

Master 2 Biodiversité Ecologie Evolution

**Parcours (ECIRE) - Ecologie de la Conservation et Ingénierie
écologique : Recherche et Expertise**

Finalité CONS - Conservation

Année 2023-2024

Biodiversité associée aux cavités de pic noir :
analyse des communautés fongiques

Louise LEJOSNE

Encadrante : Lucie VINCENOT
Co-encadrante : Aurélie HUSTE

Laboratoire ECODIV - Université Rouen Normandie

Remis le 10 juin 2024
Soutenue le 24 juin 2024

Table des matières

I- Introduction	2
II- Matériels et méthodes	4
1- Massifs étudiés et plan d'échantillonnage	4
2- Analyses moléculaires	6
a) Extraction de l'ADNe	6
b) Amplification de code-barre moléculaire par PCR	7
3-Analyses bioinformatique : clustering et assignation taxonomique	8
4-Détection de la présence d'ADN de pic noir dans les cavités	9
5-Analyses de communautés fongiques.....	9
6-Diversité des familles de champignons cavicoles et paramètres environnementaux	11
III- Résultats.....	12
1-Analyses bioinformatiques et assignation taxonomique	12
2-Étude de la diversité fongique	13
3-Diversité beta	15
4-Description de la composition des communautés fongiques.....	16
5-Étude de la relation statistique entre le nombre d'OTUs par famille de champignons cavicoles et des paramètres environnementaux	18
IV- Discussions	19
1-Les cavités de pic noir : un micro-habitat possédant une diversité spécifique.....	19
2-Liens entre diversité des communautés lignicoles et état des cavités de pic noir	21
3-Organisation spatiale des communautés fongiques et vecteurs de dispersion possibles.....	22
4-Variabilité des communautés entre massifs.....	22
5-Implications pour la conservation.....	23
V- Conclusion.....	24
VI- Bibliographie	25
VII- Résumé / Abstract :	30
VIII- Annexes	31
Annexe 1 : Caractéristiques écologiques des sites étudiés tirées de l'étude de Cabrera et al en 2022.....	31
Annexe 2 : Familles et genres les plus communs pour le massif d'Aigoual avec indication sur le nombre de reads.	31
Annexe 3 : Familles et genres les plus communs pour le massif d'Auberive avec indication sur le nombre de reads.	32

I- Introduction

En France métropolitaine, les forêts représentent environ 31% de la surface totale, ce qui correspond à environ 17,1 millions d'hectares (IGN, 2022). Cette surface est en évolution croissante depuis plus d'un siècle (IGN, 2022). Les écosystèmes forestiers français sont composés essentiellement de forêts anthropisées, façonnées par la sylviculture (Schnitzler-Lenoble, 1996). En effet les forêts sont majoritairement utilisées pour l'apport de ressources organiques qu'elles procurent notamment via le bois. Elles rendent également d'autres services écosystémiques importants comme des services culturels, des services de régulation avec la fixation et le stockage du carbone, la régulation du cycle de l'eau ou bien le support d'habitat pour la biodiversité (UICN, 2013). Sur ce dernier point les écosystèmes forestiers possèdent des habitats particuliers propres, liés notamment à la structuration verticale et horizontale de l'écosystème qui multiplie les micro-habitats et augmente la diversité des espèces présentes (Gosselin & Laroussinie, 2004 ; Tews, 2004).

Les micro-habitats présents sur le bois des arbres morts ou vivants, aussi appelés dendro-microhabitats, sont reconnus comme étant des supports importants pour la biodiversité (Larrieu et al., 2018). Ils sont représentés sous différentes formes comme par exemple : des cavités, des excroissances, des blessures, des bois morts dans le houppier, des structures épiphytiques (i.e. sur l'arbre) et épixyliques (i.e. plus précisément sur le bois; Larrieu et al., 2018). Les cavités peuvent être formées par des espèces excavatrices primaires comme les pics, et agrandies par un cortège d'espèces cavicoles secondaires comme des insectes saproxyliques ou bien des processus de décomposition du bois assurés par des communautés fongiques. Au cours de ce travail, nous nous intéresserons spécifiquement au rôle des cavités formées par les pics noirs (*Dryocopus martius* L.) pour la diversité fongique dans plusieurs massifs forestiers français. Le pic noir est l'espèce cible de cette étude car ses cavités ont un rôle écologique important, elles étaient déjà répertoriées, et il y a peu de données quantitatives sur l'espèce en elle-même et les espèces qui lui sont associées.

Le pic noir est une des plus grandes espèces de pic au monde avec une taille moyenne comprise entre 45cm et 50cm (Gorman, 2014). Il se nourrit principalement d'insectes qu'il trouve sur le bois des arbres. Il est considéré comme une espèce parapluie car il a besoin de vastes étendues de forêts matures avec la présence de vieux arbres ou de grands arbres morts récemment pour vivre (Garmendia et al., 2006). La protection de cette espèce entraîne la

protection de ces habitats et par conséquent, des autres espèces qui leur sont associées. Le pic noir est notamment protégé au niveau national par l'arrêté du 29 octobre 2009 fixant la liste des oiseaux protégés sur l'ensemble du territoire et les modalités de leur protection, ce qui signifie que la destruction de son habitat dans ses zones de reproduction et de repos est interdite. Il est répertorié dans la Directive Oiseaux Natura 2000 et considérée comme espèce déterminante ZNIEFF. Il est également considéré comme une espèce ingénieure car il modifie son environnement en creusant des cavités et cela apporte de nouveaux habitats pour des espèces cavicoles secondaires (Puverel et al., 2019). En effet le pic noir creuse plusieurs cavités qu'il va utiliser pendant une période comme site de nidification ou bien en guise de dortoir puis cette cavité va être utilisée par d'autres occupants. Cela lui permet d'éviter la compétition intra et interspécifique ainsi que la prédation (Colmant, 2016).

Ces cavités peuvent être utilisées par d'autres espèces d'oiseaux (e.g. la chouette hulotte, la sittelle torchepot, le pic vert, le pic épeiche), des hyménoptères (e.g. les populations sauvages d'abeille domestique, le frelon) et des petits mammifères (e.g. l'écureuil roux, la martre) (Colmant, 2016). Outre ces espèces, des communautés fongiques sont également dépendantes des cavités de pics (Jackson & Jackson, 2004). Des associations symbiotiques entre champignons et pics ont été étudiées et plusieurs hypothèses ont émergé comme la *Bird facilitation hypothesis* : le pic via son comportement d'excavation faciliterai l'établissement de champignon, la *Tree selection hypothesis* : le pic sélectionnerai des arbres déjà colonisés par des champignons ce qui faciliterait l'excavation ; ou bien la combinaison des deux hypothèses (Jusino et al., 2016). Des descriptions de communautés fongiques associées à différentes espèces de pics ont été réalisées (Elliott et al., 2019). Il manque, cependant, encore beaucoup de données concernant la description des communautés fongiques (IPBES, 2019) du fait de la nécessité d'utiliser des outils moléculaires pour les identifier, les caractéristiques morphologiques chez les champignons restant limitées et souvent microscopiques.

Les objectifs de ce travail sont dans un premier temps de caractériser les communautés fongiques présentes dans les cavités du pic noir et de les comparer à celles présentes sur les bois morts au sol afin d'identifier les différences et les similarités entre les communautés associées. Dans un second temps, il s'agit de comprendre comment sont régies les communautés fongiques cavicoles dans un massif forestier, de l'échelle locale (i.e de la parcelle) à l'échelle du massif. Cette étude s'inscrit dans les projets TRAMETES et TRAMETES2 qui contribuent à développer ces connaissances via l'utilisation d'outils de metabarcoding environnemental.

Ces projets sont soutenus par l'OFB (Office Français de la Biodiversité) et l'INRAE (Institut national de la recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement) et ont pour objectif de mettre en avant la trame de vieux bois et sa contribution à la conservation des habitats forestiers et de leurs espèces en s'intéressant tout particulièrement à la biodiversité associée aux cavités de pic noir et à la maturité forestière.

Afin de répondre à ces objectifs, les trois hypothèses suivantes ont été définies :

- (i) Comme le pic noir crée des micro-habitats qui favorisent la biodiversité (Larrieu et al., 2018) nous pouvons nous attendre à ce que la présence de cavités de ce pic apporte de la diversité aux communautés fongiques présentes sur la parcelle. En effet nous pouvons supposer que les placettes avec cavité auront une diversité plus importante que celles sans.
- (ii) La recherche alimentaire du pic noir s'effectue principalement aux niveaux inférieurs des arbres, à leur pied ou bien au sol (Winkler et al. 2020). Sachant que les pics semblent être des vecteurs de dispersion idéaux pour certains microorganismes comme les champignons (Johansson et al., 2021), nous nous attendons donc à retrouver des similarités entre les communautés cavicoles et celles trouvées sur les bois au sol.
- (iii) La diversité de certaines communautés fongiques semble dépendre de paramètres climatiques comme les précipitations et la température moyenne annuelle (Shiryaev, 2018). Nous pouvons donc supposer que les communautés locales sont influencées par la diversité à l'échelle du massif. Les massifs étudiés devraient donc avoir des communautés fongiques différentes.

Nous présenterons, dans un premier temps, le plan d'échantillonnage ainsi que les différentes étapes d'analyse de métabarcoding et des analyses de communautés effectuées. Dans un second temps, nous présenterons les résultats obtenus sur la comparaison des échantillons de cavités avec ceux du bois au sol ainsi que les résultats axés sur les communautés fongiques cavicoles. Pour finir, viendra la partie discussion ainsi que la conclusion.

II- Matériels et méthodes

1- Massifs étudiés et plan d'échantillonnage

Les massifs forestiers étudiés sont répartis en France métropolitaine (Figure 1) et possèdent des caractéristiques écologiques et des faciès forestiers différents (Annexe 1).

Certains massifs sont notamment situés en plaine comme au Parc National de Forêts à Auberive et d'autres en montagne comme l'Aigoual au Parc National des Cévennes. Ces forêts sont majoritairement composées de hêtres et la présence du pic noir y a été observée et relevée avant l'étude.

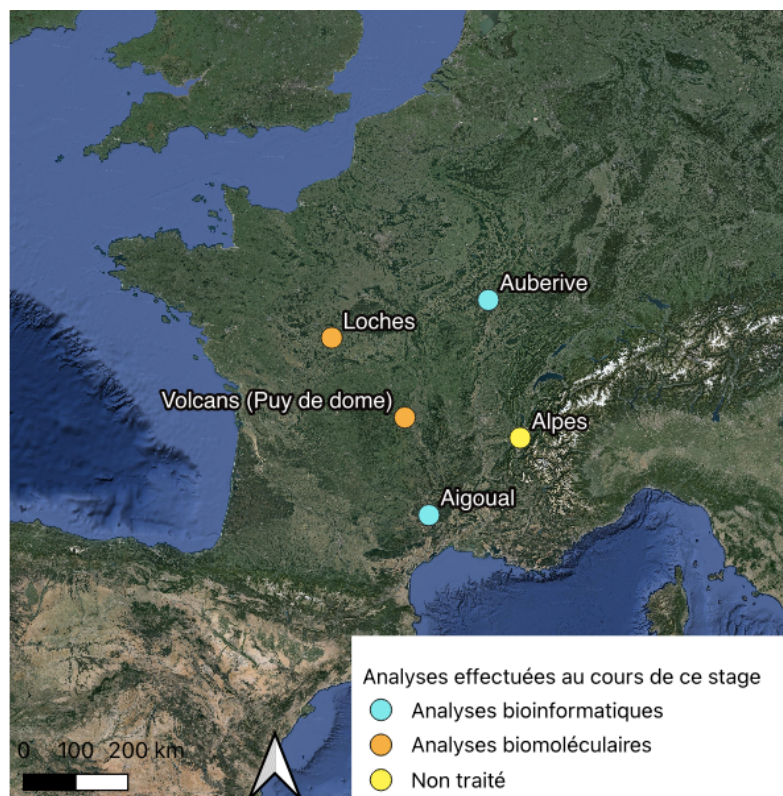


Figure 1. Localisation des différents massifs étudiés dans les projets TRAMETES et TRAMETES 2. Les massifs pour lesquels des analyses bioinformatiques ont été réalisées au cours de ce stage sont présentés en bleu et ceux pour lesquels des analyses moléculaires ont été réalisées sont présentés en orange. Les autres massifs échantillonnés au cours des projets mais dont les données n'ont pas été exploitées sont présentés en jaune.

