



Les traces d'anthropisation ancienne marquent-elles encore la fonge de la forêt guyanaise ?

Nina Gazal

► To cite this version:

Nina Gazal. Les traces d'anthropisation ancienne marquent-elles encore la fonge de la forêt guyanaise ?. Sciences du Vivant [q-bio]. 2018. hal-02787041

HAL Id: hal-02787041

<https://hal.inrae.fr/hal-02787041>

Submitted on 5 Jun 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Les traces d'anthropisation ancienne marquent-elles encore la fonge de la forêt guyanaise ?



Réserve Naturelle
NOURAGUES



Mémoire de fin de stage recherche : Master 2 « Ecologie Végétale et Environnement »
Nina GAZAL

Janvier – Juin 2018

Maîtres de stage : Antoine BRIN & Mélanie ROY

Tuteur académique : Christophe Dunand

Examineurs : Christophe Dunand & Benjamin Pey

Chemin de Borde Rouge BP 52627 - Centre INRA de Toulouse-DYNAFOR-31326 Castanet Tolosan CEDEX
118 route de Narbonne – Université Toulouse III Paul Sabatier – Bâtiment 4R1 – 31062 Toulouse CEDEX 9

Remerciements

Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont accompagnée tout au long de mon stage et qui m'ont suivi de près ou de loin dans sa réalisation.

Tout particulièrement, Mélanie Roy et Antoine Brin sans qui je n'aurais pas pu réaliser ce stage qui me tenait à cœur et intégrer le laboratoire Dynafor, où j'ai pu rencontrer des gens formidables et appréhender de nouvelles thématiques. Merci pour nos réunions et discussions passionnantes, très instructives, qui ont contribué à améliorer mes connaissances en écologie et en statistiques. Surtout, je vous remercie d'avoir pris du temps pour relire mon rapport et y avoir apporté des corrections.

Mélanie, j'ai eu le privilège de partir échantillonner sur le terrain dans un des plus beaux endroits du monde avec des personnes exceptionnelles et ce fut une expérience que je n'oublierai jamais.

Une pensée pour ces personnes exceptionnelles avec qui j'ai beaucoup partagé et ri pendant ces deux semaines de terrain. Emeline Houël, Stefani Bodin, Thibaud Decaëns, Laurent Bremond, Emmanuel Lapied et Christol Docquier. Et aussi Florian Jeanne et Bran Leplat pour leur accueil sur la station des Nouragues et pour m'avoir fait découvrir la forêt de nuit et depuis la canopée.

Thibaud, ça a été un plaisir de découvrir le CEFE et de m'être occupé des « petits » vers de terre en ta compagnie en écoutant la « cumbia sobre el mar ».

Sophie et Uxue je vous remercie chaleureusement de m'avoir accompagnée pendant les manip, pour nos discussions, votre soutien, et surtout pour votre bonne humeur.

Paul, merci pour tout.

Table des matières

Remerciements	3
Présentation des structures d'accueil et des travaux effectués	5
Introduction.....	6
Matériel et méthode	9
Echantillonnage : présentation du site et protocole	9
Phase expérimentale.....	12
Extraction	12
Amplification PCR	13
Séquençage champignons.....	14
Bioinformatique	14
Etapes préliminaires : organisation des données pour analyses statistiques.....	14
Ecologie des OTU et variables environnementales.....	15
Biostatistiques	16
Richesse et diversité en OTU	16
Analyses spatiales : structure de la communauté.....	16
Composition de la communauté d'OTU et espèces indicatrices.....	17
Résultats	18
Contrôle qualité des séquences	18
Assignation à une guildes trophique.....	18
Richesse et diversité en OTU par site et par habitat.....	20
Analyses spatiales.....	22
Composition de la communauté	22
OTUs indicatrices des habitats	24
Discussion	24
Conclusion	27
Bibliographie.....	29
Annexes	33
Résumé.....	36
Abstract	36

Présentation des structures d'accueil et des travaux effectués

Cette étude s'inscrit dans un projet ANR « LongTime » qui vise à évaluer l'influence sur le long terme de l'effet des activités Amérindiennes sur le paysage Amazonien actuel. Elle s'est réalisée grâce à un partenariat avec deux laboratoires Toulousains, le laboratoire d'Evolution Diversité Biologique (EDB, CNRS) et le laboratoire DYNamiques et écologie des Paysages AgriFOrestiers (DYNAFOR, INRA-INPT); mais également avec le Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive de Montpellier (CEFE, CNRS).

Dans le cadre de mon stage, l'intérêt est porté sur les communautés d'organismes du sol et leur organisation en réponse à une anthropisation passée des sols. Ici, l'anthropisation passée des sols fait référence aux activités Amérindiennes de l'époque pré-Colombienne.

Accompagnée de Mélanie Roy, maître de conférences et chercheuse au laboratoire EDB, la réalisation des travaux d'échantillonnage de sol sur le terrain en Guyane française ont été effectués. Ce laboratoire dispose d'équipements permettant de réaliser les analyses moléculaires et bioinformatiques afin d'extraire les ADNs ciblés dans cette étude. L'avantage pour cette étude qui tente à caractériser les communautés de sol de Guyane est que ce laboratoire étudie plus particulièrement les processus évolutifs mais aussi les règles d'assemblages d'espèces au sein des communautés.

La deuxième partie de mon stage s'est déroulée à DYNAFOR, avec Antoine Brin, enseignant-chercheur à l'école d'ingénieurs de PURPAN. Les activités de ce laboratoire se concentrent sur l'écologie des paysages agricoles et forestiers. Certains travaux concernent plus particulièrement la gestion durable des ressources forestières. Bien que les écosystèmes étudiés soient situés dans des contextes européens assez différents du contexte amazonien, les réflexions relatives à la maturité et l'ancienneté des forêts rejoignent certains objectifs du projet LONGTIME. Les analyses statistiques ont été effectuées sur ce site avec l'appui d'Antoine Brin et de Mélanie Roy.

Des analyses pré-séquençage de vers de terre ont également été réalisées sous la supervision de Thibault Decaëns, au laboratoire du CEFE à Montpellier.

Les données relatives aux vers de terre n'ayant malheureusement pas été disponibles en temps voulu, les résultats présentés dans ce rapport concernent uniquement la structure et la composition des communautés de champignons des sols de Guyane face à une

exploitation passée de leur sol. De plus, ce travail s'inscrit dans un projet plus large avec des volets (datation charbon, pédologie et botanique) qui livreront plus tard des résultats qui seront combinés aux données champignons pour approfondir les premières analyses présentées ici.

Introduction

La forêt amazonienne est caractérisée par sa grande richesse végétale et son hétérogénéité : 15 000 espèces d'arbres y sont recensées et 200 peuvent cohabiter sur un seul hectare (Chave *et al*, 2001; Poncy *et al*, 1998). Les forêts amazoniennes matures, par leur biodiversité préservée et l'absence d'occupation humaine contemporaine, sont souvent considérées comme vierge et intouchées. Elles se caractérisent par la présence d'arbres vivants grands ou vieux et d'un volume élevé de débris ligneux grossiers dans différents états de décomposition (Cateau *et al*, 2015). Ces forêts primaires, malgré leur maturité ont très bien pu être utilisées et gérées par l'homme dans le passé. En effet, la définition d'une forêt primaire repose sur l'achèvement d'un cycle naturel, où les arbres peuvent s'installer et mourir sans intervention humaine (Cateau *et al*, 2015). En Amazonie, l'âge d'une forêt primaire varie entre 400 et 700 ans, et l'état actuel des forêts cache souvent un passé bien plus peuplé. En effet, les découvertes récentes de nombreux sites archéologiques témoignent de l'importance des villages, répartis le long des rives de l'Amazone (Rostain, 2017b, 2013; Iriarte *et al*, 2010; McKey *et al*, 2010). La vallée de l'Amazone fut densément peuplée avant l'arrivée des Européens, et on estime que 101 millions de personnes y vivaient au XVe siècle (McMichael *et al*, 2017).

Grâce aux interactions entre archéologues et écologues, des travaux récents ont démontré que les sites autrefois peuplés se caractérisent aujourd'hui encore par une structure forestière différente et par l'introduction d'espèces notamment cultivées comme *Bertholletia excelsa*, *Inga ynga*, *Theobroma cacao*... (Levis *et al*, 2017; Decaëns *et al*, 2016; Iriarte *et al*, 2010). En effet, près de 85 espèces de plantes ont été domestiquées en Amazonie (Levis *et al*, 2017). Plus globalement les peuplements passés ont pu modifier le paysage Amazonien et ses formations végétales en terme d'abondance et de répartition d'espèces d'arbres (Heckenberger *et al*, 2003, 2008; McKey *et al*, 2010). Il semble ainsi que les sites les plus riches en espèces d'arbres aient été occupés par le passé (Levis *et al*, 2017). L'impact des peuplements passés sur la flore fait l'objet de nombreuses recherches, et

souligne les conséquences majeures non seulement de la présence des hommes, mais également de leur mode d'agriculture et de leur travail du sol.

Les sols tropicaux sont tous relativement pauvres en nutriments et riches en argiles compactes et peu drainantes (les *terra firme*) (Rostain, 2017). En Amazonie, les sols sont aussi engorgés la moitié de l'année les conséquences sur les sols sont la faible fertilité de ces derniers et le climat tropical favorise le développement de nombreuses maladies. Les archéologues ont révélé différentes façons de travailler le sol et de contourner ces contraintes (Topoliantz *et al*, 2006). L'exemple de la *terra preta* (« Anthropogenic Dark Earth ») est le mieux documenté. Il s'agit d'une terre noire, enrichie en matière organique, charbons et tessons par des siècles de présence humaine. Les sols de *terra preta* favorisent la croissance des plantes grâce à leur fort taux de nutriments, leur faible acidité et une forte concentration de carbone (Balee, 2010; Junqueira *et al*, 2010). Par ailleurs, la forte concentration en charbons semble avoir favorisé des communautés de vers de terre spécifiques, comme les *Pontoscolex* (Ponge *et al*, 2006). En Guyane, la *terra preta* est absente, mais on retrouve un bon exemple de domestication du paysage : les vestiges de champs surélevés dans les savanes (Rostain, 2008). Cette pratique a été abandonnée mais les champs persistent sous forme de buttes. En effet, la surélévation semble avoir sélectionné une faune d'ingénieurs du sol, comme des fourmis et vers de terre, qui ont auto-entretenu les monticules et contribué au maintien de ce paysage (Renard *et al*, 2012). D'autres paysages ont pu ainsi être modelés par l'homme, et la découverte de nouveaux sites par les archéologues invite à s'intéresser aux conséquences pour la faune et la flore, et le maintien de ces modifications sur le long terme.

L'usage du LIDAR en pleine forêt amazonienne a récemment révélé des « montagnes couronnées ». Ces structures typiques de Guyane sont positionnées en hauteur, et sont délimitées par des fossés. Leur rôle est encore hypothétique, et elles sont souvent entourées de forêts de lianes, et de cambrouses (Brancier *et al*, 2014). Les botanistes ont démontré que ces sites étaient enrichis en espèces utiles pour les hommes, notamment de palmiers et d'espèces héliophiles. L'objectif du projet LONGTIME est de décrire les modifications du sol, mais aussi d'appréhender la réponse d'autres organismes à ce changement de paysage. Les champignons sont sensibles aux modifications édaphiques, notamment à l'enrichissement

en azote ou en phosphate, ou même à des changements de texture du sol (Tedersoo *et al*, 2014, 2012).

