



Caractérisation des communautés microbiennes présentes lors de la dégradation de la matière organique dans les mangroves d'outre-mer françaises

Rapport de stage de Master 2

Master Science de la Mer

Parcours Biologie et Ecologie Marine

Années 2019-2021

Tuteurs : Tony ROBINET & Dominique LAMY

Encadrante biologie moléculaire : Myriam GEORGES

Mathisse MEYNENG

Couverture : La Mangrove, Peinture acrylique de Jacky KARCHER

Sommaire

Introduction	1
Matériels et méthodes.....	4
Echantillonnage.....	4
Traitement des échantillons.....	5
Traitement bio-informatique	7
Traitement statistique	8
Indices de diversité.....	8
Analyse de la composition	8
Analyse multivariée.....	8
Réseau de cooccurrence	9
Résultats	10
Guyane : La structure des communautés.....	10
Guyane : La composition des communautés.....	14
Etude de l'ensemble des sites.....	18
Discussion	20
Le metabacrodig	20
Les biais de la méthode	20
Le choix des organismes ciblés.....	20
Le processus de dégradation de la matière organique.....	21
La dynamique microbienne.....	21
La diversification des communautés	21
Les groupes taxonomiques	22
Les guildes microbiennes	23
Le microbiote : un bioindicateur pertinent ?	23
Des différences géographiques.....	23
Des communautés impactées	24
Conclusion.....	25
Bibliographie.....	26
Annexes.....	34

Table des illustrations

Figure 1: Photographie d'une mangrove à <i>Rhizophora</i> spp. (http://www.mangrove.at).....	1
Figure 2: Schéma représentant une dynamique microbienne pendant le processus de dégradation de la litière (basé sur Valiela et al. 1985, Berg & McClaugherty 2020, Moorhead & Sinsabaugh 2006). Courbe bleue : la diversité/abondance microbienne totale, courbes verte, jaune et rouge : diversité/abondance de 3 guildes microbiennes hypothétiques.....	2
Figure 3: Cartes des 4 DOM échantillonnés	4
Figure 4: Schéma de synthèse du traitement bio-informatique des échantillons	7
Figure 5: Formule de l'indice de Shannon (H') et de 1-Simpson (D).....	8
Figure 6: Abondance microbienne (en logarithme en base 10 du nombre de reads normalisé/ mg de feuille) en fonction du temps pour les 3 stations de Guyane.....	10
Figure 7: Mesure de l'alpha-diversité des procaryotes des stations de Guyane en fonction du temps	11
Figure 8: Mesure de l'alpha-diversité des eucaryotes des stations de Guyane en fonction du temps	12
Figure 9: nMDS des communautés de procaryotes (a) et d'eucaryotes (b) en fonction des temps et des stations de Guyane	13
Figure 10: Diagramme de Venn des OTUs partagés entre chaque modalité sur les 3 stations de Guyane	14
Figure 11: Barplot de l'abondance relatives des Phyla de procaryotes en fonction du temps de décomposition sur les stations de Guyane.....	14
Figure 12: Barplot de l'abondance relative des Classes d'eucaryotes fongiques en fonction du temps de décomposition sur les stations de Guyane	15
Figure 13: Réseau de cooccurrence sur les communautés microbiennes de l'ensemble des stations de Guyane	16
Figure 14: Abondance des Classes microbiennes des modules en fonction des temps de décomposition pour chaque station de Guyane.....	17
Figure 15: nMDS sur les communautés de procaryotes de toutes les stations au premier temps de dégradation. (Imp = Impacté, Inter = Intermédiaire, Réf = Référence)	19
Figure 16: Schéma bilan (les courbes bleue, rouge, verte et violette représentent des guildes microbiennes mis en évidence par le réseau de cooccurrence).....	25
Tableau 1: Nombre d'échantillon par station	5
Tableau 2: Amorces choisies pour l'étude	6

Remerciement

Merci d'abord à la Station Marine de Concarneau, et à sa directrice Nadia Ameziane pour m'avoir acceptée dans ces locaux historiques.

Merci à mes tuteurs de stage, pour m'avoir donné cette opportunité. Mais aussi et surtout pour votre pédagogie, vos conseils avisés et votre soutien sans faille tout au long du stage. Merci également à Guillaume Dirberg pour ton expertise sur les mangroves (et ton humour ?), qui m'a énormément aidée pendant tes venues au laboratoire. Et bien sûr un grand merci à Myriam Georges pour ton aide précieuse sur les manipulations, même sur les échantillons les plus capricieux.

Merci à l'ensemble de l'équipe de la Station Marine pour leur accueil et leur bienveillance pendant ces 5 mois. Mention spéciale à Stéphane pour tous ces cafés qui m'ont sauvée plus d'une fois.

Merci Tony, Caro, Marius, Franck, Marie, Guillaume, Benoit, Amal pour votre bonne humeur constante, pour tous les fous rires, les pauses café et les escapades bretonnes qui m'ont permis de souffler entre les semaines de travail.

Et merci à la terrasse de la station, pour cette dose de vitamine D quotidienne.

Introduction

Les mangroves sont des écosystèmes forestiers que l'on retrouve en zone tropicale et subtropicale, entre 32°N et 39°S (Roussel *et al.* 2009). Plus de deux tiers des littoraux tropicaux sont bordés de mangrove, ce qui concerne plus d'une centaine de pays et près de 150 000 km² (Roussel *et al.* 2009; Giri *et al.* 2011). Elles se développent sur la zone de balancement des marées, sur un substrat plutôt vaseux et dans des milieux abrités comme des lagunes ou des baies (Alongi 2002). Ces forêts sont peuplées d'une flore caractéristique : les palétuviers (Figure 1). Ces arbres sont adaptés aux conditions particulières de ce milieu, notamment aux variations importantes de salinité ou au déficit d'oxygène dans le sol (Liang *et al.* 2008; Hogarth 2015).



Figure 1: Photographie d'une mangrove à *Rhizophora* spp.
(<http://www.mangrove.at>)

Les mangroves sont des écosystèmes essentiels tant d'un point de vue écologique que socio-économique. En effet, ces milieux remplissent des fonctions écologiques clés : ce sont des zones de nourricerie et de refuge pour beaucoup d'espèces animales, dont certaines endémiques et/ou menacées (Alongi 2002; Walters *et al.* 2008; Whitfield 2017). Mais ce sont également des barrières physiques cruciales qui jouent le rôle de zone tampon dans la protection des côtes, l'épuration du matériel d'origine continentale ou encore la séquestration du carbone (Valiela *et al.* 2001; Lovelock & Ellison 2007; Pascal *et al.* 2014; Van Coppenolle *et al.* 2018). Cet écosystème est pourtant soumis à de nombreuses pressions anthropiques qui impactent ces fonctions écologiques. Au niveau mondial, une perte de 35% de la superficie totale des mangroves est observée entre 1980 et 2000 (Lovelock & Ellison 2007; Giry *et al.* 2017; Thomas *et al.* 2017), principalement due à l'agriculture, l'aquaculture et les modifications hydrologiques (barrages, aménagement des berges, etc.) (Alongi 2002; Giry *et al.* 2017).

La préservation de ces écosystèmes est un enjeu important. La Directive Cadre sur l'Eau (DCE) permet, depuis sa mise en place en octobre 2000, de proposer des plans de gestion adaptés pour maintenir ou atteindre le bon état des masses d'eaux côtières et de transition en Europe. L'état écologique est défini sur la base de la structure et du fonctionnement des écosystèmes aquatiques associés, et se caractérise par un écart à une condition de référence (Petit & Michon 2015). Dans les départements et territoires d'outre-mer, les écosystèmes coralliens et d'herbiers à phanérogames font partie de cette stratégie de conservation (Pons *et al.* 2018). C'est ainsi que dans l'idée d'une préservation des mangroves françaises, l'Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques (ONEMA) a confié au Muséum National d'Histoire Naturelle (MNHN) la mise en place d'un groupe de travail « Mangroves » (GT Mangroves), en 2015. Rassemblant une dizaine de chercheurs de laboratoires différents, l'objectif du GT est de proposer des descripteurs pertinents pour évaluer l'état écologique des mangroves en accord avec la démarche de la DCE (Dirberg 2015). Ce stage s'inscrit dans ce projet, avec l'étude de la composition des communautés microbiennes présentes

lors de la dégradation de la matière organique (MO), un paramètre participant à l'évaluation la capacité régénérative de l'écosystème mangrove.

La dégradation peut être définie comme le processus de transformation de la MO, par des agents biologiques et physiques, en matière minérale et humus organique (qui correspond à la somme totale des substances organiques stables dans le sol) (Berg & McClaugherty 2020). C'est un processus qui permet aussi de produire des fibres digérables à partir de fibres non digérables (Rambey *et al.* 2018). La MO dans les mangroves peut être d'origine variée (bois mort, fèces, débris végétaux) mais une grande partie provient des palétuviers eux-mêmes, notamment des feuilles (Lacerda *et al.* 1995). La dégradation de cette litière est multifactorielle, elle dépend des paramètres environnementaux, de la composition chimique du substrat et des populations de macro- et micro-organismes (Schneider *et al.* 2012; Hossain *et al.* 2014). Au niveau du compartiment microbien, la dégradation de la litière peut être divisée en phases, chacune donnant de l'énergie et des nutriments à différents groupes du microbiote (Berg & McClaugherty 2020). D'après Valiela *et al.* (1985), il est possible de distinguer 3 phases dans la dégradation de la litière : d'abord le lessivage des composés solubles (certains phénols, sucres, protéines, etc.), puis l'oxydation des biomolécules comme la lignine ou la cellulose par l'activité microbienne, et enfin la dégradation plus lente des composés les plus réfractaires. Au cours du processus, les communautés microbiennes évoluent, leurs modifications seraient principalement expliquées par la transformation progressive du substrat (Tláškal *et al.* 2016).

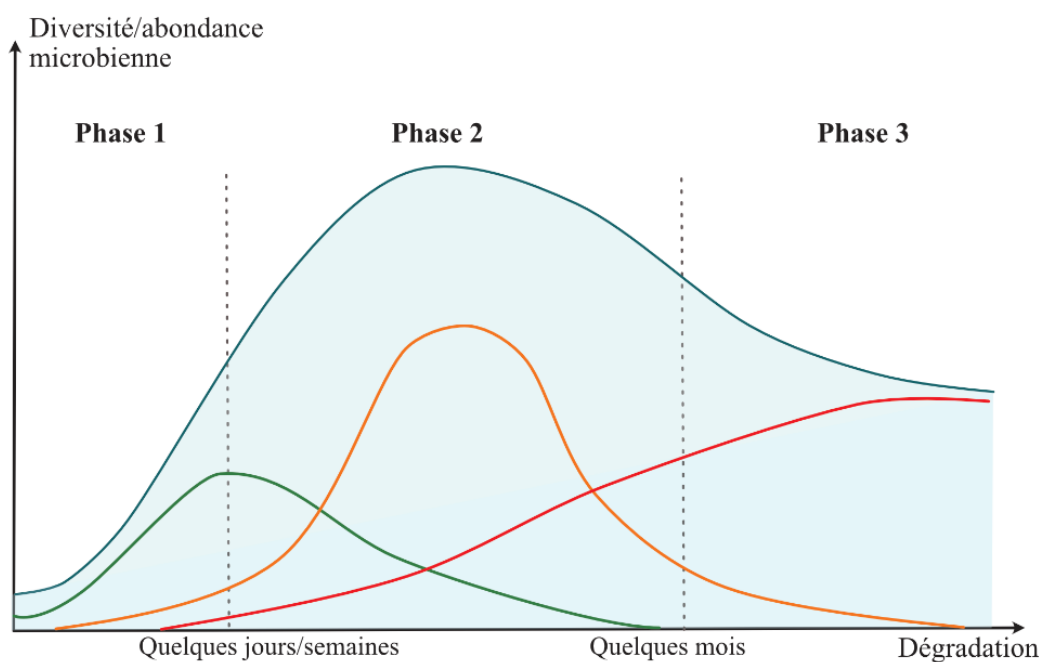


Figure 2: Schéma représentant une dynamique microbienne pendant le processus de dégradation de la litière (basé sur Valiela *et al.* 1985, Berg & McClaugherty 2020, Moorhead & Sinsabaugh 2006). Courbe bleue : la diversité/abondance microbienne totale, courbes verte, jaune et rouge : diversité/abondance de 3 guildes microbiennes hypothétiques.

De nombreuses études montrent que les communautés microbiennes des mangroves sont impactées par des perturbations anthropiques. En effet des changements au niveau de la composition des communautés mais aussi de leur fonctionnement sont causés par divers impacts : la dégradation physique de l'habitat comme le déboisement (Carugati *et al.* 2018), la pollution en hydrocarbure (Cabral *et al.* 2018; Nwankwo & Okpokwasili 2019), les déversements d'eaux usées (Isaza *et al.* 2021), un enrichissement en azote (Wang *et al.* 2016; Craig *et al.* 2021) ou encore l'invasion d'espèces exotiques (Liu *et al.* 2017). Il s'agit ensuite d'identifier ces changements dans

la communauté et de s'intéresser à leur potentiel en tant que bioindicateur, en identifiant des micro-organismes sensibles à une pollution par exemple (Torres *et al.* 2019).

Les communautés microbiennes sont ici étudiées par une approche moléculaire. En 1966, seul le Tricordeur de *Star Trek* sorti de l'imaginaire de son auteur était capable d'identifier les organismes vivants à partir d'un échantillon naturel. Depuis une dizaine d'années, passant de la science-fiction à la réalité, les avancées technologiques telles que le séquençage à haut débit ont évolué rapidement et ont révolutionné la manière d'étudier les communautés microbiennes (Van Dijk *et al.* 2014; Abdelfattah *et al.* 2018). Les méthodes modernes, comme le metabarcoding, permettent ainsi de mieux comprendre les dynamiques des communautés dans leur milieu naturel (Zimmerman *et al.* 2014), malgré les biais qu'il reste à améliorer, principalement l'amplification préférentielle de certains fragments d'ADN qui pose problème pour donner des abondances (Thomsen & Willerslev 2015).

La présente étude décrit la structure et l'évolution des communautés microbiennes présentes lors de la décomposition de feuilles de palétuviers dans des mangroves de 4 départements d'outre-mer (DOM), avec plusieurs objectifs :

- Dans un premier temps, l'étude portera sur la structure des communautés microbiennes présentes pendant la dégradation de feuilles de palétuviers avec une analyse spatiale entre différentes stations, et temporelle, sur plusieurs temps de décomposition. Les résultats attendus s'appuient sur des travaux similaires de dégradation de litière, attestant d'une augmentation de l'abondance et/ou de la diversité (selon les études) du microbiote (Figure 2, courbe bleue).
- Dans un deuxième temps, l'étude s'intéressera à la composition de ces communautés au niveau taxonomique, et de la co-occurrence de certains taxons sur l'ensemble des stations. L'objectif est d'identifier des groupes de micro-organismes qui évoluent ensemble dans la dynamique de dégradation, qui seraient susceptibles de former des guildes écologiques (Figure 2, courbes verte, jaune et rouge).
- Enfin, la mise en évidence de différences des communautés microbiennes en relation avec l'état écologique et la géographie des mangroves à une échelle plus large, sur 4 DOM. L'hypothèse étant que les stations *a priori* impactées par l'activité anthropique vont montrer des disparités éventuellement identifiables au sein de leurs communautés microbiennes.

Matériels et méthodes

Echantillonnage

Ce projet porte sur les mangroves françaises de 4 DOM : Guyane, Mayotte, Martinique et Guadeloupe (Figure 3). En accord avec l'approche DCE, les points d'échantillonnages ont été choisis pour correspondre à des stations dites « de référence » (*a priori* en bon état écologique), d'autres « impactées » par diverses pressions anthropiques et certaines « intermédiaires » dans le degré d'anthropisation, pour pouvoir les comparer. Ces choix ont été faits *a priori*, selon les informations présentes dans la littérature (Roussel *et al.* 2009; Abdallah & Eymard 2012), les structures connues pour leur impact (station d'épuration, activités agricoles, ports, etc.) et sur les observations sur place pendant les missions de terrain.

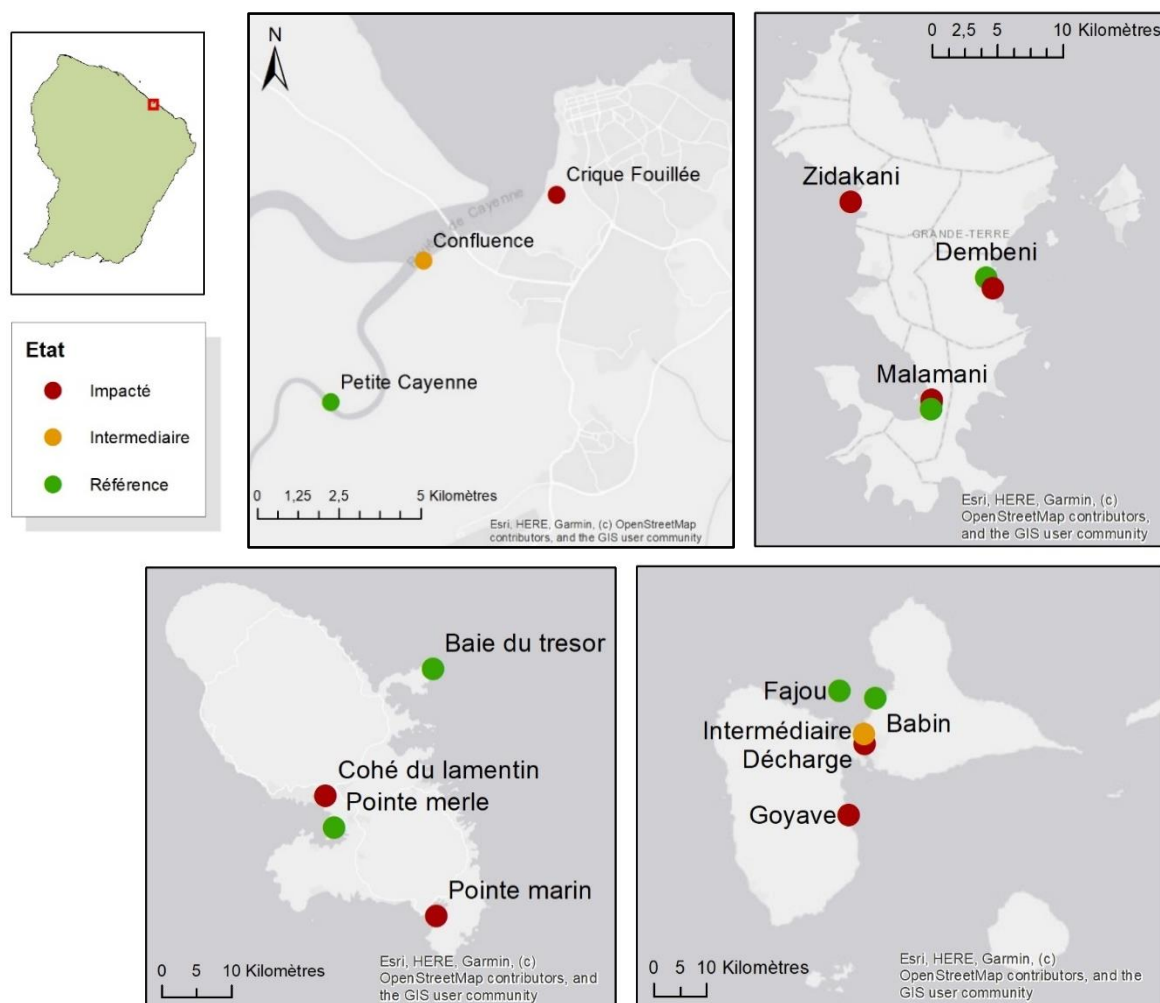


Figure 3: Cartes des 4 DOM échantillonnés

Afin de pouvoir suivre les communautés microbiennes qui participent à la décomposition des feuilles, des sacs de litière, en anglais *litterbags* ont été utilisés. Ce sont des sachets Polychlorure de Vinyle (PVC) de maille de 5 mm qui contiennent une dizaine de feuilles de palétuviers (*Rhizophora* sp. ou *Avicennia* sp. en Guyane). Sur les différentes stations, 5 *litterbags* sont fixés par un piquet sur le sédiment de la mangrove, puis prélevés à des temps de décomposition différents pour l'analyse temporelle des communautés microbiennes. Chaque prélèvement est séparé

d'environ 1 semaine. Le temps 0 correspond à un échantillon de feuilles fraîches, prélevées directement sur les arbres du site, sans contact avec le sédiment. Les conditions de terrain étant difficiles, les temps de décomposition n'ont pas tous 5 réplicas (Tableau 2). Les litterbags ont ensuite été congelés à -80°C et ramenés au laboratoire.

Pour pouvoir comparer les litterbags entre chaque station, les conditions environnementales et écologiques doivent être similaires. En effet, les forêts de mangroves sont des écosystèmes variables, fortement influencés par les facteurs abiotiques du milieu (Schaeffer-Novelli *et al.* 1990). Ainsi les différents points d'échantillonnage sont déterminés selon certains paramètres comme la végétation ou la hauteur sur l'estran, cette dernière jouant sur la salinité et le temps d'immersion. Certaines stations très difficiles d'accès ont été échantillonnées dans des conditions légèrement différentes, comme la station Confluence de Guyane qui est plus basse de quelques mètres sur l'estran et ainsi plus « marine » que les deux autres stations.