Les placettes étudiées ont été sélectionnées en 2022 et 2023 dans 5 massifs forestiers de France métropolitaine où des cavités de pics noirs avaient été repérées et cartographiées au préalable. À chaque placette à cavité, a été appariée une placette témoin donc dépourvue de cavité afin de pouvoir réaliser des comparaisons entre habitats favorables ou non à la nidification du pic noir. La placette témoin a été choisie de sorte à ce qu'elle possède des caractéristiques écologiques similaires (essences dominantes, pente et orientation, densité de peuplement), qu'elle appartienne au domaine vital d'un même pic (la distance entre deux placettes est d'environ 85m), et qu'elle ne possède pas de cavité dans un rayon d'au moins 50m.

Pour chaque paire de placettes ainsi formée, trois échantillons ont été récoltés : les bois au sol ramassés suivant 3 transects de 20m autour de l'arbre à cavité pour la placette à cavité et autour du centre de la parcelle pour la placette témoin et le terreau (matières organique variables) présent dans la cavité avec 9 carottes de bois (diamètre 0.25 cm , profondeur 5cm) effectuées à l'entrée de cette cavité. Des éventuels échantillons opportunistes trouvés dans ces différentes zones d'échantillonnage et pouvant se présenter sous différentes formes comme des ossements, des nids, des plumes ont été récoltés. La dénomination utilisée par la suite pour différencier les échantillons est la suivante : CT_BS (bois au sol des placettes témoins), CA_BS (bois au sol des placettes à cavité) et CA_cav (échantillons dans les cavités). Les échantillons ont ensuite été étudiés via des méthodes de metabarcoding avec une extraction de l'ADN environnemental (ADNe), un séquençage à haut débit et des analyses bioinformatiques. Ces différentes étapes ont été réalisées à différentes périodes récapitulées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Chronologie des différentes étapes des projets TRAMETES et TRAMETES 2 (est indiqué avec un * ce qui a été réalisé au cours de ce stage).

Massif étudié	Année de récolte	Nombres de paires de placette	Année de traitement de l'ADNe	Analyses bioinformatiques
Alpes	2022	10	2023	✓*
Auberive	2022	10	2023	✓*
Aigoual	2022	10	2023	✓*
Volcan (Puy de dôme)	2023	5	2024*	données en cours d'acquisition
Loches	2023	5	2024*	données en cours d'acquisition

2- Analyses moléculaires

a) Extraction de l'ADNe

Les différentes étapes décrites ont été réalisés lors de ce stage sur les échantillons de Loches et du site des Volcans prélevés en 2023 mais la procédure a été la même lors d'un précédent stage pour les échantillons de l'Aigoual, d'Auberive et des Alpes que nous analyserons par la suite. Les échantillons prélevés de bois et de terreau ont tout d'abord été

broyés à l'aide d'un broyeur à couteaux (PULVERISETTE 11, Fritsch) pendant 2 fois 30 secondes avec une vitesse de 5000 tours par minute. Pour les cavités, sont broyés ensemble les carottes de bois prélevées dans les cavités et le terreau présent. Il y a au total 30 échantillons qui regroupent les placettes à cavités et les placettes témoins. Entre chaque échantillon un lavage à l'eau et au savon ainsi qu'à l'éthanol à 70% de l'appareil et des outils utilisés a été réalisé afin d'éviter les contaminations d'ADN entre les échantillons. Des blancs de broyage ont été effectués à partir d'eau déminéralisée également broyés et qui vont suivre le même processus que les échantillons par la suite afin d'identifier contaminations qui auraient pu avoir lieu.

Pour l'extraction de l'ADN environnemental (ADNe) total, le kit et le protocole QIAGEN DNeasy PowerSoil Pro kit (QIAGEN, France) ont été utilisés à partir de 250 mg d'échantillon broyé. Deux blancs d'extractions ont également été réalisés à partir d'eau sans nucléase (Nuclease-Free Water ; QIAGEN, France) pour le contrôle des contaminations potentielles au cours de l'extraction. Une fois l'extraction réalisée, la concentration d'ADNe a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Thermo Scientific NanoDrop One). Ces concentrations ont été utilisées par la suite pour effectuer des dilutions afin de normaliser les concentrations d'ADNe avant d'effectuer les PCR. La dilution a été réalisée avec de l'eau sans nucléase afin d'obtenir une concentration finale d'ADNe de 4ng/μl dans un volume total de 50μl.

b) Amplification de code-barre moléculaire par PCR

Le marqueur moléculaire ciblé pour décrire les communautés fongiques est la région ITS2 (*Internal Transcribed Spacer*) entre les gènes codant pour les sous-unités d'ADN ribosomique 5,8S et 18S. C'est une portion de l'ADN nucléaire qui est utilisée comme marqueur universel pour les champignons car sa variabilité se situe à l'échelle inter-spécifique (Schoch et al., 2012). Cette région d'environ 350 pb a été amplifiée par PCR à partir des ADNe dilués en utilisant le couple d'amorces ITS3-ITS4 pour le reverse (White et al., 1990). Le mix pour la PCR concernant les ITS a été réalisé avec les quantités suivantes de réactifs : 4 μl de Buffer PCR 5x, 0,4μl de dNTP, 1 μl de primer F (ITS3) 10 μM, 1 μl de primer R (ITS4) 10 μM, 0,1 μl de polymérase GoTaq et 10,5 μl d' H₂O pour PCR (i.e. sans contaminations d'ADN, de désoxyribonucléases et de ribonucléases). Le mix a ensuite été ajouté dans chaque puit contenant 5 μl d'ADN à 4ng/μl. Deux blancs de PCR ont été réalisés avec seulement de l' H₂O

pour PCR. Le programme de la PCR était le suivant : d'abord une dénaturation initiale à 95 °C pendant 5 min, puis 35 cycles de dénaturation de 30s à 95 °C, puis 60 s à une température d'hybridation des amorces de 58 °C et une élongation de 30 s à 72° C. Pour finir il y a eu une phase d'élongation finale de 5min à 72 °C et une phase à 10 °C. Chaque PCR a été répliquée 3 fois par échantillon.

Les produits des PCRs ont ensuite été envoyés à la plateforme technique Genotoul (INSA Toulouse, <https://www.genotoul.fr>) afin de réaliser un séquençage haut débit Miseq Illumina qui produit environ 25 Millions de paires de bases.

3-Analyses bioinformatique : clustering et assignation taxonomique

Pour rappel, les analyses bioinformatiques ont été réalisées pour ce stage sur les échantillons prélevés en 2022 dans les massifs des Alpes, d'Auberive et de l'Aigoual car les ADNe des échantillons prélevés dans les massifs forestiers de Loches et de la chaîne des Volcans en 2023 ont été extraits et amplifiés au cours de ce stage mais sont encore en cours de séquençage. Ils n'ont donc pas pu être analysés dans ce rapport (Tableau 1).

Les analyses bioinformatiques ont été réalisées à l'aide du logiciel PipeCraft2 (Anslan et al., 2017) à partir des *reads* R1 (Sens 5'-3') et R2 (sens complémentaire) de 250 pb obtenus après le séquençage Illumina des amplicons. La première étape a consisté à enlever les séquences des amorces de PCR qui sont rattachées aux séquences. Pour cela nous avons donné les séquences des amorces (i.e. les amorces 5'-3' et 3'-5' pour le brin complémentaire, de 20 pb) utilisées pour le séquençage auquel nous avons enlevé la séquence de l'adaptateur. Nous avons fixé un nombre d'erreurs acceptable à 9 et un minimum de recouvrement de 12 nucléotides sans accepter d'*indel* (i.e insertion ou délétion de base). Puis l'objectif a été d'assembler les *reads* R1 et R2 complémentaires pour obtenir une séquence complète du code-barre. Nous avons fixé un minimum de recouvrement des *reads* à 30 nucléotides avec un maximum de 20 nucléotides différents dans la zone de chevauchement entre les deux *reads*. Les séquences obtenues ont une taille minimale de 200 paires de bases et une taille maximale de 400 paires de bases. La qualité des séquences a ensuite été vérifiée à partir des paramètres par défaut du programme Vsearch (Rognes et al., 2016) en indiquant un nombre maximum d'erreurs égales à 10. Un contrôle et filtration des chimères (séquences avec de l'ADN de deux espèces distinctes) ont ensuite été effectués par Uchime- denovo à partir de la base de données

UNITE (Abarenkov et al., 2022). Ensuite, le clustering s'est fait par Vsearch en regroupant les séquences de façon centroïde avec des OTU (Unités Taxonomiques Opérationnelles) basées sur une similitude entre paires de séquences fixée à 97% c'est-à-dire que les séquences qui se ressemblent sont regroupées en OTU. Cette analyse nous a fourni une table d'OTUs présentes par échantillons, avec le nombre de *reads* obtenus par OTU.

Enfin, une assignation taxonomique a été réalisée pour chaque OTU par blastn, un outil d'assignation taxonomique par alignement sur séquences nucléotidiques de référence sur les bases de données moléculaires UNITE spécialisée pour les champignons (Abarenkov et al., 2024) et BOLD, sous-ensemble ITS fongiques (Ratnasingham et Herbert, 2007) avec une *e-value* inférieure ou égale à 10^{-3} . Dans un premier temps, nous avons gardé les assignations taxonomiques similaires entre le meilleur résultat de UNITE et de BOLD tant au niveau du genre, de la famille, de l'ordre, de la classe et du phylum. Lorsque les deux assignations ne concordaient pas, nous avons fait le consensus des 5 meilleurs résultats de UNITE, cette base de données étant spécialisée pour les champignons. Pour la suite des analyses, nous avons enlevé du jeu de données les OTUs présentes dans les blancs de broyage ou d'extraction car elles reflètent des possibles contaminations qui ont pu avoir lieu lors des différentes étapes techniques.

4-Détection de la présence d'ADN de pic noir dans les cavités

Au-delà des objectifs de ce stage, les mêmes procédés de biologie moléculaire avec le séquençage du code-barre COI (*Cytochrome oxydase I*) et d'analyses bioinformatiques avec les bases de données BOLD et GenBank ont été utilisés pour décrire les communautés de faune cavicole. Les résultats sur la faune cavicole ne sont pas présentés dans ce rapport mais ont été utilisés pour repérer la présence d'ADN de pic noir dans les cavités.

5-Analyses de communautés fongiques

Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel Rstudio (Posit team, 2023). Les analyses de communautés fongiques ont été effectuées sur les massifs de l'Aigoual et de Auberive uniquement car il y a eu une erreur lors de la prestation de séquençage sur les trois quarts des placettes pour le massif des Hautes Alpes et donc les placettes restantes n'étaient

pas représentatives du massif. Une paire de placettes a été enlevée du jeu de données du massif d'Auberive car incomplète, la cavité n'ayant pas pu être échantillonnée à cause de la présence d'un nid de frelon. Nous avons donc analysé les résultats de 9 paires de placettes pour Auberive et 10 paires de placettes pour l'Aigoual.

