

Université de Montréal

**Étude de la diversité mycorhizienne associée à la rhizosphère de
plantes poussant spontanément dans un des bassins d'un site
hautement contaminé par des hydrocarbures pétroliers**

par LABRIDY Manuel Thomas

Département des sciences biologiques Université de Montréal
Faculté des arts et des lettres

Mémoire présenté
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise
en Biologie
option Microbiologie des sols

Juin 2017

© LABRIDY, 2017

Résumé

Les champignons mycorhiziens arbusculaires (CMA) appartiennent au phylum *Glomeromycota*. Ces champignons forment une association symbiotique (obligatoire pour les champignons) avec plus de 80 % des espèces de plantes vasculaires, incluant la plupart des plantes cultivées. Cette symbiose mycorhizienne arbusculaire, très répandue dans la nature, a été retrouvée dans presque tous les écosystèmes terrestres aussi bien dans des déserts chauds et froids que dans des forêts tropicales ou tempérées. L'emploi d'outils de biologie moléculaire et des fossiles ont permis d'estimer la date de l'origine de la symbiose mycorhizienne arbusculaire à environ 450 millions d'années avant notre ère. Cette date coïncide avec l'apparition des premières plantes terrestres primitives. Il existe plusieurs types de mycorhizes impliquant différents champignons et différentes plantes hôtes. Ces différents faits suggèrent que les plantes vasculaires et les champignons mycorhiziens à arbuscules ont co-évolué, et que les *Glomeromycota* ont influencé la capacité des plantes à coloniser le milieu terrestre. Plusieurs études ont montré que les contaminants organiques peuvent influencer négativement cette relation mutuellement bénéfique qu'entretiennent la plante et le champignon conduisant à une diminution de la croissance du CMA mais aussi à une modification des interactions au sein de la communauté de CMA elle-même.

Ainsi, mon projet de maîtrise vise à quantifier la diversité mycorhizienne arbusculaire de deux espèces de plante *Eleocharis obtusa* et *Panicum capillare* qui poussent dans un bassin hautement contaminé par des hydrocarbures pétroliers de façon très hétérogène et étudier les structures des communautés des CMA dans des échantillons de sol rhizosphérique et de racines de celles-ci.

L'un des résultats importants de mon étude est la découverte d'une très grande diversité des CMA associés à *E. obtusa* et *P. capillare* dans ce milieu contaminé. En effet, pas moins de 26 unités taxonomiques opérationnelles (OTU) de champignons mycorhiziens à arbuscules ont été recensés. La quasi-totalité des familles de *Glomeromycota* sont représentées à l'exception de *Ambisporaceae*, *Geosiphonaceae* et *Pacisporaceae*. Ainsi, le genre *Diversispora* domine la communauté des CMA par son abondance relative, cependant le genre *Claroideoglossum* est le plus abondant des genres des CMA.

Ensuite, mon projet a déterminé l'influence de la plante hôte sur la composition de la communauté de CMA. D'après l'analyse de la diversité alpha, les plantes présentent une structure de diversité différente. Les valeurs de Local Contributions to beta Diversity (LCBD) élevées étaient souvent liées à un site avec un grand nombre de taxons de CMA. En utilisant une analyse en composante principale (ACP), j'ai constaté que les échantillons récoltés en 2011 auraient sensiblement la même composition en OTU. J'ai pu observer également une variation de la communauté des OTU de CMA d'une année à l'autre pour les plantes. La rhizosphère des plantes récoltées la même année avait une communauté d'OTU similaire globalement, pourtant au niveau racinaire, j'ai observé une spécificité chez des certains OTU. Cette étude fournit une vue d'ensemble de la diversité des CMA associés à des végétaux localisés dans les sédiments très pollués. Elle suggère aussi que les CMA peuvent être des candidats microbiens potentiellement importants dans la restauration des sols contaminés par le pétrole.

Mots-clés : CMA, *Glomeromycota*, *Eleocharis obtusa*, *Panicum capillare*, OTU, diversité α , diversité β , ACP

Abstract

The arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) belong to phylum *Glomeromycota*, a group of early divergent fungal lineage. These fungi form a mutualistic symbiotic association with more than 80% of vascular plant species, including most important crops. The arbuscular mycorrhizal symbiosis is widespread and has been found in almost all terrestrial ecosystems on earth such as hot and cold deserts, as well as tropical and temperate forests. The use of molecular biology tools and fossil records dated back the origin of arbuscular mycorrhizal symbiosis to 460 million years ago, which coincides with the emergence of terrestrial plants. There are several types of mycorrhizas depending on fungal groups and host plants. It has been suggested that vascular plants and AMF have co-evolved and that *Glomeromycota* helped plant ancestors to colonize the land. It has been reported that organic contaminants can negatively impact this mutually beneficial symbiosis between plant and fungi reducing the growth of the AMF and changing the structure of AMF communities.

The objective of my master project was to determine the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with two plant species, *Eleocharis obtusa* and *Panicum capillare*, which spontaneously growing a highly petroleum hydrocarbons contaminated basin with an heterogeneous pattern of contamination, and to describe the structures of their communities in their rhizosphere soils and roots.

My results revealed an unexpected high diversity of AMF OTUs associated with two plant species. Indeed, we identified 26 OTUs of AMF. This diversity covered the most important families of *Glomeromycota* except *Ambisporaceae*, *Geosiphonaceae* and *Pacisporaceae*. Genus *Diversispora* dominated the AMF community by its relative abundance, however the genus *Claroideoglossum* was the most represented in the samples.

My study determined the influence of the host plant on the composition of the AMF community. Based on the analysis of the α diversity, we found that the rhizospheric soil and root samples showed different community structures between the two plants species. β diversity analysis showed that high Local Contributions to β Diversity (LCBD) values (high uniqueness of species composition) were often linked to the sample with a large number of AMF taxa. Using a principal component analysis (PCA), we found that the samples collected in 2011 have approximately the same composition of OTUs. It is likely that a turnover of AMF OTU and

plants may occur from one year to another. This study provides an overview of the diversity of AMF associated with plants located in heavily polluted sediments. It also suggests that AMF may be potentially important microbial candidates in the remediation of oil-contaminated soils.

Keywords : AMF, *Glomeromycota*, *Eleocharis obtusa*, *Panicum capillare*, OTU, A diversity, B diversity, PCA

Table des matières

Résumé.....	1
Abstract.....	3
Table des matières.....	5
Liste des tableaux.....	7
Liste des figures.....	8
Liste des sigles.....	9
Liste des abréviations.....	10
Remerciements.....	12
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	13
1. MISE EN CONTEXTE.....	13
2. PLANTES, MICROORGANISMES ET TAXONOMIE.....	16
2.1 Les plantes et les dérivés pétroliers.....	16
2.2 Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA).....	17
2.3 Un taxon vagabond.....	19
2.4 Utilisation des champignons mycorhiziens en phytoremédiation.....	21
3. LA BIODIVERSITÉ AU SEIN D'UN SITE.....	22
3.1 La diversité α	22
3.2 La diversité β	23
PROBLÉMATIQUE.....	25
OBJECTIFS DE L'ÉTUDE.....	27
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	28
1. Site d'étude et échantillonnage.....	28
2. Extraction d'ADN, amplification par PCR, clonage et séquençage.....	30
3. Réalisation d'une phylogénie.....	31
3.1 Inférence bayésienne contre Maximum de vraisemblance.....	31
3.2 Inférence Bayésienne.....	32

4. Analyses bio-informatiques et statistiques.....	33
5. Détermination de l'abondance de chaque OTU chez les deux plantes étudiées	34
6. Déterminer la diversité du site	35
6.1 La diversité α	35
6.2 La diversité β	35
7. Analyse en composante principale.....	36
7.1 Problèmes des Doubles Zéros et Transformation de Hellinger	37
8. Analyse de co-variance multivariée ou MANCOVA	38
RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS.....	39
Phylogénie.....	39
Diversité α et unicité de la communauté au sein des plantes étudiées.....	46
Diversité β	53
ACP et MANCOVA	57
CONCLUSION.....	62
BIBLIOGRAPHIE.....	64
Compléments d'analyses	75

Liste des tableaux

Tableau I.	Récapitulatif des résultats du Test de Wilks	59
------------	--	----

Liste des figures

- Figure 1. Dessin schématique de la conception expérimentale et de l'échantillonnage. Les carrés représentent le bassin pollué par hydrocarbures chaque année. 29
- Figure 2. Les probabilités à posteriori bayésiennes supérieures ou égales à 0,95 sont représentées avec des cercles noirs sur les nœuds. Les clades sont identifiés au niveau du genre si elles comprennent des séquences SSU provenant de cultures de référence ou à des taxa virtuels si elles ne comprennent que l'échantillon des séquences SSU indépendants. L'échelle représente la longueur de la branche correspondant à des substitutions attendues par site. 39
- Figure 3. L'abondance relative des 26 OTU des Glomeromycota retrouvés dans le sol de la rhizosphère et les racines associées à *E. obtusa* en 2011 (E1S2011-E4S2011, E3R2011) et 2012 (E1S2012-E3S2012, E1R2012-E3R2012) et *P. capillare* en 2011 (P1S2011-P4S2011, P1R2011-P3R2011) et 2012 (P1S2012, P1R2012-P3R2012). 43
- Figure 4. Distribution des résultats de la PSV par espèce de plante (E pour *Eleocharis obtusa* et P pour *Panicum capillare*) par répliqua et par localisation (Sol de la rhizosphère ou Racine).
47
- Figure 5. Visualisation graphique des résultats de l'ensemble des valeurs de PSV des échantillons de l'étude en fonction de l'espèce de plante (A) ou de la localisation (B). 49
- Figure 6. Récapitulatif les valeurs de la contribution des sites d'échantillonnage à la diversité β .
53
- Figure 7. Récapitulatif des valeurs de la contribution des genres de CMA à la diversité β . 55
- Figure 8. ACP proposant une représentation des OTU de CMA (flèches rouges) et des sites de l'étude (trait noir) dans l'espace a deux dimensions. 57

Liste des sigles

ACP : Analyse en composantes principales

ANOVA : Analyse de variables

ADN : Acide désoxyribose nucléique

ADNr : ADN ribosomale

BD totale : Biodiversité totale

CMA : Champignon mycorhyzien à arbuscule

HAP : Hydrocarbure aromatique polycyclique

MANCOVA : Analyse de co-variables multivariées

LCBD : Contributions des sites à la diversité β

OTU : Unité opérationnelle taxonomique

SCBD : Contributions des espèces à la diversité β

SSU : Small subunit (petite sous unité)

SS total : Sum of squares (somme des carrés)

TRNEE : Table ronde nationale sur l'environnement et l'économie

Liste des abréviations

Df : Degree of freedom (degré de liberté)

Pr : Probabilité

Wilks approx : Approximation de Wilks

°C : Degré Celsius

min : Minute

s : Seconde

mg : Milligramme

μl : Microlitre

Je dédie ce document à ma mère et mon père

Remerciements

Ce ne sont pas les années les plus simples de ma vie qui s'achèvent. Elles ont été souvent difficiles pleines de doutes et d'appréhensions. Mais, j'ai aussi accumulé beaucoup de connaissances théoriques, bien sûr, autant que pratique. Ce cheminement a été l'occasion de me connaître aussi (mais surtout connaître le sens du mot abnégation) et d'appréhender un monde dans le monde : le « labo ».

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire du Professeur Mohamed HIJRI situé à l'Institut de Recherche de Biologie Végétale (IRBV) partenaire de l'Université de Montréal au Québec, Canada.

Ce document a été réalisé en utilisant le jeu de données produit par messieurs Ivan de la PROVIDENCIA et Franck STEFANI.

Je souhaite remercier le Pr Pierre LEGENDRE pour ses conseils, son expérience et son temps lorsque mon jeu de données ne semblait plus rien vouloir me dire.

Je souhaite remercier le Pr Simon JOLI qui a su m'apporter de l'aide pour finaliser mes analyses statistiques malgré sa double charge de gestionnaire de son propre laboratoire de recherche et professeur.

Je remercie les membres de mon jury, le Pr Luc BROUILLET, président du jury, et le Pr Chantal HAMEL.

Je remercie le docteur Denis BEAUDET qui m'a accordé du temps et qui m'a permis de collaborer à certains de projets de recherche.

Je remercie le docteur Édeline GAGNON pour son temps, ses conseils et sa patience.

Je souhaite remercier Charlotte MARCHAND qui a été une compagne de travail avec un sens de l'humour plus qu'imagé.

Je remercie Boris DOMENECH et Soon-Jae LEE pour leur aide dans la réalisation de la phylogénie.

Je remercie Dimitri DAGHER pour les longues discussions pour refaire ce « monde ».

Je remercie Bacchir, Inès, Fanny, Julie, Gonzalo, Aymeric, l'ensemble des étudiants et le personnel de l'IRBV ainsi que ceux du PMV que j'ai pu croiser durant mon périple.

Bonne lecture

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1. MISE EN CONTEXTE

Bien que les activités industrielles dans les domaines de l'énergie, le transport et les mines soient essentielles pour l'économie d'un pays, le développement industriel qui en découle s'accompagne souvent d'effets négatifs sur l'environnement, notamment à cause d'une gestion inadéquate de l'élimination des résidus et déchets chimiques.

Ainsi, bien après la cessation de certaines activités industrielles en particulier l'industrie pétrochimique, une gamme hétérogène de contaminants organiques ou inorganiques, potentiellement dangereux pour les populations riveraines périphériques, a persisté au sein des sols et des nappes phréatiques. Les estimations proposées à la table ronde nationale sur l'environnement et l'économie (TRNEE) font état de 30000 sites urbains contaminés au Canada. Il a été répertorié plus de 5600 terrains contaminés au Québec dont plus de 1600 terrains dans la grande région de Montréal. La majorité de ces sites sont vacants et on fait l'objet d'une re-végétalisation spontanée. De cette re-végétalisation ont été tirée des modèles de distribution des plantes reflétant les interactions des plantes avec les caractéristiques du site, car les plantes cherchent avant tout à s'approprier les niches vacantes (Treshow 1980). Parmi les polluants organiques couramment retrouvés dans les sites contaminés, on trouve les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAPs), les hydrocarbures pétroliers aliphatiques et l'asphalte qui se caractérisent respectivement par des anneaux benzéniques fusionnés et de longues chaînes de carbones.

Il existe de nombreuses méthodes de décontamination des sites pollués. Les méthodes physico-chimiques et l'excavation/transport/entreposage sont les méthodes conventionnelles les plus utilisées. Cependant, ces méthodes sont très coûteuses car elles nécessitent de la machinerie lourde et par conséquent elles génèrent des gaz à effet de serre, en plus de détruire les habitats. L'entreposage des sols contaminés ne fait que déplacer le problème d'un endroit à l'autre. Les dernières décennies ont vu l'émergence de méthodes biologiques. La phytoremédiation en est

un exemple. Elle se base sur l'utilisation de plantes afin d'extraire, stabiliser ou dégrader les contaminants d'un milieu et d'atténuer le danger des polluants toxiques (Salt et al., 1998).

Cette alternative moins coûteuse et en accord avec les préoccupations contemporaines s'est imposée comme la nouvelle voie pour traiter des sols souillés par des produits chimiques hydrocarbonés et des éléments traces. Un avantage majeur de cette phytotechnologie est l'application in situ sur des terrains de très grandes superficies. Cependant, on peut reprocher à cette approche sa lenteur et son efficacité car elle se déroule sur un laps de temps plus long que les méthodes dites conventionnelles. Pourtant, elle est résolument plus respectueuse de l'environnement, ce qui représente une préoccupation très actuelle.

L'efficacité de la phytoremédiation dépend de plusieurs facteurs biotiques et abiotiques, de l'identification des espèces végétales qui se développent de manière efficace en présence de contaminants, et des communautés microbiennes ayant des capacités de dégrader les hydrocarbures plus rapidement que les communautés qui étaient présentes avant l'action humaine.

Ces dernières années, de nombreuses nouvelles espèces se sont vues adjoindre le rang de celles utilisées pour cette technologie, soit par leur caractéristique d'hyper accumulation ou par leur croissance rapide jumelée à leur tolérance aux dérivés du pétrole (Brooks 1998). Ces plantes, communément désignées sous le nom d'hyper accumulatrices, se sont adaptées à des sols naturellement riches en composés organiques (Raskin, Smith, and Salt 1997). En effet, ces plantes ont développé des mécanismes d'adaptation au cours de l'évolution, leur permettant de survivre dans des conditions extrêmes. Alors que la dégradation des contaminants est principalement basée sur les activités cataboliques des micro-organismes et de leurs enzymes, il a été rapporté que des changements dans les profils d'exsudats des racines des plantes sont induits par la présence d'hydrocarbures pétroliers dans la rhizosphère. Ceux-ci peuvent provoquer une altération du nombre et de la diversité des micro-organismes rhizosphériques (Phillips, Greer, and Germida 2006; Walton, Guthrie, and Holyman 1994), avec un impact positif sur la dégradation des contaminants. L'apport d'exsudats de racines facilement dégradables comme les acides organiques améliore les conditions physiques et chimiques du sol et augmente l'humification et l'adsorption des polluants dans la rhizosphère. Les exsudats des racines facilitent également la désorption des HAP, favorisant leur biodisponibilité (Stotz HU 2000). Les exsudats des racines stimulent la dégradation microbienne des HAP dans la

rhizosphère car ils supportent de plus grandes populations microbiennes qualifiées (Wild and Jones 1991).

Les interactions entre les communautés végétales et microbiennes dans la rhizosphère sont indispensables à la réussite de ce processus d'assainissement. Dans cette communauté microbienne, le phylum Glomeromycota englobe un ancien groupe de champignons symbiotes obligatoires (nécessitent un hôte pour compléter leur cycle de vie), les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA).

La contribution positive des champignons mycorhiziens arbusculaires dans la phytoremédiation est possible grâce à l'amélioration de la croissance des racines en facilitant l'acquisition de l'eau et des nutriments qui sont des facteurs limitants importants dans les sols contaminés par les HAP. Le mycélium extra radiculaire s'étendant du système racinaire peut influencer la dégradation des HAP à travers une microflore dégradante associée aux mycorhizes (Binet, Portal, and Leyval 2001), mais le CMA peut aussi participer plus directement à la dégradation des HAP (Verdin et al. 2006).

Chaque aspect de la phytoremédiation n'a pas été investigué au cours de cette étude, il est cependant important de connaître les relations inhérentes à ce processus complexe car le champ d'étude de la phytoremédiation est quasi illimité. Des processus physiologiques, métaboliques, biochimiques des plantes et microorganismes sont impliqués dans des milieux pouvant présenter des contaminations de nature différente. La revue de littérature présentée en guise de préambule, fait un survol des différents partenaires permettant la réalisation de la phytoremédiation. Dans un premier temps, certaines espèces utilisées en phytoremédiation, comme les plantes hyper-accumulatrices, ainsi que de leurs associations avec divers microorganismes seront présentées. Puis, les champignons mycorhiziens à arbuscules et leur place au sein de la taxonomie seront investigués. Finalement, une présentation des méthodes permettant la détermination de la diversité au sein d'une population sera réalisée.

Peu d'études se proposent d'étudier la distribution de la communauté des CMA au sein des sites hautement perturbés par des hydrocarbures du pétrole (Hassan, Hijri, and St-Arnaud 2013; Hassan Sel et al. 2014; de la Providencia et al. 2015). Bien que l'on ne sache pas avec certitude si les CMA dégradent directement les hydrocarbures présents dans le sol, on sait qu'ils peuvent stimuler l'activité métabolique des bactéries du sol et conduire à une accélération de l'immobilisation, et la translocation des éléments traces et à une dégradation des polluants

organiques (Hassan, Hijri, and St-Arnaud 2013; Joner and Johansen 2001). Dans certains cas, les CMA peuvent modifier indirectement la fonction du sol en modifiant les communautés bactériennes, mais on ne sait pas si cela se produit dans les sols contaminés. Étant un acteur majeur dans le fonctionnement des écosystèmes, il est donc important d'étudier la composition de la communauté des CMA au sein d'un environnement pollué par des hydrocarbures du pétrole pour mieux comprendre les processus permettant l'assainissement des sols mais aussi pour apporter de nouvelles connaissances sur le partenariat plante-CMA en conditions difficiles.

