

Biosefair 2022

Proposition de projet exploratoire – 2^{ème} soumission

Partie A : Fiche d'identité

1. **Acronyme**

TRAMETES 2

2. **Titre complet**

Contribution de la trame de vieux bois à l'état de conservation des habitats forestiers et des espèces

3. **Résumé** (max 1 500 caractères, espaces compris)

L'évaluation de l'état de conservation des habitats forestiers repose sur des méthodes principalement indirectes (bioindicateurs, dynamique de station). En ce qui concerne les espèces à enjeux, la contribution des éléments de structure forestière à l'état des populations est assez mal connue et, de fait, le lien entre conservation des habitats naturels et conservation d'espèces reste relativement méconnu, en particulier les rôles respectifs des cavités de pic noir et de la maturité forestière comme supports de biodiversité. Le projet TRAMETES 2 vient compléter le projet TRAMETES (financement MNHN, 2021-2023) sur 3 points :

- Une acquisition de données sur une série de sites supplémentaires de manière à augmenter la puissance statistique et la robustesse de l'échantillonnage ;
- L'utilisation approfondie des données éco-acoustiques pour la détermination d'espèces d'oiseaux et de chauve-souris (voir de la communauté entière) au-delà des espèces de chouettes et de pics initialement prévues dans le projet ;
- La recherche des vecteurs des champignons typiques des cavités (notamment abeilles), et l'approfondissement de la description des occupants des cavités de pic noir, par l'utilisation de méthodes d'ADN environnemental.

Ainsi, le projet TRAMETES2 répond à l'objectif de connaissance de la biodiversité pour sa conservation et de la construction d'indicateurs de biodiversité robustes et validés, pour des groupes d'organismes associés à des services écosystémiques multiples. Le projet propose également des développements méthodologiques pour le suivi de la biodiversité au travers de collaborations inter-équipes d'INRAE et au-delà.

4. **Mots-clés** (5 maximum)

Dendromicrohabitat, cavité, biodiversité, éco-acoustique, métabarcoding environnemental

5. **Thèmes du métaprogramme dans le(s)quel(s) s'inscrit votre projet** (vous n'êtes pas obligé de cocher à la fois axe et question : cernez ce qui correspond le mieux à votre projet).

- Axe 1 : comprendre les relations entre la biodiversité et les services écosystémiques
- Axe 2 : quantifier et les cartographier la biodiversité et les services écosystémiques
- Axe 3 : produire des outils de pilotage, dans une perspective d'appui aux politiques publiques

- Question 1 : Comment les interfaces entre milieux et les interactions entre activités influent sur la biodiversité et les services écosystémiques ?
- Question 2 : Quelle est la dynamique des réseaux de services écosystémiques, dans un contexte de changements globaux et en réponse aux actions de pilotage engagées pour les transitions ?
- Question 3 : La santé globale : vers de nouveaux enjeux de la préservation de la biodiversité ?

6. **Expertises du coordinateur/coordinatrice, du co-coordinateur/coordinatrice éventuel.le et des partenaires du projet au sein des unités INRAE.** Indiquez les noms de toutes les personnes impliquées dans le projet, **en donnant le même numéro de partenaire, si les personnes font partie de la même équipe.** Les membres d'autres instituts appartenant à une **UMR et USC doivent être mentionnés en partenaire INRAE**

Partenaires INRAE N	Nom Prénom	Département	N°codique Acronyme d'unité	Équipe	Expertises apportées au projet **	Implication en pers mois *
Coordinateur = Partenaire 1	Paillet Yoan	ACT	LESSEM	Bioses	Dendromicrohabitats Biodiversité forestière Analyses statistiques	10
Co-coordinatrice = Partenaire 2	Lucie Vincenot	ECODIV	ECODIV, Université de Rouen Normandie - USC INRAE	Ecodiv	Communautés fongiques Métabarcoding environnemental	10
Partenaire 3	Jean Thevenet / Norbert Turion	ECODIV	UEFM 0348	UEFM	Expérimentation forestière	1
Partenaire 4	Thomas Delattre	SPE	PSH	EPI	Éco-acoustique	2

* : préciser l'implication de chaque participant en personne mois sur la durée du projet (1 personne mois correspond à une personne à temps plein pendant 1 mois) : pour vous aider vous pouvez dès à présent remplir la fiche « budget » qui n'est exigée que pour un projet accepté mais qui vous permettra de faciliter le calcul du temps

* : cette colonne sera utilisée pour évaluer les disciplines impliquées dans le projet et la complémentarité des partenaires

7. **Partenaires non-INRAE et expertises/rôle dans le projet** : les prestataires ne doivent pas apparaître dans le tableau partenaires non INRAE

Partenaire N°	Nom Prénom	Pays	Institut/ Structure	Labo	Implication*	Expertises apportées au projet**
Partenaire 5	Fabrice Requier	France	IRD	EGCE	2	Abeilles mellifères sauvages Pollinisation
Partenaire 6	Alicia Charennat	Allemagne	foldAI	-	3	Éco-acoustique

* : préciser l'implication de chaque participant en personne mois sur la durée du projet (1 personne mois correspond à une personne à temps plein pendant 1 mois) : pour vous aider vous pouvez dès à présent remplir la fiche « budget » qui n'est exigée que pour un projet accepté mais qui vous permettra de faciliter le calcul du temps

** : cette colonne sera utilisée pour évaluer les disciplines impliquées dans le projet et la complémentarité des partenaires.

8. Vous pouvez ajouter quelques lignes de description pour chaque partenaire afin d'aider à évaluer la qualité et les complémentarités (merci de vous en tenir à un format court, de type liste à puces).