Une analyse a été réalisée afin de définir un seuil de *reads* minimum pour qu'un OTU soit considéré comme valide. En effet, les OTUs possédant un faible nombre de *reads* sont à utiliser avec précautions car elles peuvent être issues d'erreurs de PCR ou bien des contaminations (Lindhal et al., 2013). Une recherche dans la littérature a permis de montrer que certaines études prenaient en considération toutes les OTUs (Jusino et al., 2022) , d'autres uniquement les OTUs sans les singletons c'est-à-dire sans les OTUs qui ne présentent qu'un seul *read* sur l'ensemble des échantillons (Geml et al., 2014) et d'autres uniquement les OTUs dont le nombre de *reads* est supérieur à 5 (Lindhal et al., 2013).

Pour fixer un seuil de nombre de *reads* minimum par OTU nous avons réalisé des courbes d'accumulation de la richesse spécifique en OTUs avec le package Vegan (Oksanen et al., 2022) et la fonction *speccacum*. Ces courbes ont été réalisées par massif en enlevant les OTUs qui n'étaient jamais présentes dans un massif (mais potentiellement présentes dans l'autre) et avec différents seuils : sans singleton (i.e présente qu'une seule fois avec juste un seul *read*) puis sans les OTUs qui avaient 1 *read* par échantillon (même si présentes dans plusieurs échantillons), puis ceux qui avaient 2, 3, 4 et 5 *reads*.

Les nombres de Hill ont ensuite été calculés pour chaque type d'échantillon (i.e bois au sol placette à cavité, bois au sol placette témoin et cavité) à l'aide du package *entropart* (Marcon et Hérault, 2015). Cela a permis d'obtenir des informations concernant les entropies des indices de diversité comme la richesse spécifique, l'indice de Shannon et l'indice de Simpson et de les comparer en fonction du type d'échantillon. Au niveau des nombres de Hill, lorsque l'ordre est égal à 0, la diversité représente la richesse spécifique, lorsque l'ordre est égal à 1 la diversité représente l'exponentielle de l'indice de Shannon et pour finir lorsque l'ordre est égal à 2, il s'agit de l'inverse de l'indice de concentration de Simpson soit l'équivalent de l'indice de Stoddart (1/1-Indice de Simpson ; Marcon et Hérault, 2015). Par la suite des analyses concernant la diversité beta ont été réalisées afin de voir s'il existe une dissimilarité entre les types d'échantillons. Pour cela le package *Betapart* (Baselga et Orme, 2012) a été utilisé à partir de matrices de présence/absence des OTUs par type d'échantillon pour chacun des deux massifs

indépendamment. La diversité beta totale est définie à partir de l'indice de Sørensen (Dissimilarité de Sørensen) et est mesurée en additionnant deux composantes : le turnover spatial (β_{Sim} , Dissimilarité de Simpson) et la dissimilarité due à la perte d'espèces produite par l'emboîtement dans les assemblages de communautés (β_{nes} : Dissimilarité résultant de l'emboîtement, ou *nestedness*).

Afin de caractériser les communautés fongiques des différents types d'échantillons, les communautés de champignons ont été décrites via les assignations taxonomiques acquises lors des analyses bioinformatiques. Dans un premier temps, les phylums ont été étudiés car il s'agit du niveau taxonomique où il y a le plus d'OTUs assignés. Puis dans un second temps, les familles les plus communes ont été mises en évidence pour chaque échantillon. Le niveau taxonomique de la famille permet d'avoir un compromis entre un nombre d'OTUs assignés suffisant (i.e. plus de la moitié) et avoir un degré de précision pouvant fournir des informations écologiques sur les organismes présents.

6-Diversité des familles de champignons caviholes et paramètres environnementaux

Comme l'assignation taxonomique des OTUs était rarement possible à l'espèce ou au genre (moins de 25% pour l'Aigoual et moins de 40% pour Auberive), nous avons caractérisé la diversité taxonomique des champignons caviholes au rang des familles (plus de 50% des OTUs assignées). La relation statistique a été testée entre la diversité en OTUs des familles taxonomiques de champignons au sein des cavités et 3 paramètres environnementaux indépendamment : (i) la présence ou l'absence du pic noir, (ii) la profondeur de la cavité et (iii) le diamètre moyen de l'arbre à cavité qui est utilisé comme estimateur de la maturité de l'arbre. Pour cela, des tests du Khi-deux d'indépendance ont été réalisés en comparant pour chaque test le nombre d'OTU par famille avec un paramètre environnemental catégorisé au préalable. Pour la variable du pic noir, les deux classes étaient la présence récente du pic noir (7 placettes avec l'OTU *D. martius* à plus de 53 *reads*) ou non sur la placette. Pour le diamètre moyen, nous avons pris les classes suivantes généralement utilisées en sylviculture pour du hêtre : jeune futaie (i.e. diamètre entre 25cm et 40cm), futaie (i.e. diamètre entre 40cm et 55cm) et vieille futaie (i.e. diamètre supérieur à 55cm ; Lanier et al., 1994). Pour la profondeur des cavités, il n'existe pas de classes prédéfinies donc nous avons défini les classes suivantes d'après leur distribution : <10 cm, entre 10 et 50 cm, entre 50 et 100cm, > 100cm.

Enfin, une famille de champignon (i.e les Microascaceae) a été identifiée comme commune et présente uniquement dans les cavités. Nous avons donc testé si le nombre d'OTUs de cette famille variaient en fonction de la profondeur de la cavité et du diamètre moyen de l'arbre où se situait la cavité. Dans un premier temps, un modèle linéaire généralisé (GLM) avec une loi de Poisson a donc été considéré avec comme variable à expliquer, le nombre d'OTUs de Microascaceae présents pour un site, et comme variables explicatives, la profondeur de la cavité et le diamètre moyen de l'arbre. Dans un second temps, en raison d'une surdispersion trop importante, une seconde analyse de GLM a été réalisée avec un modèle considérant une loi de Quasi-poisson.

III- Résultats

1-Analyses bioinformatiques et assignation taxonomique

Suite au séquençage, 10 190 394 séquences ont été obtenues à partir des amplicons d'ITS2 sur les échantillons d'ADNe extraits. Les analyses bioinformatiques réalisées avec Pipecraft ont permis de filtrer ces séquences au fur et à mesure des différentes étapes. Dans un premier temps, les *reads* R1 et R2 ne présentant pas les amorces souhaitées ont été exclues ce qui a permis d'enlever 1 685 078 *reads*. Ensuite, l'assemblage des *reads* R1 et R2 a permis d'aboutir à 151 887 séquences assemblées. Ensuite la filtration de la qualité a permis d'enlever 86 séquences qui ne correspondaient pas aux critères définis. Pour la filtration des chimères, 5761 séquences chimériques ont été détectées et donc retirées. Enfin, suite à la phase de clusterisation, 8984 OTUs ont été gardées. Ces OTUs ont encore été filtrées en enlevant ceux représentatives de potentielles contaminations car présentes dans les blancs d'extraction et de PCR. Nous avons au final un jeu de données de 8855 OTUs pour les trois massifs étudiés au départ (i.e. Aigoual, Auberive et Hautes Alpes)

Concernant les 2 massifs étudiés plus spécifiquement par la suite (i.e. Aigoual et Auberive), les courbes d'accumulations réalisées montrent que le nombre d'espèces accumulées par massif tend davantage à atteindre un plateau lorsque les OTUs possédant un faible nombre de *reads* sont enlevées. En effet, pour les jeux de données conservant uniquement des OTUs avec un nombre de *reads* supérieur à 5, le nombre d'espèces ajoutées diminue lorsqu'on ajoute des sites pour tendre vers un plateau (Figure 2). De plus nous pouvons voir que l'intervalle de confiance diminue et cela confirme notre choix de prendre ces jeux de données là pour la suite de nos analyses, ce seuil ayant déjà été utilisé dans d'autres études (Lindhal et

al., 2013). Nous gardons donc 172 OTUs pour le massif d'Auberive et 153 OTUs pour le massif de l'Aigoual.

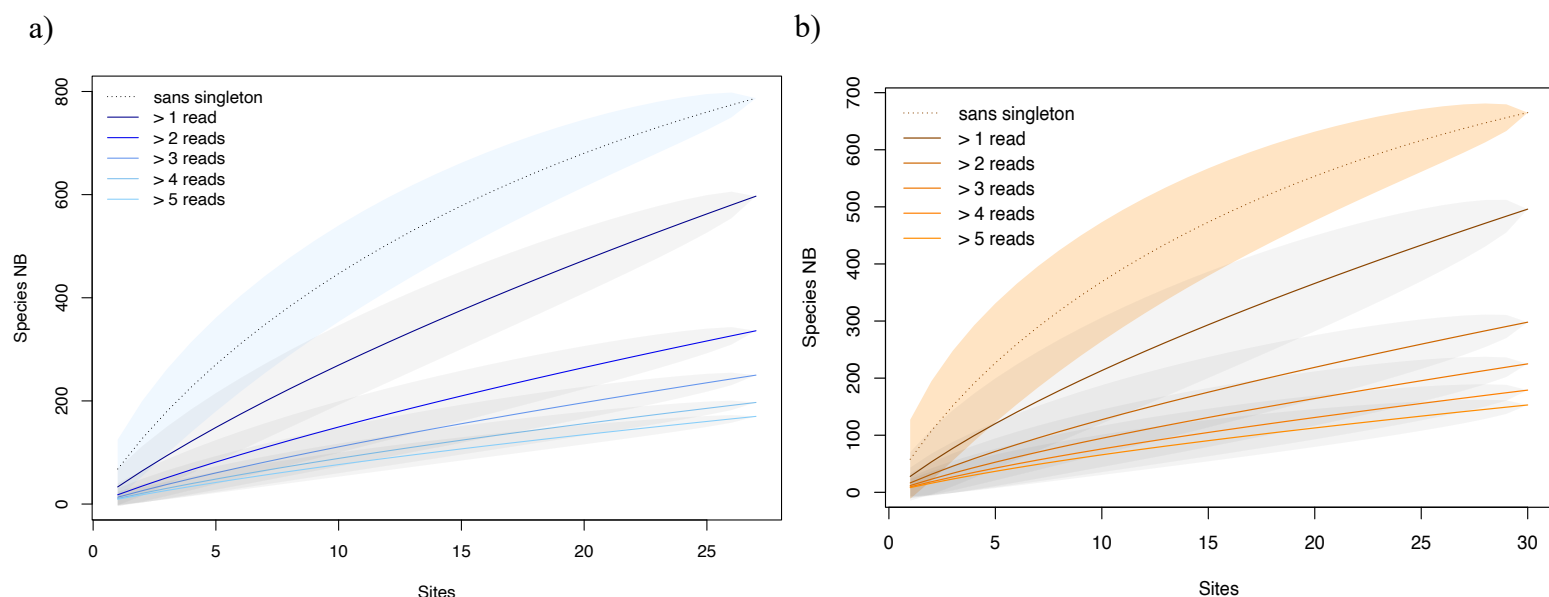


Figure 2. Courbes d'accumulation de la richesse spécifique en OTUs pour les deux massifs étudiés : a) Auberive et b) Aigoual. L'intervalle de confiance à 95% est illustré en gris.

Pour l'assignation taxonomique, 93,5% des OTUs ont été assignées au moins au phylum pour le massif d'Auberive avec 159 OTUs assignées au phylum, 148 à la classe, 136 à l'ordre, 106 à la famille et 67 au genre. Pour le massif de l'Aigoual, 86,7% des OTUs ont été assignées au moins au phylum avec 135 OTUs au phylum, 123 à la classe, 115 à l'ordre, 96 à la famille et 33 au genre.