Temps		T1	T2	T3	T4	T0
Nombre de jours moyen		5	10	20	27	0
Guyane	Crique fouillée (S1)	5	1	5	4	4
	Confluence (S2)	5	4	5	5	
	Petite Cayenne (S3)	5	1	5	5	
Martinique	Baie du trésor	5	5			1
	Pointe Marin	5	5			
	Pointe Merle	5	5			
	Cohé du lamentin	5	5			
Guadeloupe	Babin	5	5			3
	Fajou		4			
	Inter		5			
	Goyave	2	5			
	Décharge	4	5			
Mayotte	Dembeni propre	5	5			1
	Dembeni sale	5	5			
	Malamani propre	5	5			
	Malamani sale	5	5			
	Zidakani		5			

Tableau 1: Nombre d'échantillon par station

Au total 17 stations sont étudiées, ce qui représente un total de 179 échantillons. Seuls les échantillons de Martinique et de Guadeloupe ont été traités pendant ce stage.

Traitement des échantillons

Les litterbags sont conservés à -80°C avant d'être traités. Pour l'analyse, les feuilles sont d'abord découpées et lyophilisées, pour ensuite être broyées à l'azote liquide afin obtenir une poudre. L'ADN est ensuite extrait à partir d'un poids précis et connu d'échantillon (entre 200 et 250 mg). L'extraction est faite à l'aide du kit DNeasy Power Soil (Qiagen) pour 3 des 4 sites. Le dernier site (Guadeloupe) a été extrait au CTAB (bromure d'hexadécyltriméthylammonium) en raison de problèmes d'extraction avec le kit, probablement liés à la présence d'inhibiteurs de la réaction de polymérisation en chaîne (PCR).

Une fois l'ADN extrait, la préparation des banques de séquences est faite à l'aide de plusieurs PCR pour préparer les banques de séquençage. Des témoins négatifs sont réalisés pour les étapes d'extraction et d'amplification d'ADN pour pouvoir éliminer les contaminations par la suite. Des amorces spécifiques à chaque marqueur génétique étudié ont été choisies à l'aide de références sur des études similaires (Tableau 2). Les sites de Guyane, Martinique et Mayotte ont été traités avec les marqueurs ADNr 16SV4 (procaryotes bactériens et archéens) et ITS2 (eucaryotes fongiques), et la Guadeloupe avec les marqueurs ADNr 16SV4, ITS2 et 18SV9 (tous les eucaryotes). Ces amorces possèdent aussi une queue de nucléotides supplémentaires en 5' destinée à être la cible de la PCR d'indexation, apportant aux produits de PCR de chaque échantillon un index et un adaptateur pour le séquençage. En parallèle, des PCR quantitatives (qPCR) sont réalisées sur chaque marqueur pour les stations de Guyane, dans les mêmes conditions que les PCR classiques.

Marqueur	Domaine étudié	Amorces (5'-3')	Références
<i>16S V4</i>	Procaryotes	515F :GTGYCAGCMGCCGCGGTAA 926R :CCGYCAATTYMTTTRAGTTT	Parada <i>et al.</i> 2016
<i>ITS2</i>	Eucaryotes fongiques	ITS86F :GTGAATCATCGAATCTTTGAA ITS4R :TCCTCCGCTTATTGATATGC	Vancov & Keen 2009; Yang <i>et al.</i> 2018
<i>18S V9</i>	Eucaryotes	18SV9F :CCCTGCCHTTTGTACACAC 18SV9R :CCTTCYGCAGGTTCACCTAC	Choi & Park 2020

Tableau 2: Amorces choisies pour l'étude

Pour chaque marqueur l'ADN est amplifié par triplicat pour limiter les biais quantitatifs (Bálint *et al.* 2016) sur thermocycleur avec des programmes adaptés lors de la première PCR (Annexe 1). La présence et la taille des produits amplifiés sont vérifiées par électrophorèse sur gel d'agarose à 1%. Les 3 produits de la première PCR sont groupés ensemble pour l'étape d'indexation, lors d'une deuxième PCR, où des index spécifiques sont attribués à chaque échantillon.

Les dimères d'amorces et les réactifs PCR sont éliminés grâce à une purification par billes magnétiques (Nucleomag de Macherey-Nagel). Chaque échantillon est ensuite dosé à l'aide d'un kit Qubit dsDNA BR Assay (Invitrogen), avant de les regrouper dans un même tube de façon équimolaire. Ensuite, l'ADN total contenu dans le tube est dosé et dilué à une concentration précise et connue pour optimiser le séquençage (5 nmol/mL). Une dernière électrophorèse est faite, si possible sur BioAnalyzer, pour s'assurer du spectre de taille de la librairie. Puis les échantillons sont séquencés avec l'appareil MiSeq Illumina du MNHN de Concarneau.

L'Illumina MiSeq est un séquenceur haut débit qui utilise la technologie du séquençage par synthèse, qui permet de lire des séquences (ou reads) jusqu'à 2x300 paires de base (pb) par les deux extrémités. Ainsi une fois assemblés à l'aide d'outils informatiques, les reads étudiés peuvent atteindre 500-550 pb. Cela nous permet ici d'étudier nos amplicons compris entre 200 et 450 pb selon les marqueurs.

Traitement bio-informatique

L'ensemble du processus de traitement bio-informatique est résumé sur la figure 4.

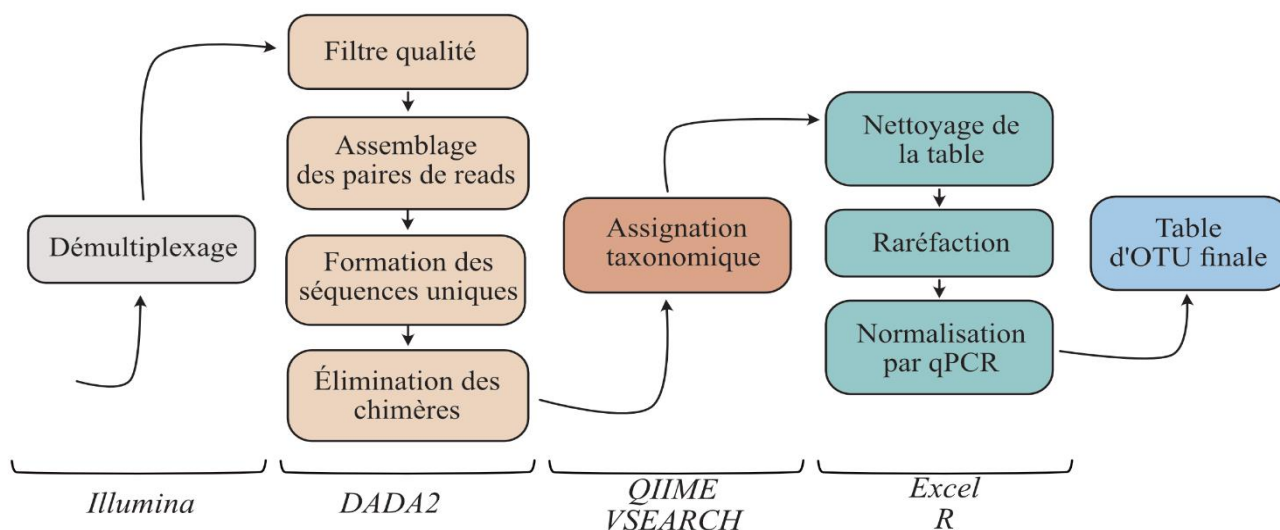


Figure 4: Schéma de synthèse du traitement bio-informatique des échantillons

Une fois le séquençage terminé, chaque séquence lue (read) est attribuée à un échantillon grâce à son index, c'est l'étape de démultiplexage, réalisée directement par le séquenceur. Les fichiers sous forme de *fastq* sont ensuite traités à l'aide du package DADA2 sous R (Callahan *et al.* 2016). Différents paramètres notamment lors de l'étape du filtre qualité ont pu être adaptés à nos données et à nos objectifs scientifiques, comme le nombre d'erreurs de nucléotide accepté par read (maxEE) ou la taille minimum des reads (minLen). Le pipeline QIIME (Quantitative Insights Into Microbial Ecology) conçu pour l'analyse de données de type métabarcoding est utilisé pour l'assignation taxonomique (Bolyen *et al.* 2019). Pour cela notre table est séparée en deux ou trois tables selon les marqueurs : une table procaryote (16SV4), une table eucaryote fongique (ITS2) et une table eucaryote (18SV9) pour Guadeloupe. Pour chacune de ces tables, les séquences sont comparées à une base de données de référence adaptée. Cette comparaison se fait sur une similarité de 97% des séquences avec la base SILVA (Quast *et al.* 2013) pour le 16S et le 18S, et la base UNITE (Nilsson *et al.* 2019) pour l'ITS2. Ces bases sont les meilleures actuellement disponibles, nettoyées et régulièrement mises à jour. Elles rassemblent les séquences d'organismes identifiés morphologiquement par des spécialistes de chaque groupe, et permet d'inférer à chaque séquence une assignation au niveau taxonomique le plus bas possible, dans la limite d'un écart de confiance raisonnable fixé à 70%. Le script complet utilisé est disponible en Annexe 2.

La table obtenue contient des OTUs (Operational Taxonomic Units) assignés taxonomiquement, certains non-assignés, et leur nombre de reads retrouvés dans chaque échantillon. Les OTUs présents dans nos témoins négatifs sont retirés de cette table, pour limiter les biais de contamination courante lors de l'étape d'extraction d'ADN (Falentin *et al.* 2019). Les OTU assignés à de l'ADN mitochondrial et chloroplastique sont également retirés. Tous les taxons représentant moins de 10 reads sur l'ensemble des échantillons sont également retirés (Leray & Knowlton 2017). Chaque table est ensuite raréfiée par le nombre de reads pour pouvoir comparer les échantillons entre eux. En effet, une relation linéaire entre le nombre de reads et le nombre d'OTU est observée, sans atteindre de plateau qui indiquerait une richesse d'OTU maximum. Pour contrer ce problème les

tables sont raréfiées : un tirage aléatoire d'un nombre de reads défini et identique pour chaque échantillon est réalisé, ce qui limite le biais d'une profondeur de séquençage différente. Cette valeur est définie selon l'échantillon qui possède le moins de reads, soit autour de 3000 pour le 16S et de 1500 pour l'ITS2. Enfin, uniquement pour la région Guyane, la table raréfiée a été normalisée en tenant compte de la masse de poudre de feuille utilisée pour l'extraction et des coefficients d'abondances totales d'amplicons de chaque échantillon mesuré par PCR quantitative. Cette étape permet de travailler sur des abondances relatives comparables entre échantillons.

Pour certains résultats, des données déjà traitées de sédiment de surface des stations de Guyane ont été ajoutés.

Traitement statistique

Indices de diversité

Plusieurs indices de diversité sont calculés pour chaque station échantillonnée. Tout d'abord la richesse spécifique correspond au nombre d'espèces totales retrouvées dans l'ensemble des échantillons d'une station. Sur des communautés microbiennes cela va correspondre au nombre d'OTUs. Ensuite les indices de Shannon (Shannon 1948) et de Simpson (Simpson 1949) permettent de préciser la diversité des communautés (figure 5). Ils prennent tous deux en compte à la fois le nombre d'espèces, mais aussi leur abondance relative.

$$H' = - \sum_{i=1}^S p_i \log_2 p_i \quad 1 - D = 1 - \left(\sum_{i=1}^S p_i^2 \right)$$

p_i : Proportion d'une espèce i
par rapport au nombre totale
d'espèce à une station

 S : Richesse spécifique

Figure 5: Formule de l'indice de Shannon (H') et de 1-Simpson (D)

L'indice de Shannon est le plus couramment utilisé en écologie, il peut être décrit par la probabilité de rencontrer un OTU précis dans l'ensemble des OTUs présents. Ainsi, la valeur de H' augmente lorsque que la richesse spécifique augmente et que le peuplement est hétérogène. A l'inverse $H'=0$ si l'échantillon n'est constitué que d'une seule espèce. L'indice de Simpson correspond à la probabilité que deux individus piochés au hasard dans la communauté soient de la même espèce. On utilise 1-Simpson pour que la valeur de l'indice varie dans le même sens que la diversité. Ainsi 1- D varie entre 0, lorsque la station ne contient qu'une seule espèce, et 1 pour une communauté hétérogène.

Analyse de la composition

Pour l'analyse de la composition des communautés, un diagramme de Venn a d'abord été réalisé, pour observer le nombre d'OTUs partagés entre chaque temps de décomposition, et avec le sédiment de surface. Cette figure a été complétée avec des barplot (diagramme en bâtons) représentant l'abondance relative des différents groupes. Les niveaux taxonomiques représentés sont élevés (Phylum ou Classe) pour des raisons de lisibilité et d'interprétation.

Analyse multivariée

Une nMDS (non-metric multi-dimensional scaling) est une analyse multivariée de proximité qui permet l'analyse du jeu de données sans *a priori* c'est-à-dire sans hypothèse de base. L'objectif est d'obtenir la meilleure représentation possible de la proximité entre les objets (ici les communautés microbiennes des différents répliques de litterbags à chaque station) sous la forme d'un

nuage de point dans un espace réduit. Ainsi deux points proches dans le plan vont témoigner d'une certaine similitude entre les objets, et inversement, plus deux points vont être éloignés, plus les objets seront différents (Buttigieg & Ramette 2014).

Le stress est un indice très important dans cette analyse. Il quantifie la représentativité de la projection du jeu de données. Cet indice informe sur la qualité de la représentation en mesurant à quel point la distance entre les objets reflète bien les dissimilarités de la matrice d'association. Si une analyse présente un stress $> 0,2$, elle ne pourra pas être interprétée. Au contraire on considère qu'un stress $< 0,2$ indique une bonne représentation.

Réseau de cooccurrence

La méthode d'analyse par réseau de cooccurrence est une approche exploratoire qui peut être utilisée pour mettre en évidence des structures globales au sein des communautés microbiennes. Le calcul du réseau prend en compte la composition des communautés pour mesurer et estimer des associations entre micro-organismes. Pour cette analyse les données subissent une normalisation particulière, en utilisant le ratio des logarithmes centrés des abondances (clr), une méthode suggérée pour des données microbiennes (Aitchison 1982). La matrice d'association est ensuite calculée avec un estimateur de corrélation SparCC (Sparse Correlations for Compositional data), qui calcule une corrélation de Pearson à partir des variances des clr entre OTU (Friedman & Alm 2012). La significativité de la corrélation entre OTU est testée avec un test de Student. Il est conseillé de filtrer les taxons étudiés pour réduire leur nombre, pour des raisons d'interprétation du réseau mais aussi de temps de calcul.

Une fois la matrice de corrélation calculée, il est possible de représenter le réseau correspondant, avec le choix de plusieurs paramètres, principalement la méthode d'identification des modules (ClustMethod) et la position des nœuds (HubPar). Cela va influencer sur la dispersion des nœuds et des éléments du réseau, entre eux. La construction du réseau dans cette étude utilise les paramètres par défaut du package NetCoMi sur R (Peschel *et al.* 2020). Ici le réseau de cooccurrence est obtenu à partir d'une matrice rassemblant les 150 OTUs les plus fréquents, procaryotes et eucaryotes confondus. Chaque association entre deux OTUs est testée statistiquement, et seules les associations significatives sont représentées sur le réseau. Ces associations peuvent être positives, les OTUs sont alors présents dans les mêmes conditions (spatiales ou temporelles), ou négatives, les OTUs ne sont alors pas présents ensemble. Ce genre d'analyse permet de mettre en évidence des ensembles d'OTUs, appelés modules, qui ont la même dynamique. Les noms des OTUs (exemple : p543, p = procaryotes, 543 = le numéro de cet OTU dans la table initiale, pour une meilleure traçabilité, Annexe 3) sont associés à une couleur qui représente leur module d'appartenance. Le réseau a été calculé à partir de l'ensemble de nos stations de Guyane : ainsi les modules présents peuvent être le résultat d'associations spatiales et/ou temporelles.

Résultats

Guyane : La structure des communautés

Les résultats vont d'abord se concentrer uniquement sur le site de Guyane, dont l'analyse temporelle est plus complète avec plus de temps de décomposition des litterbags par rapport aux autres sites (Tableau 2). Pour rappel la station 1 est dite « impactée » et la station 3 dite de « référence ».

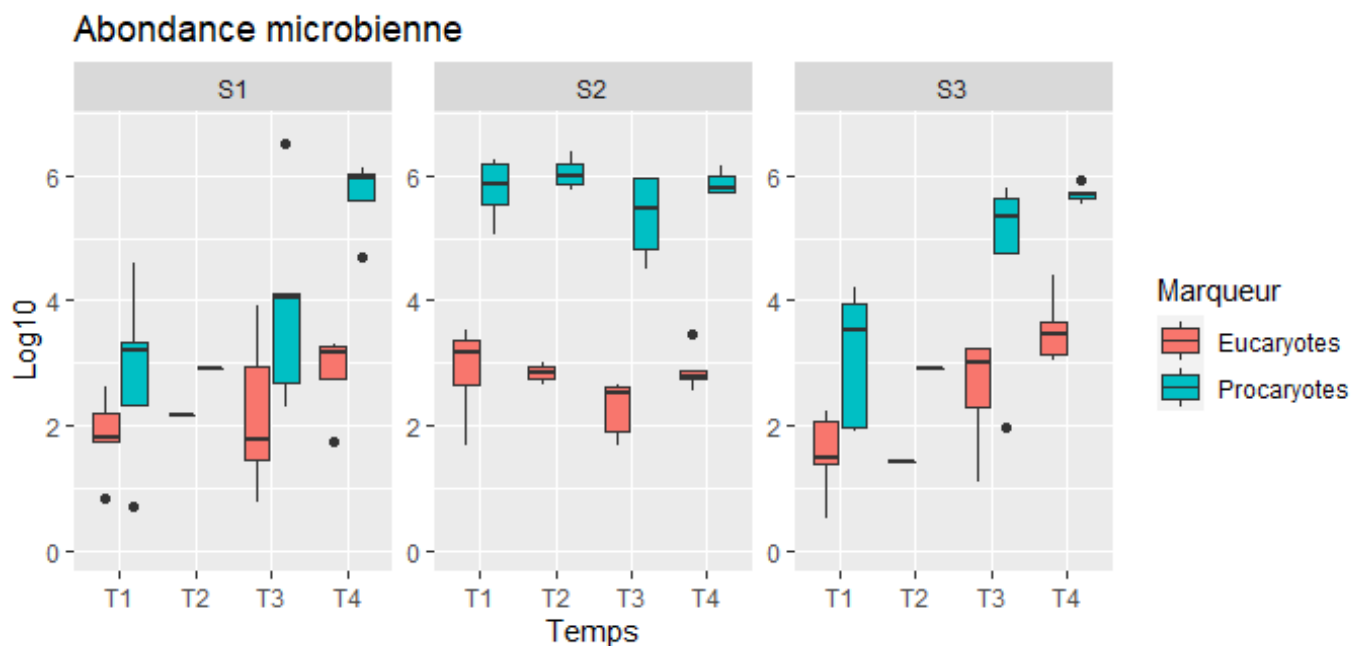


Figure 6: Abondance microbienne (en logarithme en base 10 du nombre de reads normalisé/mg de feuille) en fonction du temps pour les 3 stations de Guyane

La Figure 6 montre le logarithme en base 10 d'un proxy de l'abondance des deux compartiments procaryotes et eucaryotes en fonction du temps de décomposition, à chaque station. Pour les stations 1 et 3 la dynamique est similaire, avec une augmentation de l'abondance des deux compartiments à partir de T4 pour la station 1 et de T3 pour la station 3. Pour ces deux stations, l'abondance au T1 et l'augmentation au cours du temps est plus marquée pour les procaryotes par rapport aux eucaryotes. La station 2 montre une dynamique très différente. L'abondance au T1 des deux compartiments de la station 2 est similaire à celle des T4 des stations 1 et 3 autour de 6,0 log10 du nombre de reads normalisé/mg de feuille. De plus, l'abondance reste constante au cours du temps, et est également bien plus élevée pour les procaryotes par rapport aux eucaryotes.

La mesure d'indices de l'alpha-diversité permet de comparer la diversité à l'échelle des stations, et son évolution en fonction du temps de décomposition. Les figures 7 et 8 montrent la mesure de 3 indices : le nombre d'OTUs observés (équivalent à la richesse spécifique), l'indice de Shannon et de Simpson.