- Le Laboratoire EcoSystèmes et Sociétés En Montagne (LESSEM) développe des recherches sur les dynamiques des socio-écosystèmes en montagne, associant sciences écologiques et sciences sociales.
- Le laboratoire ECODIV (Étude et Compréhension de la bioDIVERSité) étudie les interactions entre compartiments du sol et de la végétation (chaînes trophiques, mécanismes d'interaction) et les relations entre la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes terrestres.
- L'UEFM est une Unité expérimentale INRAE qui (i) met en œuvre des expérimentations, des observations et des outils de gestion pour des programmes de recherche en écologie des forêts méditerranéennes et (ii) conduit des recherches appliquées en techniques de biocontrôle des insectes ravageurs des forêts et Jardins, Espaces Végétalisés et Infrastructures (JEVI).
- L'unité PSH (Plantes et Systèmes de cultures Horticoles) pour mission de contribuer à la mise au point de systèmes de culture des fruits et légumes et de scénarios paysagers en zone méditerranéenne. L'équipe EPI a récemment investi dans l'analyse de données écoacoustiques pour la détermination d'espèces d'oiseaux.
- Le laboratoire EGCE (Evolution Génomes Comportement Ecologie) étudie l'impact des changements globaux sur la diversité, l'abondance et l'écologie des insectes pour identifier les mécanismes qui sous-tendent leurs réponses aux pressions biotiques et abiotiques avec perspectives appliquées à la gestion de l'environnement et la conservation de la biodiversité.
- L'entreprise foldAI (Turner und Partner Data Scientists PartG) développe l'infrastructure et l'analyse pour le suivi des écosystèmes naturels en temps réel. Cette technologie est appliquée dans des domaines tels que la recherche appliquée, la gestion des forêts proche de la nature, l'agriculture régénératrice et la gestion des risques naturels.

9. Durée du projet :

Nombre de mois	Date de début	Date de fin
24 mois	1 ^{er} septembre 2022	31 août 2024

10. Financement total demandé :

Montant total : 50000 €

	€ en 2022	€ en 2023	€ en 2024
Frais de missions, réseautage et dissémination	1000	3300	1500
Équipements (petits et moyens)		1200	
Fonctionnement			4500
Gratification de stage : 3 stages niveau Master			10500
Sous-traitance, prestation de service : FoladAI, Genotoul	13000	10000	5000
Total :	14000	14500	21500

11. Répartition par équipe et par année du financement demandé

	€ en 2022	€ en 2023	€ en 2024
Partenaire INRAE 1 : LESSEM	13500	9000	4000
Partenaire INRAE 2 : ECODIV	500	1500	13500
Partenaire INRAE 3 : UEFM		4000	
Partenaire INRAE 4 : EPI			4000
Total :	14000	14500	21500

Attention les sous-traitances doivent être intégrées dans les budgets des équipes INRAE, pour les USC, il est préférable que les budgets (notamment s'ils sont faibles) soient pris en charge par une équipe INRAE.

12. Détail des stages et des prestations

Merci de préciser le nombre de stages prévus au cours du projet

3 stages de 6 mois (étudiant.es de niveau Master 1, Master 2) répartis entre les partenaires 1 (LESSEM, 1 stage en 2024), 2 (laboratoire Ecodiv ; 1 stage en 2024) et 4 (Laboratoire EPI, 1 stage en 2024). Pour le LESSEM, il s'agira d'approfondir l'analyse des données écoacoustiques en identifiant des espèces susceptibles de répondre aux indicateurs de biodiversité (chauve-souris et oiseaux cavicoles). Pour Ecodiv, l'étudiant.e aura en charge la production et l'analyse des données moléculaires (métabarcoding environnemental).

Détailler la nature des prestations et justifiez leur nécessité.

Une prestation de production et de première analyse de données écoacoustiques (oiseaux et chauve-souris) est demandée à la société foldAI (<https://fold.ai/>), qui est spécialisée dans l'installation de capteurs acoustiques *in situ* et dans l'analyse de signaux issus de ces capteurs. Ce travail concerne environ 30 placettes réparties sur 3 massifs forestiers métropolitains (Volcans d'Auvergne, Forêt Domaniale de Loches, Forêt Domaniale de Rambouillet, Annexes 1 & 2). FoldAI est une entreprise spécialisée dans le traitement des données et dispose d'outils opérationnels pour la collecte de ces données *in situ* (capteurs éco-acoustiques). Le fait que FoldAI maîtrise l'ensemble de la chaîne d'acquisition nous permet de se concentrer sur les autres tâches du projet (coordination, échantillonnage, dendrométrie, taxons).

Une prestation de séquençage à haut débit par technologie Illumina MiSeq par la plate-forme technique Genotoul (<https://www.genotoul.fr/>) est prévue en 2024 pour séquencer environ 180 amplicons d'ADN environnementaux, dans la méthode de métabarcoding environnemental pour décrire les communautés fongiques contenues dans les différents échantillons. Cette prestation aura lieu en dernière année de projet (premier semestre 2024) avec appui du/de la stagiaire au laboratoire Ecodiv pour la production des amplicons une fois que le matériel aura été recueilli (travaux UEFM 2023). Elle est externalisée car le laboratoire Ecodiv et sa plate-forme technique associée (PRESEN, FR SCALE CNRS-URN-ULH 3730) ne disposent pas d'appareil de séquençage à haut débit pour des raisons de coût d'achat, d'entretien et de personnel technique inhérents à ce type de matériel.

13. Contact mail :

Coordinateur/coordinatrice	Yoan Paillet [yoan.paillet@inrae.fr]
Gestionnaire financier de unité	Stéphanie Chanard [stephanie.chanard@inrae.fr]
Co-coordonateur/co-coordinatrice	Lucie Vincenot [lucie.vincenot@univ-rouen.fr]
Gestionnaire financier de unité	Ana Ferreira [ana.ferreira@univ-rouen.fr]

Partie B. Description

Phase 2 (lettres d'intention retenues): 5 pages maximum (hors annexes) reprenant notamment les éléments précisés suite aux recommandations ou échanges avec le COPIL Biosefair. Dans cette étape apportez plus de précisions sur les dispositifs et méthodes, les protocoles, l'implication de chaque partenaire dans les différentes tâches... Identifiez clairement la liste des livrables prévus.

1. Contexte, rationnel, objectifs, adéquation à l'appel à manifestation d'intérêt.

La trame dite de « vieux bois » est constituée d'éléments favorables à la biodiversité forestière, notamment celle qui dépend du bois mort pour une partie de son cycle de vie. Elle est constituée de plusieurs entités avec des rôles complémentaires (Vandekerkhove *et al.* 2013) :

1. de larges zones en libre évolution (réserves intégrales) qui servent de réservoir de biodiversité pour des espèces aux exigences fortes ;
2. des zones de plus petites (îlots de vieux bois) où la récolte est retardée, voire abandonnée, et qui assurent le lien entre les entités de plus grande taille (pas japonais) ;
3. des arbres dits « arbres-habitats » conservés dans les peuplements en exploitation (arbres habitats, notamment porteurs de cavités) et qui sont le support d'une biodiversité spécifique.

