

MASTER EN SCIENCES – TECHNOLOGIES – SANTÉ  
MENTION BIODIVERSITÉ, ÉCOLOGIE, ÉVOLUTION

**Caractérisation de peuplements forestiers et  
biodiversité associés aux cavités de pic noir.**

Marie-Emelie GUIGNOT



Responsables de stage :  
*Encadrante : Lucie Vincenot*  
*Co-encadrante : Aurélie Husté*

Laboratoire ECODIV  
USC INRAE 1499 - Université de Rouen Normandie  
UFR Sciences et Techniques Université de Rouen  
Mont-Saint-Aignan, France métropolitaine

Mémoire soutenu le 27 juin 2023.



## TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	1
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	6
a) Sélection des placettes.....	6
b) Protocole PSDRF.....	8
c) Analyses statistiques.....	12
d) Métabarcoding environnemental des communautés lignicoles et cavicoles.....	14
e) Dendromicrohabitats.....	15
RÉSULTATS.....	16
a) Analyses dendrométriques.....	16
1. Hypothèse 1 : diamètre des arbres vivants.....	16
2. Hypothèse 2 : Volume de bois mort.....	17
3. Hypothèse 3 : encombrement des sites et des placettes.....	19
4. Hypothèse 4 : surface terrière du hêtre.....	22
b) Détection d'ADN fongiques dans des échantillons de cavités et bois morts.....	23
DISCUSSION.....	24
a) Comparaison avec la littérature hypothèse par hypothèse.....	24
1- Surface terrière.....	24
2- Arbres morts.....	25
3- Encombrement.....	26
4- Surface terrière du hêtre par rapport à la surface terrière totale du bois vivant....	27
5- Autres variables.....	28
b) Biodiversité fongique.....	30
c) Dendromicrohabitat.....	31
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	32
BIBLIOGRAPHIE.....	35
ANNEXES.....	40

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

<b>Figure 1 :</b> photographies en vue latérale a. du pic de Guadeloupe ( <i>Melanerpes herminieri</i> Lesson) et b. du pic noir européen ( <i>Dryocopus martius</i> L.) .....	5
<b>Figure 2 :</b> Carte de localisation des 7 massifs étudiés.....	7
<b>Figure 3 :</b> Schématisation des relevés par placette (d'après Réserves Naturelles de France, 2015). D1.30 = diamètre de l'arbre mesuré à 1,30 m de hauteur en cm. (a) placettes à surfaces fixes, (b) placette à angle fixe, (c) placette à transect linéaire.....	10
<b>Figure 4 :</b> Schématisation des dendromicrohabitats sur un arbre (Réserves Naturelles de France, 2015).....	15
<b>Figure 5 :</b> Comparaison des moyennes de surface terrière (G.BV) des arbres vivants estimées (a) entre massifs et (b) entre classes d'altitude. Les lettres indiquent une significativité marginale du test de Tukey (seuil : $p < 0,05$ ).....	16
<b>Figure 6 :</b> Comparaison des moyennes de arbres mort au sol (V.BMS) estimées entre les massifs. Les lettres indiquent une significativité marginale du test de Tukey (seuil : $p < 0,05$ )..	17
<b>Figure 7 :</b> Comparaison des volumes moyens d'arbres mort debout estimés (a) entre les placettes à cavités de tous les massifs entre eux et (b) entre les placettes témoins. Ces 2 graphiques sont basés sur des modèles mixtes linéaires généralisés, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la significativité de chaque paramètre dans chaque modèle Type:Site (interaction entre Type et Site).....	18
<b>Figure 8 :</b> Comparaison des volumes moyens de bois morts debout estimés en fonction de la classe d'altitude (montagne vs. plaine). Ce graphique est basé sur un modèle mixte linéaire généralisé, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la présence d'une différence significative entre modalités.....	19
<b>Figure 9 :</b> Comparaison de la densité moyenne de régénération classe 3 en fonction du type de placettes (CA et CT). Ce graphique est basé sur un « zero inflated model ». Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du	

plan apparié. Des lettres différentes désignent la présence d'une différence significative entre les deux modalités de la variable.....20

**Figure 10** : Comparaison de la densité moyenne des petits arbres à l'hectare en fonction du code massif en interaction avec le type de placettes (CA et CT). Ce graphique est basé sur un modèle mixtes linéaire généralisé, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Les barres d'erreur représentent 95 % les intervalles de confiance et les étoiles indiquent une signification marginale du test de Tukey.....21

**Figure 11** : Comparaison de la densité de petits arbres vivants à l'hectare estimés en fonction de la classe d'altitude (montagne vs. plaine). Ce graphique est basé sur un modèle mixtes linéaire généralisé, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la présence de différence significative entre modalités.....21

**Figure 12** : omparaison de la surface terrière du hêtre/surface terrière totale des bois vivants (HET) en fonction de l'interaction code massif et type de placette (CA/CT). Ce graphique est basé sur un modèle mixtes linéaire généralisé, de distribution d'erreur binomiale. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Les barres d'erreur représentent 95 % les intervalles de confiance et les étoiles indiquent une signification marginale du test de Tukey.....22

**TABLE DES TABLEAUX**

**Tableau 1** : caractéristiques des placettes sélectionnées pour l'étude.....8

**Tableau 2** : Description des variables à expliquer sélectionnées en fonction de la variable explicative présence/ absence de cavité sur les sites.....12

**Tableau 3** : Principales caractéristiques par massif de la base de données de présence de cavités de pic noir de l'étude de Cabrera et al., (2022).....29

## Lexique de termes forestiers et d'écologie moléculaire :

- **ADN environnemental (ADNe)** : ensemble des fragments d'ADN, dégradés ou non, extractibles d'une matrice environnementale
- **Balai de sorcière** : prolifération dense et désorganisée de ramifications en réponse à une infection bactérienne ou fongique
- **Chablis** : arbre ou ensemble d'arbres renversés voire déracinés et l'ouverture de canopée associée
- **Chancre** : ulcère nécrotique des tissus ligneux d'un arbre, lié à une infection bactérienne ou fongique
- **Chandelle** : tronc d'un arbre mort sur pied, ayant perdu ses branches
- **Dépérissement** : affaiblissant progressif d'un peuplement forestier, pouvant être lié à un ensemble de facteurs biotiques et abiotiques non évidents
- **Essence forestière** : espèce, voire sous-espèce ou variété, d'arbre à intérêt économique ou écologique en sylviculture
- **Houppier ou couronne** : ensemble des branches, rameaux et feuilles en haut du tronc
- **Internal Transcribed Spacer (ITS)** : locus code-barres utilisé pour amplifier l'ADN fongique et identifier les taxons fongiques contenus dans un échantillon
- **Loupe** : excroissance arrondie sur un tronc, provoquée par la prolifération des tissus ligneux en réponse à un stress (infection, contrainte abiotique)
- **Mesures dendrométriques** : mesures des paramètres descripteurs des arbres (diamètre, hauteur, forme, accroissement)
- **Métabarcoding environnemental** : description par marqueurs moléculaires (code-barres) de la diversité taxonomique des fragments d'ADN contenus dans une matrice environnementale
- **Peuplement forestier** : population d'arbres caractérisée par une structure et une composition homogènes sur un espace déterminé
- **Régénération naturelle** : renouvellement d'un peuplement forestier par semences issues des arbres sur pied
- **Semis** : jeunes arbres se développant à partir des graines provenant d'arbres ayant atteint leur maturité sexuelle (arbres semenciers)

- **Sous-bois** : ensemble de la végétation poussant sous les arbres dominants d'une forêt et espace où pousse cette végétation
- **Structure forestière** : répartition des arbres d'un peuplement par classes d'âge ou de diamètre
- **Surface terrière d'un arbre** : surface de la section transversale de cet arbre à hauteur de poitrine (à 1,30 m)
- **Surface terrière d'un peuplement** : somme des surfaces terrières de tous les arbres qui le composent
- **Taillis** : peuplement forestier d'arbres issus de la reproduction végétative d'une souche par rejets
- **Volis** : cime d'un arbre cassée ou arrachée par le vent

## REMERCIEMENTS

Durant ces 6 mois de stage, j'ai eu l'occasion de m'épanouir dans un cadre de travail idéal au sein du laboratoire ECODIV de Rouen. J'ai eu la chance de pouvoir discuter, rencontrer et partager mes pistes de réflexions sur divers sujets avec de nombreux chercheurs, doctorants et stagiaires de la structure.

En premier lieu, je tiens à remercier tout particulièrement Lucie Vincenot, mon encadrante, pour m'avoir suivie de manière très régulière, toujours avec bonne humeur et bienveillance, et pour m'avoir enseigné durant ce stage de nombreuses choses concernant la recherche en écologie et en biologie moléculaire.

Je tiens également à remercier Aurélie Husté, ma co-encadrante, pour m'avoir accompagnée tout au long de l'analyse statistiques des données qui me paraissait complexe. Merci pour ta patience et ta pédagogie face à mes déluges de questionnements concernant R.

Aussi, j'adresse mes remerciements à Yoan Paillet, ingénieur de recherche à l'INRAe de Grenoble, qui a géré tout l'aspect terrain et dendrométrie de cette étude. Merci pour ces journées en forêt, riches en apprentissage qu'il s'agisse de l'écologie des pics ou de la reconnaissance des essences par exemple. Merci aussi de m'avoir accordé de son temps lors de réunions en visioconférence sur les questions d'appariement des données et sur leur analyse statistique.

Une attention toute particulière à Sylvaine Buquet pour ton aide précieuse lors du broyage et du tamisage des échantillons de bois et de terreau de cavité ainsi que lors du dosage de l'ADN au Nanodrop.

Merci à Dominique Monti, mon enseignante référente de l'Université de Guadeloupe, qui m'a aidée et rassurée lorsque j'étais malade pour la remise de mon rapport.

Enfin, je remercie les différentes structures qui nous ont mis à disposition leurs jeux de données de cavités de Pics : le Département de l'Isère et gestionnaires de la Réserve des Écouges, les différents agents de l'ONF, le Parc National des Cévennes, le Parc Naturel Régional des Volcans d'Auvergne et la LPO Haute-Savoie.

## **Résumé :**

Les oiseaux forestiers jouent un rôle fonctionnel essentiel dans les écosystèmes forestiers et sont souvent considérés comme de bons indicateurs de biodiversité. Même si certaines espèces sont ubiquistes, l'avifaune peut être un bon indicateur de l'état d'un peuplement forestier. C'est notamment le cas des Pucidés, auxquels appartiennent à la fois le Pic noir de Guadeloupe (*Melanerpes herminieri* Lesson) et le Pic noir européen (*Dryocopus martius* L.), et qui représentent de véritables espèces ingénieures de l'écosystème. Elles possèdent la capacité de transformer leur environnement par le creusement de cavités de nidification, favorisant elles-mêmes une biodiversité associée de nicheurs cavicoles secondaires. Néanmoins, les facteurs d'occurrence des cavités à l'échelle de la placette restent méconnus. Cette étude a donc pour objectif de déterminer les caractéristiques des peuplements forestiers des placettes à cavités pour en évaluer les besoins locaux de l'oiseau en matière d'habitat et leur potentiel de conservation. En France métropolitaine, 40 placettes témoins et 40 placettes à cavités ont été comparées dans 3 massifs montagnards et 2 de plaines. Il a été démontré que le pic noir soit indifférent à la surface terrière, au volume de bois mort, et au niveau d'encombrement du sous-bois pour creuser ses cavités de nidification. Dans notre étude, seule la proportion de surface terrière du hêtre semblait être expliquée par la présence des cavités de pic, ce qui conforte l'hypothèse d'une préférence du pic noir pour cette espèce d'arbre de nidification.

En perspective, la spécificité d'habitat des cavités de nidification pour les communautés fongiques et faunistiques cavicoles sera étudiée par métabarcoding environnemental, à l'aide d'ADN environnementaux extraits et amplifiés au cours de ce stage mais pas encore séquencés. La biodiversité de plusieurs taxons opportunistes sera également évaluée pour voir dans quelle mesure les dendromicrohabitats constitués par les cavités de pic noir augmenteraient ou non la biodiversité des parcelles forestières associées.

**Mots clés :** Pic noir, cavités, dendrométrie, écologie forestière, conservation

## **Abstract :**

Forest birds play a crucial functional role in forest ecosystems and are often considered good indicators of biodiversity status. Even though some species are ubiquitous, avifauna can serve as a good indicator of the state of a forest stand. This is particularly true for woodpeckers, which include both the Guadeloupe Woodpecker (*Melanerpes herminieri* Lesson) and the European Black Woodpecker (*Dryocopus martius* L.), and are considered as true ecosystem engineers. They have the ability to transform their environment through nesting cavity excavation, thereby promoting associated biodiversity of secondary cavity-nesting species. However, the factors influencing cavity occurrence at the plot scale remain poorly understood. Therefore, the objective of this study was to determine the characteristics of forest stands with cavities in order to assess the local habitat requirements and conservation potential for these birds. Forty control plots and forty plots with cavities were compared in three mountainous and two lowland regions in mainland France. It was found that the presence of cavities was not primarily influenced by the basal area, the volume of deadwood, nor the level of understory overdensity. Only the proportion of basal area covered by beech trees appeared to be related to the presence of woodpecker cavities, supporting the hypothesis of the European black woodpecker preference for this species of nesting tree.

In future perspectives, the habitat specificity of nesting cavities for cavity-dwelling fungal and faunal communities will be studied using environmental metabarcoding, with the extraction and amplification of environmental DNA during this internship, although sequencing has not been performed yet. The biodiversity of several opportunistic taxa will also be assessed to determine the extent to which the habitats created by black woodpecker cavities increase biodiversity in associated forest plots.

**Key words** : Black woodpecker, cavities, dendrometry, forest ecology, conservation

## I/ INTRODUCTION

Les forêts représentent environ 31 % de la surface de la Terre (FAO et UNEP - 2020) et jouent un rôle crucial dans la régulation du climat par le stockage du carbone dans le sol et son immobilisation dans la biomasse ligneuse. Elles contribuent également à fournir d'autres services écosystémiques (Millenium Ecosystem Assesment 2005, IPBES 2019), comme le maintien de la qualité des sols et des ressources en eau et comme support de biodiversité, abritant des espèces animales, végétales et microbiennes (Chevassus-Au-Louis et Pirard, 2011). Ainsi, les forêts représentent des écosystèmes très particuliers, par leur grande diversité d'habitats, essentiels pour de nombreuses espèces. Ces forêts hébergent plus de 60 000 espèces d'arbres différentes, offrant un habitat à 80 % des espèces d'amphibiens, 68 % des espèces de mammifères, 90 % des espèces de champignons connus à ce jour, ainsi que 75 % des espèces d'oiseaux (FAO et UNEP - 2020).

La mesure de l'état de conservation des habitats forestiers peut se fonder sur différents paramètres, tels que la répartition, la structure<sup>\*1</sup>, la composition en essences\* et le fonctionnement des écosystèmes forestiers (Carnino, 2009 ; Maciejewski, 2016). Plus précisément, le terme de répartition se réfère à la distribution géographique des habitats forestiers, pouvant être mesurée par la surface occupée par les différents types de forêts ainsi que leur répartition spatiale qui, dans le cas de ce stage, est à l'échelle locale. La structure forestière reflète la disposition, la hauteur et l'arrangement spatial des arbres, arbustes, du sous-bois\* et des différents étages de végétation. Ainsi, elle regroupe plusieurs aspects comme la densité, la taille et la distribution spatiales des arbres, influençant la complexité de l'habitat. La composition forestière se rapporte quant à elle aux différentes espèces ligneuses présentes dans l'écosystème forestier. Elle prend en considération la diversité des espèces, leur abondance relative et leur importance écologique, notamment les espèces endémiques ou menacées. Enfin, le fonctionnement des écosystèmes forestiers correspond aux processus écologiques qui s'y déroulent (décomposition des matières organiques, les cycles biogéochimiques) et aux fonctions écologiques associées (comme la régulation du climat local voire régional, la filtration de l'eau).

---

<sup>1</sup> Les astérisques renvoient au lexique p. iv et v.

Bien que la répartition des habitats forestiers en France soit relativement bien documentée (UICN France, 2014), l'analyse des éléments liés à la structure, à la composition et aux fonctions écologiques des arbres repose principalement sur l'expertise et manque encore de validation scientifique, notamment pour les forêts métropolitaines. Pourtant, ces données sont essentielles pour caractériser les habitats d'espèces ou des éléments plus généraux pouvant potentiellement favoriser la biodiversité forestière.