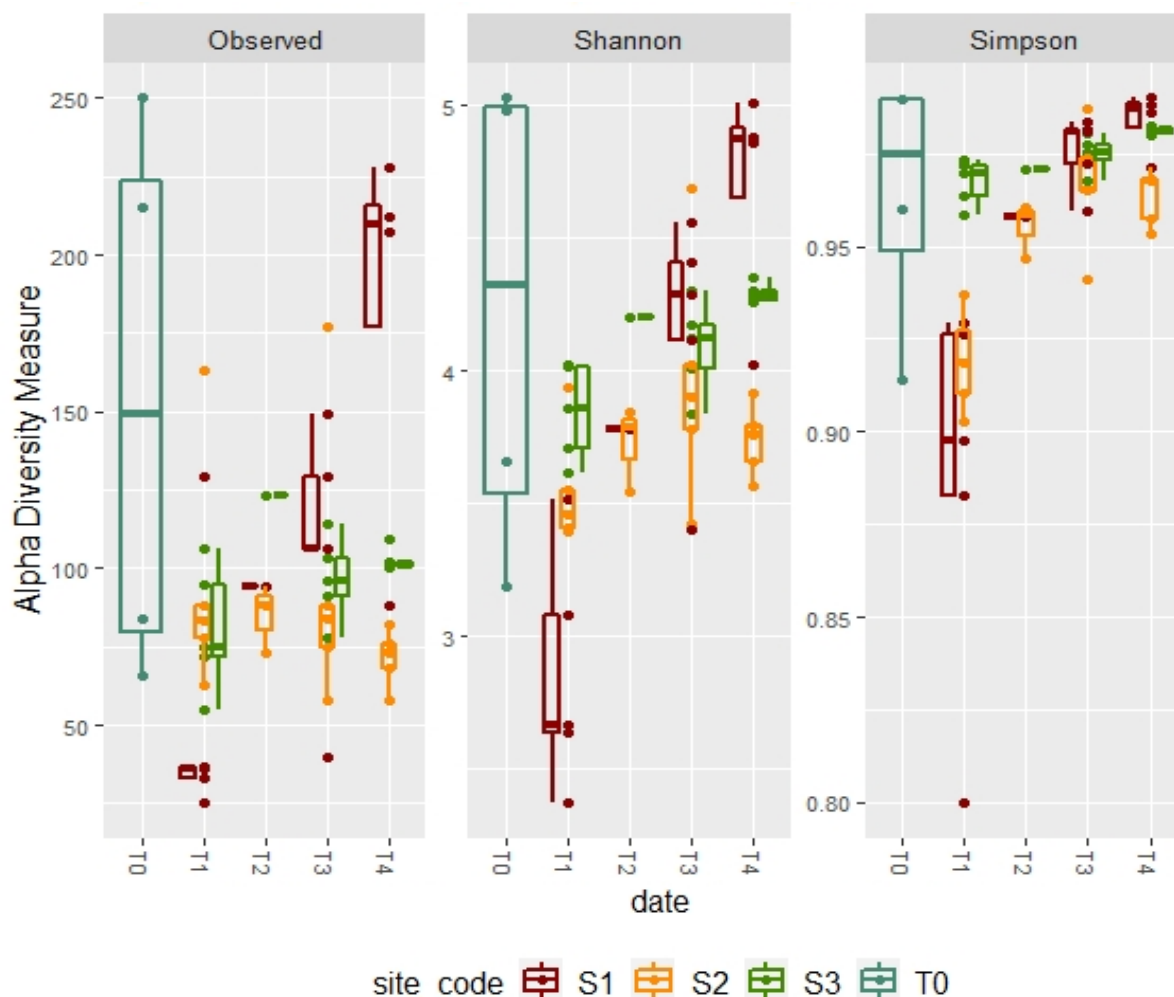


Figure 7: Mesure de l'alpha-diversité des procaryotes des stations de Guyane en fonction du temps

Pour les communautés de procaryotes (Figure 7) le nombre d'OTUs observés est compris entre 25 et 250. La communauté du T0 montre une grande variabilité des indices entre répliques, avec des boîtes à moustaches relativement étendues par rapport aux autres, avec une distance interquartile de 125 OTUs observés, 1,5 unité de l'indice Shannon et 0,4 unité de l'indice de 1-Simpson. Les médianes des indices des T1 sont inférieures à celles des T0, à l'exception de l'indice de 1-Simpson de S3, ce qui semble indiquer une diminution de la diversité de procaryotes entre les feuilles fraîches et après environ 6 jours de dégradation. Ensuite pour les stations 1 et 3, la diversité révélée par les 3 indices augmente au cours du temps, avec une intensité différente. La station 1 montre une augmentation très marquée pour les 3 indices, avec des valeurs minimum en T1 et maximum en T4 toutes stations confondues, avec des médianes passant de 30 à 215 OTUs observés, de 2,6 à 4,9 unités de l'indice de Shannon et de 0,90 à 0,98 unité de l'indice de 1-Simpson. La diversité de la station 3 augmente de façon moins marquée, avec des médianes passant de 75 à 100 OTUs observés, de 3,8 à 4,3 unités de l'indice de Shannon et de 0,97 à 0,98 unité de l'indice de 1-Simpson. La

station 2 se diffère encore ici, avec un nombre médian d'OTUs et un indice de Shannon variant moins pour tous les temps. L'indice de 1-Simpson semble cependant indiquer une diversité croissante, particulièrement entre le T1 et le T2.

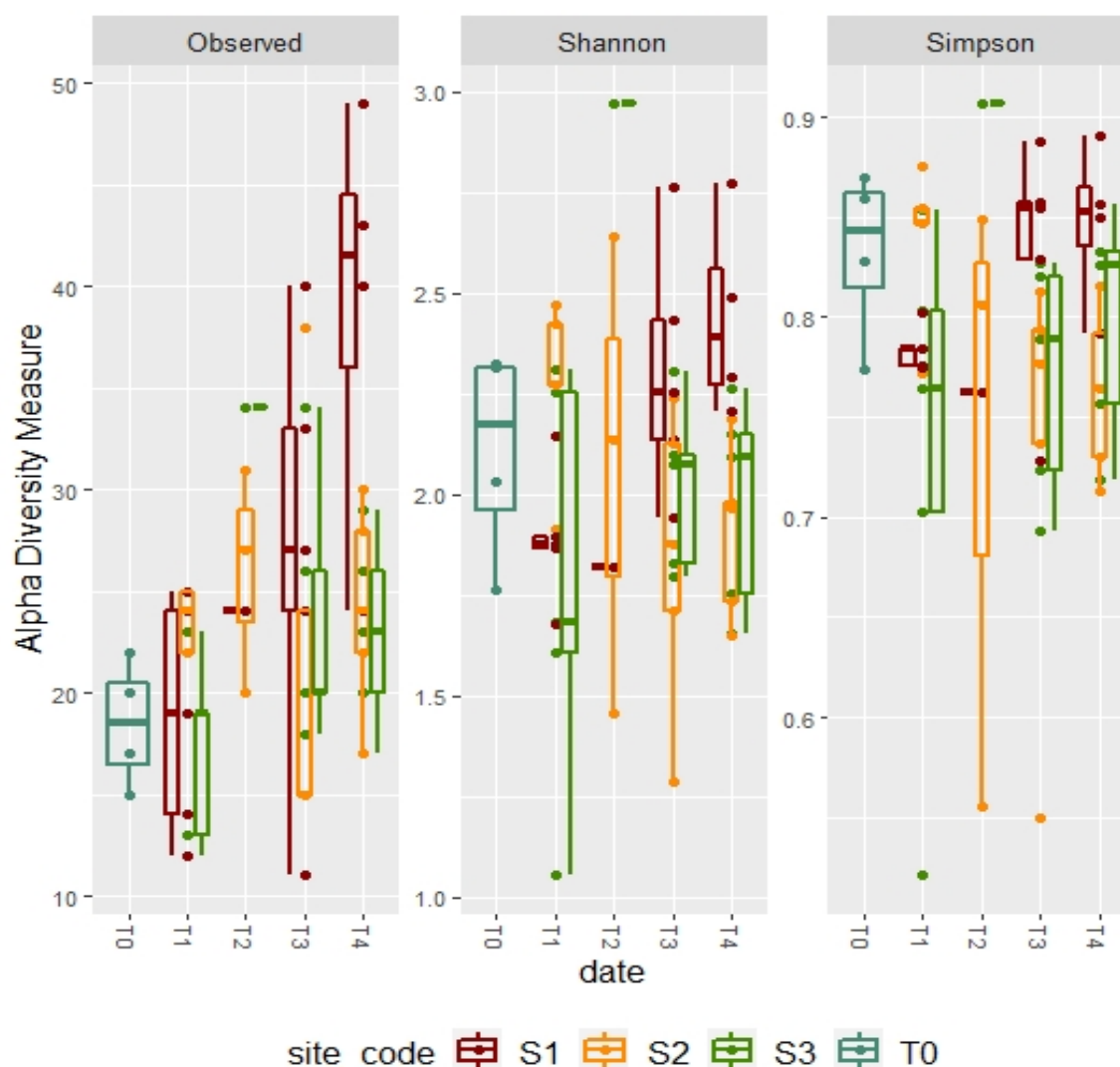


Figure 8: Mesure de l'alpha-diversité des eucaryotes des stations de Guyane en fonction du temps

Au niveau des communautés eucaryotes (Figure 8), le nombre d'OTUs observés varie ici entre 10 et 50, et l'indice de Shannon n'excède pas les 3,0. Les communautés du T0 sont globalement aussi diversifiées que les autres temps, avec des médianes de 2,2 pour l'indice de Shannon et de 0,84 pour l'indice de Simpson. Comme précédemment, les stations 1 et 3 montrent globalement une augmentation de la diversité pour les 3 indices, plus grande pour la station 1. Enfin, la station 2 reste constante en nombre d'OTUs observés, mais voit ses communautés diminuer en diversité au cours du temps pour les indices de Shannon et de Simpson.

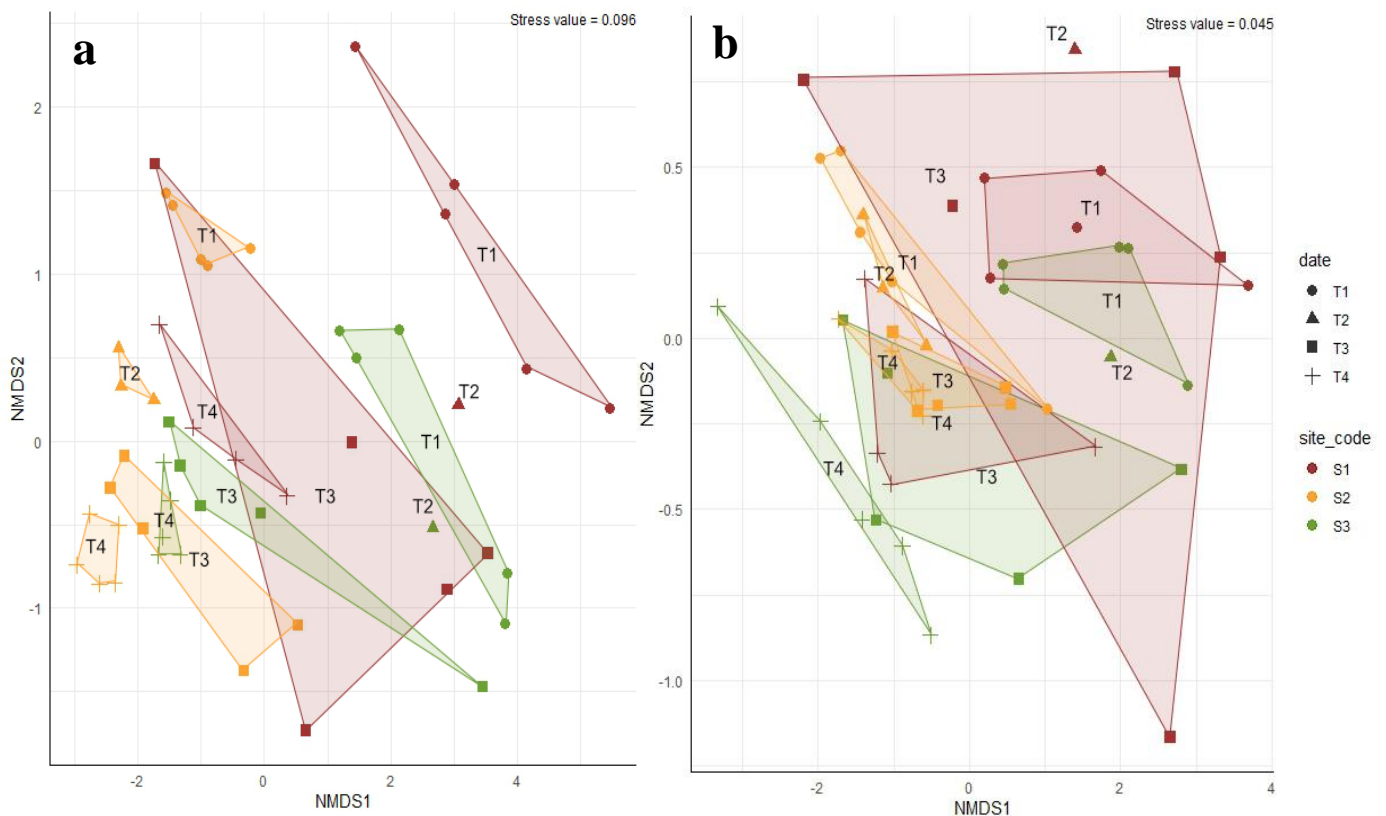


Figure 9: nMDS des communautés de procaryotes (a) et d'eucaryotes (b) en fonction des temps et des stations de Guyane

La figure 9 présente des analyses de proximité sur les communautés des 3 stations de Guyane, en précisant les temps de décomposition de chacune d'entre elles, afin d'avoir une approche spatiale et temporelle.

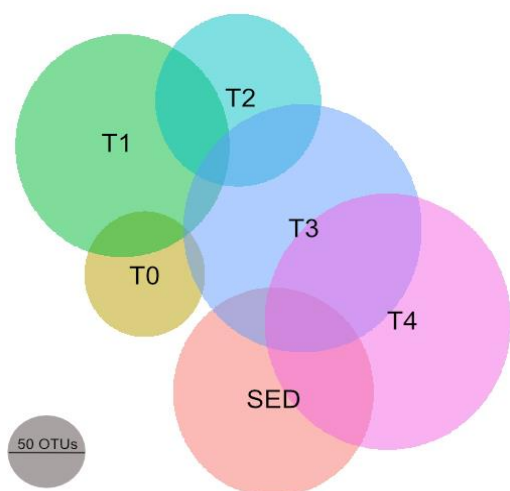
Tout d'abord, le stress des deux analyses est inférieur à 0,2 ce qui démontre d'une bonne représentation des échantillons. Au niveau spatial les 3 stations se démarquent légèrement. Pour les communautés de procaryotes (Figure 9.a), la station 2 semble se démarquer des stations 1 et 3. Cette structure est moins visible avec les communautés d'eucaryotes, les communautés de la station 2 semblent tous de même plus similaires entre elles que les communautés au sein de S1 et S3.

Au niveau temporel, un gradient est visible entre les différents temps de décomposition. En effet, un déplacement des points sur l'analyse entre T1 et T4 est observable pour toutes les stations, et ce dans une même direction (vers l'origine des deux axes). Des différences sont tout de même notables. Chez les procaryotes les communautés du T1 sont bien plus distantes entre les répliques qu'aux stations en T4, elles deviendraient moins dissimilaires avec le temps. Pour les communautés eucaryotes (Figure 9.b), cette observation n'est pas vérifiée, mais une autre information est visible : la station 2 montre un gradient temporel moins marqué par rapport à ceux des stations 1 et 3.

Ces résultats mettent en évidence une structure temporelle nette des communautés microbiennes étudiées avec une augmentation de l'abondance et de la diversité globale au cours du temps de décomposition des feuilles de palétuvier. Au niveau spatial, les stations 1 et 3 ont une dynamique similaire, différente de celle de la station 2.

Guyane : La composition des communautés

L'analyse est ici portée sur la composition des communautés et des interactions éventuelles des taxons en lien avec le processus de dégradation des feuilles de palétuvier.



La figure 10 représente le nombre d'OTUs présents à chaque temps de décomposition ainsi que dans le sédiment de surface sur les 3 stations de Guyane. Le chevauchement des cercles montre des OTUs communs entre eux. Une succession est visible entre les feuilles fraîches du T0 jusqu'au sédiment de surface. Le T0 et le T2 présentent moins d'OTUs que les T1, T3 et T4. De plus, le T0 partagent des OTUs avec les T1 et T3, alors que le sédiment de surface avec T3 et T4. Seul le T3 montrent des OTUs communs avec tous les autres temps, y compris avec les feuilles fraîches et le sédiment de surface.

Figure 10: Diagramme de Venn des OTUs partagés entre chaque modalité sur les 3 stations de Guyane

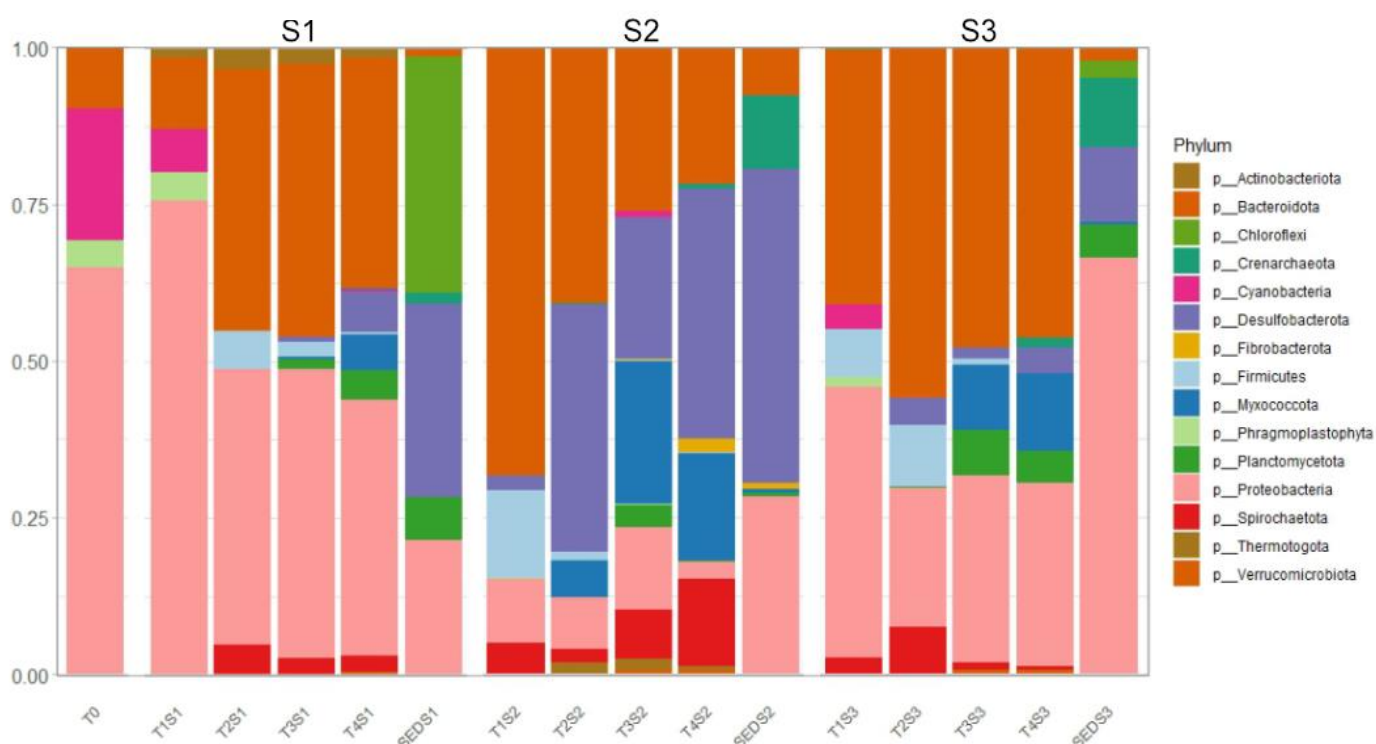


Figure 11: Barplot de l'abondance relative des Phyla de procaryotes en fonction du temps de décomposition sur les stations de Guyane

La figure 11 montre l'évolution de la composition taxonomique des 200 OTUs les plus abondants au niveau du Phylum des communautés de procaryotes, en abondances relatives de toutes les stations confondues, aux différents temps de décomposition de la feuille. Le sédiment de surface est également représenté pour ajouter de l'information quant aux origines et aux devenir éventuels des Phyla.

Dans l'ensemble les *Bacteroidota*, *Proteobacteria* et *Desulfobacterota* sont les Phyla les plus abondants au sein des échantillons. Les stations 1 et 3 montrent une dynamique assez similaire

dans l'évolution de la composition des communautés avec près de 80% de l'abondance partagée entre les *Bacteroidota* et les *Proteobacteria* aux 4 temps de décomposition. Les *Desulfobacterota*, *Myxococcota* et *Planctomycetota* voient leur proportion augmenter avec le temps, alors qu'à l'inverse les *Firmicutes* et les *Cyanobacteria* diminuent voire disparaissent jusqu'au T4. Certaines particularités peuvent tout de même être mises en évidence pour chacune de ces deux stations. La station 1 est singulière par la présence d'*Actinobacteriota* aux 4 temps de décomposition et par la part de près de 40% de *Chloroflexi* dans le sédiment de surface. La station 3 peut être caractérisée par l'apparition d'archées au T2, du Phylum *Crenarchaeota*, qui sont également retrouvées dans le sédiment de surface avec une abondance relative d'environ 10%. De plus, le sédiment de cette station 3 est différenciable par sa proportion nettement plus importante en *Proteobacteria* par rapport aux autres stations.

