

Mycophagie

Survol des notions et techniques

Par :

Véronique Cloutier

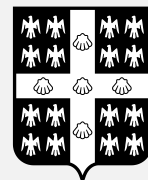
Remis à :

J. André Fortin et Yves Piché

Dans le cadre du cours :

BIO-7904 Écologie intégrative des symbioses végétales

05 décembre 2011



UNIVERSITÉ
LAVAL

Sommaire

Définitions de la mycophagie.....	3
Historique des études sur la mycophagie	3
Emphase sur l'interaction <i>Strix occidentalis corina</i> – <i>Glaucomys sabrinus</i> et les champignons hypogés	5
Justification des études sur la mycophagie - intérêts pour la société.....	6
Types de mycophages.....	7
Obligatoires.....	7
Préférentiels	8
Opportunistes	8
Accidentels.....	8
Identification des animaux mycophages	8
Invertébrés	8
Oiseaux.....	9
Micromammifères	9
Primates	10
Autres animaux	11
Avantages retirés par les écosystèmes du phénomène de mycophagie.....	12
Perméabilité du sol	12
Colonisation de nouveaux milieux ou de milieux perturbés	13
Avantages retirés par les champignons du phénomène de mycophagie.....	14
Modifications morphologiques des champignons dispersés par mycophagie	14
Avantages retirés par les animaux du phénomène de mycophagie.....	16
Modifications morphologiques des mycophages	16
Influence des feux sur la mycophagie	17
Les méthodes pour étudier la mycophagie	17
Test de cafétéria	18
Exclos	18
Capture d'animaux / fèces.....	18
Analyse moléculaire	19
Identification des spores au microscope.....	22
Séparation des spores de leur milieu	22
Réflexion, piste de recherche	23
Références	25

Définitions de la mycophagie

Quelques définitions nous permettront de bien comprendre le discours ci-dessous. Premièrement, la mycophagie signifie la consommation de champignons. Ainsi, nous nommerons mycophage, un animal qui inclut des champignons dans sa diète (Maser et al., 2008). Habituellement les animaux mycophages consomment les fructifications hypogées (sous le sol, communément nommées truffes) des mycorhizes (associations champignon – racine) (Johnson, 1996), plus précisément des ectomycorhizes (se distinguant, entre autre, comme étant des champignons ne pénétrant pas dans les cellules des racines) (Zabel et Anthony, 2003).

Historique des études sur la mycophagie

On retrouve un résumé presque complet dans Zabel et Anthony (2003) de l'historique des études sur la mycophagie : la première mention répertoriée est en 1887 par Reess et Fish qui ont observé que les spores d'*Elaphomyces* pouvaient être dispersées par les animaux (sauvages et de manière expérimentale) pour en conclurent que les spores restaient inchangés suite à leur passage dans le tractus intestinal des animaux. En 1890, Cooke demanda à ce que quelqu'un réalise une évaluation systématique de ce comportement, mais ce n'est qu'en 1916 qu'il obtint une première réponse par Hasting et Mottram qui s'attardèrent à ce sujet de recherche en Grande Bretagne. Basé sur leurs observations, ils spéculèrent que les champignons succulents devenaient importants dans la diète des rongeurs tard en automne. En plus, ils émirent l'hypothèse que, seulement dans le cas des sporocarpes hypogés, les animaux assistaient les champignons dans la distribution des spores.

En 1919, Harold Park remarqua une association entre certains rats et les fructifications hypogées des ectomycorhizes.

En 1919 et 1922, Buller publia sur la mycophagie de l'écureuil roux (*Tamiasciurus hudsonicus*) en Amérique du Nord. Hardy continua d'investiguer sur cet animal mais dans l'extrême ouest de son aire de distribution et publia en 1949.

En 1978 Fogel et Trappe ont fait une revue de littérature du sujet (Zabel et Anthony, 2003).