2-Étude de la diversité fongique

Dans les placettes à cavité, la richesse spécifique en OTUs est plus importante dans la cavité (courbe orange ; Figures 3a) que dans le bois au sol (courbe jaune ; Figures 3a) pour le massif de l'Aigoual tandis qu'elle est similaire entre les 2 types d'habitats dans le massif d'Auberive (courbes orange & jaune; Figures 3b). Dans les 2 massifs, une plus faible diversité, représentée par les indices de Shannon et de Simpson, est observée dans la cavité (courbes oranges ; Figures 3a & 3b) que dans le bois au sol (courbes jaunes ; Figures 3a & 3b). Ce résultat indique qu'il y a une tendance à une seule espèce dominante dans la cavité tandis qu'il y a un plus grand nombre d'espèces qui dominent dans le bois au sol. Dans les 2 massifs, la richesse

spécifique est plus importante pour les bois au sol des placettes témoin (courbes vertes ; Figures 3a & 3b) que pour les bois au sol des placettes à cavités (courbes jaunes ; Figures 3a & 3b). Néanmoins, il y a un plus grand nombre d'espèces dominantes dans le bois au sol des placettes à cavité et davantage d'espèces rares dans le bois au sol des placettes témoin. Enfin, dans les deux massifs, la richesse spécifique est globalement plus importante dans les parcelles à cavité, cavités et bois au sol confondus (courbe violette ; Figures 3a & 3b) que dans les parcelles témoins (courbe verte ; Figures 3a & 3b). Nous pouvons remarquer que lorsque la cavité est ajoutée au bois au sol dans les placettes à cavité (courbes violettes ; Figures 3a & 3b), il y a de nouveau dominance d'un petit nombre d'espèces et donc davantage d'espèce rares par rapport au bois au sol uniquement (courbes jaunes ; Figures 3a & 3b). La diversité totale dans les placettes à cavité (courbes violettes ; Figures 3a & 3b) est alors augmentée par un apport d'espèces présentes dans les cavités, espèces potentiellement rares car probablement spécifiques de ces habitats.

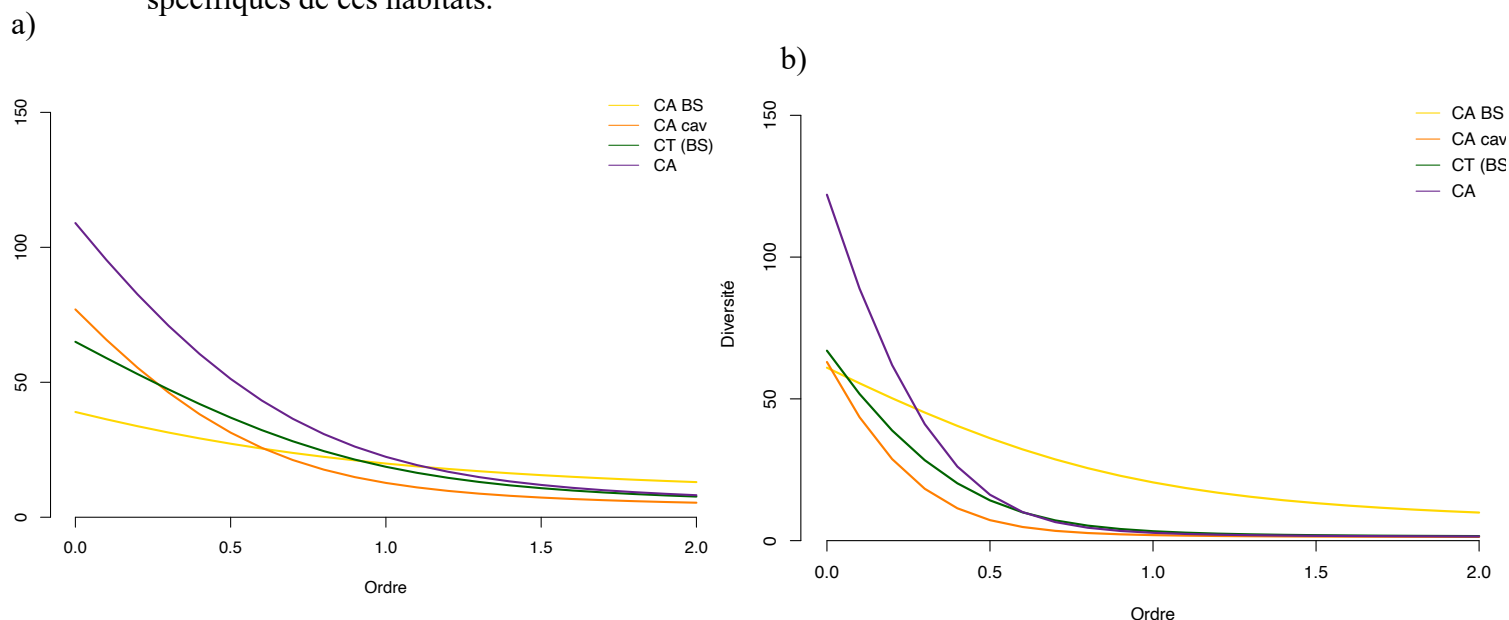


Figure 3. Représentation de la diversité (i.e nombre de Hill ou nombre effective d'espèces) en fonction de l'ordre de diversité pour les massifs d'Auberive (a) et de l'Aigoual (b) pour les différents types d'échantillons (en jaune : bois au sol des placettes à cavité, en orange : dans les cavités, en vert : bois au sol dans les placettes témoins et en violet : ensemble de la placette à cavité (i.e. intérieur des cavités et bois au sol)). L'ordre de 0 représente la richesse spécifique, l'ordre de 1 l'indice de Shannon et l'ordre de 2 l'indice de Simpson.

3-Diversité beta

Grâce aux calculs de la diversité beta de Sørensen (Figure 4a et 4b) nous pouvons voir qu'il y a une forte dissimilarité entre les différents types d'échantillons et que cela est en grande partie dû à du turnover (en gris clair) et donc du remplacement d'espèce par d'autres. Néanmoins, même si les valeurs restent globalement assez élevées, cette dissimilarité due à du turnover est moins importante dans le massif de l'Aigoual que dans celui d'Auberive même si les valeurs restent tout de même assez élevées. Nous observons également, dans une moindre mesure, que la dissimilarité est aussi due à de l'emboîtement entre les placettes à cavité et les placettes témoins (CA/CT) pour les deux massifs (Figure 4a et 4b), mais aussi entre les deux bois au sol (CA_BS / CT_BS) pour le massif de l'Aigoual (Figure 4b). En général, la dissimilarité est moins importante quand il s'agit des échantillons de même type, c'est-à-dire entre communautés sur bois au sol (CA_BS / CT_BS) comparées aux communautés de cavité qui possèdent toujours une dissimilarité très importante avec les communautés des différents bois au sol.

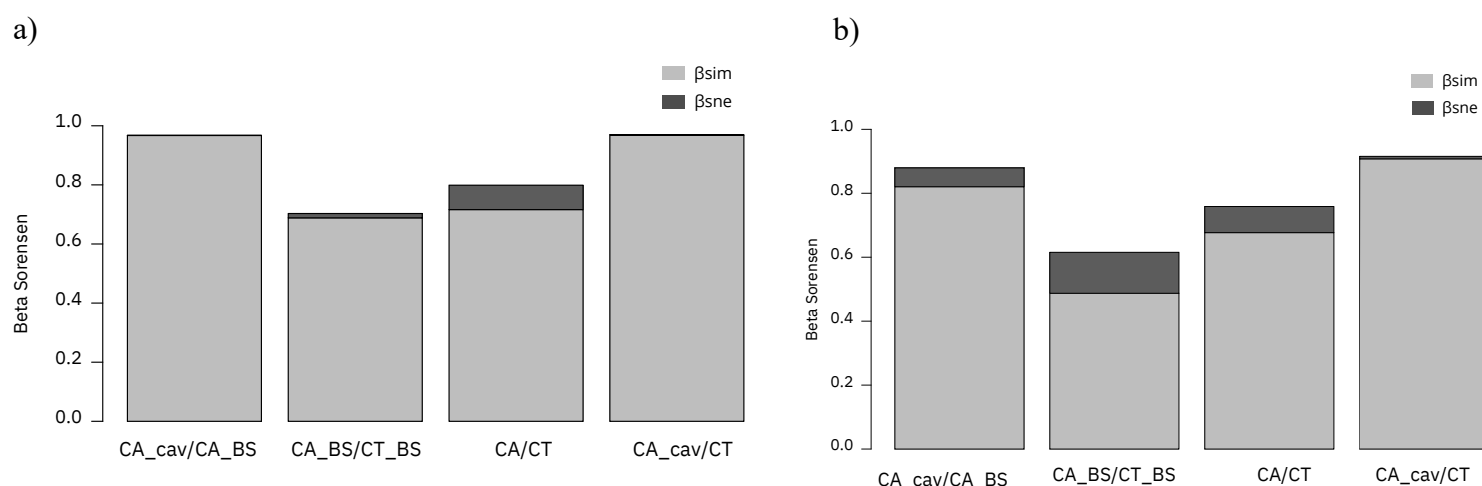


Figure 4. Contribution du turnover (β_{sim}) et de l'emboîtement (β_{sne}) à la diversité beta totale (β Sørensen) représentant la dissimilarité entre les différents types d'échantillons dans les massifs d'Auberive (a) et dans celui de l'Aigoual (b). Les types d'échantillons sont définis comme suivant : CA_cav (intérieur de la cavité), CA_BS (bois au sol de la placette à cavité) et CT (bois au sol de la placette témoin).

4-Description de la composition des communautés fongiques

Concernant les phylums, une grande majorité des OTUs de champignons détectées appartient aux Ascomycètes et cela, pour les deux massifs (Figure 5a et 5b). Il y a aussi une part non négligeable de Basidiomycètes et ce, particulièrement dans le massif d'Auberive (Figure 5a). D'autres phylum sont également présents mais avec un faible nombre d'OTUs. Ce sont par exemple des Chytridiomycètes dans les parcelles témoins du massif d'Auberive (Figure 5a) ou des Mucoromycètes et des Glomeromycètes dans les cavités des massifs de l'Aigoual (Figure 5b).