Si l'efficacité des réserves comme support de biodiversité a été bien étudiée (e.g. Paillet *et al.* 2010)), celle des autres éléments reste moins bien connue, notamment pour certains groupes au rôle fonctionnel fort comme les champignons lignicoles ou les abeilles mellifères. Les cavités de pic noir (*Dryocopus martius* L., e.g. Cockle *et al.* 2011, Puverel *et al.* 2019) et la maturité forestière (Cateau *et al.* 2015), caractérisée par des éléments liés au vieillissement des arbres et à l'absence d'exploitation (bois mort, gros arbres), sont des facteurs essentiels pour la conservation de nombreux taxons forestiers. Dans ce contexte, le pic noir – au travers des cavités qu'il creuse pour nicher et se réfugier – joue un rôle d'ingénieur car il modifie l'écosystème par son activité de creusement. En tant que plus grand cavicole primaire en Europe, son rôle est essentiel à la survie de nombreuses espèces de cavicoles secondaires (chouette de Tengmalm, abeilles mellifères, martre, pigeon colombin, arthropodes xylophages...). Ainsi, les arbres porteurs de ces cavités sont souvent désignés comme arbres-habitats par les gestionnaires forestiers et constituent un élément essentiel de la trame de vieux bois dans les forêts exploitées.

Financé par le MNHN (UMS-PatriNat OFB, AMI 2021), le projet TRAMETES vise à analyser les liens de deux indicateurs potentiels de biodiversité forestière (cavités de pic noir et maturité forestière) avec la biodiversité de plusieurs taxons représentant de différentes lignées du vivant. Certains relèvent des Directives européennes habitats (92/43/CEE) et oiseaux (2009/147/CE ; chauve-souris, oiseaux cavicoles) et d'autres taxons ciblés jouent un rôle fonctionnel essentiel dans l'écosystème forestier : (i) les abeilles mellifères en colonies sauvages impliquées dans la pollinisation à l'interface forêt-milieux ouverts et (ii) les champignons saprotrophes dits lignicoles, impliqués dans la décomposition de substrats ligneux divers (stades de décomposition, identité d'essence, fragmentation) à différents étages forestiers et participant ainsi aux cycles biogéochimiques forestiers.

La demande au métaprogramme Biosefair – Projet TRAMETES 2 – vise à compléter et approfondir cette approche sur les trois points suivants :

- Complément d'échantillonnage sur 3 massifs supplémentaires (menant à un total de 6 massifs – 100 placettes – avec ceux ciblés par TRAMETES – MNHN) afin d'augmenter la puissance statistique de l'échantillon et rendre les analyses plus robustes.
- Analyse approfondie des données éco-acoustiques audibles et ultra-sonores de manière à cibler plus d'espèces (notamment les autres oiseaux cavicoles secondaires : mésanges, sitelles, pigeon colombin...), voire les communautés d'oiseaux et de chauve-souris dans leur ensemble. Il s'agira également de développer nos capacités (au sein d'INRAE et au-delà) à analyser ce type de données dont l'acquisition est en constante expansion.
- Échantillonnages et identifications moléculaires complémentaires de faune cavicole et communautés fongiques associées, pour identifier les taxons vecteurs de champignons lignicoles liés aux cavités – avec une attention particulière sur les abeilles en colonies sauvages.

La nature exploratoire du projet TRAMETES 2 réside dans l'utilisation de technologies en cours de développement et pouvant être déployées à grande échelle pour le suivi de biodiversité (bioacoustique, métabarcoding environnemental). Le projet associe étroitement gestionnaires d'espaces naturels et chercheur.ses pour la co-construction de connaissances et de méthodes ainsi que des visions partagées des problématiques de recherche et de gestion forestière.

2. Description détaillée du projet

Le projet TRAMETES 2 vise à étendre le projet TRAMETES, financé par l'Office Français de la Biodiversité (AMI Amélioration de la surveillance terrestre des espèces et habitats à enjeux de conservation, 2021 piloté par le MNHN – UMS PatriNat). La présente demande de financement au métaprogramme Biosefair vise à (1) équiper des sites supplémentaires pour augmenter la robustesse statistique des analyses et la couverture de la diversité bioclimatique des forêts métropolitaines françaises (2) approfondir les analyses, notamment sur les aspects méthodologiques innovants du projet : écoacoustique, métabarcoding environnemental, et (3) explorer les interactions méconnues (trophiques et dispersion) entre faune et fonge cavicoles.

Grâce aux partenariats avec des gestionnaires locaux (Parcs Naturels Régionaux, Office National des Forêts, Espaces Naturels Sensibles, Ligue pour la Protection des Oiseaux), nous disposons déjà de cartographies de cavités de pic noir (Cabrera 2021, Annexes 1&2), pour construire un plan d'échantillonnage robuste. Les espèces ciblées peuvent être réparties dans les deux groupes suivants :

- Espèces inscrites aux Directives européennes habitat et oiseaux : oiseaux cavicoles, notamment les pics, les petites chouettes de montagne et plus généralement les passereaux cavicoles et les chauve-souris forestières ;
- Espèces ne relevant pas de directive mais avec des rôles fonctionnels essentiels pour l'écosystème forestier, voire au-delà pour la résilience d'autres écosystèmes : abeilles mellifères en colonies sauvages (pollinisation à l'interface forêt-milieux ouverts) et champignons lignicoles (décomposition de la matière organique, support de chaînes trophiques).

D'une manière générale, nous faisons l'hypothèse que les éléments de maturité et les cavités de pic noir favorisent la diversité des communautés cavicoles et ont un rôle complémentaire dans la trame de vieux bois et l'état de conservation de l'habitat forestier.

Nous installerons des couples de placettes, dont une centrée sur un arbre à cavité de pic noir (systématiquement du hêtre, pour contrôler l'essence de l'arbre porteur) et l'autre (contrôle) sans cavité, qui seront équipées de capteurs bioacoustiques miniaturisés pour l'enregistrement de données sonores et ultrasonores, ciblant oiseaux et chauve-souris. En parallèle, les arbres de chaque placette seront mesurés afin de calculer les indicateurs de biodiversité (arbres morts debout et au sol, arbres de grandes dimensions, microhabitats).