De plus, certains éléments fins de structure des peuplements arborés restent encore peu inclus dans les méthodes d'évaluations les plus utilisées, comme les dendromicrohabitats (DMHs). Il s'agit de singularités morphologiques portées par un arbre ou une partie des arbres du peuplement, utilisées durant une partie de leur cycle de vie par des espèces plus ou moins spécialisées (Larrieu *et al.*, 2018).

Ainsi, ces DMHs s'avèrent fondamentaux pour l'écosystème forestier dans son entièreté. En effet, les espèces incluses par Natura 2000 dans la Directive « Habitat Faune Flore » (DHFF) et la Directive « Oiseaux » (DO) dépendent potentiellement de ces éléments pour s'abriter, se reproduire, hiberner ou encore se nourrir. C'est notamment le cas d'oiseaux cavicoles primaires ou secondaires, ou de mammifères comme les chauves-souris (Jones *et al.*, 1994 ; Remm et Löhmus, 2011). D'autres espèces, non spécifiées dans les directives précitées, jouent tout de même un rôle fonctionnel majeur pour ces écosystèmes forestiers et démontrent également une grande dépendance à ces éléments de structure. Par exemple, les fonges lignicoles et les abeilles mellifères.

A ce titre, certains animaux comme les pics (famille des Pucidés) sont considérés comme de véritables ingénieurs des milieux forestiers (Puverel *et al.*, 2019), créant une multitude de DMHs que sont les cavités par excavation du bois. Toutes les espèces de pics présentes en France sont protégées (Arrêté du 29 octobre 2009<sup>2</sup> qui fixe la liste des oiseaux protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection). En plus d'être ingénieur, le pic est aussi une espèce « parapluie » : sa présence assure la protection de nombreux autres organismes. Ainsi, il participe à la diversité des habitats en forêt et influence la composition des assemblages d'autres animaux (Martin et Eadie 1999 ; Cockle *et al.*, 2011).

---

<sup>2</sup> <https://www.legifrance.gouv.fr/loda/id/JORFTEXT000021384277>

Avec plus de 200 espèces actuellement décrites (Gorman, 2014), la famille des Picidés présente elle-même une forte diversité. Ils sont répartis sur tous les continents à l'exception de l'Océanie et de l'Antarctique. En France métropolitaine, on en dénombre 9 espèces. La présence et l'abondance des espèces de pics varient en fonction des régions biogéographiques, de la typologie forestière, des peuplements d'arbres associés et des modes de gestion ou d'exploitation.

Le pic de la Guadeloupe (*Melanerpes herminieri* Lesson) est, comme son nom l'indique, une espèce d'oiseau endémique de Guadeloupe située dans les Antilles françaises de la Caraïbe (Villard et Rousteau, 1998). Il s'agit d'un oiseau de taille moyenne, mesurant environ 25 cm de longueur. Sa tête, ses ailes et sa queue sont de couleur noire avec des reflets bleuâtres (fig. 1a). Son comportement est territorial et solitaire. Il se nourrit en fouillant l'écorce des arbres à la recherche d'insectes tels que les termites ou les fourmis, et en cueillant des fruits et des baies dans les arbres et les arbustes. Pour sa nidification, le pic noir de Guadeloupe creuse des loges, généralement dans des arbres morts ou des troncs pourris de tous les milieux forestiers, de la forêt tropicale humide à la mangrove (Villard et Rousteau, 1998).

Même si, depuis quelques années, *Melanerpes herminieri* est considéré comme une espèce de préoccupation mineure par l'Union Internationale pour la Conservation de la Nature (UICN Comité français, 2021), l'espèce est sensible aux changements globaux. En effet, son habitat est aujourd'hui menacé en raison de la destruction et de la fragmentation de ce dernier (perte de forêts matures pour l'agriculture, l'urbanisation et l'exploitation forestière). D'autres menaces comme l'introduction du rat noir – son principal prédateur - pèsent également sur l'espèce (Parc National de la Guadeloupe, 2019). Or, son rôle écologique est essentiel car en déchiétant le bois et les écorces, il participe alors à l'accélération de leur transformation en humus (Cuisin, 1967).

Les « hotspots » de diversité de pics ont été trouvés dans les forêts tropicales et subtropicales d'Asie du Sud-Est, d'Amérique du Sud et centrale et d'Afrique équatoriale. Cependant, près de 90 % des articles publiés entre 1985 et 2004 portaient sur des études menées en Amérique du Nord et en Europe, autrement dit dans des zones géographiques abritant environ 17 % du

nombre mondial d'espèces de Pucidés (Mikusiński, 2006 ; Cockle *et al.*, 2011). Il serait donc intéressant d'extrapoler ces connaissances aux régions moins étudiées comme le Néotropique.

Tout comme *Melanerpes herminieri*, le pic noir européen (*Dryocopus martius* L.) appartient à la famille des Pucidés. Son aire de répartition s'étend quant à elle de l'Asie du nord à l'Afrique du Nord en passant par l'Europe. Il s'agit du plus grand Piciforme d'Europe mesurant jusqu'à 50 cm, reconnaissable par des caractères tels que sa taille, son plumage noir, ainsi que son cri et son tambourinage caractéristiques (fig. 1b). Le pic noir européen est également une espèce territoriale et monogame. Sa nourriture est très variée, constituée de petits invertébrés, de graines et de fruits, favorisant tout de même principalement les fourmis et les insectes xylophages qu'il prélève en perçant des trous dans l'écorce grâce à son bec dans les souches au sol ou sur les troncs (Cuisin, 1966). Pour sa nidification, le pic noir voit quant à lui sa préférence pour des arbres sains mais d'un diamètre important, le plus souvent un hêtre (Cuisin, 1988). Par conséquent, la présence de gros arbres pour la nidification et de nombreuses zones boisées pour l'alimentation sont des éléments clés de son habitat (Puverel *et al.*, 2019 ; Basile *et al.*, 2020). A l'instar du pic de Guadeloupe, le pic noir européen est également considéré comme une espèce de préoccupation mineure selon l'UICN, mais reste néanmoins une espèce déterminante de ZNIEFF (Zones Naturelles d'Intérêt Écologique, Faunistique et Floristique ; DREAL Auvergne-Rhône-Alpes, 2021) c'est-à-dire une espèce relativement importante pour démontrer que le milieu naturel qui l'abrite représente une valeur patrimoniale plus élevée que les autres milieux naturels environnants.

Ainsi ces deux pics possèdent des caractéristiques biologiques et écologiques communes. Le pic de Guadeloupe étant peu étudié, il est alors pertinent de s'intéresser au pic noir européen, qui lui, l'est plus largement. Utiliser les connaissances générales permet alors aux chercheurs de faire des hypothèses sur le comportement et les caractéristiques de l'espèce sœur, et ainsi de mieux orienter leurs recherches sur la gestion forestière nécessaire à cette espèce endémique.



Figure 1 : photographies en vue latérale a. du pic de Guadeloupe (*Melanerpes herminieri* Lesson) et b. du pic noir européen (*Dryocopus martius* L.).

Dans une revue à l'échelle mondiale Remm et Löhmus (2011) ont souligné que les cavités sont peu étudiées en Europe. Ainsi, cette étude se concentrera sur les paramètres déterminants la présence ou l'absence de cavités de pics noirs européens à l'échelle intra et inter-placette forestière de plaine et de montagne. Cela permettra ainsi à terme de mieux considérer les DMHs lors des réflexions sur la gestion conservatoire forestière et à plus large échelle.

Plusieurs hypothèses ont été établies afin de caractériser le peuplement forestier associé aux cavités des pics noirs :

- i) Étant admis qu'ils privilégieraient les arbres de gros diamètres (Legrand et Bartoli., 2005 ; Cuisin, 1988), **le diamètre moyen des arbres serait supérieur dans les placettes à cavité de nidification par rapport aux placettes témoins.**
- ii) Les pics noirs préféreraient creuser des cavités dans des zones qui facilitent le vol et l'accès à la cavité en cas de danger (Rolstad *et al.*, 2000 ; Saporetti *et al.*, 2016), ainsi **les placettes à cavité de nidification seraient moins encombrées par le sous-bois que les placettes témoins.**
- iii) La disponibilité du bois mort, représentant un substrat d'alimentation, jouerait un rôle sur la présence des pics noirs et par conséquent sur leur site de nidification (Hondong, 2016 ; Khanaposhtani *et al.*, 2012 ; Mikusiński, 1997 ; Rolstad *et al.*, 1998), **le volume de bois mort serait donc a priori différent entre les placettes à cavité de nidification et les placettes témoins.**

- iv) Le hêtre étant décrit comme l'essence privilégiée pour le creusement de cavités (Cuisin, 1996), **sa quantité serait supérieure en placette à cavité de nidification qu'en placettes témoins, et serait également supérieure même en altitude.**

Ce stage s'inscrivant dans le projet de recherche TRAMETES<sup>3</sup> – Contribution de la trame de vieux bois à l'état de conservation des habitats forestiers et des espèces – vise à analyser les liens de deux indicateurs potentiels de biodiversité forestière (les cavités de pic noir et la maturité forestière) avec la biodiversité de plusieurs taxons. En effet, associés à ces DMHs, une forte diversité d'espèces végétales, fongiques et faunistiques peut être trouvée. Par exemple, les champignons bénéficient dans les cavités de conditions favorables à leur développement (lumière, humidité ; Jusino *et al.*, 2015). L'objectif secondaire était alors de tester la présence de groupes fongiques par PCR associée aux cavités de nidification des pics noirs. La perspective était de décrire la biodiversité fongique par métabarcoding environnemental pour étudier la spécificité des communautés fongiques associées aux cavités de nidification en comparaison des communautés lignicoles des bois morts au sol.

Un objectif tertiaire était, à travers la caractérisation de la diversité des DMHs associés aux cavités de nidification du pic dans ses écosystèmes forestiers, pour, dans un dernier temps, évaluer sa relation à la diversité d'espèces incluses ou non dans les Directives Habitat-Faune-Flore et Oiseaux (oiseaux, chauve-souris, abeilles).

## **II/ MATERIELS ET METHODES**

### **a) Sélection des placettes**

Les placettes ont été sélectionnées en 2022 et 2023 dans 7 massifs forestiers de France métropolitaine (Figure 1), où des cavités de pics noirs avaient été repérées et cartographiées par des gestionnaires forestiers et experts naturalistes de l'ONF (Office National des Forêts), de PNR (Parc Naturel Régional des Volcans d'Auvergne), de Parc National (Cévennes) ainsi que par des naturalistes de la LPO (Ligue de Protections des Oiseaux) et par le photographe naturaliste Michael Dubois (Tableau 1).

---

<sup>3</sup> <https://www6.inrae.fr/biosefair/Nos-actions/Projets-exploratoires/TRAMETES2>

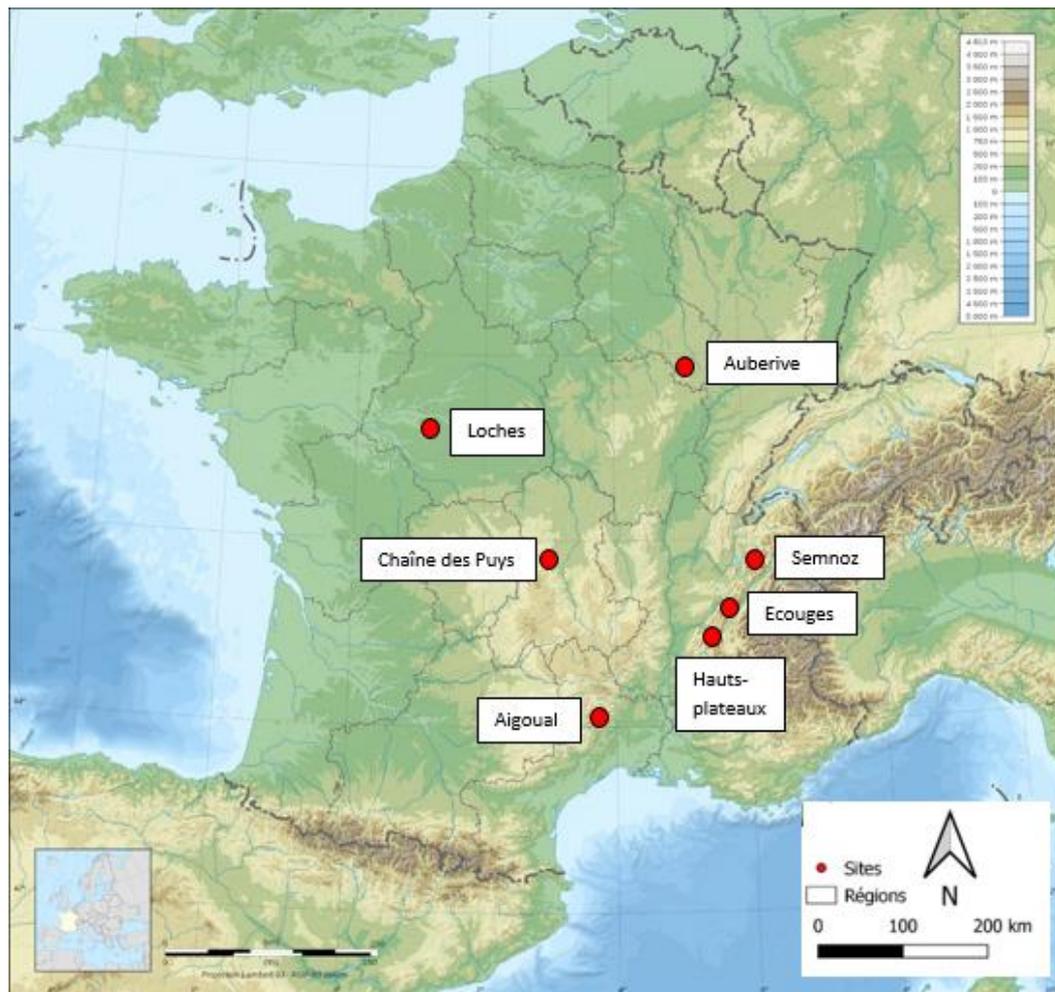


Figure 2 : Carte de localisation des 7 massifs étudiés

Pour le processus de sélection des placettes à cavité de nidification, les arbres identifiés le plus récemment ont été présélectionnés pour limiter le risque de cicatrisation de la cavité (Colmant, 2003), de cassure de l'arbre (Wesołowski, 2011) voire de mort de l'arbre (Paillet, observations personnelles).

Ensuite, un tirage aléatoire a été réalisé afin d'établir la sélection des placettes en tant que placettes à cavité. De plus, sur le terrain, seuls les arbres vivants portant les cavités de nidification ont été retenus.

A chaque placette à cavité a été appariée une placette témoin, autrement dit une placette dépourvue de cavité (dans un rayon d'au moins 50 m) de pic noir mais équivalente en facteurs environnementaux. Chaque placette témoin partageait au maximum les mêmes caractéristiques (en termes de pente, d'orientation) que sa placette à cavité appariées. De

plus, une distance d'environ 85 mètres séparait les deux placettes d'une même paire afin qu'elles appartiennent au domaine vital d'un même pic.

Enfin, pour réduire l'autocorrélation spatiale, les arbres à cavités de nidification situés à moins de 400 m les uns des autres ont été rejetés pour éviter le chevauchement de deux domaines vitaux.

Tableau 1 : caractéristiques des placettes sélectionnées pour l'étude

Massifs	Origine des recensements	Nombre de cavités recensées	Nombre de placettes à cavité retenues pour l'étude	Date de choix et mesures des placettes
Aigoual	ONF	1819	10	2022
<u>Alpes :</u> Ecouges Hauts-Plateaux Semnoz	ONF, LPO	38	2 4 4	2022
Auvergne	ONF	223	10	2022 et février 2023
Loches	Observations naturalistes	112	5	Mars 2023
Volcans	PNR	252	5	Mars 2023

Au total, 40 paires de placettes réparties dans 7 massifs de 5 régions ont été sélectionnées pour l'étude (Tableau 1), soit 80 placettes à caractériser. Toutes les mesures de 2023 (Massifs d'Auvergne, Loches et Chaîne des Puys) ont été faites par Marie-Emelie Guignot, Yoan Paillet, et deux autres opérateurs variant selon la localité.