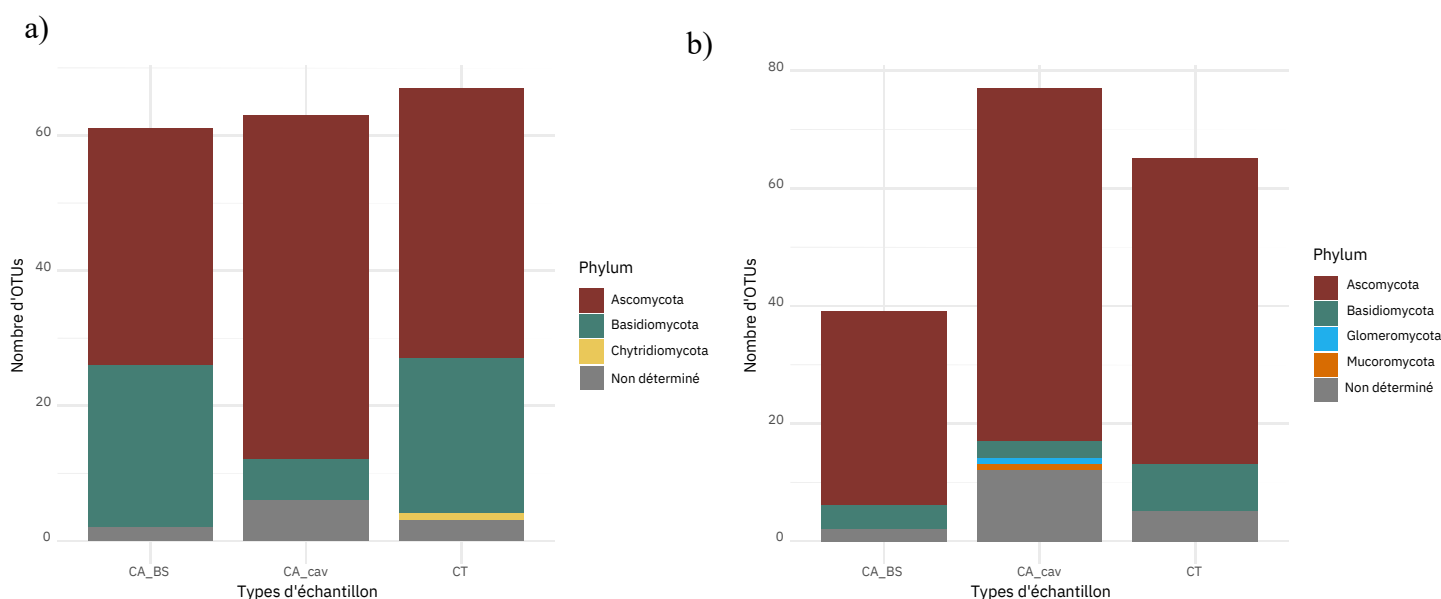
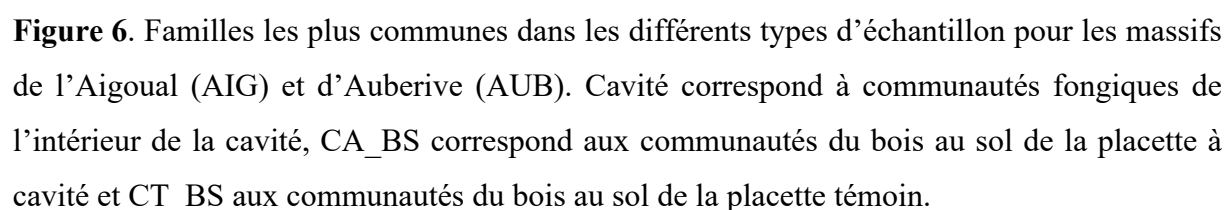


Figure 5. Nombre d'OTUs de chaque phylum obtenu lors de l'assignation taxonomique pour chaque type d'échantillon (CA_BS : bois au sol de la placette à cavité /CA-cav : intérieur de la cavité /CT : bois au sol de la placette témoin) dans le massif d'Auberive (a) et de l'Aigoual (b).

Au niveau des familles taxonomiques, l'occurrence de ces familles (i.e. le nombre de site où elles sont présentes) a été considérée afin de faire ressortir les plus communes à l'échelle des massifs (Figure 6 ; Annexes 2 et 3). Tout d'abord si nous comparons les bois au sol et les cavités, nous pouvons voir qu'il y a présence d'un pic d'occurrence pour la famille des Microascaceae dans les échantillons des cavités et ce, pour les deux massifs (Figure 6). Cette famille a été uniquement détectée dans les échantillons des cavités et est absente des échantillons de bois au sol et ce ; peu importe le type de placette. Les échantillons de bois au sol d'un même massif, quant à eux, des assemblages de familles plutôt similaires avec des familles communes et qui diffèrent de ceux des cavités (Figure 6). La famille la plus commune,

En comparant les deux massifs, nous pouvons voir qu'il y a un ensemble de familles présentes dans les échantillons de bois au sol du massif d'Auberive mais qui ne se retrouvent pas dans le massif de l'Aigoual. Il s'agit des familles de Polyporaceae, de Phanerochaetaceae, de Meruliaceae et de Phaffomycetaceae (Figure 6). Il existe aussi des différences de familles entre les cavités avec des familles présentes pour Auberive comme par exemple les Aspergillaceae, les Eremomycetaceae et les Phaffomycetaceae qui ne sont pas présentes dans le massif de l'Aigoual.



5-Étude de la relation statistique entre le nombre d'OTUs par famille de champignons cavicoles et des paramètres environnementaux

Le nombre d'OTUs par famille est indépendant de la présence ou non du pic noir (Test du χ^2 : $\chi^2 = 24.574$, p-value = 0.105, df = 17). En revanche, le nombre d'OTUs par famille dépend de la profondeur de la cavité (Test du χ^2 : $\chi^2 = 76.039$, p-value = 0,013, df = 51) et du diamètre moyen de l'arbre (Test du χ^2 : $\chi^2 = 65.02$, p-value = 0,001, df = 34). En effet, ce ne sont pas les mêmes familles qui sont observées dans les différentes classes de profondeur de la cavité et dans les différentes classes de diamètre moyen de l'arbre (Figure 7). Par exemple, les Cordycipitaceae sont uniquement présents dans des futaies (Figure 7a) et les Phaffomycetaceae uniquement dans les cavités faisant entre 50 et 100 cm de profondeur (Figure 7b). De plus, au sein d'une même famille il n'y a pas le même nombre d'OTUs en fonction des classes. Par exemple, les Microascaceae sont présents dans toutes les classes des 2 variables environnementales mais avec des nombres d'OTUs différents.

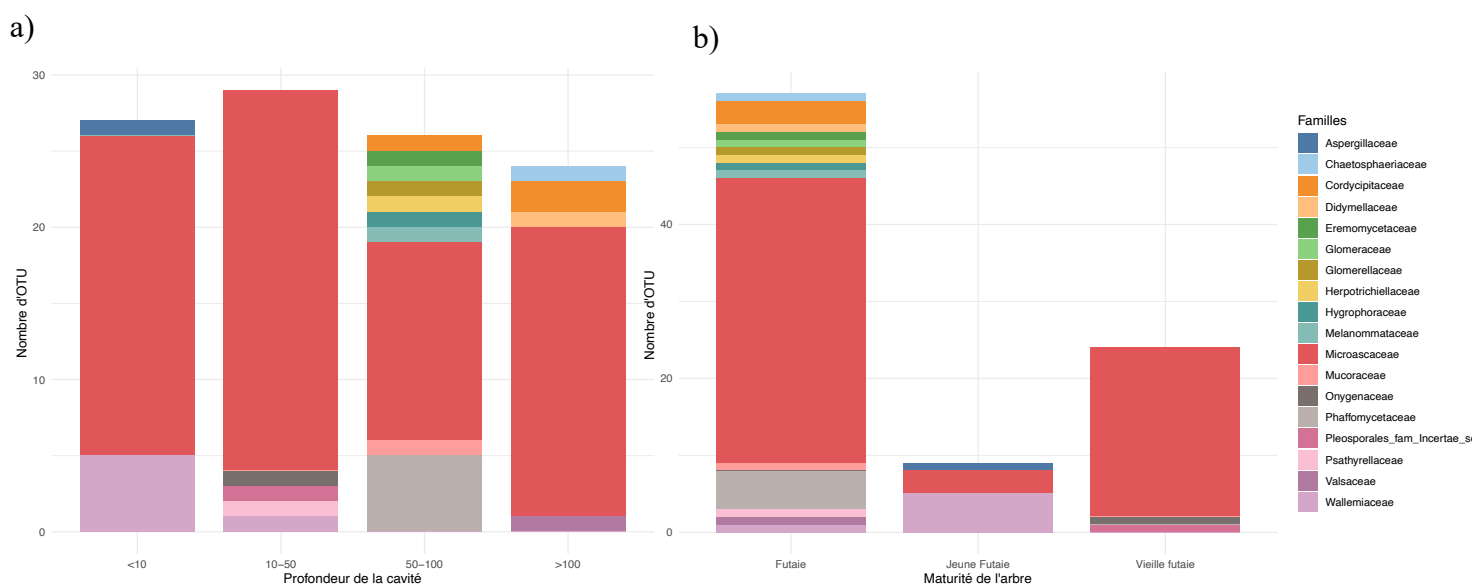


Figure 7. Nombre d'OTUs par famille de champignons se trouvant dans les cavités en fonction des différentes classes de profondeur de la cavité (a) et des différentes classes de maturité de l'arbre (b).

Les analyses précédentes ayant montrées que la famille des Microascaceae était d'une part uniquement détectée dans les cavités et d'autre part la plus représentée dans ces habitats, la relation entre les OTUs de cette famille et les variables environnementales a été étudiée plus en détails. Le modèle linéaire généralisé avec une loi de distribution de Poisson a alors été

considéré comme suivant : Nombre d'OTUs des Microascaceae par site ~ Profondeur de la cavité + Diamètre moyen de l'arbre. Néanmoins, en raison d'une trop grande surdispersion du modèle, un même modèle utilisant une loi de distribution quasi-Poisson a été également considéré (Tableau 2). Les résultats de ce dernier n'ont cependant montré aucune significativité (p-values > 0.05 ; Tableau 2). Nous n'avons donc pas pu mettre en évidence une relation entre le nombre d'OTUs de Microascaceae et la profondeur de la cavité ou le diamètre moyen de l'arbre.

Tableau 2. Résultats des modèles de GLM réalisés pour montrer une relation entre le nombre d'OTUs de Microascaceae, la profondeur de la cavité et le diamètre moyen.

Formule	Famille	Dispersion	AIC	P value
Nb_OTU ~ Profondeur + Diamètre moyen	Poisson	10.7	200.81	Diamètre moyen * (p-value : 0 .021) Profondeur (p-value : 0.216)
Nb_OTU ~ Profondeur + Diamètre moyen	Quasi-Poisson	10.7	NA	Diamètre moyen (p-value : 0 .496) Profondeur (p-value : 0.714)

IV- Discussions

1-Les cavités de pic noir : un micro-habitat possédant une diversité spécifique.

Les cavités sont des dendro-microhabitats qui semblent abriter une diversité fongique spécifique par rapport à ce qui peut être observé dans l'écosystème forestier notamment sur les bois au sol. Les cavités confèrent aux espèces qui s'y abritent des conditions climatiques particulières et souvent modérées par rapport aux conditions climatiques extérieures. Par exemple, elles peuvent conférer un habitat plus sec que l'environnement extérieur en périodes pluvieuses et plus humide lors des périodes plus sèches (Larrieu et al., 2018). Les champignons étant sensibles aux paramètres environnementaux de leur milieu (par exemple humidité, température, luminosité, nature du substrat ; Shiryayev, 2018), nous pouvons donc émettre l'hypothèse que les conditions micro-climatiques des cavités peuvent influencer la composition des communautés fongiques cavicoles. Pour le vérifier il aurait pu être intéressant d'avoir des mesures de la température ou bien de l'humidité de l'intérieur des cavités afin de voir la

différence avec le milieu extérieur et voir si cela avait une influence sur la diversité des taxons présents, mais cela n'a pas été réalisé lors des campagnes d'échantillonnage.

La différence de communautés fongiques entre bois au sol et cavité peut être aussi expliquée par le fait que la composition des communautés fongiques est également influencée par l'état de décomposition du bois. En effet, il existe une succession d'espèces dans les communautés fongiques pour les différentes phases de décomposition du bois (Parisi et al., 2018). Dans un premier temps, des espèces opportunistes qui ne sont pas forcément des décomposeurs du bois vont venir s'installer. Dans un second temps, des espèces qui sont responsables de la décomposition du bois vont apparaître et vont être en compétition pour les ressources. Pour finir, vont subsister les espèces qui sont les plus compétitrices avec principalement que des décomposeurs de bois (Parisi et al, 2018). Dans le contexte des cavités de pic noir, le processus de décomposition du bois est facilité par l'excavation par le pic (Jusino, 2015). En premier lieu, le pic noir peut potentiellement amener des propagules qui vont se développer sur l'arbre (Jusino, 2015). Puis il y a une exposition du bois aux saprotrophes avec une succession de taxons en fonction de l'avancée de la cavité (Jusino, 2022).

