

## MERCADO DEL RIO Alessia (2022) : Morphological diversity of the *Nebela collaris* s. l. species complex along an elevation gradient in Mont Taisetsu, Japan

### Résumé

En macro-écologie, l'étude de l'effet des facteurs environnementaux (FE) sur la taille des organismes et la répartition des espèces le long d'un gradient d'altitude est une question bien connue. Chez les macroorganismes, la taille des individus augmente avec l'altitude, mais cette relation chez les microorganismes est encore méconnue en particulier chez les protistes. Dans la littérature, la répartition de la taille des protistes le long d'un gradient semble être positivement corrélée à l'altitude et des FE comme la disponibilité en eau, des paramètres physiques et chimiques du sols etc. En revanche, l'importance de ces facteurs sur la taille des protistes varie selon le design expérimental considéré ; type d'échantillon (sol, mousse ou litière), type de végétation, l'habitat, la résolution taxonomique etc. Pour ce qui est de la diversité, il n'y a pas de consensus dans la littérature sur les patrons de distribution chez les microorganismes le long d'un gradient : certaines études trouvent que la diversité des protistes décroît linéairement, a une distribution unimodale, ou ne trouve aucune relation entre les assemblages de communautés de protistes et l'altitude. Une des causes de ce constat est due au fait que l'identification des protistes est difficile, car toutes les espèces ne sont pas décrites, les erreurs taxonomiques sont donc fréquentes ce qui limite leur utilité en tant que proxy.

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés à l'effet de l'altitude et des FE de sur la morphologie et de la diversité du complexe d'espèce de protiste du sol : *Nebela collaris* s.l. le long d'un gradient altitudinal allant de l'étage montagnard à l'étage alpin sur le Mont Taisetsu, Japon (563-2'261 m d'altitude). J'ai observé au microscope des protistes provenant d'échantillon de sol et de mousse frais, mesuré leurs traits et identifié des morpho espèces à l'aide de la clef taxonomique de A.Kosakyan afin de caractériser leur diversité a et b. L'effet des FE du sol tels que la teneur en eau et le pH sur la morphologie et la diversité a été décrit et testé statistiquement.

Les hypothèses sont que la taille des protistes va augmenter et que la diversité va présenter une distribution unimodale le long du gradient, car les sites aux extrêmes du gradient ont des conditions édaphiques et climatiques plus difficiles. Les résultats de cette étude montrent que la diversité et la morphologie des amibes diminuent en fonction du gradient d'altitude mais ne suivent ni une droite descendante ni une distribution unimodale le long du gradient altitudinal, et montrent une réponse plus complexe. Les hypothèses sont donc rejetées.

La taille des amibes et leur diversité a et b sont les plus haute autour de 1618 m d'altitude soit 230 m plus haut que la limite des arbres, correspondant aussi à des valeurs élevées en nutriments et en eau, facteurs qui favorisent la croissance, le développement des organismes et la présence d'un plus grand panel d'espèce. Le pourcentage expliqué de la variation morphologique par les FE est de 20.3% dans un modèle comprenant (dans l'ordre d'importance) : l'humidité résiduelle, le carbone organique, la matière organique du sol, l'altitude et le phosphore organique. La dissimilarité et la variance des traits intra et inter espèces ne sont pas significatives, mais montrent que les morphoespèces ne semblent pas varier de la même manière le long du gradient d'altitude.

Le gradient altitudinal est divisé en deux habitats avec des propriétés physico chimiques du sol strictement différentes selon une ACP et des assemblages de communautés strictement différents selon une NMDS et ne peut donc pas être considéré comme un continuum. Quatre morphoespèces, *Nebela gimlii*, *N. pechorensis*, *N. rotunda* et *N. flabellulm* ont été observées à l'étage forestier et trois

autres *Nebela guttata*, *N. collaris* et *N. tinctoria* à l'étage alpin. En revanche, les calculs de la beta diversité montrent qu'il n'y a pas un turnover des communautés d'amibes (non significatif) malgré cette différence de communauté.