2. PLANTES, MICROORGANISMES ET TAXONOMIE

2.1 Les plantes et les dérivés pétroliers

La présence d'hydrocarbures pétroliers dans le sol modifie l'environnement rhizosphérique des racines des plantes. La survie de toute espèce végétale dans un environnement de croissance particulier dépend principalement de la capacité de la plante à percevoir les changements dans l'environnement local qui nécessitent une réponse adaptative. La capacité des plantes à cataboliser les hydrocarbures pétroliers, en particulier les hydrocarbures aromatiques, est extrêmement limitée, peut-être en raison de l'inadéquation des systèmes enzymatiques nécessaires à la dégradation des HAP dans les tissus végétaux (Wild and Jones 1991; Jenkins 1992). En outre, les plantes n'utilisent pas ces composés comme une source de carbone ou d'énergie comme les micro-organismes. Néanmoins, le métabolisme des HAP à l'intérieur des tissus des racines de la plante peut se produire, en fonction de plusieurs facteurs tels que le milieu de croissance, la composition génétique de la plante, la concentration et les caractéristiques physico-chimiques de l'HAP. Wild (Wild et al. 2005) a montré que les racines du maïs ont pu dégrader de l'anthracène. Ce dernier s'est retrouvé sous la forme de dérivés partiels de anthrone et anthraquinone dans les zones d'allongement et de ramification des racines. La visualisation in situ des mouvements de ces composés xénobiotiques a été permise chimiquement par auto-fluorescence à l'intérieur des tissus de plante vivante à l'aide d'une microscopie confocale multiphotonique (Wild et al. 2005). Il a été suggéré que l'activité de la plupart des enzymes et des systèmes enzymatiques change dans différentes zones de

croissance de la racine et que l'activité enzymatique est relativement élevée dans les zones matures. Les cellules de la zone d'élongation possèdent un profil complet de systèmes enzymatiques et l'activité de certaines enzymes, y compris celles associées à l'absorption et à l'assimilation des HAP, augmente après allongement (Kolek and Kozinka 1991). La dégradation de l'anthracène a été principalement observée dans la région mature de la racine, probablement parce que les enzymes impliquées dans la dégradation des HAP étaient suffisamment développées dans la zone mature des racines des plantes (Wild et al. 2005).

En outre, les recherches menées par Kolb et Harms (Kolb and Harms 2000), Huckelhoven (Huckelhoven, Schuphan, and Thiede 1997), Sandermann (Sandermann 1994) et Harms (Harms, Dehnen, and Monch 1977) sur le fluoranthène, le pyrène et le benzo (a) pyrène dans des suspensions de cellules végétales, ont démontré la biotransformation des HAP en hydroxyl-PAH ou PAH-quinones. Ces métabolites HAP sont souvent considérés comme étant conjugués avec le glucose, l'acide glucuronique ou d'autres composants de paroi cellulaire via les voies mono-oxygénase (Harvey et al. 2002; Anderson, Guthrie, and Walton 1993). Selon Schnoor (Schnoor 1995), l'assainissement peut se produire par l'absorption directe du contaminant dans les tissus végétatifs, ce qui entraîne une transformation par les enzymes végétales, la séquestration dans la plante ou la transpiration à travers les feuilles.

2.2 Les champignons mycorhiziens à arbuscules (CMA)

Les champignons mycorhiziens à arbuscules appartiennent au phylum Glomeromycota, un groupe monophylétique (Morton and Redecker 2001; Redecker 2000b; Redecker 2000; Schüßler et al. 2001). Ces champignons forment une association symbiotique avec plus de 80 % des racines des plantes vasculaires, incluant la plupart des plantes cultivées. Les symbioses mycorhiziennes sont très répandues dans les divers écosystèmes terrestres puisqu'on les retrouve dans tous les types de milieux aussi bien dans des déserts chauds et froids que dans des forêts tropicales et tempérées (Smith 1997). Des analyses de biologie moléculaire et des fossiles ont permis de situer l'origine de la symbiose mycorhizienne arbusculaire à environ 450 millions d'années avant notre ère (Redecker 2000). Cette date coïncide avec celle de l'émergence et la colonisation des habitats terrestres par les plantes primitives (Smith 1997; Simon et al. 1993).

Ces faits suggèrent que les plantes vasculaires et les champignons mycorhiziens arbusculaires ont co-évolué, et que les *Glomeromycota* ont influencé la capacité des plantes à coloniser le milieu terrestre et la diversification de celles-ci (Smith 1997).

Les partenaires fongiques de la symbiose mycorhizienne à arbuscules appartiennent à une lignée primitive des vrais champignons dont la position phylogénétique est débattue (Nadimi et al. 2012). La classification des CMA a connu beaucoup de changement (Schüßler et al. 2001; Schüßler, Krüger, and Walker 2011; Schüßler, Schwarzott, and Walker 2002; Oehl et al. 2011). Les êtres-vivants étant largement classés selon leur morphologie dans le passé, les CMA étaient décrits et répertoriés selon la morphologie de leurs spores (la forme, la couleur, la taille, etc.), les caractères structuraux des parois des spores et l'attachement des hyphes aux spores. Cependant, ces caractères principalement morphologiques étaient très limités ce qui rendait l'identification des espèces des CMA très difficile. L'identification des CMA basée sur la morphologie nécessite beaucoup de temps et une longue expérience en taxonomie (Redecker 2000b; Redecker 2000; Redecker et al. 1999; Redecker and Raab 2006). L'identification et la quantification des CMA sont aussi difficiles parce qu'ils n'ont pas de stade sexuel connu et ne sont pas cultivables en l'absence d'hôte (Edwards et al. 1997). Il résulte de ces contraintes que la systématique traditionnelle des *Glomales* sensu stricto est jugée « artificielle » et elle doit être revue (Schüßler et al. 2001; Schüßler, Schwarzott, and Walker 2002). Par ailleurs, le comptage des spores et leur identification ne reflètent pas suffisamment la structure des communautés réellement actives dans les racines. En effet, la production de spores n'est pas toujours corrélée avec la colonisation des racines (Clapp et al. 1995; Merryweather and Fitter 1998) car la sporulation de certains membres des *Glomeromycota* est assez discontinue voire absente.

Considérés comme biotrophes obligatoires de par leur interaction avec les plantes, les CMA absorbent le carbone que leur fournissent les plantes en échange de services hautement spécialisés. Smith and Read (2008) ont présenté l'impact des CMA sur la croissance et la santé des plantes, la qualité du sol et leur structure, le fonctionnement de l'écosystème et la biodiversité (Smith and Read 2008). Lorsqu'ils sont associés à des végétaux, les CMA s'étendent souvent au-delà des racines dans le sol afin de former un réseau mycélien extraracinaire dont les hyphes coenocytiques entremêlées et multi-nucléées facilitent jusqu'à 90% l'absorption du phosphore (P) par les plantes et améliorent également l'acquisition d'azote (N) en conditions naturelles. Les associations avec les champignons mycorhiziens à arbuscules

offrent également à la plante une tolérance accrue aux stress environnementaux que sont la salinité, la sécheresse, les concentrations en éléments traces élevées et la présence de polluants organiques (Smith 1997). Enfin, les CMA protègent la plante contre les attaques des pathogènes et des ravageurs. Bien que la symbiose mycorhizienne soit très souvent répandue, les contaminants organiques peuvent influencer négativement cette relation mutuellement bénéfique, conduisant à une diminution non seulement de la croissance du CMA, mais aussi une réduction de sa colonisation racinaire, ainsi qu'une diminution de la production de spores. En plus des effets toxiques directs des polluants, les CMA peuvent recevoir des prestations réduites de leurs partenaires chlorophylliens si ces derniers envoient préférentiellement le carbone vers des microorganismes dégradant le pétrole via des exsudats racinaires plutôt qu'aux CMA.

En 2006, environ 200 espèces de CMA avaient été décrites sur la base du type de formation de la spore et des caractéristiques de leurs parois (Redecker and Raab 2006). Certaines études affirment que ce nombre sous-estime largement la diversité des CMA (Vandenkoornhuyse et al. 2002). En 2010, le nombre d'espèces décrites est monté à 216 (Stockinger, Kruger, and Schussler 2010).

2.3 Un taxon vagabond

À l'origine, les CMA étaient tous classés dans un seul ordre, *Glomales*, au sein du phylum *Zygomycota* (Morton and Benny 1990; Morton and Redecker 2001). L'arrivée des analyses moléculaires utilisant des gènes ribosomiaux ont marqué un pas nouveau et elles ont démontré que les CMA seraient plutôt le groupe frère des phyla *Basidiomycota* et *Ascomycota*. En plus, les outils moléculaires ont aussi permis de caractériser de nouvelles lignées ancestrales des *Glomeromycota*, comme les *Archaeosporaceae* et les *Paraglomaceae* (Redecker 2000b; Redecker 2000; Redecker et al. 1999; Redecker and Raab 2006). Les analyses moléculaires ont également montré que la diversité des *glomeromycètes* est beaucoup plus élevée que ce qui avait été trouvée précédemment (Sanders 2002).

En utilisant ces analyses moléculaires (Schüßler et al. 2001; Schüßler, Schwarzott, and Walker 2002) ont proposé alors une nouvelle structure taxonomique conçue sur la base des analyses

phylogénétiques des séquences codant l'ARNr 18S. Les CMA sont regroupés dans un nouveau phylum *Glomeromycota* comprenant quatre ordres et neuf familles. En 2006, (Redecker and Raab 2006) critiquent les phylogénies inférées qui plaçaient les *Glomeromycota* comme groupe frère des *Basidiomycota* et des *Ascomycota*. Ils affirmaient que ces phylogénies n'étaient pas toujours bien supportées et que, de plus, elles indiquaient que les *Zygomycètes* ne seraient peut-être pas si éloignés des *Mortierellales*, des *Chytridiomycota* et des *Glomeromycota*.

Tout récemment, plusieurs études ont utilisé des séquences des génomes mitochondriaux complets au lieu de séquences nucléaires pour inférer la phylogénie des *gloméromycètes*. Les résultats ont démontré que les *glomeromycètes* seraient vraisemblablement un groupe frère des *Mortierellales*, un ordre autrefois placé dans *Zygomycota* (Lee and Young 2009; Nadimi et al. 2012; Nadimi, Daubois, and Hijri 2016; Pelin et al. 2012).

Les CMA ont connu plusieurs changements non seulement au niveau de leur phylum mais aussi à tous les autres niveaux taxonomiques. Un des exemples les plus marquant est celui de l'isolat DAOM 197198 qui est le plus étudié des CMA. En effet, après son isolation d'une pépinière à Pont-Rouge près de la ville de Québec en 1988 par Valentin Furlan et André Fortin, il était identifié comme étant un isolat appartenant à l'espèce *Glomus intraradices*. En utilisant des analyses phylogénétiques basées sur le gène de l'ARNr 18S, Stockinger et al. (2009) ont démontré que cet isolat appartenait à l'espèce *Glomus irregulare* (Stockinger, Walker, and Schussler 2009). Ceci a été confirmé par d'autres analyses phylogénétique en utilisant plusieurs gènes fonctionnelles (Sokolski et al. 2010).

Un remaniement majeur de la taxonomie du phylum *Glomeromycota* a été proposé par Schüssler et al. (2010) dans lequel de nouveaux noms de genres sont apparus parmi lesquels le genre *Rhizophagus* (Schüssler and Walter 2010). Suite à cette publication, l'isolat DAOM 197198 a été renommé *Rhizophagus irregularis*. En 2014, Sieverding et al. (2014) a proposé le remplacement du genre *Rhizophagus* par *Rhizoglomus*, et l'isolat DAOM 197198 est devenu *Rhizoglomus irregulare* (Sieverding et al. 2014).

Avec les avancés technologiques notamment le séquençage dit « de nouvelle génération », la phylo-génomique pourrait résoudre la position évolutive des CMA et apporter de nouvelles informations pour supporter la classification des CMA. Spatafora et al. (2016) ont utilisé la phylo-génomique basée sur l'analyse des séquences de 192 protéines, et ils ont proposé le groupement des CMA dans un nouveau sous-phylum *Glomeromycotina* qui serait à la base des

Mucoromycotina et *Mortierellomycotina* (Spatafora et al. 2016). Ces exemples illustrent bien les changements perpétuels de la taxonomie des CMA. De toute évidence, il reste encore beaucoup de travail à faire avant de pouvoir reconstituer l'histoire évolutive des CMA.

2.4 Utilisation des champignons mycorhiziens en phytoremédiation

Les bactéries et les champignons sont omniprésents dans l'environnement d'une plante, un état de fait perdurant depuis l'avènement des angiospermes, et même antérieurement à cette période. De ce voisinage a découlé la formation de liens symbiotiques avec certains de ces organismes qui secondent les plantes et les aident à survivre lorsque les conditions ne sont pas optimales. On a observé que les taux de dégradation des HAP augmentaient lorsque certaines plantes étaient inoculées avec le champignon mycorhizien arbusculaire *Glomus caledonium* (Liu et al. 2004; Joner and Leyval 2001). De plus, la dégradation de l'antracène a été rapportée en présence de plantes de chicorée, et on a constaté que la dégradation était plus élevée lorsque les racines étaient colonisées par les mycorhizes arbusculaires, notamment *Glomus intraradices*. Les études de Binet et al. montrent également que la dégradation de l'antracène était plus importante en présence de racines mycorhizées qu'en l'absence de colonisation mycorhizienne (Binet, Portal, and Leyval 2001).

3. LA BIODIVERSITÉ AU SEIN D'UN SITE

3.1 La diversité α

Avant de parler de diversité α ou β , il est important de définir la Biodiversité. Freedman (Freedman et al. 1981) la décrit comme : « la richesse de la variation biologique ». Wilson (1992), lui préfère la décrire comme : « la diversité de toutes les formes vivantes ». On peut aussi dire que la biodiversité est la variété de la vie sur la Terre. Elle se mesure par la variété au sein des espèces (diversité génétique), entre les espèces (diversité des espèces) et au sein des habitats (diversité des écosystèmes).

Dans ce contexte, la richesse spécifique mesure la biodiversité de tout l'écosystème ou d'une partie de celui-ci. Elle désigne le nombre d'espèces présentes dans un milieu donné. L'une des mesures de cette richesse est la diversité α . Celle-ci peut être défini comme le nombre des espèces qui coexistent dans un habitat uniforme de taille fixe. Il existe de nombreuses mesures permettant le calcul de la diversité α . Lorsque l'on utilise les méthodes phylogénétiques, la diversité α est calculée comme la totalité de la longueur de la branche unique dans l'arbre.

3.1.1 *Mesure de la diversité α en utilisant l'indice de la variabilité des espèces phylogénétiques (PSV)*

Afin d'examiner l'influence de l'espèce de plante sur la phylodiversité puis l'influence de la localisation de chaque répliqua de chaque espèce de plante sur cette diversité et vérifier si les différences sont statistiquement significatives, on réalise une analyse de Phylodiversity Species Variability (PSV).

La structure phylogénétique d'un ensemble d'espèces peut être décrite par différentes mesures, qui visent à informer sur le degré de regroupement (les espèces sont, en moyenne, plus étroitement liées que prévu par le hasard), sur-dispersion (les espèces sont, en moyenne, plus lointainement apparentée que prévu par le hasard) ou de l'aléatoire dans la structure

phylogénétique d'un assemblage. La variabilité des espèces phylogénétiques (PSV) résume le degré de parenté phylogénétique entre les espèces dans un assemblage, compte tenu de toutes les espèces ou des plus proches parents seulement.

3.2 La diversité β

Le terme diversité β a été introduit par R.H. Whittaker en 1960 (Whittaker 1960). Il peut être traduit comme « l'ampleur du changement dans la composition de la communauté ou le degré de différenciation de la communauté par rapport à un gradient complexe de l'environnement ou à un modèle d'environnements ». Dans son article original, Whittaker a proposé plusieurs façons de quantifier la diversité β . Dans sa forme la plus simple (que nous appellerons la diversité β , au sens strict du terme), la diversité β est définie comme le rapport entre les diversités gamma (régionale) et α (locale) (Whittaker 1960). C'est donc le nombre effectif d'unités de composition distinctes dans la région (Tuomisto 2010). Essentiellement, la diversité β quantifie le nombre de communautés différentes dans la région. Il est donc clair que la diversité β ne tient pas seulement compte de la relation entre la diversité locale et régionale, mais informe également sur le degré de différenciation entre les communautés biologiques.

De nombreuses mesures différentes de la diversité β ont été introduites, mais il n'y a pas de consensus global sur celles qui sont les plus appropriées pour répondre à des questions écologiques particulières (Vellend 2001; Jost 2007; Tuomisto 2010).

Beaucoup d'écologistes utilisent maintenant la diversité β pour décrire des mesures qui intègrent des informations supplémentaires, telles que l'abondance relative d'espèces (Legendre 2007) ou les relations taxonomiques, phylogénétiques ou fonctionnelles entre les espèces (Izsak 2001; Clarke, Somerfield, and Chapman 2006; Graham and Fine 2008; Swenson, Anglada-Cordero, and Barone 2010).

La diversité β totale a été analysée par le calcul de la variance totale de la matrice des espèces en utilisant la fonction `beta.div` dans le logiciel R. Cette méthode calcule la somme des carrés de la matrice d'espèces et de celle-ci, on peut obtenir un indice de la variance totale des données qui représentent la diversité β totale, et elle peut être comparée entre les unités d'échantillonnage (Legendre and De Caceres 2013). L'un des avantages de concevoir diversité β comme la

variation totale de Y est que SSTotal permet l'évaluation des contributions des différentes espèces et de différentes unités d'échantillonnage à la diversité globale β (Legendre and De Cáceres 2013). La diversité β totale peut alors être partitionnée en la Contribution des espèces à la diversité β (degré de variation de l'espèce le long de la zone étudiée ou SCBD) et Contribution locale à la diversité β (Local Contributions to β Diversity ou LCBD).

3.2.1 *Contribution des espèces et contribution locale à la diversité β*

Les valeurs de LCBD sont des indicateurs comparatifs de l'unicité écologique des unités d'échantillonnage. Pour les données sur la composition des communautés transformées de manière appropriée (ici Hellinger), les indices de LCBD sont les sommes des lignes des données dans la matrice Y transformées par le centrage de chaque colonne et la quadrature. Des valeurs élevées de LCBD identifient les sites qui ont une composition spéciale en espèces et donc une forte valeur de conservation, ou des sites dégradés qui ont besoin d'être restaurés (Gower and Legendre 1986).

Les indices SCBD indiquent les espèces qui varient plus (ou moins) que la moyenne sur les sites. Le calcul des indices SCBD est utile pour déterminer quelles espèces présentent de fortes variations dans la zone d'étude. Les indices SCBD n'ont pas la même interprétation que les espèces indicatrices pour les groupes de sites (Cáceres and Legendre 2009). Les sites où les espèces avec de grandes valeurs de SCBD sont abondantes et dominent la communauté auront généralement de grands indices LCBD.

PROBLÉMATIQUE

Le choix de la meilleure approche pour la sélection des microbes efficaces dans la remédiation des sols pollués aux HAP doit être fondée sur la connaissance préalable des communautés microbiennes présentes naturellement sur le site d'étude (Bell et al. 2014; Hassan, Hijri, and St-Arnaud 2013; Hassan Sel et al. 2011). En effet, l'exposition à long terme à un contaminant permet à différents microbes de développer une tolérance à ce contaminant et/ou acquérir de nouvelles fonctions de dégradation ou séquestration des polluants par des échanges génétiques. À leur tour, ces microbes facilitent l'assainissement des sites pollués.

De nombreuses évidences montre le rôle important des plantes dans le consortium tripartite qu'elles forment avec les CMA et les bactéries. Lorsqu'elles rencontrent un défi, les racines réagissent typiquement en sécrétant des exsudats racinaires (Engels 2000; Stintzi and Browse 2000) créant ainsi une communication positive ou négative avec d'autres racines et organismes du sol (Grayston, Vaughan, and Jones 1996). Le profil des exsudats racinaires n'est pas homogène entre les espèces végétales, dans des conditions environnementales différentes ou le long de l'axe des racines (Grayston, Vaughan, and Jones 1996; Stotz HU 2000). Les processus d'exsudation racinaires peuvent contribuer à améliorer la condition physique des plantes à partir de la phytoremédiation des sols contaminés aux HAP, car la présence d'exsudats racinaires particuliers peut stimuler la prolifération des microorganismes dégradant les HAP dans la rhizosphère (Siciliano et al. 2003; Phillips, Greer, and Germida 2006).

Certains microorganismes parmi les bactéries (par exemple certaines espèces du genre *Pseudomonas*), les champignons filamenteux (par exemple certaines espèces du genre *Cladosporium*) et les levures (par exemple certaines espèces du genre *Candida*) peuvent utiliser les hydrocarbures pétroliers comme seule source de carbone et l'énergie. De plus, plusieurs espèces de microorganismes sont capables de dégrader et métaboliser les hydrocarbures, y compris les hydrocarbures aromatiques.