Les analyses bioacoustiques actuelles ne portent que sur les petites chouettes, les pics, et les environnements sonores et ultrasonores. Le financement Biosefair permettra d'identifier d'autres espèces d'oiseaux (cavicoles) et de chauve-souris. Suivant les capacités d'analyse des signaux sonores et ultrasonores, nous ciblerons des espèces cavicoles (notamment les passereaux : mésanges, sitelles, ou des chauve-souris patrimoniales comme le murin de Bechstein) ou bien les communautés dans leur ensemble par la détermination de l'ensemble des espèces d'oiseaux et de chauve-souris (richesse spécifique). À ces fins, nous exploiterons des bases de données sonores et ultrasonores, notamment en collaboration avec le MNHN (cf. <https://www.vigienature.fr/fr/page/participer-vigie-chiro>) et l'IRD avec qui des contacts ont déjà été initiés.

Les cavités de pic noir abritent des communautés fongiques lignicoles participant à l'élargissement et à la maturation de la cavité, ponctuellement décrites taxonomiquement (Jankowiak *et al.* 2019). Les projets TRAMETES/TRAMETES 2 visent à interroger la spécificité de ces communautés fongiques aux microhabitats des cavités de pic, en comparant ces communautés à celles des communautés fongiques lignicoles associées aux autres bois morts forestiers. Les hypothèses de travail sont : les communautés lignicoles des cavités de pic noir sont (1) majoritairement un sous-échantillon des communautés lignicoles du contexte forestier local filtré par les conditions du microhabitat ou (2) un assemblage de taxons potentiellement exogènes colonisant le microhabitat par une dispersion primaire *via* le pic noir ou les autres cavicoles. Par ailleurs, les agents de dispersion potentiels des propagules (mycélium, spores) de champignons lignicoles des cavités de pics restent méconnus. Aussi, le projet TRAMETES 2 vise à documenter les modes de dispersion (exo- ou endozoochore) des propagules fongiques par la faune cavicole colonisant les cavités de pic noir (e.g. insectes xylophages, avifaune, petits mammifères). Une attention particulière sera apportée à la dispersion

potentielle par les abeilles mellifères, la consommation de ressources fongiques par ce taxon d'intérêt dans les projets TRAMETES/TRAMETES 2 étant ponctuellement documentée (Requier *et al.* 2015). Pour déterminer la spécificité des arbres à cavités à leur diversité fongique, nous prélèverons de la matière organique dans les cavités et des bois morts sur chaque placette pour en identifier l'ADN fongique par métabarcoding environnemental. Pour l'identification des vecteurs de dispersion des champignons lignicoles, des prélèvements sur colonies sauvages d'abeilles mellifères occupant les cavités et de traces (e.g. déjections, tissus variés) d'autre faune dans les cavités seront réalisés pour décrire semblablement les communautés fongiques potentiellement dispersées par les cavicoles. Les prélèvements dans les cavités seront également l'occasion d'une description précise des cavités (taille, profondeur, niveau de décomposition), qui permettront également de préciser l'influence de ces paramètres sur les communautés fongiques, mais aussi d'acquérir des données sur la morphologie des cavités encore rares dans la littérature.

3. Agenda, étapes clefs et livrables

Tâche 1 : Analyse des paramètres favorables à la biodiversité : cavités de pic noir et maturité forestière

Cette tâche reposera sur un plan d'échantillonnage comparant la structure de zones à forte densité de cavités (placettes centrées sur un arbre à cavité) et des zones qui en sont dépourvues. Au total, nous mesurerons entre 80 et 100 placettes appariées réparties sur l'ensemble des massifs pour lesquels nous disposons des cartographies tout en contrôlant le type d'habitat forestier afin de contextualiser les mesures par grand type d'habitat. Ce plan d'échantillonnage servira de base à l'analyse du lien entre biodiversité, cavités et éléments de maturité (Tâches 2.1 et 2.2). La présente demande concerne 30 placettes réparties sur 3 massifs du plan d'échantillonnage (Volcans d'Auvergne, Forêt Domaniale de Loches, Forêt Domaniale de Rambouillet).

Les premières missions de terrain, réalisées à l'automne 2021, ont confirmé la faisabilité de la mise en place du plan d'échantillonnage basé sur les cartographies d'arbres à cavités : les cavités sont inspectées à l'endoscope pour vérifier qu'elles sont effectivement creusées (certains peuvent juste être des ébauches), puis la placette contrôle est tirée au sort dans un rayon de 560 m (100 ha, zone cœur du domaine vital du pic) autour de la placette à cavité. Ainsi, les couples de placettes sont considérés indépendants.

Sur chaque placette (cavité et contrôle), nous appliquerons le protocole de suivi dendrométriques des réserves forestières (Bruciamacchie 2005) qui permet de décrire la structure forestière et les arbres morts sur des placettes standardisées. Ce protocole sera complété par un inventaire des microhabitats sur l'ensemble des arbres de la placette. Les données ainsi acquises serviront de base à la constitution des indices de maturité utilisés pour expliquer les différences de biodiversité entre les zones à cavités et sans cavités. Cette tâche sera réalisée par le LESSEM en partenariat avec les gestionnaires locaux. Ce travail préalable prendra place entre l'automne 2022 et le printemps 2023 pour permettre l'installation des capteurs dès le printemps 2023.

Tâche 2 : Lien entre espèces et indicateurs d'état de conservation

Sous-tâche 2.1 : Lien avec les espèces des Directives habitats et oiseaux

Nous installerons des enregistreurs automatiques (bandes audibles et ultrasons) afin de caractériser la diversité des communautés d'oiseaux et de chauve-souris. Cette tâche sera confiée à l'entreprise foldAI (<https://fold.ai/>), spécialisée dans le recueil et l'analyse de données environnementales, qui fournira et installera les enregistreurs, et procédera au recueil et à l'analyse de données acoustiques. Le financement supplémentaire demandé au métaprogramme Biosefair permettra d'équiper 3 massifs supplémentaires (30 placettes) et d'approfondir les analyses des enregistrements bioacoustiques, notamment pour l'identification d'espèces supplémentaires (chauve-souris et oiseaux cavicoles).