### b) Protocole PSDRF

Concernant la description de la structure forestière locale de chaque placette, des mesures dendrométriques\* permettant la caractérisation du peuplement présent ont été effectuées sur 40 placettes en 2022 et 40 placettes en 2023 (Tableau 1). Le protocole appliqué est le Protocole de Suivi Dendrométrique des Réserves Forestières (PSDRF)<sup>4</sup>.

<sup>4</sup> [https://www.reserves-naturelles.org/sites/default/files/fichiers/notice\\_psdrf.pdf](https://www.reserves-naturelles.org/sites/default/files/fichiers/notice_psdrf.pdf)

Ce protocole dendrométrique simple a été proposé en 2012 par Réserves Naturelles de France, l'ONF, AgroParisTech et l'IRSTEA (Réserves Naturelles de France, 2012). Il permet d'appréhender à des fins de gestion forestière conservatoire la dynamique naturelle des bois morts et la structure des peuplements de façon simultanée avec : la caractérisation du peuplement forestier, y compris du bois mort, l'analyse des flux de bois vivants et de bois morts consistant à étudier les échanges de matière dans l'écosystème forestier, le suivi de la composition en essences se référant à l'observation des différentes espèces d'arbres présentes, le suivi des gros bois, le suivi du capital sur pied qui évalue la quantité de bois vivant dans la forêt ainsi que le suivi du renouvellement examinant la régénération naturelle\* et la croissance des jeunes arbres (Réserves Naturelles de France, 2012).

Le périmètre de relevé dendrométrique de chaque placette a été délimité par des jalons, permettant de visualiser rapidement les distances des éléments à mesurer par rapport au centre de la placette, la position les mesures et la comparaison des relevés. Ces jalons sont installés sur trois transects situés à 0 grade, 133 grades et 267 grades (fig. 2). Sur chacun des transects, un jalon est installé à 10 mètres du centre de la placette et un second à 20 mètres. De plus, la mise en place du protocole a été grandement facilitée par l'utilisation d'un matériel spécifique : le télémètre Vertex (Vertex IV, Haglöf). C'est un outil de mesure qui, apparié à un transpondeur, établit avec précisions les distances, les hauteurs, les inclinaisons et les angles des éléments mesurés (par exemples les arbres vivants, souches, chandelles\*). Cet instrument permettait de prendre facilement les mesures de distance en forêt en évitant quelques écueils (notamment avec la correction de pente).

Sur chaque placette trois catégories de bois ont été prises en compte : les bois vivants, les arbres morts encore sur pied et les arbres morts au sol. Pour un suivi plus précis, différentes catégories de bois morts et vivants ont été suivies en fonction de leur taille. Au total pour chaque placette, ce sont en fait sept inventaires qui sont réalisés (fig. 3) :

- Cinq inventaires à surfaces fixes : les individus ont été comptabilisés sur des placettes circulaires de 1,5 m à 20 m de rayon selon la catégorie visée,
- Un inventaire à angle fixe de 3 % : inventaire de tous les arbres ayant un diamètre en cm supérieur ou égal à 3 fois sa distance au centre de la placette en mètres,

- Un inventaire selon trois transects linéaires partant du centre de la placette.

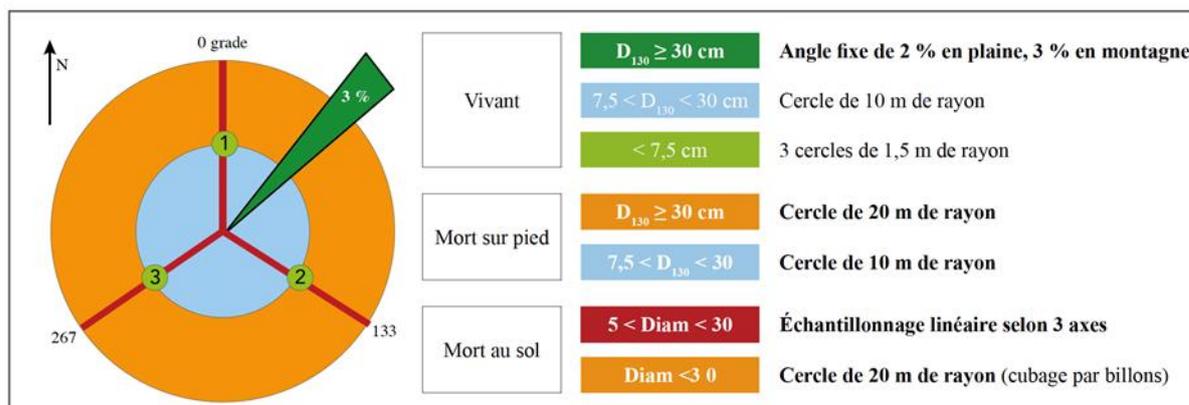


Figure 3 : Schématisation des relevés par placette (d'après Réserves Naturelles de France, 2015).  $D_{1.30}$  = diamètre de l'arbre mesuré à 1,30 m de hauteur en cm. (a) placettes à surfaces fixes, (b) placette à angle fixe, (c) placette à transect linéaire.

#### Pour les arbres vivants :

Selon leur diamètre, ils ont été échantillonnés selon 2 catégories : les arbres au diamètre supérieur à 7,5 cm, et la régénération (soit les arbres jeunes de diamètre inférieur). Pour chacune de ces catégories, l'essence, l'azimut, la distance de l'individu par rapport au centre de la placette, les DMHs présents sur l'arbre, l'origine végétative de l'individu (taillis\* ou semis\*) ont été relevés.

Le diamètre des arbres a été mesuré en deux fois pour les arbres vivants, à hauteur de poitrine (1,30m). En effet, n'étant pas un objet parfaitement cylindrique, deux diamètres permettent d'estimer plus finement le volume de bois par la suite.  $D_1$  correspondait au diamètre mesuré perpendiculairement au rayon de la placette, tandis que  $D_2$  était le diamètre mesuré perpendiculairement à  $D_1$ .

La régénération a été mesurée sur 3 sous-placettes de rayon 1,5m situées à 10m du centre de la placette. Elle a été catégorisée selon 4 classes de taille et de diamètre :

- Semis : individus de hauteur  $< 50$  cm, notés en pourcentage de recouvrement au sol
- Classe 1 : individus de hauteur entre 0,5 m et 1,5 m

- Classe 2 : individus de hauteur supérieure à 1,5 m et diamètre inférieur à 2,5 cm
- Classe 3 : individus de hauteur supérieure à 1,5 m et diamètre supérieur à 2,5 cm.

Pour les arbres morts :

Ils ont été classés en 2 catégories : les arbres morts debout (BMD) et les arbres morts au sol (BMS).

Les arbres morts debout (ou sur pied) rassemblaient aussi bien les arbres de dépérissement\* récent, les chandelles\*, ainsi que les souches\*. Ils sont inventoriés en utilisant les cercles concentriques de 10 m et 20 m de rayon autour du centre de placette. Le diamètre de prise en compte des individus dépendait de leur diamètre de tronc à hauteur de poitrine : dans cercle de 10 m, un diamètre de minimum de 7,5 cm, et dans le cercle de 20 m, un diamètre minimum de 30 cm.

Les mêmes paramètres que pour les arbres vivants ont été relevés, en ajoutant la hauteur, la présence d'écorce et le stade de décomposition du bois (Annexe 1).

Pour les arbres morts au sol, lorsque le diamètre de tronc était compris entre 5 et 30 cm, celui-ci était échantillonné selon les 3 transects linéaires de 20 m de longueur cités précédemment. Les paramètres étaient mesurés au niveau de l'intersection entre le transect et le morceau de bois mort. Il s'agissait alors : de l'essence (si l'identification était impossible il était noté « R.D » pour résineux divers, « F.D » pour feuillus divers ou « IND » pour indéterminé sur la fiche de relevé terrain), du diamètre médian, de l'angle de la pièce par rapport à l'horizontale, du contact au sol, de son origine (provenant d'un chablis\* ou non) et enfin de son stade de décomposition\*.

Si des arbres morts de plus de 30 cm de diamètre étaient présents ceux-ci étaient également inventoriés comme décrit ci-dessus pour les arbres morts debout.

Le nombre de placettes inventoriées par jour dépendait de la difficulté des placettes (pente et quantité de bois mort essentiellement) ainsi que de l'expérience des opérateurs et des

conditions météorologiques. Pour limiter le biais de l'observateur, des rotations sont opérées entre chaque placette entre les personnes s'occupant des mesures et de la saisie.

### c) Analyses statistiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R version 4.2.3 (Rstudio Team, 2020). Les variables choisies ont été regroupé dans le Tableau 2 :

Tableau 2. Description des variables à expliquer sélectionnées en fonction de la variable explicative présence/absence de cavité sur les sites.

VARIABLES	UNITÉ	ABRÉVIATION
Surface terrière* des arbres vivants	m <sup>2</sup>	G.BV
Volume d'arbres morts au sol	m <sup>3</sup>	V.BMS
Volume d'arbres morts debout	m <sup>3</sup>	V.BMD
Densité de régénération	tiges/ha	N.rege.c3
Densité des petits arbres	nombre de petits arbres/ha	N.PBV
Surface terrière du hêtre/surface terrière totale du bois vivant	m <sup>2</sup>	HET

Pour rendre compte des différences de diamètres pouvant exister entre les arbres présents sur les sites d'échantillonnage, la surface terrière\* des arbres vivants (G.BV) a été choisie. Cette dernière est une mesure de la surface de la section transversale de l'arbre au niveau du diamètre à hauteur de poitrine (DHP). Le lien entre le diamètre et la surface terrière d'un arbre peut être décrit par une relation mathématique :

$$\text{Surface terrière} = \pi \times (\text{Diamètre 1} + \text{Diamètre 2}/2)^2$$

Pour cette étude, nous avons sélectionné comme type de modèle statistique le modèle linéaire généralisé mixte (glmm) pour comparer nos six variables de réponse entre les arbres à cavité et les arbres témoins. Ce modèle a été réalisé grâce au package glmmTMB (Brooks *et al.*, 2017) et permettait de prendre en compte l'effet aléatoire et l'appariement des données. Dans notre cas, l'appariement a été fait par paire de placettes ce qui a permis de comparer les placettes à cavité (CA) et sans cavité (CT) à plusieurs échelles (au niveau de la classe

d'altitude du massif et également au niveau de la parcelle). Ainsi, la variable « Paire » compte pour l'effet aléatoire au sein de notre jeu de données.

Nous avons ajouté le code des massifs (AIG, AUB, LOC, VOL, HAU, SEM, ECO) ainsi que la classe d'altitude (plaine ou montagne) comme effets fixes en interaction avec le type de placette (CA vs. CT) pour tenir compte des éventuelles variations dans les relations avec le site et l'altitude.

Cela nous a permis de comprendre comment les relations entre les variables changeaient en fonction des conditions spécifiques et de tester les contrastes pour tous les paramètres (type de placette, altitude et interaction).

La variable N.rege.c3 était un peu différente car elle comportait beaucoup de 0 (48 placettes sans régénération et 32 où elle était présente). Ces 0 représentant une vraie absence de régénération et non une absence de données, le « zero inflated model » a alors été sélectionné pour l'analyse de cette densité (Zuur *et al.*, 2007).

Selon la structure des jeux de données des variables, différentes distributions ont été choisies :

- Une distribution d'erreur Gamma avec un lien logarithmique a été utilisée pour la surface terrière puisque les valeurs étaient strictement positives et continues,
- Une distribution d'erreur Gaussienne avec un lien d'identité pour les 4 variables V.BMS, V.BMD, N.rege.c3 et N.PBV car il s'agissait de valeurs continues.
- Une distribution binomiale pour la variable HET car il s'agissait d'une proportion.

Enfin, nous avons ensuite utilisé des tests post-hoc marginaux de Tukey (fonction `glht`; package *multcomp* v1.4-16, Hothorn *et al.*, 2008) pour comparer séparément les moyennes estimées entre les arbres de placette à cavité (CA) et placettes contrôle (CT) par massif.

#### d) Métabarcoding environnemental des communautés lignicoles et cavicoles

Pour l'objectif secondaire consistant à décrire les communautés fongiques associés aux cavités de pic noir, l'approche de métabarcoding environnemental\* a été choisie car elle permet de détecter des taxons non perceptibles à l'œil nu.

Les échantillonnages ont été réalisés à l'automne 2022 sur les massifs d'Aigoual, des Alpes et d'Auberive et seront complétés à l'automne 2023 à Loches et dans le Puy-de-Dôme.

Sur toutes les placettes, le bois mort au sol a été prélevé sur 3 transects de 20 m, pour tous bois de diamètre compris entre 5 et 30 cm et un échantillon composite des trois placettes a été constitué.

Sur les placettes à cavité, dans chaque cavité un échantillon composite (9 points) de bois a également été prélevé à la tarière manuelle, ainsi qu'un échantillon de terreau de cavité. Tout le matériel d'échantillonnage (gants, scies, tarières, sécateurs, louches) a été décontaminé d'ADN entre chaque placette par un lavage à l'éthanol à 70°. Tous les échantillons ont été placés en sacs de congélation et conservés à -20°C avant extraction de l'ADN environnemental\* (ADNe).

Au laboratoire, tous les échantillons obtenus ont été broyés à l'aide d'un broyeur à couteaux (PULVERISETTE 11, FRITSCH) et les copeaux ont été homogénéisés dans un tamis de maille de 2 mm, avec un nettoyage à l'éthanol à 70° entre chaque échantillon.

Les extractions d'ADNe totale ont été réalisées grâce au kit DNeasy PowerSoil Pro (QIAGEN), en suivant le protocole du fabricant (Annexe 2), à partir de 250 mg de broyat de bois ou de terreau.

Pour chaque ADNe extrait, la qualité a été vérifiée sur gel d'agarose, puis la concentration et la pureté ont été quantifiées à l'aide d'un spectrophotomètre NanoDrop (Mettler Toledo).

Les concentrations d'ADNe ont ensuite été normalisées par dilution à 5 ng ADN/ $\mu$ L dans de l'eau déminéralisée avant les amplifications par PCR. Enfin, pour chaque échantillon, le locus ITS (*Internal Transcribed Spacer\**) ont été amplifiés par PCR avec 3 réplicats techniques

(Annexe 3), avec les amorces ITS3 et ITS4 permettant d'amplifier spécifiquement les ADN fongiques contenus dans l'ADNe total (Yu *et al.*, 2022). La présence et la qualité des produits PCR (amplicons) a été vérifiée par dépôt sur gel d'agarose. Après ce stage, et les amplicons seront séquencés par séquençage à haut débit MiSeq Illumina à la plateforme technique Genotoul (INSA Toulouse).

### e) Dendromicrohabitats

La biodiversité joue un rôle majeur dans le fonctionnement des écosystèmes forestiers. Les arbres-habitats sont des éléments clés pour les espèces forestières (Bütler *et al.*, 2013).

Afin de caractériser finement la diversité des dendromicrohabitats pour l'objectif tertiaire, leur recensement a été effectué sur chacun des arbres vivants et morts debout de chacune des placettes. La typologie de Larrieu *et al.*, (2018), définit 47 types de DMHs (Annexe 4) différents, répartis en 7 formes : les cavités, les blessures, le bois apparent et les fentes, le bois mort dans le houppier\*, les excroissances (loupes\*, chancres\*, balais de sorcière\*), les sporophores de champignons et myxomycètes, les structures épiphytiques, épixyliques ou les parasites ainsi que les exsudats (Fig. 4).

Si un peuplement forestier contient des DMHs diversifiés, les besoins spécifiques de nombreuses espèces peuvent, de ce fait, être satisfaits.