Les Microascaeae sont une famille de champignons Ascomycètes de la classe des Sordariomycètes et de l'ordre des Microascales. C'est la famille la plus présente dans les échantillons des cavités que nous avons étudiées et cela pour les deux massifs. Ces résultats sont cohérents avec une autre étude qui présente la diversité des champignons habitant dans les cavités de différents pics (Jankowiak et al., 2019) et qui montrent que les Microascales sont l'ordre dominant dans les cavités de pics. C'est une famille diversifiée de champignons saprotrophes qui sont présents principalement sur des substrats cellulotiques et riches en protéines comme le sol, la litière, les restes d'animaux ou encore les fèces (Abbot, 2000). Leur présence est en cohérence avec le substrat que peuvent contenir les cavités occupées par le pic noir ou les cavicoles secondaires comme nous avons pu l'observer sur des échantillons d'opportunistes (par exemple des fèces d'oiseaux ou de mammifères, des restes d'œufs, des squelettes, des plumes, de la litière). Cette diversité de substrat favorables aux Microascaeae expliquerait le fait que ce soit la famille qui est la plus commune dans les cavités de notre étude. Certaines espèces de Microascaeae, notamment les genres *Scopulariopsis* ou encore *Microascus* qui sont présents dans les cavités que nous avons étudiées, sont des pathogènes opportunistes d'hôtes animaux (Jankowiak et al., 2019 ; Sandoval-Denis et al., 2013). Du fait d'une détermination taxonomique par métabarcoding qui n'a pas permis d'identification à

l'espèce nous ne pouvons être plus précis sur le rôle écologique des OTUs de Microascaceae présentes dans les cavités de notre étude.

2-Liens entre diversité des communautés lignicoles et état des cavités de pic noir

Notre étude a montré que la diversité des familles cavicoles fongiques était dépendante de la profondeur de la cavité de pic noir ainsi que du diamètre moyen de l'arbre à cavité.

D'après Jankowiak et al. (2019), il existerait une variation spatiale de la composition des communautés fongiques au sein d'une même cavité, c'est-à-dire qu'il y a des espèces qui se retrouvent davantage au fond des cavités et d'autres davantage autour de l'entrée. Nous pouvons supposer que dans les cavités qui sont peu profondes (i.e. entre 0 et 10cm environ), il n'y aura pas de taxons qui se retrouvent davantage dans le fond des cavités, et donc cela pourrait expliquer la dépendance que nous avons montrée dans nos résultats entre la profondeur et la diversité des familles de champignons. Une étude plus approfondie sur les traits trophiques des espèces présentes pourrait également être intéressante pour étudier les liens entre cette organisation spatiale au sein de la cavité et les fonctions de la communautés fongique. Par exemple, il pourrait être intéressant d'étudier si les saprotrophes de la matière organique animal se trouvent davantage dans les cavités plus profondes que les saprotrophes du bois.

Les résultats de ce travail ont également montré qu'il y a avait lien entre les communautés fongiques cavicoles présentes et l'âge de l'arbre à cavité. Il a été montré dans la thèse de Gilmartin (2020) que l'âge de l'arbre, et notamment du hêtre, avait un lien avec la présence de certains champignons. Par exemple, un arbre plus mature aura plus de duramen, ou également appelé bois de cœur, et donc plus de chance d'abriter des champignons responsables de la pourriture de cette partie du bois (Gilmartin, 2020). Certaines espèces de champignons peuvent donc être présentes ou non en fonction de l'âge de l'arbre. Cela reste une hypothèse car il y a encore peu d'informations sur le sujet.

Ces deux paramètres environnementaux ne ressortent pas pour expliquer la diversité des Microascaceae. La non significativité du modèle peut venir du fait qu'il manque de données pour avoir un test robuste. Il faudrait donc l'apport d'autres échantillons de cavités afin de confirmer notre résultat ou bien d'obtenir des résultats significatives.

3-Organisation spatiale des communautés fongiques et vecteurs de dispersion possibles

La forte dissimilarité que nous avons pu observer entre les communautés fongiques de cavité et celles des bois au sol au sein des placettes témoin et des placettes à cavité, montrent l'absence ou la faible importance d'échange verticale entre ces deux habitats (du bas vers le haut ou en sens inverse). Il n'y a pas de connexion notable entre les deux, les communautés n'étant pas les mêmes avec très peu d'espèces communes (aux alentours de 90% de dissimilarité avec la diversité beta entre cavité et bois au sol). L'apport des propagules des communautés fongiques cavicoles, par des vecteurs biotiques ou abiotiques, n'est donc pas essentiellement entre la cavité de pic noir et le bois au mort au pied de l'arbre. Nous avons également montré que la diversité de familles fongiques n'est pas liée à la présence ou l'absence du pic sur les bois morts au sol. Ceci indique qu'il y a peu ou pas de dispersion verticale de propagules par le pic noir sur son domaine vital. Nous pouvons également exclure les hypothèses de dispersion par les insectes xylophages car cela se refléterait par une plus forte similarité de communautés entre cavité et bois au sol au pied des arbres à cavité.

La dispersion par le pic n'est tout de même pas à exclure car il n'a pas les mêmes préférences pour sa zone de repos et ses zones de nourrissage (Rolstad et al., 1998). Il peut donc être vecteur de dispersion mais sur des distances plus longues que nos résultats ne montrent pas, entre les cavités de nidification et les arbres de nourrissage. Pour le vérifier, il pourrait être utilisé de comparer les communautés fongiques d'arbres de nourrissage à proximité d'arbres à cavités de nidification. Il pourrait être aussi intéressant de vérifier si le pic peut être vecteur de propagules fongiques avec des prélèvements directs sur le pic noir (ADN sur le bec, plumage) afin de pouvoir analyser les potentiels traces d'ADN de champignons qu'ils pourraient y avoir. En effet dans une étude sur le pic glandivore (*Melanerpes formicivorus*), il a été montré que les communautés fongiques prélevées à l'aide d'écouvillon sur l'oiseau au niveau du bec et des ailes présentaient des similarités à celles retrouvées dans les cavités (Jusino et al., 2022).

4-Variabilité des communautés entre massifs

Nos résultats ont montré certaines différences de familles entre les deux massifs que nous avons étudiés notamment avec des familles comme les Polyporaceae, les Phanerochaetaceae, les Meruliaceae et des Phaggomycetaceae qui sont uniquement présentes à Auberive mais non à l'Aigoual. Les massifs d'Auberive et celui de l'Aigoual sont deux massifs différents de par leur facteurs environnementaux (par exemple altitude, paysage ; Annexe 1) mais aussi de par

leur différence de faciès forestier (essence d'arbre, diamètre moyen). Le massif d'Auberive possède des arbres à cavités avec un plus grand diamètre moyen or nous avons vu que la diversité des familles cavicoles fongiques changeait en fonction du diamètre moyen de l'arbre à cavité.

Le faciès forestier de ces massifs a été étudié lors d'un précédent stage (Guignot, 2023) et a montré qu'il y avait une forêt plus mixte en terme d'essences d'arbre dans le massif de l'Aigoual, qui possède aussi une surface terrière en hêtre plus importante. Les arbres à cavité étant tous des hêtres, quel que soit le massif, la mixité des essences peut jouer sur les dissimilarités des communautés entre massif que nous retrouvons au niveau des échantillons de bois au sol, sachant que l'identité du substrat des champignons lignicoles est un facteur important dans leur diversité (Krah et al., 2018).

Pour étudier ces variations de familles de communautés cavicoles et de communautés sur les bois au sol entre ces massifs ils auraient fallu avoir les données pour les autres massifs comme celui de Loches, de Volcans ou celui des Hautes Alpes pour avoir un jeu de données plus important et donc pouvoir tester les différents paramètres environnementaux et forestiers. C'est une des perspectives du projet TRAMETES 2 lorsque les échantillons d'ADNe de ces massifs seront séquencés.

5-Implications pour la conservation

La présence de cavités de pic noir contribue à la diversité des communautés fongiques de la parcelle qui en possèdent une en apportant des taxons rares mais aussi des familles qui ne se retrouvent pas au sol comme celle des Microascaceae. Cela montre l'importance de garder ces habitats spécifiques qui participent à augmenter la diversité des espèces dans les écosystèmes forestiers et possiblement à la diversité des fonctions écosystémiques associées car les champignons saprotrophes peuvent dégrader la matière organique et participent à l'assimilation du carbone (Niego et al., 2023). De plus sur les bois morts au sol, nous retrouvons notamment des taxons saproxyliques donc qui dépendent uniquement du bois mort. Au niveau européen, il est estimé que 20 à 50 % des espèces saproxyliques sont menacés d'extinction et elles représentent 25 % des espèces forestières (Gosselin et Gosselin, 2008). Parmi ces espèces, des champignons sont présents et menacés du fait de la sylviculture intensive et l'abattage des vieux bois (UICN France et al., 2024). Une attention spécifique des communautés fongiques commence à apparaître avec notamment une première liste rouge au niveau national présentant

quelques groupes de champignons menacés (UICN Comité français et al., 2024). Pour préserver la biodiversité associée aux cavités de pics noir et notamment les communautés fongiques il est nécessaire de protéger ces microhabitats et de préserver la continuité écologique pour le pic.

Pour protéger les micro-habitats et notamment les dendro micro-habitats, il est dans un premier temps nécessaire de les identifier. C'est pourquoi il existe des guides ONF sur les vieux bois et les dendro micro-habitats pour les gestionnaires forestiers, qui indiquent les différents types de micro-habitats et l'importance de les conserver dans la mesure du possible (par exemple Biache et al., 2017, Bütler et al., 2020). Ces arbres doivent dans l'idéal subsister jusqu'à leur effondrement et même lorsqu'ils se décomposent au sol pour faire profiter toutes les successions de communautés qui y sont associées.

Pour garder une continuité écologique qui permet au pic noir de trouver des habitats favorables, des îlots de sénescence peuvent être mis en place pour constituer une trame de vieux bois avec des arbres qui peuvent potentiellement être utilisés par le pic pour y creuser une cavité et donc profiter à toute la biodiversité qui lui est associé (Biache et al., 2017). Les îlots de sénescence correspondent à des zones où les arbres ne sont pas exploités et où ils vieillissent naturellement jusqu'à leur mort et leur décomposition (Lachat et Bütler Sauvain, 2008). Les îlots de sénescence font partie des habitats favorables pour le pic noir qui préfère les forêts matures avec des arbres anciens et de diamètre assez larges (Bocca et al., 2007 ; Garmendia et al., 2006). L'intégration des arbres habitats et la mise en place de continuité d'îlots de sénescence dans les trames de vieux bois sont des sujets qui sont abordés et mise en place par le réseau FRENE (FoRêts en libre Evolution NaturElle) en Auvergne-Rhône-Alpes et qui tend à se développer dans un contexte national (Coq, 2021). Les projets TRAMETES et TRAMETES 2 sur lesquels nous travaillons mettent quant à eux en lumière ces thématiques en montrant la contribution de ces trames de vieux bois à la biodiversité des écosystèmes forestiers.