La suite de l'histoire est disponible dans Trappe et al. (2009). Suite à leur revue de littérature, Fogel et Trappe proposèrent une tendance générale de la mycophagie dans la diète de plusieurs micromammifères. Ils soulevèrent aussi plusieurs questions relativement à l'historique et aux fonctions écosystémiques des champignons et des animaux. Toujours, en 1978, Maser et Trappe documentèrent l'importance des truffes dans la diète de plusieurs micromammifères forestiers.

En 2005, Claridge et Trappe effectuèrent une mise-à-jour de la littérature sur la mycophagie en ajoutant plusieurs considérations. Entre autre, ils catégorisèrent les mycophages en obligatoires, préférentiels, opportunistes ou accidentels (voir section «types de mycophages» ci-dessous).

Plusieurs études sur la mycophagie dans la région du nord-ouest pacifique aux États-Unis et au sud-est de l'Australie culminèrent dans un livre écrit par Maser et Claridge intitulé «Trees, Truffles, and Beasts: How Forests Function» (Maser et al., 2008).

Dans les dernières années, Cázares et al. s'intéressèrent aussi à ce sujet (Cázares et Trappe, 1994; Cázares et al., 1999; Loeb et al., 2000), particulièrement aux aspects écologiques liées à la mycophagie tels que la dispersion des spores, l'interaction d'abondance entre les champignons hypogés et les micromammifères ainsi que les habitats propices à la mycophagie.

Emphase sur l'interaction *Strix occidentalis corina* – *Glaucomys sabrinus* et les champignons hypogés

Une des causes d'un regain d'études sur la mycophagie au début des années 1990 est expliquée dans Moore et al. (2011) : plusieurs micromammifères dépendent des fructifications fongiques, spécialement hypogées, pour combler une partie importante de leur diète. Ceci étend l'influence des champignons dans la chaîne alimentaire jusqu'aux prédateurs tels que les oiseaux de proie. Les animaux consommant des micromammifères qui subsistent entièrement des fructifications fongiques sont eux-mêmes indirectement dépendants des champignons. Un exemple célèbre de ce phénomène est la chouette tachetée du nord (*Strix occidentalis corina*) dans la région du nord-ouest pacifique aux États-Unis ; un des plus grands oiseaux d'Amérique du Nord.

En cet endroit, les communautés humaines dépendent fortement de la coupe de bois des forêts fédérales. Pendant plusieurs années, lorsqu'une forêt surannée était prélevée, l'aire de coupe était replantée par des espèces arborescentes commerciales à croissance rapide plutôt que des espèces indigènes à croissance plus lente. Malheureusement, malgré cette reforestation, la population de chouette tachetée du nord déclinait dramatiquement. En 2011, on comptait environ 500 couples dans l'état de Washington. Ce nombre implique que la mort ou la migration de relativement peu d'animaux peut amener la population à un nombre non viable à long terme.

La diète de ces oiseaux est constituée d'écureuils, rats, souris, campagnols... et la majorité de ces proies dépendent des fructifications des champignons hypogés pour une partie importante de leur diète.

Malheureusement, les espèces d'arbres à croissance rapide qui semblaient appropriées pour la reforestation commerciale réalisaient des symbioses avec des espèces différentes de champignons mycorhizateurs que ceux présents dans la forêt originale : ils ne produisaient pas de fructifications que les micromammifères indigènes acceptaient de manger. Conséquemment, les populations de micromammifères déclinèrent et, à cause de la perte de proies, les populations de chouette tachetée du nord aussi.

Même si les communautés arbustives étaient similaires, l'utilisation d'essences différentes a produit un habitat complètement différent.

Le déclin de ces chouettes déclencha une série d'études sur le sujet de la mycophagie et sur les champignons jusqu'alors grandement ignorés.

Aux États-Unis, «The Endangered Species Act» de 1973 oblige le gouvernement fédéral à identifier les espèces menacées d'extinction, d'identifier les habitats nécessaires à leur survie et de protéger les deux. Pour aller plus loin, le «Northwest Forest Plan» de 1994 a établie cette ligne directrice comme étant une nécessité légale de manière à aider à conserver la chouette tachetée du nord et ses proies. Ce plan a été encore plus loin dans un souci de protection en établissant une liste de 234 espèces fongiques rares dépendantes de la forêt surannée (Moore et al., 2011).