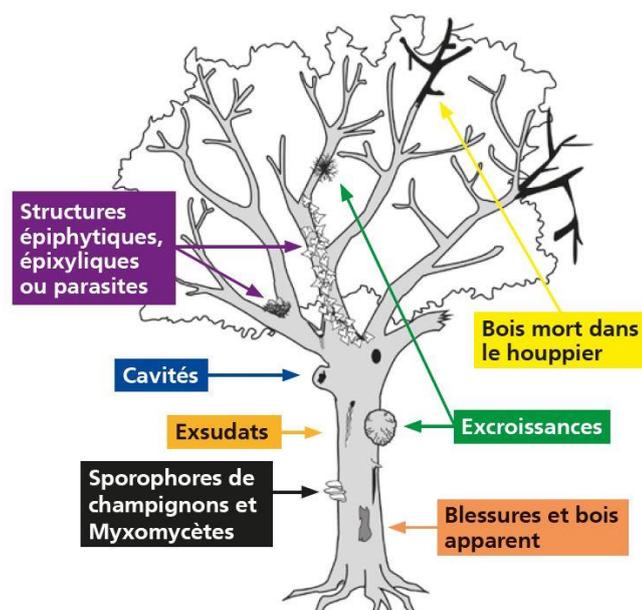


Figure 4 : Schématisation des dendromicrohabitats sur un arbre (Réserves Naturelles de France, 2015)

### III/ RESULTATS

#### a) Analyses dendrométriques

##### 1. Hypothèse 1 : diamètre des arbres vivants.

Tous massifs confondus, la surface terrière moyenne pour les arbres vivants n'est pas significativement différente entre les placettes à cavité et les placettes témoins ( $p = 0,83$ ) avec des valeurs de surface terrière moyenne de respectivement  $29,7 \pm 11,3 \text{ m}^2$  et  $30,9 \pm 12,5 \text{ m}^2$  (Annexe 5). On retrouve ce même résultat lorsque l'on considère les arbres par classe de diamètre : en ne prenant en compte que les gros et très gros arbres vivants ( $D > 47,5\text{cm}$ ), leur surface terrière ne varie pas non plus de manière significative ( $p = 0,39$ ) selon le type de placette.

Il n'y avait aucune interaction entre le type de placette et les différents massifs, un modèle avec la variable « Code massif » uniquement suffisait donc. Il était possible d'observer que seul Auberive (AUB) était significativement différent des autres massifs ( $p = 1,28 \times 10^{-7}$ ), avec une surface terrière moyenne des arbres vivants bien inférieure significativement (Fig. 5a).

Enfin, la relation entre surface terrière des bois vivants et classe d'altitude a été testée. Il apparaissait alors que cette surface terrière était significativement plus élevée en montagne qu'en plaine (moyennes =  $34,52$  et  $23,22 \text{ m}^2$ , respectivement ;  $p = 1,12 \times 10^{-7}$ , test de Tukey) (Fig. 5b).

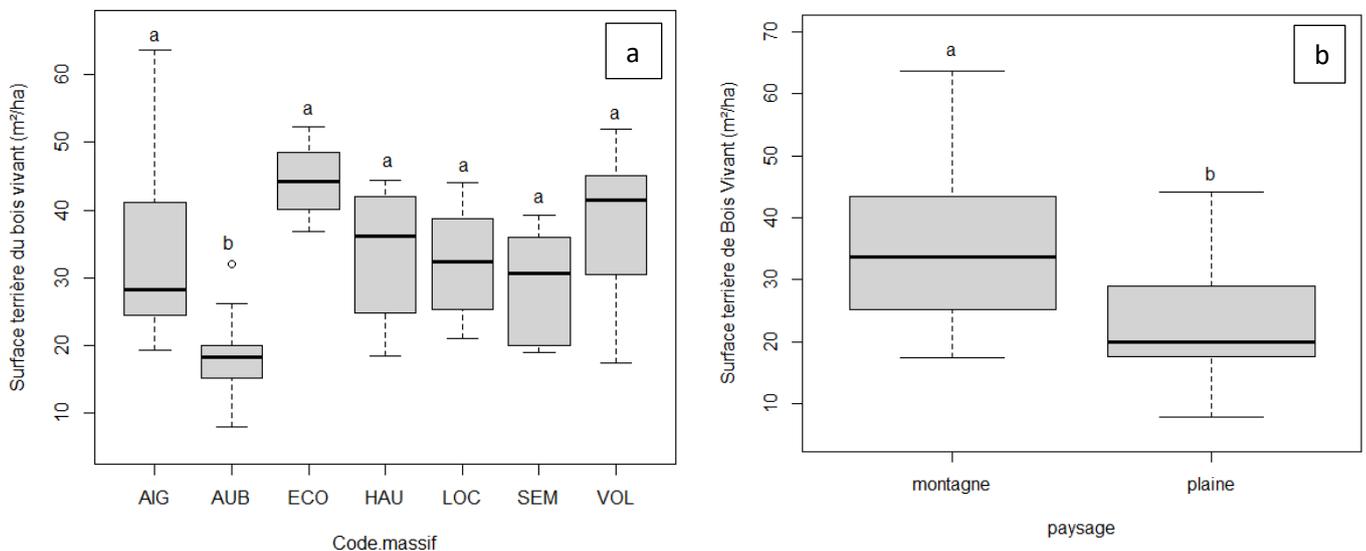


Figure 5 : Comparaison des moyennes de surface terrière (G.BV) des arbres vivants estimées (a) entre massifs

et (b) entre classes d'altitude. Les lettres indiquent une significativité marginale du test de Tukey (seuil :  $p < 0,05$ ).

La surface terrière n'apparaissait donc pas comme un prédicteur significatif du choix des arbres par les pics. La première hypothèse selon laquelle le diamètre des arbres serait supérieur dans les placettes à cavité de nidification par rapport aux placettes témoins a donc été réfutée au vu des résultats obtenus.

## 2. Hypothèse 2 : Volume de bois mort

**Concernant les arbres morts au sol**, il n'existait pas de différence significative ( $p=0.65$ ) de volume de bois mort entre les placettes à cavité et les placettes témoins (moyennes =  $15,69 \pm 17,57$  et  $14,75 \pm 12,33$  m<sup>3</sup>, respectivement), tous massifs confondus. Plus en détail, on observait également que les volumes de bois mort au sol étaient semblables entre classes d'altitude (moyennes =  $15,04$  m<sup>3</sup> en montagne et  $15,52$  m<sup>3</sup> en plaine,  $p = 0,65$ , test de Tukey). Le modèle global de chaque massif a montré une différence ( $p= 0.011$ ) pour le massif de Semnoz (Fig. 6). Néanmoins, le nombre de données sur cette placette était restreint et il faudrait en avoir davantage pour pouvoir conclure ou non à une réelle différence par rapport aux autres massifs.

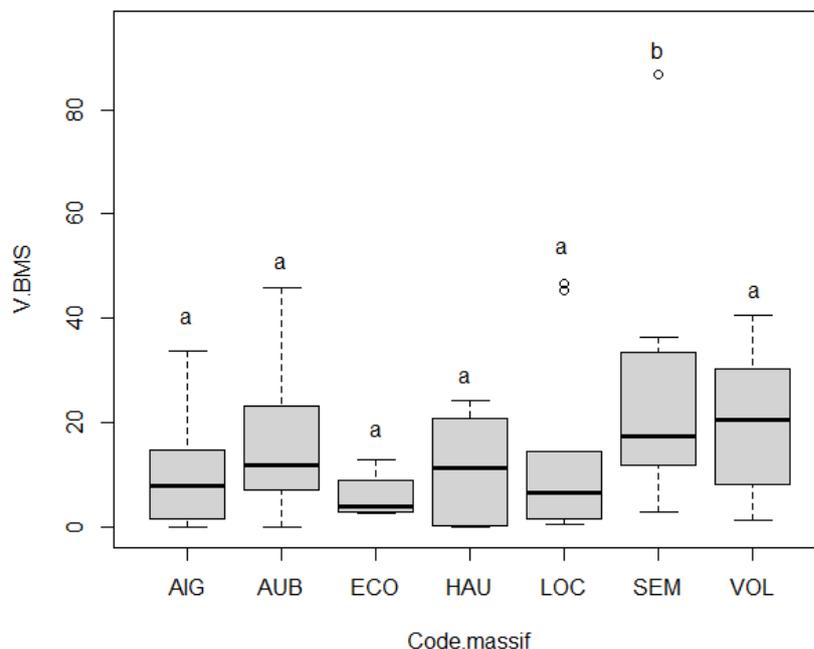


Figure 6 : Comparaison des moyennes de arbres mort au sol (V.BMS) estimées entre les massifs. Les lettres indiquent une significativité marginale du test de Tukey (seuil :  $p < 0,05$ ).

**Concernant les arbres morts debout** : grâce au modèle choisi, une interaction apparaissait entre le « massif » et le « type » de placette. Cependant, il n’existait pas de différence significative de volume de bois mort debout (moyennes =  $25,78 \pm 29,93$  et  $34,62 \pm 40,28 \text{ m}^3$ , respectivement) entre les placettes à cavité CA et les placettes témoins CT globalement ( $p = 0.65$ ). Seul le massif ECO posait question et présentait peut-être une différence entre ses paires de placettes. En regroupant tous les CA de chaque massif pour les comparer, aucune différence n’apparaissait non plus ( $p > 0,05$  pour tous les massifs; Fig. 7a). A contrario, en regroupant tous les CT de chaque massif une différence significative entre volumes de bois mort debout était observée ( $p= 0.0005$  entre AIG CT et SEM CT,  $p= 0.0005$  entre AUB CT et SEM CT,  $p= 0.0260$  entre ECO CT et LOC CT,  $p= 0.0397$  entre ECO CT et VOL CT,  $p= 0.0004$  entre LOC CT et SEM CT et  $p = 0.0007$  entre SEM CT et VOL CT ; Fig. 7b).

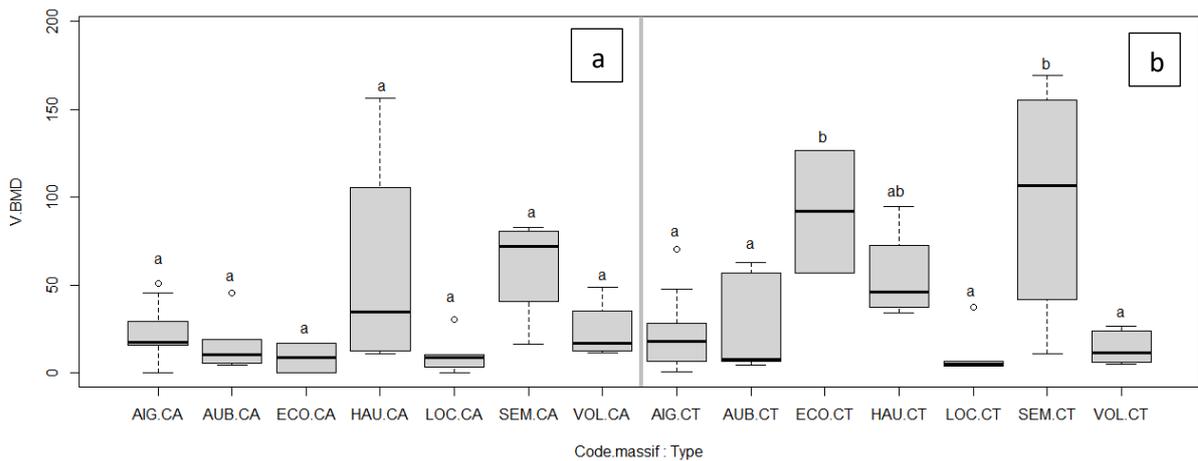


Figure 7 : Comparaison des volumes moyens d’arbres morts debout estimés (a) entre les placettes à cavités de tous les massifs entre eux et (b) entre les placettes témoins. Ces 2 graphiques sont basés sur des modèles mixtes linéaires généralisés, de distribution d’erreur gaussienne avec des liens d’identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la significativité de chaque paramètre dans chaque modèle Type:Site (interaction entre Type et Site).

Le deuxième modèle retenu a été le volume de bois mort debout en fonction de l’altitude car aucune interaction entre l’altitude et le type de placette n’a été décelée. Il apparaissait alors que le volume d’arbres morts debout est supérieur en montagne qu’en plaine ( $p = 6,19.10^{-3}$ ; Fig.8).

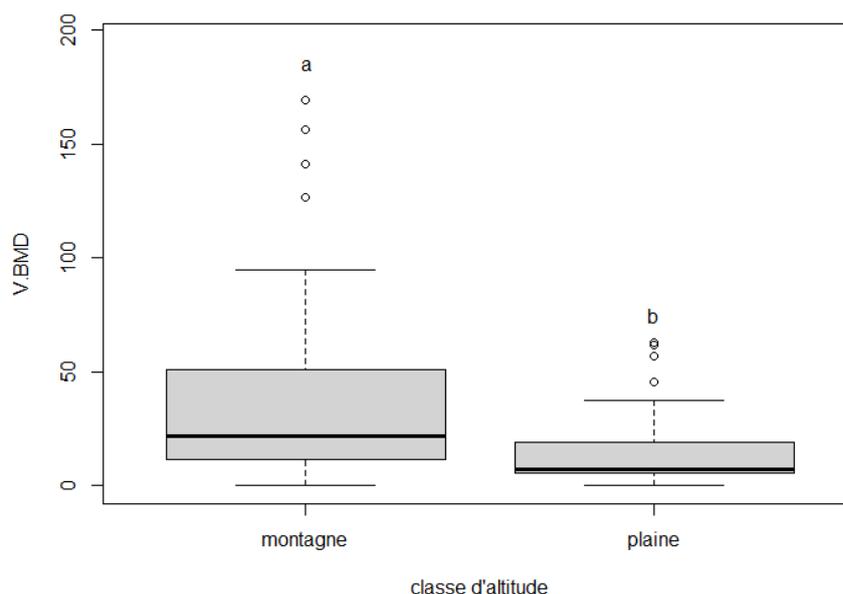


Figure 8 : Comparaison des volumes moyens de bois morts debout estimés en fonction de la classe d'altitude (montagne vs. plaine). Ce graphique est basé sur un modèle mixte linéaire généralisé, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la présence d'une différence significative entre modalités.

Par conséquent, d'un point de vue global, la deuxième hypothèse est également réfutée, et il n'est pas possible avec les données que nous possédons de conclure que le volume de bois mort (au sol et debout) soit significativement différent selon le type de placette. Le pic ne semble donc pas privilégier des zones à fort volume de bois mort pour creuser ses cavités.

### 3. Hypothèse 3 : encombrement des sites et des placettes.

Pour l'encombrement des placettes et des sites deux variables ont été choisies : la régénération de classe 3 (c'est-à-dire les jeunes arbres ayant un diamètre compris entre 2,5 cm et 7,5 cm) ainsi que les petits arbres (diamètre compris entre 7,5 et 22,5 cm) pouvant faire obstacle au vol du pic et de sa capacité à fuir un prédateur, ou à atteindre rapidement sa cavité.

Pour la densité de régénération, le modèle « zero inflated model » est utilisé pour prendre en compte les biais et les caractéristiques spécifiques des données avec une fréquence de zéros élevée. Celui-ci a montré qu'il n'y avait pas d'effet du massif. Ainsi, aucune différence significative entre les 7 massifs n'a été observée ( $p = 0,76$ ). Néanmoins, la variance des

données restait très grande. Aucune différence significative d'encombrement des placettes n'apparaissait non plus selon la classe d'altitude ( $p = 0,19$ ).

En revanche, une différence significative a été démontrée pour cette densité de régénération en fonction du type de placette. Les placettes à cavité de pic possédaient une plus forte densité que leur homologue témoin (moyennes = 10743 tiges/ha et 6983 tiges/ha, respectivement ; Fig. 9).

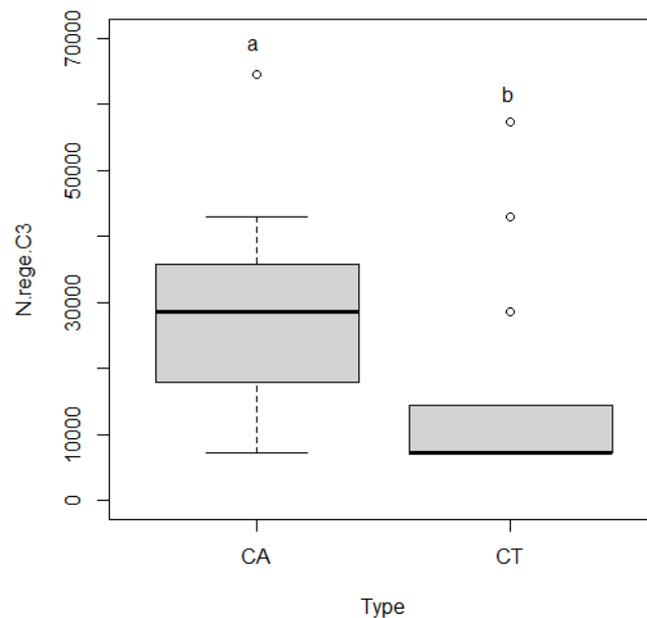


Figure 9 : Comparaison de la densité moyenne de régénération classe 3 en fonction du type de placettes (CA et CT). Ce graphique est basé sur un « zero inflated model ». Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la présence d'une différence significative entre les deux modalités de la variable.