Ces enregistrements seront ensuite analysés par des méthodes automatiques (cf. pour les chauve-souris <https://www.vigienature.fr/fr/page/participer-vigie-chiro>) au travers de solutions commerciales ou semi-commerciales (Kaléidoscope, Rainforest connection) voire des solutions développées en interne ou au travers de partenariats (outils en *open source*). L'intensité de l'échantillonnage (les capteurs seront présents au moins 3 mois sur site) représente à la fois un atout et un challenge en matière d'exploration de données. En effet, les points d'écoute classiques par des opérateurs durent 2 x 5 min (protocole STOC EPS pour les oiseaux) ou 3 x 30 min (MCD 30 pour les chauve-souris) durant la période de reproduction au printemps. Si ces méthodes permettent une bonne représentativité des communautés, ils réalisent néanmoins un compromis entre faisabilité et exhaustivité. L'allongement de la période d'échantillonnage par méthode automatique permettra de cibler la communauté de manière plus exhaustive et d'inférer une dynamique saisonnière qui peut différer entre les modalités (placettes cavités vs. contrôle). Le challenge repose sur notre capacité à analyser ces données massives et dans l'utilisation, voire le développement, de méthodes adéquates. Ce travail mobilisera 2 stages de Master 2 (au LESSEM et à l'EPI, avec appui de FoldAI) qui travailleront de concert sur les données oiseaux et chauve-souris. Des partenariats seront noués avec d'autres acteurs (MNHN, IRD).

Sous-tâche 2.2 : Champignons lignicoles

Sur chaque couple de placettes, nous prélèverons des échantillons de bois mort sur pied et au sol (à diamètre et essence contrôlés) et des échantillons de terreau des cavités de pic noir (avec répétitions spatiales pour prise en compte de l'hétérogénéité spatiale intra-cavité). Par ailleurs, les traces organiques de faune cavicole (e.g. déjections, poils, plumes, cadavres) rencontrées lors de l'exploration des cavités seront récoltées. Ces prélèvements de matière organique dans les cavités seront réalisés par l'UEFM (Partenaire INRAE 3) dont l'expérience de travaux en hauteur dans les arbres est reconnue. Le cas échéant, pour les cavités occupées par des colonies sauvages d'abeilles mellifères, quelques individus abeilles seront prélevés pour en isoler les propagules fongiques (spores, mycélium) transportées dans les intestins et le jabot, sur les cuticules et dans le pollen. Les prélèvements sur abeilles seront réalisés par l'IRD-ECGE (Partenaire 5), qui est par ailleurs associé au projet TRAMETES-MNHN pour la description des colonies sauvages d'abeilles associées aux cavités.

Les étapes de biologie moléculaire suivantes seront réalisées au laboratoire Ecodiv. Pour tous les prélèvements décrits ci-dessus, l'ADN environnemental total (ADNe) sera extrait pour analyses taxonomiques par métabarcoding. Pour chaque ADNe extrait, la région ITS (marqueur moléculaire taxonomique fongique) sera amplifiée par PCR en triplicat ; pour les ADNe extraits de traces organiques de faune cavicole, la région COI (marqueur moléculaire taxonomique pour la faune) sera également amplifiée pour identification du vecteur animal des propagules fongiques. En fonction de potentiels obstacles techniques, les protocoles d'extraction d'ADNe et d'amplification pourront être adaptés en collaboration avec des unités INRAE (EFNO, URZF, DYNAFOR) elles-mêmes actuellement impliquées dans des projets de métabarcoding environnemental d'insectes et champignons cavicoles (hors cavités de pic noir ; projets CANOPEE, BLOBIFORM), le consortium BEECO visant au métabarcoding de communautés d'abeilles mellifères sauvages, ou le LECA (Laboratoire d'Écologie Alpine) de compétences reconnues en métabarcoding environnemental. Les amplicons ITS et COI seront ensuite séquencés par la plate-forme technique Genotoul (INSA Toulouse) par technologie MiSeq Illumina. Les analyses bioinformatiques sur les données de séquençage à haut débit (ca. 25 Mpb en reads de 250 pb) seront réalisées au laboratoire Ecodiv, avec (1) contrôle de qualité des données, (2) assignation des reads en OTUs (Unités Taxonomiques Opérationnelles), (3) identification taxonomique des OTUs par comparaison par BLAST sur bases de données moléculaires de référence (e.g. BOLD, UNITE). À l'issue des analyses bioinformatiques, la diversité taxonomique des espèces fongiques présentes dans les échantillons sera analysée pour (1) comparer les structures et compositions des communautés associées aux différents contextes forestiers (densité de cavités, maturité forestier) et (2) tester les hypothèses de spécificité et assemblage des communautés lignicoles des cavités de pic noir avec des méthodes statistiques d'écologie des communautés. Enfin, cette approche moléculaire permettra d'identifier les disperseurs cavicoles de propagules fongiques et les taxons fongiques associés, et plus précisément pour les abeilles mellifères d'identifier les modes de dispersion fongique potentiels et leurs préférences trophiques fongiques.

Livrables

Un rapport d'avancement du projet à mi-parcours (mi-2023) détaillera les développements méthodologiques et les connaissances acquises. Sur le même modèle, le rapport final (fin 2024) fera l'état des lieux des avancées du projet et des perspectives. D'un point de vue académique, nous planifions *a minima* une publication scientifique ou technique pour chaque tâche du projet et une publication interdisciplinaire transversale aux différentes tâches. Ces publications, vraisemblablement sous forme de manuscrit non publié à la fin du projet, associeront partenaires scientifiques et gestionnaires du projet (cf. par exemple Bouvet *et al.* 2016, Bilger *et al.* 2021). L'agenda et les étapes-clés du projet ainsi que les projections des livrables sont détaillés en Annexe 3.

Gestion des données

L'ensemble des données produites par le projet seront mises en base et organisées de manière à les rendre disponibles pour les partenaires du projet, ainsi que les gestionnaires intéressés.

Les données dendrométriques seront stockées sur un serveur à distance et mises à disposition des partenaires. Le Lessem dispose déjà d'une bonne expérience de ce genre de gestion (cf. les projets <https://gnb.inrae.fr/> et <https://www.bottoms-up.eu/en/>). Nous pourrions également nous appuyer sur l'expérience et les compétences du groupe Qualinous d'INRAE.