Alors que la dégradation des contaminants organiques est principalement basée sur les activités cataboliques des microorganismes et de leurs enzymes (Smith 2006; Liste and Alexander 2000), il a été rapporté que des changements dans les profils d'exsudats des racines des plantes ont été induits par la présence d'hydrocarbures pétroliers dans la rhizosphère. Ceux-ci peuvent

provoquer une altération du nombre et la diversité des microorganismes rhizosphériques (Walton, Guthrie, and Holyman 1994; Phillips, Greer, and Germida 2006), avec un impact positif sur la dégradation des contaminants.

Ainsi, ces observations ont permis de soulever les questions suivantes : quelle est la diversité des champignons mycorhiziens à arbuscules associées à deux espèces de plantes *Eleocharis obtusa* et *Panicum capillare* qui poussent spontanément dans des bassins de décantation de polluants organiques ? Comment varie la structure des communautés des CMA associées à ces plantes varie-t-elle en fonction des facteurs tels que l'année d'échantillonnage, l'espèce de plante et l'habitat ?

OBJECTIFS DE L'ÉTUDE

Mon projet de maîtrise s'insère dans le grand projet « GenoRem » qui vise à améliorer l'efficacité de la phytoremédiation en étudiant les relations complexes qu'entretiennent les plantes, les bactéries et les champignons mycorhiziens à arbuscules afin de décontaminer des sols pollués. Les objectifs spécifiques de recherche de mon projet sont :

1- Documenter la diversité des CMA associée à deux espèces de plante *Eleocharis obtusa* et *Panicum capillare* et étudier les structures de communautés des CMA à partir des échantillons des sols rhizosphériques et de racines de ces plantes présentes dans un bassin hautement contaminé par des hydrocarbures pétroliers de façon très hétérogène.

2- Identifier les paramètres qui influencent les changements de structures des communautés de CMA.

3- Identifier les relations spécifiques entre les OTU de CMA, les espèces de plantes et l'habitat (racine ou sol).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Site d'étude et échantillonnage

Le site d'étude est situé dans la zone industrielle de Varennes, à quelques kilomètres au sud de la ville de Montréal, Québec, Canada (45°40'N ; 73°25'W). Le site se trouve sur la rive sud du fleuve St-Laurent, le transporteur primaire de drainage du bassin des Grands Lacs. Ce site est un terrain plat avec un climat tempéré (température moyenne annuelle : 6,2°C ; les précipitations annuelles : 978,9 mm [www.stat.gouv.qc.ca]. La chimie et l'écologie du site ont été décrites précédemment et en détail dans Guidi et al., 2011. Le site abritait autrefois des activités de pétrochimie, mais a également été utilisé pour la production d'éthanol et de dioxyde de titane. Actuellement, le secteur est une zone industrielle entourée principalement par les activités agricoles. Des parties de cette zone ont servi de bassins de sédimentation pour divers déchets industriels qui avaient été générés sur place. Les activités industrielles ont cessé en 2008. Les bassins ont été vidés et sont restés ouverts à une re-végétalisation spontanée.

Deux espèces de plantes *Eleocharis obtusa* (A) et *Panicum capillare* (B) ont été sélectionnées dans cette étude car elles semblaient être les seules à pouvoir pousser dans des zones de contamination extrême.

Dans ces bassins pollués, trois points d'échantillonnage ont été choisis sur la base de leur abondance des plantes d'intérêt. À chaque point d'échantillonnage, 3 répliques de rhizosphère et racines ont été prélevées sur 4 plantes A et 4 plantes B. Les points d'échantillonnage pour la plante A ne sont pas les mêmes que pour la plante B. Les 3 répliques de rhizosphère ou de sol pour chaque plante seront mélangés pour former un échantillon composite. L'ensemble des points d'échantillonnage couvre l'ensemble du bassin. Nous avons 4 échantillons de rhizosphère et 4 échantillons de racines pour chaque espèce de plante.

Les échantillons des sols rhizosphériques et des racines d'*E. obtusa* et *P. capillare* ont été récoltés en octobre 2011 et 2012. À ce stade, nous avons 4 échantillons de rhizosphère et de sol par plante soit 16 échantillons par année d'échantillonnage. Chaque échantillon a été prélevé à

une profondeur de 10 cm. Les échantillons composites ont été faits par le mélange à quantité égale des trois répliquas prélevées d'une plante. 3 échantillons n'ont pas produit de séquences exploitables pour cette étude, il nous reste donc 13 échantillons par année. Au total, il y a 13 échantillons par année soit 26 échantillons. L'ensemble des informations est résumé dans la figure 1.

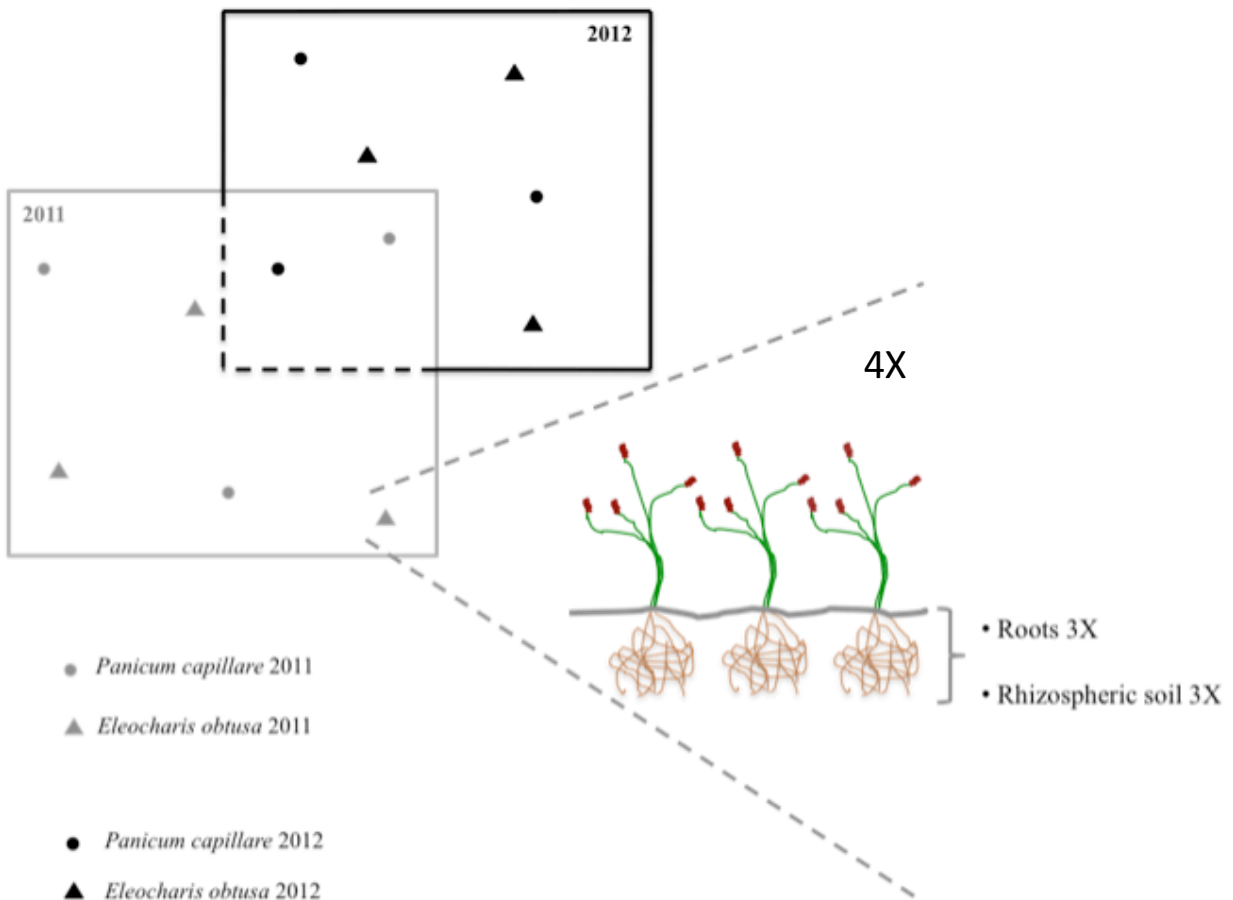


Figure 1. Dessin schématique de la conception expérimentale et de l'échantillonnage. Les carrés représentent le bassin pollué par hydrocarbures chaque année.

2. Extraction d'ADN, amplification par PCR, clonage et séquençage

Afin de construire le jeu de données nécessaire pour la réalisation d'une phylogénie, une extraction d'ADN a été réalisée. La technique consiste à amplifier par réaction de polymérase en chaîne (PCR) des régions de l'ADN nucléaire ribosomique (ADNr) qui codent les différents ARN ribosomiques (ARNr) 18S à l'aide d'amorces nucléotidiques spécifiques des CMA (White et al. 1990).

L'ADN génomique a été isolé à partir de 250 mg de sédiments ou sol rhizosphérique (poids humide) en utilisant le kit d'extraction d'ADN PowerSoil (Mo Bio laboratoires, Solana Beach, Californie). L'ADN génomique total des échantillons de racines a été isolé à partir d'environ 100 mg de tissus de racines en utilisant le kit DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Toronto, ON). Le gène 18S de l'ARNr a été amplifié en utilisant le couple d'amorces AML1 / AML2 (Lee, Lee et Young, 2008). Le mélange de PCR était constitué de tampon 1 x PCR, 1,5 mM de MgCl₂, 0,2 mM de chaque triphosphate de désoxynucléotide, 1 mg d'albumine de sérum bovin (Sigma, St. Louis, MO), 0,5 mM de chaque amorce et une unité de HotStart Taq DNA polymérase (Qiagen, Toronto, ON) dans un volume total de 25 µl. Les conditions PCR étaient les suivantes : dénaturation initiale à 95°C pendant 3 min ; 30 cycles de (pré-clonage PCR) pour 38 cycles (poste de clonage par PCR) à 94°C pendant 45 s, 55°C pendant 45 s, 72°C pendant 1 min et un allongement final à 72 ° C pendant 10 min. Les PCR ont été réalisées sur un thermocycleur Eppendorf Mastercycler ProS (Eppendorf, Mississauga, ON). Les produits de PCR ont été visualisés sur GelRed colorés 1,5% de gels d'agarose en utilisant un système Gel-Doc (Bio-Rad, Mississauga, ON). La procédure de clonage a suivi le protocole décrit dans Stefani, Jones et May (2014) et Beaudet et al. (2015) avec des modifications mineures : 2 µl de produit de ligature a été utilisé pour transformer 12,5 µl de cellules compétentes. Les colonies bactériennes blanches ont été amplifiées comme décrit ci-dessus, sauf que le HotStart Taq a été remplacé par Kapa Taq (Kapa Biosystems, Boston, MA). Le séquençage a été réalisé par le Centre d'innovation Génome Québec (Université McGill, Montréal, Canada) en utilisant le séquenceur Applied Biosystems ADN 3730xl.

3. Réalisation d'une phylogénie

Afin de connaître les groupes taxonomiques présents sur le site d'échantillonnage, j'ai réalisé une phylogénie. Les séquences nettoyées ont été alignées en utilisant l'outil MUSCLE de Geneious (Schloss, Gevers, and Westcott 2011; Edgar 2004). Dans un deuxième temps, les 1839 séquences de l'ADNr 18S de CMA obtenues à partir du séquençage ont été ordonnées en unités taxonomiques organisationnelles (OTU). Pour ce faire, la première étape de ce travail est de regrouper les séquences ayant une identité similaire à 98% ensemble en utilisant une approche liée à la phylogénie. Une première phylogénie a été obtenue à partir des séquences d'ADNr 18S en utilisant les packages APE et Phangorn. Celle-ci servira pour le regroupement en OTU à 98% en utilisant le package Cluster. Ainsi, à l'issue de cette première étape, le nombre de séquences originales a été réduit drastiquement de 1839 séquences d'ADNr 18S à 56 regroupements de séquences de CMA.

Seules les OTU avec une abondance cumulative supérieure à 0,5% pour le traitement présenté ont été considérées. Ainsi, 26 OTU ont été sélectionnés. Chaque OTU a été comparé à la base de données MaarJAM, spécialiste pour les séquences des champignons mycorhiziens à arbuscules. Les séquences les plus proches (forte homologie) ainsi que les séquences provenant des travaux de Kruger sur la phylogénie des CMA seront alignées. Enfin, un arbre a été construit selon la méthode bayésienne (Kruger et al. 2012).

3.1 Inférence bayésienne contre Maximum de vraisemblance

Les CMA forment un groupe phylogénétique qui s'est beaucoup baladé au sein de la phylogénie. Il est important de proposer une phylogénie qui soit le plus proche possible de la réalité.

Une grande part des avancées de la phylogénétique moléculaire est liée aux algorithmes de reconstruction proprement dit. Il existe de nombreuses méthodes de reconstruction.

Parmi les méthodes probabilistes, on compte notamment le maximum de vraisemblance et l'inférence Bayésienne.

Le maximum de vraisemblance repose sur le calcul indépendant de la vraisemblance sur chaque point d'échantillonnage. Il recherche la vraisemblance des données sous différentes hypothèses évolutives d'un modèle d'évolution et en retient les hypothèses qui rendent cette vraisemblance maximale. Le maximum de vraisemblance cherche donc à trouver l'arbre dont la vraisemblance est maximale pour les séquences observées et le modèle d'évolution choisi. Pour trouver l'arbre le plus vraisemblable, les bases de toutes les séquences à chaque point d'échantillonnage sont considérées séparément et le logarithme de la vraisemblance est calculé pour une topologie donnée, en utilisant un modèle d'évolution particulier. Le logarithme de la vraisemblance est cumulé sur tous les points d'échantillonnage et sa somme est maximisée pour estimer la longueur des branches de l'arbre. Cette procédure est répétée pour toutes les topologies possibles et la topologie ayant la plus grande vraisemblance est choisie.

Les méthodes bayésiennes sont similaires au maximum de vraisemblance. Elles diffèrent de celles-ci par l'utilisation d'une distribution à priori de la quantité qui est en train d'être inférée. Elles sont donc plus rapides tout en proposant un traitement d'une masse plus importante de taxons. La notion de probabilité postérieure considérée ici est la probabilité de l'hypothèse H sachant les données, ce qui diffère du maximum de vraisemblance où l'on cherche la probabilité d'observer les données D sous une hypothèse X .

3.2 Inférence Bayésienne

La probabilité postérieure d'un arbre phylogénétique pouvant être interprétée comme la probabilité que cet arbre soit vrai sachant les données, les inférences sont réalisées à partir de la distribution de probabilité postérieure des différents arbres évalués au cours de l'analyse. De manière analogue à la méthode du maximum de vraisemblance, l'arbre de probabilité postérieure maximale peut ainsi être déterminé facilement.

Cependant, l'approche bayésienne comporte certains problèmes. Ainsi il est nécessaire d'avoir une distribution à priori sur les hypothèses. Ceci pose un problème si nous n'en avons aucune ou si elle est controversée. La méthode bayésienne est donc souvent associée à un modèle MCMC (Monte Carlo Markov Chain). En prenant la forme d'une marche guidée à travers l'espace multidimensionnel des paramètres, la chaîne de Markov peut être employé pour estimer une

distribution de probabilité en échantillonnant les valeurs de ces paramètres de façon périodique. L'approximation de la distribution sera d'autant plus exacte que le nombre de pas effectués par la chaîne de Markov sera élevé (Ronquist 2003).

4. Analyses bio-informatiques et statistiques

Les séquences ont été modifiées, nettoyées et alignées en utilisant le logiciel Geneious Pro v6.1.2. (Biomatters Ltd, Auckland, Nouvelle-Zélande). Le seuil de similarité des séquences SSU appartenant à la même unité taxinomique opérationnelle (OTU) a été fixé à 98% (distance de pairwise non corrigée) pour servir de proxy pour les « espèces ». La présence de chimères a été inspectée en utilisant BLASTN (Altschul et al., 1990). La détection de chimères a été effectuée aussi bien en utilisant la commande `uchime_denovo` comme présenté dans USEARCH v7.0.595 (Edgar et al. 2011). Les brins forward et reverse ont été utilisé pour chaque séquence puis les contigs ont été obtenues. Ces derniers ont été alignés de façon multiple en utilisant MUSCLE (Edgar 2004) puis MAFFT. Les séquences consensus de chaque contigue ont été combinées avec les séquences provenant des travaux de J KRUGER (Edgar 2004) et les séquences des bases de données MaarjAM (Õpik et al. 2010) présentant le plus haut degré de similarité avec celles séquencées. Pour déterminer la diversité α et β , le software R (R Foundation for Statistical Computing; available at <http://www.R-project.org>) a été utilisé. Les métriques tels que Phylodiversity Species Variability (PSV) et `beta.div` ont été calculées.

Pour tester les différences dans la structure phylogénétique, il fallait calculer l'abondance moyenne de chaque OTU de CMA pour chaque niveau de pollution, et comparer la structure phylogénétique de chaque pair d'OTU en calculant la valeur de l'effet standardisé de la distance phylogénétique de paires moyennes. Cette mesure compare une relation phylogénétique observée à un motif attendu sous un modèle nul de phylogénie ou de communauté aléatoire. En d'autres termes, la valeur de l'effet standardisé décrit la différence entre des distances de phylogénie moyenne dans des communautés observées par rapport à des communautés nulles générées avec une méthode aléatoire, standardisée par une déviation standard de la distance phylogénétique dans des données nulles. Ainsi, le calcul de la valeur de l'effet standardisé de la

distance phylogénétique de pairs moyennes permettra de montrer si la structure des communautés est aléatoire ou regroupée pour chaque échantillon récolté. Ces calculs ont été réalisés en utilisant la fonction "picante" fourni dans R v3.0.2 (Kembel et al. 2010).

Il est nécessaire de savoir si la variabilité de nos PSVs est liée à des facteurs tels que l'espèce de plante ou la localisation pour se faire des régressions linéaires ont été réalisées. Enfin, un test de Student a été réaliser pour évaluer l'impact de l'espèce de plante et la localisation sur la variation de la phylodiversité au sein des 13 échantillons de l'étude.

Les communautés de CMA issues du sol et de la rhizosphère ont été ensuite étudié avec une ACP en utilisant une matrice de Corrélation. Enfin, pour déterminer si les co-variables telles que la localisation et de l'OTU dans la racine ou le sol, l'espèces de plantes ou l'année d'échantillonnage possèdent un effet significatif sur la structure de communauté des CMA, on réalise une MANCOVA.

5. Détermination de l'abondance de chaque OTU chez les deux plantes étudiées

L'abondance d'un taxon est le nombre d'individus de ce taxon par unité d'espace. Cette définition réfère à la densité de la population de l'organisme. Associée à deux autres concepts que sont la répartition et la dominance, l'abondance correspond à une mesure de base en écologie et reflètent l'influence qu'ont les facteurs biologiques et environnementaux sur un organisme. Les organismes sont généralement plus abondants là où les conditions sont plus favorables. L'abondance est liée à la capacité de survivre et de reproduction des organismes. Tout facteur influant sur la survie ou la reproduction d'un organisme fera varier son abondance. Elle permet également de définir les tendances à l'installation ou à la raréfaction des individus des taxons pérennes et ainsi d'évaluer les tendances évolutives (dégradation) d'un organisme. Le dénombrement des individus de chaque espèce fut effectué. Ainsi, dans tout cela, l'abondance relative correspond au nombre d'individus par unité d'espace (cm) pour une espèce donnée par rapport au nombre total d'individus toutes espèces confondues.

6. Déterminer la diversité du site

6.1 La diversité α

Pour décrire les schémas spatiaux dans la biodiversité des CMA, il fallait calculer la diversité α c'est-à-dire la richesse des taxa chez chaque plante, la diversité bêta (variation de la richesse des taxa entre les différentes plantes). La diversité α correspond le nombre de taxa trouvés dans chacun des échantillons de plantes.

6.2 La diversité β

La diversité β a été calculé comme la variance de la matrice de données de CMA à travers les différentes plantes (Legendre et al., 2005) et répartis en contributions locales de sites (LCBD) et de taxa (SCBD) en calculant les sommes marginales des carrés de la Matrice de Hellinger de données transformées (Legendre and De Caceres 2013).

La variance des sites par matrice d'espèces peut être obtenue en fonction de la matrice de l'écart carré par rapport à la moyenne. Ensuite, la somme du carré (SSTotal) peut être calculée et permettre d'obtenir un estimateur impartial de la variance : $\text{Var}(Y) = \text{SSTotal} / (n-1)$ (Legendre and De Caceres 2013).