Pour la densité de petits arbres à l'hectare (N.PBV.ha), les résultats montraient une différence significative à la fois entre les massifs, le type de placette et au niveau de l'interaction des deux. On observait des différences à la fois entre les massifs mais aussi entre les CA et les CT de deux d'entre eux (AIG et ECO). Tous les autres présentaient des CA et CT assez identiques (Fig. 10).

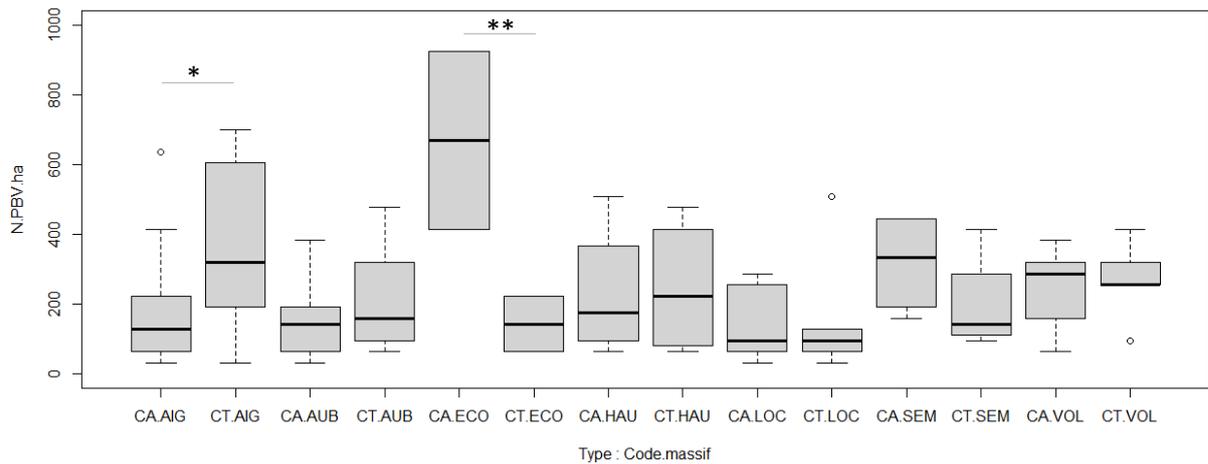


Figure 10 : Comparaison de la densité moyenne des petits arbres à l’hectare en fonction du code massif en interaction avec le type de placettes (CA et CT). Ce graphique est basé sur un modèle mixtes linéaire généralisé, de distribution d’erreur gaussienne avec des liens d’identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Les barres d’erreur représentent 95 % les intervalles de confiance et les étoiles indiquent une signification marginale du test de Tukey.

Les différences présentées ci-dessus se maintenaient avec le modèle de la densité de petits arbres en fonction de la classe d’altitude (Fig. 11).

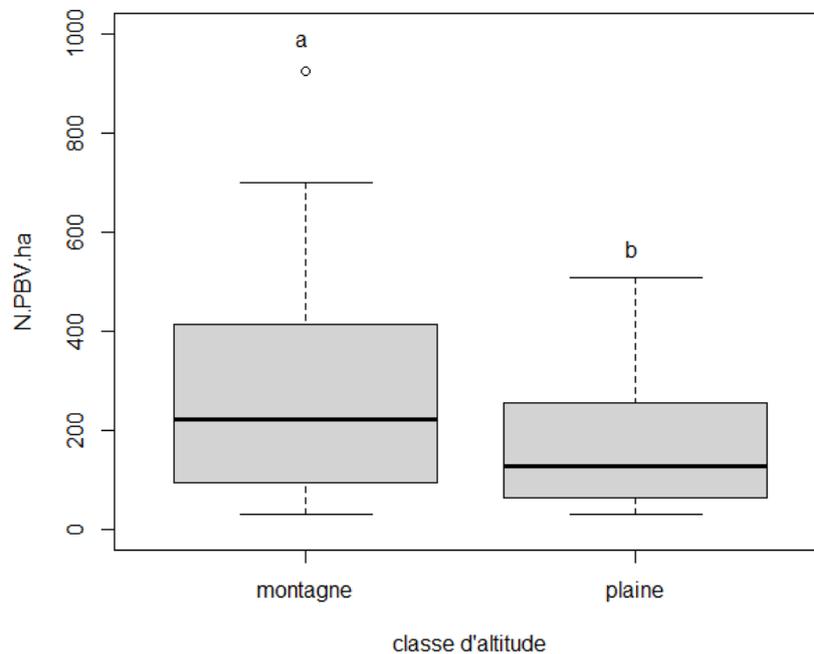


Figure 11 : Comparaison de la densité de petits arbres vivants à l’hectare estimés en fonction de la classe d’altitude (montagne vs. plaine). Ce graphique est basé sur un modèle mixtes linéaire généralisé, de distribution d’erreur gaussienne avec des liens d’identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent la présence de différence significative entre modalités.

Par conséquent, d'un point de vue global, la troisième hypothèse a été également réfutée au regard des données que nous possédons. La présence ou l'absence de cavité de pic ne semblait pas expliquer la densité de régénération ou la densité de petits arbres sur les placettes étudiées. Seule l'altitude pourrait être une variable jouant sur l'encombrement des sites.

#### 4. Hypothèse 4 : surface terrière du hêtre

Le calcul de la surface terrière du hêtre par rapport à la surface terrière totale des bois vivants peut fournir des informations sur la préférence des pics pour cette essence spécifique par rapport aux autres essences présentes dans la zone étudiée.

Certains massifs présentaient des différences significatives entre leur CA et leur CT. Il s'agissait de AUB, ECO, HAU, LOC et SEM. Les 2 autres massifs (AIG et VOL) présentaient des CA et CT semblables (Fig. 12).

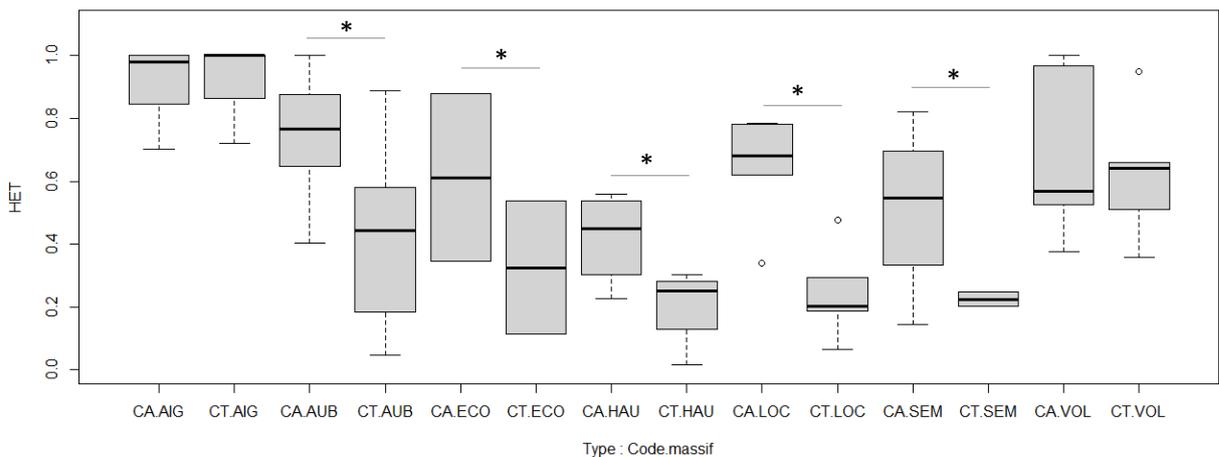


Figure 12 : Comparaison de la surface terrière du hêtre/surface terrière totale des bois vivants (HET) en fonction de l'interaction code massif et type de placette (CA/CT). Ce graphique est basé sur un modèle mixtes linéaire généralisé, de distribution d'erreur binomiale. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Les barres d'erreur représentent 95 % les intervalles de confiance et les étoiles indiquent une signification marginale du test de Tukey.

Néanmoins à l'échelle globale, en regardant les CA et les CT sans distinction de massifs, aucune différence significative n'apparaissait dans le modèle pour cette variable. Ainsi, seul le massif influençait sur la proportion de la surface terrière du hêtre.

Enfin en regroupant entre eux les massifs montagnards et ceux de plaine, aucune différence significative liée à l'altitude n'apparaissait ( $p= 0,14$ ). Cependant, la différence que l'on avait précédemment observée entre les CA et les CT apparaissait de nouveau, ainsi qu'une différence significative au niveau de l'interaction (Annexe 8).

Pour conclure, nous avons pu accepter cette dernière hypothèse selon laquelle sa surface terrière devrait être supérieure en placette à cavité de nidification qu'en placette témoin, et devrait également l'être même en altitude.

#### **b) Détection d'ADN fongiques dans des échantillons de cavités et bois morts.**

Les extractions d'ADNe total sur 87 échantillons ont permis d'extraire des concentrations satisfaisantes (de 5,72 à 197,45 ng ADN/ $\mu$ L mesurés au Nanodrop) pour 84 échantillons. Les 3 échantillons à faibles concentration d'ADNe (<5 ng ADN/ $\mu$ L) étaient extraits de bois et de terreaux de cavité, l'extraction sera tentée à nouveau à l'été 2023. Sur 84 ADNe, l'amplification de l'ITS fongique a été testée et considérée comme réussie lorsqu'elle avait produit des amplicons d'environ 450 pb avec une concentration d'au moins 320 ng ADN/ $\mu$ g d'amplicon (Annexe 3). L'amplification était réussie pour 71 ADNe (soit 84,5 % de succès) avec 84,1 % de succès pour les ADNe extraits de bois au sol et 76,9 % de succès pour les ADNe extraits de bois et terreau de cavité. Un succès d'amplification montrait que de l'ADN fongique était présent dans l'ADNe total extrait. Alors qu'un échec d'amplification de l'ITS peut être interprété comme une faible concentration d'ADN fongique dans l'ADNe total pouvant contenir d'autres ADN microbiens, végétaux et animaux. Cet échec pouvait aussi indiquer un ADN fongique très dégradé et ne permettant pas l'hybridation des amorces de PCR, ou la présence d'inhibiteurs de PCR comme des polyphénols.

Pour les ADNe sans amplification de l'ITS, des PCR seront retestées à l'été 2023. Pour les amplifications ITS réussies, les amplicons seront séquencés par séquençage à haut débit à la plate-forme Genotoul (INSA Toulouse) en 2023.

## **IV/ DISCUSSION**

Les cavités de pics noirs ont été retrouvées dans des environnements forestiers globalement similaires des placettes témoins choisies dans cette étude.

Dans ce contexte, nous discutons (a) des caractéristiques distinctives entre les placettes témoins et les placettes à cavité et entre les classes d'altitude (b) de la biodiversité fongique et (c) de l'influence des dendromicrohabitats ainsi que des actions en terminant par proposer des actions de gestion respectueuses de la biodiversité.

### **a) Comparaison avec la littérature hypothèse par hypothèse**

#### **1- Surface terrière**

Contrairement aux résultats trouvés dans la littérature, nous n'avons pas pu démontrer de différence de surface terrière moyenne des arbres vivants entre placettes appariés avec et sans cavité, et par conséquent montrer l'existence de différences de diamètres pouvant exister entre les arbres présents sur ces deux types de placettes.

Il était attendu cependant que la surface terrière et donc que les diamètres soient supérieurs en placettes à cavité du fait que les pics noirs privilégiaient les gros arbres pour y creuser leur cavité de nidification (Kosiński, 2006). À l'échelle du microhabitat, tous les arbres ne se prêtent pas de manière égale au creusement de cavités (Angelstam et Mikusiński, 1994 ; Stenberg, 1996 ; Martin *et al.*, 2004) et la taille minimale requise de l'arbre dépendrait de la taille du corps du pic noir (Conner *et al.*, 1975). Notre étude a précisé que même si les pics noirs sélectionnent souvent de grands arbres, la taille ne serait un critère absolu pour le choix d'un arbre de nidification.

Le fait que la surface terrière soit significativement plus élevée en montagne qu'en plaine était attendu, il s'explique en termes de foresterie avec une densité de fûts maintenue plus forte en forêts d'altitude (Paillet *et al.*, 2015).

La différence significative apparaissant pour le massif d'Auberive a déjà été mise en évidence dans le travail de Puverel *et al.* (2019) comparant plus localement les massifs d'Auberive et Loches. Le constat était concordant avec cette étude, la surface terrière moyenne étant

significativement plus élevée à Loches qu'à Auberive du fait d'une plus grande proportion de grands arbres à Loches. Cette différence pourrait alors s'expliquer par un mode de gestion différent sur le site d'Auberive par rapport aux autres. En effet, ce constat a déjà été mis en évidence dans les travaux de Paillet *et al.* (2015) où la surface terrière moyenne des bois était supérieure dans les forêts non exploitées que dans les forêts exploitées.

## 2- Arbres morts

Le volume moyen de bois mort à proximité des arbres à cavités n'était pas significativement différent des placettes témoins. La quantité d'arbres morts au sol n'étaient significativement pas différente en fonction des massifs. En revanche, la quantité de bois mort debout variait légèrement au sein des placettes témoins dans quelques massifs (ECO, SEM, et HAU ; Fig. 7). Cela suggère que l'altitude influencerait bel et bien le volume d'arbres morts debout au-delà de la surface terrière d'arbres vivants.

Ce volume variait considérablement, de nul (AUB, ECO et HAU) à 86,82 m<sup>3</sup> (SEM) pour les arbres morts au sol et de nul (AIG, ECO, LOC) à 169,38 m<sup>3</sup> (SEM) pour les arbres morts sur pied. L'estimation de ce volume pourrait être affinée par le calcul des densités et des volumes des différents types de bois morts (Paillet *et al.*, 2015). Cela permettrait par exemple de distinguer les volis\* des souches. En effet, lorsqu'un bois mort debout possède une hauteur inférieure à 1 m, il est classé en tant que « souche ». Il serait alors intéressant de mettre en lumière la prépondérance ou non des souches dans la densité et le volume moyen du bois mort debout.

Aussi, il aurait peut-être été intéressant de calculer le ratio entre le bois mort et le bois vivant pour tester des différences entre les placettes et vérifier d'une autre manière notre hypothèse sur le volume de bois mort.

La disponibilité du bois mort joue bel et bien un rôle sur la présence des pics noirs car il représente un substrat d'alimentation (Hondong, 2016 ; Khanaposhtani *et al.*, 2012 ; Mikusiński et Angelstam, 1997 ; Rolstad *et al.*, 1998). Nous n'avons pas pu démontrer ici si les sites d'alimentation et de nidification sont états spatialement disjoints, car la quantité de bois

mort ne variait pas en fonction de l'absence ou de la présence de cavité. L'habitat de nidification serait affecté par la couverture de feuillus et de bois, tandis que la proximité de parcelles d'habitat ouvert (prairies), de conifères et de bois mort permettrait d'augmenter les possibilités d'alimentation (Brambilla et Saporetti, 2014). En ce sens, il existerait bel et bien une séparation spatiale entre sites d'alimentation et de nidification, pouvant également provenir d'une stratégie bien particulière : se nourrir loin d'un arbre à cavité pourrait éviter que les prédateurs ne localisent le nid et diminuerait ainsi le risque de prédation (Cuisin (1967). Des peuplements forestiers variés au sein de paysages en mosaïques seraient alors essentiels pour répondre aux besoins de l'espèce.

A l'inverse, il serait également possible de suggérer que choisir des sites d'alimentation et de nidification proches pourrait être un avantage sélectif car cela réduirait le temps de recherche de nourriture.

La limite de nos résultats proviendrait peut-être du fait de notre approche avec une seule placette témoin appariée par placette à cavité, et peu de possibilités d'évaluer la quantité de bois mort à l'échelle du paysage ne nous a pas permis de détecter cette différence.

Il serait également dans la suite du projet de regarder plus spécifiquement les stades de décomposition du bois mort. En effet, la présence ou l'absence d'écorce ou de pourriture sur ce bois mort pourrait influencer la diversité des insectes et les champignons présents. De plus, plus le bois est pourri, plus celui-ci est mou et permettrait au pic de gagner du temps dans sa recherche de nourriture.

Le pic noir semble ainsi se comporter comme un opportuniste, choisissant principalement les sites d'alimentation en fonction des conditions forestières locales et de la disponibilité de la nourriture.

