses espèces animales dont les souris, rennes et lapins à partir de 1874. Certaines traces de cette faune sont visibles autour de la station d'échantillonnage (PJDA6). Il se distingue par le pH de son sol (6,37) qui est légèrement plus élevé que celui des autres sites. La population d'étude qui s'étend sur une surface de 50m x 30 m environ, est située sur un fell-field à 477 m d'altitude. Elle est orientée Sud-Est, à 3.7 km de la mer, et se trouve très exposée au vent. Elle présente de grands individus de *L. kerguelensis* fortement nécrosés et de petits individus peu nécrosés.

2.1.3 Rallier du Baty (RBA)

La péninsule Rallier-du-Baty se situe au Sud-Ouest de l'archipel, une partie restée relativement isolée du reste de l'archipel jusqu'aux années 1990 par les torrents issus de la calotte glaciaire. Sa géologie est également différente avec un sous-sol riche en syénite au lieu des basaltes prédominants ailleurs. Elle possède de grandes vallées plates constituées de sable qui sont d'anciennes vallées glaciaires. Notre station d'étude (RBA5) est située au début de la Vallée de Sables, orientée Nord-Sud, moyennement exposée et à une distance de 9.5 km de la mer. C'est un milieu relativement humide déposé sur un torrent et à recouvrement prédominant de cailloux et de graviers. La population s'étend sur 50 m le long de la vallée.

2.1.4 Ile Longue (LON)

Située au fond du Golfe du Morbihan (Sud-Est de l'archipel), l'île Longue a été le support d'élevage de moutons pendant de nombreuses années. Elle abrite deux stations géographiquement proches, LON10 orientée Sud-Est et LON30 orientée Nord-Ouest. LON10 se trouve sur un plateau à 84 m d'altitude très exposé au vent, à 0.88 km de la mer. Il comporte seulement trois plantes de *Lyallia kerguelensis*. Son sol est riche en phosphore, potassium, fer, en matière organique et possède une teneur élevée en argile ainsi qu'une capacité d'échange cationique élevée. LON30 se situe sur un plateau moyennement exposé au vent à 150 m d'altitude avec une distance à la mer de 0.06 km. La population s'étend sur 25m de long et 20m de large. Le sol est riche en sodium calcium, matière organique et possède la plus forte conductivité parmi stations. Les *L. kerguelensis* sont relativement vigoureuses sur ces deux stations.

2.2 Echantillonnage

Un échantillonnage complet a été effectué sur les stations MAC1, RBA5 et PJDA6. Au sein des populations correspondantes, 10 individus ont été choisis en fonction de leurs pourcentages de surface nécrosée estimés visuellement sur le terrain. Les sols rhizosphériques de ces individus ont été échantillonnés dans des tubes de 2 ml en 3 répliques. Du sol contrôle à l'écart des plantes ('bulk soil') a également été prélevé pour chaque station en 3 répliques. L'échantillonnage réalisé sur les deux stations de l'île Longue était à titre exploratoire et a consisté à regrouper le sol rhizosphérique de deux individus sur la station LON10, et de trois individus sur LON 30. Du bulk soil a aussi été prélevé sur LON10. Les échantillons de sol ont été congelés au plus vite et conservés à -20°C. Afin d'avoir suffisamment de matériel et qu'il soit homogène, pour chaque individu et chaque bulk soil, les trois répliques d'échantillonnage ont été regroupés et ces échantillons composites ont été utilisés pour les extractions d'ADN et les analyses élémentaires. Un sous-échantillon des échantillons de sols rhizosphériques et de bulk soils a servi à effectuer les analyses physico-chimiques des sols au niveau populationnel au Laboratoire d'Analyse des Sols d'Arras (LAS, INRA). Par ailleurs, un sous-échantillon des échantillons de sols rhizosphériques au niveau de la plante individuelle et des échantillons de bulk soil a permis d'effectuer les analyses de Carbone organique/N total (C/N) au laboratoire ECOBIO. Nous avons utilisé ces résultats combinés aux données de terrain pour la description des stations ci-dessus (Partie 2-1). Chaque individu de *L. kerguelensis* dont le sol rhizosphérique a été échantillonné a fait l'objet de prise d'images calibrées sur le terrain en vue d'une étude photométrique. Les images ont été traitées selon une méthode utilisant le logiciel ArcGis 10.6.1 pour déterminer précisément les pourcentages de surfaces nécrosées (Dorey T., 2017a).

2.3 Analyses élémentaires

Une fraction de chaque échantillon composite de sol a été utilisée pour la détermination du pourcentage d'humidité du sol, et des quantités de carbone et azote totaux.

Dans un premier temps, le pourcentage d'humidité du sol a été déterminé après séchage pendant 48h à 105 °C d'après la formule ci-dessous :

$$\text{Humidité du sol (\%)} = \frac{FW - DW}{DW} \times 100$$

où *FW* correspond au poids de sol frais (Fresh Weight) et, *DW* au poids de sol sec (Dry Weight), ils sont exprimés en mg.

Les échantillons séchés ont ensuite été transférés dans un bol à zirconium de 10 ml avec deux billes de 10 mm puis broyés pendant 1 min avec le vibro broyeur MM40 de Retsch à une fréquence de vibration de 30 Hertz. Les broyats ont été transférés dans des piluliers en verre. Avec une balance d'ultra précision, des capsules contenant 40 mg de broyat ont été préparées, celles-ci ont été analysées dans l'analyseur Elementar pour déterminer les teneurs d'azote et de carbone totaux, à partir desquelles le ratio C/N a été calculé.

2.4 Extraction d'ADN

A partir de chaque échantillon composite, 500 mg de sol ont été pesés en 3 répliques techniques d'extraction d'ADN pour chaque individu et chaque bulk soil. Les extractions ont été effectuées selon le protocole décrit par (Griffiths *et al.*, 2000). Dans un premier temps, une étape de lyse chimique et mécanique a été réalisée à l'aide de billes de verre (Lysing matrix tube, MP biomedical) et d'un tampon d'extraction composé de 500 µL de Phénol:Chloroforme:Isoamyl (25:24:1, pH=8,0), 250 µL de hexadecyltrimethylammonium bromide (10% - 0,7 NaCl ; chauffé à 50°C) et 250 µL de K₂HPO₄/KH₂PO₄ (240mM). Le mélange est agité au vibro broyeur MM40 de Retsch (30 tours/s, 3min) puis centrifugé (10 min ; 16000 rpm ; 4°C). Les surnageants recueillis dans des microtubes ont été recentrifugés dans les mêmes conditions après un ajout à volume égal de Chloroforme:Isoamyl (24:1). Dans un second temps, les ADN ont été précipités en présence de Poly Ethylène Glycol (PEG6000, 30%, 2 Volume surnageant) et de 5µL de Glycogène pendant 2H à 4°C. Les tubes sont ensuite centrifugés à 18000 rpm à 4 °C. Les culots ont été lavés avec 500µL d'éthanol 70 %, centrifugés pendant 20 min dans les mêmes conditions que précédemment et après séchage à l'air libre pendant 1-2 min, ils ont été remis en suspension dans 50 µL d'H₂O Rnase-free. Les qualité et quantité de chaque extrait d'ADN ont été déterminées par mesure de leur absorbance à 280, 230 et 260 nm (Nanodrop ND1000) et par migration (100 V, 30 min) de 5 µl d'extrait sur gel d'agarose 1% (1g d'agarose dans 100mL de Tampon TAE 1X) en présence de 2µL de tampon de charge 6X. Après marquage dans un bain de Bromure d'Ethidium (BET) pendant 10 min, les fragments ADN ont été observés sous UV avec le logiciel VisionCapt.

2.5 Amplification & Préparation des bibliothèques pour le séquençage Illumina

Les extraits d'ADN à partir d'échantillon de sol peuvent être contaminés par des acides humiques co-extraits ainsi que par les composés phénoliques utilisés pendant l'extraction, sont des inhibiteurs de la réaction en chaîne de polymérisation (PCR).

Tableau1 : Volumes respectifs du mix réactionnel d'amplification

	Bactéries	Archées	Champignons
H2O (µL)	8,5	6	8
Kappa HiFi trans Taq 2X (µl)	12,5	12,5	12,5
Amorce Forward (µL)	1 (10µM)	1 (10µM)	1 (10µM)
Amorce Reverse (µL)	1 (10µM)	1 (10µM)	1 (10µM)
T4GP32 (µL)	/	0,5	0,5
ADN (µL)	2	4	2
Volume total (µL)	25	25	25

Tableau 2 : Conditions d'amplification

	Bactéries	Archées	Champignons
Programme de PCR	95°C ----- 4 mn	95°C ----- 4 mn	95°C ----- 4 mn
	95°C ----- 30 s	95°C ----- 30 s	95°C ----- 30 s
	55°C ----- 30 s	50°C ----- 30 s	52°C ----- 30 s
	72°C ----- 30 s	72°C ----- 30 s	72°C ----- 30 s
	72°C ----- 10 mn	72°C ----- 10 mn	72°C ----- 10 mn
Nombre de cycles	30	32	35