Justification des études sur la mycophagie - intérêts pour la société

Les études concernant la mycophagie peuvent être appliquées (pour régler une problématique précise telle que le déclin des chouettes tachetées du nord) ou fondamentales (pour comprendre la façon dont le système forestier fonctionne et adapter notre manière d'agir pour éviter les problématiques éventuelles). Voici quelques exemples de ce à quoi peuvent servir de telles études :

- Maintenir la chaîne trophique : adapter nos pratiques forestières de manière à préserver les espèces indigènes de champignons mycorhizateurs pour que les fructifications fongiques nécessaires aux mycophages continuent d'être disponibles et ainsi les mycophages disponibles à leurs prédateurs.
- Améliorer la précision des inventaires. Présentement il est impossible de faire des inventaires de champignons hypogés précis car ils sont biaisés à la baisse puisque

le degré de consommation animale n'est pas connue (Luoma, 1991; North et al., 1997).

- Connaitre la biodiversité de champignons.
- Connaitre la diète des différentes espèces animales. Puisque la mycophagie est encore peu connue, beaucoup de données à ce sujet sont manquantes dans les traités de zoologie.
- Faire avancer un champ capital de la science. Plusieurs auteurs ont ciblé la description des habitudes alimentaires des animaux mycophages et leur dépendance à cette ressource comme faisant partie des champs de recherche d'intérêt clé pour le futur (Zabel et Anthony, 2003; Claridge et Trappe, 2005; Dighton et al., 2005).

Types de mycophages

On peut catégoriser les mycophages selon leur dépendance relative aux sporocarpes de champignons dans leur diète. Les catégories sont les suivantes (Claridge et Trappe, 2005) :

Obligatoires

Ces organismes sont entièrement ou presque entièrement dépendants des sporocarpes. Cette minorité de vertébrés et d'invertébrés représentent une coévolution avec le champignon consommé ou une adaptation tellement forte qu'il s'agit d'une coévolution virtuelle. Dans le cas des mammifères, ils ont besoin d'un habitat offrant des sporocarpes tout au long de l'année ou, s'il n'y en n'a pas lors de courtes périodes, d'une source de nourriture alternative telle que certains lichens. Les mammifères mycophages obligatoires consomment surtout des sporocarpes hypogés d'ectomycorhizes. Ils nécessitent donc les essences forestières associées aux ectomycorhizes dans leur habitat pour pouvoir survivre (Claridge et Trappe, 2005).

Préférentiels

Ces organismes préfèrent les sporocarpes parmi d'autres diètes mais régulièrement (ou saisonnièrement) consomment d'autres types de nourriture. Une grande variété de mammifères et possiblement de crustacés préfèrent les sporocarpes fongiques lorsqu'ils sont disponibles. Il s'agit d'un comportement adaptatif des animaux en réponse à des attractifs soit visuels ou olfactifs produits par les champignons (Claridge et Trappe, 2005).

Opportunistes

Ces organismes consomment occasionnellement des sporocarpes s'il y en a de disponibles et / ou attractifs soit de manière visuelle ou olfactive (Claridge et Trappe, 2005).

Accidentels

Ces organismes ingèrent des sporocarpes ou des spores accidentellement en consommant d'autres aliments. Par exemple, les animaux qui ingèrent du sol ou un organe tel le tractus digestif ou encore les fèces des animaux mycophages lors de leur alimentation peuvent être des consommateurs accidentels de champignons (Claridge et Trappe, 2005).

Identification des animaux mycophages

Voici une liste non exhaustive de différents mycophages connus.