### 3- Encombrement

Une nouvelle fois, nos résultats vont à l'encontre la littérature. En effet, en regardant à nouveau les travaux de Puverel *et al.* (2019), il y est montré que les arbres à cavité avaient une première branche plus haute que les arbres témoins. Ainsi cela va dans le sens de

l'hypothèse où le sous-bois des placettes à cavité seraient moins encombré que les placettes témoins. Cela proviendrait du fait qu'en ayant un environnement moins encombré, le pic limiterait le risque de prédation. Cette hypothèse affine les études qui démontrent que les pics noirs préfèrent creuser des cavités dans des zones relativement ouvertes (Rolstad *et al.*, 2000 ; Saporetti *et al.*, 2016).

Or, selon les résultats obtenus la densité de régénération serait plus importante en placette à cavité qu'en placette contrôle et la densité de petits arbres à l'hectare de varierait pas selon le type de placette. L'hypothèse selon laquelle le pic privilégierait un environnement plus ouvert aux étages du sous-bois n'est donc pas démontré ici.

Aussi, une hypothèse alternative pourrait être proposée selon laquelle le pic ne choisirait pas son environnement à l'échelle de la parcelle ou du massif mais plutôt à l'échelle de l'arbre.

Dans notre cas, il est possible questionner le choix des variables. Toujours d'après l'étude de Puverel *et al.* (2019) la hauteur des cavités variait de  $7 \pm 0,5$  m à Auberive à  $13 \pm 0,6$  m à Loches. Les cavités de pics se trouvaient donc à des hauteurs assez élevées. La classe 3 de régénération n'était sûrement pas suffisamment haute (maximum 2 m ; observations personnelles) pour perturber le vol du pic et son accès à la cavité de nidification.

En considérant la surface terrière, on prendrait alors en compte la contribution relative de chaque arbre à l'encombrement global. Ainsi, la surface terrière apparaît donc comme un bon indicateur de la fermeture du couvert par les houppiers. Il serait alors possible de se pencher sur la surface terrière des petits arbres plutôt que sur leur densité pour prendre en compte la variabilité de la taille des arbres, qui reste assez importante y compris chez les arbres de petit diamètre.

#### 4- [Surface terrière du hêtre par rapport à la surface terrière totale du bois vivant](#)

La proportion de surface terrière du hêtre étant supérieure en placette à cavité qu'en placette témoins, notre dernière hypothèse est acceptée. Cette essence est donc privilégiée pour le creusement des cavités de nidification par les pics noirs.

Les essences de feuillus qui ont une écorce lisse, comme c'est le cas du hêtre, seraient sélectionnées afin de prévenir la prédation de la martre (principal prédateur en France métropolitaine) qui aurait plus de mal à grimper ces arbres (Kosinski *et al.*, 2007; Olano *et al.*, 2015). Également, l'espèce éviterait les résineux de montagne pour creuser ses cavités car étant trop encombrés de branches basses, ce qui faciliterait l'accès aux cavités par les prédateurs (Bocca *et al.*, 2007).

De plus, l'espèce sélectionnerait, dans les Alpes, les peuplements de hêtre du fait de la facilité d'excavation de cette essence et de l'occurrence d'arbres suffisamment gros étant donné que les autres peuplements sont dans cette région bien plus exploités ou denses (De Rosa *et al.*, 2016).

Même s'il semble favoriser le creusement des cavités dans les feuillus tel que le hêtre, le pic noir peut néanmoins sélectionner d'autres essences. C'est peut-être pour cela que d'en certains massifs, nous ne retrouvons pas de différence de proportion de surface terrière de hêtre entre placettes avec ou sans cavité. Un résultat similaire a été observé en Scandinavie où l'espèce creuse davantage ses cavités dans les résineux comme le pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) (Pirovano & Zecca, 2014).

Enfin, il n'est pas possible par cette étude de statuer plus précisément sur l'effet de la diversité d'essences forestières sur le creusement de cavités de nidification par le pic noir, étant donné que nous n'avons pas calculé d'indice de composition forestière. Aussi, des facteurs limitant peuvent affecter notre jeu de données en ne discriminant peut-être pas de manière assez fine les différents types de peuplements forestiers.

## 5- [Autres variables](#)

D'autres variables, non prise en considération dans l'intervalle de temps du stage, pourrait être intéressantes à explorer. C'est notamment le cas des précipitations. En effet, d'après les travaux de Cabrera *et al.*, (2022) les pics privilégieraient un environnement où les précipitations annuelles sont élevées. Ce constat rejoint celui de Villard (1998) indiquant que les pics de Guadeloupe choisissaient un environnement pluvieux. En effet, même s'ils sont présents sur l'ensemble de l'île, la majeure partie des couples nicherait en Basse-Terre plutôt

qu'en Grande-Terre où les conditions climatiques sont plus sèches. D'autre part, un environnement humide pourrait favoriser le développement de champignons dégradant le bois et le rendant moins résistant. Ainsi, cet environnement serait favorable à l'excavation des troncs.

Cette variable de précipitation a été approchée avec la notion de classe d'altitude. En effet, à mesure que l'altitude augmente, les conditions météorologiques et climatiques changent, influençant la quantité de précipitations (Tableau 3).

Tableau 3 : Principales caractéristiques par massif de la base de données de présence de cavités de pic noir de l'étude de Cabrera *et al.*, (2022).

Massif	Nombre de cavité	Altitude (m)		Température annuelle (°C)		Précipitations annuelles (mm)		Pente (%)	
		Min/Max	Moyenne	Min/Max	Moyenne	Min/Max	Moyenne	Min/Max	Moyenne
Aigoual	1819	796/1398	1218	5,6/10,2	7,3	774/979	900,9	1,1/51,4	16,4
Auberive	194	360/504	440	8,7/9,6	9,1	802/911	853	0/31,2	7,8
Causses	251	821/1400	1122	5,9/10,2	7,8	769/966	864,7	1,2/48,1	22,5
Ecouges	1	1218	1218	5,7	5,7	1187	1187	16,4	16,4
Loches	111	91/141	124	11/11,3	11,1	690/716	703,8	0/9,7	1,9
Mont Lozère	14	941/1187	1107	6,8/8,7	7,5	787/898	857,8	10/33,3	17,2
Semnoz	37	1017/1500	1353	4,6/7,5	5,6	1154/1430	1335	4,3/28	12,2
Vallées Cévenoles	10	919/1248	1156	7,1/9,3	7,8	790/881	850,3	7,7/25,6	17,3
Volcans	252	685/1154	935	6,5/8,7	7,6	765/912	841	0,9/40,7	10,3

Le pic noir semble donc réagir à des variables aux échelles plus larges du massif et du paysage extra-forestier pour le creusement de ses cavités (Tobalske & Tobalske, 1999; Dorresteyn *et al.*, 2013; Gil-Tena *et al.*, 2013; Brambilla & Saporetti, 2014; Olano, 2015; Saporetti *et al.*, 2016).

Même si le pic noir européen a été décrit comme une espèce originaire des forêts de montagnes, celle-ci est bien établie sur ce continent et possède une répartition assez répandue. En France, on a observé une expansion du pic noir vers les régions de plaine et les zones atlantiques depuis le début des années 1960, bien que la raison exacte de ce phénomène reste encore inexpiquée (Paillet, communication personnelle). Une hypothèse avancée est que cela pourrait être lié à des changements dans les pratiques de gestion forestière.

## b) Diversité fongique

Même si nous n'avons pas encore les résultats de la détection d'ADN fongiques dans des échantillons de cavités et de bois morts, des pistes de réflexion peuvent être abordées et discutées. En effet, les écosystèmes forestiers représentent les milieux les plus diversifiés en espèces fongiques. Il est alors possible de retrouver les champignons lignicoles qui sont des acteurs majeurs de la décomposition de la matière organique du bois mort. En effet, ce sont des champignons des champignons saproxylique digérant les cellules du bois sans en détruire intégralement les parois. D'après Kotiranta (2001), 20 % des espèces lignicoles seraient potentiellement menacées. La réduction générale du volume de bois mort, résultant des activités humaines dans les écosystèmes forestiers tempérés, joue un rôle central parmi les facteurs pouvant contribuer à la régression des champignons lignicoles (Richard *et al.*, 2005).

Il est donc possible de s'attendre à des différences en termes de biodiversité fongique entre les sites avec la présence de pics noirs et les sites sans pic. En effet, l'activité d'alimentation de l'oiseau entraînerait des modifications dans les microhabitats saproxyliques, pouvant influencer la composition et la diversité des communautés fongiques associées. En perçant des trous dans les arbres morts à la recherche d'insectes, ils peuvent modifier la structure du bois, créer des fissures et des ouvertures. Ces modifications pourraient favoriser ou restreindre la croissance de certains champignons saproxyliques et donc influencer la biodiversité fongique. Par exemple, certaines espèces de champignons peuvent être favorisées par les pics noirs en raison de l'amélioration de la disponibilité des ressources ou des conditions microclimatiques créées par leur activité. Par exemple, le champignon *Porodaedalea pini*, a pu être retrouvé fréquemment dans des cavités de pic à face blanche (*Leuconotopicus borealis* ; Jusino *et al.*, 2015).

Aussi, plus les arbres sont grands plus ceux-ci seront généralement vieux et donc potentiellement plus décomposés et plus mous pour l'excavation. La présence de la pourriture fongique du cœur devrait donc être supérieure dans les échantillons de terreaux que dans les échantillons de bois mort au sol.

La limite de notre étude se trouverait dans le fait que la biodiversité fongique du dendromicrohabitat « cavité » seul a été prélevée. De plus, les cavités abritent des ADN qui ne sont pas nécessairement riches en ADN fongique. Il aurait peut-être fallu prendre en compte les autres DMHs pour avoir un aperçu plus global de la biodiversité fongique de la placette entière.

C'est pourquoi l'aspect diversité fongique et métabarcoding sera primordiale pour la suite de ce projet. Le séquençage des communautés fongiques permettra d'explorer la spécificité et les déterminants liés au peuplement de la diversité de la fonge des cavités.

### **c) Dendromicrohabitats**

Les dendromicrohabitats sont des structures importantes pour la biodiversité des forêts : si un peuplement est diversifié en DMHs alors les besoins spécifiques de plus d'espèces pourraient être satisfaits, multipliant les fonctions écologiques comme la pollinisation ou la décomposition du bois sont assurées. Une forte richesse en espèces à fonctions écologiques variées signifie donc une bonne santé de l'écosystème forestier. Enfin, en se décomposant ils s'incorporent au sol de la forêt par le biais des nutriments et contribuent ainsi tout au long de leur vie au maintien d'importantes fonctions écologiques.

Ainsi, plus ces espèces sont nombreuses, plus elles peuvent assurer des fonctions écologiques variées (pollinisation, décomposition du bois, régulation des espèces à forte variation de population). Si plusieurs espèces exercent la même « fonction », il en résulte une sorte d'assurance par redondance fonctionnelle partielle ou totale. Par conséquent, si une espèce venait à disparaître, une autre pourrait la remplacer et reprendre sa fonction (Yachi et Loreau 1999). Il s'agit là d'un véritable avantage pour le bon fonctionnement de l'écosystème forestier de disposer d'un nombre d'espèces aussi grand que possible, même d'espèces très discrètes et les DMHs sont un des moyens de l'assurer.

Afin de mieux protéger des espèces dépendantes des DMHs, ces derniers devraient être intégrés aux politiques de gestion forestière, car ils offrent aux gestionnaires un outil pratique pour évaluer la biodiversité. Il est donc crucial que les gestionnaires engagés dans une gestion durable et axée sur la biodiversité identifient et préservent ces arbres-habitats.

Malheureusement, le développement des pratiques de gestion forestière modernes et l'abandon des usages traditionnels de la forêt entraînent le déclin de ces arbres, malgré leur importance culturelle et écologique reconnue.

Avec des mesures et une gestion appropriée, il est tout à fait possible de conserver et promouvoir la biodiversité forestière. Un rôle particulier revient aux vieux et aux gros arbres présentant des singularités morphologiques permettant le développement de microhabitats.

Parmi quelques initiatives encourageantes, il est possible de citer l'*Ancient Tree Forum* en Angleterre. Depuis plus de 20 ans les arbres dits vétérans sont inventoriés dans tout le pays avec l'aide de la population afin de mieux connaître et promouvoir ces arbres remarquables. En 2020, une application allemande, nommée HabiApp, est sortie et permet de recenser les arbres-habitats par position GPS selon plusieurs caractéristiques (espèce, diamètre, ...) ainsi que d'importer des photos pour décrire son observation. Ces données sont précieuses et peuvent servir de base de données pour une planification forestière sur le long terme et ainsi aider à évaluer la valeur écologique de ces arbres-habitats.

En Guadeloupe également, à la suite des dernières études sur leur population et leur habitat réalisées en 2007, les ornithologues ont préconisé la création (reboisement ciblé) ou le maintien de corridors végétaux essentiels au centre de l'île et la pose de tronçons de cocotiers morts sur la Grande-Terre comme nichoirs artificiels.

## **V/ CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Les oiseaux forestiers jouent un rôle fonctionnel essentiel dans les écosystèmes forestiers. Selon Mikusinski et Angelstam (1998), le groupe des pics est connu comme étant particulièrement exigeant dans ses besoins écologiques en comparaison à d'autres oiseaux des forêts européennes. En effet, ils dépendent des forêts de feuillus ou de conifères possédant certains critères de maturité (grands et vieux arbres, du bois mort et dendromicrohabitats). Ces caractéristiques étaient dominantes dans le paysage européen original (Angelstam et Mikusinski, 1994), mais ont souvent été altérées ou détruites ces dernières années par les activités humaines.

Le pic noir est à la fois une espèce ingénieure et parapluie : la présence de ses cavités étant cruciale pour l'existence d'autres groupes d'espèces (petits mammifères, chouettes, chauve-souris, insectes, etc.) vivant dans des forêts naturelles (Jones *et al.*, 1994 ; Remm et Lõhmus, 2011).

Le pic noir de Guadeloupe, espèce endémique et menacée, présente des caractéristiques uniques qui en font un symbole de la biodiversité de l'île. Sa survie est étroitement liée à la préservation de son habitat, les forêts tropicales humides, qui sont confrontées à des pressions croissantes dues à l'urbanisation, à la déforestation et aux changements climatiques. Des efforts de conservation sont donc nécessaires pour protéger cet oiseau et maintenir l'équilibre écologique de la Guadeloupe. Le pic noir européen, fait également face à des défis similaires en termes de conservation. La fragmentation des habitats, la diminution des ressources alimentaires et la perte de vieux arbres creux, nécessaires à la nidification, menacent sa survie. Il faut aussi souligner l'importance de la coopération internationale dans la conservation des pics noirs. Les échanges de connaissances, les programmes de recherche conjoints et les initiatives de coopération transfrontalière peuvent contribuer à une meilleure compréhension de ces espèces et à des actions de conservation plus efficaces.

Ainsi, au regard de ces éléments, des mesures peuvent être prises afin de favoriser la présence de cavités de pic noir. Tout d'abord, la conservation de peuplements mixtes ne serait pas seulement bénéfique au pic noir et à toutes les espèces qui dépendent de ses cavités, mais également bénéfique dans la lutte contre le changement global. En effet, en favorisant une pluralité d'essences, le forestier s'assure de maintenir une diversité génétique et spécifique et donc de prémunir la forêt des bioagresseurs et des stress abiotiques qui ciblent souvent uniquement une seule espèce voire un seul génotype au sein d'une espèce (Legay *et al.*, 2008).

Dans cette étude, peu d'hypothèses ont été acceptées et peu de différences significatives entre les placettes contrôle et les placettes à cavités ont été démontrées. Réaliser une étude plus large sur les paysages « forestiers » environnants serait alors intéressant (exemple, déterminer le bois mort dans des surfaces autour des placettes par Lidar).

A ce titre, il est important de promouvoir une plus grande maturité des peuplements forestiers, un volume de bois mort plus élevé et une hétérogénéité dans la structure verticale afin que toutes les strates soient représentées (Gosselin & Laroussinie., 2004). Le rôle du bois mort dans le fonctionnement des écosystèmes forestiers est largement accepté par la communauté scientifique (Vallauri et Blondel, 2002). En ce sens, la mise en place progressive d'îlots de sénescence, dont l'objectif serait de conserver des espèces inféodées aux vieux peuplements, apparaît comme une bonne mesure de gestion. Néanmoins, l'une des limites de ce concept est l'absence de connexions entre les îlots. En effet, les aspects de fragmentation et de connectivité paysagère pourraient être soulevés car ces phénomènes semblent, à l'heure actuelle, plus que jamais impacter les forêts à travers le globe (Andronache *et al.*, 2019 ; FAO & UNEP, 2020) et auquel le pic noir semble sensible (Cabrera *et al.*, 2019). Cela souligne ainsi la nécessité de conserver de grands espaces forestiers qui semblent être une des caractéristiques majeures influençant la présence et l'abondance de nombreux oiseaux forestiers tels que le pic noir (Robinson *et al.*, 1995; Villard *et al.*, 1999). Ce continuum de grandes entités forestières pourvoit en effet des fonctionnalités écologiques essentielles pour le maintien de la biodiversité forestière et de ses cycles biologiques.