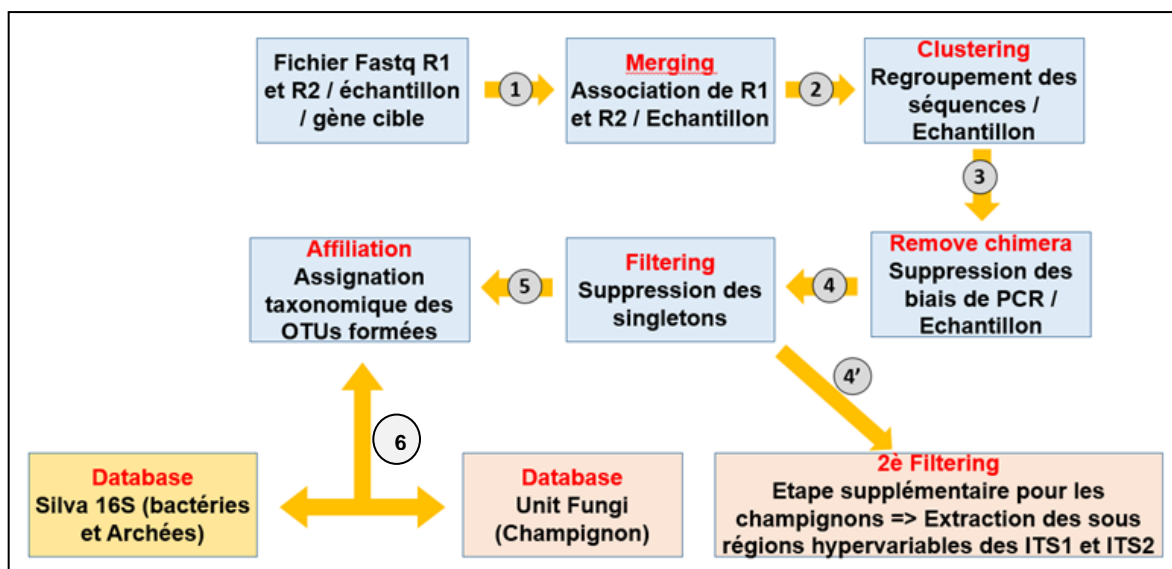


Figure 4: Représentation schématique des étapes d'analyse des séquences

Pour minimiser ce risque, nous avons effectué des essais de dilutions (1/2, 1/10 et 1/100) sur quelques échantillons pris aléatoirement. Les dilutions et leurs extraits purs respectifs ont été amplifiés avec des amorces spécifiques à des fragments de bactéries, archées et champignons (voir détails ci-dessous). Ces premiers résultats nous ont permis d'appliquer des dilutions 1/100 à tous les extraits pour l'amplification des gènes de bactéries et archées et la dilution 1/2 pour l'amplification des fragments de champignons. Pour la préparation des amplicons, nous avons ciblé les gènes d'ARNr 16S de bactéries et d'archées et la région 'Internal Transcribed Spacer' (ITS) des champignons en utilisant respectivement les couples d'amorces suivantes **341F**:CCTACGGGNGGCWGCAG et **785R**:GACTACHVGGGTATCTAATCC (Quast *et al.*, 2013); **344F**:ACGGGGYGCAGCAGGCCGA (Raskin *et al.*, 1994) et **806R**:GGACTACVSGGGTATCTAAT (Li *et al.*, 2016); **ITS1F**:CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA (Buée, Vairelles and Garbaye, 2005) et **ITS2**:GCTGCGTTCTTCATCGATGC (Feibelman, Bayman and Cibuln, 1994) Chaque primer possédait des adaptateurs Illumina forward (5'-ACACTGACGACATGGTTCTACA-3') et reverse (5'-TACGGTAGCAGAGACTTGGTCT-3') nécessaires pour la construction de la librairie réalisée par la plateforme de séquençage. Les volumes respectifs des différents composants du mélange réactionnel d'amplification sont présentés dans le **tableau 1** et les conditions d'amplification dans le **tableau 2**.

L'amplification et la taille des fragments ont été vérifiées sur un gel d'agarose 2% (2g d'agarose/ 100 mL de TAE 1X). Les fragments ont migré à 100V pendant 40 min puis ont été révélés aux UV après un bain de BET. Tous les échantillons ont été amplifiés en 2 réplicas indépendants, regroupés sur des plaques 96 puits et envoyés à la plateforme de séquençage Génome Québec au Canada pour séquençage Illumina 'paired end' 2 x 300 pb.

2.6 Analyse des séquences

Le nettoyage et le traitement des séquences obtenues ont été effectués en utilisant le pipeline Find Rapidly OTU with Galaxy Solution (FROGS) (Auer *et al.*, 2018) implémenté sur Galaxy et hébergé par la plateforme de bioinformatique Genotool de l'INRA de Toulouse. Cela consiste en différentes étapes présentées dans la figure 1, les séquences 'Forward' (R1) et 'Reverse' (R2) sont associées (Merging) pour former une séquence unique. Ensuite, les séquences sont regroupées en cluster pour la création des Operational Taxonomic Unit (OTUs) suivi par l'élimination des séquences chimériques. L'étape suivante de filtrage des données supprime les OTUs présents que dans un seul échantillon 'singletons'. Enfin, chaque OTU est assigné taxonomiquement par confrontation à la base de données SILVA 128. Les fichiers de sortie (tableau de contingence) récupérés sur la plateforme Galaxy contiennent la liste des OTUs avec leur nombre de séquences respectif dans chaque échantillon ainsi que les taxons affiliés. Ces fichiers ont été chargés sur R 3.6.0 après une dernière étape de filtration des données qui visait à conserver que les OTUs détectés dans au moins deux des trois réplicas de chaque échantillon.

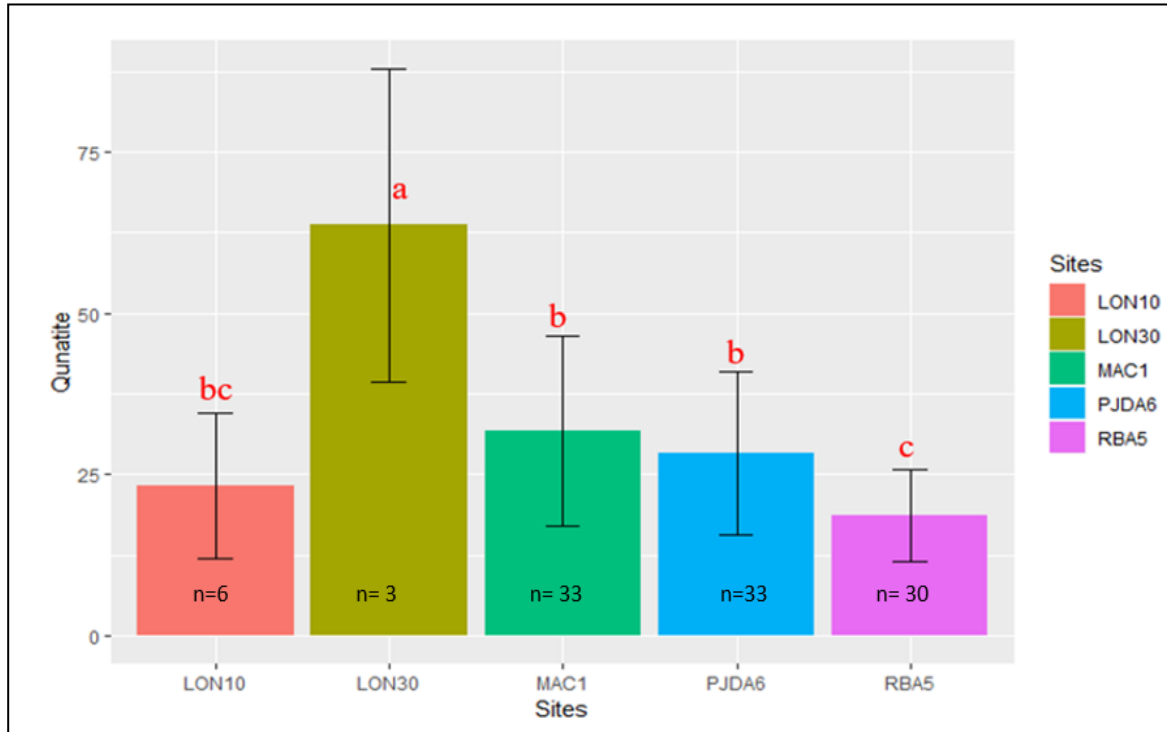


Figure 5: Quantité moyenne d'ADN du sol (bulk + rhizosphère) par station et les groupes statistiques. (ADN): µg/g de sol sec, |---| : écart type, les lettres représentent les groupements statistiques basées sur la méthode de Tukey, une même lettre signifie qu'il n'y a pas de différences significatives entre station

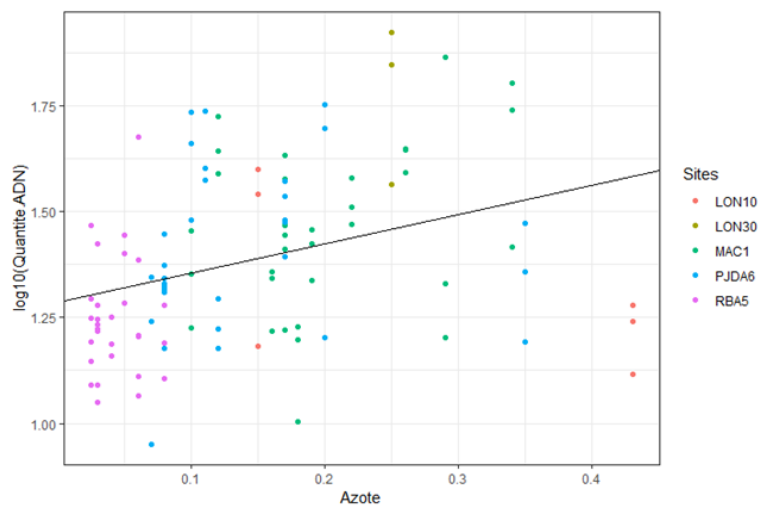


Figure 6: Régression linéaire entre quantité d'ADN et teneur en azote du bulk soil et rhizosphère : Azote en %,

Avec le package *vegan*, le nombre de séquence par échantillon a ensuite été normalisé (raréfaction) au plus petit nombre de séquences obtenu par échantillon, soit 6486 pour les bactéries et 570 pour les champignons. La richesse des bactéries, champignons et archées a ensuite été déterminée comme le nombre d'OTU par échantillon.

2.7 Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant le langage de programmation R. La valeur 0,05 a été choisie pour définir le niveau de significativité. Tous les graphiques ont été réalisés avec le package *ggplot2* exceptés les figures 7 et 10 qui ont été réalisées sous Excel. Une ACP a permis de ressortir les variables qui distinguent les stations d'échantillonnage. Avant l'application des tests, la normalité (Shapiro wilk), l'homogénéité (Bartlet et *ncvTest* du package *car*) et l'indépendance des résidus ont été vérifiées pour le respect des conditions d'application. Les tests de différences entre stations reposaient sur des analyses de variance (ANOVA) à un et deux facteurs, suivies par des tests post hoc de Tukey. Celles-ci ont parfois nécessité des transformations (package *MASS*) de données ou l'application de tests non paramétriques de Kruskal-Wallis. Les tests de corrélation de Pearson entre variables ont été effectués par des modèles de régression linéaire.

3. Résultats

3.1 Biomasse microbienne du sol et de la rhizosphère de *Lyallia kerguelensis* dans les différentes stations

3.1.1 Liens entre quantités d'ADN, sites, teneurs en azote, carbone total et ratio C/N

Les quantités d'ADN extraites à partir du bulk soil (sol contrôle) et de la rhizosphère de *L. kerguelensis* peuvent être un indicateur de l'abondance des microorganismes (biomasse microbienne). En regroupant les quantités d'ADN du bulk soil et de la rhizosphère obtenues au sein de chaque station, nous avons observé un effet station très hautement significatif après une analyse de variance à un facteur (p-value = 3.679e-06 '***'). Un test post hoc de Tukey basé sur la comparaison des moyennes deux à deux nous a permis de déterminer les stations qui différaient et ces résultats sont présentés dans la figure 5. On remarque que les stations de Mac Murdo 'MAC1' et Port Jeanne d'Arc 'PJDA6' sont des groupes homogènes et diffèrent statistiquement des stations de Rallier-du-Baty 'RBA5' et de l'île Longue 'LON30' qui présente les plus fortes quantités d'ADN, soit 63,63 µg/g de sol sec. L'effet station observé sur les quantités d'ADN de sol peut être expliqué par des différences de propriétés des sols au sein de ces stations. En effet, les teneurs en azote, en carbone total et leur ratio ont été déterminés à l'échelle de l'individu par station d'échantillonnage et une analyse de variance à un facteur a montré des différences significatives entre ces teneurs, leur ratio et les stations. Nous avons observé que plus les teneurs en azote et en carbone total du sol étaient importantes, plus les quantités d'ADN, représentant la biomasse microbienne du sol, étaient élevées. La figure 6 présente par exemple la corrélation entre la teneur en azote du sol (rhizosphère et bulk).