La majorité des résultats obtenus est à nuancer car le nombre de données obtenues était faible, les méthodes d'analyse des traits, la détermination des morphoespèces etc. n'étaient pas optimales. L'ajout de variables comme des données climatiques, de végétations ainsi que des répliques d'autres gradients altitudinaux dans la région pourraient améliorer le pourcentage de variation morphologique expliqué par les FE. D'autres facteurs peuvent affecter la morphologie comme des facteurs biotiques (e.g. compétition) ou génétiques (e.g. plasticité phénotypique), mais leur impact respectif est encore peu connu. Des analyses d'ADN environnemental auraient pu aider également à mieux étudier les patrons de diversité le long du gradient avec une résolution taxonomique plus grande et un panel d'espèce plus large. Dans un contexte de changement climatique, il est d'autant plus important de continuer d'étudier l'effet des facteurs environnementaux et de l'altitude sur la taille et la distribution des protistes afin de pouvoir prédire leur évolution future, et combler les lacunes encore grandes en protistologie et en macroécologie.

## Summary

The study of environmental factors (EF) and elevation on organisms' size and diversity is a well-studied question in macroecology, but little is known about microorganisms. Macroorganisms size increases with elevation but this relationship is understudied for microorganisms. In scientific literature, protist size repartition seems to be positively correlated with elevation and EF like water, physical and chemical soil properties etc. However, the importance of those EF varies according to the experimental design, the type of sample or vegetation, habitat, taxonomical resolution etc. In regard to diversity, there is no consensus in scientific literature about the distribution pattern of microorganism along elevation gradients, some studies found an linear decrease, a unimodal distribution or found no clear link between diversity and elevation. It is mainly due to the fact that identification is challenging because all the species are not yet described and that limits the usage of protists as a proxy.

In this thesis, we will focus on the effect of elevation and EF on protist morphology and diversity on a species complex: *Nebela collaris* s.l. along an elevation gradient ranging from a forest zone to an alpine zone on Mont Taisetsu, Japan (563-2'261 m high). I observed protists from a fresh bulk moss and soil sample with a microscope, measures their traits and identified them with the taxonomical key of A.Kosakyan to characterised their alpha and beta diversity. The effect of EF on soil like residual humidity, pH, Norg, Corg etc on morphology and diversity was statistically tested.

Hypothesis of this study are that *Nebela collaris* s.l species complex size will increase with elevation and that diversity will have a unimodal distribution along the elevation gradient because in the upper part there is low nutrients, temperature and smaller habitats. The results of this study show that morphology and diversity of *Nebela collaris* s.l species complex declines along an elevation gradient but do not follow a linear decline, rather a more complex variation. The hypotheses are then rejected.

The size and diversity of *Nebela collaris* s.l is higher at 1618 m (230 m over the tree line) where nutrients, water and other environmental factors are the most abundant and thus favorize growth, cell expansion and more species diversity. The percentage of morphological variation explained by environmental factors is 20.3% in an RDA model (in order of importance): water content, organic

carbon, soil organic matter, elevation, and organic phosphorus. Intra and interspecies dissimilarity along the gradient are not significant but shows that morphospecies seem not to vary the same way.

The elevation gradient is divided in two distinct habitats with different physical and chemical properties according to a PCA and different species communities according to an NMDS and therefore cannot be considered as a continuum. Four species: *Nebela gimlii*, *N. pechorensis*, *N. rotunda* and *N. flabellum* were observed at the forest zone and tree in the alpine zone: *Nebela guttata*, *N. collaris* and *N. tinctoria*. Calculus of beta diversity show that there is no significant beta diversity turnover despite the very contrasted habitats.

The majority of the results are statistically weak due to the lack of specimen per site, to the trait analysis method, due to the determination of morphospecies etc. Adding other environmental factors as climate, vegetation, and other elevation gradient replicas would have improved the percentage of explained morphological variation. Other variables can affect species morphology like biotic factors (e.g. competition) or genetic analysis (e.g. phenotypic plasticity) but their respective impact is understudied. DNA analysis would have allowed to have a bigger understanding of diversity pattern with a larger taxonomical resolution. In the context of climate change, it is important to continue studying the effect of environmental factors on protists size and distribution to predict their future evolution as well as filling the gaps of knowledge in Protistology and macroecology.