En ce qui concerne la station 2, elle est encore une fois très différente des deux autres. Au niveau de la dynamique temporelle, les *Desulfobacterota*, majoritaires à cette stations, *Myxococcota* et *Spirochaetota* ont une abondance relative qui augmente au cours du temps, alors qu'à l'inverse la part des *Bacteroidota* et des *Firmicutes* diminue fortement. De plus, cette station est caractérisée par des Phyla qui ne sont pas retrouvés dans les deux autres stations : *Fibrobacterota* et *Thermotogota*.

Enfin, au niveau des Phyla retrouvés et de leur abondance relative respective, les T1 sont plus similaires aux T0, à l'exception de la station 2, et les T4 plutôt au sédiment de surface.

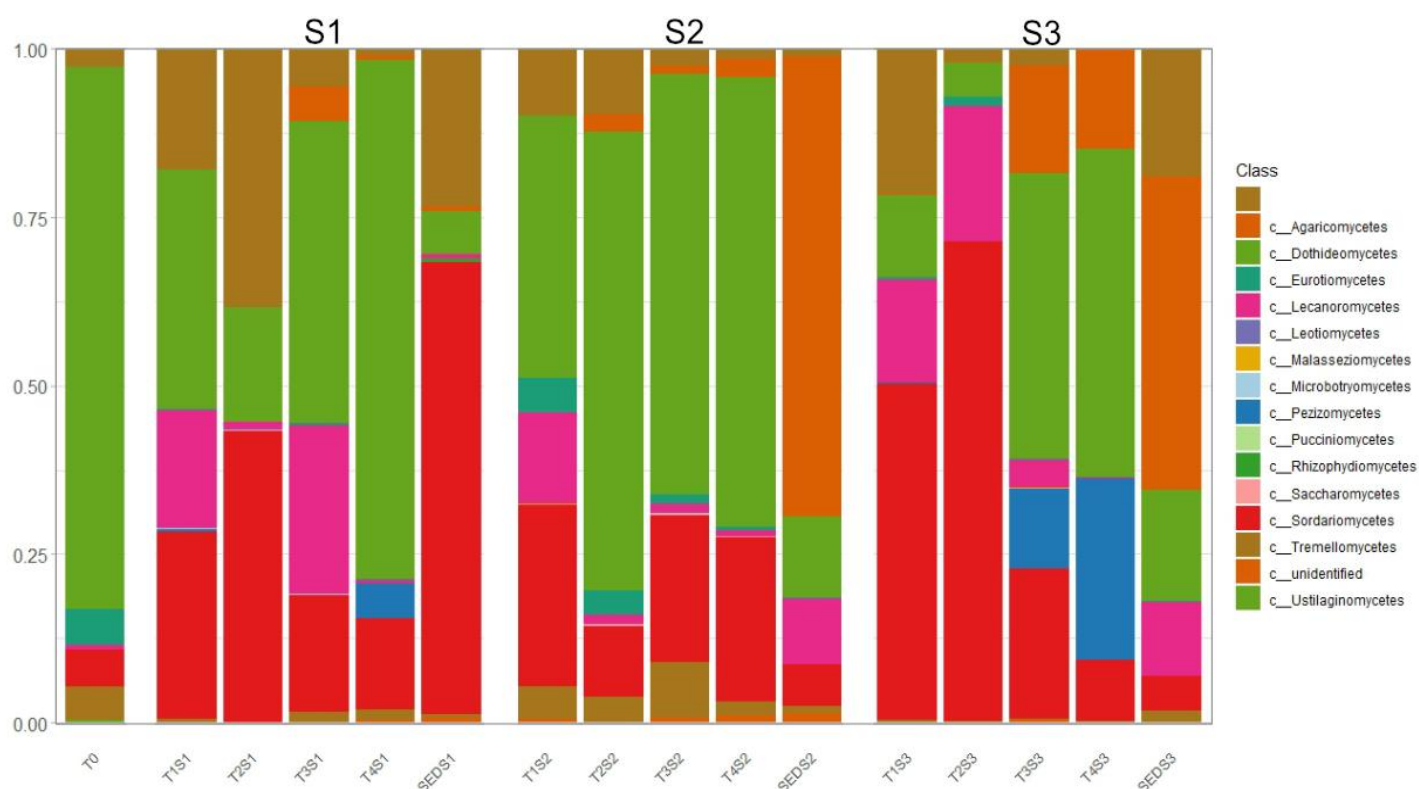


Figure 12: Barplot de l'abondance relative des Classes d'eucaryotes fongiques en fonction du temps de décomposition sur les stations de Guyane

La figure 12 montre la même analyse que la figure précédente, cette fois ci sur les Classes d'eucaryotes fongiques. Les OTUs n'ayant pas d'assignation au niveau du domaine biologique ont été retirés, pour ne garder que les eucaryotes fongiques.

De façon globale, les Classes les plus représentées en abondance relative sont les *Dothideomycètes* et les *Sordariomycètes* avec une part d'au moins 60%, auxquels s'ajoutent les *Agaricomycètes* dans les sédiments de surface des stations 2 et 3 avec une proportion de plus de 50%. Les stations 1 et 3 montrent des similitudes dans la dynamique temporelle avec une proportion croissante de *Dothideomycètes*, l'apparition de *Pezizomycètes* et d'*Agaricomycètes* en T3 ainsi qu'une décroissance de la proportion de *Sordariomycètes* et de *Lecanoromycètes*. A l'inverse quelques différences sont notables comme une part plus importante de *Sordariomycètes* en station 3 aux T1 et T2, et d'*Agaricomycètes* et de *Pezizomycètes* aux T3 et T4. Ensuite la station 2 semble encore une fois différer des autres par la présence d'*Eurothiomycètes* et de *Tremellomycètes* ainsi que par une variation moins importante des proportions de chaque Classe entre les 4 temps de décomposition. Dans l'ensemble, les proportions des Classes de la station 2 sont relativement plus similaires à celles de la station 1.

Au niveau du sédiment de surface, ces échantillons montrent une composition taxonomique très différente de celle des feuilles en décomposition pour toutes les stations. Les stations 2 et 3 montrent une composition semblable, alors que la station 1 contraste notamment par sa proportion d'*Agaricomycètes* très faible d'environ 1% et celle de *Sordariomycètes* très élevée de 70% par rapport aux deux autres stations.

Finalement, la station 2 diffère fortement dans sa composition de procaryotes au niveau des feuilles en décomposition. Pourtant, elle semble être similaire à la station 1 dans sa composition d'eucaryotes fongiques dans les feuilles, mais pas dans les sédiments de surface. Les stations 1 et 3 sont assez semblables en ce qui concerne les procaryotes dans les feuilles, mais contrastent plus dans leur composition en eucaryotes et dans leurs communautés des deux domaines dans les sédiments de surface.

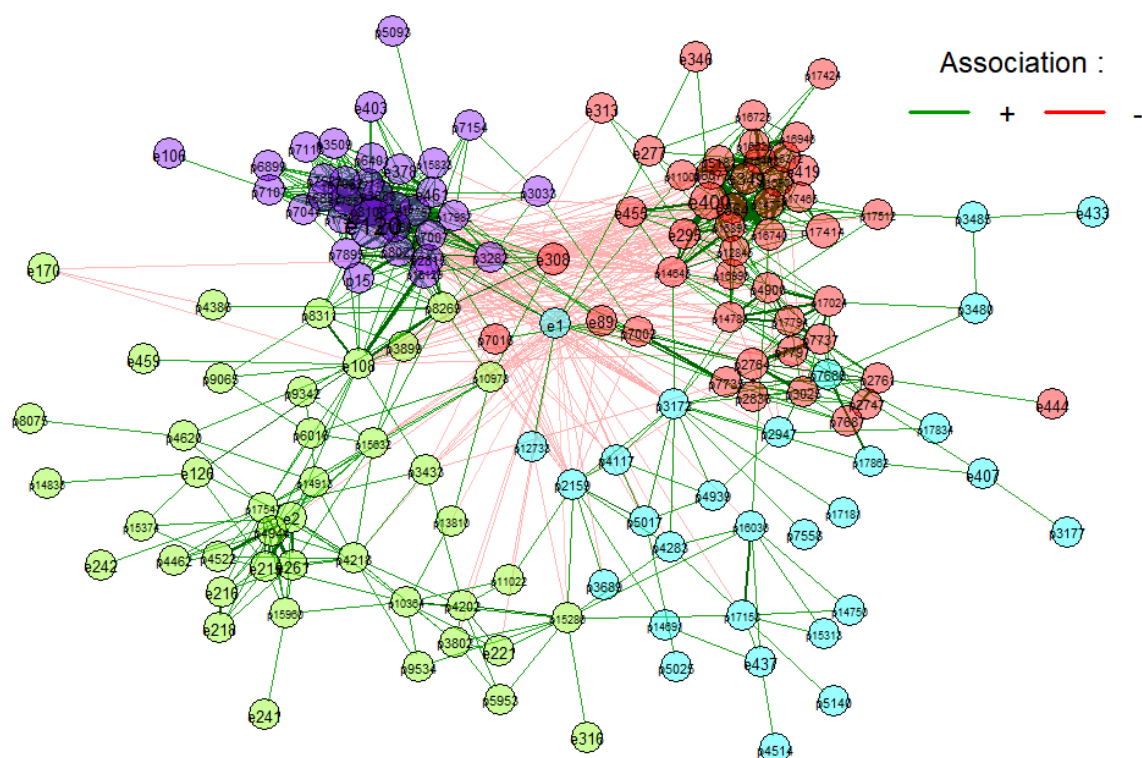


Figure 13: Réseau de cooccurrence sur les communautés microbiennes de l'ensemble des stations de Guyane

L'analyse en Figure 13 met en évidence 4 modules différents qui évoluent ensemble le long de nos différentes stations. Au sein des modules violet et rouge les OTUs montrent de fortes associations positives entre eux, et sont très regroupés. Les modules vert et bleu ont des OTUs plus éparses, avec un nombre plus bas d'associations positives pour un même OTU.

Ensuite, au niveau des modules entre eux. Les modules violet et vert partagent plusieurs associations positives, dont une forte (trait plus épais) entre un procaryote (p2815) et un champignon (e108). De même les modules rouge et bleu semblent s'associer positivement. Ces deux groupes de modules, le groupe « modules violet et vert » et le groupe « modules rouge et bleu », ont un grand nombre d'associations négatives entre eux, qui indique qu'ils s'opposent dans l'occurrence de leurs OTUs respectifs.

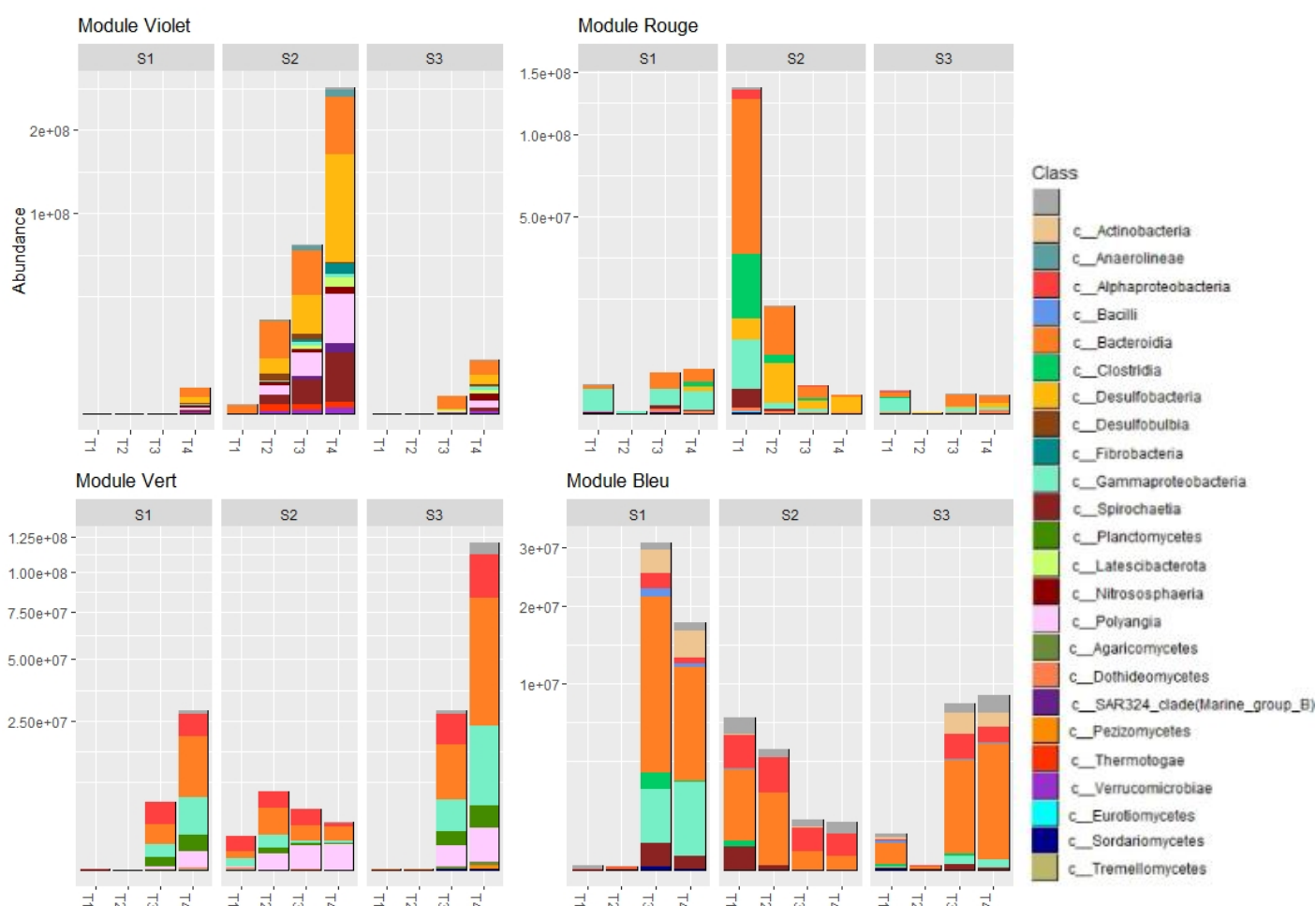


Figure 14: Abondance des Classes microbiennes des modules en fonction des temps de décomposition pour chaque station de Guyane

Une fois ces modules identifiés et associés globalement entre eux, la Figure 14 permet d'étudier leur composition taxonomique et leur abondance relative au niveau de la Classe, en fonction des stations et du temps de dégradation.

Au niveau de l'abondance des taxons présents, les modules violet et rouge s'opposent dans la dynamique temporelle : le module violet montre une abondance croissante aux station 1 et 3 à partir de respectivement T4 et T3, et la station 2 dès le T1 et de façon beaucoup plus importante. A

l'inverse le module rouge a une abondance relativement stable aux stations 1 et 3, anormalement basse en T2, et fortement décroissante en station 2. Ensuite le module vert montre une dynamique similaire des stations 1 et 3 avec une augmentation de l'abondance à partir du T3. La station 2 se comporte différemment avec une abondance qui augmente entre T1 et T2 puis diminue légèrement. Enfin, le module bleu partage la décroissance de l'abondance en station 2 avec le module rouge. Les stations 1 et 3, elles, sont différentes avec une explosion de l'abondance en T3, puis une diminution pour la station 1 en T4 et une stagnation pour la station 3.

Le module violet est le plus riche en nombre de Classes différentes avec 14 Classes au total. La composition de la communauté de ce module est dominée par des *Bacteroidia*, *Desulfobacteria*, *Polyangia* et *Nitrososphaeria*.

Le module rouge contient 9 Classes différentes, avec des proportions qui varient selon le temps et les sites. Dans l'ensemble il est dominé par des *Bacteroidia* et des *Gammaproteobacteria* qui tendent à diminuer en station 2. Les *Desulfobacteria* sont présents à tous les temps de la station 2 mais n'apparaissent qu'en T4 pour les stations 1 et 3. Les *Clostridia* eux ont une abondance décroissante en station 2 jusqu'à disparaître au T4, mais n'apparaissent qu'en T2 pour la station 1 et sont absents de la station 3.

Le module bleu est représenté par 8 Classes microbiennes, avec les *Bacteroidia* qui représentent près de 50% de l'abondance sur la plupart échantillons. Les *Alphaproteobacteria* ont une abondance relativement constante en station 2, mais n'apparaissent qu'en T3 aux stations 1 et 3. Les *Actinobacteria* ainsi que les *Gammaproteobacteria* sont uniquement présents et relativement abondants aux T3 et T4 des stations 1 et 3. Ensuite, les *Spirochaetia* montrent un maximum d'abondance à des temps différents selon les stations : en T3 pour les stations 1 et 3 et en T1 pour la station 2, avant de décroître.

Enfin le module vert contient 10 Classes au total, avec des proportions assez semblables pour chaque station. Cette communauté est dominée par les *Alphaproteobacteria*, les *Bacteroidia*, les *Gammaproteobacteria*, les *Polyangia* et les *Planctomycetes*. Certaines dynamiques sont notables : une croissance de *Polyangia* au cours du temps, et au niveau de la station 2 une diminution de l'abondance des *Alphaproteobacteria* et des *Planctomycetes*.

Etude de l'ensemble des sites

Une dernière partie de l'analyse de ces données a été faite sur l'ensemble des stations échantillonnées sur les 4 DOM, pour visualiser les dissimilarités entre leurs communautés microbiennes.

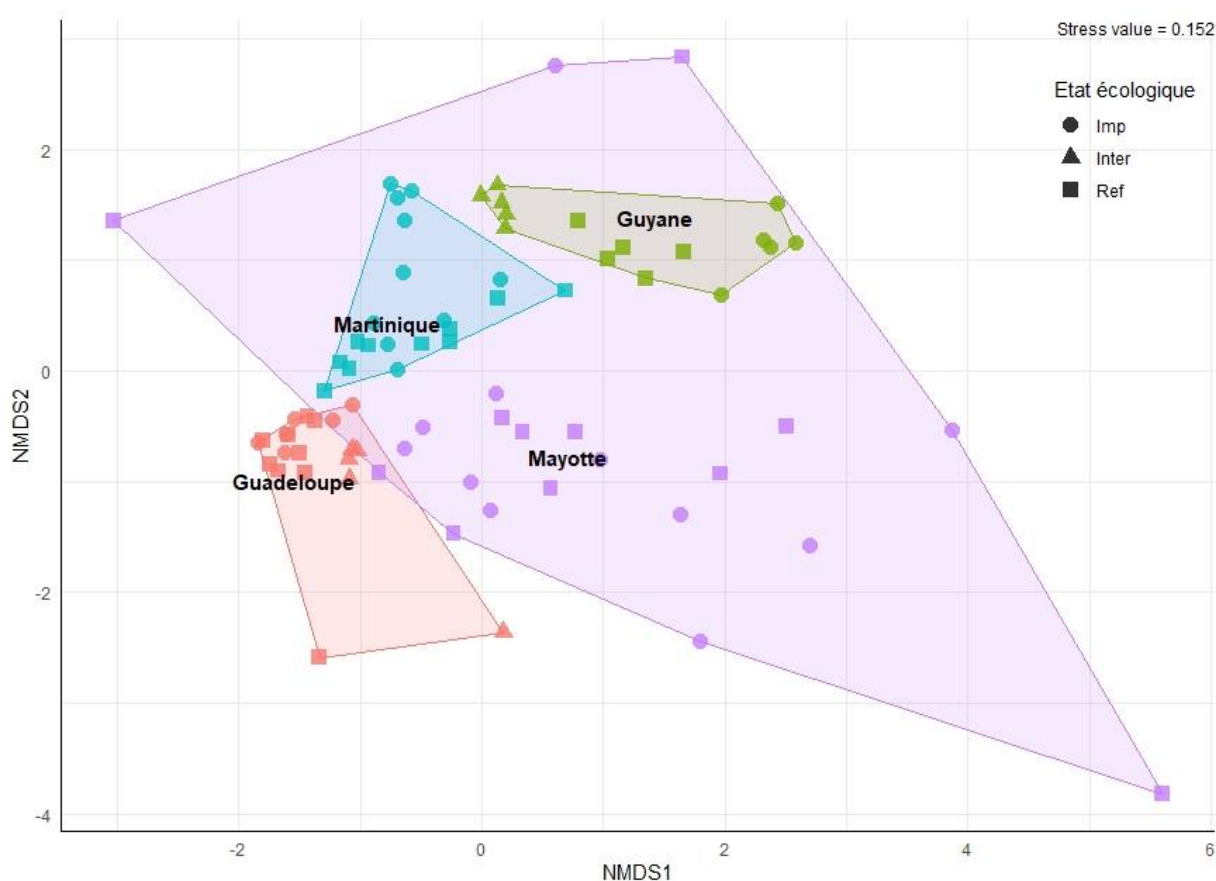


Figure 15: nMDS sur les communautés de procaryotes de toutes les stations au premier temps de dégradation. (Imp = Impacté, Inter = Intermédiaire, Réf = Référence)

La figure 15 est une analyse de proximité réalisée sur les communautés procaryotiques, avec uniquement le marqueur ADN_r 16SV4, à toutes les stations au premier temps de décomposition, soit environ 5 jours. Le choix d'un seul temps permet de comparer des communautés dans une même dynamique, et ainsi de se concentrer sur les différences spatiales.