Ensuite, la contribution de chaque espèce peut être calculée comme la somme du carré de la jème espèce (SSj). La contribution relative de l'espèce j à la diversité globale, appelée la contribution d'espèces à la diversity bêta (SCBDj) (Legendre and De Caceres 2013), est ensuite obtenue par : $\text{SCBDj} = \text{SSj} / \text{SSTotal}$. De même, la contribution locale relative du site à la diversité β peut être évaluée par $\text{LCBDi} = \text{SSi} / \text{SSTotal}$. Les valeurs de LCBD représentent le degré d'unicité du site en termes de composition de la communauté, de sorte que le site est atypique et le SCBD représente le degré d'unicité de chaque OTU d'espèces.

Afin de calculer la diversité β , j'ai utilisé le package « *béta.div* » disponible dans R et créé par Pierre LEGENDRE (Legendre and De Caceres 2013).

Lorsque l'on travaille sur de la diversité β , les équations ne doivent pas être calculées directement sur les données brutes de l'abondance ou de biomasse des OTU d'espèces. Les données doivent d'abord être transformées d'une manière appropriée.

De plus, les données relatives à une communauté présente dans des conditions environnementales variables, par exemple le long de longs gradients environnementaux, contiennent généralement beaucoup de valeurs nulles, des zéros. En effet, les espèces sont connues pour avoir généralement des distributions uni-modales le long de ces gradients (Braak and Prentice 1988) et d'être absent des sites les plus éloignés de leurs conditions de vie optimales. La proportion de zéros est plus grande lorsque les conditions environnementales sont plus variables à travers les sites d'échantillonnage.

Afin de régler le problème des doubles zéros au sein des matrices, une autre méthode de calcul des coefficients de distance asymétriques a été proposée par Legendre (Legendre and Gallagher 2000). Le procédé consiste en une transformation des données sur la composition de la communauté suivie par le calcul des distances euclidiennes (D1) entre les sites. Ces deux étapes produisent une fonction de distance correspondant au nom de la transformation. Ici on a une distance de Hellinger (Données transformées Hellinger + distance Euclidienne => distance de Hellinger).

7. Analyse en composante principale

Afin d'investiguer un peu plus les relations entre les plantes et les CMA, on réalise une Analyse en Composantes principales (ACP) qui fait partie du groupe des méthodes descriptives multidimensionnelles appelées méthodes factorielles. Dans la mesure où ce sont des méthodes descriptives, elles ne s'appuient pas sur un modèle probabiliste, mais elles dépendent d'un modèle géométrique (Borcard, Gillet, and Legendre 2011).

Lorsqu'on étudie simultanément un nombre important de variables quantitatives, comment en faire un graphique global ? La difficulté vient de ce que les individus étudiés ne sont plus représentés dans un plan soit un espace de dimension 2, mais dans un espace à multiples dimensions. L'objectif de l'analyse en composantes principales est de représenter les individus étudiés dans un espace de dimension réduite (par exemple 2 dimensions) en déformant le moins possible la réalité. Il s'agit donc d'obtenir le résumé le plus pertinent possible des données initiales, comme cela peut être le cas par une représentation graphique avec un nuage de points classique en 2D ou un nuage de points 3D. Souvent, et notamment en biologie, les variables

sont intercorrélées : il y a une grande redondance dans l'information qu'elles présentent. Il n'y a donc probablement pas besoin d'un espace à p dimensions pour restituer toute l'information, sachant que la plupart des dimensions apportent peu ou prou la même information. Une ACP consiste donc en la transformation des p variables originelles, fortement liées entre elles, en nouvelles variables décorréelées les unes des autres par construction. Ainsi, chaque variable nouvellement créée fournit toujours une information totalement nouvelle par rapport aux variables précédentes. Ces nouvelles variables seront nommées composantes principales, ou plus simplement axes. La donnée d'un petit nombre de composantes principales permet généralement d'épuiser la quasi-totalité de l'information initialement fournie par les p variables originelles intercorrélées. En réalisant une ACP, on accepte toutefois de perdre un petit pourcentage d'information, ce qui n'est pas gênant, voire avantageux : la structure principale des données est conservée tandis que le bruit est éliminé. C'est la matrice des variances-covariances (ou celle des corrélations) qui permettra de réaliser ce résumé pertinent, parce qu'on analyse essentiellement la dispersion des données considérées. De cette matrice, on extrait, par un procédé mathématique approprié, les facteurs que l'on recherche, en petit nombre. Ils vont permettre de réaliser les graphiques désirés dans cet espace de petite dimension (le nombre de facteurs retenus), en déformant le moins possible la configuration globale des individus telle qu'elle est définie par l'ensemble des variables initiales (ainsi remplacées par les facteurs). Pour calculer l'ACP, j'ai utilisé le package « *ACP* » disponible dans R et conçu par Pierre LEGENDRE.

7.1 Problèmes des Doubles Zéros et Transformation de Hellinger

Les données relatives à une communauté présente dans des conditions environnementales variables, par exemple le long de longs gradients environnementaux, contiennent généralement beaucoup de valeurs nulles, des zéros.

Afin de régler le problème des doubles zéros au sein des matrices, une autre méthode de calcul des coefficients de distance asymétriques a été proposée par Legendre (Legendre and Gallagher 2000). Le procédé consiste en une transformation des données sur la composition de la

communauté suivie par le calcul des distances euclidiennes (D1) entre les sites. Ces deux étapes produisent une fonction de distance correspondant au nom de la transformation. Ici on a une distance de Hellinger (Données transformées Hellinger + distance Euclidienne => distance de Hellinger) (Gower and Legendre 1986; Legendre and Gallagher 2000).

8. Analyse de co-variance multivariée ou MANCOVA

L'Analyse de la Covariance multivariée ou MANCOVA est similaire à l'Analyse de la Variance Multivariée, mais permet de contrôler les effets des variables co-variables indépendantes continues supplémentaires. Elles visent à déterminer l'effet d'une variable catégorielle (indépendante) sur une variable continue (dépendante).

La particularité de la MANCOVA est de calculer cet effet en contrôlant l'effet d'une autre variable continue qui a un impact présumé sur la relation initiale.

Par exemple, pour comparer la composition de la communauté des CMA entre les deux plantes de l'étude, les différentes années d'échantillonnage ont une influence qu'il faudrait contrôler. Ces variables contrôlées sont appelées « co-variables ». La co-variable est nommée ainsi, car on la suspecte de co-varier avec la variable dépendante et d'affecter indirectement la relation qui existe entre la variable indépendante et la variable dépendante.

Le but de la MANCOVA est de tester la relation initiale en supprimant statistiquement l'effet indirect des co-variables. Ceci revient à tester l'effet de la variable indépendante (catégorielle) sur la variable dépendante (continue) une fois que l'effet de la co-variable sur la variable dépendante est enlevé. Pour le calcul de la MANCOVA, j'ai utilisé la fonction « *MANOVA* » disponible dans R.

RÉSULTATS ET INTERPRÉTATIONS

Phylogénie

Après filtration de la qualité, un total de 1869 séquences SSU d'ADNr ont été analysés, et celles-ci représentaient un total de 56 OTU à un seuil de similarité de 97%. Seuls 26 OTU avec une abondance cumulative supérieure à 0,5% ont été considérés.

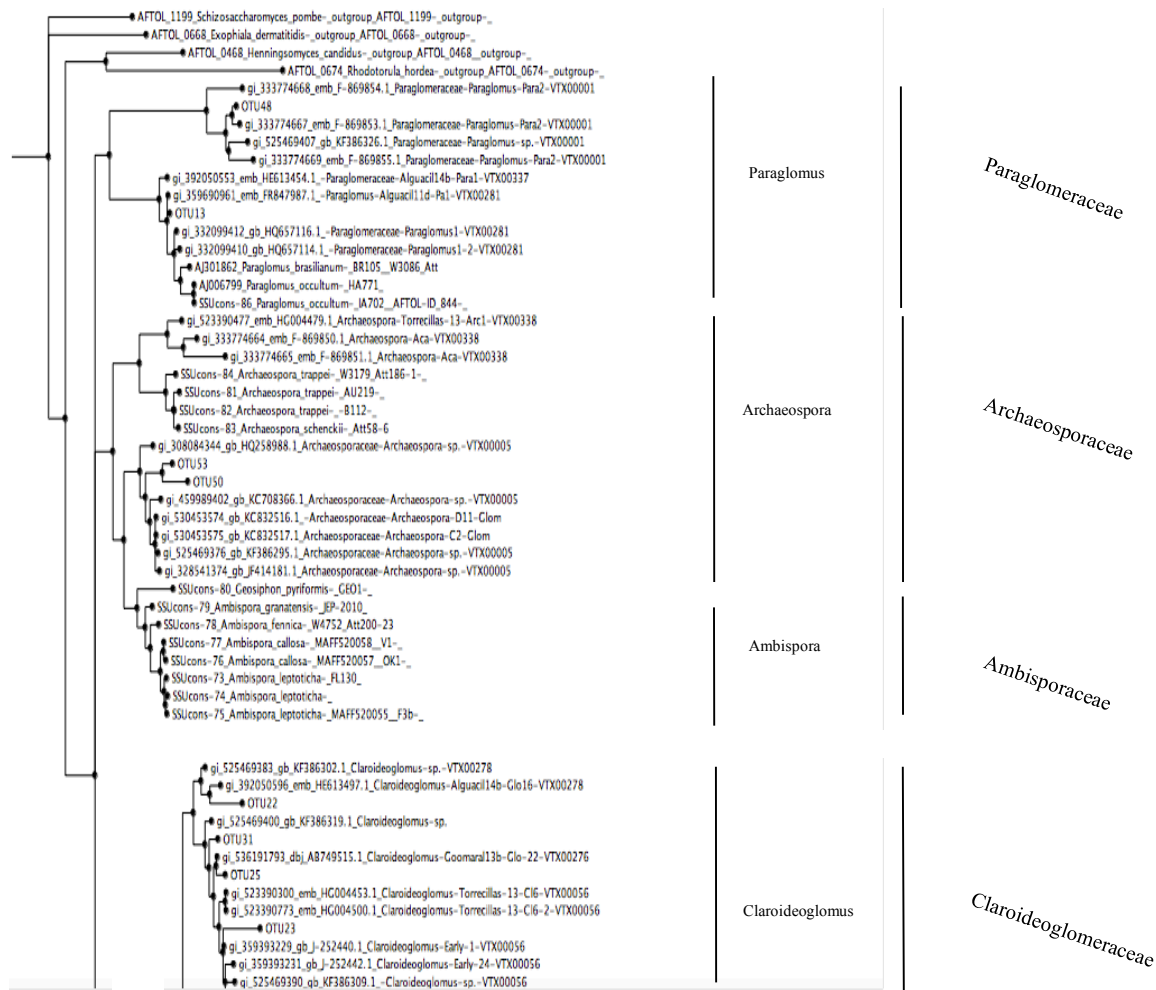
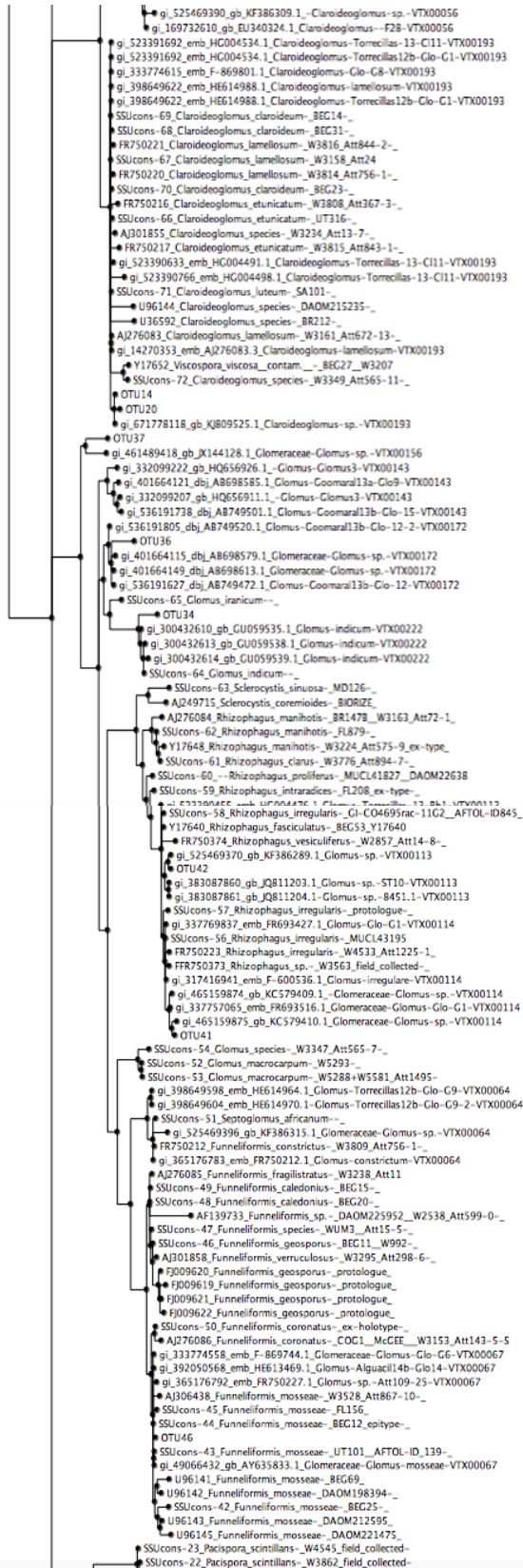


Figure 2. Les probabilités à posteriori bayésiennes supérieures ou égales à 0,95 sont représentées avec des cercles noirs sur les nœuds. Les clades sont identifiés au niveau du genre si elles comprennent des séquences SSU provenant de cultures de référence ou à des taxa virtuels si elles ne comprennent que l'échantillon des séquences SSU indépendants. L'échelle représente la longueur de la branche correspondant à des substitutions attendues par site.



Claroideoglomeraceae

Claroideoglomeraceae

Glomus

Rhizopogus

Glomeraceae

Funneliformis

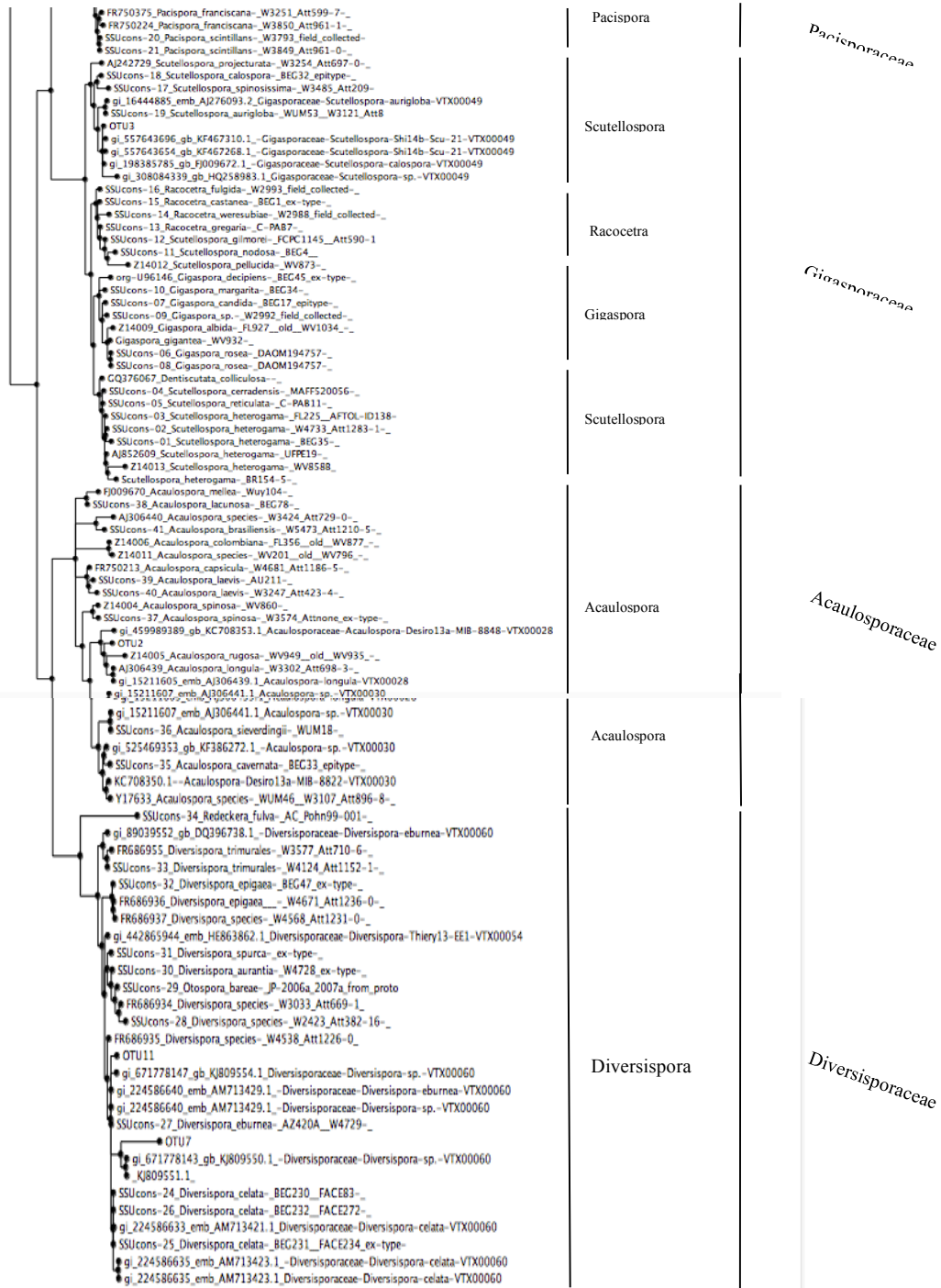


Figure 1 (suite) : Les probabilités à posteriori bayésiennes supérieures ou égales à 0,95 sont représentées avec des cercles noirs sur les nœuds. Les clades sont identifiés au niveau du genre si elles comprennent des séquences SSU provenant de cultures de référence ou à des taxa virtuels si elles ne comprennent que l'échantillon des séquences SSU indépendants. L'échelle représente la longueur de la branche correspondant à des substitutions attendues par site.

L'inférence phylogénétique utilisant l'analyse phylogénétique bayésienne des séquences de gènes 18S ADNr basée sur les données de référence de Krüger (Kruger et al. 2012) et sur les correspondances les plus proches trouvés dans la base MaarjAM (Öpik et al. 2010) a montré que toutes les familles connues des *Glomeromycota* à l'exception de *Ambisporaceae*, *Geosiphonaceae* et *Pacisporaceae* étaient représentés parmi les 26 OTU de l'étude. *Diversispora*, représenté par les OTU 11 et 7, dominait la communauté des CMAs avec une abondance relative de 46,7-52,8% chez les échantillons de rhizosphère associés à *E. obtusa* et *P. capillare* en 2011, respectivement. Pourtant, lorsque l'on s'intéresse aux échantillons rhizosphériques associés à *P. capillare* échantillonnés en 2012, l'abondance relative de *Diversispora* chute drastiquement aux alentours de 2 %. À l'inverse, *Claroideoglosum* et *Glomus* étaient les clades les plus abondamment enregistrés dans les sédiments échantillonnés en 2012, avec une abondance relative allant de 16,7 à 27,6%, bien qu'ils ne furent pas enregistrés dans les sédiments prélevés en 2011. Par ailleurs, *Claroideoglosum* était le genre le plus représenté avec 6 OTU (14, 20, 22, 23, 25, 30) quel que soit l'année. En outre, il fut le seul taxon avec *Rhizophagus* dont la présence est attestée à la fois en 2011 et en 2012 dans la rhizosphère des deux espèces de plantes. *Claroideoglosum* avait une abondance relative comprise entre 19% et 26,5% dans ces échantillons. Le genre *Rhizophagus* a été détecté dans toutes les bibliothèques. Il était représenté par deux OTU similaire à *R. irregularis* (abondance relative moyenne de 19,2%). Avec une abondance faible dans la rhizosphère des deux plantes, il était par contre un acteur majoritaire de la communauté à l'intérieur des racines. Les genres *Acaulospora*, *Archeospora*, *Funneliformis* et *Scutellospora* étaient également représentés par un seul OTU. Enfin, 9 OTU (7, 11, 22, 23, 34, 37, 41, 54, 56) étaient regroupés dans des taxons virtuels à partir de la base de données MaarjAM.