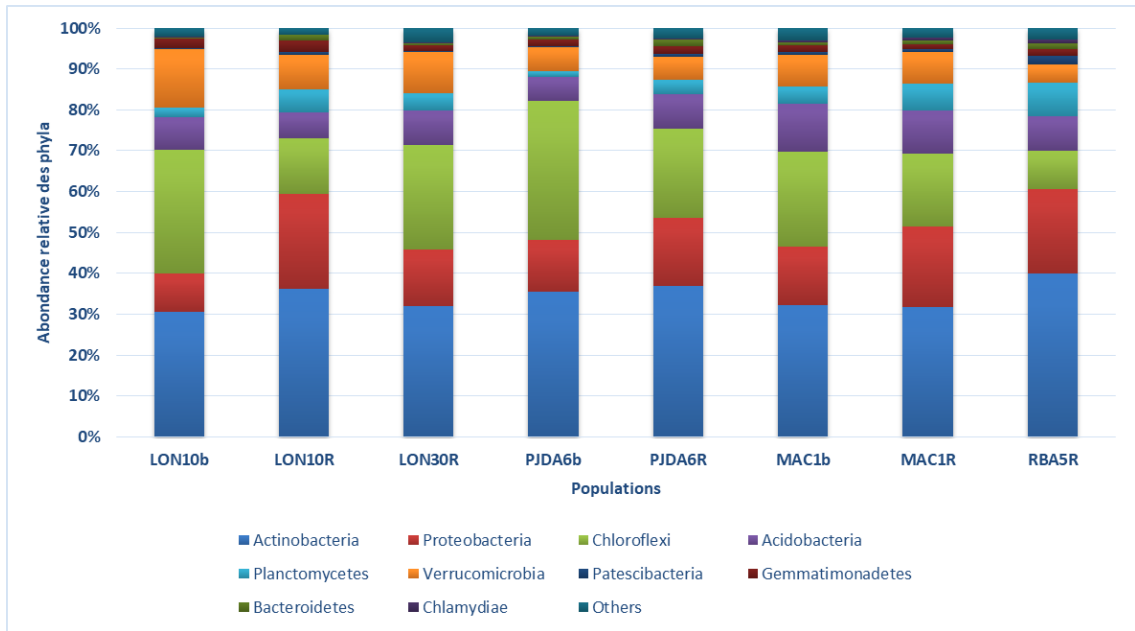


Figure 7: Histogramme cumulé de l'abondance relative des phyla bactériens présents dans le bulk soil et la rhizosphère

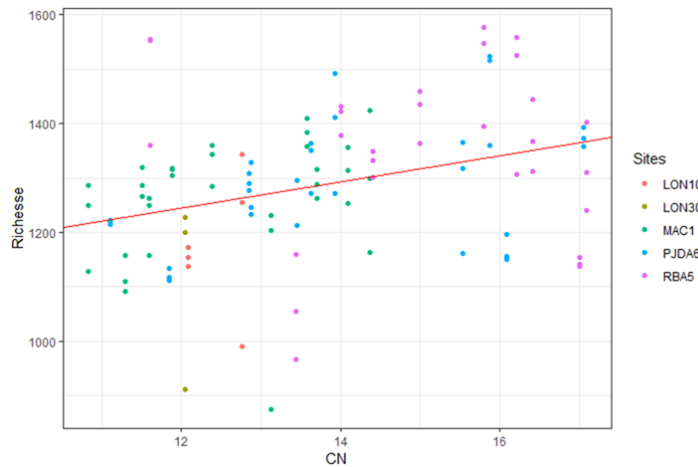


Figure 8: Régression linéaire présentant une corrélation entre la richesse bactérienne et le rapport carbone total/azote du bulk soil et rhizosphère

Cette corrélation est positive et très hautement significative (p-value = 0.000 ; $R^2 = 0.1122$; F-statistic= 13,02 ; ddl= 103 sur total 105). Même observation pour la teneur en carbone total (p-value= 0.0009116; $R^2 = 0.1017$; F-statistic= 11,67 ; ddl=103 sur total 105). En revanche, aucune corrélation significative n'a été observée entre les ratios C/N et les quantités d'ADN.

3.2 Composition des communautés bactériennes dans le sol et la rhizosphère de *L. kerguelensis*

3.2.1 Abondances relatives

La figure 7 montre l'abondance relative des bactéries (caractérisées au niveau du phylum) présentes dans le bulk soil et la rhizosphère des *L. kerguelensis* au sein des différentes stations.

Nous avons remarqué que les *Actinobactéries*, les *Chloroflexi*, les *Protéobactéries*, les *Acidobactéries* et les *Verrumicrobies* sont les 5 phyla les plus abondants quel que soit la station et le type (rhizosphère ou bulk). Les échantillons bulk montrent des profils assez similaires entre eux alors que nous pouvons observer des différences avec les communautés bactériennes de la rhizosphère. Ainsi, les *Actinobactéries*, les *Protéobactéries* et les *Planctomycètes* sont plus abondantes dans la rhizosphère que dans leur contrôle 'bulk respectif au sein des stations LON10, PJDA6 et MAC1. En revanche, les *Chloroflexi* suivent la tendance inverse c'est-à-dire qu'elles sont plus abondantes dans les échantillons bulks que dans la rhizosphère correspondante. Les *Verrumicrobies* ont des tendances à peu près similaires au sein des stations MAC1 (7,66% dans la rhizosphère et 7,62% dans le bulk) et PJDA6 (5,64% dans la rhizosphère et 5,71% dans le bulk). Contrairement aux stations MAC1 et PJDA6 dans lesquelles l'abondance relative des *Verrumicrobies* est similaire entre bulk et rhizosphère, au sein de LON10, elle est plus faible dans la rhizosphère que dans le bulk). Les *Acidobactéries* ne suivent pas les mêmes tendances entre rhizosphère et bulk d'une station à une autre. La station LON30 est géographiquement proche de LON10 mais les deux présentent des compositions bactériennes différentes. RBA5 ne possède pas d'échantillon bulk mais sa rhizosphère présente d'un profil d'abondance bactérienne assez similaire de celui observé dans la rhizosphère des *Lyallia* échantillonnées à LON10.

3.2.2 Richesse bactérienne

La richesse des communautés bactériennes (nombre d'OTU) par échantillon a été déterminée. La figure 8 présente la relation entre la richesse bactérienne et le ratio C/N. Une corrélation positive très hautement significative a été observée entre les deux variables (p-value= 0.0005865, F-statistic= 12.59, ddl = 103 sur 105 et $R^2 = 0.1089$), et donc une augmentation du ratio C/N traduit une augmentation du nombre de bactéries. Aucune significativité n'a été trouvée entre les teneurs en carbone et azote testées individuellement sur la richesse. Par ailleurs, une analyse de variance à deux facteurs a montré un effet station très hautement significatif (p-value < **0.001** '***') sur la richesse des communautés bactériennes. Dans une moindre mesure, le type (bulk ou rhizosphère) de l'échantillon influence légèrement cette variable (p-value = **0.040** '*') avec une richesse légèrement plus importante dans la

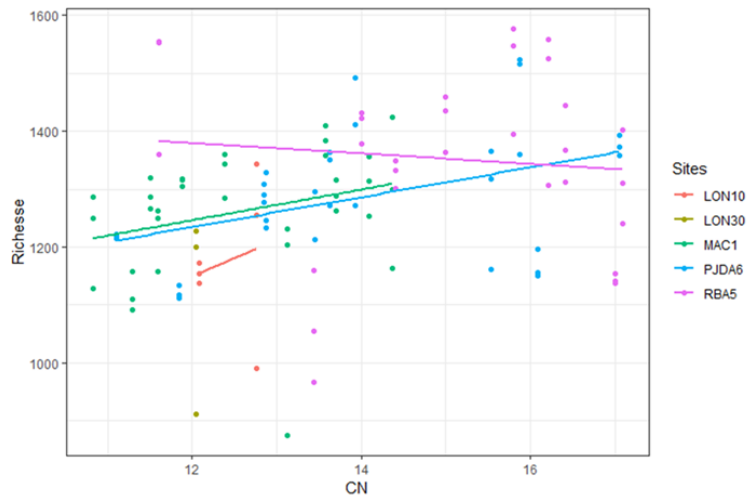


Figure 9: Régressions linéaires entre le ratio C/N et la richesse des bactéries par station

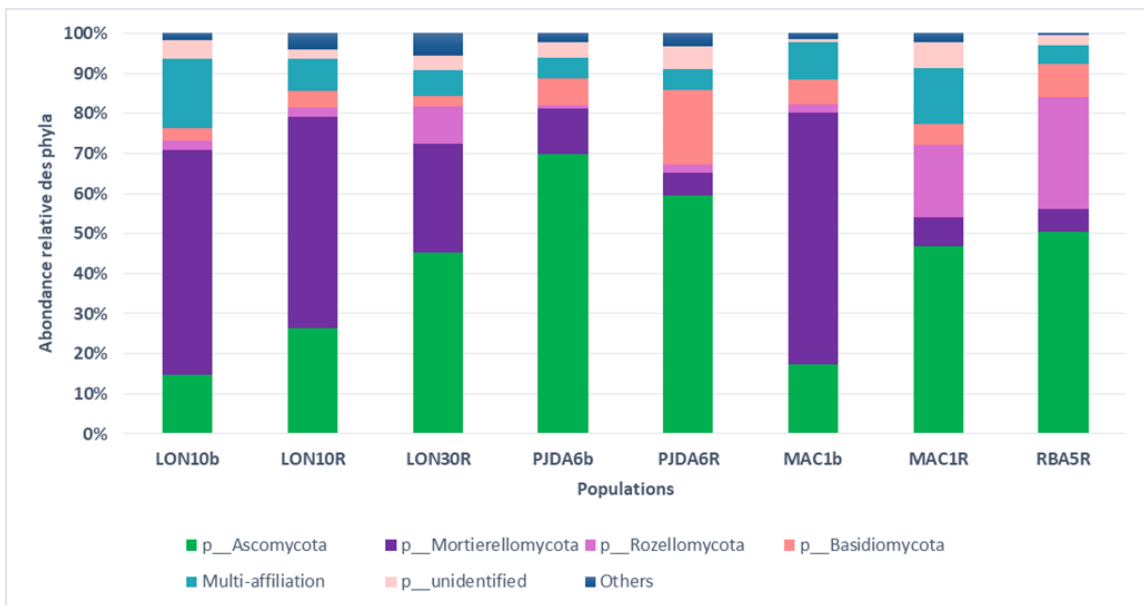


Figure 10: Histogramme cumulé de l'abondance relative des phyla fongiques présents dans le bulk soil et la rhizosphère