Tout d'abord le stress de l'analyse est inférieur à 0,2 ce qui témoigne d'une représentation correcte de la matrice de dissimilarité. Une structuration nette des communautés apparaît pour les 3 sites présents en Atlantique : Guadeloupe, Guyane et Martinique. Chaque point, représentant une station, est relié entre eux pour un même DOM, formant des polygones sans chevauchement. A l'inverse le site de Mayotte montre beaucoup plus de dissimilarité entre stations avec des points plus éparés. Le polygone mahorais chevauche les polygones atlantiques. Certains points montrent même une similarité plus grande avec des stations d'un site différent qu'avec d'autres stations de Mayotte. Dans l'ensemble atlantique les communautés microbiennes semblent se distinguer selon leur géographie.

Au niveau de l'état écologique des stations représentées, aucune structuration claire n'est visible pour Mayotte et Guadeloupe, les stations se confondent peu importe leur niveau de pressions anthropiques *a priori*. La Guyane et la Martinique semblent montrer un certain schéma dans la répartition de ces stations, avec un regroupement des stations qui correspondent *a priori* à l'état écologique de référence.

Discussion

Le metabarcoding

Les biais de la méthode

Le metabarcoding est une technique moléculaire qui permet d'évaluer la biodiversité d'échantillons issus du milieu naturel de façon rapide. Elle comporte cependant plusieurs biais qu'il est important de connaître, et de limiter au maximum. Dans un premier temps, pour pouvoir comparer les différents échantillons traités, il est nécessaire de suivre le même protocole. En effet, le choix des amorces ou encore le séquenceur en lui-même peuvent faire varier de façon importante les résultats (Tremblay *et al.* 2015; Fouhy *et al.* 2016). L'utilisation d'une « mock community », d'un contrôle interne, contenant des abondances connues de différents taxons, peut être judicieux pour se rendre compte des erreurs liées à la méthode (Gohl *et al.* 2016; Bakker 2018). Les outils bio-informatiques sont également importants, et encore une fois il est important d'avoir les mêmes paramètres pour tous les échantillons (Loos & Nijland 2020). Certains de ces paramètres sont arbitraires, notamment le seuil de similarité de 97% pour définir un OTU. Ce seuil habituellement choisi pour différencier des espèces, est ici conceptuel, ne définissant pas à proprement parler une entité biologique (Stackebrandt & Goebel 1994).

Cette méthode, malgré ces nombreux avantages, ne permet pas d'obtenir à elle seule les abondances relatives des taxons présents. En effet, la plupart des études sur l'ADN environnemental (ADNe) montre une mauvaise corrélation entre le nombre de reads et l'abondance (Hollatz *et al.* 2016; Leray & Knowlton 2017). Une des causes est liée à la stochasticité de l'amplification par PCR. Des études sur l'ADNe de sédiments marins montrent que les « choix » de la polymérase affectent à la fois l'occurrence et l'estimation de l'abondance relative (Nichols *et al.* 2018). Là encore, l'incorporation d'un contrôle interne pourrait permettre de corriger les abondances (Thomas *et al.* 2016), sinon il est nécessaire de rajouter une qPCR pour chacun des marqueurs utilisés.

Le choix des organismes ciblés

Comme dit précédemment, le choix des amorces est primordial pour la comparaison des échantillons, mais il détermine surtout les organismes ciblés. Dans la présente étude, l'utilisation d'amorces dites universelles a été préféré pour observer une large diversité taxonomique. Le marqueur génétique des procaryotes, l'ADNr 16SV4 ici, est judicieux et la grande majorité des OTUs sont assignés taxonomiquement par reconnaissance des séquences dans la base SILVA (seulement 4 « Unassigned » sur 18294 OTUs dans la table brute). Le marqueur des eucaryotes fongiques, l'ADNr ITS2, ne permet pas la reconnaissance pour presque 50% des séquences (252 « Unassigned » sur 552 OTUs dans la table brute). Pourtant plusieurs études montrent que le marqueur ITS est le meilleur marqueur universel pour les champignons (Schoch *et al.* 2012), et que l'ITS2 induit moins de biais, et est plus universel que l'ITS1 (Nilsson *et al.* 2019). Le principal problème dans cette étude est que la majorité des Phylum retrouvés appartiennent au *Basidiomycetes* et aux *Ascomycetes*, ce qui reflète davantage l'affinité du marqueur choisi qu'une réelle domination de ces groupes. Or, de nombreuses publications soulignent la présence et l'importance des *Straménophiles* dans la dégradation de la MO dans les mangroves, notamment des *Labyrinthomycetes* (Bremer 1995; Boro *et al.* 2018) et les *Oomycetes* (Newell *et al.* 1987; Jesus *et al.* 2016; Raghukumar 2017). Pour pallier à ce manque d'information, il est possible de combiner des marqueurs, comme par exemple les ADNr ITS2 et 5,8S (Heeger *et al.* 2019). De plus, les bases

de données actuelles disponibles pour les champignons ne sont pas complètes, et restent ainsi le plus grand obstacle dans l'étude de ces communautés (Nilsson *et al.* 2006).

Le processus de dégradation de la matière organique

La dynamique microbienne

Au niveau de la dynamique globale de dégradation de la MO des stations 1 et 3 de Guyane, les résultats montrent bien une augmentation de l'abondance et de la diversité microbienne. Au début de la dégradation, l'abondance des procaryotes augmente de façon plus forte que celle des eucaryotes. Ce patron a déjà été observé sur d'autres études en mangroves, qui observent un pic d'abondance bactérienne atteint plus rapidement que celui des fonges (Raghukumar 2017). De plus, l'alpha-diversité montre également une augmentation avec à la fois un nombre d'OTUs croissant, mais aussi des indices de diversité qui prennent en compte l'abondance relative. Ces observations sont cohérentes avec une étude de DeAngelis *et al.* 2013 qui montre une diversification des communautés microbiennes au cours de la dégradation de la MO, ainsi qu'un patron de dominance qui a tendance à diminuer pendant le processus.

La station 2 de Guyane, supposée comme « intermédiaire » dans le degré d'anthropisation, présente une dynamique et une composition microbienne qui se démarquent des stations 1 et 3. Comme précisé précédemment (voir section « Matériels et Méthodes »), l'échantillonnage de cette station s'est fait sur partie plus basse de l'estran, à quelques mètres d'écart du niveau des stations 1 et 3. L'annexe 4 montre l'amplitude de marée à ces stations grâce aux mesures de piézomètres. Les litterbags des stations 1 et 3 ont été submergés par la marée à partir du T3, alors que ceux de la station 2 dès le T1. La vitesse du processus de dégradation de la MO est influencée par de nombreux paramètres, dont l'intensité et la fréquence de la marée. En effet, des feuilles de palétuvier submergées se décomposent plus rapidement que des feuilles sèches (Robertson 1988). Ainsi les échantillons de la station 2 atteignent plus rapidement un stade plus avancé de dégradation. Cette hypothèse est soutenue par l'abondance constante des communautés microbiennes dans les litterbags de cette station (Figure 7), qui correspond plutôt à un plateau d'abondance maximale, ainsi que par le gradient temporel (Figure 9).

Dans l'ensemble, les feuilles de palétuviers étudiés ici n'ont pas été dégradées complètement. Le T4 correspond à 27 jours de dégradation, un temps trop court pour étudier l'ensemble du processus. Des études semblent montrer que 30-40 jours de décomposition de litterbags dans un écosystème mangrove correspond au pic d'abondance microbienne (Rajendran & Kathiresan 2007). Ainsi les stations 1 et 3 correspondraient plutôt au début de la dégradation, en phase 1, et la station 2, dont la dynamique a été accélérée par une submersion de la marée, correspondrait plutôt à la phase 2 (Figure 16).

La diversification des communautés

L'origine des communautés retrouvées sur les feuilles en décomposition semble être partagée entre la feuille fraîche, le sédiment de surface et très probablement l'eau de mer (non échantillonnée ici). D'autres études semblent contredire l'importance des communautés phylogéniques (Tláškal *et al.* 2016), pourtant ici la figure 9 montre des OTUs communs entre le T0 et les temps T1 et T3, et les compositions taxonomiques confirment cela puisque les Phyla *Proteobacteria*, *Bacteroidota*, *Dothideomycetes* et *Sordariomycetes* sont présents sur les feuilles fraîches et restent abondants par la suite. A partir du T3, les taxons du sédiment de surface commencent à coloniser les feuilles de

palétuvier, avec des OTUs partagés entre le sédiment et les T3 et T4, dont les Phyla *Desulfobacterota*, *Planctomycetota*, *Agaricomycetes* et *Crenarchaeota* (sauf pour la station 1) qui sont présents dans le sédiment de surface et à partir du T3 de décomposition. Cette arrivée en T3 pourrait être due à la marée, pour les stations 1 et 3, qui aurait permis un transfert de ces taxons du sédiment sur les feuilles.

L'augmentation de la diversité des stations 1 et 3 peut être expliquée par les composés présents dans les feuilles de palétuviers. Pendant la première phase de dégradation, qui correspond au lessivage des composés labiles, l'activité de certains micro-organismes, principalement des fonges, stimule la perte des phénols (Kuiters 1990; Lin *et al.* 2007; Zhou *et al.* 2012). Or, les tanins, des polyphénols présents dans les feuilles de palétuvier tel que *Rhizophora mangle*, sont des inhibiteurs microbiens qui limitent la colonisation (Zhang & Laanbroek 2020). Ainsi en tout début de dégradation, la diversité est plus faible, avec principalement des espèces qui tolèrent un niveau de stress causé par la présence de tanins, puis cette diversité augmente à mesure que la concentration en tanin diminue et que la biodisponibilité en nutriments augmente (Raghukumar 2017).

Les groupes taxonomiques

Au niveau des Phyla de procaryotes présents dans cette étude, la proportion élevée des *Proteobacteria* et des *Bacteroidota* est confirmée dans plusieurs études montrant leur dominance dans l'écosystème mangrove (Purahong *et al.* 2016; Stal & Cretoiu 2016). Les *Proteobacteria* forment un Phylum très diversifié avec des caractéristiques physiologiques, morphologiques et écologiques très diverses (Willey *et al.* 2013). Au cours du processus de dégradation, les *Proteobacteria* montrent un changement de dominance entre les *Gammaproteobacteria* en début de dégradation, puis au fur et à mesure plutôt une dominance des *Alphaproteobacteria* (Moitinho *et al.* 2018). Les *Gammaproteobacteria* sont plutôt considérés comme des copiotrophes, capables d'une croissance rapide (Bernard *et al.* 2007). Cela pourrait expliquer la proportion très importante des *Proteobacteria* aux stations 1 et 3. Les *Bacteroidota* ont un rôle dans la dégradation de la MO (Buresova *et al.* 2019) et sont plutôt présents en début de dégradation, avant d'être peu à peu remplacés (Herzog *et al.* 2019). Cela explique la diminution de la part de ce Phylum en station 2. Ainsi les Phyla *Proteobacteria* et *Bacteroidota* se comportent plutôt comme des opportunistes lors de la dégradation des feuilles de palétuviers.

Le Phylum des *Desulfobacterota*, lui, semble prendre de l'ampleur au cours de la dégradation, pour finalement représenter près de 40% de l'abondance relative au T4 de la station, le stade le plus avancé de dégradation des feuilles de l'étude. Parmi les *Desulfobacterota*, les *Desulfobacteria* sont un des groupes sulfatoréducteurs les plus dominants en mangroves (Mo *et al.* 2020), prédominants en fin de minéralisation (Jørgensen 1982). Cela concorde avec l'arrivée progressive de ce Phylum au cours du temps. De plus, ce Phylum est composé d'organismes anaérobies, qui oxydent les sulfates et les sulfides et produisent de l'oxygène. Ainsi ces procaryotes joueraient un rôle important lorsque les organismes aérobies ont utilisé tout l'oxygène.

Pour les eucaryotes fongiques, la majorité des taxons identifiés appartiennent aux *Dothideomycetes* et *Sordariomycetes*, des Classes d'*Ascomycetes*. C'est en accord avec des études précédentes faites dans des mangroves, qui retrouvent entre 73 et 94% d'*Ascomycetes* et 5 à 26% de *Basidiomycetes* dans les sédiments (Luis *et al.* 2019). Les *Ascomycetes* en milieu marin sont essentiellement des saprotrophes. Ils peuvent être présents sur différents types de substrats riches en lignine, cellulose ou même chitine (Felder & Camp 2009). Parmi les *Dothideomycetes*, plusieurs

familles sont connues pour leur rôle de décomposeur de débris de mangrove en zone intertidale (Hyde *et al.* 2013). Les Classes *Dothideomycetes* et *Sordariomycetes* sont des fonges très abondants en milieu marin, et fréquemment retrouvés en mangroves (Raghukumar 2017). Leur proportion importante sur les échantillons de feuilles en décomposition soutient l'hypothèse de leur rôle important dans le processus de dégradation. De plus, la colonisation précoce de certains fonges peut être expliquée par leur tolérance à des concentrations élevées en polyphénols, et à leur capacité à les dégrader (Raghukumar *et al.* 1995; Rajendran & Kathiresan 2007). Après cette colonisation, plusieurs études montrent un changement dans la composition des communautés de fonges, passant d'une dominance des *Ascomycetes* en début de dégradation, vers une dominance des *Basidiomycetes* (Schneider *et al.* 2012; Purahong *et al.* 2016). Dans les résultats de Guyane, les Classes de *Basidiomycetes* les plus abondants sont les *Agaricomycetes* et les *Tremellomycetes*. Ils apparaissent doucement avec le temps de décomposition, mais restent minoritaires dans les feuilles, ce qui est sûrement dû au temps trop court de l'expérience.

Les guildes microbiennes

Les modules mis en évidence sur le réseau de cooccurrence (Figure 11) pourraient être considérés comme des guildes microbiennes, puisqu'ils représentent des taxons qui évoluent de la même façon sur l'ensemble de nos stations. Comme dit précédemment, la station 2 est supposée dans un état de dégradation plus avancé, et permet donc d'avoir une évolution plus longue des modules au cours de la dégradation. Ainsi, le module bleu montre une explosion de l'abondance de ses taxons, puis une diminution. Le module rouge montre un pattern similaire, à l'exception de la station 3. Les organismes de ces 2 modules pourraient être considérés comme des opportunistes pendant la dégradation, avec un pic d'abondance au début du processus, puis rapidement une diminution, probablement remplacés par des espèces plus compétitives. Ces OTUs ont probablement une forte tolérance aux concentrations élevées en tanins. A l'inverse, le module violet augmente progressivement jusqu'en T4 de la station 2. Ces micro-organismes seraient plus sensibles aux tanins, et plus compétiteurs devenant dominants à un stade plus avancé du processus. Les taxons du module vert se situent à un stade intermédiaire entre les deux groupes précédents.

Le module violet est composé de taxons importants dans les processus biogéochimiques. Les *Desulfobacteria* et *Desulfobulbia* sont des organismes sulfatoreducteurs (Waite *et al.* n.d.), et les *Nitrososphaeria* sont des archées mésophiles qui participent à la nitrification (Gupta *et al.* 2021). Ce module a alors un rôle dans les cycles de l'azote et du soufre dans les mangroves. Dans les autres modules, la présence de *Clostridia*, *Alphaproteobacteria* et *Gammaproteobacteria*, des organismes copiotrophes plutôt présents aux stades initiaux de la décomposition (Bernard *et al.* 2007; Cleveland *et al.* 2007; DeAngelis *et al.* 2013), soutient l'hypothèse de modules plutôt opportunistes.

Les résultats mettent donc en évidence 4 groupes de taxons qui évoluent ensemble pendant la dégradation de la MO. Le nombre de guildes microbiennes est probablement bien plus élevée, avec des interactions complexes entre elles.

Le microbiote : un bioindicateur pertinent ?

Des différences géographiques

Les différences de communautés microbiennes entre les différents départements d'outre-mer sont claires (Figure 15). Ces communautés se regroupent par site géographique, à l'exception des communautés mahoraises. Le site de Mayotte montre en effet une très grande variabilité par

rapport aux autres sites, et cela quel que soit l'impact *a priori* des mangroves. Au niveau de plusieurs compartiments biologiques (espèces de palétuviers, de poissons, de coraux, etc.), la diversité est plus importante en océan Indien qu'en Atlantique (Keesing & Irvine 2005). Cette diversité plus importante de l'océan indien associée à la variabilité des communautés microbiennes (Willey *et al.* 2013) pourrait expliquer le cas de Mayotte.

Ces différences géographiques sont importantes et compliquent le développement d'une métrique de bio-indication applicable à l'ensemble des départements d'outre-mer français. La diversité taxonomique des communautés microbiennes est très importante, particulièrement chez les bactéries. Travailler sur des niveaux taxonomiques élevés ou sur les fonctions des taxons (Wessén & Hallin 2011) pourraient permettre de réduire le bruit des différences biogéographiques. Cette hypothèse pourrait être testée à partir de l'ensemble des données de cette étude.

Des communautés impactées

Pour le site de Guyane, la station 1 est *a priori* impactée et la station 3 *a priori* de référence. L'hypothèse de base dans la comparaison de ces deux stations est de pouvoir mettre en évidence des différences sûrement dues aux pressions anthropiques. Les résultats montrent une dynamique microbienne assez similaire entre les différents temps de décomposition des feuilles, avec une augmentation plus importante de la diversité sur la station impactée. Au niveau des taxons présents, la station de référence montre la présence de *Crenarchaeota* à partir du T3, et dans les sédiments de surface, et une proportion plus importante d'*Agaricomycetes* pourtant fréquents en mangroves (Arfi *et al.* 2012). Ces deux groupes taxonomiques se retrouvent peu dans la station impactée, ainsi ils pourraient être considérés comme sensibles. Cette hypothèse reste à confirmer sur un nombre plus important d'échantillons, et sur d'autres stations, pour vérifier que ce n'est pas dû à la biogéographie ou d'autres facteurs.

La composition taxonomique de ces deux stations semble différer de manière plus importante dans le sédiment de surface. La station dite impactée est caractérisable par sa part de près de 40% de *Chloroflexi* et la quasi absence d'*Agaricomycetes*. L'étude de Nwankwo *et al.* 2019 a montré que le Phylum des *Basidiomycetes* est dominant dans les sédiments de mangroves non pollués. Cela soutient l'hypothèse de la sensibilité des *Agaricomycetes*, qui font partie de ce groupe. De plus, les *Chloroflexi* seraient plus présents dans les mangroves polluées enrichies en Phosphore et en Cuivre (Torres *et al.* 2019), ce qui corroborerait avec la pression anthropique *a priori* plus élevée de cette station dite impactée. A l'inverse, certaines observations contredisent les résultats d'autres études, comme la dominance de *Firmicutes* en mangroves polluées (Nwankwo & Okpokwasili 2019; Torres *et al.* 2019). Il est possible que les stations de Guyane ne soient pas suffisamment différentes d'un point de vue des pressions anthropiques pour voir des différences plus nettes.

Dans l'ensemble, la plupart des études microbiennes en mangroves ont été réalisées sur le sédiment, plutôt que sur de la MO en décomposition. Le développement d'un bioindicateur microbien sur le sédiment pourrait être plus pertinent, à la fois aux vues des résultats de la présente étude, mais aussi pour pouvoir allier ces résultats avec une littérature plus riche. De plus, le processus de décomposition dépend essentiellement du substrat et des micro-organismes disponibles dans l'environnement (Kothawala *et al.* 2021). Ainsi étudier directement le sédiment, soit une partie de l'environnement en contact immédiat avec la matière à décomposer, semble approprié. Le reste du microbiote décomposeur provenant sans doute de l'eau de mer et des feuilles elles-mêmes.

Conclusion

Les objectifs de cette étude étaient d'observer et de comprendre la dynamique des communautés microbiennes présentes lors du processus de dégradation de la MO et de mettre en évidence des différences au sein de ces communautés entre des mangroves qui subissent *a priori* des pressions anthropiques contrastées.

Au niveau de l'étude de ces communautés pendant le processus de dégradation, les résultats une fois discutés peuvent être replacés sur le schéma initial de nos hypothèses (Figure 16). La présente étude s'est finalement concentrée sur la colonisation des micro-organismes et d'un début de décomposition visible sur une expérimentation d'un mois.