V- Conclusion

Les cavités de pic noirs sont des dendro-microhabitats possédant une diversité spécifique par rapport à ce qui se trouve au sol. Elles apportent de la diversité à la parcelle avec des familles de champignons comme par exemple les Microascaceae qui est une famille que nous ne retrouvons pas au sol. Cela implique donc des actions de conservations qui doivent être axées sur les dendro-microhabitats. Nos résultats ont mis également en évidence que la

composition des communautés fongicoles cavicoles seraient dû à des processus propres à la cavité et à l'arbre dans laquelle elle se trouve. Il n'y a pas d'organisation spatiale locale spécifique et de mise en évidence d'un échange verticale par des espèces comme le pic ou bien des insectes xylophages. Des études plus approfondies sur l'écologie du pic noir et des champignons qu'il transportent seraient envisageables pour la suite de ce projet.

VI- Bibliographie

Abarenkov, K., Zirk, A., Piirmann, T., Pöhönen, R., Ivanov, F., Nilsson, R. H; Kõljalg, U., (2022): UNITE UCHIME reference dataset. Version 16.10.2022. UNITE Community. <https://doi.org/10.15156/BIO/2483933>

Abarenkov, K., Zirk, A., Piirmann, T., Pöhönen, R., Ivanov, F., Nilsson, R. H; Kõljalg, U., (2024): Full UNITE+INSD dataset for Fungi. Version 21.04.2024. UNITE Community. <https://doi.org/10.15156/BIO/2959330>

Abbott, S. P. (2000). Holomorph studies of the Microascaceae.

Anslan, S, Bahram, M, Hiiesalu, I, Tedersoo, L. PipeCraft: Flexible open-source toolkit for bioinformatics analysis of custom high-throughput amplicon sequencing data. *Mol Ecol Resour.* 2017; 17: e234– e240. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12692>

Baselga, A., & Orme, C. D. L. (2012). betapart : An R package for the study of beta diversity. *Methods in Ecology and Evolution*, 3(5), 808-812. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2012.00224.x>

Bocca, M., Carisio, L., & Rolando, A. (2007). Habitat use, Home Ranges and Census Techniques in the Black Woodpecker *Dryocopus martius* in the Alps. *Ardea*, 95(1), 17-29. <https://doi.org/10.5253/078.095.0103>

Bütler, R., Lachat, T., Krumm, F., Kraus, D., & Larrieu, L. (s. d.). Guide de poche des dendromicrohabitats. Description et seuils de grandeur pour leur inventaire. Birmensdorf, Institut fédéral de recherches WSL, 59.

Cabrera, C., Monnet, C., Boutteaux, J. M., Doutau, J. J., Denis, B., & Paillet, Y. (2022). Over the hills and far away : Landscape factors affecting cavity digging by the Black woodpecker (*Dryocopus martius*, L. 1758). <https://doi.org/10.1101/2022.06.22.497197>

Colmant, L. (2016). Les loges du Pic noir *Dryocopus martius* : Espèces hôtes et prédation par la martre *Martes martes* en période de nidification et en automne-hiver. *AVES*, 53(2), 69-82.

Coq, F. (2021). Réseau FRENE : la libre évolution comme choix de gestion durable. *Rendez vous technique de l'ONF*, 71-72, pp.35-42. <https://hal.science/hal-03966058>

Elliott, T., Jusino, M., Trappe, J., Lepp, H., Ballard, G.-A., Bruhl, J., & Vernes, K. (2019). A global review of the ecological significance of symbiotic associations between birds and fungi. *Fungal Diversity*, 98. <https://doi.org/10.1007/s13225-019-00436-3>

Garmendia, A., Cárcamo, S., & Schwendtner, O. (2006). Forest Management Considerations for Conservation of Black Woodpecker *Dryocopus martius* and White-backed Woodpecker *Dendrocopos leucotos* Populations in Quinto Real (Spanish Western Pyrenees). *Biodiversity & Conservation*, 15(4), 1399-1415. <https://doi.org/10.1007/s10531-005-5410-0>

Geml, J., Pastor, N., Fernandez, L., Pacheco, S., Semenova, T. A., Becerra, A. G., Wicaksono, C. Y., & Nouhra, E. R. (2014). Large-scale fungal diversity assessment in the Andean Yungas forests reveals strong community turnover among forest types along an altitudinal gradient. *Molecular Ecology*, 23(10), 2452-2472. <https://doi.org/10.1111/mec.12765>

Gorman, G. (2014). *Woodpeckers of the World : The Complete Guide*. A&C Black.

Gosselin, M., & Gosselin, F. (2008). *Indicateurs et suivis de biodiversité forestière*. <https://hal.inrae.fr/hal-02590479>

Gosselin, M., & Laroussinie, O. (2004). Biodiversité et gestion forestière Connaître pour préserver. Synthèse bibliographique (p. 320). Cemagref Editions. <https://hal.inrae.fr/hal-02583002>

Gilmartin, E. C. (2020). Fungal communities of beech (*Fagus sylvatica*) trees : Heart rot and origins of decay.

Guignot, M.E (2023), Rapport de stage : Caractérisation de peuplements forestiers et biodiversité associés aux cavités de pic noir.

IGN (Institut national de l'information géographique et forestière). (2022). Inventaire Forestier National : Mémento 2022. https://inventaire-forestier.ign.fr/IMG/pdf/memento_2022.pdf

IPBES. (2019). Summary for policymakers of the global assessment report on biodiversity and ecosystem services. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10413114>

Jackson, J. A., & Jackson, B. J. S. (2004). Ecological Relationships Between Fungi and Woodpecker Cavity Sites. *The Condor*, 106(1), 37-49. <https://doi.org/10.1093/condor/106.1.37>

Jankowiak, R., Ciach, M., Bilański, P., & Linnakoski, R. (2019). Diversity of wood-inhabiting fungi in woodpecker nest cavities in southern Poland. *Acta Mycologica*, 54. <https://doi.org/10.5586/am.1126>

Johansson, N. R., Kaasalainen, U., & Rikkinen, J. (2021). Woodpeckers can act as dispersal vectors for fungi, plants and microorganisms. *Ecology and Evolution*, 11(12), 7154-7163. <https://doi.org/10.1002/ece3.7648>

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. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.11.002>

- Jusino, M. A., Lindner, D. L., Banik, M. T., Rose, K. R., & Walters, J. R. (2016). Experimental evidence of a symbiosis between red-cockaded woodpeckers and fungi. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1827), 20160106. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.0106>
- Jusino, M. A., Hagemeyer, N. D. G., Banik, M. T., Palmer, J. M., Lindner, D. L., Smith, M. E., Koenig, W. D., & Walters, E. L. (2022). Fungal communities associated with acorn woodpeckers and their excavations. *Fungal Ecology*, 59, 101154. <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2022.101154>
- Krah, F.-S., Seibold, S., Brandl, R., Baldrian, P., Müller, J., & Bässler, C. (2018). Independent effects of host and environment on the diversity of wood-inhabiting fungi. *Journal of Ecology*, 106(4), 1428-1442. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12939>
- Lachat, T., & Bütler Sauvain, R. (2008). Ilots de sénescence et arbres-habitats pour augmenter la biodiversité en forêt. *La forêt*, 20-21.
- Lanier, L., Badré, M., Delabrazé, P., Dubourdieu, J., & Flammarion, J.-P. (1994). *Précis de sylviculture*.
- Larrieu, L., Paillet, Y., Winter, S., Bütler, R., Kraus, D., Krumm, F., Lachat, T., Michel, A. K., Regnery, B., & Vandekerckhove, K. (2018). Tree related microhabitats in temperate and Mediterranean European forests: A hierarchical typology for inventory standardization. *Ecological Indicators*, 84, 194-207. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.08.051>
- Lindahl, B. D., Nilsson, R. H., Tedersoo, L., Abarenkov, K., Carlsen, T., Kjølner, R., Kõljalg, U., Pennanen, T., Rosendahl, S., Stenlid, J., & Kauserud, H. (2013). Fungal community analysis by high-throughput sequencing of amplified markers – a user's guide. *New Phytologist*, 199(1), 288-299. <https://doi.org/10.1111/nph.12243>
- Marcon, E., & Hérault, B. (2015). entropart : An R Package to Measure and Partition Diversity. *Journal of Statistical Software*, 67(8), 1-26. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i08>
- Niego, A. G. T., Rapior, S., Thongklang, N., Raspé, O., Hyde, K. D., & Mortimer, P. (2023). Reviewing the contributions of macrofungi to forest ecosystem processes and services. *Fungal Biology Reviews*, 44, 100294. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2022.11.002>
- Norros, V., Penttilä, R., Suominen, M., & Ovaskainen, O. (2012). Dispersal may limit the occurrence of specialist wood decay fungi already at small spatial scales. *Oikos*, 121(6), 961-974. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2012.20052.x>
- Oksanen J, Simpson G, Blanchet F, Kindt R, Legendre P, Minchin P, O'Hara R, Solymos P, Stevens M, Szoecs E, Wagner H, Barbour M, Bedward M, Bolker B, Borcard D, Carvalho G, Chirico M, De Caceres M, Durand S, Evangelista H, FitzJohn R, Friendly M, Furneaux B, Hannigan G, Hill M, Lahti L, McGlinn D, Ouellette M, Ribeiro Cunha E, Smith T, Stier A, Ter Braak C, Weedon J (2022). *_vegan: Community Ecology Package_*. R package version 2.6-4, <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- ONF (C.Biache et al.). (2017). Vieux bois et bois morts. Guide technique. *Office national des forêts, Direction forêts et risques naturels (DFRN)*, 102 p.

Parisi, F., Pioli, S., Lombardi, F., Fravolini, G., Marchetti, M., & Tognetti, R. (2018). Linking deadwood traits with saproxylic invertebrates and fungi in European forests—A review. *iForest - Biogeosciences and Forestry*, 11(3), 423. <https://doi.org/10.3832/ifor2670-011>

Posit team (2023). RStudio: Integrated Development Environment for R. Posit Software, PBC, Boston, MA. <http://www.posit.co/>.

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. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2019.117621>

Ratnasingham, S., & D.N. Herbert, P. (2007). BOLD : The barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*, 7, 355–364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x>

Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F. (2016) VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ* 4:e2584. doi: 10.7717/peerj.2584

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*, 62(1), 11-23. <https://doi.org/10.2307/3802260>

Sandoval-Denis, M., A.Sutton, D., W.Fothergill, A., Cano-Lira, J., Gené, J., Decock, C. A., de Hoog, G. S., & Guarro, J. (2013). Scopulariopsis, a Poorly Known Opportunistic Fungus : Spectrum of Species in Clinical Samples and In vitro Responses to Antifungal Drugs. *Journal of Clinical Microbiolog.* <https://doi.org/10.1128/jcm.01927-13>

Schoch, C. L., Seifert, K. A., Huhndorf, S., Robert, V., Spouge, J. L., Levesque, C. A., Chen, W., & Fungal Barcoding Consortium. (2012). Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi. *PNAS*, 109(16), 6241-6246. <https://doi.org/10.1073/pnas.1117018109>

Schnitzler-Lenoble, A. (1996). En europe, la forêt primaire. *La Recherche*, 290, 68–72.

Shiryaev, A. G. (2018). Spatial diversity of clavarioid mycota (Basidiomycota) at the forest-tundra ecotone. *Mycoscience*, 59(4), 310–318. <https://doi.org/10.1016/j.myc.2018.02.007>

Tews, J., Brose, U., Grimm, V., Tielbörger, K., Wichmann, M. C., Schwager, M., & Jeltsch, F. (2004). Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity : The importance of keystone structures. *Journal of Biogeography*, 31(1), 79-92. <https://doi.org/10.1046/j.0305-0270.2003.00994.x>

UICN France. (2013). Panorama des services écologiques fournis par les milieux naturels en France. 2.1.

UICN Comité français, OFB, MNHN, & AdoniF. (2024). La Liste rouge des espèces menacées en France – Chapitre Champignons de France métropolitaine : Bolets, lactaires et tricholomes. Paris, France.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and Direct Sequencing of Fungal Ribosomal RNA Genes for Phylogenetics. *PCR Protocols*, 315-322.