Sur le site des Nouragues, les archéologues et pédologues ont révélé des sols enrichis de charbons et tessons à proximité de fossés et dans les forêts de lianes et les cambrouses. Tous ces habitats se trouvent relativement proches spatialement, et jouxtent des forêts matures où les traces sont absentes. L'objectif du stage est de caractériser les communautés de champignons présentes dans le sol des sites de forêt anciennement anthropisées ou non, et selon les différents habitats.

La première hypothèse de cette étude porte sur la structure et la composition des communautés en lien avec l'histoire des sites échantillonnés. Des différences dans la composition et la structure des communautés sont attendues entre sites anciennement anthropisés et sites témoins de forêt mature. Ces différences devraient être plus grandes qu'attendues au hasard et moins expliquées par la distance que par la typologie des sites. Chez les bactéries des sols, un processus d'homogénéisation des communautés accompagnée d'une perte de diversité est observé dans les sols amazoniens anciennement anthropisés (Rodrigues *et al*, 2013). Sur la base de la littérature, Le même constat est observé pour les communautés fongiques des sols de *terra preta* qui sont plus semblables que celles des sols voisins non anthropisés (Lucheta & Cannavan, 2016). On s'attend donc à une diversité beta entre les sites anthropisés inférieure à la diversité beta entre les sites non anthropisés. Par ailleurs, si les sites anthropisés hébergent une fonge à la variabilité réduite, il est probable que cette fonge représente aussi un sous-ensemble des espèces présentes en forêt mature. La richesse spécifique des sites anciennement anthropisés serait alors réduite, et on ne s'attend pas à trouver des espèces spécialistes ou indicatrices sur de tels sites.

La deuxième hypothèse porte sur les modes trophiques des champignons : si les sols à proximité des fossés sont plus drainants et que l'habitat est plus héliophile, il est probable qu'ils aient favorisé des champignons ectomycorhiziens, qui établissent des symbioses avec les racines des arbres. Ces champignons sont en effet retrouvés plus fréquemment sur des sols sableux ou dans des forêts basses (Roy *et al*, 2016). Les champignons ectomycorhiziens restent rares en Amazonie (Corrales *et al*, 2018), et leur détection visuelle est souvent limitante. Par une approche de metabarcoding, couplée à l'usage de bases de références (Ritter *et al*, 2018) notamment sur l'écologie des champignons (Funguild, (Nguyen *et al*,

2016)), il sera possible d'identifier les séquences appartenant à de tels champignons dans les sols tropicaux et de tester si les sols anciennement anthropisés se caractérisent par une plus grande proportion de champignons ectomycorhiziens.

Matériel et méthode

Echantillonnage : présentation du site et protocole

L'échantillonnage s'est déroulé en février 2018 au cœur de la forêt tropicale amazonienne, dans la Réserve Naturelle des Nouragues en Guyane française. La réserve est étudiée pour la diversité de ses habitats et représente une forêt non exploitée depuis au moins 100 ans. Son nom est dédié à une communauté amérindienne, et des traces d'occupation ont pu être relevées de -7000 ans à 300 ans (Dallmeier & Comiskey, 1998). Les sites d'échantillonnage sont répartis autour de la rivière Arataï et au pied de l'Inselberg des Nouragues. Ils ont été déterminés à partir de la détection de fossés à partir d'images LIDAR et d'observations d'archéologues, écologues et de pédologues sur le terrain. Quatre habitats ont été ainsi identifiés à proximité des fossés, 1) des forêts « témoins » caractérisées par des arbres matures, des chablis naturels, 2) des cambrouses où les marques d'anthropisation sont abondantes (dominées par des poaceae/bambusoideae), 3) des forêts de lianes et 4) des forêts entourées de fossés (montagne couronnée/éperon barré) (Figure 1, 2,3).

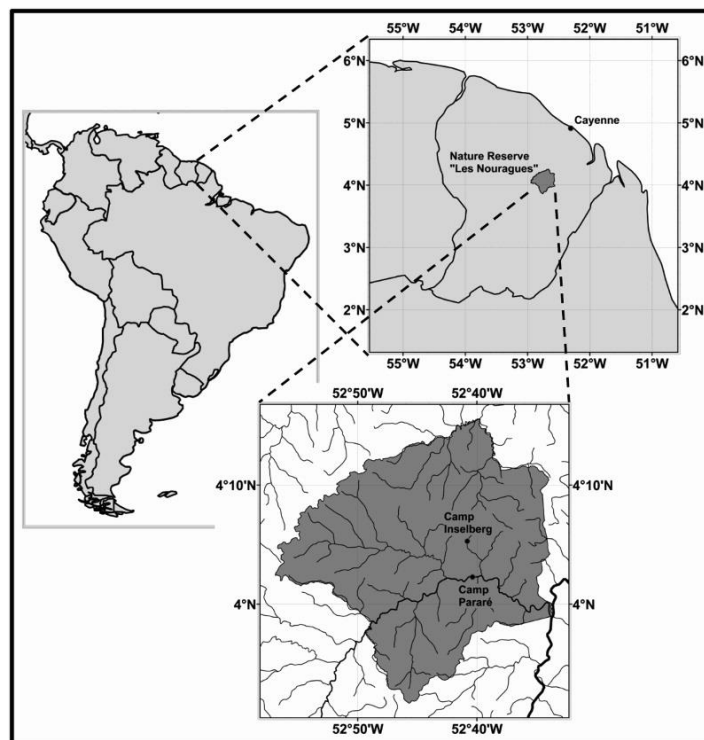


Figure 1. Localisation des camps Inselberg et Pararé de la réserve naturelle des Nouragues. (D'après Ringler et al., 2016).

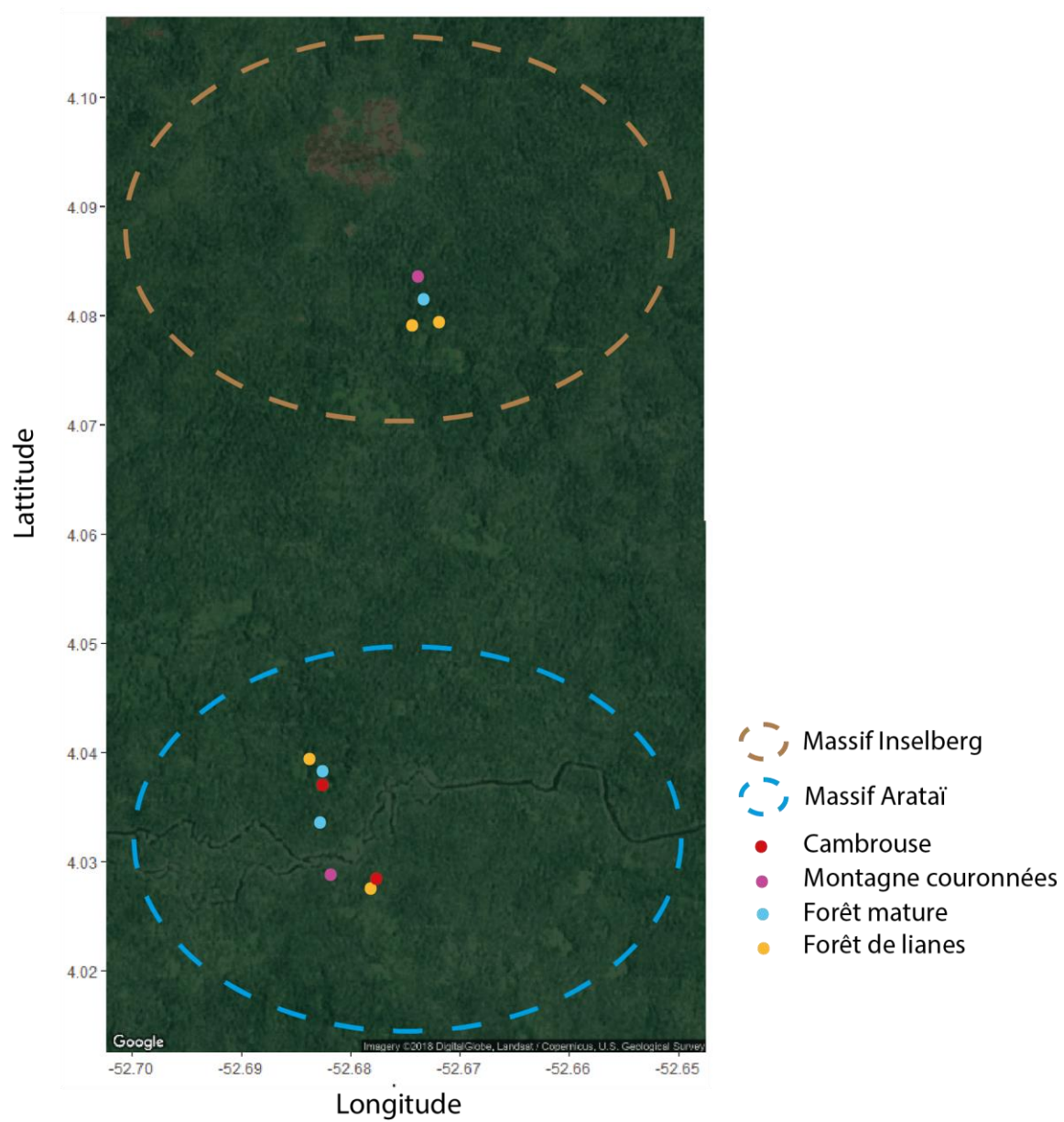


Figure 2. Localisation des sites et habitats échantillonnés au niveau des massifs Inselberg et Arataï. (La figure a été acquise grâce au package R ggmap sur fond Googleearth).



Figure 3. Représentation photographiques des différents habitats échantillonnés, en rouge un exemple de cambrouse, en rose de montagne couronnée, en bleu de Forêt mature et en orange de forêt de lianes.

Sur chaque site, une parcelle de 1 hectare a été délimitée de façon à représenter un plateau homogène où 16 points de carottage seront répartis de façon régulière, tous les 20 mètres (quadrat de 60*60 m, Figure 4). Pour chaque point de carottage, l'échantillon est constitué de cinq prélèvements de sol, un au point central et quatre à 3,5 mètres aux quatre coins cardinaux de ce point (Figure 4). Seuls les premiers centimètres de la couche de sol ont été récoltés après avoir retiré la litière et les racines (5 à 10 centimètres). Ensuite, les cinq prélèvements ont été placés dans un sac plastique afin de ne former qu'un seul échantillon homogénéisé. Au total, 880 carottes de sol ont été prélevées et rassemblées en 176 échantillons. Le jour du prélèvement, de retour au camp, 15 g de chaque échantillon sont pesés, ensachés dans des sachets de thé propres et déposés sur un lit de 45 g de silicagel, le

tout enfermé dans un sac ziploc. Le silicagel a été renouvelé le lendemain et parfois une troisième fois, de façon à sécher rapidement les échantillons.