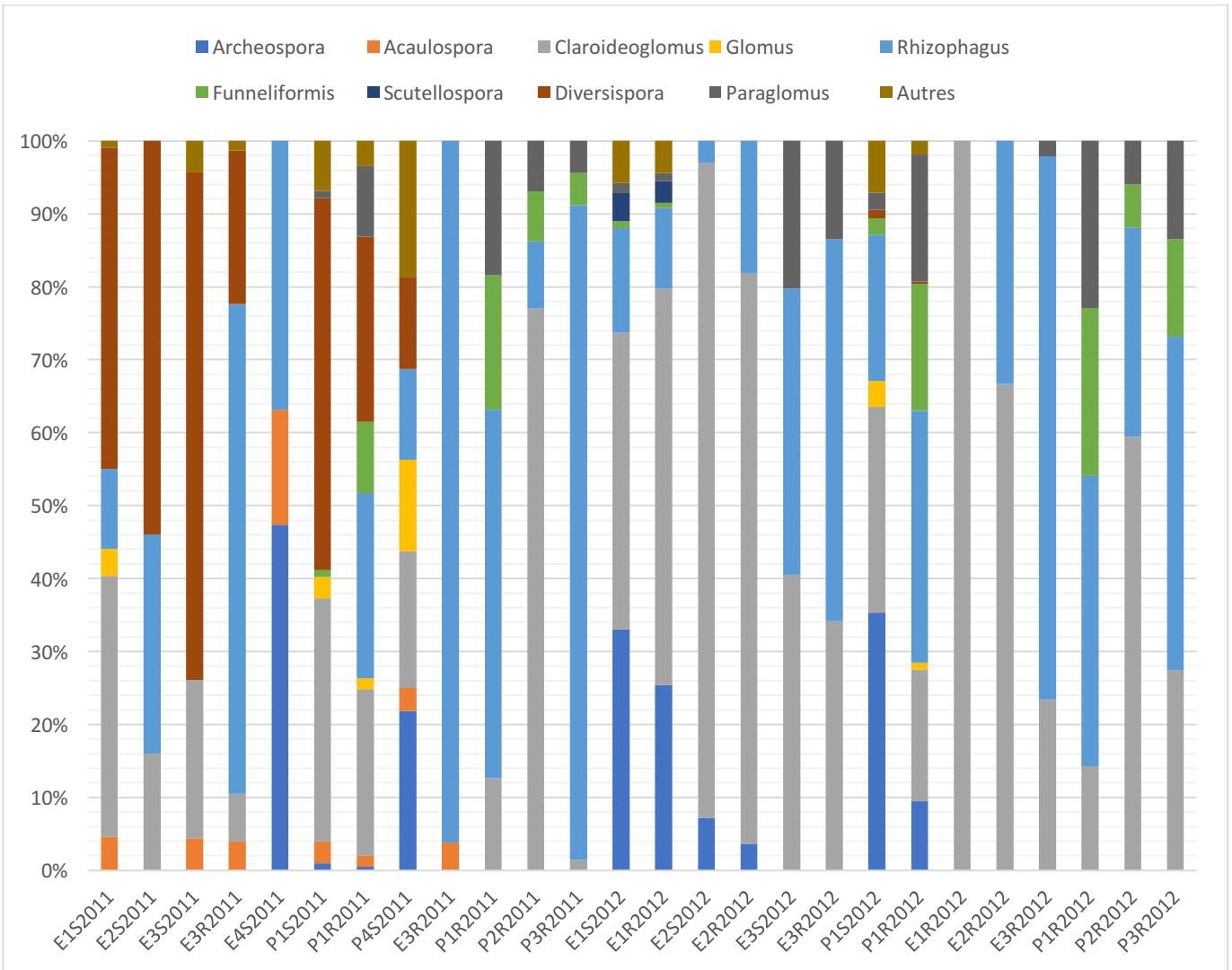


Figure 3. L'abondance relative des 26 OTU des Glomeromycota retrouvés dans le sol de la rhizosphère et les racines associées à *E. obtusa* en 2011 (E1S2011-E4S2011, E3R2011) et 2012 (E1S2012-E3S2012, E1R2012-E3R2012) et *P. capillare* en 2011 (P1S2011-P4S2011, P1R2011-P3R2011) et 2012 (P1S2012, P1R2012-P3R2012).

La richesse mise en évidence à Varennes est relativement élevée par rapport à celle recensée dans les sols naturels et agricoles. Ainsi, Verbruggen (2012) a enregistré 1 à 11 taxa de CMA par analyse T-RFLP des fragments 25S ADNr dans 40 sols agricoles, et 12 OTU de CMA ont été détectés des sols ayant subi l'emploi d'engrais à long terme pour Hassan (Hassan Sel et al. 2011) (Verbruggen et al. 2012). Opik (2009) a enregistré 47 taxa de CMA dans une forêt boréonémorale en utilisant séquençage de type 454, en échantillonnant les tissus des racines de 10 plantes hôtes (Öpik et al. 2009a). De même, seul un petit nombre d'espèces de CMA ont été

identifiés dans les études qui se sont intéressés à la diversité des CMA dans les sols contaminés par des hydrocarbures. Cabello n'a observé que des spores de *Gigaspora sp.*, *Glomus aggregatum* et *Funneliformis mosseae* (anciennement *Glomus mosseae*) à l'aide des cultures pièges (Cabello 1996). Fester a identifié des OTUs étroitement liés à *R. irregularis* et *F. mosseae* dans un marais artificiel. Franco-Ramirez a rapporté sept morphotypes de CMA à partir des racines de *Echiniclea polystachya* et deux espèces d'agrumes qui poussaient dans le sol qui avait été soumis à une contamination par des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Plus récemment, Hassan, Hijri et St-Arnaud (2013) ont, quant à eux, identifié 27 OTU dans des racines de saules poussant en milieux contaminés (Hassan, Hijri, and St-Arnaud 2013).

On constate une similarité forte au niveau de la diversité d'OTU enregistrés dans la rhizosphère de *E. obtusa* et *P. capillare*. Les deux espèces présentaient 25 et 19 OTU respectivement sur les 2 années d'étude. Lorsque l'on s'intéresse aux sols rhizosphériques des deux espèces de plantes, on constate qu'elles partagent 18 OTU. Certains OTU sont attachés à une espèce de plante. Ainsi, six OTU (OTU 3, OTU 11, OTU 13, OTU 20) sont spécifiques à *E. obtusa* et un OTU (OTU 34) est spécifique à *P. capillare*. La structure de la communauté de CMA ne semble pas être influencée par l'hôte végétal puisque la richesse et l'abondance observée dans la rhizosphère reste très semblable chez les deux plantes. Pourtant, on constate que la structure de la communauté diffère d'une année sur l'autre.

Lorsque l'on s'intéresse à la composition de la communauté au sein des racines, on constate que quatre OTU dominent. Deux d'entre eux, *Rhizophagus* et *Funneliformis* appartiennent à la famille de *Glomeraceae* et représentent plus de 30% à eux seuls de la communauté. *Claroideoglomus* est aussi représenté avec l'OTU 14 comme *Paraglomus* avec l'OTU 48. La famille des *Glomeraceae* a plus d'adaptabilité et d'ajustement de la sporulation dans des conditions de stress que les autres familles de CMA (Jakobson 1997). En outre, l'abondance relative de *Glomeraceae* s'est révélée plus élevée dans les racines des plantes utilisées dans le présent travail. Gonzalez-Chavez et al (2002) et Schneider et al (2013) ont également signalé la prédominance de *Glomeraceae* dans un site minier d'arsenic (Gonzalez-Chavez et al. 2002) (Schneider et al. 2013).

Fait intéressant, le genre *Paraglomus* semble être plus facilement détecté dans les racines que dans le sol (figure 3). Ce genre est répandu dans les sols agricoles en Angleterre (Gosling et al. 2006) où il a répondu à la gestion organique et à la fertilisation phosphatée. Dai (2013) a signalé

que le genre *Paraglomus* était un OTU dominant dans l'écozone maritime du Canada et était rare dans les prairies (Dai et al. 2013).

D'autres études rapportent qu'il est favorisé par la perturbation du sol (Peyret-Guzzon et al. 2016). *Paraglomus* était plus fréquemment rapporté dans le sol que dans les racines, et même passe pour être absent des racines (Hempel, Renker, and Buscot 2007), ce qui suggère qu'une plus grande attention doit être consacrée à la compréhension de l'écologie de ce genre qui n'était pas souvent détecté dans l'étude de la communauté de l'AMF en raison du peu de séquences analysées en utilisant les amorces actuelles (Oehl et al. 2011; Stockinger, Kruger, and Schussler 2010; Stockinger, Walker, and Schussler 2009).

La contamination du sol provoque des effets toxiques sur les plantes, réduit la disponibilité des nutriments et inhibe la croissance des plantes (Shetty et al. 1994). La colonisation racinaire par les CMA permet d'améliorer l'établissement des plantes dans les sols contaminés. De plus, la colonisation des CMA est souvent positivement corrélée avec la croissance des plantes (González-Chávez, Carrillo-González, and Gutiérrez-Castorena 2009).

La détection d'une communauté est soumise à de nombreux biais qui peuvent être d'ordre technologique. En effet, Opik et al (2009) ont montré que pour un même écosystème, environ 33% d'espèces de CMA supplémentaire était retrouvé avec une approche 454 par rapport à une approche de clonage et séquençage. Ainsi, l'approche 454 est plus efficace par sa sensibilité à détecter les morphotypes d'une espèce donnée (Öpik et al. 2009b). Cependant, à profondeur de séquençage égale, l'approche 454 peut créer des séquences fausses par erreur. Néanmoins, la diversité présentée dans ce document ne reflète pas toute l'étendue de la diversité en morphotypes du site.

Diversité α et unicité de la communauté au sein des plantes étudiées

La structure phylogénétique d'un ensemble d'espèces peut être décrite par différentes mesures, qui visent à informer sur le degré de regroupement (Combien les espèces sont, en moyenne, plus étroitement liées que prévu par le hasard), sur-dispersion (Combien les espèces sont, en moyenne, plus lointainement apparentées que prévu par le hasard) ou de l'aléatoire dans la structure phylogénétique d'un assemblage. L'utilisation de la variabilité des espèces phylogénétique (PSV) résume le degré de parenté phylogénétique entre les espèces dans un assemblage, compte tenu de toutes les espèces ou des plus proches parents.

Afin d'examiner l'influence de l'espèce de plante sur la *phylodiversité* puis l'influence de la localisation de chaque répliqua de chaque espèce de plante sur cette diversité et vérifier si les différences sont statistiquement significatives, on réalise une analyse de **Phylodiversity Species Variability (PSV)**.

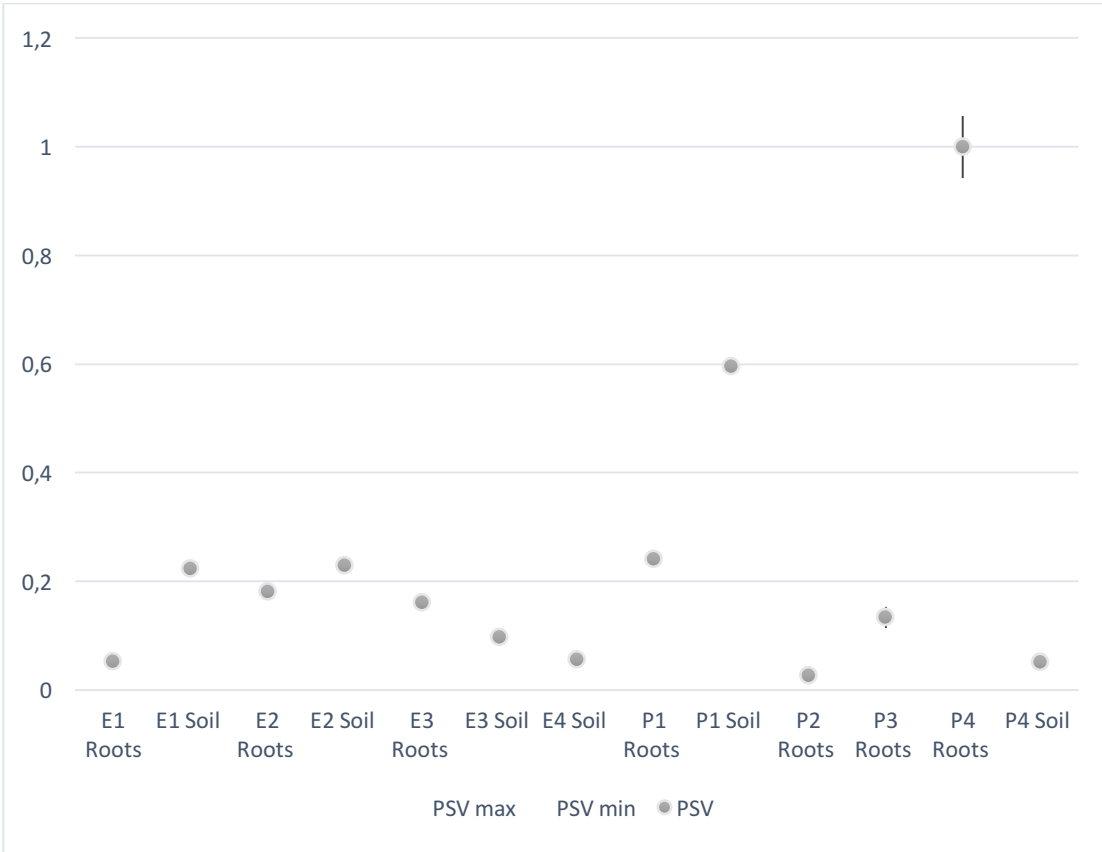
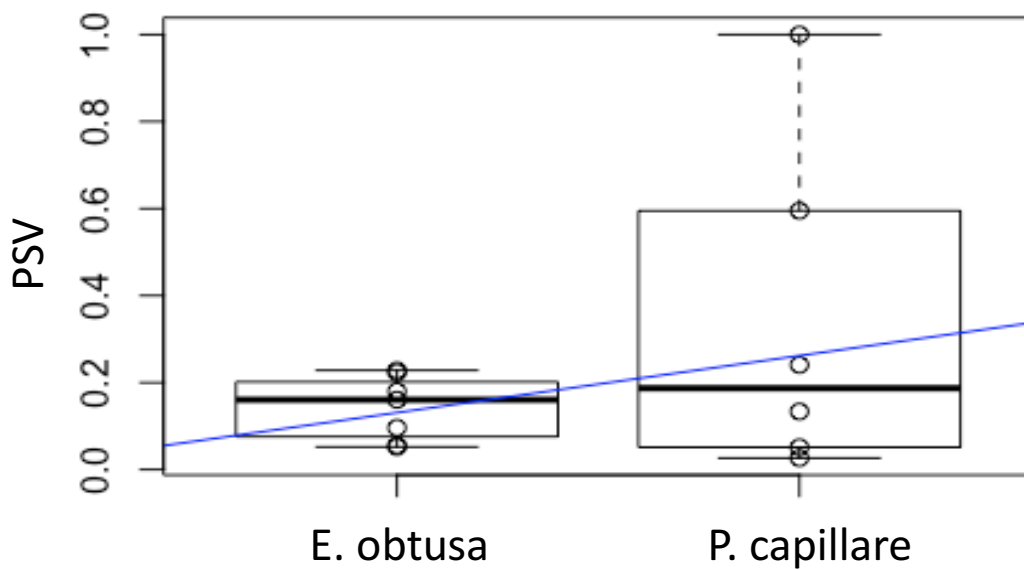


Figure 4. Distribution des résultats de la PSV par espèce de plante (E pour *Éleocharis obtura* et P pour *Panicum capillare*) par répliqua et par localisation (Sol de la rhizosphère ou Racine).

La métrique PSV est une mesure de la diversité phylogénétique des espaces à l'intérieur d'une communauté (Helmus et al. 2007). Elle quantifie comment les relations phylogénétiques baissent la variance d'un trait partagé par toutes les espèces de la communauté. Cette métrique mesure la variance d'un trait hypothétique à travers les espèces. La valeur de PSV est statistiquement indépendante de la richesse en espèces et varie entre 1 et 0. Une valeur de PSV proche de 1 signifie que les espèces ne sont pas reliées, à l'inverse, lorsqu'elle s'approche de 0 cela signifie que les espèces sont liées. Dans cette étude, la majorité des valeurs oscillent entre 0.02 et 0.3, on peut donc dire que les espèces au sein des échantillons sont liées. L'échantillon P4 ROOT peut être considéré comme une anomalie. L'échantillon P1 SOIL est le seul avec une valeur de PSV supérieure à 0,5. Au sein de cet échantillon, les éléments composant la communauté ne sont pas reliés les uns aux autres.

Afin de confirmer les résultats une analyse de mesures de « taille d'effet standardisé » de la structure de la communauté phylogénétique a été calculées. En d'autres termes, la valeur de l'effet standardisé décrit la différence entre des distances de phylogénie moyenne dans des communautés observées par rapport à des communautés nulles générées avec une méthode aléatoire, standardisée par une déviation standard de la distance phylogénétique dans des données nulles. Ainsi, le calcul de la valeur de l'effet standardisé de la distance phylogénétique de paires moyennes permet de montrer si la structure des communautés est aléatoire ou regroupée pour chaque localisation mais aussi en fonction de la plante. Ainsi, la plupart des échantillons présentent des espèces regroupées phylogénétiquement. Tous les échantillons provenant de la plante *Éléocharis obtusa* propose des structures de communautés regroupées quel que soit la localisation. Deux répliquas de plante *P. capillare* provenant respectivement du sol et de la racine, proposent des communautés liées au hasard. Il y a une corrélation simple entre la structure de la communauté des CMA et l'espèce de plante d'une part, entre la structure de la communauté de CMA et la localisation de l'échantillon d'autre part.

A



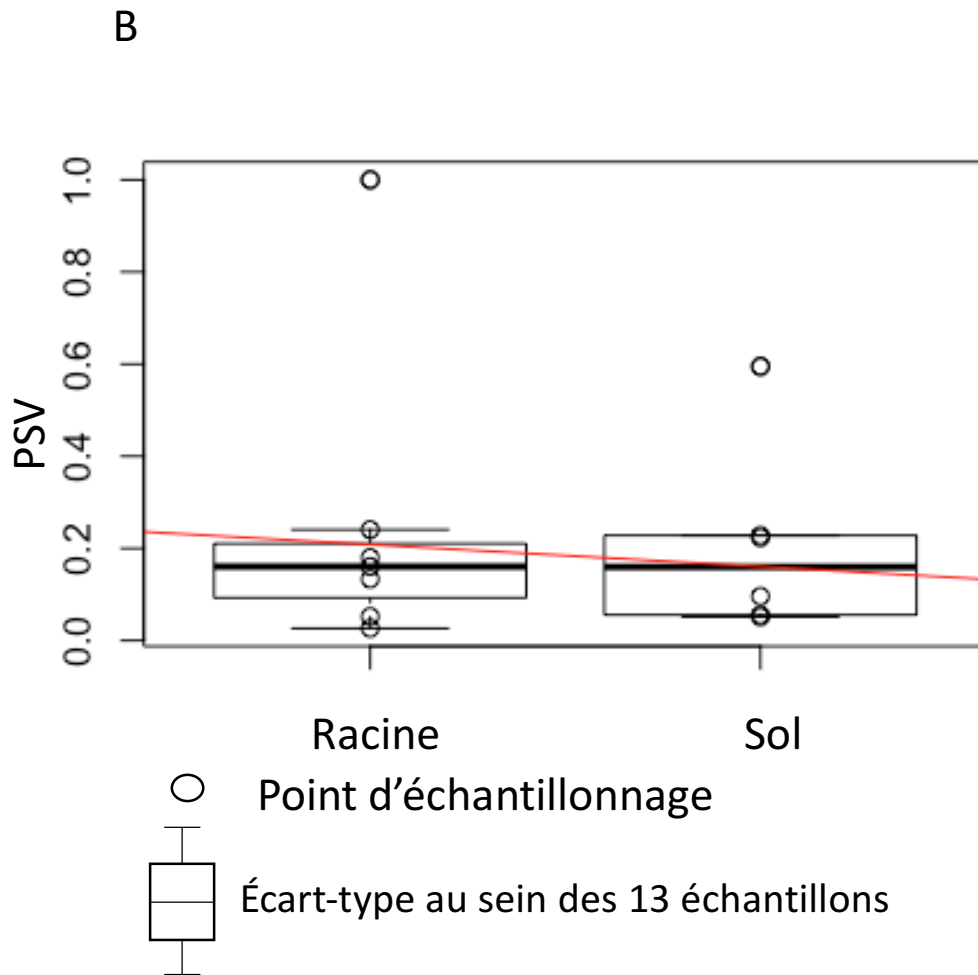


Figure 5. Visualisation graphique des résultats de l'ensemble des valeurs de PSV des échantillons de l'étude en fonction de l'espèce de plante (A) ou de la localisation (B).

La richesse phylogénétique en espèces (Helmus et al. 2007) permet de savoir si la répartition des espèces à travers la phylogénie diffère de l'attente sous un modèle nul brownien et est analogue à la distance moyenne phylogénétique (MPD) parmi les espèces sur une phylogénie.