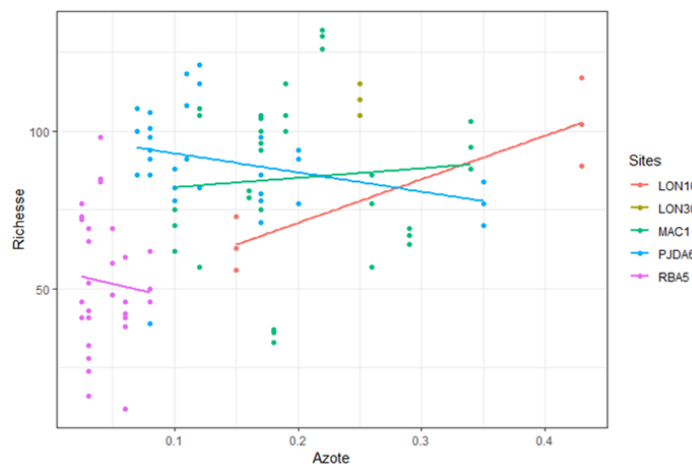


Figure 11: Régressions linéaires entre la teneur en azote du sol et la richesse des communautés fongiques par station. Azote en %

rhizosphère. En sachant cet effet station sur la richesse bactérienne, nous avons voulu déterminer si la relation entre le C/N et la richesse bactérienne était similaire quel que soit la station (Figure 9).

Au sein des populations MAC1 et PJDA6, les tendances restent les mêmes, c'est-à-dire que la richesse augmente lorsque le ratio C/N augmente, avec une pente similaire de leurs droites de régression respectives. La population LON10 semble montrer une tendance similaire à celle de MAC1 et PJDA6 même si elle compte beaucoup moins d'individus. Par contre, c'est l'inverse qui a été observé dans la population ciblée sur la Péninsule Rallier-du-Baty où ce ratio, en augmentant, influence négativement la richesse des communautés bactériennes. La population LON30 ayant qu'un seul individu, il n'est pas possible de tracer sa droite de régression.

3.3 Composition des communautés fongiques dans le sol et la rhizosphère de *L. kerguelensis*

3.3.1 Abondances relatives

La figure 10 montre l'abondance relative des communautés fongiques (caractérisée au niveau phylum) présentes dans le bulk soil et la rhizosphère des *L. kerguelensis* au sein de chaque station. Contrairement aux bactéries, les différences entre bulk et rhizosphère dépendent des stations. Les communautés fongiques présentent peu de phyla dominés par les *Ascomycètes*, les *Mortierellomycètes*, les *Rozellomycètes* et dans une moindre mesure par les *Basidiomycètes*. Les *Mortierellomycètes* sont plus abondants dans les échantillons bulk que la rhizosphère au sein des populations LON10, MAC1, PJDA6 alors que c'est l'inverse chez les *Ascomycètes* à l'exception de la population PJDA6. De même les *Basidiomycètes* sont plus abondants dans les échantillons de rhizosphère pour les populations LON10 et PJDA6, ce qui n'est pas le cas de MAC1. Les *Rozellomycètes* sont beaucoup moins abondants avec une faible variation entre rhizosphère et bulk des populations LON10 et PJDA6 mais sont plus abondants dans les rhizosphères de LON30, MAC1 et RBA5. Malgré la distance géographique relativement proche entre les stations LON10 et LON30, celles-ci n'ont pas le même profil d'abondance au sein de la rhizosphère de *L. kerguelensis*.

3.3.2 Richesse fongique

Alors que la richesse fongique n'était pas dépendante du type d'échantillon / de l'habitat microbien (p-value = **0.341**), elle est significativement impactée par la station (p-value < **0.001** '***' très hautement significative). La figure 11 présente les régressions linéaires entre la teneur en azote du sol et la richesse des communautés fongiques par station. En outre, nous avons observé des corrélations très hautement significatives entre teneur en azote (p-value < **0.001** ; $R^2 = 0,15$; F-statistic = 19,46 ; ddl = 103 sur 105), carbone total (p-value < **0.001** ; $R^2 = 0,13$; F-statistic = 15,92 ; ddl = 103 sur 105) et la richesse en communautés fongiques des échantillons. Dans une moindre mesure, cette corrélation était significative entre le ratio C/N et cette richesse (p-value = **0,034** ; $R^2 = 0,04$; F-statistic = 4,60 ; ddl = 103 sur 105). Etant donné l'effet station significatif, le sens de la corrélation diffère d'une station à une autre. Deux tendances globales se dégagent. D'une part une corrélation négative traduite par une diminution

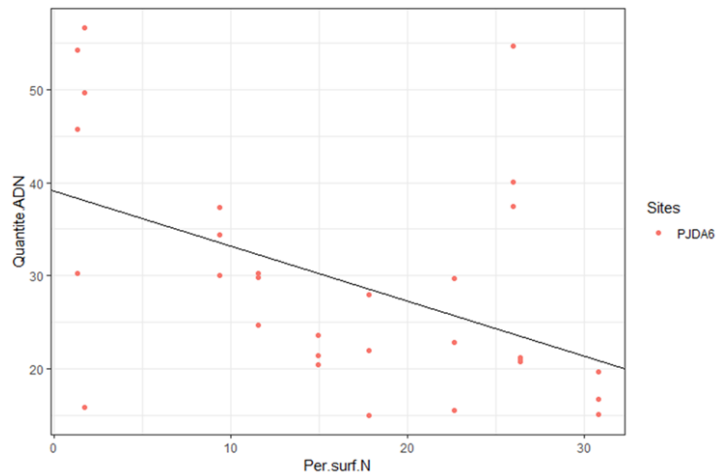


Figure 12: Régression linéaire entre la quantité d'ADN et le pourcentage de surface nécrosée (Per.Surf.N) des *L. kerguelensis* dans la population PJDA6

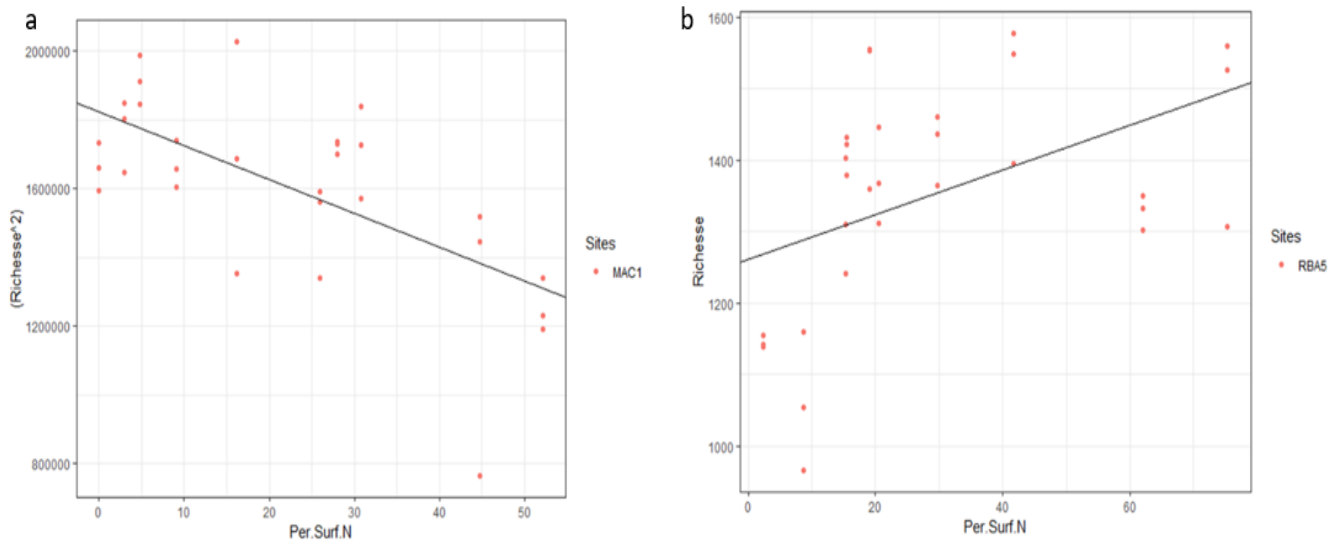


Figure 13: Régression linéaire entre la richesse des communautés bactériennes rhizosphériques et les pourcentages de surface nécrosée des plantes dans les populations (a) MAC1, (b) RBA5

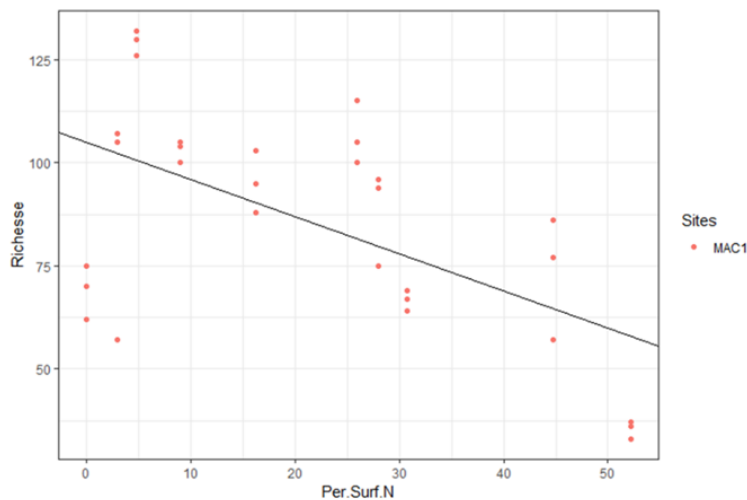


Figure 14: Régression linéaire entre la richesse des communautés fongiques de la rhizosphère et les pourcentages de surface nécrosée des plantes dans la population MAC1

progressive de la richesse des communautés fongiques dans les populations issues de la Péninsule Rallier-du-Baty et de la Grande Terre Port Jeanne d'Arc quand la teneur en azote augmente. D'autre part une augmentation progressive de cette richesse dans la population MAC1 et beaucoup plus rapide au sein LON10 au fur et à mesure que la teneur en azote augmente. Les observations faites pour la corrélation entre la teneur en carbone total et la richesse sont très similaires, ce qui n'est pas le cas pour le ratio C/N. Autrement dit, les corrélations sont positives pour les stations RBA5, MAC1 et LON10 alors que la richesse des communautés fongiques diminue progressivement avec le ratio C/N dans la population PJDA6.