Concernant la suite de ce projet, le séquençage des communautés fongiques permettra d'explorer la spécificité et les déterminants liés au peuplement de la diversité de la fonge des cavités. De plus, la biodiversité de plusieurs taxons opportunistes sera également évaluée pour voir dans quelle mesure le DMH « cavité de pic noir » augmenterait ou non la biodiversité des parcelles forestières associées. La pose de capteur écoacoustiques ainsi que la mesure de placette à colonie d'abeilles dans des cavités est prévue à l'automne 2023.

## Références bibliographiques

- Andronache, I., Marin, M., Fischer, R., Ahammer, H., Radulovic, M., Ciobotaru, A. M., & Peptenatu, D. (2019). Dynamics of forest fragmentation and connectivity using particle and fractal analysis. *Scientific reports*, 9(1), 12228.
- Angelstam, P., & Mikusiński, G. (1994, January). Woodpecker assemblages in natural and managed boreal and hemiboreal forest—a review. In *Annales Zoologici Fennici* (pp. 157-172). Finnish Zoological Publishing Board, formed by the Finnish Academy of Sciences, Societas Biologica Fennica Vanamo, Societas pro Fauna et Flora Fennica, and Societas Scientiarum Fennica.
- Basile, M., Asbeck, T., Jonker, M., Knuff, A. K., Bauhus, J., Braunisch, V., Mikusiński, G., & Storch, I. (2020). What do tree-related microhabitats tell us about the abundance of forest-dwelling bats, birds, and insects?. *Journal of Environmental Management*, 264, 110401.
- Brambilla, M., & Saporetti, F. (2014). Modelling distribution of habitats required for different uses by the same species: implications for conservation at the regional scale. *Biological Conservation*, 174, 39-46.
- Brooks, M. E., Kristensen, K., van Benthem, K.J., Magnusson, A., Berg, C.W., Nielsen, A., Skaug, H.J., Machler, M., & Bolker, B.M. (2017). glmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R journal*, 9(2), 378-400.
- Bütler, R., Lachat, T., Larrieu, L., Paillet, Y., (2013). Arbres-habitats : éléments clés de la biodiversité forestière. Dans : Kraus, D., Krumm, F. (Eds.), *Approches intégratives comme opportunité pour la conservation de la biodiversité forestière*. Institut forestier européen, pp. 84–91.
- Cabrera, C., Monnet, J. M., Boutteaux, J. J., Doutau, B., Denis, P., & Paillet, Y. (2022). Over the hills and far away: landscape factors affecting cavity digging by the Black woodpecker (*Dryocopus martius*, L. 1758). *bioRxiv*, 2022-06.
- Carnino, N. (2009). État de conservation des habitats d'intérêt communautaire à l'échelle du site-Méthode d'évaluation des habitats forestiers. *Muséum National d'Histoire Naturelle/Office National des Forêts*, 49 pp.
- Chevassus-Au-Louis, B., & Pirard, R. (2011). Les services écosystémiques des forêts et leur rémunération éventuelle. *Revue forestière française*, 63(5), 579-599.
- Cockle, K. L., Martin, K., & Wesolowski, T. (2011). Woodpeckers, decay, and the future of cavity-nesting vertebrate communities worldwide. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(7), 377-382.

- Colmant, L. (2003). Population, Sites de nidification et arbres à loge du Pic noir *Dryocopus martius* dans la région du parc naturel Viroin-Hermeton (Wallonie, Belgique). *Alauda* (Dijon), 71(2), 145-157.
- Conner, R. N., Hooper, R. G., Crawford, H. S., & Mosby, H. S. (1975). Woodpecker nesting habitat in cut and uncut woodlands in Virginia. *The Journal of Wildlife Management*, 144-150.
- Cuisin, M. (1967). L'activité du Pic Noir (*Dryocopus martius*) en forêt. *Revue forestière française*, (1), 1-12.
- Cuisin, M. (1966). Note sur le régime alimentaire du Pic Noir (*Dryocopus martius* L.) dans le sud du département de l'Aube. *Revue forestière française*, (12), 796-800.
- Cuisin, M. (1988). Le pic noir dans les biocénoses forestières. *Oiseau et la Revue Française d'Ornithologie*, 58(3), 172-274.
- Dorresteijn, I., Hartel, T., Hanspach, J., von Wehrden, H., & Fischer, J. (2013). The conservation value of traditional rural landscapes: the case of woodpeckers in Transylvania, Romania. *PLoS one*, 8(6), e65236.
- FAO & UNEP (2020). *The State of the World's Forests 2020*. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca8642en>.
- Gil-Tena, A., Brotons, L., Fortin, M. J., Burel, F., & Saura, S. (2013). Assessing the role of landscape connectivity in recent woodpecker range expansion in Mediterranean Europe: forest management implications. *European Journal of Forest Research*, 132, 181-194.
- Gil-Tena A., Saura S., Brotons L., (2007). Effects of forest composition and structure on bird species richness in a Mediterranean context: Implications for forest ecosystem management, *Forest Ecology and Management*, 242 (2-3), 470-476.
- Gorman, G. (2014). *Woodpeckers of the world: the complete guide*. A&C Black.
- Gosselin, M., & Laroussinie, O. (2004). Biodiversité et gestion forestière. *Connaître pour préserver. Synthèse bibliographique*, (20).
- Hondong, H. (2016). Does introduction of conifers in temperate broadleaved forests matter for black woodpeckers?. *Forstarchiv*, 87(5), 152-161.
- Hothorn, T., Bretz, F., & Westfall, P. (2008). Simultaneous Inference in General Parametric Models. In *Biometrical Journal* (Vol. 50, Issue 3, pp. 346–363).
- IPBES (2019): Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services. S. Díaz, J. Settele, E. S. Brondízio E.S., H. T. Ngo, M. Guèze, J. Agard, A. Arneeth, P. Balvanera, K. A. Brauman, S. H. M. Butchart, K. M. A. Chan, L. A. Garibaldi, K. Ichii, J. Liu, S. M. Subramanian, G. F. Midgley, P. Miloslavich, Z. Molnár, D. Obura, A. Pfaff, S. Polasky,

- A. Purvis, J. Razzaque, B. Reyers, R. Roy Chowdhury, Y. J. Shin, I. J. Visseren-Hamakers, K. J. Willis, and C. N. Zayas (eds.). IPBES secretariat, Bonn, Germany. 56 pages.
- Jones, C.G., Lawton, J.H., Shachak, M., (1994). Organisms as Ecosystem Engineers. *Oikos* 69, 373–386.
  - Jusino, M. A., Lindner, D. L., Banik, M. T., & Walters, J. R. (2015). Heart rot hotel: fungal communities in red-cockaded woodpecker excavations. *Fungal Ecology*, 14, 33-43.
  - Khanaposhtani, M. G., Najafabadi, M. S., Kaboli, M., Farashi, A., & Spiering, D. (2012). Habitat requirements of the Black Woodpecker, *Dryocopus martius*, in Hyrcanian forests, Iran: (Aves: Picidae). *Zoology in the Middle East*, 55(1), 19-25.
  - Kosinski, Z., & Kempa, M. (2007). Density, distribution and nest-sites of woodpeckers (Picidae) in a managed forest of Western Poland. *Polish Journal of Ecology*, 55(3), 519.
  - Kotiranta, H. (2001, June). The threatened and near-threatened Aphylophorales of Finland. In BRITISH MYCOLOGICAL SOCIETY SYMPOSIUM SERIES (Vol. 22, pp. 177-181).
  - Larrieu, L. (2018). Les attributs caractéristiques des « vieilles forêts »: zoom sur les dendromicrohabitats. *In: Journée d'étude 2018 du Groupe Forêt des Réserves Naturelles de France - Parcs Nationaux*, 28 November 2018 (Agos-Vidalos, France).
  - Legay, M., Cordonnier, T., & Dhote, J. F. (2008). Des forêts mélangées pour composer avec les changements climatiques. *Revue forestière française*, 60(2), 181-190.
  - Legrand, P., & Bartoli, M. (2005). Des pics et des arbres. *Revue forestière française*, 2005, 57 (6), 513-524.
  - Maciejewski, L., 2016. État de conservation des habitats forestiers d'intérêt communautaire, Évaluation à l'échelle du site Natura 2000, Version 2. Tomes 1 et 2. Mars 2016. Rapport SPN 2016-75, Service du patrimoine naturel, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris. 82 p. + 62 p. (+synthèse en anglais)
  - Martin, K., Aitken, K. E., & Wiebe, K. L. (2004). Nest sites and nest webs for cavity-nesting communities in interior British Columbia, Canada: nest characteristics and niche partitioning. *The condor*, 106(1), 5-19.
  - Martin, K., & Eadie, J. M. (1999). Nest webs: a community-wide approach to the management and conservation of cavity-nesting forest birds. *Forest Ecology and Management*, 115(2-3), 243-257.
  - M.E.A. (2005). A Report of the Millennium Ecosystem Assessment. *Ecosystems and Human Well-Being*. Island Press, Washington DC.
  - Mikusinski, G. (1997). Winter foraging of the Black Woodpecker *Dryocopus martius* in managed forest in south-central Sweden. *Ornis fennica*, 74, 161-166.

- Mikusiński, G., & Angelstam, P. (1998). Economic geography, forest distribution, and woodpecker diversity in central Europe. *Conservation Biology*, 12(1), 200-208.
- Mikusiński, G. (2006). Woodpeckers: distribution, conservation, and research in a global perspective. *In: Annales Zoologici Fennici*, 86-95. Finnish Zoological and Botanical Publishing Board.
- Mikusiński, G., & Angelstam, P. (1997). European woodpeckers and anthropogenic habitat change. *Die Vogelwelt* 118, 1-7.
- Olano, M., Aierbe, T., Beñaran, H., Hurtado, R., Ugarte, J., Urruzola, A., & Fernández-García, J. M. (2015). Black woodpecker *Dryocopus martius* (L., 1758) distribution, abundance, habitat use and breeding performance in a recently colonized region in SW Europe. *Munibe Cienc. Nat.*, 63, 49-71.
- Puverel, C., Abourachid, A., Böhmer, C., Leban, J. M., Svoboda, M., & Paillet, Y. (2019). This is my spot: What are the characteristics of the trees excavated by the Black Woodpecker? A case study in two managed French forests. *Forest Ecology and Management*, 453, 117621.
- Remm, J., & Löhmus, A. (2011). Tree cavities in forests—the broad distribution pattern of a keystone structure for biodiversity. *Forest Ecology and Management*, 262(4), 579-585.
- Richard, F., Corriol, G., Moreau, P. A., Selosse, M. A., & Gardes, M. (2005). Conservation des champignons saproxyliques en France: perspectives pour la gestion forestiere. *Bois mort a cavité, une clé pour les forêts vivantes*, Tec&Doc, Lavoisier, Paris, 157-164.
- Robinson, S. K., Thompson, F. R., Donovan, T. M., Whitehead, D. R., & Faaborg, J. (1995). Regional Forest Fragmentation and the Nesting Success of Migratory Birds. *Science*, 267(5206), 1987–1990
- Rolstad, J., Majewski, P., & Rolstad, E. (1998). Black Woodpecker use of habitats and feeding substrates in a managed Scandinavian forest. *The Journal of wildlife management*, 11-23.
- Rolstad, J., Rolstad, E., & Sæteren, Ø. (2000). Black woodpecker nest sites: characteristics, selection, and reproductive success. *The Journal of wildlife management*, 1053-1066.
- Réserves Naturelles de France (2012). Notice d'utilisation du protocole de suivi des espaces forestiers.
- RStudio Team (2020). Rstudio: Integrated Development for R. Rstudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Saporetto, F., Colaone, S., Guenzani, W., & Zarbo, T. (2016). Nest-site characteristics and breeding biology of the Black Woodpecker in north-western Lombardy, Italy. *Rivista Italiana di Ornitologia*, 86(1), 39-48.
- Tobalske, C., & Tobalske, B. W. (1999). Using atlas data to model the distribution of woodpecker species in the Jura, France. *The Condor*, 101(3), 472-483.

- UICN Comité français, OFB & MNHN (2021). La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitres Faune de Guadeloupe. Paris, France.
- UICN France (2014). La Liste rouge des écosystèmes en France. Habitats forestiers de France métropolitaine – Bilan de l'exercice d'application et préconisations. UICN, 25 pp.
- Vallauri, D., André, J., & Blondel, J. (2002). Le bois mort, un attribut vital de la biodiversité de la forêt naturelle, une lacune des forêts gérées, Bois morts et a cavités- Une clé pour des forêts vivantes. Chambéry, France: WWF France.
- Villard, P., & Rousteau, A. (1998). Habitats, density, population size, and the future of the Guadeloupe woodpecker (*Melanerpes herminieri*). *Ornitologia Neotropical*, 9, 121-128.
- Villard, M.-A., Trzcinski, M. K., & Merriam, G. (1999). Fragmentation Effects on Forest Birds: Relative Influence of Woodland Cover and Configuration on Landscape Occupancy. *Conservation Biology*, 13(4), 774–783.
- Wesolowski, T. (2011). “Lifespan” of woodpecker-made holes in a primeval temperate forest: A thirty year study. *Forest Ecology and Management*, 262(9), 1846-1852.
- Yachi, S., & Loreau, M. (1999). Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: the insurance hypothesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(4), 1463-1468.
- Yu, Y., Yang, Q., Petropoulos, E., & Zhu, T. (2022). ITS3/ITS4 outperforms other ITS region and 18S rRNA gene primer sets for amplicon sequencing of soil fungi. *European Journal of Soil Science*, 2022, vol. 73, no 6, p. e13329.
- Zuur, A. F., Ieno, E. N., & Smith, G. M. (2007). *Analysing ecological data*. Springer.

## Webographie

- Parc National de la Guadeloupe (2019) : <https://www.guadeloupe-parcnational.fr/fr/des-connaissances/les-missions-scientifiques/lactualite-scientifique/especes-exotiques-envahissantes>. Consulté en juin 2023.
- DREAL Auvergne-Rhône-Alpes (2021) : <https://www.auvergne-rhone-alpes.developpement-durable.gouv.fr/les-especes-determinantes-des-znieff-a19735.html>. Consulté en juin 2023.

## ANNEXES

### Annexe 1 : tableau des Stades de décomposition du bois mort, d'après le protocole PSDRF.

#### Ecorce

1. Présente sur tout le billon
2. Présente sur plus de 50% de la surface
3. Présente sur moins de 50% de la surface
4. Absente du billon

#### Pourriture du bois

1. Dur ou non altéré
2. Pourriture <1/4 du diamètre
3. Pourriture entre 1/4 et 1/2 du diamètre
4. Pourriture entre 1/2 et 3/4 du diamètre
5. Pourriture supérieure à 3/4.

### Annexe 2 : protocole d'extraction du kit DNeasy PowerSoil Pro (QIAGEN)

#### Protocol: Experienced User

##### Important notes before starting

- Ensure that the PowerBead Pro Tubes rotate freely in the centrifuge without rubbing.
- If Solution CD3 has precipitated, heat at 60°C until precipitate dissolves.
- Perform all centrifugation steps at room temperature (15–25°C).