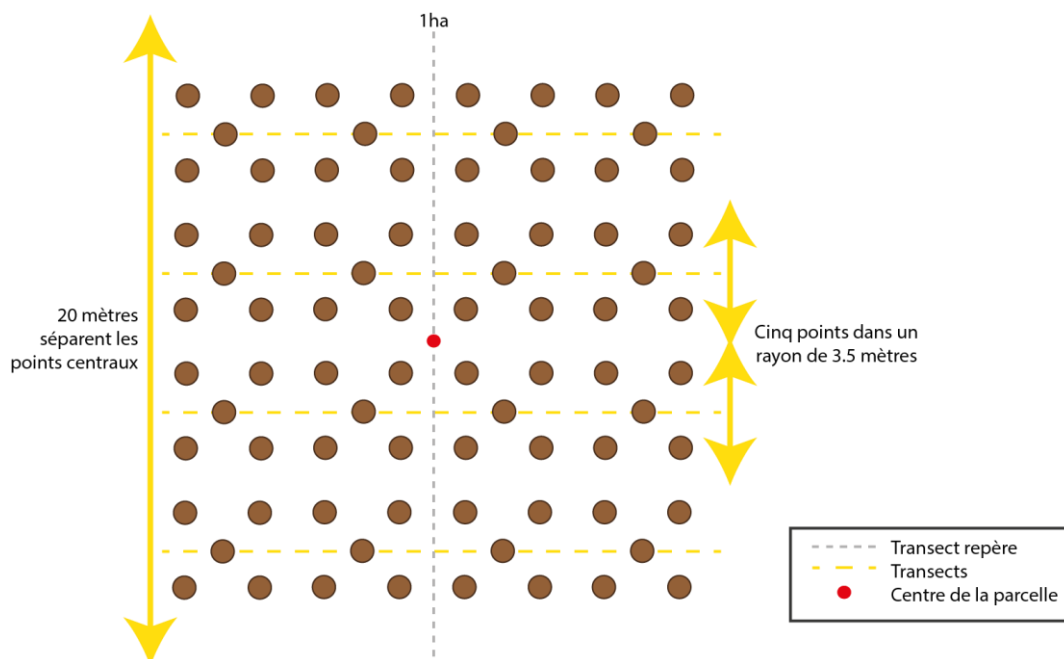


Figure 4. Schéma du protocole d'échantillonnage appliqué sur chacun des onze sites ; au total, sur une parcelle d'un hectare, 80 carottes de sol sont prélevées.

Phase expérimentale

Extraction

Au laboratoire Evolution diversité biologique (EDB), les 176 échantillons de sol ont été mis en suspension et sous agitation durant 15 minutes dans 15 ml de tampon phosphate (1.97 g de NaH_2PO_4 + 14.97 g Na_2HPO_4 , qsp 1L d'eau minérale cristalline). Un témoin composé uniquement de tampon phosphate a été réalisé. Les étapes d'extractions de l'ADN contenu dans les échantillons de sol ont été réalisées à partir du kit « NucleoSpin[®] Soil Kit » de Macherey-Nagel afin de purifier l'ADN. 2 ml du mélange sol/tampon phosphate ont été centrifugés 5 minutes à 14 000 rpm (round per minute). Afin de lier l'ADN, 700 μl du surnageant obtenu ont été ajoutés à 250 μl de tampon SB dans de nouveaux tubes eppendorfs. Le mélange a ensuite été vortexé 5 secondes. Ces 950 μl ont ensuite été placés dans des tubes «NucleoSpin Collectors Soil tube», avec tube collecteur sous une colonne qui permet de capturer l'ADN après 1 minute de centrifugation à 10200 rpm. Enfin, en utilisant les mêmes colonnes, trois étapes successives de lavage de l'ADN ont été effectuées. Pour cela, 400 μl de tampon SB (centrifugés 1 min à 10 200 rpm), puis 550 μl de tampon SW1 et 700 μl de tampon SW2 (centrifugés 30 secondes à 10 200 rpm) ont été ajoutés successivement. Une dernière étape de centrifugation pendant 2 minutes à 10 200 rpm a

permis de sécher la colonne. Les tubes collecteurs sous la colonne ont été retirés et remplacés par des tubes eppendorfs qui vont récupérer l'ADN emprisonné dans la colonne. Après avoir ajouté 100 µl de solution d'élution SE et laissé incuber à température ambiante 1 minute, l'ADN a été élué par centrifugation 1 min à 10 200 rpm. L'ADN présent dans les tubes eppendorfs est conservé à 4°C.

Amplification PCR

En conditions stériles, les échantillons d'ADN ont ensuite été dilués au 1/50^{ème} (98 µl d'eau UHQ + 2 µl d'ADN) sur plaque.

Une approche en métabarcoding a été menée afin d'analyser les communautés de champignons présentes dans les échantillons de sol. Afin de différencier ces échantillons, chaque amplification a été réalisée avec un couple unique d'amorces marquées par une combinaison unique de 6 nucléotides (« tag »).

La préparation des plaques PCR a été réalisée en conditions stériles et six blancs PCR par puit ont été laissés vacants. Pour les autres puits, 2 µl d'ADN dilué ont été amplifiés avec 2 µl de couples d'amorces. Ensuite le mix a été constitué de : 5,84 µl d'eau UHQ + 10 µl de tampon MasterMix (DNTP, Taq polymérase) + 0,16 µl de BSA (Bovine Serum Albumin) pour un puit. Après avoir centrifugé les plaques, l'amplification PCR, réalisée dans un thermocycleur, a pu avoir lieu. Le programme PCR comportait cinq étapes : une dénaturation initiale et activation de la polymérase pendant 10 minutes à 95°C, puis 35 cycles avec une dénaturation des fragments formés 30 secondes à 95°C, hybridation des amorces 30 secondes à 55°C, une première phase d'élongation de 1 minute à 72°C et une élongation finale à 72°C durant 7 minutes. Pour chaque plaque d'échantillon, un réplica a été effectué avec une plaque d'amorce différente.

Pour vérifier la qualité et évaluer la quantité des produits PCR, un gel de 70 ml d'agarose à 1% de tampon TAE 0,5x a été préparé. Le mélange est chauffé au four à micro-ondes 1 minute et 30 secondes. Après refroidissement, 14 µl de Sight DNA (intercalant) y ont été ajoutés, le gel a enfin pu être coulé, et les peignes positionnés. Pour vérifier l'amplification, 5 µl de huit échantillons par plaque PCR ont été déposés par puit ainsi que 3 µl de marqueur de taille (allant de 100 à 1 000 pb). Avant cela, afin d'alourdir l'ADN, les 5 µl ont été mélangés à un colorant vert contenant du glycérol et la migration se fait pendant 30 min à 100 V. Le gel a ensuite pu être visualisé sur table U.V grâce au logiciel Vision Capt et

l'intensité du signal a permis d'évaluer la quantité de produit PCR, par rapport au marqueur de taille.

Séquençage champignons

Avant d'être séquencés, 4 µl de chaque produit PCR ont été mélangés dans un tube de 5 ml. Le dosage du mélange s'effectue à l'aide d'un fluorimètre (Qubit 2-O Fluorometer) et ce dernier a été dosé à 25ng/µl. Les échantillons ont ensuite été séquencés sur séquenceur Miseq (Illumina) sur la plateforme GET du Genotoul.

Bioinformatique

Le métabarcoding en NGS se traduit par des millions de lectures. Les séquences ont été analysées en utilisant à la fois le package OBITools (développé par LECA, Grenoble) et des commandes Unix de base sur le cluster du GenoToul. Après vérification du nombre identique de séquences entre Read1 et Read2 (R1, R2), la qualité des séquences a été quantifiée, les séquences R1 et R2 ont été assemblées, les séquences identiques ont été rassemblées et les séquences ont pu être attribuées aux échantillons. Ensuite, les séquences de faible qualité (< 50 pb) ont été supprimées ainsi que les séquences observées une seule fois. Sur la base de la similarité génétique des séquences, des clusters de séquences similaires à 97% ont été formés (en utilisant Sumatra, seuil généralement utilisé pour les champignons (Nilsson *et al*, 2008). Les séquences ont été assignées à de possible taxons via des « blasts » sur la base de Genbank (« Genetic Sequence Data Bank ») et via la similarité à des séquences de rang taxonomique connu (fonction Ecotag des OBITOOLS). La fonction Ecotag permet d'assigner la séquence au rang taxonomique le plus parcimonieux (par exemple la famille, si plusieurs séquences de genres différents sont proches de la séquence de façon équivalente).

Etapes préliminaires : organisation des données pour analyses statistiques

Le jeu de données obtenu à la suite de l'étape bioinformatique et de l'étape d'agrégation entre clusters similaires, consiste en une matrice d'abondance pour laquelle les 385 colonnes correspondent aux échantillons, répliques et contrôles (blancs PCR et témoins) et les 11 781 lignes aux différentes OTU fongiques (Unité Taxonomique Opérationnelle, ici notre regroupement des séquences similaires à 3%). La fréquence des séquences présentes dans les blancs PCR a été mesurée à partir de cette matrice (ratio du nombre total de séquence dans les blancs par rapport aux échantillons). La représentation de la distribution de ce ratio sous forme d'histogramme a permis de fixer le seuil de tolérance des contaminants. Ainsi les

OTUs dont le ratio dans les blancs est supérieur à 5% seront supprimés, car ils sont considérés comme plus abondants dans les témoins et possiblement contaminants. Les séquences restantes ont été rassemblées enfin par site, de façon à obtenir une matrice de représentation de chaque OTU par site.

Ecologie des OTU et variables environnementales

Après ces étapes, une matrice de communauté de 8 942 OTUs et 11 sites est obtenue. C'est à partir de cette matrice que l'écologie des OTUs identifiées pourra être précisée et à la base de données FUNGuild (Version 1.0, organisé par GitHub : <https://Github.com/UMNFun/FUNGuild>) (Nguyen *et al*, 2016). L'accès à la base de données se fait via le package « request » du logiciel Python (Version 3.6.5, 32 bit, 2001-2018 Python Software Foundation). C'est à partir du terminal de l'ordinateur que les commandes du script sont chargées, dans le script, la base taxonomique des champignons est ciblée. Ces dernières nécessitent l'utilisation de la matrice communautaire plus une colonne nommée « taxonomy » qui se réfère à la colonne d'identification finale de BLAST (tableau obtenu après traitement bioinformatique). Les fichiers de sortie sont composés d'une matrice d'OTU avec seulement les assignations fonctionnelles qui ont pu être identifiées, d'une autre matrice avec seulement les OTUs qui n'ont pas pu être assignées et d'une matrice qui inclut à la fois les OTUs assignées et les OTUs non assignées.

Cette étude, s'intéresse plus particulièrement aux champignons ECM, c'est pourquoi, une analyse plus approfondie de l'appartenance à la guildes des ECM a été effectuée pour les OTUs non assignées. Cette étape a été réalisée à partir de la publication de Tedersoo *et al*, (2010) et de la base de donnée PLUTO (Unite) avec la séquence des OTUs dont l'assignation à la guildes ECM n'est pas évidente. Une fois la guildes renseignée, pour chaque site, le pourcentage d'OTUs ECM par sites est calculé (ratio entre le nombre de reads par sites et le nombre total de reads par sites).

Une nouvelle matrice présentant les 8 942 OTUs et l'assignation à une guildes pour les OTUs identifiables est obtenue. Vont s'ajouter à cette matrice, les variables environnementales relatives aux sites d'échantillonnage comme l'habitat, l'appartenance au massif de l'Arataï ou de l'Inselberg, l'histoire du site (sites témoins de forêt mature (non anthropisés) ou sites anthropisés), et les coordonnées GPS en degré décimaux. Mais aussi le pourcentage d'OTU ECM.