3.4 Relations avec les nécroses de la plante

Cette partie se focalise uniquement sur les sites ayant eu un échantillonnage complet. Les populations concernées sont donc MAC1, RBA5 et PJDA6.

3.4.1 Quantité d'ADN et pourcentage de surface nécrosée

La figure 12 présente la régression linéaire entre la concentration d'ADN dans le sol de la rhizosphère et le pourcentage de surface nécrosée chez *L. kerguelensis*. Nous avons remarqué qu'une augmentation du pourcentage de nécroses s'accompagnait d'une diminution de la quantité d'ADN dans la rhizosphère de la plante (figure 9). Cette relation négative et très hautement significative (**p-value = 0,008** ; $R^2 = 0,22$; F-statistic = 7,989 ; ddl = 28 sur 30) n'a été observée que dans la population PJDA6.

3.4.2 Communautés microbiennes et pourcentages de surface de nécrosée

a) Communautés bactériennes

En fonction des stations, différents types de relations entre la richesse bactérienne et le pourcentage de surface nécrosée ont été observées. La figure 13 montre la régression linéaire entre la richesse des communautés bactériennes et les pourcentages de surface nécrosée respectivement dans les populations MAC1 et RBA5. Les bactéries présentes dans la rhizosphère des *L. kerguelensis* sont corrélées de manière très hautement significative aux pourcentages de surface nécrosée dans la population MAC1 (**p-value < 0,001** ; $R^2 = 0,42$; F-statistic = 20,62 ; ddl = 28 sur 30) et dans une moindre mesure également dans la population RBA5 (**p-value = 0.010**, $R^2 = 0,21$; F-statistic = 7.489 ; ddl = 28 sur 30). Cette corrélation est négative au sein des individus de MAC1, elle était positive chez les individus échantillonnés dans la Péninsule Rallier-du-Baty. En revanche aucune relation significative entre richesse bactérienne et pourcentage de surface nécrosée n'a été détectée dans la population PJDA6 (**p-value = 0.257**, $R^2 = 0,04$).

b) Communautés fongiques

La figure 14 montre la relation entre la richesse des communautés fongiques et les pourcentages de surface nécrosée dans la population MAC1. Comme observé pour les bactéries, les champignons présents dans la rhizosphère des plantes est négativement corrélée aux pourcentages de surface nécrosée dans cette même population MAC1. Cette relation est très hautement significative (**p-value < 0,001** ; $R^2 = 0,33$; F-statistic = 14,2 ; ddl = 28 sur 30). Aucune significativité entre les deux variables testées n'a été observée dans les deux autres populations.

L'étude sur les archées n'est pas présentée ici et fera l'objet dans un travail à venir.

4- Discussion

4.1 Biomasse microbienne du sol et de la rhizosphère de *Lyallia kerguelensis* dans les différentes stations

Le regroupement des quantités d'ADN du bulk soil et de la rhizosphère a montré un effet station très hautement significatif. Ceci n'est pas surprenant dans la mesure où les sites sur lesquels les populations ont été échantillonnées sont très contrastés sur la base de leur propriétés physico-chimiques mais aussi les paramètres environnementaux tels que l'exposition au vent, l'altitude, l'orientation géographique, les recouvrements en blocs, sables, cailloux, bryophytes et strates herbacées. Nous pensons que les différences de quantités moyennes d'ADN obtenues par station sont liées à ces variables. (Dequiedt *et al.*, 2011) ont également observé une distribution spatiale hétérogène de l'abondance des microorganismes du sol estimée par les quantités d'ADN extrait dans les sols en France métropolitaine. La distribution des microorganismes du sol n'est pas aléatoire et semble soumise aux conditions environnementales. Ces observations concordent avec nos résultats. De plus, nous avons montré que les teneurs en azote et en carbone total du sol déterminé à l'échelle de chaque individu par station étaient positivement et significativement corrélées aux quantités d'ADN. Les plus faibles teneurs d'azote ont été observées dans la population RBA5 et fait étonnant, les plus faibles quantités d'ADN ont été également observées dans cette même station. Même observation pour les teneurs en carbone total. La station LON30 qui avait la quantité moyenne d'ADN la plus élevée possédait également des pourcentages d'azote et de carbone importants. Il semble que dans les stations d'échantillonnage de la présente étude, le ratio C/N n'est pas un facteur majeur dans la régulation de l'abondance microbienne estimée par les quantités d'ADN car aucune corrélation significative n'a été observée. Des corrélations significatives entre les teneurs en carbone et azote total du sol avec l'abondance microbienne avaient déjà été observées sur un transect latitudinal depuis les îles subantarctiques Falkland (51°S) jusqu'à la base de la péninsule antarctique par (Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007). Il semble donc que malgré les différences climatiques entre l'Antarctique et les îles subantarctiques, les facteurs qui régulent l'abondance des microorganismes dans le sol seraient similaires.

4.2.- Composition des communautés bactériennes dans le sol et la rhizosphère de *L. kerguelensis*

4.2.1- Abondances relatives

Les phyla bactériens les plus abondants à l'exception des *Chloroflexi* avaient déjà été observés dans les sols antarctiques (île Livingston) par (Ganzert, 2011) et dans une gamme d'habitats antarctiques / subantarctiques par (Yergeau, Newsham, *et al.*, 2007). En revanche, des fortes abondances de *Firmicutes* et de *Bactéroïdètes* (Ordre des *Sphingobactériales*) avaient également été observées. Les séquences de ces phyla étaient beaucoup moins abondantes dans les données de notre étude car elles représentaient en moyenne moins de 2% des abondances totales.

Même observation pour les *Cyanobactéries*. Par ailleurs, les *Chloroflexi* qui n'avaient pas été mentionnés dans ces études en Antarctique représentaient une moyenne de 22% des abondances relatives totales. En raison de leur faible abondance dans les sols antarctiques, il n'existe pas de données qui expliquent leur rôle dans ces écosystèmes. Néanmoins nous avons observé que ce phylum était très diversifié au niveau de la classe (environ une dizaine). Une forte abondance des *Chloroflexi* (13%) avait été signalée dans les sols humides d'une toundra alpine dans les montagnes rocheuses du Colorado (Costello and Schmidt, 2006), contrairement aux sols secs de toundra voisines. Les auteurs ont donc suggéré que le rôle de ces bactéries pourrait être unique dans les sols humides de prairies par rapport aux sols de toundra plus secs. Des études complémentaires sont donc nécessaires pour identifier les niches spatiales, temporelles et fonctionnelles spécifiques de ces bactéries. Nous avons aussi remarqué qu'elles étaient plus abondantes dans les échantillons bulk que dans la rhizosphère. Les sols au Kerguelen sont plus humides que ceux en Antarctique et donc l'abondance relative des *Chloroflexi* pourrait être corrélée à cette humidité. Nous avons également remarqué que les plus fortes ou faibles abondances relatives des *Chloroflexi* influencent très peu celles des *Actinobactéries*, ce qui n'était pas vrai pour les *Protéobactéries*. Cette observation nous laisse penser que des interactions antagonistes pourraient exister entre ces deux phyla. Les *Protéobactéries* étaient dominées par 3 classes que sont les *Alphaprotéobactéries*, les *Gammaprotéobactéries* et les *Deltaprotéobactéries*. Nous avons remarqué que ces *Protéobactéries* avec les *Actinobactéries* et *Planctomycètes* incluses étaient plus abondantes dans la rhizosphère. Les *Protéobactéries* et les *Acidobactéries* sont des acteurs majeurs des communautés microbiennes du sol dans le monde entier et il avait été rapporté qu'un ratio élevé d'*Alphaprotéobactérie*/*Acidobactérie* serait la preuve d'une disponibilité accrue en éléments nutritifs (Yergeau *et al.*, 2011). La majeure partie des *Acidobactéries* ont une croissance lente et préfèrent les sols pauvres alors que les *Alphaprotéobactéries* ont une croissance beaucoup plus rapide, préférant ainsi les sols riches. Une corrélation positive a été observée entre la production de CO₂ dans le sol et la croissance des *Alphaprotéobactéries* dans le haut Arctique canadien (données non publiées). Nous n'avons pas mesuré cette variable dans notre étude, mais nous pensons que cette tendance aurait pu être observée car les abondances relatives des *Protéobactéries* sont supérieures à celle des *Acidobactéries*, ce qui conduirait à une augmentation de la production CO₂ dans le sol. Par conséquent, il avait été rapporté que la respiration du sol augmente généralement dans les tests sur le réchauffement climatique, mais il existe peu de données disponibles sur les organismes et les mécanismes impliqués (Yergeau *et al.*, 2011). Ces auteurs ont d'ailleurs supposé que les augmentations de la respiration du sol en Antarctique après le réchauffement sont liées aux changements dans l'abondance relative des *Alphaprotéobactéries* et des *Acidobactéries*. Nous pensons que le même scénario serait entrain de se reproduire aux Kerguelen puis que les *Protéobactéries* ont dominé les *Acidobactéries* dans toutes les stations. Les *Actinobactéries* représentaient le phylum les plus abondants dans toutes les populations même si de légères variations entre rhizosphère et bulk soil avaient été observées.

En effet, il a été rapporté que ces bactéries survivent dans les environnements difficiles et que certaines espèces sont capables de former des mycéliums afin d'explorer le sol vrac à la recherche d'eau et d'éléments nutritifs. D'autres sont capables de former des spores pour survivre (Zhang *et al.*, 2016). Les preuves selon lesquelles les *Actinobactéries* constituaient le phylum dominant dans les sols d'environnements froids (pergélisol, les carottes de glace, la cryoconite et à l'avant pays des glaciers) avaient été montrées (Wu *et al.*, 2012; Edwards *et al.*, 2013; Stibal *et al.*, 2015). Les *Actinobactéries* joueraient plusieurs rôles différents dans les écosystèmes du sol, elles influencent d'autres microorganismes en produisant des métabolites secondaires bioactifs et complexes mais aussi dégradent et utilisent des composés organiques complexes (Zhang *et al.*, 2016). Toutes ces caractéristiques expliquent leur dominance dans les sols de Kerguelen. Les *Verrumicrobies* sont présentes dans presque tous les sols et détectables généralement par des méthodes moléculaires mais leur rôle dans les communautés bactériennes demeure mystérieux (Zhang and Xu, 2008). Les souches isolées et cultivées semblent se spécialiser dans la dégradation des glucides et étant donné leur distribution très large, ils pourraient être des composants importants des communautés microbiennes du sol. Ces observations concordent avec nos résultats car les *Verrumicrobies* sont présentes dans tous les échantillons analysés. Les différences de la composition bactérienne entre LON10 et 30 montrent que la structure et l'abondance des communautés microbiennes du sol ne sont pas influencées de la distance géographique. Les distinctions observées seraient probablement liées aux variations locales des facteurs liés au sol (Partie 2.1). Ces résultats ne suivent pas ceux obtenus par (Yergeau, Newsham, *et al.*, 2007) sur le profil de diversité bactérienne dans une gamme d'habitats terrestres antarctiques. Ces auteurs ont observé une corrélation entre les communautés bactériennes et la distance géographique, dans une gamme de sols antarctiques, les sites géographiquement proches avaient une composition taxonomique similaire.