##### Procedure

1. Spin the PowerBead Pro Tube briefly to ensure that the beads have settled at the bottom. Add up to 250 mg of soil and 800 µl of Solution CD1. Vortex briefly to mix.
2. Secure the PowerBead Pro Tube horizontally on a Vortex Adapter for 1.5–2 ml tubes (cat. no. 13000-V1-24). Vortex at maximum speed for 10 min.  
**Note:** If using the Vortex Adapter for more than 12 preps simultaneously, increase the vortexing time by 5–10 min.  
**Note:** For alternative ways to homogenize samples, see the detailed protocol on page 13–14.
3. Centrifuge the PowerBead Pro Tube at 15,000 x g for 1 min.
4. Transfer the supernatant to a clean 2 ml Microcentrifuge Tube (provided).  
**Note:** Expect 500–600 µl. The supernatant may still contain some soil particles.
5. Add 200 µl of Solution CD2 and vortex for 5 s.
6. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min. Avoiding the pellet, transfer up to 700 µl of supernatant to a clean 2 ml Microcentrifuge Tube (provided).  
**Note:** Expect 500–600 µl.
7. Add 600 µl of Solution CD3 and vortex for 5 s.
8. Load 650 µl of lysate to an MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x g for 1 min.
9. Discard the flow-through and repeat step 8 to ensure that all of the lysate has passed through the MB Spin Column.

10. Carefully place the MB Spin Column into a clean 2 ml Collection Tube (provided). Avoid splashing any flow-through onto the MB Spin Column.
  11. Add 500  $\mu$ l of Solution EA to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x *g* for 1 min.
  12. Discard the flow-through and place the MB Spin Column back into the same 2 ml Collection Tube.
  13. Add 500  $\mu$ l of Solution C5 to the MB Spin Column. Centrifuge at 15,000 x *g* for 1 min.
  14. Discard the flow-through and place the MB Spin Column into a new 2 ml Collection Tube (provided).
  15. Centrifuge at up to 16,000 x *g* for 2 min. Carefully place the MB Spin Column into a new 1.5 ml Elution Tube (provided).
  16. Add 50–100  $\mu$ l of Solution C6 to the center of the white filter membrane.
  17. Centrifuge at 15,000 x *g* for 1 min. Discard the MB Spin Column. The DNA is now ready for downstream applications.
- Note:** We recommend storing the DNA frozen (–30 to –15°C or –90 to –65°C) as Solution C6 does not contain EDTA. To concentrate DNA, refer to the Troubleshooting Guide.

### **Annexe 3** : protocole d'amplification par PCR de l'ITS fongique sur ADNe total

#### Mix de réactifs pour l'amplification, par échantillon :

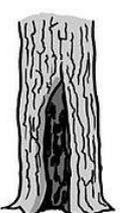
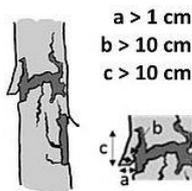
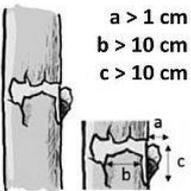
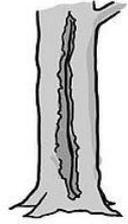
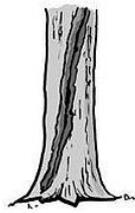
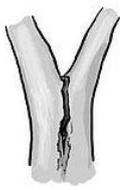
Buffer de réaction PCR 5X GoTaq® Promega :	4 $\mu$ L
dNTP (désoxynucléosides triphosphate) 10 $\mu$ M :	0,4 $\mu$ L
Amorce forward « ITS3 » :	1 $\mu$ L
Amorce forward « ITS4 » :	1 $\mu$ L
Taq polymérase GoTaq® Promega :	0,1 $\mu$ L
ADNe 5 ng/ $\mu$ L :	5 $\mu$ L
H <sub>2</sub> O qualité PCR :	quantité suffisante pour 22 $\mu$ L

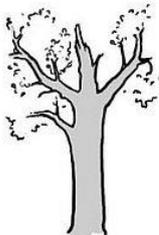
#### Programme d'amplification PCR sur Mastercycler® nexus Eppendorf :

Dénaturation	Dénaturation	Hybridation des amorces	Élongation	Élongation finale
95°C	95°C	T <sub>m</sub> = 58°C	72°C	72°C
5 min	30 s	60 s	30 s	5 min
		<b>x 40 cycles</b>		

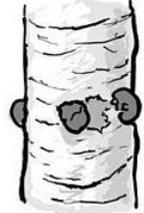


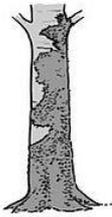
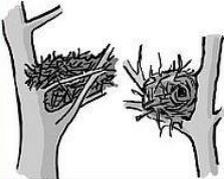
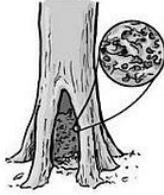
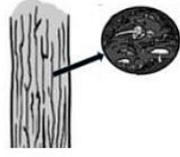
**Annexe 4** : Kraus, D., Büttler, R., Krumm, F., Lachat, T., Larrieu, L., Mergner, U., Paillet, Y., Rydkvist, T., Schuck, A., and Winter, S., 2016. Catalogue des dendromicrohabitats – Liste de référence pour les inventaires de terrain. Integrate+ Document technique 13. 16 p.

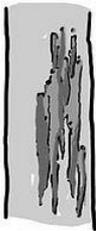
		∅ Diamètre; † Profondeur; □ Surface; L Longueur; l largeur				
Forme	Groupe	Type				
<b>Blessures et bois apparents</b>	<b>Aubier apparent</b>	<b>Bois sans écorce</b> □ > 300 cm <sup>2</sup> 	<b>Blessure due au feu</b> □ > 600 cm <sup>2</sup> 	<b>Ecorce décollée formant un abri ouvert vers le bas</b> a > 1 cm b > 10 cm c > 10 cm 	<b>Ecorce décollée formant une poche (ouvert vers le haut)</b> a > 1 cm b > 10 cm c > 10 cm 	
	<b>Aubier et bois de cœur apparents</b>	<b>Cime brisée</b> ∅ > 20 cm 	<b>Bris de charpentièrre au niveau du tronc avec bois de cœur apparent</b> □ > 300 cm <sup>2</sup> 	<b>Fente</b> L > 30 cm l/B > 1 cm † > 10 cm 	<b>Fente causée par la foudre</b> L > 30 cm l/B > 1 cm † > 10 cm 	<b>Fente au niveau d'une fourche</b> L > 30 cm 

		∅ Diamètre; † Profondeur; □ Surface; L Longueur; l largeur				
Forme	Groupe	Type				
<b>Bois mort dans le houppier</b>	<b>Bois mort dans le houppier</b>	<b>Branches mortes</b> ∅ > 10 cm ou ∅ > 3 cm et > 10% du houppier est mort 	<b>Cime morte</b> ∅ > 10 cm à la base 	<b>Vestige de charpentièrre brisée</b> ∅ > 20 cm, L > 50 cm 		

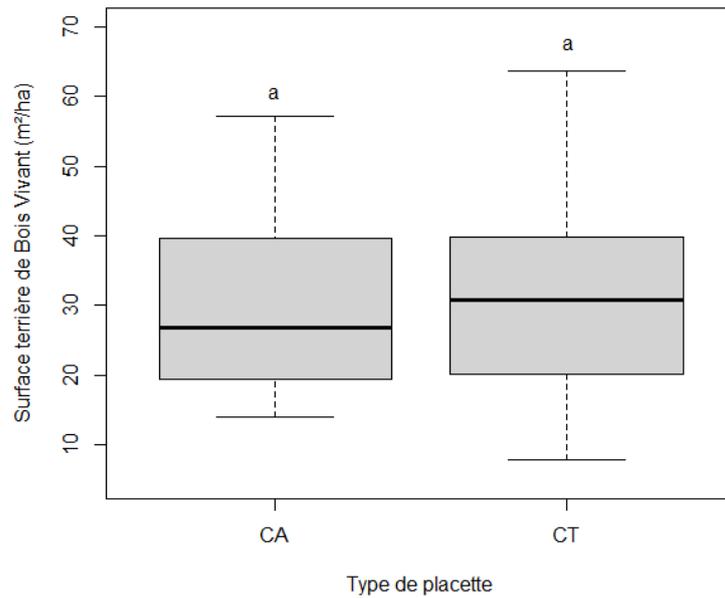
		∅ Diamètre; † Profondeur; □ Surface; L Longueur; l largeur				
Forme	Groupe	Type				
Excroissances	Agglomérations de gourmands ou de rameaux	Balais de sorcière ∅ > 50 cm 	Gourmands / Brogne > 5 gourmands 			
	Loupes et chancres	Loupe ∅ > 20 cm 	Chancre ∅ > 20 cm ou grande partie du tronc couverte 			

		∅ Diamètre; † Profondeur; □ Surface; L Longueur; l largeur				
Forme	Groupe	Type				
Sporophores de champignons et Myxomycètes	Sporophores de champignons pérennes	Polypore pérenne ∅ > 5 cm 				
	Sporophores de champignons éphémères et Myxomycètes	Polypore annuel ∅ > 5 cm ou > 10 	Agaricale charnu ∅ > 5 cm ou > 10 	Pyrenomycètes ∅ > 3 cm ou □ > 100 cm <sup>2</sup> 	Myxomycètes ∅ > 5 cm 	

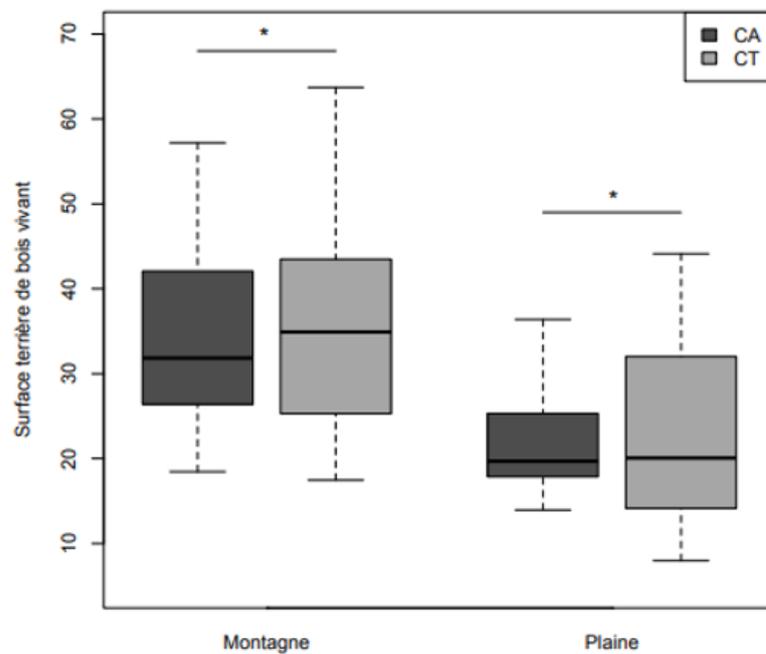
		Ø Diamètre; † Profondeur; □ Surface; L Longueur; l largeur				
Forme	Groupe	Type				
Structures épiphytiques, épiphytiques ou parasites	Plantes et lichens épiphytiques ou parasites	Bryophytes (mousse ou hépatique) <input type="checkbox"/> > 10% du tronc 	Lichens foliacés ou fruticuleux <input type="checkbox"/> > 10% du tronc 	Lierre ou lianes <input type="checkbox"/> > 10% du tronc 	Fougères >5 frondes 	Gui Ø > 20 cm 
	Nids	Nid de vertébré Ø > 10 cm 	Nid d'invertébré 			
	Microsols	Microsol d'écorce 	Microsol du houppier 			

		Ø Diamètre; † Profondeur; □ Surface; L Longueur; l largeur			
Forme	Groupe	Type			
Exsudats	Coulées de sève et de résine	Coulée de sève active L > 10 cm 	Coulée abondante de résine, L > 10 cm 		

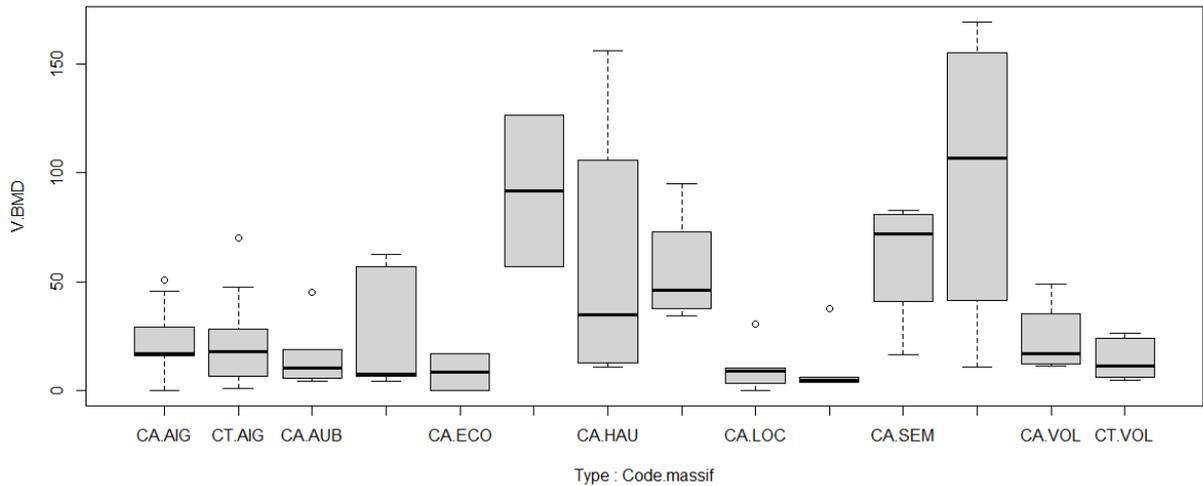
**Annexe 5** : Comparaison de la surface terrière moyenne estimée en fonction du type de placette (CA vs. CT). Ce graphique est basé sur un modèle mixte linéaire généralisé, de distribution d'erreur gamma avec lien logarithmique. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Des lettres différentes désignent l'absence d'une différence significative entre les 2 modalités.



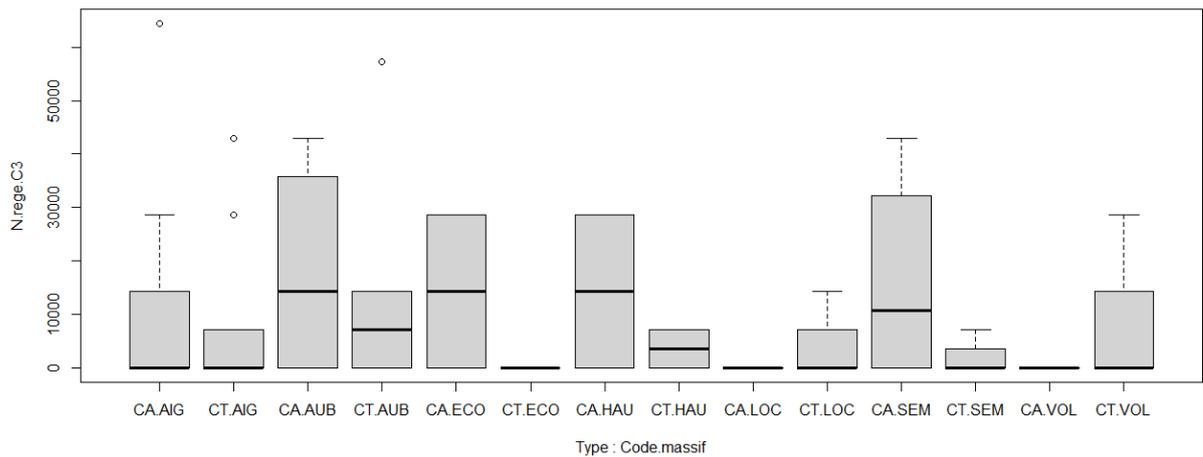
**Annexe 6 : Comparaison de la surface terrière moyenne de bois vivant** estimée en fonction du type de placette (CA vs. CT) et de la classe d'altitude (Montagne vs. Plaine). Ce graphique est basé sur un modèle mixte linéaire généralisé, de distribution d'erreur gaussienne avec un lien d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié. Les \* désignent la présence d'une différence significative entre les 2 modalités.



**Annexes 6 :** Comparaison des volumes moyens d'arbres mort debout estimés entre les massifs forestiers. Ce graphique est basé sur des modèles mixtes linéaires généralisés, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié.



**Annexe 7 :** Comparaison de la densité de régénération de classe 3 estimés entre les massifs forestiers. Ce graphique est basé sur des modèles mixtes linéaires généralisés, de distribution d'erreur gaussienne avec des liens d'identité. Nous avons ajouté un effet aléatoire au niveau de la paire de placettes aux modèles pour tenir compte du plan apparié.



**Annexe 8** : comparaison de la surface terrière du hêtre/surface terrière totale des bois vivants (HET) en fonction de l'interaction code massif et type de placette (CA/CT). Les lettres représentent la significativité. Le trait en pointillé représente la séparation entre les CA à gauche et les CT à droite.