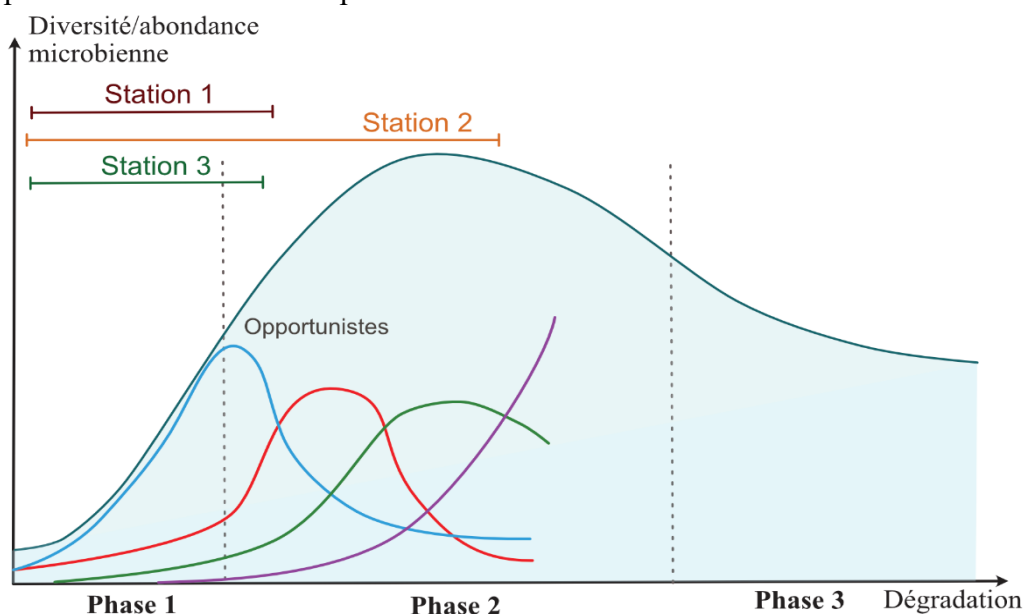


Figure 16: Schéma bilan (les courbes bleue, rouge, verte et violette représentent des guildes microbiennes mis en évidence par le réseau de cooccurrence)

Des différences de communautés ont été observées entre les mangroves *a priori* en bon état et celles *a priori* impactées de Guyane, mais ces différences sont plus marquées et documentées dans le sédiment que dans des feuilles en dégradation.

Le temps de l'étude a été trop court pour approfondir certaines pistes, comme la recherche des signatures bactériennes caractéristiques des activités humaines, telles que l'aquaculture (Sousa *et al.* 2006; Erazo & Bowman 2021), l'industrie pharmaceutique (Silva *et al.* 2020), l'élevage (Yan *et al.* 2021) ou les effluents de zones habitées (Tian *et al.* 2020). De plus, cette étude s'est finalement intéressée à des différences taxonomiques entre les communautés. Or, certains chercheurs soutiennent l'hypothèse d'un « paradigme microbien », dans lequel les rôles fonctionnels seraient sélectionnés par le milieu mais que les taxons qui jouent ces rôles sont seulement influencés par les interactions biologiques et la dispersion (Ramond *et al.* 2019). Autrement dit, des différences taxonomiques ne seraient pas nécessairement accompagnées de différences fonctionnelles. Il serait intéressant de compléter cette étude avec des données sur les fonctions actives, par une analyse transcriptomique, ou de façon moins précise sur les fonctions putatives associées aux séquences retrouvées, avec des outils comme PICRUSt2 (Langille *et al.* 2013). L'analyse fonctionnelle pourrait mettre en évidence des différences plus marquées dans les écosystèmes perturbés.

Bibliographie

- Abdallah, K. & Eymard, S. (2012). *Atlas des mangroves de Mayotte (2012)* (Documentation Ifreco).
- Abdelfattah, A., Malacrinò, A., Wisniewski, M., Cacciola, S.O. & Schena, L. (2018). Metabarcoding: A powerful tool to investigate microbial communities and shape future plant protection strategies. *Biol. Control, Metagenomics and the Science of Biological Control*, 120, 1–10.
- Aitchison, J. (1982). The Statistical Analysis of Compositional Data. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol.*, 44, 139–160.
- Alongi, D.M. (2002). Present state and future of the world's mangrove forests. *Environ. Conserv.*, 29, 331–349.
- Arfi, Y., Marchand, C., Wartel, M. & Record, E. (2012). Fungal diversity in anoxic-sulfidic sediments in a mangrove soil. *Fungal Ecol.*, 5, 282–285.
- Bakker, M.G. (2018). A fungal mock community control for amplicon sequencing experiments. *Mol. Ecol. Resour.*, 18, 541–556.
- Bálint, M., Bahram, M., Eren, A.M., Faust, K., Fuhrman, J.A., Lindahl, B., *et al.* (2016). Millions of reads, thousands of taxa: microbial community structure and associations analyzed via marker genes. *FEMS Microbiol. Rev.*, 40, 686–700.
- Berg, B. & McClaugherty, C. (2020). *Plant Litter: Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration*. Springer International Publishing, Cham.
- Bernard, L., Mougel, C., Maron, P.-A., Nowak, V., Lévêque, J., Henault, C., *et al.* (2007). Dynamics and identification of soil microbial populations actively assimilating carbon from ¹³C-labelled wheat residue as estimated by DNA- and RNA-SIP techniques. *Environ. Microbiol.*, 9, 752–764.
- Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R., Bokulich, N.A., Abnet, C.C., Al-Ghalith, G.A., *et al.* (2019). Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2. *Nat. Biotechnol.*, 37, 852–857.
- Boro, M.C., Harakava, R. & Pires-Zottarelli, C.L.A. (2018). Labyrinthulomycota from Brazilian mangrove swamps and coastal waters. *Bot. Mar.*, 61, 65–74.
- Bremer, G.B. (1995). Lower marine fungi (labyrinthulomycetes) and the decay of mangrove leaf litter. *Hydrobiologia*, 295, 89–95.
- Buresova, A., Kopecky, J., Hrdinkova, V., Kamenik, Z., Omelka, M. & Sagova-Mareckova, M. (2019). Succession of Microbial Decomposers Is Determined by Litter Type, but Site Conditions Drive Decomposition Rates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 85.
- Buttigieg, P.L. & Ramette, A. (2014). A guide to statistical analysis in microbial ecology: a community-focused, living review of multivariate data analyses. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 90, 543–550.

- Cabral, L., Pereira de Sousa, S.T., Júnior, G.V.L., Hawley, E., Andreote, F.D., Hess, M., *et al.* (2018). Microbial functional responses to long-term anthropogenic impact in mangrove soils. *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 160, 231–239.
- Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson, A.J.A. & Holmes, S.P. (2016). DADA2: High resolution sample inference from Illumina amplicon data, 16.
- Carugati, L., Gatto, B., Rastelli, E., Lo Martire, M., Coral, C., Greco, S., *et al.* (2018). Impact of mangrove forests degradation on biodiversity and ecosystem functioning. *Sci. Rep.*, 8, 13298.
- Choi, J. & Park, J.S. (2020). Comparative analyses of the V4 and V9 regions of 18S rDNA for the extant eukaryotic community using the Illumina platform. *Sci. Rep.*, 10, 6519.
- Cleveland, C.C., Nemergut, D.R., Schmidt, S.K. & Townsend, A.R. (2007). Increases in soil respiration following labile carbon additions linked to rapid shifts in soil microbial community composition. *Biogeochemistry*, 82, 229–240.
- Craig, H., Antwis, R.E., Cordero, I., Ashworth, D., Robinson, C.H., Osborne, T.Z., *et al.* (2021). Nitrogen addition alters composition, diversity, and functioning of microbial communities in mangrove soils: An incubation experiment. *Soil Biol. Biochem.*, 153, 108076.
- DeAngelis, K.M., Chivian, D., Fortney, J.L., Arkin, A.P., Simmons, B., Hazen, T.C., *et al.* (2013). Changes in microbial dynamics during long-term decomposition in tropical forests. *Soil Biol. Biochem.*, 66, 60–68.
- Dirberg, G. (2015). Compte rendu du séminaire du groupe de travail « mangroves ». Paris, MNHN, 28-30 septembre 2015. Convention ONEMA/MNHN 2015. 12 pages.
- Erazo, N.G. & Bowman, J.S. (2021). Sensitivity of the mangrove-estuarine microbial community to aquaculture effluent. *iScience*, 24, 102204.
- Falentin, H., Auer, L., Mariadassou, M., Pascal, G., Rué, O., Dugat-Bony, E., *et al.* (2019). Guide pratique à destination des biologistes, bioinformaticiens et statisticiens qui souhaitent s'initier aux analyses métabarcoding: Partage de pratiques et retours d'expérience des membres du pôle métagénomique du PEPI IBIS.
- Felder, D.L. & Camp, D.K. (2009). *Gulf of Mexico Origin, Waters, and Biota: Volume I, Biodiversity*. Texas A&M University Press.
- Fouhy, F., Clooney, A.G., Stanton, C., Claesson, M.J. & Cotter, P.D. (2016). 16S rRNA gene sequencing of mock microbial populations- impact of DNA extraction method, primer choice and sequencing platform. *BMC Microbiol.*, 16, 123.
- Friedman, J. & Alm, E.J. (2012). Inferring Correlation Networks from Genomic Survey Data. *PLOS Comput. Biol.*, 8, e1002687.
- Giri, C., Ochieng, E., Tieszen, L.L., Zhu, Z., Singh, A., Loveland, T., *et al.* (2011). Status and distribution of mangrove forests of the world using earth observation satellite data. *Glob. Ecol. Biogeogr.*, 20, 154–159.
- Giry, F., Binet, T. & Keurmeur, N. (2017). Les bénéfices de la protection des mangroves de l'outre-mer français par le Conservatoire du littoral : une évaluation économique à l'horizon 2040. *Études Caraïbéennes*.

- Gohl, D.M., Vangay, P., Garbe, J., MacLean, A., Hauge, A., Becker, A., *et al.* (2016). Systematic improvement of amplicon marker gene methods for increased accuracy in microbiome studies. *Nat. Biotechnol.*, 34, 942–949.
- Gupta, A., Saha, A. & Sar, P. (2021). Thermoplasmata and Nitrososphaeria as dominant archaeal members in acid mine drainage sediment of Malanjkhand Copper Project, India. *Arch. Microbiol.*, 203, 1833–1841.
- Heeger, F., Wurzbacher, C., Bourne, E.C., Mazzoni, C.J. & Monaghan, M.T. (2019). Combining the 5.8S and ITS2 to improve classification of fungi. *Methods Ecol. Evol.*, 10, 1702–1711.
- Herzog, C., Hartmann, M., Frey, B., Stierli, B., Rumpel, C., Buchmann, N., *et al.* (2019). Microbial succession on decomposing root litter in a drought-prone Scots pine forest. *ISME J.*, 13, 2346–2362.
- Hogarth, P.J. (2015). *The Biology of Mangroves and Seagrasses*. Oxford University Press.
- Hollatz, C., Leite, B.R., Lobo, J., Froufe, H., Egas, C. & Costa, F.O. (2016). Priming of a DNA metabarcoding approach for species identification and inventory in marine macrobenthic communities. *Genome*.
- Hossain, M., Siddique, M.R.H., Abdullah, S.M.R., Saha, S., Ghosh, D.C., Rahman, Md.S., *et al.* (2014). Nutrient Dynamics Associated with Leaching and Microbial Decomposition of Four Abundant Mangrove Species Leaf Litter of the Sundarbans, Bangladesh. *Wetlands*, 34, 439–448.
- Hyde, K.D., Jones, E.B.G., Liu, J.-K., Ariyawansa, H., Boehm, E., Boonmee, S., *et al.* (2013). Families of Dothideomycetes. *Fungal Divers.*, 63, 1–313.
- Isaza, J.P., Sandoval-Figueroa, V., Rodelo, M.C., Muñoz-García, A., Figueroa-Galvis, I. & Vanegas, J. (2021). Metatranscriptomic characterization of the bacterial community of a contaminated mangrove from the Caribbean. *Reg. Stud. Mar. Sci.*, 101724.
- Jesus, A.L., Marano, A.V., Jerônimo, G.H., de Souza, J.I., Leaño, E.M. & Pires-Zottarelli, C.L.A. (2016). The genus *Halophytophthora* (Peronosporales, Straminipila) in Brazil: first descriptions of species. *Braz. J. Bot.*, 39, 729–739.
- Jørgensen, B.B. (1982). Mineralization of organic matter in the sea bed—the role of sulphate reduction. *Nature*, 296, 643–645.
- Keesing, J. & Irvine, T. (2005). Coastal biodiversity in the Indian Ocean: The known, the unknown and the unknowable. *INDIAN J MAR SCI*, 34, 16.
- Kothawala, D.N., Kellerman, A.M., Catalán, N. & Tranvik, L.J. (2021). Organic Matter Degradation across Ecosystem Boundaries: The Need for a Unified Conceptualization. *Trends Ecol. Evol.*, 36, 113–122.
- Kuiters, A.T. (1990). Role of phenolic substances from decomposing forest litter in plant-soil interactions. *Acta Bot. Neerlandica*, 39, 329–348.
- Lacerda, L.D., Ittekkot, V. & Patchineelam, S.R. (1995). Biogeochemistry of Mangrove Soil Organic Matter: a Comparison Between *Rhizophora* and *Avicennia* Soils in South-eastern Brazil. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 40, 713–720.

- Langille, M.G.I., Zaneveld, J., Caporaso, J.G., McDonald, D., Knights, D., Reyes, J.A., *et al.* (2013). Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nat. Biotechnol.*, 31, 814–821.
- Leray, M. & Knowlton, N. (2017). Random sampling causes the low reproducibility of rare eukaryotic OTUs in Illumina COI metabarcoding. *PeerJ*, 5, e3006.
- Liang, S., Zhou, R., Dong, S. & Shi, S. (2008). Adaptation to salinity in mangroves: Implication on the evolution of salt-tolerance. *Chin. Sci. Bull.*, 53, 1708.
- Lin, Y.M., Liu, J.W., Xiang, P., Lin, P., Ding, Z.H. & da Silveira Lobo Sternberg, L. (2007). Tannins and nitrogen dynamics in mangrove leaves at different age and decay stages (Jiulong River Estuary, China). *Hydrobiologia*, 583, 285–295.
- Liu, M., Yu, Z., Yu, X., Xue, Y., Huang, B. & Yang, J. (2017). Invasion by Cordgrass Increases Microbial Diversity and Alters Community Composition in a Mangrove Nature Reserve. *Front. Microbiol.*, 8.
- Loos, L.M. van der & Nijland, R. (2020). Biases in bulk: DNA metabarcoding of marine communities and the methodology involved. *Mol. Ecol.*, n/a.
- Lovelock, C.E. & Ellison, J. (2007). *Chapter 09: Vulnerability of mangroves and tidal wetlands of the Great Barrier Reef to climate change*. The Great Barrier Reef Marine Park Authority.
- Luis, P., Saint-Genis, G., Vallon, L., Bourgeois, C., Bruto, M., Marchand, C., *et al.* (2019). Contrasted ecological niches shape fungal and prokaryotic community structure in mangroves sediments. *Environ. Microbiol.*, 21, 1407–1424.
- Mo, S., Li, J., Li, B., Yu, R., Nie, S., Zhang, Z., *et al.* (2020). Impacts of Desulfobacterales and Chromatiales on sulfate reduction in the subtropical mangrove ecosystem as revealed by SMDB analysis. *bioRxiv*, 2020.08.16.252635.
- Moitinho, M.A., Bononi, L., Souza, D.T., Melo, I.S. & Taketani, R.G. (2018). Bacterial Succession Decreases Network Complexity During Plant Material Decomposition in Mangroves. *Microb. Ecol.*, 76, 954–963.
- Newell, S.Y., Miller, J.D. & Fell, J.W. (1987). Rapid and Pervasive Occupation of Fallen Mangrove Leaves by a Marine Zoosporic Fungus. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2464–2469.
- Nichols, R.V., Vollmers, C., Newsom, L.A., Wang, Y., Heintzman, P.D., Leighton, M., *et al.* (2018). Minimizing polymerase biases in metabarcoding. *Mol. Ecol. Resour.*, 18, 927–939.
- Nilsson, R.H., Larsson, K.-H., Taylor, A.F.S., Bengtsson-Palme, J., Jeppesen, T.S., Schigel, D., *et al.* (2019). The UNITE database for molecular identification of fungi: handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Res.*, 47, D259–D264.
- Nilsson, R.H., Ryberg, M., Kristiansson, E., Abarenkov, K., Larsson, K.-H. & Kõljalg, U. (2006). Taxonomic Reliability of DNA Sequences in Public Sequence Databases: A Fungal Perspective. *PLOS ONE*, 1, e59.
- Nwankwo & Okpokwasili. (2019). Molecular Characterization of Microorganisms in Crude Oil-Polluted Mangrove Swamps of the Niger Delta, Rivers State, Nigeria, 10, 12.

- Parada, A.E., Needham, D.M. & Fuhrman, J.A. (2016). Every base matters: assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples: Primers for marine microbiome studies. *Environ. Microbiol.*, 18, 1403–1414.
- Pascal, N., Leport, G. & Allenbach. (2014). *Récifs coralliens, mangroves et herbiers de Mayotte : Valeur économique des services écosystémiques* (Rapport final).
- Peschel, S., Müller, C.L., von Mutius, E., Boulesteix, A.-L. & Depner, M. (2020). NetCoMi: network construction and comparison for microbiome data in R. *Brief. Bioinform.*
- Petit, K. & Michon, J. (2015). L'état des eaux de surface et des eaux souterraines. In: *Eaufrance*. Presented at the Office national de l'eau et des milieux aquatiques, ONEMA.
- Pons, C., IFREMER, MTES & AFB. (2018). *Guide relatif aux règles d'évaluation de l'état des eaux littorales dans le cadre de la DCE*. Available at: <https://professionnels.ofb.fr/sites/default/files/pdf/estuaires/GuideREEEL-DCE-MTES2018.pdf>. Last accessed 22 April 2021.
- Purahong, W., Wubet, T., Lentendu, G., Schlöter, M., Pecyna, M.J., Kapturska, D., *et al.* (2016). Life in leaf litter: novel insights into community dynamics of bacteria and fungi during litter decomposition, 16.
- Quast, C., Pruesse, E., Yilmaz, P., Gerken, J., Schweer, T., Yarza, P., *et al.* (2013). The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res.*, 41, D590–D596.
- Raghukumar, S. (2017). *Fungi in Coastal and Oceanic Marine Ecosystems*. Springer International Publishing, Cham.
- Raghukumar, S., Sathe-Pathak, V., Sharma, S. & Raghukumar, C. (1995). Thraustochytrid and fungal component of marine detritus. 111. Field studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora apiculata*, 9.
- Rajendran, N. & Kathiresan, K. (2007). Microbial flora associated with submerged mangrove leaf litter in India. *Rev. Biol. Trop.*, 55, 393–400.
- Rambey, R., Delvian & Sianturi, S.D. (2018). Decomposition rate of *Rhizopora stylosa* litter in Tanjung Rejo Village, Deli Serdang Regency, North Sumatera Province. *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, 122, 012058.
- Ramond, P., Sourisseau, M., Simon, N., Romac, S., Schmitt, S., Rigaut-Jalabert, F., *et al.* (2019). Coupling between taxonomic and functional diversity in protistan coastal communities: Functional diversity of marine protists. *Environ. Microbiol.*, 21, 730–749.
- Robertson, A.I. (1988). Decomposition of mangrove leaf litter in tropical Australia. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 116, 235–247.
- Roussel, E., Duncombe, M. & Gabrié, C. (2009). Les mangroves de l'outre-mer français, 145.
- Schaeffer-Novelli, Y., Cintrón-Molero, G., Adaime, R.R., de Camargo, T.M., Cintron-Molero, G. & de Camargo, T.M. (1990). Variability of Mangrove Ecosystems along the Brazilian Coast. *Estuaries*, 13, 204.

- Schneider, T., Keiblinger, K.M., Schmid, E., Sterflinger-Gleixner, K., Ellersdorfer, G., Roschitzki, B., *et al.* (2012). Who is who in litter decomposition? Metaproteomics reveals major microbial players and their biogeochemical functions. *ISME J.*, 6, 1749–1762.
- Schoch, C.L., Seifert, K.A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J.L., Levesque, C.A., *et al.* (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109, 6241–6246.
- Shannon, C.E. (1948). A Mathematical Theory of Communication. *Bell Syst. Tech. J.*, 27, 379–423.
- Silva, C. dos S., Santos, T.I.O. dos, Sousa, A.C.N., Ferreira, J.K. da S., Silva, M.R.C. & Miranda, R. de C.M. de. (2020). Microbiological profile of urban mangrove sediments exposed to effluents from the pharmaceutical industry. *Ciênc. E Nat.*, 42, 13.
- Simpson, E.H. (1949). Measurement of Diversity. *Nature*, 163, 688–688.
- Sousa, O.V., Macrae, A., Menezes, F.G.R., Gomes, N.C.M., Vieira, R.H.S.F. & Mendonça-Hagler, L.C.S. (2006). The impact of shrimp farming effluent on bacterial communities in mangrove waters, Ceará, Brazil. *Mar. Pollut. Bull.*, 52, 1725–1734.
- Stackebrandt, E. & Goebel, B.M. (1994). Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16S rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 44, 846–849.
- Stal, L.J. & Cretoiu, M.S. (Eds.). (2016). *The marine microbiome: an untapped source of biodiversity and biotechnological potential*. Springer, Cham.
- Thomas, A.C., Deagle, B.E., Eveson, J.P., Harsch, C.H. & Trites, A.W. (2016). Quantitative DNA metabarcoding: improved estimates of species proportional biomass using correction factors derived from control material. *Mol. Ecol. Resour.*, 16, 714–726.
- Thomas, N., Lucas, R., Bunting, P., Hardy, A., Rosenqvist, A. & Simard, M. (2017). Distribution and drivers of global mangrove forest change, 1996–2010. *PLOS ONE*, 12, e0179302.
- Thomsen, P.F. & Willerslev, E. (2015). Environmental DNA – An emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biol. Conserv.*, Special Issue: Environmental DNA: A powerful new tool for biological conservation, 183, 4–18.
- Tian, T., Yang, Q., Wei, G., Cheung, S.G., Shin, P.K.S., Wong, Y.S., *et al.* (2020). Changes of substrate microbial biomass and community composition in a constructed mangrove wetland for municipal wastewater treatment during 10-years operation. *Mar. Pollut. Bull.*, 155, 111095.
- Tláškal, V., Voříšková, J. & Baldrian, P. (2016). Bacterial succession on decomposing leaf litter exhibits a specific occurrence pattern of cellulolytic taxa and potential decomposers of fungal mycelia. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 92.
- Torres, G.G., Figueroa-Galvis, I., Muñoz-García, A., Polanía, J. & Vanegas, J. (2019). Potential bacterial bioindicators of urban pollution in mangroves. *Environ. Pollut.*, 255, 113293.
- Tremblay, J., Singh, K., Fern, A., Kirton, E.S., He, S., Woyke, T., *et al.* (2015). Primer and platform effects on 16S rRNA tag sequencing. *Front. Microbiol.*, 6.