4.2.2- Richesse bactérienne

La richesse bactérienne a montré une tendance inverse à celle des quantités d'ADN car seule la corrélation du ratio C/N était significative. Cela montre que la richesse bactérienne et les quantités d'ADN estimées comme indicateur de la biomasse microbienne ne sont pas sensibles au même facteur. Ce ratio augmente lorsque la teneur en carbone augmente au détriment de l'azote. La population ciblée sur la péninsule Rallier-du-Baty a montré une diminution de la richesse bactérienne quand le ratio C/N augmente, ce qui n'a pas été observé dans les autres populations. Cette population avait les plus élevés ratios C/N soit une moyenne de 15,02 par individu. Les autres populations avaient des ratios moyens compris entre 12 et 14. Nous pensons que l'azote serait un facteur limitant dans la population RBA5. Ces teneurs en azote étaient à la limite détectable (4% la moyenne par individu) alors que les moyennes individuelles ailleurs étaient comprises entre 13 et 29%. Les teneurs en carbone, en azote et leur ratio sont respectivement influencés par la couverture végétale et la localisation (Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007).

De plus la formation géologique de la Péninsule Rallier-du-Baty diffère des autres sites (Partie 2.1). Cette remarque appuie nos observations. La richesse bactérienne était légèrement plus abondante dans la rhizosphère que les échantillons bulks.

4.3- Composition des communautés fongiques dans le sol et la rhizosphère de *L. kerguelensis*

4.3.1- Abondances relatives

Nous avons observé que les communautés fongiques étaient dominées par les *Ascomycètes*, les *Mortierellomycètes*, les *Rozellomycètes* et les *Basidiomycètes*. Des études antérieures en Antarctique, dans le désert du Koweït, les Alpes centrales autrichiennes avaient déjà observées l'abondance de ces phyla dans le sol et dans la rhizosphère (Ruisi *et al.*, 2007; Dresch *et al.*, 2019; Suleiman *et al.*, 2019). Ceci montre la capacité de ces phyla à coloniser et à dominer les communautés microbiennes du sol dans différents écosystèmes de la terre. Les *Ascomycètes* ont montré une grande variation d'abondance relative d'une population à une autre et au sein d'une même population, des différences importantes entre bulk et rhizosphère ont été observées pour la plupart des stations. Cette abondance rhizosphérique montre la capacité de ce phylum à être très compétitifs et à entretenir des interactions importantes avec les plantes. Par ailleurs, Les *Ascomycètes* étaient plus diversifiés au niveau de la classe et sont dominés principalement par les *Sordariomycètes* suivies des *Leotiomycètes*, *Saccharomycètes*, *Dothidéomycètes*, *Eurotiomycètes* etc. Les autres niveaux taxonomiques étaient également très diversifiés. Les membres des *Sordariomycètes* sont connus pour leur mode de vie saprophyte mais comptent aussi parmi eux de redoutables parasites de végétaux et animaux, des endophytes des plantes et sont impliqués dans la décomposition et le cycle des éléments nutritifs (Suleiman *et al.*, 2019). Les *Saccharomycètes* comptaient pour la plupart le genre *Candida*, les *Leotiomycètes*, l'ordre des *Hélotiales*. Les *Basidiomycètes* étaient moins diversifiés au niveau de la classe, mais au niveau espèce, la diversité était importante. (Pegler, Spooner and Smith, 1980) avaient rapporté la présence de *Basidiomycètes* tels que *Galerina sp* dans la zone subantarctique mais dans notre étude, aucune séquence n'était affiliée à cette espèce. Un seul *Zygomycète* avait été identifié. Il s'agit de *Stylopage sp*, un champignon rhizosphérique qui aurait des propriétés de biocontrôle sur les nématodes (Lotta and Hans-Börje, 1997). Les *Zygomycètes* avaient été identifiés comme un phylum très abondant dans les sols en antarctique continental contrairement aux *Ascomycètes* (Ruisi *et al.*, 2007). Dans notre étude, les abondances relatives de ces deux phyla suivent des tendances inverses et donc renforce l'idée de différences d'habitats entre l'Antarctique et le Subantarctique. En se basant sur nos résultats, nous pensons que le subantarctique et précisément les îles Kerguelen considérées comme un environnement extrême pourraient être un réservoir des communautés fongiques avec une présence abondante de genres fongiques cosmopolites bien décrits dans d'autres écosystèmes (*Alternaria*, *Fusarium*, *Diaporthes*, *Venturia*, *Phoma*, *Candida*, *Penicillium*, *Mycosphaerella*...), connus pour être la plupart des agents phytopathogènes et d'autres genres fongiques probablement endémiques car la proportion de genres non identifiés dans tous les phyla était importante.

Nous avons remarqué une abondance des *Mortierellomycètes* dans toutes les populations, notamment dans les échantillons bulks. Toutes les séquences étaient affiliées au genre *Mortierella*.

La diversité d'espèces de *Mortierella* que nous avons identifié dans cette étude est largement supérieure à celle rapporté par (Vishniac and Genetics, 1996) en antarctique maritime et subantarctique. Etant donné les faibles abondances observées dans les études antérieures dans ces régions, ce phylum n'a pas fait l'objet d'études plus approfondies, son rôle dans ces écosystèmes reste inconnu. Par ailleurs, une étude récente a montré qu'une abondance relative importante de ce genre fongique a été observée dans les sols supprimeurs de la fusariose de la vanille (Xiong *et al.*, 2017), ce qui pourrait signifier qu'ils seraient impliqués dans le biocontrôle des agents pathogènes. Plus loin, nous avons observé une relation antagoniste entre les *Ascomycètes* et les *Mortierellomycètes* dans toutes les populations étudiées. Les plus fortes abondances relatives de *Mortierellomycètes* correspondent aux plus faibles abondances des *Ascomycètes* et inversement. Ceci pourrait témoigner d'une compétition interspécifique pour l'espace et les ressources nutritives limitantes dans les sols de Kerguelen. Les *Mortierellomycètes* semblent également montrer le même type d'interaction avec les *Rozellomycètes*. Ces derniers sont faiblement identifiés dans les sols antarctiques.

4.3.1- Richesse fongique

Les corrélations observées montrent que les facteurs influençant de façon globale la richesse des bactéries et des champignons sont différents. Les champignons seraient plus sensibles aux teneurs en azote, en carbone et leur ratio que les bactéries. Plus loin, le sens des corrélations au sein des stations diffère entre les deux domaines microbiens. La station RBA5 ayant les plus faibles teneurs en azote avait les plus faibles richesses fongiques. La richesse bactérienne et fongique dans cette population suit la même tendance, le taux moyen d'azote dans le sol est de 0,2%. La richesse fongique au sein de la station PJDA6 a affiché une baisse, son taux d'azote était de 13%. En revanche, les stations MAC1 et LON10 qui avaient respectivement des taux d'azote moyen de 20 et 29% dans le sol ont affiché une augmentation de la richesse fongique comme observé pour la richesse bactérienne. Ceci montre qu'il existerait un seuil de la teneur en cet élément à partir duquel la richesse fongique augmente. Ce seuil est compris entre 10 et 20%. En revanche, les deux domaines microbiens diffèrent pour PJDA6. Le site abritant cette population a notamment fait l'objet d'introduction de nombreuses espèces animales dont les lapins. La seule étude disponible au Kerguelen sur les communautés microbiennes avait évalué les impacts de ces herbivores sur les communautés fongiques (Pansu *et al.*, 2015). Les résultats suggéraient que la simplification des communautés végétales et l'érosion spectaculaires des sols résultats de l'introduction des lapins ont entraîné des changements dans la composition fongique y compris une réduction de la diversité. Les traces de ces animaux ont été observées récemment autour de la station d'échantillonnage. Ces observations supportent nos résultats. L'influence du ratio C/N sur la richesse fongique a également été signalée dans la Péninsule antarctique et dans un transect Antarctique maritime/ Subantarctique par (Yergeau, Bokhorst, *et al.*, 2007; Dennis *et al.*, 2011) mais aucune corrélation C/N et richesse fongique n'a été trouvée dans l'étude de (Lawley *et al.*, 2004).

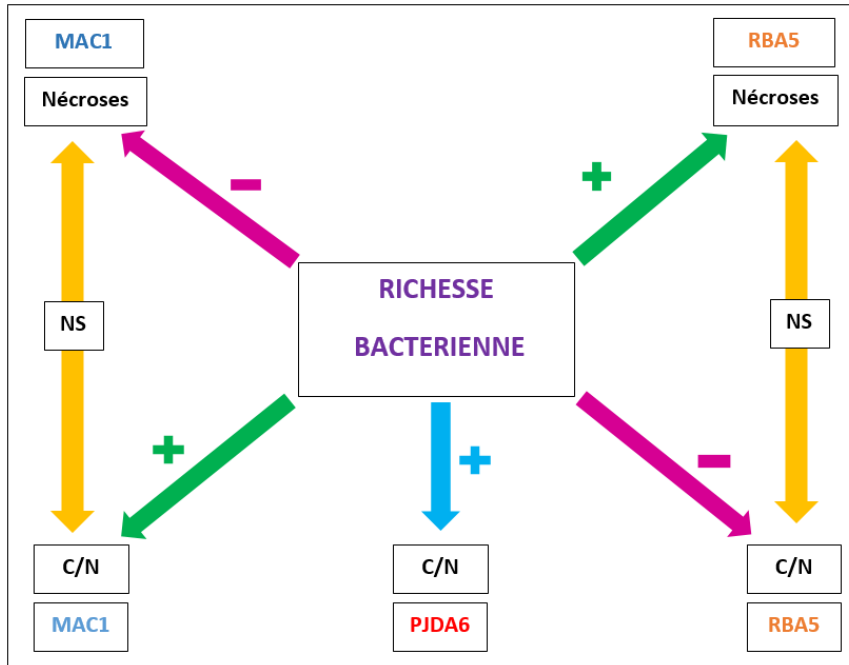


Figure 15: Schéma récapitulatif des corrélations significatives entre richesse bactérienne, les variables C/N et pourcentages de surface nécrosée au sein des populations. NS : Non Significatif, (+) : corrélation positive, (-) : corrélation négative

4.4- Relations avec les nécroses de la plante

4.4.1- Quantité d'ADN et pourcentage de surface nécrosée

Les pourcentages de surface nécrosée étaient très différents entre station vu que l'échantillonnage était au départ basé sur une estimation visuelle. Nous avons donc considéré dès le début qu'il avait un effet station, raison pour laquelle les analyses ont été effectuées station par station. Seule la population PJDA6 avait montré une corrélation significative. En regardant les données de plus près, nous avons remarqué que seulement cette population avait des pourcentages de surface nécrose compris entre 1 et 30%, les deux autres populations étaient beaucoup plus affectés par ces nécroses soit entre 0 et 75%. PJDA est le site le plus touché par les nécroses mais paradoxalement, les individus choisis pour cette étude l'étaient beaucoup moins. Notre hypothèse est qu'une plante touchée jusqu'à 75% de nécroses ne serait plus en mesure de répondre à son milieu en raison du réchauffement et d'assèchement rapide et intense aux Kerguelen. Dans cette logique, celle-ci ne serait plus capable de sélectionner dans sa rhizosphère les microorganismes, ce qui pourrait expliquer les absences de corrélations observées dans les populations MAC1 et RBA5 et que les individus de PJDA6 étant moins touchés par les mêmes nécroses seraient toujours capables d'être actifs dans la rhizosphère. Une autre hypothèse serait que plusieurs autres variables pourraient expliquer les quantités d'ADN dans la rhizosphère et non uniquement le pourcentage de surface nécrosée même si celle-ci est significative. Cette quantité d'ADN est directement liée au sol, elle dépend des conditions d'extraction et des biais techniques lors de la lecture des absorbances. Les nécroses sont un phénomène physiologique qui se produit dans la partie aérienne de la plante.