Il est intéressant de rechercher à décrire l'équation de la droite ayant le meilleur ajustement avec le nuage de points. On réalise donc une régression linéaire pour nos données de PSV.

Les statistiques utilisés en régression reposent sur l'hypothèse d'une distribution normale des résidus, de même variance et indépendante. On utilise la loi de Student pour tester la nullité d'un coefficient dans le cadre d'une régression linéaire.

Ainsi, notre hypothèse nulle est la suivante : « il n'existe pas de différence significative entre la variabilité de la phylodiversité d'*E. obtusa* et variabilité de la phylodiversité de *P. capillare* ». Dans un premier temps, on constate que la figure 5 (A) montre deux nuages de points distincts associés la droite de régression. Chaque nuage caractérise les points d'échantillonnage une plante de l'étude. Pour *E. obtusa*, les points sont proches de la droite. Pour *P. capillare*, les points sont éloignés de la droite de régression. On ne peut pas dire avec certitude s'il y a une relation entre la variabilité de la phylodiversité et l'espèce de *P. capillare*. Deux points constituent des anomalies pour cette espèce.

Afin de savoir si la relation linéaire décrit bien le phénomène, on s'intéresse au coefficient de corrélation de la droite de corrélation. Il varie entre -1 et 1. Plus il est proche de 1, plus la corrélation est probable. Par contre, plus la valeur est proche de 0 et moins le modèle reflète les données. Ici, la valeur de corrélation est de 0.337. De plus, la valeur du coefficient de corrélation de Pearson est de 3,1246 avec une valeur de probabilité (P-value) de 0.049 (Annexe 1B). Cela signifie que l'on a une corrélation entre la variabilité de la phylodiversité et l'espèce de plante. Dans un deuxième temps, on évalue l'écart-type dans l'estimation du coefficient de corrélation à l'aide de la statistique T (Annexe 1A). Cette statistique mesure de combien l'écart-type de notre estimation du coefficient diffère de 0. La statistique T est élevée chez les deux espèces. Mais seul, l'espèce *P. capillare* présente une estimation de l'écart-type significative de par sa valeur de probabilité (P-value). Il y a de très grande disparité pour les valeurs de PSV au sein des échantillons de *P. capillare* (figure 5 A).

Afin de renforcer les résultats et déterminer les différences au sein des deux cohortes d'échantillons, un test T a été réalisée (Annexe 1C). Ainsi, ce test T permet d'évaluer l'impact de l'espèce de la plante sur la variabilité de la phylodiversité au sein des 13 échantillons. Cet impact n'est pas significatif puisque la valeur de la statistique T est -1.2509. La probabilité d'avoir une valeur supérieur ou égale à F est de 0.2631. Cela est supérieur à la valeur seuil de 5%. On accepte donc H_0 . Il n'y a pas d'impact de l'espèce de plante sur la variabilité de la phylodiversité.

On réalise la même approche pour déterminer le niveau de la corrélation entre la phylodiversité et la localisation de l'échantillon sur la plante. Ainsi, notre hypothèse nulle est : il n'y a pas de différence significative entre la variabilité de la phylodiversité dans les racine et dans la rhizosphère.

Si on s'intéresse à la régression linéaire, la figure 5 (B) propose 2 nuages de points caractérisant les deux localisations. La majorité des points de l'échantillonnage provenant des racines et du sol sont à proximité de la droite de régression à l'exception d'une anomalie pour chaque localisation.

Le coefficient de corrélation de droite de corrélation est de -0.19, bien que le signe du coefficient soit négatif sa valeur relative est basse. La valeur du coefficient de corrélation de Pearson est de 3.9166 avec une valeur de probabilité (P-value) de 0.02959. Il y a une corrélation entre les deux éléments (Annexe 2B).

La valeur de la statistique T est élevée pour les échantillons de sol et racine (Annexe 2A). La probabilité d'avoir une valeur supérieure à T est significative pour la localisation racine. Cela signifie qu'il y a un plus grand écart type entre les valeurs de phylodiversité de la cohorte des échantillons de racine.

Quand on s'intéresse aux résultats du test T, on constate que la localisation du lieu d'échantillonnage n'a pas un l'impact significatif sur la variabilité de la phylodiversité (Annexe 2C). Cela se caractérise par une valeur de la statistique T faible (-0.3155) et une valeur de probabilité (P-value) supérieure au seuil de 5%.

Les valeurs de la probabilité T et sa P-value sont faibles pour le test de Student. Cela pourrait signifier que la corrélation entre les deux variables étudiées est inexistante (phylodiversité et espèces de plante ; phylodiversité et localisation de l'échantillon), ce qui peut être probable mais qui serait surprenant du fait des connaissances accumulées sur la biologie des CMA.

Les interactions entre plantes et champignons (Pivato et al. 2007; Klironomos et al. 2001) suggèrent une certaine spécificité d'hôte de sorte que des plantes qui coexistent au sein d'un même écosystème peuvent arborer des communautés de CMA différentes (Vandenkoornhuysen et al. 2003; Sýkorová et al. 2007; Li et al. 2010). Cependant, une étude de comparaison de travaux sur les communautés de CMA dans différents écosystèmes possédant des espèces végétales variées a montré que certaines espèces de CMA semblent être ubiquitaires et d'autres spécifiques (Öpik et al. 2006) mais qu'à cette échelle d'étude, le type d'écosystème influence probablement plus la structure de la communauté de CMA que la spécificité d'hôte.

Une autre explication possible à ces valeurs, est une très grande variabilité expérimentale, résultant par exemple, de la présence de bruits altérant la qualité d'un signal trop faible ou mal

perçu. Cette hypothèse est d'autant plus probable qu'elle correspond aux variations d'écart-type rencontrés au sein des deux cohortes.

Bien que nos résultats, nous indique que l'espèce de plante n'a pas d'impact sur la variabilité de la phylodiversité, on ne peut exclure un rôle de l'espèce dans cette phylodiversité dû à un bruit qui pourrait altérer la qualité du signal perçu par nos analyses. Le rôle de la localisation racine et sol est beaucoup moins clair sur la variabilité de la phylodiversité. La variabilité de cette phylodiversité est beaucoup plus élevée chez *P. capillare* que chez *E. obtusa* et plus élevée au sein des racines que du sol.

Diversité β

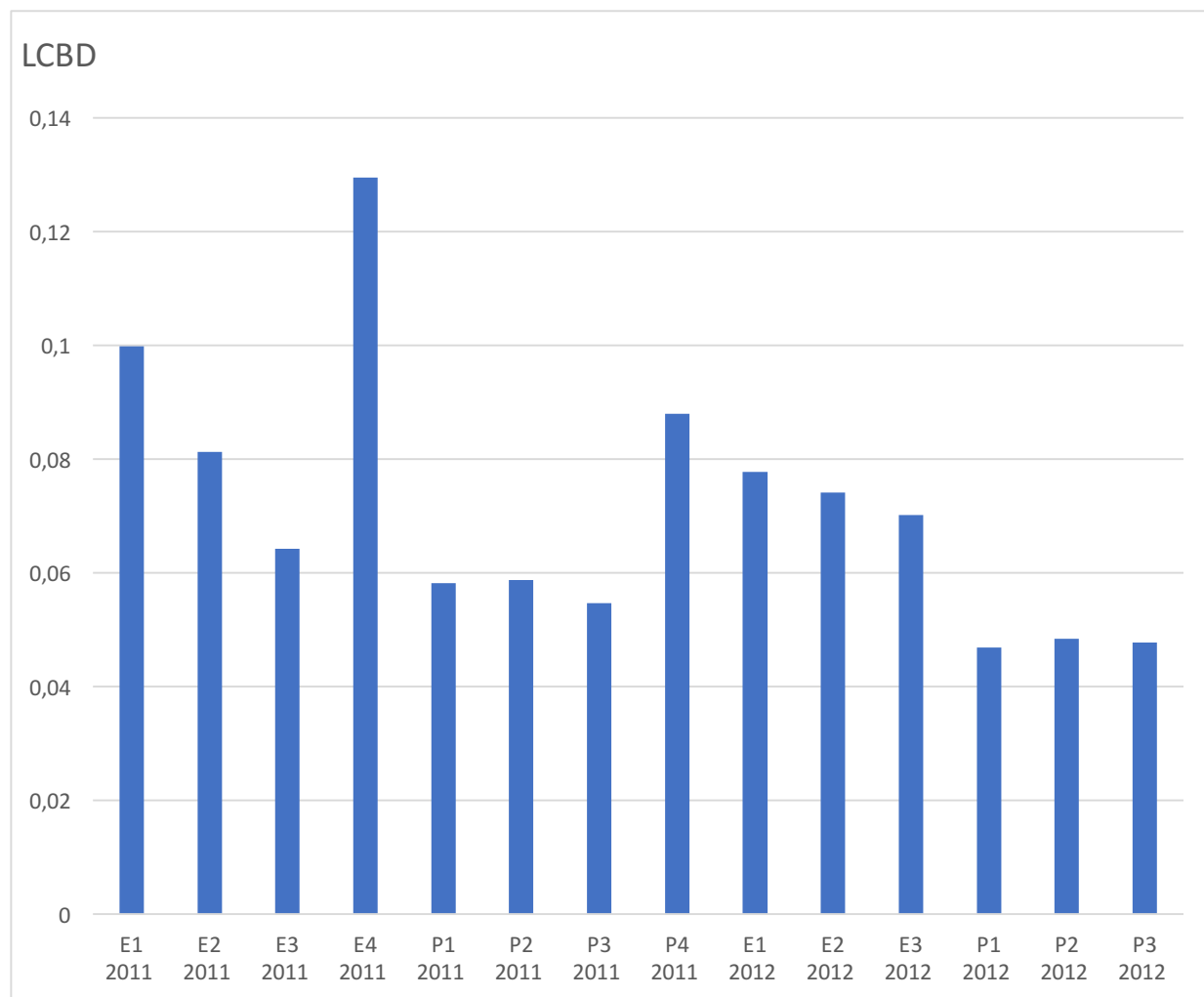


Figure 6. Récapitulatif les valeurs de la contribution des sites d'échantillonnage à la diversité β .

Dans cette étude, les LCBD varient entre 4,6% et 12,9% pour les 13 points d'échantillonnage. Il n'y avait pas de corrélation (P -value $>0,05$) entre la richesse en taxon locale (diversité α) et les contributions au site (LCBD) à la diversité β car les sites ayant la plus grande richesse en taxonomique (figure 5) n'étaient pas ceux qui contribuent le plus à Diversité β (figure 6). Par exemple, certains sites (E4 2011, E2 2012, E3 2012) ont fortement contribué à la diversité β (LCBD) tout en ayant une faible diversité α . En revanche, certains sites ont une forte diversité α (P1 2011, P2 2012) mais n'ont pas beaucoup contribué à la diversité β .

Le manque d'accord entre la richesse taxonomique (diversité α) et la contribution à la diversité β a déjà été observé lors de l'évaluation de modèles de biodiversité des communautés de zooplancton, par exemple, dans des plans d'eau urbains (Mimouni, Pinel-Alloul, and Beisner 2015). Une contribution élevée à la diversité β (LCDB) dans certains sites pourrait être due à la dominance d'un taxon spécifique (*Archaeospora* chez E4 2011, *Claroideoglomus* chez E2 2012, *Rhizophagus* chez E3 2012) ou à la présence de taxons rares (*Acaulospora* chez E4 2011). Dans les sites à faible LCDB, les communautés sont plus diversifiées (forte diversité α) et composées de taxons communs (*Diversispora*, *Claroideoglomus*, *Glomus*, *Rhizophagus*). D'une part, cette observation met en évidence la valeur de conservation de la rhizosphère des deux plantes d'étude puisqu'elle contribue à maintenir une diversité totale relativement élevée des CMA malgré la contamination du sol. En revanche, l'impact sur la communauté de la dégradation des sols par les polluants organiques n'a pas été déterminé.

La capacité de colonisation des CMA dépend largement de la quantité de CMA présent dans le sol rhizosphérique. En d'autres termes, le taux de colonisation du système racinaire est directement corrélé à la densité des spores de CMA dans le sol (fig. 3). Les spores sont généralement dispersées par des partenaires herbivores (vaches etc ...), fongiques et végétaux ou des partenaires involontaires. On attribue certaines capacités de dispersion à l'air également (Zangaro et al. 2013).

L'une des premières étapes de la colonisation des plantes par CMA est la germination des spores. Lorsque les spores de champignons mycorhiziens germent, des hyphes à paroi épaisse vont pénétrer la racine de l'hôte permettant une colonisation interne. La germination des spores peut être affectée par de nombreux facteurs, tels que : la nécessité d'une période de dormance (Juge et al. 2002), la présence d'exsudats racinaires et/ou volatiles ; l'humidité du sol, la température, le pH, la lumière, le niveau de CO₂ (Bécard 1992; Graham 1982; Siqueira, Hubbell, and Schenck 1982); la présence de flavonoïdes (St-Arnaud et al. 1996), ainsi que la présence de certaines bactéries (Azcón 1989).

Ces facteurs varient à leur tour selon l'espèce fongique, l'espèce de plante colonisée ainsi que les perturbations des conditions environnementales. Cependant, il n'existe pas de corrélation entre le nombre de spores d'une espèce et le degré de colonisation des racines par cette espèce. En effet, dans certains habitats, les spores d'une espèce ne sont pas présentes durant toute la

saison de croissance et elles sont à leur maximum d'abondance pendant d'autres saisons (Smith and Read 2008).

La perturbation du sol provoque une perturbation du réseau des hyphes, qui favorise les espèces ayant des stratégies de vie particulières, caractérisées par de grandes capacités à sporuler rapidement et à coloniser les sols et les racines (Rosendahl 2008).

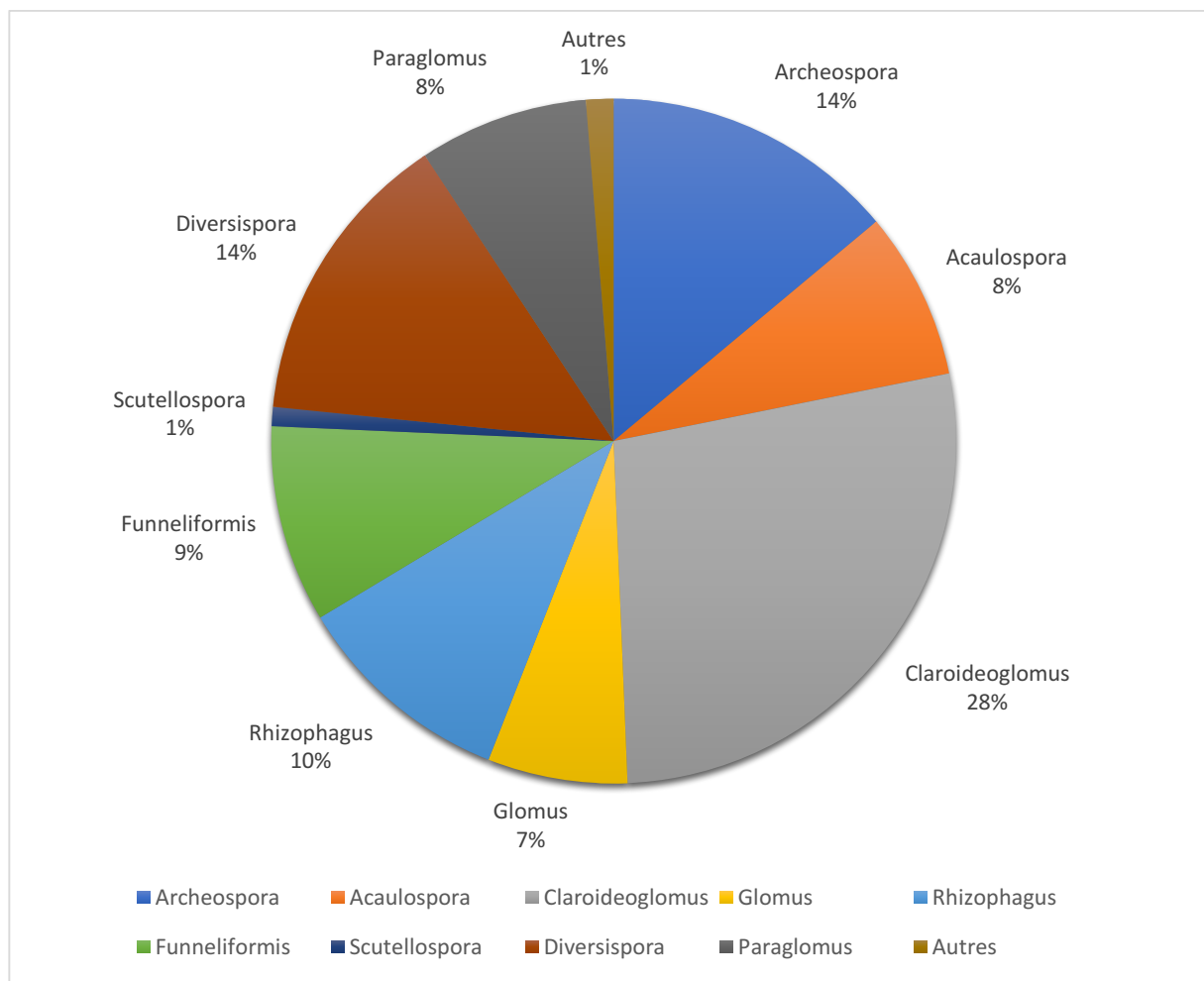


Figure 7. Récapitulatif des valeurs de la contribution des genres de CMA à la diversité β

Les coefficients de la Contribution des Espèces à la diversité β (SCBD) représentent le degré de variation des espèces individuelles à travers la zone d'étude (Fig.7). Cinq OTU contribuent à la diversité β bien au-dessus de la moyenne des 26 taxons identifiés. Il s'agit des OTU : 7 (*Diversispora*), 14 (*Claroideoglossum*), 25 (*Claroideoglossum*), 46 (*Funneliformis*) et 53 (*Archeospora*) qui ont des indices de SCBD plus haut que les autres. Chaque OTU présente une

zone de confort qui lui est propre. L'OTU 7, très abondant dans le sol des échantillons de 2011 mais est absent chez les échantillons de 2012. Bien que les OTU 14 et 25 semble appartenir à la même clade, 14 est peu présent dans les rhizosphères étudiées mais devient un élément important lorsque l'on s'intéresse au sol. L'OTU 25 était lui peu abondant en 2011 mais devient dominant en 2012 (Fig.3). L'OTU 46 était très abondant dans les sols des deux années d'échantillonnage. Enfin, l'OTU 53 est présent quel que soit la plante et l'année d'échantillonnage (Fig.3).

Il est donc important de réaliser une analyse de composante principale afin d'investiguer un peu plus les relations entre les plantes et les CMA.

ACP et MANCOVA

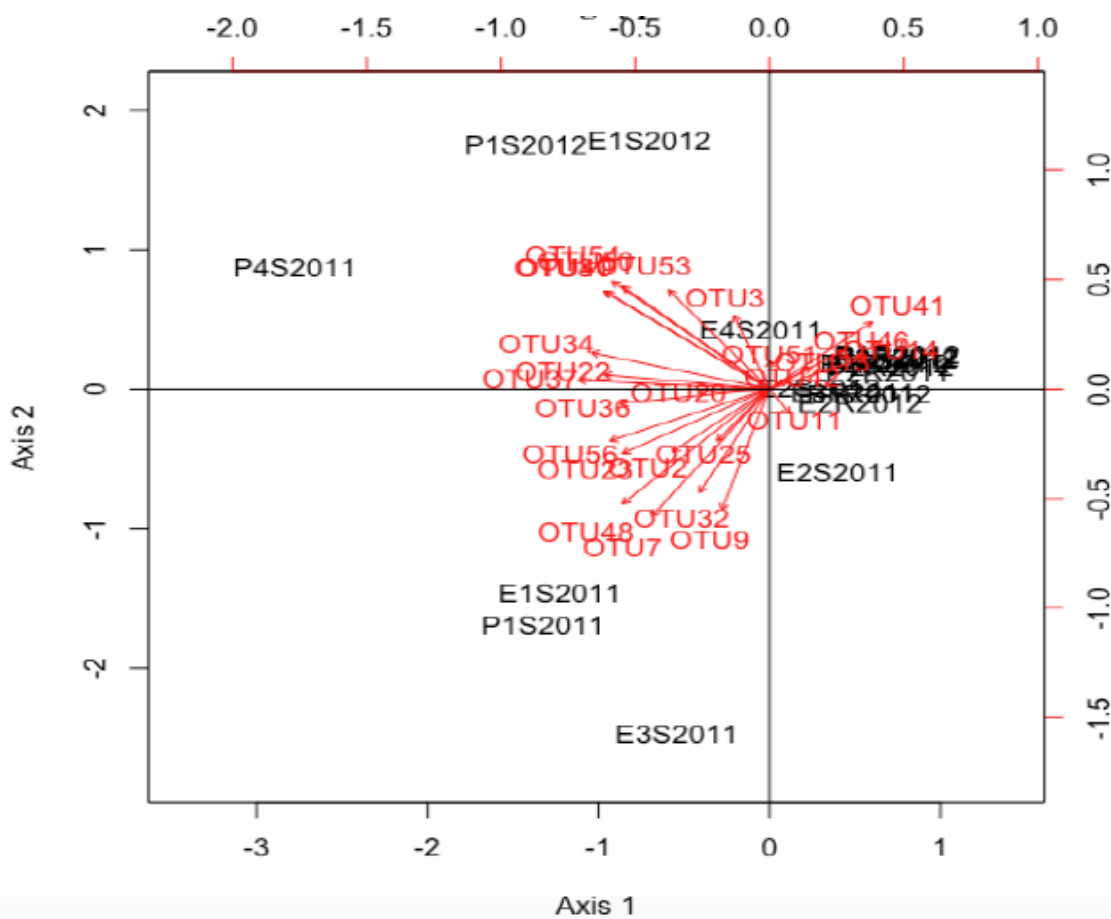


Figure 8. ACP proposant une représentation des OTU de CMA (flèches rouges) et des sites de l'étude (trait noir) dans l'espace a deux dimensions.