Winkler, H. and D. A. Christie (2020). Black Woodpecker (*Dryocopus martius*), version 1.0. In *Birds of the World* (J. del Hoyo, A. Elliott, J. Sargatal, D. A. Christie, and E. de Juana, Editors). Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY, USA. <https://doi-org.mnhn.idm.oclc.org/10.2173/bow.blawoo1.01>

VII- Résumé / Abstract :

Les cavités de pic noir sont des dendro micro-habitats qui sont reconnus comme étant des supports importants de la biodiversité. Elles apportent un nouveau habitat pour un cortège d'espèces cavicoles secondaires et notamment pour des communautés fongiques. Dans cette étude, nous avons analysés deux massifs forestiers français qui sont le massif d'Auberive et celui de l'Aigoual. Des analyses de métabarcoding ont été effectuées afin de constituer une liste d'OTUs pour des échantillons prélevés au sein des cavités et des échantillons prélevés au sol dans des zones à cavité et des zones sans. Les nombres de Hill et la beta diversité ont été calculés afin de comparer les types d'échantillons puis nous avons tenté d'expliquer nos variation d'espèces entre les cavités avec des paramètres comme le diamètre de l'arbre à cavité et la profondeur de la cavité. Nous avons trouvé des différences importantes de communautés entre les types d'échantillons et surtout entre les cavité et le bois au sol avec présence de Microascaceae dans les cavités que nous ne retrouvons pas dans les bois au sol. Nous avons trouvé que la profondeur de la cavité et la maturité de l'arbre joue sur la diversité des familles cavicoles. Nos résultats ont donc montré que les cavités étaient des micro habitats possédant une diversité spécifique qui apporte des espèces à l'écosystème forestier. L'influence du pic dans l'organisation spatiale de ces espèces n'a pas été montré mais cela il faudrait faire des études plus approfondies sur le pic pour confirmer ou non ces résultats. Dans notre étude l'organisation spatiale est dû à des processus propres à la cavité et à l'arbre qui l'abrite.

Black woodpecker cavities are dendro micro-habitats that are recognized as important supports for biodiversity. They provide a new habitat for a range of secondary cavity-dwelling species, including fungal communities. In this study, we analyzed two French forest massifs: Auberive and Aigoual. Metabarcoding analyses were carried out to compile a list of OTUs for samples taken within cavities and samples taken from the ground in cavity zones and non-cavity zones. Hill numbers and beta diversity were calculated to compare sample types, and we then attempted to explain our species variation between cavities with parameters such as cavity tree diameter and cavity depth. We found significant differences in communities between sample types and especially between cavities and groundwood, with the presence of Microascaceae in cavities that we did not find in groundwood. We found that cavity depth and tree maturity influence the diversity of cavity families. Our results show that cavities are microhabitats with a specific diversity that contributes species to the forest ecosystem. The influence of the woodpecker on the spatial organization of these species has not been shown, but more studies on woodpeckers are needed to confirm or refute these results. In our study, spatial organization is due to processes specific to the cavity and the tree that shelters it.

VIII- Annexes

Annexe 1 : Caractéristiques écologiques des sites étudiés tirées de l'étude de Cabrera et al en 2022.

Site	Cavity number	Elevation (m)		Mean annual temperature (°C)		Mean annual precipitation (mm)		Slope (deg)		Methods of cavity inventory	Data provider
		Min/Max	Mean	Min/Max	Mean	Min/Max	Mean	Min/Max	Mean		
Aigoual	1819	796/1398	1218	5.6/10.2	7.3	774/979	900.9	1.1/51.4	16.4	Active and systematic search by foresters and National Park staff	National Forest Service (ONF) and Cévennes National Park
Causses	251	821/1400	1122	5.9/10.2	7.8	769/966	864.7	1.2/48.1	22.5		
Mont Lozère	14	941/1187	1107	6.8/8.7	7.5	787/898	857.8	10/33.3	17.2		
Vallées Cévenoles	10	919/1248	1156	7.1/9.3	7.8	790/881	850.3	7.7/25.6	17.3		
Auberive	194	360/504	440	8.7/9.6	9.1	802/911	853	0/31.2	7.8	Inventory during tree selection operations	National Forest Service (ONF)
Ecouges	1	1218	1218	5.7	5.7	1187	1187	16.4	16.4	Active and systematic searching by natural areas managers	Conseil Départemental de l'Isère (Natural area manager)
Loches	111	91/141	124	11/11.3	11.1	690/716	703.8	0/9.7	1.9	Active searching by a naturalist	M. Dubois (naturalist)
Semnoz	37	1017/1500	1353	4.6/7.5	5.6	1154/1430	1335	4.3/28	12.2	Active and systematic searching by a NGO	Ligue pour la Protection des Oiseaux (LPO, B. Douteau)
Volcans	252	685/1154	935	6.5/8.7	7.6	765/912	841	0.9/40.7	10.3	Active and systematic searching by a regional park	Parc Naturel Régional des Volcans d'Auvergne

Annexe 2 : Familles et genres les plus communs pour le massif de l'Aigoual avec indication sur le nombre de reads.

Famille	Genre	Nombres de sites où présents (sur les 10)	Nombres d'OTUS				
			Total	>10 000 reads	Entre 10 000 et 1000 reads	Entre 1000 et 100 reads	<100 reads
Cavité							
NA	NA	4	29			3	26
Microascaceae	NA	4	27		1	3	23
Microascaceae	Microascus	4	3			1	2
Microascaceae	Wardomyces	2	1				1
Microascaceae	Scopulariopsis	1	4				4
Cordycipitaceae	NA	1	2				2
Chaetosphaeriaceae	NA	1	1				1
Cordycipitaceae	Simplicillium	1	1				1
Didymellaceae	NA	1	1				1
Glomeraceae	NA	1	1				1
Glomerellaceae	Colletotrichum	1	1				1
Herpotrichiellaceae	Exophiala	1	1				1
Melanommataceae	NA	1	1				1
Mucoraceae	Mucor	1	1				1
Psathyrellaceae	Coprinopsis	1	1				1
Valsaceae	Cytospora	1	1				1
Wallemiaceae	Wallemia	1	1				1
Bois au sol – placette à cavité							
NA	NA	7	16			2	14
Chaetosphaeriaceae	NA	6	3			2	1
Cordycipitaceae	NA	4	4				4
Diatrypaceae	NA	3	2			1	1
Debaryomycetaceae	Scheffersomyces	3	1				1
Valsaceae	Cytospora	2	1				1
Chaetosphaeriaceae	Chaetosphaeria	1	1				1
Helotiaceae	Ascocoryne	1	1				1

Helotiaceae	Bisporella	1	1				1
Rhytismataceae	Coccomyces	1	1				1
Rickenellaceae	Peniophorella	1	1				1
Saccharomycetaceae	Candida	1	1				1
Schizoporaceae	Schizopora	1	1				1
Steccherinaceae	Antrodiella	1	1				1
Thyridiaceae	Thyridium	1	1				1
Tricholomataceae	Megacollobia	1	1				1
Valsaceae	NA	1	1				1
Xylariaceae	NA	1	1				1
<i>Bois au sol – placette témoin</i>							
NA	NA	10	24				24
Chaetosphaeriaceae	NA	7	3			1	2
Cylindriaceae	Cylindrium	2	1				1
Rickenellaceae	Peniophorella	2	1				1
Strophariaceae	Pholiota	2	1			1	
Valsaceae	Cytospora	2	1			1	
Cordycipitaceae	NA	1	23			2	21
Cordycipitaceae	Beauveria	1	2				2
Coniochaetaceae	NA	1	1				1
Crepidotaceae	Simocybe	1	1				1
Diatrypaceae	Diatrypella	1	1				1
Diatrypaceae	NA	1	1				1
Herpotrichiellaceae	NA	1	1				1
Hypoxylaceae	Hypoxylon	1	1				1
Orbiliaceae	NA	1	1				1
Rhytismataceae	Coccomyces	1	1				1
Tricholomataceae	Megacollobia	1	1				1

Annexe 3 : Familles et genres les plus communs pour le massif d'Auberive avec indication sur le nombre de *reads*.

Famille	Genre	Nombres de sites où présents (sur les 9)	Nombres d'OTUS				
			Total	>10 000 reads	Entre 10 000 et 1000 reads	Entre 1000 et 100 reads	<100 reads
Cavité							
Microascaceae	NA	5	20		1	2	17
NA	NA	4	23			1	22
Microascaceae	Microascus	4	2			1	1
Phaffomycetaceae	Komagataella	1	5	1			4
Wallemiaceae	Wallemia	1	5			1	4
Microascaceae	Scopulariopsis	1	2				2
Aspergillaceae	Penicillium	1	1				1
Eremomycetaceae	Arthrographis	1	1				1
Hygrophoraceae	Hygrocybe	1	1				1
Microascaceae	Wardomyces	1	1				1
Onygenaceae	Chrysosporium	1	1				1
Incertae sedis	Monodictys	1	1			1	
Bois au sol – placette à cavité							
NA	NA	9	18			2	16
Chaetosphaeriaceae	NA	9	5			1	4
Hydnodontaceae	Trechispora	3	1				1

Lycoperdaceae	Lycoperdon	2	4			1	3
Meruliaceae	Phlebia	2	3				3
Meruliaceae	NA	2	2				2
Tricholomataceae	Megacollobia	2	2				2
Amylocorticiaceae	Amyloxenasma	2	1				1
Cordycipitaceae	NA	1	5				5
Gomphaceae	Ramaria	1	4			1	3
Diatrypaceae	Diatrypella	1	2			1	1
Diatrypaceae	Eutypa	1	2				2
Chaetosphaeriaceae	Chaetosphaeria	1	1				1
Crepidotaceae	Simocybe	1	1				1
Cylindriaceae	Cylindrium	1	1				1
Diatrypaceae	NA	1	1				1
Incertae sedis	Trichothecium	1	1				1
Phaffomycetaceae	Komagataella	1	1				1
Phanerochaetaceae	Hyphodermella	1	1				1
Pluteaceae	Pluteus	1	1				1
Polyporaceae	Polyporus	1	1				1
Strophariaceae	Stropharia	1	1				1
Xylariaceae	Nemania	1	1				1
<i>Bois au sol – placette témoin</i>							
NA	NA	9	30	1		3	26
Chaetosphaeriaceae	NA	5	3			1	2
Phanerochaetaceae	Hyphodermella	5	1			1	
Cylindriaceae	Cylindrium	4	1			1	
Helotiaceae	Bisporella	3	1				1
Polyporaceae	Cyanosporus	2	5			1	4
Schizoporaceae	Schizopora	2	2			1	1
Meruliaceae	NA	2	1				1
Strophariaceae	Stropharia	2	1			1	
Cordycipitaceae	NA	1	7			1	6
Diatrypaceae	Eutypa	1	2			1	1
Diatrypaceae	Diatrypella	1	1				1
Herpotrichiellaceae	Exophiala	1	1				1
Lecanoraceae	Lecidella	1	1				1
Lobulomycetaceae	Lobulomyces	1	1				1
Meruliaceae	Phlebia	1	1				1
Ophiostomataceae	Cornuvesica	1	1			1	
Phaffomycetaceae	Komagataella	1	1				1
Phanerochaetaceae	Terana	1	1				1
Polyporaceae	Datronia	1	1				1
Roccellaceae	Gyrographa	1	1				1
Schizoporaceae	Xylodon	1	1			1	
Vuilleminiaceae	Vuilleminia	1	1				1
Xylariaceae	Nemania	1	1				1