Invertébrés

Les hyphes de champignons sont consommés par les invertébrés incluant les insectes, les mites, les nématodes et les mollusques (Moore et al., 2011). Le phénomène de mycophagie a beaucoup d'ampleur chez certains groupes par exemple, les fourmis du genre *Atta* et du genre *Acromyrmex* ainsi que les termites de la sous-famille des

Macrotermitinae vont jusqu'à cultiver les champignons pour ensuite s'en nourrir (Kendrick, 1985). De plus, quatre-vingt pourcent des dizaines de milliers d'espèces de microarthropodes présents dans les sols forestiers dépendent du mycelium fongique pour se nourrir (Moore et al., 2011). On sait que les vers de terre et les scarabées coprophages sont des mycophages accidentels (Claridge et Trappe, 2005). Les bactéries consomment aussi des champignons (Mela, 2011).

Oiseaux

Sans pouvoir les classer par type de mycophages, nous savons que les oiseaux suivants consomment des champignons : Gêlinotte huppée (*Bonasa umbellus*) (Tanney et Hutchison, 2011), Accenteur à gorge noire (*Prunella atrogularis*), Alouette hausse-col (*Eremophila alpestris*), Ammomane isabelline (*Ammomanes deserti*), Cochevis huppé (*Galerida cristata*), Courvite isabelle (*Cursorius cursor*), Geai de l'Oregon (*Perisoreus obscurus*), Huppe fasciée (*Upupa epops*), Mésangeai du Canada (*Perisoreus canadensis*), Mésangeai imitateur (*Perisoreus infaustus*), Miro à poitrine jaune (*Eopsaltria australis*), Sirli du désert (*Alaemon alaudipes*), Talégalle de Latham (*Alectura lathamii*) et certains perroquets dont le Strigops kakapo (*Strigops habroptilus*) et le Nestor kâa (*Nestor notabilis*) (Simpson, 2000). Les espèces suivantes ont été classées comme étant des consommateurs accidentels de champignons : Chouette tachetée du nord (*Strix occidentalis caurina*) (Maser et al., 2008; Trappe et al., 2009), Effraie masquée (*Tyto novaehollandiae*) (Maser et al., 2008) et Ninox aboyeuse (*Ninox connivens*) (Maser et al., 2008).

Micromammifères

Il y a assez d'espèces connues comme étant mycophages chez les micromammifères, qu'il nous a été possible de vous les présenter par type.

Obligatoires :

- Campagnol roussâtre de Californie (*Clethrionomys californicus* var. *californicus*) (Claridge et Trappe, 2005).

Préférentiels :

- Fausse Souris Fuligineuse (*Pseudomys fumeus*) (Maser et al., 2008).
- Grand polatouche (*Glaucomys sabrinus*) (Loeb et al., 2000; Claridge et Trappe, 2005).
- *Rattus fuscipes* (*bush rat* en anglais, la version française semble indisponible) (Maser et al., 2008).

- Opportunistes :

- Rat des marais australien (*Rattus lutreolus*) (Maser et al., 2008).
- Souris sylvestre (*Peromyscus maniculatus*) (Maser et al., 2008).
- Tamias (*Tamias* spp.) (Maser et al., 2008).

Primates

L'article de Hanson, Hodge et Porter (2003) indique que la mycophagie a été documentée chez au moins 22 espèces de primates incluant des gorilles, bonobos, macaques, mangabeys, colobinés, ouistitis, lémurien ainsi que le singe Vervet (*Chlorocebus pygerythrus*) (dans Hanson et al. (2003) : Quris, 1975; Terborgh, 1983; Harrison, 1984; Watts, 1984; Richard et al., 1989; Bermejo et al., 1994; Corrêa, 1995; Tan, 1999; Kirkpatrick et al., 2001 et N. Shah, comm. pers.). Par contre, la consommation est généralement à un taux très faible soit représentant moins de 5% de leur temps d'alimentation. On peut tout de même retrouver des plus grands consommateurs tels que le Ouistiti oreillard (*Callithrix aurita*), le Tamarin de Goeldi (*Callimico goeldii*) et le genre Rhinopithèque (*Rhinopithecus* spp.) qui consomment des

champignons pendant 12%, 63% et 95% de leur temps dédié à l'alimentation respectivement. (dans Hanson et al. (2003): Corrêa, 1995 et Kirkpatrick, 2001). L'humain (*Homo sapiens*) consomme aussi des champignons (Kendrick, 1985) mais la quantité dépend de sa culture.