- Valiela, I., Bowen, J.L. & York, J.K. (2001). Mangrove Forests: One of the World's Threatened Major Tropical Environments. *BioScience*, 51, 807–815.
- Valiela, I., Teal, J.M., Allen, S.D., Van Etten, R., Goehring, D. & Volkmann, S. (1985). Decomposition in salt marsh ecosystems: The phases and major factors affecting disappearance of above-ground organic matter. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 89, 29–54.
- Van Coppenolle, R., Schwarz, C. & Temmerman, S. (2018). Contribution of Mangroves and Salt Marshes to Nature-Based Mitigation of Coastal Flood Risks in Major Deltas of the World. *Estuaries Coasts*, 41, 1699–1711.
- Van Dijk, E.L., Auger, H., Jaszczyszyn, Y. & Thermes, C. (2014). Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet.*, 30, 418–426.
- Vancov, T. & Keen, B. (2009). Amplification of soil fungal community DNA using the ITS86F and ITS4 primers. *FEMS Microbiol. Lett.*, 296, 91–96.
- Waite, D.W., Chuvochina, M., Pelikan, C., Parks, D.H., Yilmaz, P., Wagner, M., *et al.* (n.d.). Proposal to reclassify the proteobacterial classes Deltaproteobacteria and Oligoflexia, and the phylum Thermodesulfobacteria into four phyla reflecting major functional capabilities. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 70, 5972–6016.
- Walters, B.B., Rönnbäck, P., Kovacs, J.M., Crona, B., Hussain, S.A., Badola, R., *et al.* (2008). Ethnobiology, socio-economics and management of mangrove forests: A review. *Aquat. Bot.*, Mangrove Ecology – Applications in Forestry and Coastal Zone Management, 89, 220–236.
- Wang, L., Huang, X. & Zheng, T.-L. (2016). Responses of bacterial and archaeal communities to nitrate stimulation after oil pollution in mangrove sediment revealed by Illumina sequencing. *Mar. Pollut. Bull.*, 109, 281–289.
- Wessén, E. & Hallin, S. (2011). Abundance of archaeal and bacterial ammonia oxidizers – Possible bioindicator for soil monitoring. *Ecol. Indic.*, 11, 1696–1698.
- Whitfield, A.K. (2017). The role of seagrass meadows, mangrove forests, salt marshes and reed beds as nursery areas and food sources for fishes in estuaries. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 27, 75–110.
- Willey, J.M., Sherwood, L. & Woolverton, C. (2013). *Prescott's Microbiology: 9th Revised edition*. MCGRAW HILL HIGHER EDUCATION, London.
- Yan, W., Wang, N., Wei, D., Liang, C., Chen, X., Liu, L., *et al.* (2021). Bacterial community compositions and nitrogen metabolism function in a cattle farm wastewater treatment plant revealed by Illumina high-throughput sequencing. *Environ. Sci. Pollut. Res.*
- Yang, R.-H., Su, J.-H., Shang, J.-J., Wu, Y.-Y., Li, Y., Bao, D.-P., *et al.* (2018). Evaluation of the ribosomal DNA internal transcribed spacer (ITS), specifically ITS1 and ITS2, for the analysis of fungal diversity by deep sequencing. *PLOS ONE*, 13, e0206428.
- Zhang, Q.-F. & Laanbroek, H.J. (2020). Tannins from senescent *Rhizophora* mangrove leaves have a distinctive effect on prokaryotic and eukaryotic communities in a *Distichlis spicata* salt marsh soil. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 96.

- Zhou, H.-C., Tam, N.F., Lin, Y.-M., Wei, S.-D. & Li, Y.-Y. (2012). Changes of condensed tannins during decomposition of leaves of *Kandelia obovata* in a subtropical mangrove swamp in China. *Soil Biol. Biochem.*, 44, 113–121.
- Zimmerman, N., Izard, J., Klatt, C., Zhou, J. & Aronson, E. (2014). The unseen world: environmental microbial sequencing and identification methods for ecologists. *Front. Ecol. Environ.*, 12, 224–231.

Annexes

Annexes 1 : Programmes utilisés sur le thermocycleur

16S V4 :

Température (°C)	Temps (Minute)	Cycles
94	02:00	30
94	00:30	
51	00:30	
72	00:45	
72	05:00	
16	∞	

ITS2 :

Température (°C)	Temps (Minute)	Cycles
94	02:00	40
94	00:30	
48	01:00	
72	00:50	
72	05:00	
16	∞	

18S V9 :

Température (°C)	Temps (Minute)	Cycles
94	02:00	30
94	00:30	
60	00:30	
72	00:45	
72	05:00	
16	∞	

Indexation :

Température (°C)	Temps (Minute)	Cycles
98	00:30	20
98	00:10	
60	00:20	
72	00:20	
72	00:10	
16	∞	

Annexe 2 : Script utilisé pour le traitement bio-informatique

```
# if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
# install.packages("BiocManager")
# BiocManager::install("dada2", version = "3.11")
library(dada2)

# On traite les deux marqueurs (16SV4 et ITS2) ensemble, on sort des
seqtab_nochim communes
# puis on sépare les marqueurs dans QIIME2 avec $ qiime feature-
classifier extract-reads

setwd(path)

# Forward and reverse fastq filenames have format:
SAMPLENAME_R1_001.fastq and SAMPLENAME_R2_001.fastq
fnFs <- sort(list.files(path, pattern="_R1_001.fastq", full.names =
TRUE))
fnRs <- sort(list.files(path, pattern="_R2_001.fastq", full.names =
TRUE))

# Extract sample names, assuming filenames have format:
SAMPLENAME_XXX.fastq
sample.names <- sapply(strsplit(basename(fnFs), "_"), `[`, 1)
sample.names
plotQualityProfile(fnFs[1:2])

# Place filtered files in filtered/ subdirectory
filtFs <- file.path(path, "filtered", paste0(sample.names,
"_F_filt.fastq.gz"))
filtRs <- file.path(path, "filtered", paste0(sample.names,
"_R_filt.fastq.gz"))

out <- filterAndTrim(fnFs, filtFs, fnRs, filtRs, minLen=200,
                    maxN=0, maxEE=c(3,3), rm.phix=TRUE
                    compress=TRUE, multithread=TRUE)

head(out)

errF <- learnErrors(filtFs, multithread=TRUE)
errR <- learnErrors(filtRs, multithread=TRUE)
# plotErrors(errF, nominalQ=TRUE)
derepFs <- derepFastq(filtFs, verbose=TRUE)
derepRs <- derepFastq(filtRs, verbose=TRUE)
# Name the derep-class objects by the sample names
names(derepFs) <- sample.names
names(derepRs) <- sample.names

# Sample inference
dadaFs <- dada(derepFs, err=errF, multithread=TRUE)
dadaRs <- dada(derepRs, err=errR, multithread=TRUE)
dadaFs[[1]]

# Merge paired reads
mergers <- mergePairs(dadaFs, derepFs, dadaRs, derepRs, verbose=TRUE)
# Inspect the merger data.frame from the first sample
head(mergers[[1]])
```

```

# Construct sequence table
seqtab <- makeSequenceTable(mergers)
dim(seqtab) #
# Inspect distribution of sequence lengths
table(nchar(getSequences(seqtab)))
# plot(table(nchar(getSequences(seqtab))))

# Remove chimeras
seqtab.nochim <- removeBimeraDenovo(seqtab, method="consensus",
multithread=TRUE, verbose=TRUE)
dim(seqtab.nochim)
table(nchar(getSequences(seqtab.nochim)))
sum(seqtab.nochim)/sum(seqtab)
# plot(table(nchar(getSequences(seqtab.nochim))))
write.csv(t(seqtab.nochim), "seqtabnochim_guyane_LB.csv")
uniquesToFasta(seqtab.nochim, "seqtabnochim_guyane_LB.fasta")

write.table(t(seqtab.nochim), "seqtabnochim_guyane_LB.txt", sep="\t",
row.names=TRUE, col.names=NA, quote=FALSE)
uniquesToFasta(seqtab.nochim, "seqtabnochim_guyane_LB.fna",
ids=colnames(seqtab.nochim))

# Track reads through the pipeline
getN <- function(x) sum(getUniques(x))
track <- cbind(out, sapply(dadaFs, getN), sapply(dadaRs, getN),
sapply(mergers, getN), rowSums(seqtab.nochim))
# If processing a single sample, remove the sapply calls: e.g. replace
sapply(dadaFs, getN) with getN(dadaFs)
colnames(track) <- c("input", "filtered", "denoisedF", "denoisedR",
"merged", "nonchim")
rownames(track) <- sample.names
head(track)
write.table(track, "track_dada2_guyane_LB.txt")

# kernel bash
source activate qiime2-2020.6
cd ~/

qiime tools import \
--input-path ./dada2/seqtabnochim_guyane_LB_final.fna \
--type 'FeatureData[Sequence]' \
--output-path ./qiime2/rep-seqs_guyane_LB_final.qza

    création de l'artefact table.qza par biom
biom convert -i ./dada2/seqtabnochim_guyane_LB_final.txt -o
./qiime2/table_guyane_LB_final.biom --table-type="OTU table" --to-hdf5
qiime tools import \
--input-path ./qiime2/table_guyane_LB_final.biom \
--type 'FeatureTable[Frequency]' \
--output-path ./qiime2/table_guyane_LB_final.qza

qiime feature-classifier extract-reads \
--i-sequences rep-seqs_guyane_LB_final.qza \
--p-f-primer GTGAATCATCGAATCTTTGAA \
--p-r-primer TCCTCCGCTTATTGATATGC \

```

```

--p-identity 0.9 \
--p-n-jobs 32 \
--o-reads rep-seqs_guyane_LB_final_ITS2.qza

qiime feature-table filter-features \
--i-table table_guyane_LB_final.qza \
--m-metadata-file rep-seqs_guyane_LB_final_ITS2.qza \
--o-filtered-table table_guyane_LB_final_ITS2.qza

qiime feature-classifier extract-reads \
--i-sequences rep-seqs_guyane_LB_final.qza \
--p-f-primer GTGYCAGCMGCCGCGGTAA \
--p-r-primer CCGYCAATTYMTTTRAGTTT \
--p-identity 0.7 \
--p-n-jobs 32 \
--o-reads rep-seqs_guyane_LB_final_16S.qza

qiime feature-table filter-features \
--i-table table_guyane_LB_final.qza \
--m-metadata-file rep-seqs_guyane_LB_final_16S.qza \
--o-filtered-table table_guyane_LB_final_16S.qza

VSEARCH produit la table des OTUs (<3%), pour chaque marqueur

qiime vsearch cluster-features-de-novo \
--i-table table_guyane_LB_final.qza \
--i-sequences rep-seqs_guyane_LB_final.qza \
--p-perc-identity 0.97 \
--p-threads 32 \
--o-clustered-table table-97_guyane_LB_final.qza \
--o-clustered-sequences rep-seqs-97_guyane_LB_final.qza

exporter les tables d'OTUs

qiime tools export \
--input-path table-97_guyane_LB_final.qza \
--output-path ./

biom convert \
-i ./feature-table.biom \
-o ./feature-table_guyane_LB_final.tsv --to-tsv

# ouvrir le .tsv avec LibreOffice Calc, sélectionner les abondances,
Edition>Find and Replace,
# chercher ^[0-9] et remplacer par & (cocher "regular expressions")

feature-classifier BLAST
de préférence sur un cluster / un calculateur

# FUNGI BLAST+

mkdir ./Unite
qiime feature-classifier classify-consensus-blast \
--i-query ./rep-seqs-97_guyane_LB_final.qza \
--i-reference-reads ~/sh_refs_qiime_ver8_97_s_04.02.2020.fasta.qza
\

```

```

    --i-reference-taxonomy ~/sh_taxonomy_qiime_ver8_97_s_04.02.2020.qza \
    --o-classification
./Unite/guyane_LB_final_unite_blast_201228_qiime_ver8_97_s_04.02.2020.q
za

# exporter en .biom

qiime tools export \
    --input-path
./Unite/guyane_LB_final_unite_blast_201228_qiime_ver8_97_s_04.02.2020.q
za \
    --output-path ./Unite

mkdir ./PLANiTS
qiime feature-classifier classify-sklearn \
    --i-reads ./rep-seqs-97_guyane_LB_final.qza \
    --i-classifier ~/ITS2_PLANiTS_20-03-2020_classifier_q2020-6.qza \
    --p-n-jobs -1 \
    --o-classification ./PLANiTS/rep-seq97s_PLANiTS_guyane_LB_final.qza

# exporter en .biom

qiime tools export \
    --input-path ./PLANiTS/rep-seq97s_PLANiTS_guyane_LB_final.qza \
    --output-path ./PLANiTS/

# BLAST+ Procaryotes

qiime feature-classifier classify-sklearn \
    --i-reads ./rep-seqs-97_guyane_LB_final.qza \
    --i-classifier /silva-138-ssu-nr99-515f-926r-classifier.qza \
    --p-n-jobs -1 \
    --output-dir ./Silva

# exporter en .biom
qiime tools export \
    --input-path ./Silva/classification.qza \
    --output-path ./Silva

```


Annexe 3 : Assignment taxonomique des modules

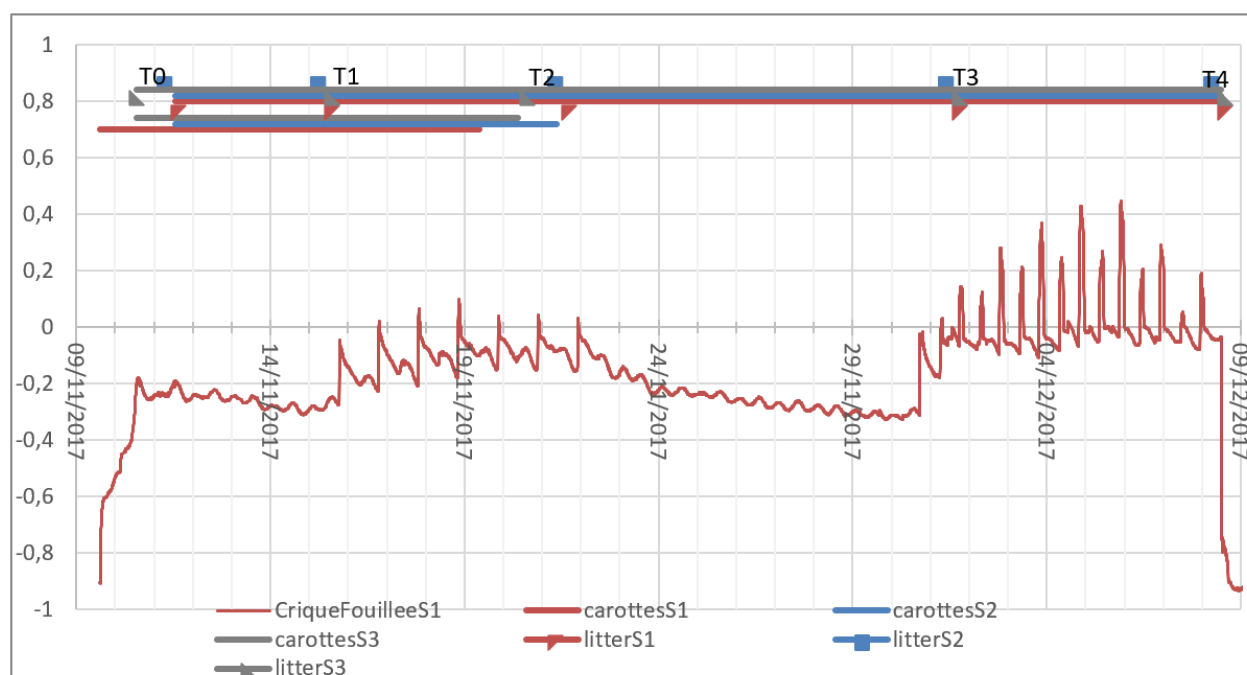
Module	OTU	Kingdom	Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species
Rouge	e277	Unassigned						
Rouge	e295	k_Fungi						
Rouge	e308	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Dothideomycetes	o_Pleosporales			
Rouge	e313	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Dothideomycetes	o_Capnodiales			
Rouge	e346	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Dothideomycetes	o_Botryosphaeriales	f_Botryosphaeriaceae	g_Botryosphaeria	
Rouge	e349	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Dothideomycetes	o_Capnodiales	f_Mycosphaerellaceae		
Rouge	e364	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Dothideomycetes	o_Pleosporales			
Rouge	e400	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Sordariomycetes	o_Diorthales			
Rouge	e419	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Sordariomycetes	o_Trichosphaeriales	f_Trichosphaeriaceae	g_Nigrospora	
Rouge	e444	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Eurotiomycetes	o_Chaetothyriales	f_Trichomeriaceae	g_Knufia	
Rouge	e455	k_Fungi	p_Ascmycota	c_Sordariomycetes	o_Hypocreales	f_Hypocreales_fam_Incertae_sedis	g_Acremonium	
Rouge	e89	Unassigned						
Rouge	p11003	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Rhizobiales	f_Rhizobiaceae	g_Fulvimarina	s_Fulvimarina_pelagi
Rouge	p12845	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Rhodobacterales	f_Rhodobacteraceae	g_Citricella	s_Citricella_sp.
Rouge	p14645	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Alteromonadales	f_Alteromonadaceae		
Rouge	p14770	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Alteromonadales	f_Pseudoalteromonadaceae	g_Pseudoalteromonas	
Rouge	p14783	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Alteromonadales	f_Shewanellaceae	g_Shewanella	
Rouge	p16312	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Halomonadaceae	g_Halomonas	
Rouge	p16448	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Halomonadaceae	g_Kushneria	
Rouge	p16528	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Halomonadaceae	g_Larsenimonas	s_Larsenimonas_salina
Rouge	p16725	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Halomonadaceae	g_Salinicola	
Rouge	p16740	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Halomonadaceae	g_Salinicola	
Rouge	p16898	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Marinomonadaceae	g_Marinomonas	
Rouge	p16901	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Marinomonadaceae	g_Marinomonas	
Rouge	p16946	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Marinomonadaceae	g_Marinomonas	s_Marinomonas_communis
Rouge	p16990	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Nitrospirillaceae	g_Marinobacterium	
Rouge	p17024	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Nitrospirillaceae	g_Neptonomonas	s_Neptonomonas_concharum
Rouge	p17414	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Vibrionales	f_Vibrionaceae	g_Vibrio	
Rouge	p17424	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Vibrionales	f_Vibrionaceae	g_Vibrio	
Rouge	p17465	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Vibrionales	f_Vibrionaceae	g_Vibrio	
Rouge	p17512	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Vibrionales	f_Vibrionaceae	g_Vibrio	
Rouge	p17794	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetaceae	g_Spirochaeta_2	
Rouge	p2747	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Bacteroidaceae	g_Bacteroides	
Rouge	p2761	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Bacteroidaceae	g_Bacteroides	
Rouge	p2764	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Bacteroidaceae	g_Bacteroides	s_uncultured_Bacteroides
Rouge	p2836	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Marinifilaceae	g_uncultured	s_uncultured_Bacteroides
Rouge	p3025	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Marinifilaceae	g_Labilibacter	s_uncultured_Bacteroides
Rouge	p4900	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae		
Rouge	p5181	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Mesonia	s_uncultured_bacterium
Rouge	p6077	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Zunongwangia	