4.4.2- Communautés microbiennes et pourcentages de surface de nécrosée

a) Communautés bactériennes

La richesse bactérienne était corrélée de manière significative dans les populations MAC1 et RBA5, les deux plus touchés par les nécroses. Paradoxalement, cette corrélation n'allait pas dans le même sens au sein de ces deux populations. Fait étonnant, la richesse bactérienne était significativement corrélée au ratio C/N dans ces dernières, mais le sens de cette corrélation était également différent. De plus aucune relation significative entre les pourcentages de surface nécrosée et les ratios C/N n'a été observée. Il ressort donc qu'il y a deux populations dont la richesse bactérienne est influencée par deux variables avec des tendances différentes au sein de chacune (Figure 15). Les individus de la population PJDA6 étaient modérément touchés par les nécroses, ces dernières semblent donc ne pas impacter la richesse des bactéries présentes dans la rhizosphère (absence de corrélation). La seule corrélation significative pour la richesse bactérienne était liée au ratio C/N dans cette population. Cette variable est au centre de la richesse des bactéries dans la rhizosphère de *Lyallia kerguelensis*.

b) Communautés fongiques

Les fortes nécroses touchant les bactéries semblent également influencer négativement la richesse fongique dans la population MAC1. Nous avons donc une réponse identique des communautés bactériennes et fongiques au sein de cette population.

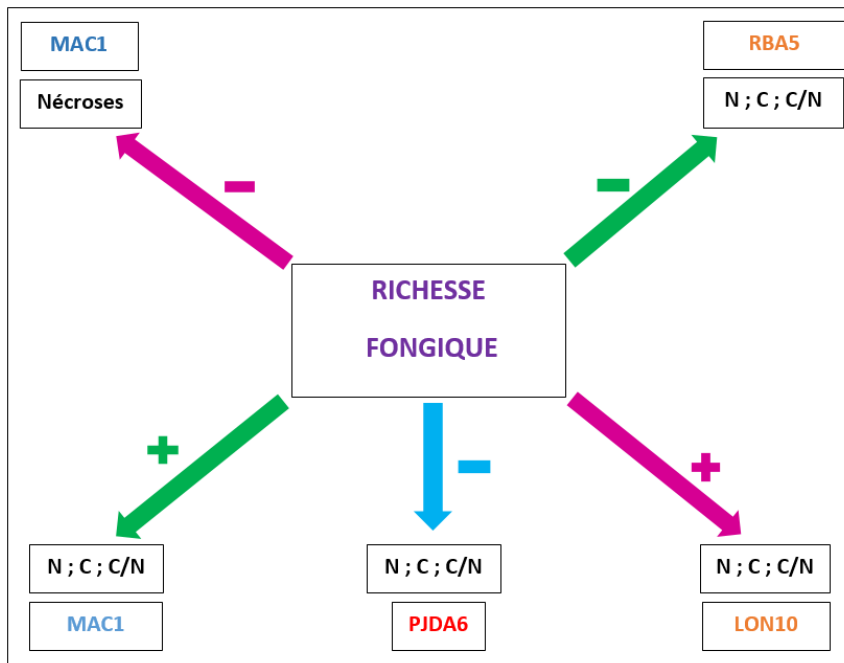


Figure 16: Schéma récapitulatif des corrélations significatives entre richesse bactérienne, les variables C/N et pourcentages de surface nécrosée au sein des populations. **NS** : Non Significatif, (+) : corrélation positive, (-) : corrélation négative

Le ratio C/N est également au centre des tendances observées dans toutes les populations mais également les taux d'azote et de carbone ont influencé la richesse des champignons (Figure16). Cependant nous pensons qu'il est trop tôt pour conclure sur les absences de corrélations entre les nécroses et la richesse fongique des autres populations.

5- Perspectives

Au vu des résultats obtenus, nous pensons que des analyses complémentaires sont nécessaires voire indispensables. Il serait donc intéressant d'étudier station par station, tous les facteurs qui influenceraient la richesse des communautés mais aussi déterminer les interactions entre ces facteurs. L'identification des phyla dont les abondances relatives sont corrélées avec les nécroses pourraient permettre de mieux expliquer les causes de celles-ci. Des analyses de diversité intra et inter station permettront de comprendre la structure des communautés microbiennes dans le sol. Un zoom sur les microorganismes dont les abondances relatives montraient des tendances opposées (les *Chloroflexi* et les *Protéobactéries*) dans le domaine bactérien, (*Mortierellomycètes* et les *Ascomycètes*) dans le règne permettrait de mettre en lumière le rôle de ces phyla dans cet écosystème. Globalement les bactéries étaient plus diversifiées au niveau phylum que les champignons, il sera donc important de faire plus tard des analyses fonctionnelles (métatranscriptomique) afin comprendre le rôle des phyla identifiés dans cet écosystème mais aussi pour démêler les liens fonctionnels entre ces deux domaines microbiens. Une autre composante importante des communautés microbiennes du sol reste les archées. Pour des contraintes techniques, nous ne les avons pas intégré dans cette étude, celles-ci seront étudiées prochainement.

6- Conclusions

Cette étude aura permis de montrer que les quantités d'ADN des communautés microbiennes du sol. Elle a également montré que les sols des îles Kerguelen abritent une diversité de communautés microbiennes à la fois cosmopolite et endémique tel que cela a déjà été montré dans les études antérieures. Nous avons retrouvé des microorganismes des sols tempérés comme des sols polaires, les toundras et désert aride. Quelques grandes tendances se sont dégagées. Le ratio C/N était au centre des corrélations de la richesse des communautés microbiennes, une abondance relative des phyla bactériens légèrement plus importante dans la rhizosphère et pour finir, une des populations étudiées a montré des corrélations significatives de la richesse bactérienne et fongique avec les nécroses, un phénomène probablement lié au réchauffement climatique en cours. La compréhension du rôle et des interactions de ces microbes avec les plantes permettrait de maîtriser le fonctionnement de ces écosystèmes uniques, dans le but de définir les stratégies adéquates pour leur conservation.

7. Références bibliographiques

- Auer, L. et al.** (2018) FROGS : Find , Rapidly , OTUs with Galaxy Solution, 34(December 2017), pp. 1287–1294. doi: 10.1093/bioinformatics/btx791.
- Buée, M., Vairelles, D. and Garbaye, J.** (2005) Year-round monitoring of diversity and potential metabolic activity of the ectomycorrhizal community in a beech (*Fagus silvatica*) forest subjected to two thinning regimes, pp. 235–245. doi: 10.1007/s00572-004-0313-6.
- Costello, E. K. and Schmidt, S. K.** (2006) Microbial diversity in alpine tundra wet meadow soil : novel Chloroflexi from a cold , water-saturated environment, 8, pp. 1471–1486. doi: 10.1111/j.1462-2920.2006.01041.x.
- Dennis, P. G. et al.** (2011) Soil fungal community composition does not alter along a latitudinal gradient through the maritime and sub-Antarctic, *Fungal Ecology*. Elsevier Ltd, 5(4), pp. 403–408. doi: 10.1016/j.funeco.2011.12.002.
- Dequiedt, S. et al.** (2011) Biogeographical patterns of soil molecular microbial biomass as influenced by soil characteristics, pp. 641–652. doi: 10.1111/j.1466-8238.2010.00628.x.
- Desantis, T. Z. et al.** (2009) Environmental microarray analyses of Antarctic soil microbial communities, pp. 340–351. doi: 10.1038/ismej.2008.111.
- Dorey, T.** (2017a) *Variabilité morphologique et écologique chez une plante endémique des îles subantarctiques de Kerguelen, Lyallia kerguelensis*. Master 2 “Ecologie Fonctionnelle, Comportementale et Evolutive”, Université de Rennes 1, rapport de recherche, 20pp.
- Dorey, T.** (2017b) *Les plantes en coussin : Stratégies morphologiques, physiologiques et du développement en réponse aux environnements extrêmes*. Master 2 “Ecologie Fonctionnelle, Comportementale et Evolutive”, Université de Rennes 1, rapport bibliographique, 20pp.
- Dresch, P. et al.** (2019) Emerging from the ice-fungal communities are diverse and dynamic in earliest soil developmental stages of a receding glacier, 21, pp. 1864–1880. doi: 10.1111/1462-2920.14598.
- Edwards, A. et al.** (2013) A metagenomic snapshot of taxonomic and functional diversity in an alpine glacier cryoconite ecosystem, *Environmental Research Letters*, 8, p. 11. doi: 10.1088/1748-9326/8/3/035003.
- Feibelman, T., Bayman, P. and Cibuln, W. G.** (1994) Length variation in the internal transcribed spacer of ribosomal DNA in chanterelles, *Mycological Research*. British Mycological Society, 98(6), pp. 614–618. doi: 10.1016/S0953-7562(09)80407-3.
- Fierer, N. and Jackson, R. B.** (2006) The diversity and biogeography of soil bacterial communities, 103(3).
- Ganzert, L.** (2011) “The impact of different soil parameters on the community structure of dominant bacteria from nine different soils located on Livingston Island, South Shetland Archipelago, Antarctica”, 76, pp. 476–491. doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01068.x.
- Griffiths, R. I. et al.** (2000) Rapid method for coextraction of DNA and RNA from natural