Lorsque l'on observe le nuage de variables (ici les OTU), la majorité de celles-ci sont bien représentées dans l'ACP (donc des flèches longues) et sont positionnées dans la partie négative de l'axe 1. Ces OTU ont en commun leur localisation au niveau du sol « S » chez les 2 espèces de plante quel que soit l'année de récolte. Cela suggère que ces OTU sont liés à la rhizosphère des espèces de plante. Si on s'intéresse à l'abondance de ces OTU, ils se retrouvent liées à la localisation sol. Ces OTU sont en outre répartis sur 8 de 10 échantillons de sol de cette étude : 5 d'*E. obtusa* et 3 de *P. capillare*. On constate que d'une année sur l'autre, la composition en OTU de la rhizosphère des échantillons E1S et P1S est très similaire. Ainsi, ces échantillons récoltés en 2011 auront sensiblement la même composition en OTU et seront très proche dans

le nuage de points (ils sont corrélés à 50% de la variance totale). Il en va de même pour les échantillons E1 et P1 de 2012. Pourtant, ces échantillons sont 2 à 2 dans des quadrants différents. Les échantillons de 2012 sont localisés dans la partie positive de l'axe 2 et les échantillons de 2011 dans la partie négative de l'axe 2. Cela suggère que la composition en OTU de la rhizosphère change d'une année sur l'autre. Ainsi, l'axe 1 correspondrait à la localisation de l'échantillon dans le sol ou la racine. Le 2eme axe correspondrait à l'année de récolte de l'échantillon. Les OTU 41 et 14 sont négativement corrélés à un gros groupe d'OTU constitués notamment des OTU 56, 23, 25, 32, 48, 7, 9, 20. Les OTU 41 et 14 se caractérisent par une abondance chez les deux plantes quel que soit l'année et la localisation tandis que le groupe d'OTU est spécifique aux échantillons du sol de 2011 et se caractérisent par une abondance moindre chez les plantes. Certains OTU apparaissent comme généraliste tandis que d'autres sont spécifiques à une condition. Si on s'intéresse aux échantillons dans la partie positive de l'axe 1, on constate que ces échantillons sont presque exclusivement liés à la racine. Le nuage de points est extrêmement regroupé et seul quelques OTU décrivent ses échantillons. Cette grande majorité des échantillons est localisée proche du centre du repère, cette position proche de 0 indique que ces points ne co-varient pas avec la variance que les composantes 1 et 2 reflètent. Bien que présentés chez tous les échantillons, les OTU 41 et 14 sont les seuls abondant dans les racines des plantes étudiées. Cela suggère qu'il y a une grande sélectivité de la racine vis à vis de certains OTU du sol. On constate que l'année tout comme la localisation (sol ou racine) et la plante, ont un impact sur l'abondance des OTU mais surtout sur leur spécificité de leur résidence. On peut constater le changement de la communauté des OTU de CMA au niveau des plantes d'une année sur l'autre. La rhizosphère des plantes récoltées la même année aura une communauté d'OTU qui sera sensiblement la même, pourtant au niveau racinaire, on observe une certaine spécificité vis à vis des OTU acceptés. En effet, seul 4 OTU majoritaires (OTU 11, OTU 14, OTU 25 et OTU 41) y sont recensés.

Étonnamment, lorsque l'on s'intéresse aux taxons auxquels appartiennent ces OTUs, on se rend compte qu'ils sont tous liés à 3 clades : *Claroideoglossus* (14 et 25), *Diversispora* (11) et *Glomus* (41). L'année semble impacter la communauté des OTU, cependant, la localisation Sol ou Racine et l'espèce de la Plante l'affecte également. Dans ce contexte, lesquels parmi ces facteurs ont le plus d'influence sur l'abondance des OTU de CMA ? Pour répondre cette question, j'ai réalisé une analyse de co-variance multivariée ou MANCOVA.

	Df	Pillai	approx	num Df	den	Pr(>F)
			F		Df	
Localisation	1	0.02676	0.289	2	21	0.75219
Plantes	1	0.88888	83.994	2	21	9.567e-11 ***
Année	1	0.23804	3.280	2	21	0.05758
Localisation : Plantes	1	0.32858	5.138	2	21	0.01526 *
Localisation : Année	1	0.07583	0.862	2	21	0.43691
Plantes : Année	1	0.00584	0.062	2	21	0.94031
Localisation:Plantes:Année	1	0.11953	1.425	2	21	0.26272
Residuals	22					

Signif. codes : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tableau I. Récapitulatif des résultats du Test de Wilks

Lorsque l'on réalise un test statistique, on s'intéresse à la statistique F qui suit une loi statistique suivant la statistique nulle H_0 . On compare donc la valeur de la statistique obtenue à une valeur théorique seuil qui est ici de 5%. Si on s'intéresse à chaque co-variables séparément, on constate que la co-variable « Plante » est significativement lié à la composition de la communauté de CMA ($\text{Pr}(>F) = 9.567e-11$). La co-variable « Année » affecte aussi la composition de communauté des CMA ($\text{Pr}(>F) = 0.05758$). La co-variable « localisation » de l'échantillon n'affecte pas la composition de la communauté ($\text{Pr}(>F) = 0.75219$).

Si on associe 2 à 2 les co-variables, les co-variables « Plante » et « Localisation » influencent significativement la composition de la communauté de CMA ($\text{Pr}(>F) = 0.01526$). La co-variable « Année » associée à la co-variable « Plante » ou la « localisation » n'affectent pas la composition de la communauté.

Si on associe les 3 co-variables, aucun effet n'est détecté sur la composition de la communauté de CMA.

Toutes ces informations suggèrent que l'espèce de plante a un impact sur le recrutement des communautés de CMA des racines ou leur présence dans la rhizosphère de la plante.

Les années d'échantillonnage ont un impact limité sur la composition de la communauté. Cependant on ne peut pas exclure la possibilité d'un effet année puisque chaque année présente des conditions climatiques qui peuvent influencer les plantes et les microorganismes du sol.

L'exploration de la diversité des CMA dans un bassin de sédimentation appartenant à une ancienne usine pétrochimique représentait une occasion d'approfondir les connaissances sur la capacité de CMA à coloniser et à s'établir dans des conditions extrêmement contaminées en présence de résidus. Les analyses chimiques de la rhizosphère de *E.obtusa* et *P. capillare* d'un bassin dédié au stockage des déchets de pétrole hydrocarbures des échantillons ont révélé que les concentrations de nombreux HAP et C10-C50 étaient des milliers de fois au-dessus des recommandations des lignes directrices canadiennes sur la qualité de l'environnement. Par conséquent, ce bassin de sédimentation représente un réservoir exceptionnel de CMA adaptés à un tel niveau de pollution qui pouvait potentiellement servir dans de futures activités d'assainissement.

L'une des caractéristiques étonnantes de ses résultats a été la grande dissemblance dans la diversité des CMA et de la structure de la communauté entre rhizosphère sol et les racines au sein des deux espèces végétales mais aussi d'une année à l'autre. La variation de la structure de la communauté de CMA observée entre les deux années d'échantillonnage pourrait être expliquée par la grande différence de précipitations entre 2011 et 2012. Sun (2015) ont rapporté que les précipitations ont eu un effet important sur la diversité des CMA sur l'abondance et la sporulation (Sun et al. 2015). Quelle que soit l'année d'échantillonnage et / ou des espèces végétales considérées, la structure communautaire des CMA a été caractérisée en permanence par la présence de 4 OTU majoritaires (OTU 11, OTU 14, OTU 25 et OTU 41) recensés dans les racines en dépit de la grande diversité associée à leur rhizosphère respective. L'un d'eux, *R.irregularis* est considéré comme un généraliste, opportuniste et un taxon agressifs colonisant les écosystèmes perturbés (Hassan Sel et al. 2011). Celui-ci est très abondant dans les échantillons de racines comme le montre la figure 2.

Des rapports antérieurs ont suggéré que la composition des communautés de CMA peut dépendre des effets stochastiques et de priorité (Lekberg et al. 2012), (Dumbrell et al. 2011; Dumbrell et al. 2010; Mummey, Rillig, and Holben 2005) autrement dit, les espèces abondantes dans la rhizosphère des plantes peuvent être, du moins en partie, dépendante de l'abondance relative des CMA avant l'arrivée des « dites » plantes, cela pourrait être déterminé par des

mécanismes semi-aléatoires tels que la dispersion. Vierheilig (2005) a montré que l'implantation de l'une des trois espèces distinctes de CMA dans les racines de l'orge a empêché la colonisation secondaire par *F. mosseae*, ce qui suggère que les plantes peuvent jouer un rôle dans la perpétuation des distributions inégales des CMA (Vierheilig, Schweiger, and Brundrett 2005). D'autres études ont cependant observé que la composition des communautés CMA-plante spécifiques, loin d'être lié aux spécificités fonctionnelles de la plante est associée à l'espèce de plante elle-même (Davison et al. 2011). L'effet stochastique semble jouer un rôle au sein des échantillons d'une même plante, ainsi deux OTU différents se sont distinguées par leur abondance parmi les 26 échantillons. De plus, la production végétale phytochimique peut changer de façon spectaculaire au cours du développement des plantes (Chaparro, Badri, and Vivanco 2014). Ainsi, les communautés de CMA à croissance lente peuvent ne pas être en mesure de répondre rapidement aux signaux plante-induites comme c'est le cas chez les autres micro-organismes, ce qui conduit à une importance accrue de l'effet de priorité dans les premières étapes de la croissance de certaines plantes.

CONCLUSION

L'un des résultats importants de cette étude est la très grande diversité retrouvée sur le site très contaminé chez les deux plantes. En effet, pas moins de 26 OTU de champignons mycorhiziens à arbuscule ont été recensés. La quasi-totalité des clades de *Glomeromycota* sont représentés, *Ambisporaceae*, *Geosiphonaceae* et *Pacisporaceae* faisant exception. Ainsi, *Diversispora* domine la communauté des CMA avec une abondance relative de 46,7-52,8% chez les échantillons de rhizosphère associés à *E. obtusa* et *P. capillare* en 2011, respectivement. *Claroideoglossum* et *Glomus* sont les clades les plus abondamment enregistrés dans les sédiments échantillonnés en 2012, mais celles-ci n'ont pas été détectés en 2011. Par ailleurs, *Claroideoglossum* est le genre le plus représenté avec 6 OTU (14, 20, 22, 23, 25, 30) sur 26. D'après l'analyse de la diversité α , la structure de diversité des CMA diffère dans cette étude entre les deux espèces de plante. Bien que les espèces de CMA soient reliées les unes aux autres chez ces plantes, *E. obtusa* propose une plus grande variabilité d'espèces que *P. capillare*. D'après les analyses de PSV, le sol abrite une faible variabilité phylogénétique d'espèces de CMA et des espèces très liées tandis que les racines abritent une faible variabilité en espèces. Il n'y avait pas de relation entre la richesse taxonomique (diversité α) et les contributions des sites à la diversité β ce qui a déjà été observé chez des communautés de zooplancton. Cinq OTU contribuent à la diversité β bien au-dessus de la moyenne des 26 espèces. Il s'agit des OTU : 7 (*Diversispora*), 14 (*Claroideoglossum*), 25 (*Claroideoglossum*), 46 (*Funneliformis*) et 53 (*Archeospora*), qui ont des indices de SCBD plus haut que les autres. Lorsque l'on s'intéresse à l'analyse de composantes principales, on constate que d'une année sur l'autre, la composition en OTU de la rhizosphère des échantillons E1S et P1S est très similaire par exemple. Ainsi, les échantillons récoltés en 2011 avaient sensiblement la même composition en OTU. La communauté des OTU de CMA change avec les années. Chez les deux plantes. La rhizosphère des plantes récoltées la même année semble avoir une communauté d'OTU similaire, bien que l'on observe une certaine spécificité vis à vis des OTU acceptés par les racines.

Cette étude fournit une vue détaillée de la diversité des CMA associés à des végétaux localisés dans les sédiments très pollués, et suggère que les CMA peuvent être des candidats microbiens potentiellement importants dans la bio-restauration des sols contaminés par le pétrole. Pourtant, d'autres investigations sont nécessaires pour démontrer le potentiel des contributions directes ou indirectes de ces CMA à la dégradation des contaminants de HAP. Nos résultats suggèrent que l'identité de la plante et des conditions environnementales liées à l'année définissent d'une certaine façon la diversité des CMA. D'autres études doivent se concentrer sur l'impact des exsudats racinaires dans la dégradation des hydrocarbures par les microorganismes et le rôle des CMA dans cette fonction. Ces études aideront sans doute à clarifier les mécanismes sous-jacents à la persistance des CMAs dans les écosystèmes perturbés. Une meilleure compréhension des mécanismes impliqués est fondamentale pour isoler et cultiver les écotypes de CMA tolérant les hydrocarbures pétroliers qui seraient les plus prometteurs pour les futurs efforts de bioremédiation des sites contaminés.

BIBLIOGRAPHIE

Anderson, TA, EA Guthrie, and BT Walton. 1993. 'Bioremediation in the rhizosphere.', *Environnemental Sciences & Technology*, 27: 2630-36.

Azcón, R. 1989. 'Selective interaction between free-living rhizosphere bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi', *Soil Biology and Biochemistry*, 21: 639-44.

Bécard, G. 1992. 'Extensive in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO₂ and flavonols', *Applied and Environmental Microbiology*, 58: 821-26

Bell, T. H., S. El-Din Hassan, A. Lauron-Moreau, F. Al-Otaibi, M. Hijri, E. Yergeau, and M. St-Arnaud. 2014. 'Linkage between bacterial and fungal rhizosphere communities in hydrocarbon-contaminated soils is related to plant phylogeny', *ISME J*, 8: 331-43.

Binet, P, JM Portal, and C Leyval. 2001. 'Application of GC-MS to the study of anthracene disappearance in the rhizosphere of ryegrass.', *Org Geochem* 32: 217-222.

Borcard, D, F Gillet, and P Legendre. 2011. 'Exploratory Data Analysis': 9-30.

Braak, Ter, and I.C Prentice. 1988. 'A theory of gradient analysis', *Advances in ecological research*, 34.

Brooks, R. R., Chambers, M. F., Nicks, L. J. Robinson, B. H. 1998. 'Phytomining. ', *Plant Science*, 3: 359.

Cabello, M. 1996. 'Beneficial Soil Fungi and Pollution', *FEMS Microbiol Ecology*, 22: 233-36.

Cáceres, Miquel De, and Pierre Legendre. 2009. 'Associations between species and groups of sites: indices and statistical inference', *Ecology*, 90: 3566-74.

Chaparro, J. M., D. V. Badri, and J. M. Vivanco. 2014. 'Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development', *ISME J*, 8: 790-803.

Clapp, JP., JPW. Young, JW. Merryweather, and AH. Fitter. 1995. 'Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizins from a natural community ', *New Phytologist*, 130,259–265.

Clarke, K. Robert, Paul J. Somerfield, and M. Gee Chapman. 2006. 'On resemblance measures for ecological studies, including taxonomic dissimilarities and a zero-adjusted Bray–Curtis

coefficient for denuded assemblages', *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 330: 55-80.

Dai, Mulan, Luke D. Bainard, Chantal Hamel, Yantai Gan, and Derek Lynch. 2013. 'Impact of land use on arbuscular mycorrhizal fungal communities in rural Canada', *Applied and Environmental Microbiology*, 79: 6719-29.

Davison, J, M Öpik, T. J Daniell, M Moora, and M. Zobel. 2011. 'Arbuscular mycorrhizal fungal communities in plant roots are not random assemblages', *FEMS Microbiology Ecology*, 78: 103-15.

de la Providencia, I. E., F. O. Stefani, M. Labridy, M. St-Arnaud, and M. Hijri. 2015. 'Arbuscular mycorrhizal fungal diversity associated with *Eleocharis obtusa* and *Panicum capillare* growing in an extreme petroleum hydrocarbon-polluted sedimentation basin', *FEMS Microbiology Letter*, 362: 081.

Dumbrell, A. J., P. D. Ashton, N. Aziz, G. Feng, M. Nelson, C. Dytham, A. H. Fitter, and T. Helgason. 2011. 'Distinct seasonal assemblages of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by massively parallel pyrosequencing', *New Phytologist*, 190: 794-804.

Dumbrell, A. J., M. Nelson, T. Helgason, C. Dytham, and A. H. Fitter. 2010. 'Relative roles of niche and neutral processes in structuring a soil microbial community', *ISME J*, 4: 337-45.

Edgar, R. C, B. J Haas, J. C Clemente, C Quince, and R Knight. 2011. 'UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection', *Bioinformatics*, 27: 2194-200.

Edgar, R. C. 2004. 'MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput', *Nucleic Acids Research*, 32: 1792-7.

Engels, Ch;Neumann, G;Gahoonia,TS. 2000. 'Assessing the ability of roots for nutrient acquisition. ', *Root Methods. A Handbook. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag: 405-449.*

Freedman, B, C Beauchamp, J.A McLaren, and S.I Tingley. 1981. 'Forestry management practices and populations of breeding birds in a hardwood forest in Nova Scotia', *Field National*, 95: 307-11.

González-Chávez, M. C., R. Carrillo-González, and M. C. Gutiérrez-Castorena. 2009. 'Natural attenuation in a slag heap contaminated with cadmium: The role of plants and arbuscular mycorrhizal fungi', *Journal of Hazardous Materials*, 161: 1288-98.

Gonzalez-Chavez, MC. , PJ. Harris, J. Dodd, and AA Meharg. 2002. 'Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus*', *New Phytologist*, 155: 163-171.

Gosling, P., A. Hodge, G. Goodlass, and G. D. Bending. 2006. 'Arbuscular mycorrhizal fungi and organic farming', *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 113: 17-35.

Gower, and Legendre. 1986. 'Metric and Euclidean Properties of Dissimilarity Coefficients', *Journal of classification*: 5-48.

Graham, Catherine H., and Paul V. A. Fine. 2008. 'Phylogenetic beta diversity: linking ecological and evolutionary processes across space in time', *Ecology Letters*, 11: 1265-77.

Graham, J.H. 1982. 'Effect of citrus root exudates on germination of chlamydospores of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeum*', *Mycologia*: 831.

Grayston, S.J., D. Vaughan, and D Jones. 1996. 'Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability', *Applied and Soil Ecology*, 5.

Harms, H. , W. Dehnen, and W. Monch. 1977. 'Benzo (a) pyrene metabolites formed by plant cells. Z. ', *Naturforsch 32c*: 321-326.

Harvey, P.J. , B.F. Campanella, P.M.L. Castro, H. Harms, and E. Lichtfouse. 2002. 'Phytoremediation of polyaromatic hydrocarbons, anilines and phenols. Review articles: phytoremediation.', *Environnemental Science & Pollution*, 9: 29-47.

Hassan, S.E., M. Hijri, and M. St-Arnaud. 2013. 'Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on trace metal uptake by sunflower plants grown on cadmium contaminated soil', *New Biotechnology*, 30: 780-7.

Hassan Sel, D., T. H. Bell, F. O. Stefani, D. Denis, M. Hijri, and M. St-Arnaud. 2014. 'Contrasting the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi from hydrocarbon-contaminated and uncontaminated soils following willow (*Salix* spp. L.) planting', *PLoS One*, 9: e102838.