Pour les données écoacoustiques, l'entreprise FoldAI sera en charge de la première mise en base ainsi que de la sauvegarde des données. foldAI mettra les données structurées et metadonnées à disposition des partenaires à travers un API permettant l'extraction des données et leur stockage sur des serveurs dédiés (e.g. data.inrae.fr). Nous aurons

une attention particulière au suivi des flux de traitements de ces données (par l'utilisation d'outils collaboratifs type tableaux de bord – Grafana – ou de développement comme GitHub).

Les données moléculaires seront déposées sur des bases de données moléculaires internationales (e.g. Genebank).

De manière générale, le projet s'attachera à rendre les données disponibles dans une démarche FAIR (Findable, Accessible, Interoperable and Reusable) ainsi qu'à la production d'outils en libre accès.

4. International.

Le projet TRAMETES 2 repose, pour les méthodes de bioacoustique, sur une étroite collaboration avec l'entreprise de suivi d'écosystèmes naturels foldAI (partenaire 5) basée en Allemagne.

Par ailleurs, nous avons déjà identifié des bases de données et cartographies comparables de partenaires étrangers (Univ. Freiburg, Parc National de Bavière, Université du Québec à Montréal), avec lesquels des collaborations sont déjà en cours (Asbeck *et al.* 2021, Martin *et al.* in prep.).

5. Impact attendu et perspectives du projet.

Le projet TRAMETES 2, en complémentarité de TRAMETES financé par l'OFB, mettra en lien des indicateurs forestiers classiques basés sur la dendrométrie avec des indices fonctionnels de ces écosystèmes (occupation spécifique par la biodiversité : nicheurs, champignons, abeilles). Le projet s'intéressera ainsi à la biodiversité forestière associée à des actions de conservation d'écosystèmes forestiers en se concentrant sur des taxons peu fréquemment caractérisés et cependant porteurs de fonctions et services écosystémiques essentiels (e.g. cycles biogéochimiques, pollinisation, supports de chaînes trophiques). Par ailleurs, ces indicateurs fonctionnels supplémentaires seront obtenus grâce à des méthodes innovantes, développées dans différents contextes mais non largement appliquées à la conservation forestière : (1) bioacoustique pour la détection des espèces cavicoles, (2) métabarcoding environnemental pour la description des communautés fongiques. Ces développements méthodologiques et ces connaissances viendront en appui à l'évaluation des politiques publiques, notamment l'évaluation de l'état de conservation des espaces naturels (Maciejewski *et al.* 2016), à l'interface entre gestion et recherche. Le travail sur les méthodes acoustiques notamment viendra compléter les travaux déjà en cours sur les indicateurs acoustiques et intégrer la palette d'outils dont peuvent disposer les gestionnaires pour le diagnostic de leurs territoires et pour l'évaluation de leurs actions de conservation. L'intégration des gestionnaires des sites (ONF, PNR, PN) au comité de pilotage du projet sera garante du transfert vers la gestion, mais aussi de l'appropriation des méthodes et des résultats issus du projet de recherche.

En perspective, la description par métabarcoding environnemental des vecteurs de dispersion des propagules de lignicoles permettra d'identifier des espèces-clés de ce processus. *A posteriori* et au-delà de TRAMETES2, des analyses de flux d'individus (e.g. par marqueurs génétiques ou CMR) permettraient d'interroger l'efficacité de la connectivité fonctionnelle assurée par la trame de vieux bois en la comparant aux trames de dispersion à des échelles imbriquées de ces vecteurs clés.

D'un point de vue méthodologique, le projet TRAMETES2 s'inscrit pleinement dans la dynamique du métaprogramme Biosefair, en proposant d'implémenter et peaufiner des approches innovantes d'écoacoustique et de métabarcoding environnemental qui intéressent d'autres projets en cours ou proposés (e.g. Bioc@pt – Biosefair 2021, Beedet – Biosefair 2022), et sont des perspectives concrètes de collaborations pour renforcer les compétences des équipes impliquées. La démonstration de faisabilité et des limites ou obstacles de ces méthodes pourra donner lieu à des échanges techniques ou théoriques, formels par colloques ou informels par réseau avec les autres membres du métaprogramme Biosefair et au-delà, et porter la conception d'autres projets pertinents pour le métaprogramme.

Partie C. Prise en compte des remarques du COPIL BIOSEFAIR et justifications complémentaires

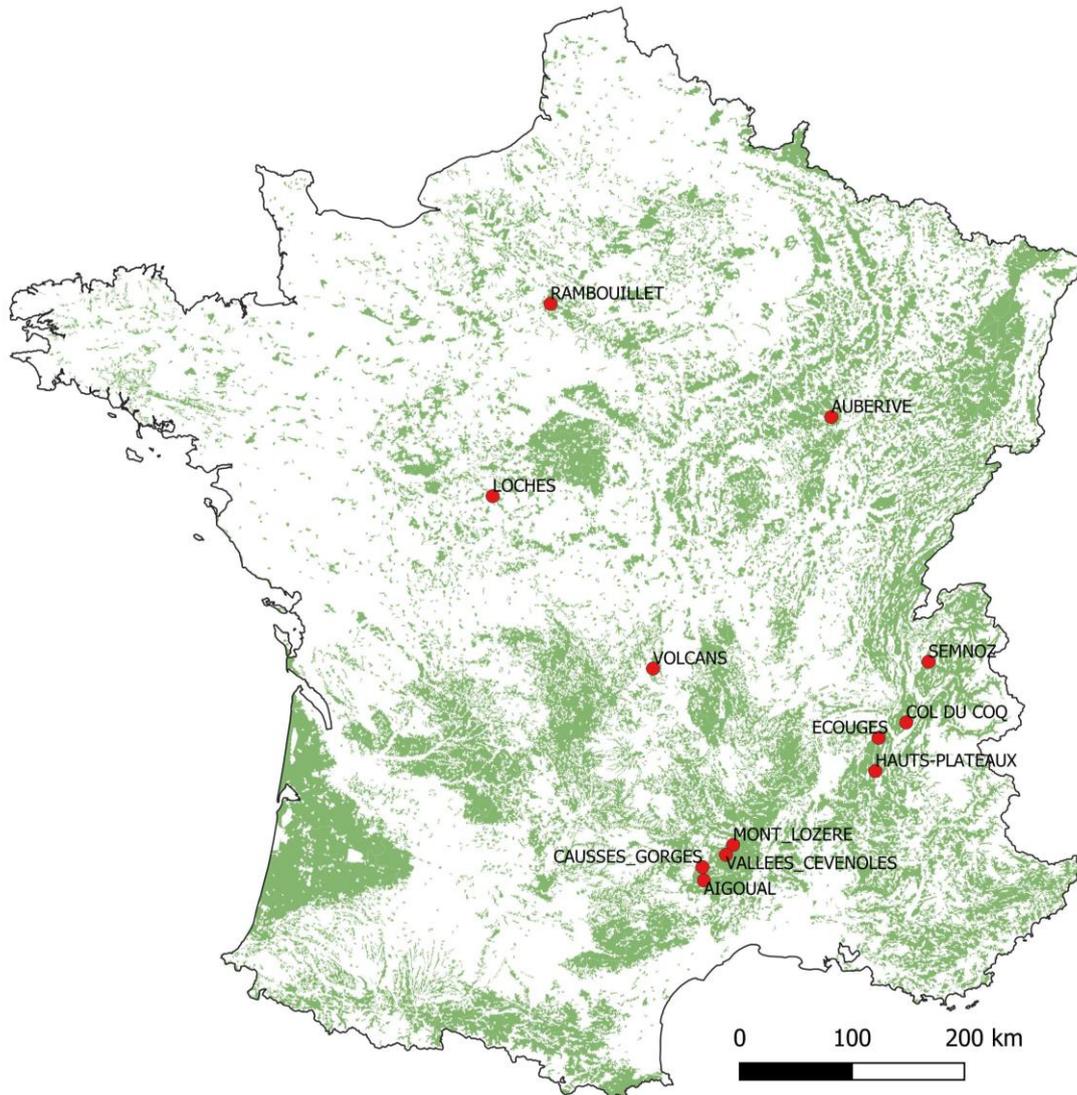
- Ce projet s'adosse au projet TRAMETES financé notamment par l'OFB et il est nécessaire de bien préciser ce que le financement éventuel de Biosefair va permettre de faire au-delà de l'augmentation des sites d'études.
- Installation de sites supplémentaires pour un gain en puissance statistique et une plus large couverture biogéographique