- environments for analysis of ribosomal DNA- and rRNA-Based microbial community composition, 66(12), pp. 5488–5491.
- He, J., Hu, H. and Zhang, L.** (2012) Current insights into the autotrophic thaumarchaeal ammonia oxidation in acidic soils, *Soil Biology and Biochemistry*. Elsevier Ltd, 55, pp. 146–154. doi: 10.1016/j.soilbio.2012.06.006.
- Hennion, F. and Walton, D.** (1997) Seed germination of endemic species from Kerguelen phytogeographic zone, *Polar Biology*, 17, pp. 180–187.
- Hu, H. et al.** (2013) pH-dependent distribution of soil ammonia oxidizers across a large geographical scale as revealed by high-throughput pyrosequencing, pp. 1439–1449. doi: 10.1007/s11368-013-0726-y.
- Lawley, B. et al.** (2004) Molecular analysis of geographic patterns of eukaryotic diversity in Antarctic soils, 70(10). doi: 10.1128/AEM.70.10.5963.
- Lebouvier, M.** (2001) Human activities, ecosystem disturbance and plant invasions in subantarctic Crozet, Kerguelen and Amsterdam Islands. *Biological conservation* 101, pp. 33–50.
- Li, W. et al.** (2016) Archaeal communities in the sediments of different mangrove stands at Dongzhaigang, China, pp. 1995–2004. doi: 10.1007/s11368-016-1427-0.
- Lotta, P. and Hans-Börje, J. (1997) Nematophagous fungi in the rhizosphere of agricultural crops, *FEMS Microbiology Ecology*, 22(4), pp. 303–312.
- Pansu, J. et al.** (2015) Long-lasting modification of soil fungal diversity associated with the introduction of rabbits to a remote sub-Antarctic archipelago.
- Pegler, A. D. N., Spooner, B. M. and Smith, R. I. L.** (1980) Higher fungi of Antarctica, the Subantarctic Zone and Falkland Islands. Published by : Springer on behalf of Royal Botanic Gardens, Kew Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/4110020> REFERENCES Linked references are available on JSTOR for this article.
- Quast, C. et al.** (2013) Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies, 41(1), pp. 1–11. doi: 10.1093/nar/gks808.
- Raskin, L. et al.** (1994) Group-specific 16S rRNA hybridization probes to describe natural communities of methanogens,” 60(4), pp. 1232–1240.
- Ruisi, S. et al.** (2007) Fungi in Antarctica, pp. 127–141. doi: 10.1007/s11157-006-9107-y.
- Selkirk, P. M.** (2007) the nature and importance of the sub-antarctic by nature and location of the sub-, 141(Quilty).
- Smith, V. R.** (2002) Climate change in the sub-antarctic: an illustration from Marion Island, 1968, pp. 345–357.
- Smith, V. R. and Steenkamp, M.** (1990) Oecologia Climatic change and its ecological implications at a subantarctic island, *Springer*, pp. 14–24.
- Smith, V. R. and Steyn, M. G.** (1982) Soil microbial counts in relation to site characteristics at a subantarctic island botanical classification of sites, pp. 253–266.

- Soo, R. M. et al.** (2009) Microbial biodiversity of thermophilic communities in hot mineral soils of Tramway Ridge , Mount Erebus , Antarctica, 11, pp. 715–728. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.01859.x.
- Stibal, M. et al.** (2015) Different bulk and active bacterial communities in cryoconite from the margin and interior of the Greenland ice sheet, *environmental Microbiology Report*, 7, pp. 293–300. doi: 10.1111/1758-2229.12246.
- Suleiman, M. K. et al.** (2019) Assessment of the Diversity of Fungal Community Composition Associated With *Vachellia pachyceras* and Its Rhizosphere Soil From Kuwait Desert, 10(January). doi: 10.3389/fmicb.2019.00063.
- Vishniac, H. S. and Genetics, M.** (1996) Biodiversity of yeasts and filamentous microfungi in terrestrial Antarctic ecosystems, 1378, pp. 1365–1378.
- Wace, N. M.** (1960) The botany of the southern oceanic islands. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 152, 475–490.
- Wagstaff, S. J. and Hennion, F.** (2007) Evolution and biogeography of *Lyallia* and *Hectorella* (Portulacaceae), geographically isolated sisters from the Southern Hemisphere, *Antarctic Science* 19(4), pp. 417–426. doi: 10.1017/S0954102007000648.
- Whinam, J., Copson, G. and Chapuis, J. L.** (2006) Conservation and management. In *Trends in Antarctic Terrestrial and Limnetic Ecosystems: Antarctica as a Global Indicator* (Bergstrom, D., Huiskes, A. and Convey, P., eds). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, pp. 297–316.
- Wu, X. et al.** (2012) Bacterial diversity in the foreland of the Tianshan No . 1 glacier , China, *Environmental Research Letters*, 7, p. 9pp. doi: 10.1088/1748-9326/7/1/014038.
- Xiong, W. et al.** (2017) Soil Biology & Biochemistry Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla Fusarium wilt disease, *Soil Biology and Biochemistry*. Elsevier Ltd, 107, pp. 198–207. doi: 10.1016/j.soilbio.2017.01.010.
- Yergeau, E., Kang, S., et al.** (2007) Functional microarray analysis of nitrogen and carbon cycling genes across an Antarctic latitudinal transect, pp. 163–179. doi: 10.1038/ismej.2007.24.
- Yergeau, E., Newsham, K. K., et al.** (2007) Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats, *Environmental Microbiology*, 9(11), pp. 2670–2682. doi: 10.1111/j.1462-2920.2007.01379.x.
- Yergeau, E., Bokhorst, S., et al.** (2007) Size and structure of bacterial , fungal and nematode communities along an Antarctic environmental gradient, 59, pp. 436–451. doi: 10.1111/j.1574-6941.2006.00200.x.
- Yergeau, E. et al.** (2011) Shifts in soil microorganisms in response to warming are consistent across a range of Antarctic environments, *The ISME Journal*. Nature Publishing Group, 6(3), pp. 692–702. doi: 10.1038/ismej.2011.124.
- Zhang, B. et al.** (2016) The diversity and biogeography of the communities of Actinobacteria in the forelands of glaciers at a continental scale The diversity and biogeography of the communities of

Actinobacteria in the forelands of glaciers at a continental scale, *Environmental Research Letters*. IOP Publishing, (1).

Zhang, L. and Xu, Z. (2008) Assessing bacterial diversity in soil, pp. 379–388. doi: 10.1007/s11368-008-0043-z.

Zinger, L. et al. (2011) Contrasting diversity patterns of crenarchaeal, bacterial and fungal soil communities in an alpine landscape, 6(5). doi: 10.1371/journal.pone.0019950.

Benoit Renaud MARTINS, 2019. Diversité des communautés microbiennes de la rhizosphère d'une plante endémique des îles subantarctiques de Kerguelen et implication dans sa réponse au changement climatique.

Equipe Réseaux d'Interactions et de Transfert de Matières dans les Ecosystèmes (RITME) / Evolution Structure Dynamique Diversité (ESDD), UMR 6553 ECOBIO-Observatoire des Sciences de l'Univers de Rennes (OSUR)-Université de Rennes I, Campus de Beaulieu, 263 Avenue du Général Leclerc, 35042 RENNES CEDEX, France.

RESUME

La région Subantarctique est menacée par un réchauffement climatique particulièrement intense et rapide. C'est le cas aux îles Kerguelen, une des Terres Australes et Antarctiques Françaises (TAAF) qui hébergent une plante en coussin *Lyallia kerguelensis* strictement endémique. Cette plante présente des nécroses dans toutes ses populations, un phénomène possiblement en rapport avec le changement climatique. Il convient dans l'urgence d'étudier en profondeur les facteurs environnementaux (biotiques et abiotiques) pouvant influencer la nécrose de cette plante afin de définir des stratégies efficaces et durables pour sa conservation.

Les communautés microbiennes du sol jouent un rôle majeur dans ces écosystèmes (décomposition de la matière organique et production primaire) en raison de l'absence ou quasi-absence des insectes, herbivores et mammifères. Nous avons observé que ces sols hébergent une diversité plus importante de phyla bactériens que de phyla fongiques et que les réponses de ces derniers à leur environnement étaient différentes. Les bactéries étaient plus abondantes dans la rhizosphère que dans le sol contrôle alors que le type d'échantillon n'a pas influencé l'abondance fongique relative.

Le ratio C/N quant à lui influence significativement la richesse bactérienne et fongique tandis que les teneurs en azote et carbone ont montré des corrélations uniquement chez les champignons. Des liens entre proportion de surface nécrosée et richesse des communautés microbiennes de la rhizosphère ont été observés chez *L. kerguelensis* sur une des stations. Ces travaux apportent les premières connaissances sur la composition des communautés microbiennes associées à une plante aux îles Kerguelen, ainsi que leurs corrélations avec des facteurs environnementaux et avec l'importance des nécroses au sein de la plante.

Mots clés : Subantarctique, *Lyallia Kerguelensis*, îles Kerguelen, Communautés microbiennes, ratio C/N

Benoit Renaud MARTINS, 2019. : Diversity of microbial communities in the rhizosphere of an endemic plant to the subantarctic islands of Kerguelen and involvement in its response to climate change

Equipe Réseaux d'Interactions et de Transfert de Matières dans les Ecosystèmes (RITME) / Evolution Structure Dynamique Diversité (ESDD), UMR 6553 ECOBIO-Observatoire des Sciences de l'Univers de Rennes (OSUR)-Université de Rennes I, Campus de Beaulieu, 263 Avenue du Général Leclerc, 35042 RENNES CEDEX, France.

ABSTRACT

The Subantarctic region is threatened by a particularly intense and rapid global warming. This is the case in the Kerguelen Islands, one of the French Southern and Antarctic Lands (TAAF), which hosts a strictly endemic cushion plant *Lyallia kerguelensis*. This plant shows necrosis in all its populations, a phenomenon possibly related to climate change. It is urgent to study in depth the environmental factors (biotic and abiotic) that can influence the necrosis of this plant in order to define effective and sustainable strategies for its conservation.

Soil microbial communities play a major role in the subantarctic island ecosystems (decomposition of organic matter and primary production) due to the absence or near-absence of insects, herbivores and mammals. We observed that these soils harbor a greater diversity of bacterial phyla than fungal phyla and that the responses of these phyla to their environment were different. Bacteria were more abundant in the rhizosphere than in control soil, whereas the type of sample, either rhizosphere or control did not influence relative fungal abundance.

The C:N ratio significantly influences the bacterial and fungal richness while the nitrogen and carbon contents showed correlations only in the fungi. Links between *L. kerguelensis* necrosis and richness of microbial communities were observed at one of the sampling stations. This work provides the first hints into the composition of soil microbial communities associated with a plant in Kerguelen, as well as their correlations with environmental factors and with the extent of necrosis within the plant.

Key words: Subantarctic, *Lyallia Kerguelensis*, Kerguelen Islands, Microbial communities, C:N ratio