Rouge	p7002	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacterales	f_Desulfobacteraceae	g_Desulfobacter	s_delta_proteobacterium
Rouge	p7016	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacterales	f_Desulfobacteraceae	g_Desulfobacter	s_uncultured_bacterium
Rouge	p7687	d_Bacteria	p_Firmicutes	c_Clostridia	o_Lachnospirales	f_Lachnospiraceae	g_Defluvitaleaceae_UCG-011	
Rouge	p7735	d_Bacteria	p_Firmicutes	c_Clostridia	o_Lachnospirales	f_Lachnospiraceae		
Rouge	p7737	d_Bacteria	p_Firmicutes	c_Clostridia	o_Lachnospirales	f_Lachnospiraceae		
Rouge	p7797	d_Bacteria	p_Firmicutes	c_Clostridia	o_Peptostreptococcales	f_Fusibacteraceae	g_Fusibacter	
Vert	e108	Unassigned						
Vert	e126	Unassigned						
Vert	e170	k_Fungi	p_Basidiomycota	c_Tremellomycetes	o_Tremellales			
Vert	e2	k_Fungi	p_Ascomycota	c_Pezizomycetes	o_Pezizales			
Vert	e215	Unassigned						
Vert	e216	Unassigned						
Vert	e218	k_Fungi	p_Ascomycota	c_Sordariomycetes	o_Lulworthiales	f_Lulworthiaceae	g_Lulworthia	s_unidentified
Vert	e221	Unassigned						
Vert	e241	k_Fungi	p_Basidiomycota	c_Agaricomycetes	o_Agaricales	f_Psathyrellaceae	g_Psathyrella	
Vert	e242	k_Fungi	p_Basidiomycota	c_Agaricomycetes	o_Agaricales	f_Psathyrellaceae	g_Psathyrella	
Vert	e261	Unassigned						
Vert	e316	k_Fungi	p_Ascomycota	c_Dothideomycetes	o_Capnodiales			
Vert	e459	Unassigned						
Vert	p10364	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Caulobacterales	f_Hyphomonadaceae	g_Henriciella	s_uncultured_bacterium
Vert	p10978	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Rhizobiales	f_Rhizobiaceae	g_Cohaesibacter	s_Cohaesibacter_sp.
Vert	p11022	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Rhizobiales	f_Rhizobiaceae	g_Martellella	s_Martellella_sp.
Vert	p13810	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Sphingomonadales	f_Sphingomonadaceae	g_Altererythrobacter	
Vert	p14835	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Arenicellales	f_Arenicellaceae	g_Arenicella	s_uncultured_bacterium
Vert	p14913	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Burkholderiales	f_Rhodocyclaceae		
Vert	p15286	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Cellvibrionales	f_Cellvibrionaceae	g_Aestuareicella	s_uncultured_bacterium
Vert	p15374	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Cellvibrionales	f_Cellvibrionaceae	g_uncultured	s_uncultured_bacterium
Vert	p15632	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Gammaproteobacteria	f_Unknown_Family	g_Marinicella	
Vert	p15960	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Alcanivoracaceae	g_Ketobacter	s_uncultured_bacterium
Vert	p17547	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Xanthomonadales	f_Xanthomonadaceae	g_Arenimonas	s_uncultured_bacterium
Vert	p3433	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae	g_Draconibacterium	s_uncultured_bacterium
Vert	p3802	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Chitinophagales	f_Saprospiraceae	g_Membranicola	s_Membranicola_marinus
Vert	p3899	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Chitinophagales	f_Saprospiraceae	g_uncultured	
Vert	p4202	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Cytophagales	f_Cyclobacteriaceae	g_Catalinimonas	
Vert	p4218	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Cytophagales	f_Cyclobacteriaceae	g_Cyclobacterium	
Vert	p4386	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Cytophagales	f_Cyclobacteriaceae	g_uncultured	s_uncultured_Flammeovirgaceae
Vert	p4462	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Crocinitomicaceae	g_Crocinitomix	s_Crocinitomix_sp.
Vert	p4522	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Cryomorphaceae	g_Owenweeksia	s_uncultured_bacterium
Vert	p4620	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae		
Vert	p4944	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Arenibacter	
Vert	p5953	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Planktosalinus	s_uncultured_bacterium

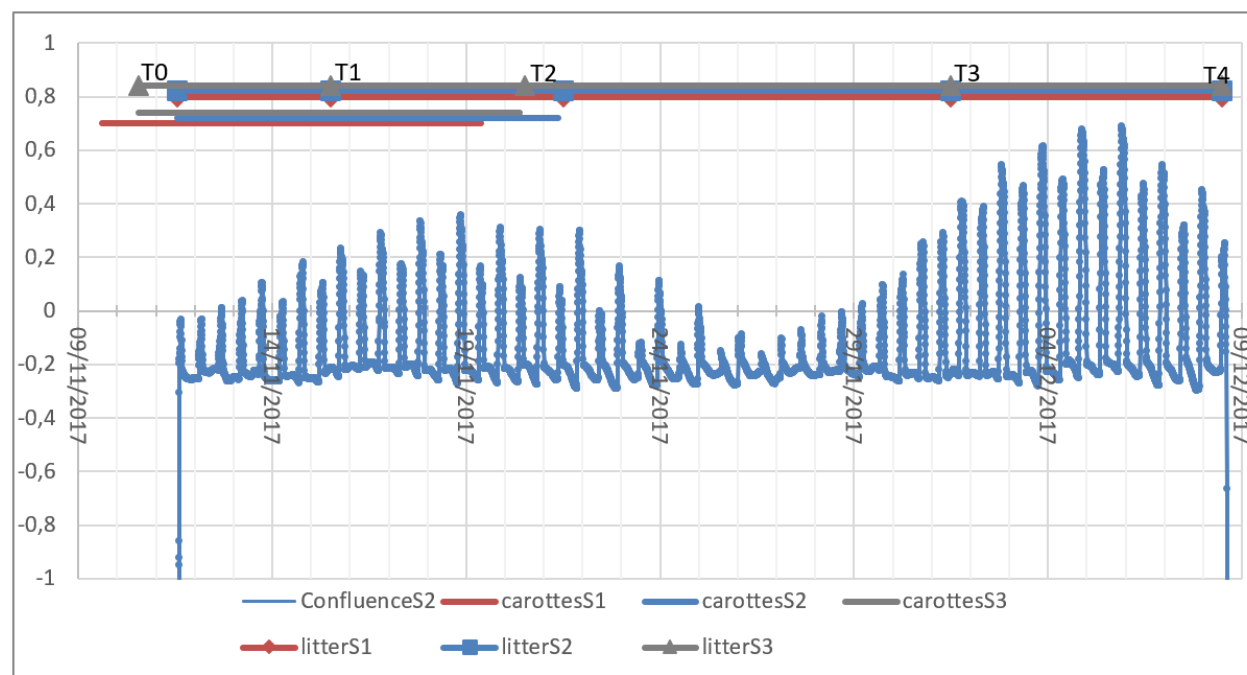
Vert	p6016	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Winogradskyella	s_Flavobacterium_sp.
Vert	p8075	d_Bacteria	p_Myxococcota	c_Polyangia	o_Nannocystales	f_Nannocystaceae	g_Nannocystis	s_uncultured_delta
Vert	p8269	d_Bacteria	p_Myxococcota	c_Polyangia	o_Polyangiales	f_Sandaracinaceae	g_uncultured	
Vert	p8311	d_Bacteria	p_Myxococcota	c_Polyangia	o_Polyangiales	f_Sandaracinaceae	g_uncultured	s_uncultured_bacterium
Vert	p9065	d_Bacteria	p_Plantomycetota	c_Plantomycetes	o_Pirellulales	f_Pirellulaceae	g_Blastopirellula	s_Blastopirellula_marina
Vert	p9342	d_Bacteria	p_Plantomycetota	c_Plantomycetes	o_Pirellulales	f_Pirellulaceae	g_Rhodopirellula	s_plantomycete_str.
Vert	p9534	d_Bacteria	p_Plantomycetota	c_Plantomycetes	o_Plantomycetales	f_Rubinisphaeraceae	g_Rubinisphaera	s_uncultured_Planctomyces
Bleu	e1	Unassigned						
Bleu	e407	k_Fungi	p_Asccomycota	c_Sordariomycetes	o_Hypocreales	f_Nectriaceae	g_Fusarium	
Bleu	e433	k_Fungi	p_Asccomycota	c_Sordariomycetes	o_Glomerellales	f_Glomerellaceae	g_Colletotrichum	
Bleu	e437	k_Fungi	p_Asccomycota	c_Sordariomycetes	o_Hypocreales			
Bleu	p12733	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Alphaproteobacteria	o_Rhodobacterales	f_Rhodobacteraceae		
Bleu	p14691	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Alteromonadales	f_Idiomarinaceae	g_Idiomarina	
Bleu	p14750	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Alteromonadales	f_Marinobacteraceae	g_Marinobacter	
Bleu	p15313	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Ceivibionales	f_Ceivibronaceae	g_Gilvamarinus	s_uncultured_bacterium
Bleu	p16036	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Alcanivoracaceae1	g_Alcanivorax	s_Alcanivorax_venustensis
Bleu	p17158	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Oceanospirillales	f_Saccharospirillaceae	g_Saccharospirillum	s_Saccharospirillaceae_bacterium
Bleu	p17181	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_Pseudomonadales	f_Pseudomonadaceae	g_Pseudomonas	s_Pseudomonas_pachastrellae
Bleu	p17834	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetaceae	g_Spirochaeta_2	s_Oceanispirochaeta_litoralis
Bleu	p17862	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetaceae	g_Spirochaeta_2	s_Spirochaeta_cellobiosiphila
Bleu	p2159	d_Bacteria	p_Actinobacteriota	c_Actinobacteria	o_Micrococcales	f_Demequinaceae	g_Demequina	s_Demequina_globuliformis
Bleu	p2947	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Marinilabiliaceae	g_Carboxylicivirga	s_uncultured_bacterium
Bleu	p3172	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae		
Bleu	p3177	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae		
Bleu	p3480	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae	g_Mangrovibacterium	
Bleu	p3485	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae	g_Mangrovibacterium	
Bleu	p3689	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Chitinophagales	f_Chitinophagaceae	g_Talibaiella	
Bleu	p4117	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Cytophagales	f_Cyclobacteriaceae	g_Algoriphagus	
Bleu	p4283	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Cytophagales	f_Cyclobacteriaceae	g_Fulvivirga	
Bleu	p4514	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Crocinitomicaceae	g_Wandonia	s_Wandonia_hallotis
Bleu	p4939	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Aestuariibaculum	s_Gaetbulibacter_sp.
Bleu	p5017	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Flavobacterium	
Bleu	p5025	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Flavobacterium	s_uncultured_bacterium
Bleu	p5140	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Marixanthomonas	s_Marixanthomonas_ophiurae
Bleu	p7558	d_Bacteria	p_Firmicutes	c_Bacilli	o_Acholeplasmatales	f_Acholeplasmataceae	g_Acholeplasma	s_Tenericutes_bacterium
Bleu	p7688	d_Bacteria	p_Firmicutes	c_Clostridia	o_Lachnospirales	f_Defluviitaleaceae	g_Defluviitaleaceae_UCG-011	s_uncultured_bacterium
Violet	e106	k_Fungi	p_Asccomycota	c_Sordariomycetes	o_Microascales	f_Halosphaeriaceae	g_Lignicola	s_Lignicola_laevis
Violet	e120	Unassigned						
Violet	e378	Unassigned						
Violet	e403	k_Fungi	p_Asccomycota	c_Sordariomycetes	o_Diaporthales	f_Valsaceae		
Violet	e461	Unassigned						

Violet	p15	d_Archaea	p_Crenarchaeota	c_Nitrososphaeria	o_Nitrosopumiliales	f_Nitrosopumiliaceae	g_Candidatus_Nitrosopumilus	s_uncultured_archaeon
Violet	p15833	d_Bacteria	p_Proteobacteria	c_Gammaproteobacteria	o_MBMP27	f_MBMP27	g_MBMP27	s_uncultured_Thioalkalivibrio
Violet	p17657	d_Bacteria	p_SAR324_clade	c_SAR324_clade	o_SAR324_clade	f_SAR324_clade	g_SAR324_clade	s_uncultured_Desulfobulbaceae
Violet	p17717	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetales	g_Sediminispirochaeta	s_uncultured_bacterium
Violet	p17793	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetales	g_Spirochaeta_2	s_uncultured_bacterium
Violet	p17919	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetales	g_Spirochaeta_2	s_uncultured_bacterium
Violet	p17946	d_Bacteria	p_Spirochaetota	c_Spirochaetia	o_Spirochaetales	f_Spirochaetales	g_Spirochaeta_2	s_uncultured_marine
Violet	p17982	d_Bacteria	p_Thermotogota	c_Thermotogae	o_Petrogales	f_Petrogaceae	g_SC103	s_uncultured_bacterium
Violet	p18129	d_Bacteria	p_Verrucomicrobiota	c_Verrucomicrobiae	o_Opitutales	f_Puniceicoccaceae	g_Puniceicoccus	s_uncultured_Verrucomicrobia
Violet	p2815	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Bacteroidetes_BD2-2	g_Bacteroidetes_BD2-2	s_uncultured_bacterium
Violet	p3033	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Marinilabiliaceae	g_uncultured	s_uncultured_bacterium
Violet	p3282	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae	g_Draconibacterium	s_uncultured_bacterium
Violet	p3509	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_Prolixibacteraceae	g_Prolixibacter	s_uncultured_bacterium
Violet	p3638	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Bacteroidales	f_SB-5	g_SB-5	s_uncultured_Cytophagales
Violet	p5093	d_Bacteria	p_Bacteroidota	c_Bacteroidia	o_Flavobacteriales	f_Flavobacteriaceae	g_Hoppeia	s_uncultured_bacterium
Violet	p6401	d_Bacteria	p_Chloroflexi	c_Anaerolineae	o_Anaerolineales	f_Anaerolineaceae	g_Anaerolineaceae	s_uncultured_Chloroflexi
Violet	p6858	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfobacteraceae	g_Desulfobacter	s_uncultured_delta
Violet	p6899	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfobacteraceae	g_Desulfobacter	s_uncultured_bacterium
Violet	p7007	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfobacteraceae	g_Desulfobacter	s_uncultured_bacterium
Violet	p7044	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfobacteriales	g_Desulfatiferula	s_uncultured_delta
Violet	p7066	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfolunaceae	g_uncultured	s_uncultured_delta
Violet	p7107	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfosarcinaceae	g_Desulfatitalea	s_uncultured_bacterium
Violet	p7113	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobacteria	o_Desulfobacteriales	f_Desulfosarcinaceae	g_Desulfosarcina	s_uncultured_bacterium
Violet	p7154	d_Bacteria	p_Desulfobacterota	c_Desulfobulbia	o_Desulfobulbiales	f_Desulfobulbaceae	g_Desulfobulbus	s_uncultured_bacterium
Violet	p7523	d_Bacteria	p_Fibrobacterota	c_Fibrobacteria	o_Fibrobacteriales	f_Fibrobacteriales	g_BBMC-4	s_uncultured_bacterium
Violet	p7895	d_Bacteria	p_Latescibacterota	c_Latescibacterota	o_Latescibacterota	f_Latescibacterota	g_Latescibacterota	s_uncultured_Bacteroidetes
Violet	p7962	d_Bacteria	p_Myxococcota	c_Polyangia	o_MidBa8	f_MidBa8	g_MidBa8	s_uncultured_delta
Violet	p8022	d_Bacteria	p_Myxococcota	c_Polyangia	o_MidBa8	f_MidBa8	g_MidBa8	s_uncultured_microorganism
Violet	p8108	d_Bacteria	p_Myxococcota	c_Polyangia	o_Polyangiales	f_Birli41	g_Birli41	s_uncultured_organism

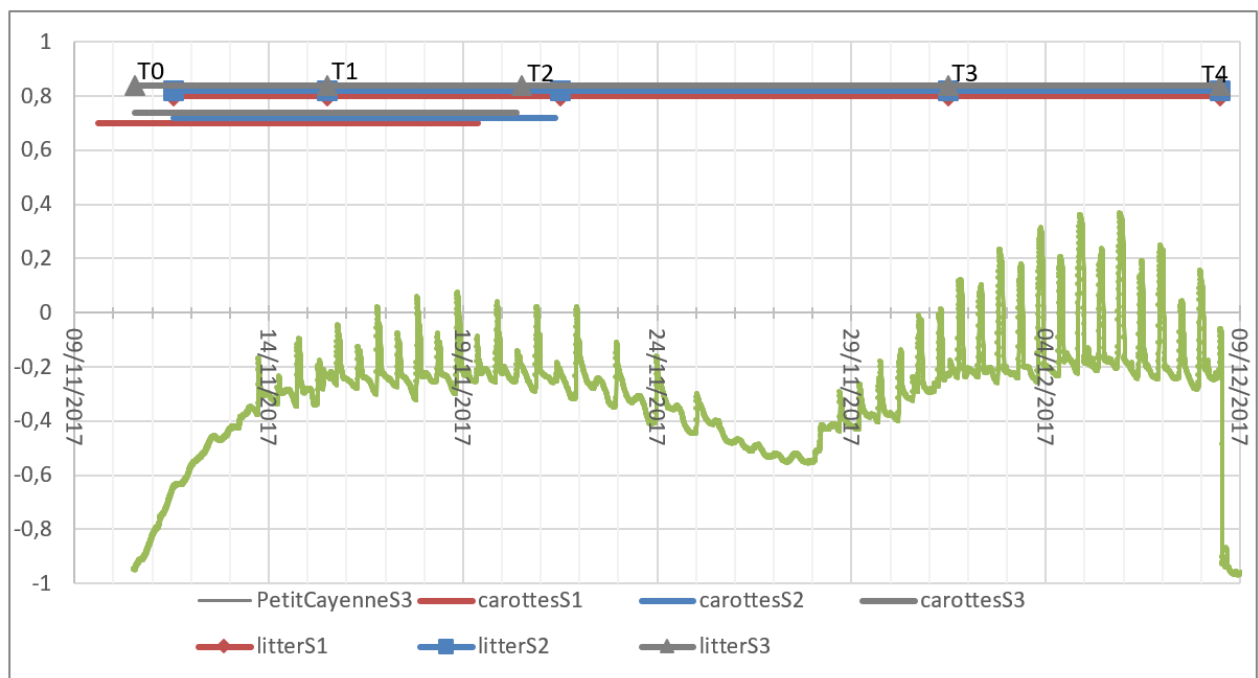
Annexe 4 : Amplitude de marée sur les 3 sites de Guyane, recalculée avec la profondeur des piézomètres (0 correspond à l'altitude des litterbags)



Site 1



Site 2



Site 3

Résumé

Le développement de la bioindication est un domaine de recherche utile pour permettre d'évaluer l'état écologique d'un écosystème, et donner lieu à une meilleure gestion de celui-ci. On s'intéresse ici à l'écosystème mangroves, qui a un rôle important d'un point de vue biologique et économique dans les zones tropicales et subtropicales. Dans l'idée d'une meilleure conservation de ces milieux, un groupe de travail Mangroves a été créé en 2015 pour mettre au point et évaluer la faisabilité de plusieurs bioindicateurs. Ce stage s'inscrit dans ce projet, et s'intéresse à un des paramètres étudiés : la composition des communautés microbiennes présentes pendant la dégradation de la matière organique *in situ*.

Des feuilles de palétuviers ont donc été prélevées à différents temps de décomposition, et dans des mangroves d'état écologique *a priori* différents, dans quatre départements outre-mer : Guyane, Martinique, Guadeloupe et Mayotte. Ces échantillons ont été traités, et l'ADN extrait a été analysé par metabarcoding avec un séquenceur Illumina MiSeq. Les données brutes ont subi un traitement bio-informatique permettant de générer un tableau rassemblant les taxons (OTUs), leur assignation taxonomique, et un proxy de leur abondance (nombre de reads). L'analyse statistique de ces tableaux a permis de mettre en évidence une augmentation de l'abondance et de la diversité des communautés microbiennes ainsi que la dynamique de certains groupes taxonomiques au début du processus de dégradation. Des différences ont pu être observées entre les communautés présentes sur les feuilles en décomposition des mangroves subissant *a priori* des pressions anthropiques contrastées, mais elles étaient plus marquées sur les sédiments de surface.

Abstract

Development of bioindication is a useful research field to assess the ecological state of an ecosystem, and try to propose a better management. We focus here on mangroves, which are important ecosystems both in biology and economy of tropical and subtropical areas. With the aim to conserve those environments, a Mangroves working group was created in 2015 to develop and ensure the feasibility of several bioindicators. The present study is part of this project, and is interested in one of the chosen parameters: the composition of microbial communities present during the *in situ* organic matter decay.

Mangrove leaves have been sampled at different decomposition time, and in mangroves with different ecological states *a priori*, in four French overseas departments: Guyana, Martinique, Guadeloupe and Mayotte. The samples were treated, and DNA extracts were analyzed with a metabarcoding method on Illumina MiSeq sequencer. The raw data were processed with bioinformatic tools to obtain several tables gathering the taxa (OTUs), their taxonomic assignation and a proxy of their abundance (number of reads). The statistical analysis of the tables showed an increase of microbial communities' abundance and diversity, and the dynamics of some taxonomic groups during the early stages of litter decay. Few differences between the leaves communities of mangroves under *a priori* contrasted anthropic pressures were observed, but were more noticeable on surface sediment.

Mots-clés : Bioindication - Communautés - dégradation - microbienne - Mangroves - Metabarcoding