- Analyse approfondie des enregistrements éco-acoustiques oiseaux et chauve-souris
- Travail approfondi sur les communautés fongiques et leurs vecteurs de propagation (notamment abeilles mellifères)
- Il faut mieux préciser les avancées méthodologiques attendues de Biosefair.
- Acquisition de compétences sur l'analyse de données éco-acoustiques
- Utilisation de l'ADNe pour des communautés fongiques encore peu étudiées (cavités de pic noir, vecteurs de dispersion).
- Il est nécessaire de mettre en avant l'effet levier que permettrait Biosefair ou justifier que le projet apportera un effet sillage, d'amplification qui permettrait de faire grandir la communauté Biosefair et ses compétences.
- Les discussions lors du séminaire Biosefair d'octobre 2021 ont bien montré l'intérêt de la communauté pour les méthodes écoacoustiques et d'ADN environnemental. Ainsi, un groupe de réflexion sur ces méthodes pourra être créé dans le cadre de Biosefair afin de partager les avancées méthodologiques et techniques sur ces aspects
- Il serait intéressant par exemple de préciser si Trametes2 s'ouvre à des équipes INRAE nouvelles par rapport à celles présentes dans Trametes.
- Les équipes d'INRAE Avignon (UEFM 0348 et PSH) ne sont pas partenaires du premier volet de TRAMETES. Le programme Biosefair permet d'en faire des partenaires à part entière sur l'ensemble du projet.
- Comment l'OFB est impliqué dans l'extension du projet qui pourrait être portée par Biosefair ?
- L'OFB a été informé de l'extension du projet et y est favorable. Pour le moment, cette extension n'est pas mentionnée dans la convention, mais un avenant pourra être envisagé le cas échéant.
- Afin de ne pas donner l'impression d'une multiplication d'indicateurs, même s'il s'agit pour partie de méthodes innovantes, il est nécessaire de traduire les enjeux du projet en question de recherches.
- Nous avons mentionné les questions de recherche qui alimentent le projet dans la proposition.
- Le projet devrait contribuer à fournir beaucoup de données, il est nécessaire de prévoir dès la lettre d'intention finale un plan de gestion de ces données pour préciser comment les données collectées seront mises à disposition.
- Cf. partie gestion des données.

Annexes.
Annexe 1 : Tableau Récapitulatif de l'ensemble des massifs concernés par le projet TRAMETES. Le financement Biosefair concerne les massifs sur fond blanc.

	Massif forestier	Grands types d'habitats forestiers	Institutions gestionnaires	Protocole Dendrométrique	Relevés Terrain biodiversité	Valorisation de données existantes (non exhaustif)
Sites de plaine	Auberive (Haute Marne)	Hêtraie-chênaie de plaine	Office National des Forêts Parc National de Forêts de Plaine Réserve Naturelle	20 placettes	20 placettes « intensives » Protocole Abeilles	Relevés Chauve-souris
	Loches (Indre et Loire)	Chênaie de plaine	Office National des Forêts	10 placettes		
	Forêt Domaniale de Rambouillet (Yvelines)	Chênaie de plaine	Office National des Forêts	10 placettes	Protocole Abeilles	
Sites de moyenne montagne (massif central)	Parc National des Cévennes	Hêtraie-sapinière de montagne, influences méditerranéenne aux basses altitudes	Office National des Forêts Forestiers privés Parc National	20 placettes	20 placettes « intensives »	Protocole Petites Chouettes de Montagne
	Chaîne des Volcans	Hêtraie-sapinière de moyenne montagne	Parc Naturel Régional Forestiers privés	10 placettes		Protocole Petites Chouettes de Montagne
Sites de Montagne (Alpes)	Bauges (Semnoz)	Hêtraie sapinière de montagne	Ligue pour la Protection des Oiseaux	20 placettes	20 placettes « intensives »	Protocole Petites Chouettes de Montagne
	Forêt Domaniale du Vercors et Réserves Biologique Intégrale des Hauts-Plateaux (Isère / Drôme)	Hêtraie sapinière pessière de montagne	Office National des Forêts			
	Espaces Naturels Sensibles d'Isère (Col du Coq, Ecouges)	Hêtraie sapinière pessière de montagne, forêt alluviale	Conseil Départemental de l'Isère			

Annexe 2 : Cartographie des massifs d'étude



Annexe 3 : Agenda et étapes-clés du projet (Diagramme de Gannt)