Biostatistiques

Richesse et diversité en OTU

Pour la suite des analyses biostatistiques, le logiciel RStudio (Version 1.1.442 – © 2009-2018 RStudio, Inc) a été utilisé.

Les fonctions `vennCounts` et `vennDiagram` (packages `limma` version 3.30.13) ont été utilisées pour définir le nombre d'OTUs partagées entre habitat et massif. Ces analyses ont été réalisées à partir de deux matrices binaires avec en colonnes les habitats, l'histoire et les massifs, et en lignes les OTUs fongiques. Afin d'évaluer le niveau d'exhaustivité de l'échantillonnage, le package `iNEXT` implémenté dans R a été utilisé (version 2.0.12, (Hsieh *et al*, 2016; Chao *et al*, 2014)). Cette méthode de standardisation repose sur la raréfaction et l'extrapolation de la méthode des nombres de Hills : la richesse spécifique ainsi que les diversités de Shannon et de Simpson (Hill, 1973). La raréfaction et l'extrapolation ont été effectuées pour la taille de l'échantillon (nombre d'individus dans l'échantillon) et la richesse spécifique. Au total, 50 itérations seulement ont été utilisées pour les estimations de diversité et les intervalles de confiance ont été définis à 95%. Ces analyses sont réalisées à partir de la matrice d'abondance et les figures qui en résultent sont tracées à partir du package `ggplot2`.

Concernant les analyses de richesse et diversité spécifique, les indices de Shannon, Simpson et de richesse spécifique ont été calculés à partir de la matrice d'abondance et du package `vegan`. La condition de normalité n'étant pas respectée pour toutes les valeurs des indices, un test de Kruskal Wallis a été effectué pour tester les différences entre les variables sites et habitats, selon les valeurs des indices de diversité (H_0 : les médianes sont similaires pour tous les sites). La différence de proportion de séquences ECM en fonction des types de sites et de l'habitat a été testée par des test de Kruskal Wallis.

Analyses spatiales : structure de la communauté

L'hypothèse de la dissimilarité entre les communautés expliquée par la proximité géographique des sites a été testée avec un test de Mantel entre les valeurs de dissimilarité issues de la matrice d'abondances (indice de Bray-Curtis) et les distances géographiques (euclidiennes) entre les sites. La fonction `vegdist` (package `vegan` version 2.5-1) et la fonction `rdist.earth` (package `fields` version 9.6) ont été utilisées pour calculer respectivement les matrices de distances de Bray-Curtis et les matrices de distances géographiques basées sur

les coordonnées GPS. Un test d'analyse multivariée d'autocorrélation spatiale a ensuite été réalisé à partir de la fonction `multispati.rtest` (package `ade4` version 1.7-11). Pour sa réalisation, 999 itérations sont engendrées afin de tester l'hypothèse selon laquelle les processus aléatoires n'interviennent pas dans la similarité des communautés voisines.. Ce test nécessite au préalable la réalisation d'une analyse en composante principale (ACP), à deux dimensions, sur la matrice d'abondance. Mais aussi la construction d'une matrice de « poids spatiaux » avec la fonction `knearneigh`, en considérant un seul plus proche voisin et la fonction `nb2listw` (package `spdep` version 0.7-7).

Composition de la communauté d'OTU et espèces indicatrices

Un test d'analyse multivariée permutational de la variance (PERMANOVA) a été réalisé afin d'évaluer la similarité dans la structure des communautés fongiques à partir de la commande `adonis` (package `vegan`). L'histoire et le pourcentage d'OTU ECM, ont été utilisés comme prédicteurs et la matrice de dissimilarité comme variables de réponse en utilisant l'indice de Bray-Curtis. La variable massif a été utilisée comme contrainte afin de donner plus de poids à l'histoire. Un test d'homogénéité multivariée de dispersion de groupes a été réalisé à partir de la fonction `betadisper` (package `vegan`). Ce test a été utilisé afin d'évaluer le niveau de variabilité entre des sites anthropisés ou non anthropisés (variable histoire) et sa significativité est testée par une anova.

Ensuite, un modèle d'analyse de variance multivariée a été construit à partir de l'analyse de redondance basée sur la distance de Bray Curtis en utilisant la fonction `capscale` (package `vegan`). Capscale permet de déterminer les variables environnementales les plus influentes sur la composition de la communauté fongique entre l'histoire, le massif et le pourcentage en OTUs ECM. La significativité du modèle est testé par une Anova.

Pour déceler des effets de l'habitat et/ou de l'histoire sur seulement quelques espèces et non à l'échelle de la communauté, l'association entre les patrons d'espèces et les combinaisons de groupes de site a été étudié. Pour cela, les espèces indicatrices en fonction de l'histoire et de l'habitat des sites, ont été identifiées. Les sites ont été tout d'abord classés en fonction du groupe histoire auquel ils appartiennent (Figure 5). Ensuite, la fonction `multipatt` (package `indicspecies` version 1.7.6) a été appliquée sur la matrice d'abondance d'OTUs fongiques en fonction des différents groupes. Cette fonction utilise l'indice `Indval` décrit par Dufrene *et al* (1997) comme test statistique. Ici, 999 permutations

sont réalisées et permettent d'évaluer la significativité du test (Cáceres & Legendre, 2009). Un diagramme de Venn permet de présenter les résultats de cette analyse.

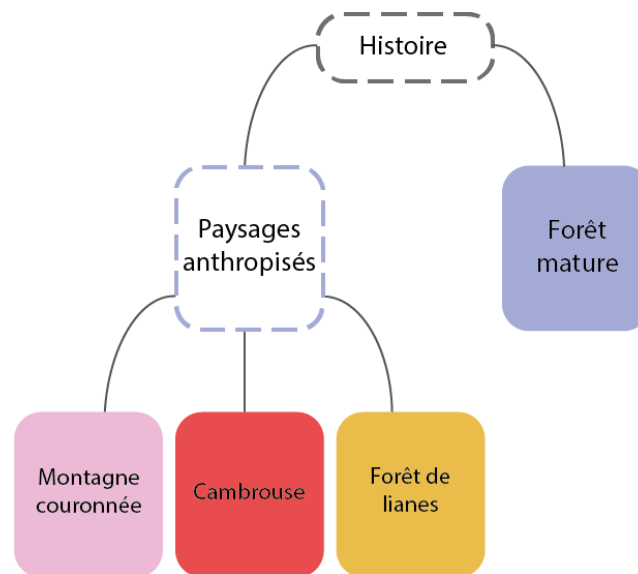


Figure 5. Représentation schématique des groupes d'histoire définis.

Résultats

Contrôle qualité des séquences

Après la première étape de filtrage par bioinformatique ; 73 072 clusters ont été obtenus. L'étape d'agrégation des clusters a conduit à l'obtention de 11 781 OTUs et 1 363 510 reads parmi tous les points de carottage, blancs et témoins.

Le seuil d'élimination des possibles contaminants a pu être fixé à 5% grâce à l'histogramme représentant le ratio du nombre total de séquences dans les blancs par rapport aux échantillons (Annexe 1). Cette étape a permis d'identifier 2 841 OTUs comme possibles contaminants ce qui a réduit la matrice d'abondance à 8 942 OTUs fongiques (lignes) répartis sur les 11 sites et 714 260 séquences au total.

Assignation à une guildes trophique

Au total, 16% des reads ont été assignés à une guildes grâce à la base de données FUNGUILD et au tri manuel (Figure 6). Comme cette étude se focalise sur les OTUs fongiques ECM plus particulièrement, la recherche approfondie d'OTUs ECM a permis d'en identifier 400 en plus des 17 identifiées via FUNGUILD. Parmi ces OTUs, le genre *Sphaerospora* apparaît 258 fois et constitue donc plus de la moitié de ces identifications supplémentaires. D'après la publication de (Tedersoo *et al*, 2010), et vérification *a posteriori* sur FUNGUILD, la probabilité que ce genre soit ectomycorhizien est très forte (Confidence Ranking : Highly probable). La guildes des ECM est dominante par rapport aux autres guildes avec un total de 80 039 reads tous sites confondus (Figure 6 A). Les champignons ECM sont plus abondants dans le site P05 (environ 30%) et dans le site P02 (environ 18%), qui appartiennent tous deux au massif Aratai et dont les habitats sont respectivement une cambrouse et une forêt de liane.

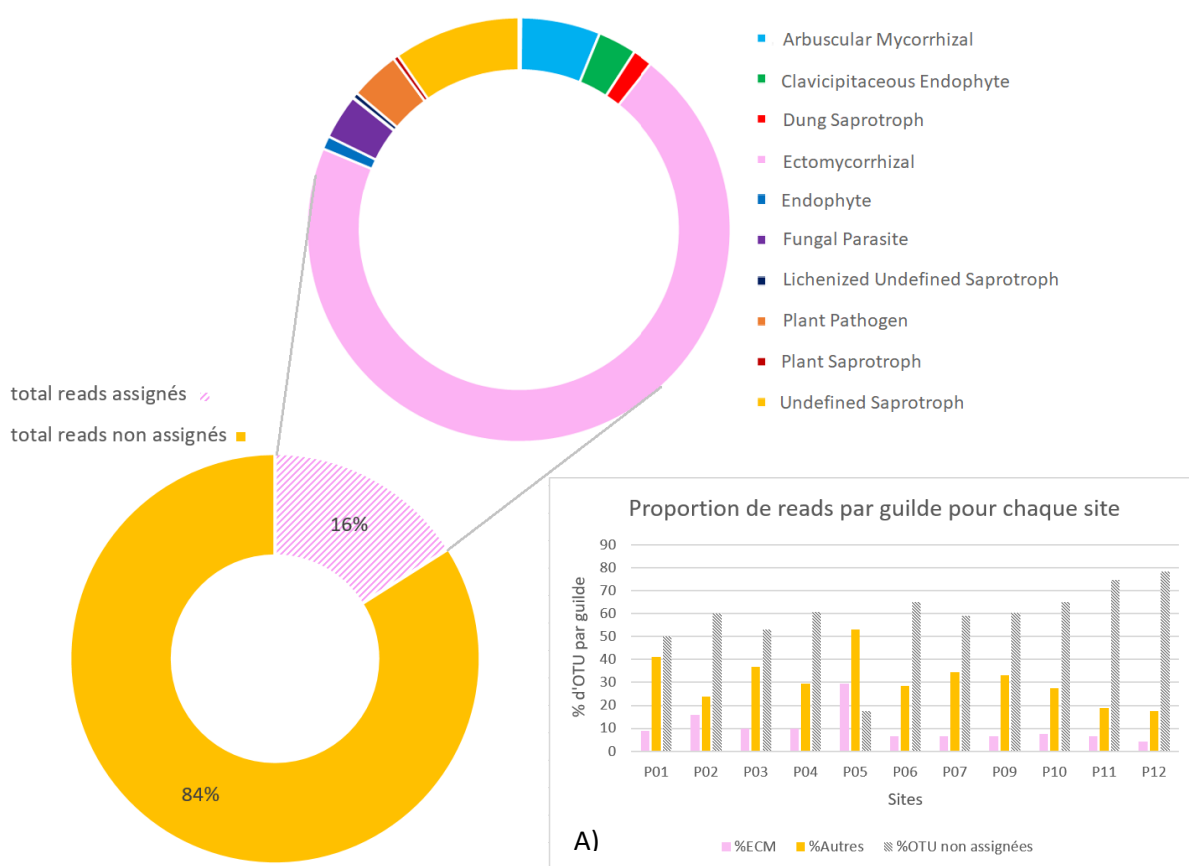


Figure 6. Pourcentage d'assignation des reads à une guildes trophique, et proportion de reads assignés aux différentes guildes. A) Proportion de reads par guildes par sites. Seule la guildes ECM est présentée dans ce diagramme, les autres guildes étant regroupées dans la catégorie « autres ».