Autres animaux

Il y a assez d'espèces connues comme étant mycophages chez les différents animaux, qu'il nous a été possible de vous les présenter par type.

Obligatoires :

- Potoroo à longs pieds (*Potorous longipes*) (Claridge et Trappe, 2005).
- Potoroo de Gilbert (*Potorous gilbertii*) (Claridge et Trappe, 2005).

Préférentiels :

- Bandicoot brun du Sud (*Isodon obesulus*) (Claridge et Trappe, 2005).
- Bettong de Tasmanie (*Bettongia gaimardi*) (Maser et al., 2008).
- Bettong du nord (*Bettongia tropica*) (Claridge et Trappe, 2005).
- Bettongie à queue touffue (*Bettongia penicillata*) (Maser et al., 2008).
- Potoroo à long nez (*Potorous tridactylus*) (Maser et al., 2008).

Opportunistes :

- Cerf mullet (*Odocoileus hemionus*) (Maser et al., 2008).
- Chèvre des montagnes rocheuses (*Oreamnos americanus*) (Maser et al., 2008).
- Certaines mouffettes (famille des *Mephitidae*) (Claridge et Trappe, 2005).
- Orignal ou Élan (*Alces alces*) (Claridge et Trappe, 2005; Berit, 2007).

- Ours noir (*Ursus americanus*) (Maser et al., 2008).
- Quokka (*Setonix brachyurus*) (Maser et al., 2008).
- Renne ou caribou (*Rangifer tarandus*) (Claridge et Trappe, 2005; Fortin et al., 2008; Maser et al., 2008).
- Wallaby bicolore (*Wallabia bicolor*) (Maser et al., 2008).
- Wapiti (*Cervus canadensis*) (Claridge et Trappe, 2005).

Accidentels :

- Chat marsupial à queue tachetée (*Dasyurus maculatus*) (Maser et al., 2008).
- Coyote (*Canis latrans*) (Trappe et al., 2009).
- Martre d'Amérique (*Martes americana*) (Trappe et al., 2009).
- Pékan (*Martes pennanti*) en tant que prédateurs des animaux mycophages mais il est aussi un consommateur directe de champignons hypogés (dans Trappe et al. (2009) : Grenfell et Fasenfest, 1979 ; Zielinski et al., 1999).

Avantages retirés par les écosystèmes du phénomène de mycophagie

Les écosystèmes obtiennent plusieurs avantages du phénomène de mycophagie dont en voici quelques uns :

Perméabilité du sol

Un sol qui devient hydrophobe est résistant aux infiltrations d'eau [importantes pour la survie des végétaux]. Des feux sévères peuvent altérer la surface physique ou

chimique du sol, le rendant hydrophobe. La composition des feuilles d'arbres qui tombent au sol et forment la litière et les couches d'humus peuvent aussi faire une différence. Par exemple, les eucalyptus qui dominent les forêts australiennes possèdent des feuilles avec un grand contenu en huile qui, une fois les feuilles tombées et décomposées dans le sol rend celui-ci hydrophobe. Certains sols en ponce ou formés de dépôts de poussière volcanique sont aussi hydrophobes spécialement s'ils sont compactés par les pratiques forestières ou lorsqu'ils sont utilisés pour la récréation (Maser et al., 2008). Lorsque les mammifères mycophages cherchent des fructifications dans le sol, ils interrompent l'interface sol-litière et le profil de sol lui-même, ceci augmente les opportunités pour l'eau de pénétrer le sol et de permettre à la vie qui s'y trouve d'y accéder (Maser et al., 2008).