Hassan Sel, D., E. Boon, M. St-Arnaud, and M. Hijri. 2011. 'Molecular biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trace metal-polluted soils', *Molecular Ecology*, 20: 3469-83.

Helmus, M.R. , T.J Bland, C.K Williams, and A.I Ives. 2007. 'Phylogenetic Measures of Biodiversity', *The American Naturalist*, 169: 68-83

Hempel, Stefan, Carsten Renker, and François Buscot. 2007. 'Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem', *Environmental Microbiology*, 9: 1930-38.

Huckelhoven, R, I Schuphan, and B Thiede. 1997. 'Biotransformation of pyrene by cell cultures of soybean (*Glycine max L.*), wheat (*Triticum aestivum L.*), jimsonweed (*Datura stramonium L.*), and purple foxglove (*Digitalis purpurea L.*)', *Agriculture Food Chemical*, 45: 263-69.

Izsak, C. 2001. 'Measuring beta-diversity using a taxonomic similarity index, and its relation to spatial scale', *Marine Ecology Progress Series*, 215: 69-77.

Jakobson, KM. 1997. 'Moisture and substrate stability determine VA-mycorrhizal fungal community distribution and structure in an arid grassland', *Journal of Arid Environments*, 35: 59-75.

Jenkins, R. 1992. 'Catabolism of organics and manmade chemicals', *Energy Sources for Cells. Butterworth Heinemann Limited, Oxford: 107-134.*

Joner, E. J., and Corinne Leyval. 2001. 'Influence of arbuscular mycorrhiza on clover and ryegrass grown together in a soil spiked with polycyclic aromatic hydrocarbons', *Mycorrhiza*, 10: 155-59.

Joner, E.J., and Anders. Johansen. 2001. 'Rhizosphere Effects on Microbial Community Structure and Dissipation and Toxicity of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Spiked Soil', *Environmental Science & Technology* 2001 35 (13), 2773-2777.

Jost, Lou. 2007. 'Partitioning Diversity Into Independent Alpha And Beta Components', *Ecology*, 88: 2427-39.

Juge, C, J Samson, C Bastien, H Vierheilig, A Coughlan, and Y Piche. 2002. 'Breaking dormancy of spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus irregulare* : a critical cold-storage period', *Mycorrhiza*, 12: 37-42.

Kembel, S. W., P. D. Cowan, M. R. Helmus, W. K. Cornwell, H. Morlon, D. D. Ackerly, S. P. Blomberg, and C. O. Webb. 2010. 'Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology', *Bioinformatics*, 26: 1463-4.

Klironomos, John N., Miranda M. Hart, Jane E. Gurney, and Peter Moutoglis. 2001. 'Interspecific differences in the tolerance of arbuscular mycorrhizal fungi to freezing and drying', *Canadian Journal of Botany*, 79: 1161-66.

Kolb, Marit, and Hans Harms. 2000. 'Metabolism of fluoranthene in different plant cell cultures and intact plants', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 19: 1304-10.

Kolek, J, and V Kozinka. 1991. 'Physiology of the plant root system.', *Developments in Plant and Soil Sciences*, 46. *Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.*

- Kruger, M, C Kruger, C Walker, H Stockinger, and A Schussler. 2012. 'Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from phylum to species level', *New Phytologist*, 193: 970-84.
- Lee, J, and J. P Young. 2009. 'The mitochondrial genome sequence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* isolate 494 and implications for the phylogenetic placement of *Glomus*', *New Phytologist*, 183: 200-11.
- Legendre, P. 2007. 'Studying beta diversity: ecological variation partitioning by multiple regression and canonical analysis', *Journal of Plant Ecology*, 1: 3-8.
- Legendre, P., and M. De Caceres. 2013. 'Beta diversity as the variance of community data: dissimilarity coefficients and partitioning', *Ecology Letters*, 16: 951-63.
- Legendre, P., and ED Gallagher. 2000. 'Ecologically meaningful transformations for ordination of species data', *Oecologia*.
- Lekberg, Ylva, Tim Schnoor, Rasmus Kjølner, Sean M. Gibbons, Lars H. Hansen, Waleed A. Al-Soud, Søren J. Sørensen, and Søren Rosendahl. 2012. '454-sequencing reveals stochastic local reassembly and high disturbance tolerance within arbuscular mycorrhizal fungal communities', *Journal of Ecology*, 100: 151-60.
- Li, L. F, T Li, Y Zhang, and Z.W Zhao. 2010. 'Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and their distribution patterns related to host-plants and habitats in a hot and arid ecosystem, southwest China', *FEMS Microbiology Ecology*, 71: 418-27.
- Liste, Hans-Holger, and Martin Alexander. 2000. 'Accumulation of phenanthrene and pyrene in rhizosphere soil', *Chemosphere*, 40: 11-14.
- Liu, S, YM Luo, ZH Cao, LH Wu, and KQ Ding. 2004. 'Degradation of benzo[a]pyrene in soil with arbuscular mycorrhizal alfalfa.', *Environnement Geochemical Health*, 26: 285-93.
- Merryweather, J, and A Fitter. 1998. 'The Arbuscular Mycorrhizal Fungi of Hyacinthoides non-scripta. II. Seasonal and Spatial Patterns of Fungal Populations', *The New Phytologist*, 138: 131-42
- Mimouni, E-M, B Pinel-Alloul, and B Beisner. 2015. 'Assessing aquatic biodiversity of zooplankton communities in an urban landscape', *Urban Ecosystems*, 18: 1353-72.
- Morton, J.B, and G.L Benny. 1990. 'Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, *Glomales*, two new suborders, *Glomineae* and *Gigasporineae*, and

two new families, *Acaulosporaceae* and *Gigasporaceae*, with an emendation of *Glomaceae*', *Mycotaxon*, 37: 471-91.

Morton, J.B, and D Redecker. 2001. 'Two new families of *Glomales*, *Archaeosporaceae* and *Paraglomaceae*, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters', *Mycotaxon*, 93: 181-95.

Mummey, Daniel L., Matthias C. Rillig, and William E. Holben. 2005. 'Neighboring plant influences on arbuscular mycorrhizal fungal community composition as assessed by T-RFLP analysis', *Plant and Soil*, 271: 83-90.

Nadimi, M., D. Beaudet, L. Forget, M. Hijri, and B. F. Lang. 2012. 'Group I intron-mediated trans-splicing in mitochondria of *Gigaspora rosea* and a robust phylogenetic affiliation of arbuscular mycorrhizal fungi with *Mortierellales*', *Molecular Biology and Evolution*, 29: 2199-210.

Nadimi, Maryam, Laurence Daubois, and Mohamed Hijri. 2016. 'Mitochondrial comparative genomics and phylogenetic signal assessment of mtDNA among arbuscular mycorrhizal fungi', *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 98: 74-83.

Oehl, Fritz, Gladstone Alves da Silva, Bruno Tomio Goto, and Ewald Sieverding. 2011. 'Glomeromycota: three new genera and glomoid species reorganized', *Mycotaxon*, 116: 75-120.

Öpik, M, M Metsis, TJ Daniell, M Zobel, and M Moora. 2009a. 'Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest.', *New Phytologist*, 184: 424-37.

Öpik, M., M. Metsis, T. J. Daniell, M. Zobel, and M. Moora. 2009b. 'Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in a boreonemoral forest', *New Phytologist*, 184: 424-37.

Öpik, M., A. Vanatoa, E. Vanatoa, M. Moora, J. Davison, J. M. Kalwij, U. Reier, and M. Zobel. 2010. 'The online database MaarjAM reveals global and ecosystemic distribution patterns in arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota)', *New Phytologist*, 188: 223-41.

Öpik, Maarja, Mari Moora, Jaan Liira, and Martin Zobel. 2006. 'Composition of root-colonizing arbuscular mycorrhizal fungal communities in different ecosystems around the globe', *Journal of Ecology*, 94: 778-90.

Pelin, A., J. F. Pombert, A. Salvioli, L. Bonen, P. Bonfante, and N. Corradi. 2012. 'The mitochondrial genome of the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* reveals two unsuspected trans-splicing events of group I introns', *New Phytologist*, 194: 836-45.

- Peyret-Guzzon, M., H. Stockinger, M.-L. Bouffaud, P. Farcy, D. Wipf, and D. Redecker. 2016. 'Arbuscular mycorrhizal fungal communities and *Rhizophagus irregularis* populations shift in response to short-term ploughing and fertilisation in a buffer strip', *Mycorrhiza*, 26: 33-46.
- Phillips, L, CW Greer, and JJ Germida. 2006. 'Culture-based and culture- independent assessment of the impact of mixed and single plant treatments on rhizosphere microbial communities in hydrocarbon contaminated flare-pit soil.', *Soil Biology & Biochemicals*, 38: 2823-33.
- Pivato, B., S. Mazurier, P. Lemanceau, S. Siblot, G. Berta, C. Mougél, and D. van Tuinen. 2007. 'Medicago species affect the community composition of arbuscular mycorrhizal fungi associated with roots', *New Phytologist*, 176: 197-210.
- Raskin, Ilya, Robert D. Smith, and David E. Salt. 1997. 'Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment', *Current Opinion in Biotechnology*, 8: 221-26.
- Redecker, D. 2000. 'Ancestral Lineages of Arbuscular Mycorrhizal Fungi (Glomales)', *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 14: 276-84.
- Redecker, D, and P Raab. 2006. 'Phylogeny of the glomeromycota (arbuscular mycorrhizal fungi): recent developments and new gene markers.', *Mycologia*, 98: 885-95.
- Redecker, D;Morton, J.B.;Bruns,T.D. 2000b. ' Molecular phylogeny of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus sinuosum* and *Scerocystis coremioides*', *Mycologia* 92:282-285.
- Redecker, Dirk, Mohamed Hijri, Hubert Dulieu, and Ian R. Sanders. 1999. 'Phylogenetic Analysis of a Dataset of Fungal 5.8S rDNA Sequences Shows That Highly Divergent Copies of Internal Transcribed Spacers Reported from *Scutellospora castanea* Are of Ascomycete Origin', *Fungal Genetics and Biology*, 28: 238-44.
- Ronquist, F;Huelsenbeck, J.P. 2003. 'MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models', *Bioinformatics*, 19: 1572-74.
- Rosendahl, S. 2008. 'Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi', *New Phytologist*, 178: 253-66.
- Sandermann, H. 1994. 'Higher plant metabolism of xenobiotics: the “Green Liver” concept. ', *Pharmacogenetics* 4: 225-241.
- Sanders, IR. 2002. 'Ecology and Evolution of Multigenomic Arbuscular Mycorrhizal Fungi. ', *The American Naturalist*, 160: S128-S41.

- Schloss, P. D., D. Gevers, and S. L. Westcott. 2011. 'Reducing the effects of PCR amplification and sequencing artifacts on 16S rRNA-based studies', *PLoS One*, 6: e27310.
- Schneider, Jerusa, Sidney Luiz Stürmer, Luiz Roberto Guimarães Guilherme, Fatima Maria de Souza Moreira, and Claudio Roberto Fonsêca de Sousa Soares. 2013. 'Arbuscular mycorrhizal fungi in arsenic-contaminated areas in Brazil', *Journal of Hazardous Materials*, 262: 1105-15.
- Schnoor, JL;Licht, LA;Cutcheon,SC; Wolfe,NL;Carreira,LH 1995. 'Phytoremediation of organic and nutrient contaminants.', *Environnemental Sciences & Technology*, 29: 318A-23A.
- Schüßler, A, H Gehrig, D Schwarzott, and C Walker. 2001. 'Analysis of partial Glomales SSU rRNA gene sequences: implications for primer design and phylogeny', *Mycological Research*, 105: 5-15.
- Schüßler, A, M Krüger, and C Walker. 2011. 'Revealing Natural Relationships among Arbuscular Mycorrhizal Fungi: Culture Line BEG47 Represents *Diversispora epigaea*, Not *Glomus versiforme*', *PLoS One*, 6: 223-33.
- Schüßler, A, D Schwarzott, and C Walker. 2002. 'A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution', *Mycological Research*, 105: 1413-21.
- Schüssler, A, and C Walter. 2010. 'A species list with new families and new genera', *The Glomeromycota*.
- Shetty, K. G., B. A. D. Hetrick, D. A. H. Figge, and A. P. Schwab. 1994. 'Effects of mycorrhizae and other soil microbes on revegetation of heavy metal contaminated mine spoil', *Environmental Pollution*, 86: 181-88.
- Siciliano, SD., JJ. Germida, K. Banks, and CW Greer. 2003. 'Changes in microbial community composition and function during a polyaromatic hydrocarbon phytoremediation field trial.', *Applied Environnemental & Microbiology*, 69: 483-89.
- Sieverding, Ewald, Gladstone Alves da Silva, Reinhard Berndt, and Fritz Oehl. 2014. '*Rhizoglomus*, a new genus of the *Glomeraceae*', *Mycotaxon*, 129: 373-86.
- Simon, Luc, Jean Bousquet, Roger C. Levesque, and Maurice Lalonde. 1993. 'Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants', *Nature*, 363: 67-69.
- Siqueira, J.O, D.H Hubbell, and N.C Schenck. 1982. 'Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in vitro', *Mycologia*, 74: 952-59.

Smith, M.J., Flowers, T.H., Duncan, H.J., Alder, J. 2006. 'Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons on germination and subsequent growth of grasses and legumes in freshly contaminated soil and soil with aged PAHs residues', *Environmental Pollution*, 141: 519-25.

Smith, S 1997. 'Mycorrhizal symbiosis.', *Academic Press. London.*

Smith, SE, and DJ Read. 2008. 'Mycorrhizal symbiosis', Third edition.

Sokolski, S, S Séguin, D Khasa, A Lévesque, and Y Piché. 2010. 'Conspecificity of DAOM 197198, the model arbuscular mycorrhizal fungus, with *Glomus irregulare* molecular evidence with three protein-encoding genes.', *Botany*, 88: 829-38.

Spatafora, J. W., Y. Chang, G. L. Benny, K. Lazarus, M. E. Smith, M. L. Berbee, G. Bonito, N. Corradi, I. Grigoriev, A. Gryganskyi, T. Y. James, K. O'Donnell, R. W. Roberson, T. N. Taylor, J. Uehling, R. Vilgalys, M. M. White, and J. E. Stajich. 2016. 'A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data', *Mycologia*, 108: 1028-46.

St-Arnaud, M, C Hamel, B Vimard, M Caron, and J.A Fortin. 1996. 'Enhanced hyphal growth and spore production of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus irregulare* in an in vitro system in the absence of host roots', *Mycological Research*, 100: 328-32.

Stintzi, A., and J. Browse. 2000. 'The Arabidopsis male-sterile mutant, opr3, lacks the 12-oxophytodienoic acid reductase required for jasmonate synthesis', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97: 10625-30.

Stockinger, H, M Kruger, and A Schussler. 2010. 'DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi', *New Phytologist*, 187: 461-74.

Stockinger, H, C Walker, and A Schussler. 2009. '*Glomus intraradices* DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*', *New Phytologist*, 183: 1176-87.

Stotz HU, Pittendrigh BR, Kroymann J, et al. . 2000. 'Induced plant defence responses against chewing insects. Ethylene signalling reduces resistance of *Arabidopsis* against Egyptian cotton worm but not diamondback moth', *Plant Physiology*, 124: 1007-18.

Sun, J., J. B. Miller, E. Granqvist, A. Wiley-Kalil, E. Gobbato, F. Maillet, S. Cottaz, E. Samain, M. Venkateshwaran, S. Fort, R. J. Morris, J. M. Ane, J. Denarie, and G. E. Oldroyd. 2015. 'Activation of symbiosis signaling by arbuscular mycorrhizal fungi in legumes and rice', *Plant Cell*, 27: 823-38.

Swenson, N. G., P. Anglada-Cordero, and J. A. Barone. 2010. 'Deterministic tropical tree community turnover: evidence from patterns of functional beta diversity along an elevational gradient', *Proceedings of the Royal Society of Biological Sciences*, 278: 877-84.

Sýkorová, Zuzana, Kurt Ineichen, Andres Wiemken, and Dirk Redecker. 2007. 'The cultivation bias: different communities of arbuscular mycorrhizal fungi detected in roots from the field, from bait plants transplanted to the field, and from a greenhouse trap experiment', *Mycorrhiza*, 18: 1-14.

Treshow, M. . 1980. 'Pollution Effects on Plant Distribution.', *Environmental Conservation*, 7 279-86.

Tuomisto, Hanna. 2010. 'A diversity of beta diversities: straightening up a concept gone awry. Part 1. Defining beta diversity as a function of alpha and gamma diversity', *Ecography*, 33: 2-22.

Vandenkoornhuysse, P., R. Husband, T. J. Daniell, I. J. Watson, J. M. Duck, A. H. Fitter, and J. P. W. Young. 2002. 'Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem', *Molecular Ecology*, 11: 1555-64.

Vandenkoornhuysse, P., K. P. Ridgway, I. J. Watson, A. H. Fitter, and J. P. W. Young. 2003. 'Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities', *Molecular Ecology*, 12: 3085-95.

Vellend, Mark. 2001. 'Do commonly used indices of β -diversity measure species turnover?', *Journal of Vegetation Science*, 12: 545-52.

Verbruggen, Erik, Marcel G. A. Van Der Heijden, James T. Weedon, George A. Kowalchuk, and Wilfred F. M. RÖLing. 2012. 'Community assembly, species richness and nestedness of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils', *Molecular Ecology*, 21: 2341-53.

Verdin, A., A. Lounès-Hadj Sahraoui, J. Fontaine, A. Grandmougin-Ferjani, and R. Durand. 2006. 'Effects of anthracene on development of an arbuscular mycorrhizal fungus and contribution of the symbiotic association to pollutant dissipation', *Mycorrhiza*, 16: 397-405.

Vierheilig, Horst, Peter Schweiger, and Mark Brundrett. 2005. 'An overview of methods for the detection and observation of arbuscular mycorrhizal fungi in roots', *Physiologia Plantarum*, 125: 393-404.

Walton, BT, EA Guthrie, and AM Holyman. 1994. 'Toxicant degradation in the rhizosphere.', *Bioremediation through rhizosphere technology*. American Chemical Society, Columbus: 11-26.

Whittaker, R.H. 1960. 'Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California', *Ecological Monographs*, 30: 279-338.

Wild, E, J Dent, GO Thomas, and KC Jones. 2005. 'Direct observation of organic contaminant uptake, storage, and metabolism within plant roots.', *Environnemental Science & Technology*, 39: 3695-702.

Wild, SR, and KC Jones. 1991. 'Studies on the polynuclear aromatic hydrocarbon content of carrots (*Daucus carota*)', *Chemosphere*, 23: 243-51.

Zangaro, Waldemar, Leila Vergal Rostirola, Priscila Bochi de Souza, Ricardo de Almeida Alves, Luiz Eduardo Azevedo Marques Lescano, Artur Berbel Lírío Rondina, Marco Antonio Nogueira, and Rosilaine Carrenho. 2013. 'Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil', *Mycorrhiza*, 23: 221-33.

Compléments d'analyses

Annexe 1.A Évaluation de l'écart type dans l'estimation du coefficient pour le cas de l'« espèce » de plante. E.o correspond *Éléocharis obtura* et P.c correspond *Panicum capillare*.

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
Species E.o	0.14227	0.09988	1.424	0.18207
Species P.c	0.34118	0.10788	3.163	0.00904 **

Signif. Codes : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Annexe 1.B Valeurs des corrélations de Pearson pour quantifier l'impact des « espèces de Plante » sur la variabilité de la Phylodiversité.

	T	df	P-value
Espèces	3.124	3	0.049
			Cor
			0.8746

Annexe 1.C Valeurs du test de Student pour quantifier l'impact des « espèces de Plante » sur la variabilité de la Phylodiversité.

	T	df	P-value
Espèces	-1.2509	5	0.2631
			Moyenne E. o
			0.1244
			Moyenne P. c
			0.3411

Annexe 2.A Évaluation de l'écart type dans l'estimation du coefficient pour le cas de la « localisation ».

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
Loc Racine	0.2562	0.1074	2.385	0.0362 *
Loc Sol	0.2082	0.1160	1.795	0.1002

Signif. Codes : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Annexe 2.B Valeurs des corrélations de Pearson pour quantifier l'impact de la « Localisation » sur la variabilité de la Phylodiversité.

	T	df	P-value
Localisation	3.9166	3	0.02959
			Cor
			0.9145

Annexe 2.C Valeur du test de Student pour quantifier l'impact de la « Localisation » sur la variabilité de la Phylodiversité.

	T	df	P-value
Localisation	-0.3155	10	0.7588
			Moyenne Sol
			0.208
			Moyenne Racine
			0.256