Les tests de Kruskal Wallis réalisés sur le pourcentage en champignons ECM sur les différents sites et les différents habitats ne sont pas significatifs (Kruskal-Wallis chi-squared = 10, df = 10, p-value = 0.4405 ; Kruskal-Wallis chi-squared = 2.4394, df = 3, p-value = 0.4863, respectivement). On ne distingue pas de tendances entre les différents sites ou habitats mais le site P05 se distingue par son fort pourcentage en champignon ECM (Figure 6A).

Richesse et diversité en OTU par site et par habitat

Au total, 2 506 OTUs sont partagées entre les massifs Inselberg et Arataï, le nombre d'OTU est plus important sur le massif Arataï car plus de sites ont été échantillonnés sur ce dernier. Si on regarde la répartition des OTUs entre les différents habitats considérés dans cette étude, les forêts de lianes, forêts matures et cambrouses hébergent plus d'OTUs que les montagnes couronnées. Mais trois sites de forêt mature et de forêt de lianes ont été échantillonnés et seulement deux sites de cambrouses et de montagnes couronnées. Ce qu'il faut regarder, ce sont les OTUs partagées entre ces habitats : 708 sont partagées par tous (Figure 7).

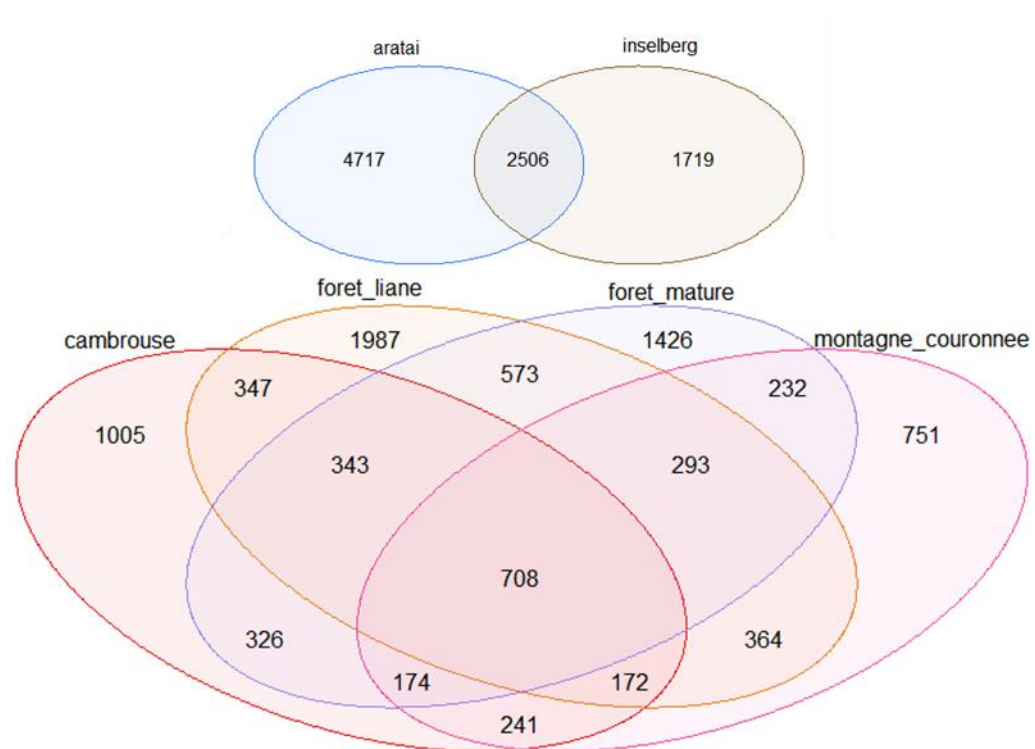


Figure 7. Diagrammes de venn, représentant la répartition des 8942 OTUs entre les différents massifs et entre les différents habitats.

A l'échelle du site et de l'habitat, lorsque le nombre d'individus augmente, la richesse spécifique se stabilise. Ce phénomène est moins évident pour les sites P02 et P06 mais les valeurs d'extrapolation permettent de considérer le niveau d'exhaustivité comme comparable (Annexe 2). Si on s'intéresse aux valeurs de diversité obtenues par vegan, l'indice de Simpson est fort (très proche de 1 : formule $=1-D$) pour tous les sites, on n'observe donc une forte diversité. L'indice de Shannon est également très fort ($H>5$) (Tableau 1) les espèces ont donc des abondances identiques dans le peuplement. De plus, les tests de Kruskal Wallis opérés sur les différents indices de richesse et diversité spécifique entre les sites et l'habitat ne sont pas significatifs. Aucune différence de valeur de richesse ou diversité spécifique sont observés, quel que soit la variable considérée (Tableau 2).

Sites	Habitats	Richesse spécifique	Shannon	Simpson
P01	Cambrouse	1912	5.8626	0.9901
P02	foret_liane	1770	5.5774	0.9849
P03	montagne_couronnee	2315	5.7225	0.9872
P04	foret_mature	1792	5.6396	0.9892
P05	Cambrouse	1883	5.0252	0.9684
P06	foret_mature	1699	5.8270	0.9907
P07	foret_liane	1593	5.5368	0.9836
P09	foret_liane	1936	5.4722	0.9830
P10	foret_mature	1810	5.5140	0.9838
P11	foret_liane	1424	5.2644	0.9823
P12	montagne_couronnee	993	4.9422	0.9667

Tableau 1. Valeurs des différents indices de diversité et richesse spécifique calculés dans cette étude pour les différents sites et habitats.

Indice	Site	Habitat
Shannon	Kruskal-Wallis chi-squared = 10 df = 10, p-value = 0.4405	Kruskal-Wallis chi-squared = 1.3485 df = 3, p-value = 0.7177
Simpson	Kruskal-Wallis chi-squared = 10 df = 10, p-value = 0.4405	Kruskal-Wallis chi-squared = 2.9167 df = 3, p-value = 0.4047
Richesse spécifique	Kruskal-Wallis chi-squared = 10 df = 10, p-value = 0.4405	Kruskal-Wallis chi-squared = 1.5303 df = 3, p-value = 0.6753

Tableau 2. Présentation des résultats obtenus après les tests de Kruskal Wallis pour les différents indices en fonction du site ou de l'habitat.

Analyses spatiales

Les communautés de chaque site, comparées deux à deux, semblent être fortement dissimilaires entre elles. Cette dissimilarité n'est pas expliquée par la distance entre les sites (Mantel statistic r : -0.009091, Significance: 0.455). De plus, les communautés voisines ne sont pas plus semblables entre elles que sous l'effet du hasard (multispati.rtest : simulated p-value: 0.261).

Composition de la communauté

L'analyse de dissimilarité des communautés fongiques contrainte par le massif révèle une variation significative en fonction du pourcentage en OTUs ECM (adonis R^2 : 0.11524, $\text{Pr}(> F) = 0.043$). C'est la seule variable qui semble avoir un effet sur la composition des communautés car même contraint par le massif, le modèle composé par les variables histoire et pourcentage en OTUs ECM n'est pas significatif pour l'histoire (adonis R^2 : 0.09506, $\text{Pr}(> F) = 0.518$). Il y a peu de variations entre les valeurs obtenues par ces analyses et celles obtenues en utilisant l'indice de Jaccard (Tableau 3). Les différences relèvent avant tout de la présence/absence des espèces et non de leurs abondances relatives. Si on considère les deux groupes d'histoire (anthropisés et non anthropisés), aucunes différences d'homogénéité entre les groupes n'est observée (anova (betadisper) : $\text{Pr}(> F) = 0.2415$).

Indice	Analyses : Adonis	P-value
Bray Curtis	<i>Histoire</i>	$R^2 : 0.09506$; $\text{Pr}(> F) : 0.502$
	<i>Pourcentage en OTUs ECM</i>	$R^2 : 0.12128$; $\text{Pr}(> F) : 0.044$
Jaccard	<i>Histoire</i>	$R^2 : 0.09781$; $\text{Pr}(> F) : 0.484$
	<i>Pourcentage en OTUs ECM</i>	$R^2 : 0.11158$; $\text{Pr}(> F) : 0.045$

Tableau 3. Tableau comparatif des résultats obtenus entre les deux méthodes : Bray Curtis et Jaccard. L'une prend en considération l'abondance des OTUs et l'autre l'occurrence.

Cependant, afin de déterminer la combinaison de variables les plus influentes sur la composition de la communauté, la fonction capscale a permis de définir le meilleur modèle composé du massif et du pourcentage en OTUs ECM dont la proportion de la contrainte pour expliquer les variations s'élève à 23% (anova (capscale) : $\text{Pr}(> F) = 0.028$). La combinaison histoire, massif et pourcentage en ECM n'est pas considérée comme significative dans cette étude même si la pvalue se rapproche du risque de première espèce (anova (capscale) : $\text{Pr}(> F) = 0.074$). Sur la représentation graphique du meilleur modèle, l'axe 1 est très bien représenté par le pourcentage en OTUs ECM et l'axe 2 par le massif (Figure 8).

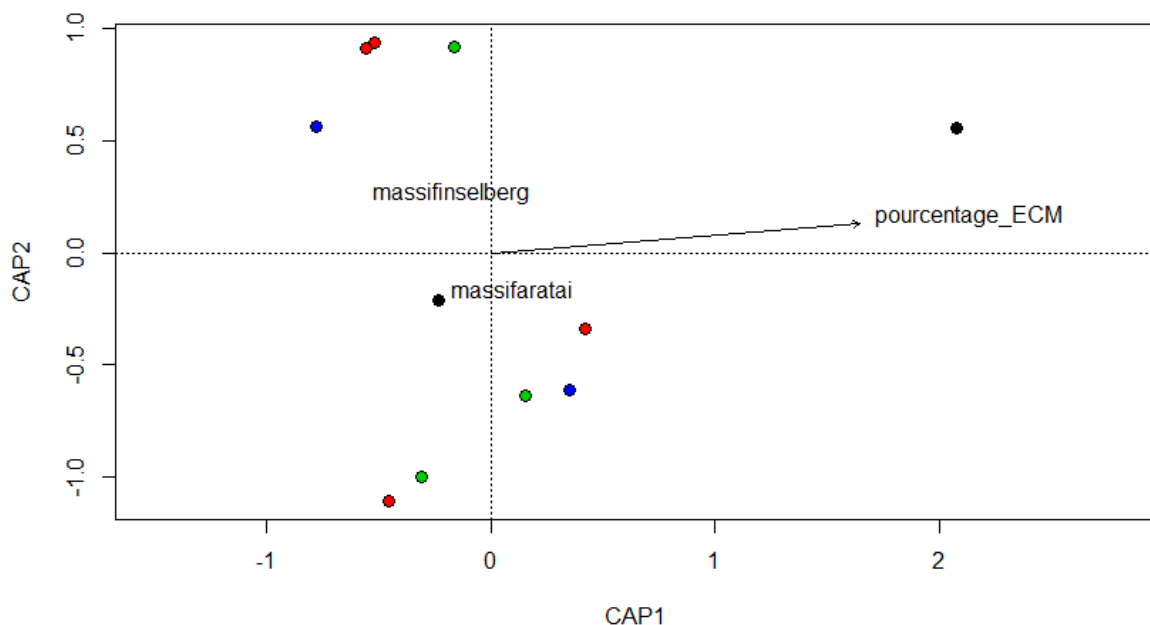


Figure 8. Représentation de graphique de l'analyse Capscale. Les habitats de cambrouses sont représentés en noir, ceux de forêt de liane en rouge, en bleu les habitats de montagnes couronnées et en vert les forêts matures.