	2022				2023												2024								
	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	
Tâches transversales																									
Gestion de projet (LESSEM, Ecodiv)				réunion COPIL																					
Publication transdisciplinaire																									
Transfert de connaissances - valorisation auprès de gestionnaires																									
Tâche 1 : Cavités de pic noir et maturité forestière																									
Suivi dendrométrique réserves forestières (LESSEM, Ecodiv)																									
Tâche 2.1 : Liens indicateurs de conservation - espèces des Directives																									
Pose de capteurs bioacoustiques (UEFM, FoldAI, LESSEM)																									
Tâche 3																									
Prélèvements échantillons organiques dans cavités et bois au sol (Ecodiv, UEFM, EGCE, LESSEM)																									
Extractions ADN, amplifications PCR de marqueurs moléculaires (Ecodiv)																									
Séquençage communautés fongiques (Prestation Genotoul)																									
Analyses bioinformatiques (Ecodiv)																									
Analyses de communautés (Ecodiv)																									

- Publications des participants au projet sur ce thème (maxi 2/participant)

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.

Requier, F., Paillet, Y., Laroche, F., Rutschmann, B., Zhang, J., Lombardi, F., Svoboda, M., Steffan-Dewenter, I. (2020) Contribution of European forests to safeguard wild honey bee populations. *Conservation Letters* 13(2): e12693.

Saint-André, L., Buée, M., Aubert, M., Richter, C., Deleuze, C., Rakotoarison, H., Abildtrup, J., Akroume, E., Bach, C., Berthe, T., Bilot, N., Bouvet, A., Chauvat, M., Dreyfus, P., Echevarria, G., Elie, F., Fauchery, L., Fuente Tomai, P., Gerant, D., Lauvin, D., Leban, J.-M., Leblanc, M., Leduc, V., Maillard, F., Normand, M., Quibel, E., Raveloson, C., Renaud, J.-P., Roy, S.-J., Stenger, A., Viaud, P., **Vincenot, L.,** Zeller, B. (2019). RESPIRE-Récolte des menus bois en forêt-Potentiel, Impact, Indicateurs et remédiations par épandage de cendres de bois. [Rapport de recherche] ADEME. 2019. (hal-02180971).

Selosse, M. A., **Vincenot, L.,** & Öpik, M. (2016). Data processing can mask biology: towards better reporting of fungal barcoding data? *New Phytologist*, 210(4), 1159-1164.

- Références des publications citées dans le texte (se limiter aux indispensables; <10).

Asbeck, T., J. Großmann, Y. Paillet, N. Winiger, and J. Bauhus. 2021. The Use of Tree-Related Microhabitats as Forest Biodiversity Indicators and to Guide Integrated Forest Management. *Current Forestry Reports* 7:59-68.

Bilger, I., Y. Paillet, S. Laguet, B. Doutau, F. Bullifon, M. Chevalier, L. Defernez, S. Ducruet, H. Tournier, and F. Archaux. 2021. Modélisation de la distribution des petites chouettes de montagne dans les Alpes du Nord Françaises. *Naturae* 13:2-14.

Bouvet, A., Y. Paillet, F. Archaux, L. Tillon, P. Denis, O. Gilg, and F. Gosselin. 2016. Effects of forest structure, management and landscape on bird and bat communities. *Environmental Conservation*:1-13.

Bruciamacchie, M. 2005. Protocole de suivi d'espaces naturels protégés. ENGREF - MEDD.

Cabrera, C. 2021. Caractérisation des facteurs paysagers et extra-paysagers influençant le creusement de cavités par le pic noir (*Dryocopus martius* L. 1758). Master 2 Biodiversité Ecologie, Evolution. Aix-Marseille Université.

Cateau, E., L. Larrieu, D. Vallauri, J. M. Savoie, J. Touroult, and H. Brustel. 2015. Ancienneté et maturité: Deux qualités complémentaires d'un écosystème forestier. *Comptes Rendus - Biologies* 338:58-73.

Cockle, K. L., K. Martin, and T. Wesolowski. 2011. Woodpeckers, decay, and the future of cavity-nesting vertebrate communities worldwide. *Frontiers in Ecology and the Environment* 9:377-382.

Jankowiak, R., M. Ciach, P. Bilański, and R. Linnakoski. 2019. Diversity of wood-inhabiting fungi in woodpecker nest cavities in southern poland. *Acta Mycologica* 54.

Maciejewski, L., F. Lepareur, D. Viry, F. Bensettiti, R. Puissauve, and J. Touroult. 2016. État de conservation des habitats : propositions de définitions et de concepts pour l'évaluation à l'échelle d'un site Natura 2000. *Revue d'Ecologie (La Terre et la Vie)* 71:3-20.

Martin, M., Y. Paillet, L. Larrieu, C. C. Kern, P. Raymond, P. Drapeau, and N. Fenton. in prep. Tree-related microhabitats: international perspectives on a biodiversity conservation tool.

Paillet, Y., L. Bergès, J. Hjalten, P. Odor, C. Avon, M. Bernhardt-Romermann, R. J. Bijlsma, L. De Bruyn, M. Fuhr, U. Grandin, R. Kanka, L. Lundin, S. Luque, T. Magura, S. Matesanz, I. Meszaros, M. T. Sebastia, W. Schmidt, T. Standovar, B. Tothmeresz, A. Uotila, F. Valladares, K. Vellak, and R. Virtanen. 2010. Biodiversity Differences between Managed and Unmanaged Forests: Meta-Analysis of Species Richness in Europe. *Conservation Biology* 24:101-112.

Puverel, C., A. Abourachid, C. Böhmer, J. M. Leban, M. Svoboda, and Y. Paillet. 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.

Requier, F., J. F. Odoux, T. Tamic, N. Moreau, M. Henry, A. Decourtye, and V. Bretagnolle. 2015. Honey bee diet in intensive farmland habitats reveals an unexpectedly high flower richness and a major role of weeds. *Ecological Applications* 25:881-890.

Vandekerkhove, K., A. Thomaes, and B. G. Jonsson. 2013. Connectivity and fragmentation: island biogeography and metapopulation applied to old-growth elements. Pages 104-115 in D. Kraus and F. Krumm, editors. *Integrative*

approaches as an opportunity for the conservation of forest biodiversity. European Forest Institute, Freiburg, DEU.