OTUs indicatrices des habitats

En considérant l'histoire comme groupe, 11 OTUs indicatrices sont partagées entre les sites anthropisés et les sites témoins de forêt mature. Parmi tous les habitats, 101 OTUs sont significativement indicatrices sur les 8942 considérées dans cette étude, ce qui représente environ 1% du jeu de données. Au total, 78 OTUs sont associées à un seul habitat, 14 sont associées à deux habitats et 9 sont associées à trois habitats. Parmi ces OTUs, aucune n'est identifiées. Les habitats qui rassemblent le plus d'OTUs indicatrices sont les cambrouses suivit des montagnes couronnées (Figure 9).

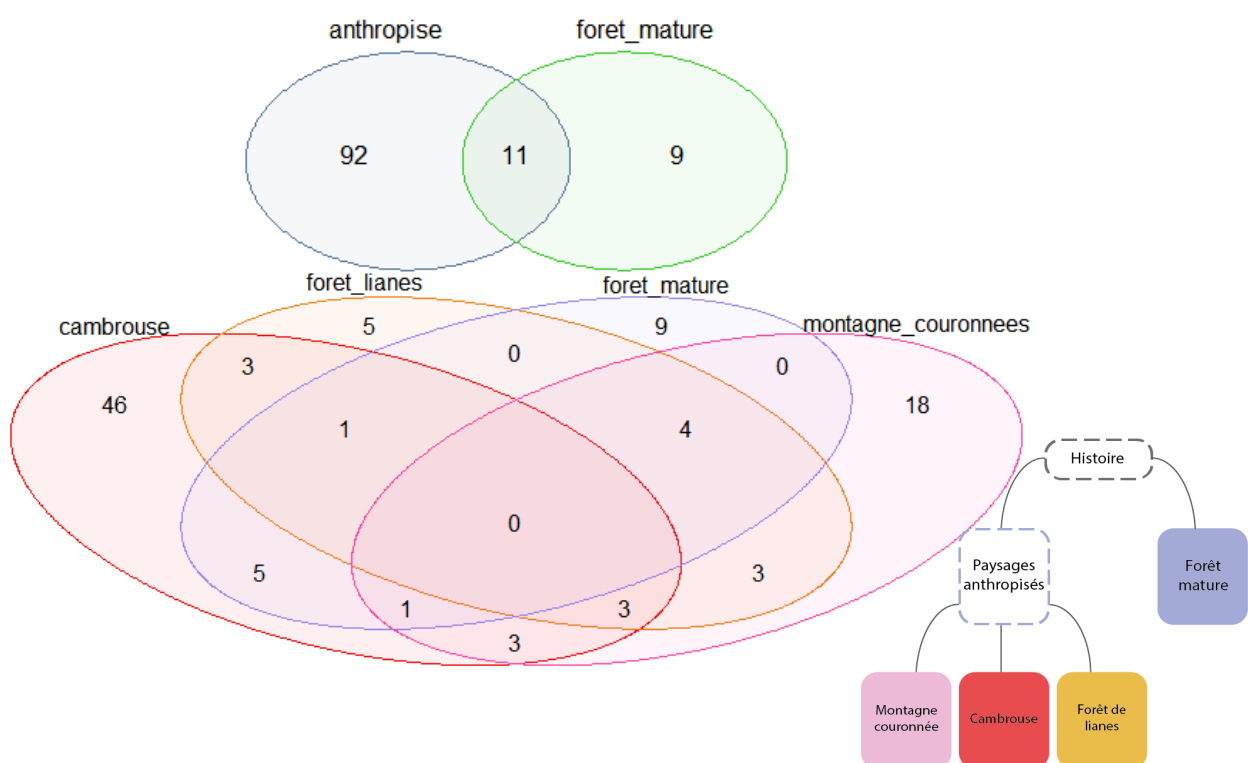


Figure 9. Diagrammes de venn représentant le partage des 101 OTUs indicatrices en fonction de l'histoire et des habitats. Les résultats sont obtenus à partir de l'indice indval sur les groupes construit selon la hiérarchie présenté en bas à droite des diagrammes.

Discussion

La première hypothèse teste si les sites anciennement anthropisés sont composés de communautés fongiques différentes en structure et en composition par rapport aux communautés des sites de forêt mature. Cette hypothèse n'a pas été validée et les sites anciennement anthropisés ne se différencient pas des autres. Le pourcentage en ECM et le massif (inselberg vs Arataï) influencent au contraire la structure des communautés

fongiques. L'effet du massif peut provenir des caractéristiques environnementales : la composition floristique mais aussi la chimie du sol pourraient varier entre ces deux massifs. Le massif Inselberg est situé plus dans les terres mais surtout aux pieds d'un mont granitique : l'inselberg des Nouragues et l'autre massif proches de l'Arataï (rivière).

Si il y a un effet massif plutôt qu'un effet histoire, c'est sûrement que la définition de l'histoire des sols prise en compte dans cette étude ne définit pas spécifiquement les sites anthropisés, ou que les habitats se distinguent moins par leur sol que par leur végétation. L'histoire d'un sol ne se résume pas à une seule variable qualitative et d'ailleurs des analyses de sols sont prévues dans le projet, mais les résultats de ces analyses n'ont pas pu être disponibles pendant ce stage. Sur d'autres sites, les sols anciennement anthropisés présentent un taux de phosphore et de nutriments comme le magnésium supérieur aux autres sols à proximité (Balee, 2010; Junqueira *et al*, 2010; Diedhiou *et al*, 2009; Wilson *et al*, 2008; Dupouey *et al*, 2002). Lorsque les micro-organismes du sol ont été étudiés, leurs communautés étaient toujours sensibles à l'anthropisation ancienne, qu'il s'agisse de bactéries ou de champignons. Par exemple, les communautés fongiques des sols de *terra preta* sont plus semblables entre elles (Lucheta & Cannavan, 2016) et la diversité alpha en champignons ECM est plus élevée dans des sites de forêts tempérés anciennement anthropisées (Diedhiou *et al*, 2010). Sur les sites anciennement anthropisés des Nouragues, le sol ne semble pas enrichi en matière organique, il reste roux et les montagnes couronnées ne présentent pas un sol meuble et riche comme la *terra preta*. Les sols observés se distinguaient sur le terrain plus par leur structure que par leur couleur. Il est possible que nous n'observions pas de différence entre les communautés des sols anciennement anthropisés et des sols de forêt mature si la composition chimique du sol n'a pas été modifiée, ou moins drastiquement que dans d'autres sites à *terra preta* par exemple.

La deuxième hypothèse supposait que la mise en place de fossés, et le drainage des sites anciennement anthropisés aurait favorisé les champignons ECM. Les champignons ECM sont rares sous les tropiques et souvent rattachés aux forêts monodominantes (Corrales *et al*, 2018; Bahram *et al*, 2013), mais ils peuvent être localement abondants sur des sols pauvres et drainants comme les sables blancs (Corrales *et al*, 2018; Roy *et al*, 2016; Singer & Araujo, 1979). Aux Nouragues, tous les sites anthropisés ne présentent pas une proportion de champignons ECM importante, et deux sites se distinguent, un site de cambrouse (P05) et un

site de forêt de lianes (P02). Ces sites sont situés en pente, et le site P05 présente des marques d'anthropisation importantes (Guillaume Odonne, Ethnobotaniste du projet LONGTIME, Communication personnelle). Le pourcentage de séquences assignées à la guildes des ECM est variable entre les sites, et peut atteindre 30%, un record pour des forêts non monodominantes (Corrales *et al*, 2018; Bahram *et al*, 2013). La proportion de champignons ECM est non seulement variable, elle semble décrire un gradient, et explique une partie des différences de communautés entre sites. Il est possible que ce gradient reflète le drainage, et la mise en place d'une végétation de forêt basse, comme sur les sables blancs. En effet, les hôtes ectomycorhiziens dans les forêts non-monodominantes sont souvent des espèces lianescentes ou de milieu pionnier, comme des Polygonaceae et des Nyctaginaceae tropicales. La description du sol et de la végétation devrait permettre de mieux interpréter ce gradient, qui distinguent les sites choisis et ne reflète pas seulement l'anthropisation ancienne.

Parmi les résultats inattendus, les différences entre communautés ne semblaient pas être structurées spatialement. Pourtant les communautés étaient très dissimilaires, même à 200 mètres de distance. Plusieurs auteurs ont mentionné que dans les forêts Néotropicales, ce sont les facteurs spatiaux et biogéographiques qui semblent plus influencer la structure des communautés de champignons ECM plutôt que l'hôte (Chase *et al*, 2011; Corrales *et al*, 2018). Il est possible que la distance maximale entre les sites ne soit pas suffisante pour détecter une décroissance de la dissimilarité avec la distance. La forte dissimilarité entre sites proches suggère au contraire que la dissimilarité décroît déjà à courte distance, à l'intérieur des plots d'un hectare. Le fait d'agréger nos données à l'échelle d'un hectare gomme probablement la décroissance de la dissimilarité avec la distance, qui peut commencer dès 50 mètres en forêt tropicale (Bahram *et al*, 2013). Malgré cette forte dissimilarité locale, et contrairement à notre hypothèse basée sur la végétation, l'effet de l'habitat est non significatif. Sur ce point, il est probable que le nombre réduit de parcelles par habitat soit en cause. Ce biais reflète pourtant la réalité : les montagnes couronnées restent rares, et les cambrousse très localisées. Échantillonner d'autres parcelles de ces habitats dispersés aurait pu renforcer un effet habitat, mais aussi un effet de la distance, et l'observation d'une forte dissimilarité entre des sites géographiquement proches reste un résultat fort. Ce résultat est probablement propre aux forêts néotropicales, où

l'hétérogénéité des communautés végétales est déjà remarquable. Ainsi des processus neutres pourraient aussi expliquer cette forte hétérogénéité (Chave *et al*, 2014), comme le suggère le faible pouvoir explicatif de nos modèles statistiques.

Les communautés observées dans les milieux anthropisés auraient pu être un sous ensemble de celles observées dans les forêts matures. Cependant et étonnamment, les milieux anthropisés n'abritent pas moins d'espèces et au contraire s'y trouvent des espèces indicatrices en plus grand nombre que dans les milieux non anthropisés. En effet, si on s'intéresse aux espèces qui caractérisent le mieux les habitats, il s'avère que ce sont les habitats considérés comme les plus anthropisés par le passé qui hébergent aussi le plus d'OTUs indicatrices et spécifiques. L'effet de l'histoire semble ainsi affecter la distribution des espèces plus que la structure des communautés. De plus, si on considère les espèces strictement associées à un habitat, elles sont plus nombreuses sur les cambrouses et les montagnes couronnées. Il est peu probable que des spéciations aient mis en place rapidement de nouvelles espèces spécifiques de ces habitats. La spécialisation de ces espèces indicatrices a dû être sélectionnée par le passé dans des habitats naturels aux caractéristiques similaires comme les pentes des Inselberg, la végétation basse des savanes-roches ou des sables blancs. Les sites proches de l'inselberg peuvent avoir reçu des propagules des habitats de pente et héliophiles. De même, les cambrouses et montagnes couronnées situées proches des rives de l'Arataï pourraient avoir reçu des propagules depuis la rivière. En effet les sables blancs s'accumulent fréquemment le long des rivières et des zones inondées en Amazonie (Singer & Araujo, 1979). Afin de tester si d'autres habitats peuvent avoir servi de source d'inoculum pour les milieux anciennement anthropisés, il serait intéressant de sonder des habitats non anthropisés aux caractéristiques proches des milieux anthropisés pour voir si les espèces proviennent de ces habitats. Les champignons ECM observés sur le terrain, comme la chanterelle de Guyane, *Cantharellus guyanensis*, ont tous été déjà observés sur d'autres sites en Guyane et plus largement en Amazonie, notamment sur sables blancs (Henkel *et al*, 2012; Roy *et al*, 2016). Les espèces indicatrices détectées ici restent à identifier mais pourraient être recherchées dans de tels habitats.

Conclusion

Les différences locales entre communautés de champignons ne semblent pas être expliquées par une anthropisation ancienne des sites, contrairement aux tendances

observées sur des sites à *terra preta*. L'histoire des sites reste à préciser et permettra de mieux interpréter les différences observées. Globalement, les sites anthropisés hébergent une grande diversité d'espèces de champignons, et ne semblent pas plus pauvres que les sites de forêt mature, ils hébergent d'ailleurs plus d'espèces indicatrices. La végétation des sites anthropisés ressemble à celle de forêts basses, typique des sables blancs. Il est probable que l'homme, par son modelage ancien des paysages, ait favorisé des plantes et des champignons typiques de ces sols connus comme rares en Amazonie. Une étude intégrant ces possibles habitats sources permettrait de tester cette hypothèse.

Bibliographie

- Bahram M, Kõljalg U, Courty P-E, Diédhiou AG, Kjølner R, Põlme S, Ryberg M, Veldre V & Tedersoo L (2013) The distance decay of similarity in communities of ectomycorrhizal fungi in different ecosystems and scales. *J. Ecol.* **101**: 1335–1344
- Balee W (2010) Amazonian Dark Earths. *Tipiti J. Soc. Anthropol. Lowl. South Am.* **8**:
- Brancier J, Cammas C, Todisco D & Fouache E (2014) A Micromorphological Assessment of Anthropogenic Features in Pre-Columbian French Guiana Dark Soils (FGDS): First Results. *Zeitschrift für Geomorphol. Suppl. Issues* **58**: 109–139
- Cáceres M De & Legendre P (2009) Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference. *Ecology* **90**: 3566–3574
- Cateau E, Larrieu L, Vallauri D, Savoie J-M, Touroult J & Brustel H (2015) Ancienneté et maturité : deux qualités complémentaires d'un écosystème forestier. *C. R. Biol.* **338**: 58–73
- Chao A, Colwell RK, Gotelli NJ, Hsieh TC, Sander EL, Ma KH, Colwell RK & Ellison AM (2014) Rarefaction and extrapolation with Hill numbers : A framework for sampling and estimation in species diversity studies Rarefaction and extrapolation with Hill numbers : a framework for sampling and estimation in species diversity studies. *Ecol. Monogr.* **84**: 45–67
- Chase JM, Kraft NJB, Smith KG, Vellend M & Inouye BD (2011) Using null models to disentangle variation in community dissimilarity from variation in α -diversity. *Ecosphere* **2**:
- Chave J, Réjou-Méchain M, Búrquez A, Chidumayo E, Colgan MS, Delitti WBC, Duque A, Eid T, Fearnside PM, Goodman RC, Henry M, Martínez-Yrizar A, Mugasha WA, Muller-Landau HC, Mencuccini M, Nelson BW, Ngomanda A, Nogueira EM, Ortiz-Malavassi E, Péliissier R, et al (2014) Improved allometric models to estimate the aboveground biomass of tropical trees. *Glob. Chang. Biol.* **20**: 3177–3190
- Chave J, Riéra B & Dubois M-A (2001) Estimation of biomass in a neotropical forest of French Guiana: spatial and temporal variability. *J. Trop. Ecol.* **17**:

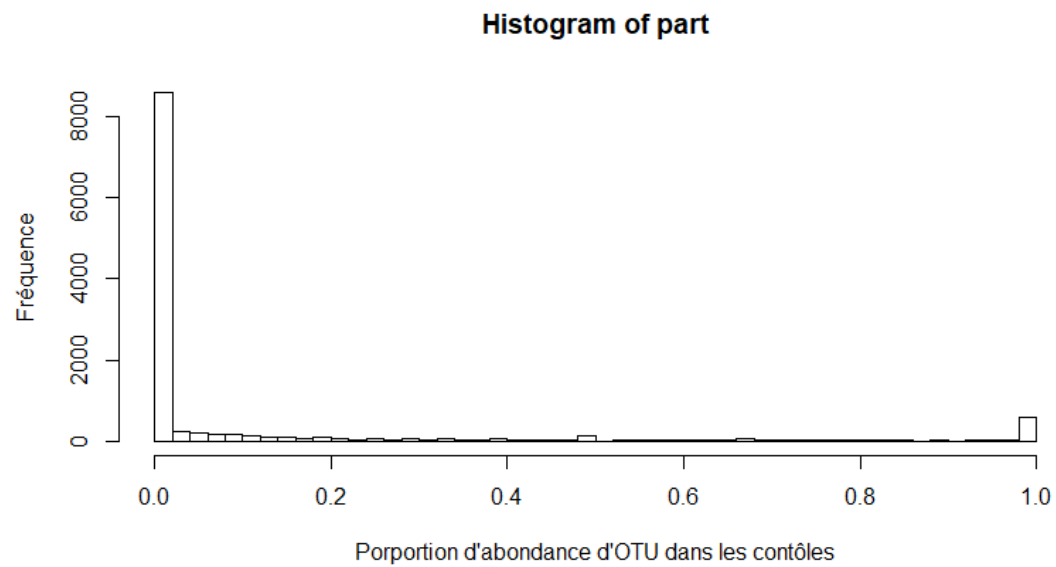
- Corrales A, Henkel TW & Smith ME (2018) Ectomycorrhizal associations in the tropics - biogeography, diversity patterns and ecosystem roles. *New Phytol.*
- Dallmeier F & Comiskey JA (James A. (1998) Forest biodiversity in North, Central and South America, and the Caribbean : research and monitoring UNESCO
- Decaëns T, Porco D, James SW, Brown GG, Chassany V, Dubs F, Dupont L, Lapied E, Rougerie R, Rossi JP & Roy V (2016) DNA barcoding reveals diversity patterns of earthworm communities in remote tropical forests of French Guiana. *Soil Biol. Biochem.* **92**: 171–183
- Diedhiou AG, Dupouey JL, Buée M, Dambrine E, Laüt L & Garbaye J (2009) Response of ectomycorrhizal communities to past Roman occupation in an oak forest. *Soil Biol. Biochem.* **41**: 2206–2213
- Diedhiou AG, Dupouey JL, Buée M, Dambrine E, Laüt L & Garbaye J (2010) The functional structure of ectomycorrhizal communities in an oak forest in central France witnesses ancient Gallo-Roman farming practices. *Soil Biol. Biochem.* **42**: 860–862
- Dufrene M, Legendre P, Monographs SE & Aug N (1997) Species Assemblages and Indicator Species : The Need for a Flexible Asymmetrical Approach species assemblages and indicator species : the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* **67**: 345–366
- Dupouey JL, Dambrine E, Laffite JD & Moares C (2002) Irreversible impact of past land use on forest soils and biodiversity. *Ecology* **83**: 2978–2984
- Heckenberger MJ, Kuikuro A, Kuikuro UT, Russell JC, Schmidt M, Fausto C & Franchetto B (2003) Amazonia 1492: Pristine forest or cultural parkland? *Science (80-.).* **301**: 1710–1714
- Heckenberger MJ, Russell JC, Fausto C, Toney JR, Schmidt MJ, Pereira E, Franchetto B & Kuikuro A (2008) Pre-Columbian urbanism, anthropogenic landscapes, and the future of the Amazon. *Science (80-.).* **321**: 1214–1217
- Henkel TW, Catherine Aime BM, Mimi L Chin BM, Steven Miller BL, Rytas Vilgalys B, Matthew Smith BE, Henkel TW, M L Chin ÁM, Aime MC, Miller SL & Vilgalys Á E Smith RM (2012)

- Ectomycorrhizal fungal sporocarp diversity and discovery of new taxa in Dicumbe monodominant forests of the Guiana Shield the Potaro site. Dicumbe forests in Guyana are a hotspot for ECM fungal diversity in the. *Biodivers Conserv* **21**: 2195–2220
- Hill MO (1973) Diversity and Evenness: A Unifying Notation and Its Consequences. *Ecology* **54**: 427–432
- Hsieh TC, Ma KH & Chao A (2016) iNEXT: an R package for rarefaction and extrapolation of species diversity (Hill numbers). *Methods Ecol. Evol.* **7**: 1451–1456
- Iriarte J, Glaser B, Watling J, Wainwright A, Birk JJ, Renard D, Rostain S & McKey D (2010) Late Holocene Neotropical agricultural landscapes: phytolith and stable carbon isotope analysis of raised fields from French Guianan coastal savannahs. *J. Archaeol. Sci.* **37**: 2984–2994
- Junqueira AB, Shepard GH & Clement CR (2010) Secondary forests on anthropogenic soils in Brazilian Amazonia conserve agrobiodiversity. *Biodivers. Conserv.* **19**: 1933–1961
- Levis C, Costa FRC, Bongers F, Peña-Claros M, Clement CR, Junqueira AB, Neves EG, Tamanaha EK, Figueiredo FOG, Salomão RP, Castilho C V., Magnusson WE, Phillips OL, Guevara JE, Sabatier D, Molino J-F, López DC, Mendoza AM, Pitman NCA, Duque A, et al (2017) Persistent effects of pre-Columbian plant domestication on Amazonian forest composition. *Science (80-.).* **355**: 925–931
- Lucheta AR & Cannavan FDS (2016) Fungal Community Assembly in the Amazonian Dark Earth. : 962–973
- McKey D, Rostain S, Iriarte J, Glaser B, Birk JJ, Holst I & Renard D (2010) Pre-Columbian agricultural landscapes, ecosystem engineers, and self-organized patchiness in Amazonia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107**: 7823–7828
- McMichael CNH, Matthews-Bird F, Farfan-Rios W & Feeley KJ (2017) Ancient human disturbances may be skewing our understanding of Amazonian forests. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **114**: 522–527
- Nguyen NH, Song Z, Bates ST, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Schilling JS & Kennedy PG (2016) FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by

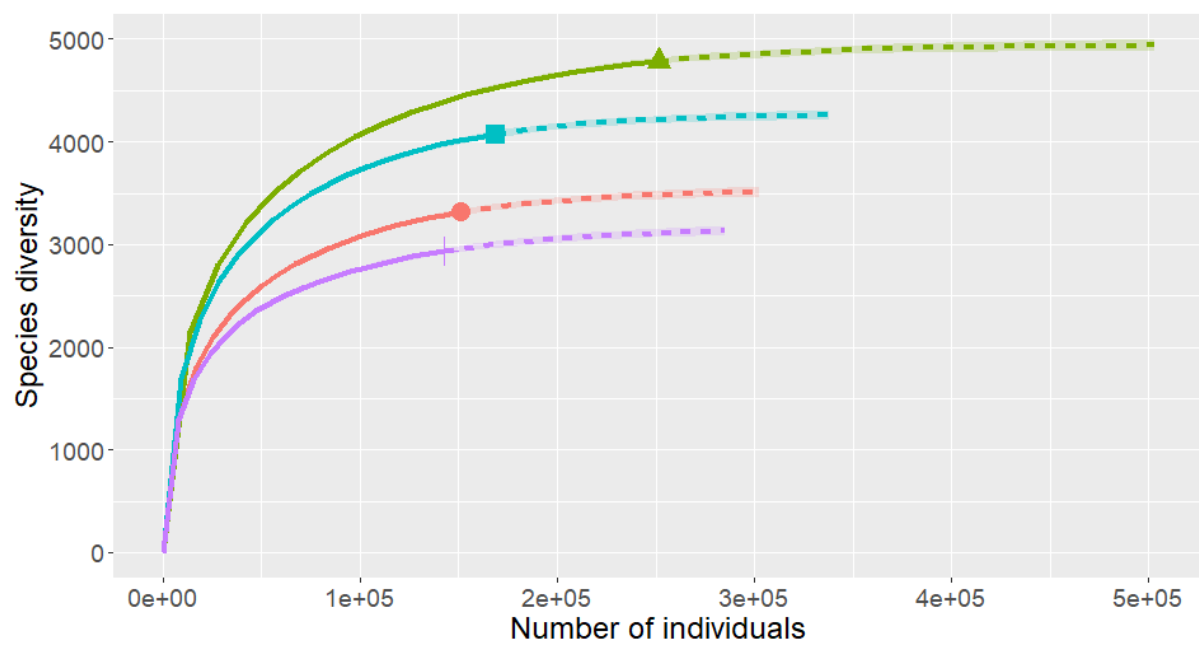
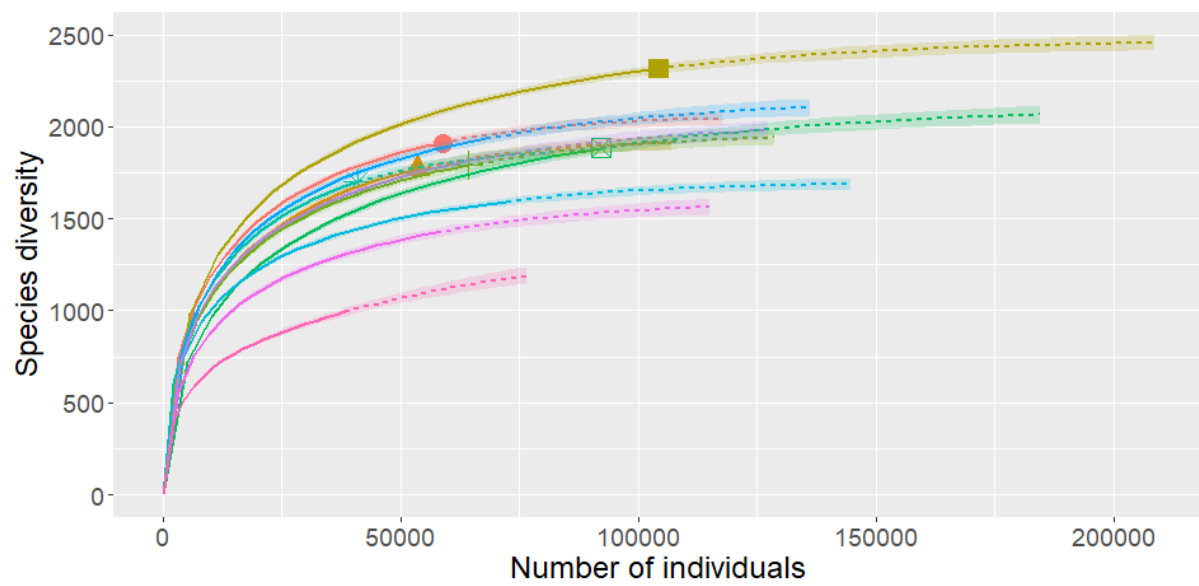
- ecological guild. *Fungal Ecol.* **20**: 241–248
- Nilsson RH, Kristiansson E, Ryberg M, Hallenberg N & Larsson K-H (2008) Intraspecific ITS Variability in the Kingdom Fungi as Expressed in the International Sequence Databases and Its Implications for Molecular Species Identification. *Evol. Bioinforma.* **4**: EBO-S653
- Poncy O, Hoff M & Brulard J-F (1998) La connaissance actuelle de la flore de Guyane peut-elle étayer les projets de conservation ? *J. d'agriculture Tradit. Bot. appliquée* **40**: 373–398
- Ponge JF, Topoliantz S, Ballof S, Rossi JP, Lavelle P, Betsch JM & Gaucher P (2006) Ingestion of charcoal by the Amazonian earthworm *Pontoscolex corethrurus*: A potential for tropical soil fertility. *Soil Biol. Biochem.* **38**: 2008–2009
- Renard D, Iriarte J, Birk JJ, Rostain S, Glaser B & McKey D (2012) Ecological engineers ahead of their time: The functioning of pre-Columbian raised-field agriculture and its potential contributions to sustainability today. *Ecol. Eng.* **45**: 30–44
- Ringler M, Mangione R, Pašukonis A, Rainer G, Gyimesi K, Felling J, Kronaus H, Réjou-Méchain M, Chave J, Reiter K & Ringler E (2016) High-resolution forest mapping for behavioural studies in the Nature Reserve 'Les Nouragues', French Guiana. *J. Maps* **12**: 26–32
- Ritter CD, Zizka A, Barnes C, Nilsson RH, Roger F & Antonelli A (2018) Locality or habitat? Exploring predictors of biodiversity in Amazonia. *Ecography (Cop.)*.
- Rodrigues JLM, Pellizari VH, Mueller R, Baek K, Jesus C & Paula FS (2013) Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities. **110**:
- Rostain S (2008) Agricultural Earthworks on the French Guiana Coast. In *The Handbook of South American Archaeology* pp 217–233. New York, NY: Springer New York
- Rostain S (2013) Islands in the Forest: Landscape management in Pre-Columbian Amazonia. : 234–239
- Rostain S (2017) Amazonie : les 12 travaux des civilisations précolombiennes Belin.
- Roy M, Schimann H, Braga-Neto R, Da Silva RAE, Duque J, Frame D, Wartchow F & Neves MA

- (2016) Diversity and Distribution of Ectomycorrhizal Fungi from Amazonian Lowland White-sand Forests in Brazil and French Guiana. *Biotropica* **48**: 90–100
- Singer R & Araujo I de J da S (1979) Litter decomposition and Ectomycorrhiza in Amazonian forests. 1. A comparison of litter decomposing and ectomycorrhizal Basidiomycetes in latosol-terra-firme rain forest and white podzol campinarana. *Acta Amaz.* **9**: 25–42
- Tedersoo L, Bahram M, Põlme S, Kõljalg U, Yorou NS, Wijesundera R, Villarreal Ruiz L, Vasco-Palacios AM, Thu PQ, Suija A, Smith ME, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, et al (2014) Fungal biogeography. Global diversity and geography of soil fungi. *Science* **346**: 1256688
- Tedersoo L, Bahram M, Toots M, Diédhiou AG, Henkel TW, Kjølner R, Morris MH, Nara K, Nouhra E, Peay KG, Põlme S, Ryberg M, Smith ME & Kõljalg U (2012) Towards global patterns in the diversity and community structure of ectomycorrhizal fungi. *Mol. Ecol.* **21**: 4160–4170
- Tedersoo L, May TW & Smith ME (2010) Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* **20**: 217–263
- Topoliantz S, Ponge J-F & Lavelle P (2006) Humus components and biogenic structures under tropical slash-and-burn agriculture. *Eur. J. Soil Sci.* **57**: 269–278
- Wilson C, Davidson DA & Cresser M (2008) Multi-element soil analysis: an assessment of its potential as an aid to archaeological interpretation. *J. Archaeol. Sci.* **35**: 412–424

Annexes



Annexe 1. Histogramme représentant la fréquence des OTU dans les contrôles, les OTUs qui ne sont pas présentes dans les controles sont situées à gauche du graphique et les OTUs qui sont présentes dans les contrôles uniquement sont à droite. La barre de seuil est donc fixée à 0.05, toutes les OTUs supérieures à cette limite sont éliminées du jeu de donnée.



Annexe 2. Courbes d'accumulation représentant la richesse spécifique en fonction du nombre d'individus pour les sites (Haut) et les habitats (bas). Les extrapolations sont représentées en pointillés et l'intervalle de confiance en couleur pleine.

Résumé

La forêt Amazonienne, caractérisée par sa biodiversité et son hétérogénéité d'habitat est riche de son histoire. Récemment, la réserve naturelle des Nouragues, en Guyane française a fait l'objet de fouilles archéologiques. Ainsi, des habitats anciennement anthropisés, en apparence drainants, comme des montagnes couronnées y ont été découverts. Ici, une approche de metabarcoding est réalisée en utilisant l'ITS pour estimer la composition et la structure des communautés fongiques de sol prélevées sur 8 sites anciennement anthropisés et 3 sites de forêt mature. La diversité beta est caractérisée sur la base des unités taxonomiques opérationnelles (OTUs) et la relation entre l'habitat, l'histoire et la composition des communautés est testée. La diversité beta est très importante inter sites, et les différences locales entre les communautés de champignons ne semblent pas être expliquées par une anthropisation ancienne des sites. Toutefois, les sites anthropisés abritent une grande diversité d'espèces de champignons. Ces sites, comprenant les montagnes couronnées hébergent plus d'espèces indicatrices que les sites de forêt mature, non anthropisés par le passé. Cependant, l'histoire des sites reste à préciser et permettra de mieux interpréter les différences observées.

Mots clés : anthropisation, sols forestiers, Guyane française, écologie des communautés, champignon ectomycorhizien, metabarcoding

Abstract

The Amazon forest, characterized by its biodiversity and its heterogeneity of habitat is rich in its history. Recently, the Nouragues nature reserve in French Guiana has been the subject of archaeological excavations, formerly anthropized habitats, apparently draining, as the ring ditched hills were discovered there. Here a metabarcoding approach is performed using ITS to estimate the composition and structure of soil fungal communities collected from 8 formerly anthropogenic sites and 3 mature forest sites. Beta diversity is characterized on the basis of operational taxonomic units (OTUs) and the relationship between habitat, history and community composition is tested. Beta diversity is very important between sites, and local differences between fungi communities do not seem to be explained by an old anthropization of sites. Anthropogenic sites host a great diversity of mushroom species. These sites, including the ring ditched hills, host more indicator species than mature forest sites, which have not been anthropized in the past. However, the history of the sites remains to be clarified and will better interpret the observed differences.

Key words: anthropization, forest soils, French Guiana, community ecology, ectomycorrhizal fungi, metabarcoding