Colonisation de nouveaux milieux ou de milieux perturbés

Les animaux mycophages ont un rôle dans la dispersion des spores de champignons et probablement dans la restauration de la diversité dans les sites perturbés (Cázares et Trappe, 1994; Claridge et al., 2001; Frank et al., 2006; Vernes et Dunn, 2009; Vernes, 2010). Les animaux mycophages fournissent l'inoculum permettant la diversification des populations de champignons mycorhizateurs pour les jeunes successions de plantes des sols nouvellement en développement (Cázares et Trappe, 1994). Par exemple, une grande partie du sol de l'aire dévastée par l'éruption de 1980 du mont St. Helens à Washington a été brûlée tellement profondément que le sol ne pouvait plus offrir l'inoculum mycorhizien aux plantes qui auraient pu s'établir. Les wapitis broutèrent les endroits adjacents peu après l'éruption, où des plantes avaient survécues. À leur habitude, les wapitis ingérèrent des plantes complètes qu'ils avaient tirées du sol, incluant des racines, ayant pour effet que leurs fèces, récoltés un ou deux jours après, contenaient des fragments de mycorhizes avec des propagules vivantes (Maser et al., 2008).

Avantages retirés par les champignons du phénomène de mycophagie

Les champignons mycorhiziens hypogés dépendent des petits mammifères en tant que premiers vecteurs de la dispersion de leurs spores (Maser et al., 1978). Les mammifères dispersent les spores en ingérant les fructifications hypogées puis en les rejetant dans leurs fèces (dans Trappe et al. (2009) : Claridge et al., 1992 ; Fogel et Trappe 1978 ; Kotter et Farentinos 1984 ; Lamont et al., 1985 ; Maser et Maser 1988 ; Maser et al., 2008 ; Trappe et Claridge, 2005). Certaines spores de champignons ont même une germination augmentée suite au passage dans le tractus intestinal des micromammifères (dans Bertolino et al. (2004) : Cork et Kenegy, 1989 ; Claridge et al. 1992). Les spores de quelques espèces de champignons hypogés, particulièrement le genre *Elaphomyces*, sont aussi dispersées par l'air mais nécessitent tout de même l'intervention d'un animal : la couche extérieure de ces fructifications est consommée par les bêtes, ce qui libère une masse poudreuse de spores et qui, lorsque l'animal est situé en hauteur, résulte en la libération des spores dans le courant d'air qui les dispersera (dans Trappe et al. (2009): Ingold, 1973 ; Trappe et Maser 1977). De plus, les frugivores influencent la dynamique de population des plantes consommées, la structure de la communauté ainsi que son évolution (Rodríguez-Pérez, 2011), on pourrait s'attendre à retrouver les mêmes influences des mycophages chez les champignons mais des études sont nécessaires pour le confirmer. Finalement, par leur manière typique de consommer plusieurs espèces de champignons, les mycophages aident à perpétuer la diversité fongique à l'intérieur de leur domaine vital (Maser et al., 2008).

Modifications morphologiques des champignons dispersés par mycophagie

Nous retrouvons une description détaillée de l'évolution des champignons hypogés dans Trappe et al. (2009) : basé sur les évidences moléculaires, les champignons hypogés d'aujourd'hui sont, sauf quelques exceptions, dérivés de champignons épigés. Nous pouvons retrouver plusieurs espèces avec une morphologie intermédiaire entre les champignons hypogés et épigés. Ils peuvent avoir un pied (stipe) vestigial, trop peu

formé pour leur permettre de sortir du sol ; un chapeau qui ne s'ouvre pas de manière à exposer les lamelles et celles-ci peuvent être distordues ou même être remplacées par des chambres (Fig. 1). Une évolution plus avancée vers la morphologie adaptée à la fructification hypogée inclut la perte totale du chapeau et du pied, celui-ci étant remplacé par une columelle, i.e. une petite colonne traversant le centre d'une fructification maintenant devenue ronde entourée d'une membrane extérieure (le périidium) (Fig. 1). En dernier lieu, l'étape finale de ce type d'évolution (épigé vers hypogé) implique la perte totale du pied ou de son vestige (Fig. 1) (Trappe et al., 2009). L'évolution des champignons hypogés se serait produite plusieurs fois et rapidement (Johnson, 1996).

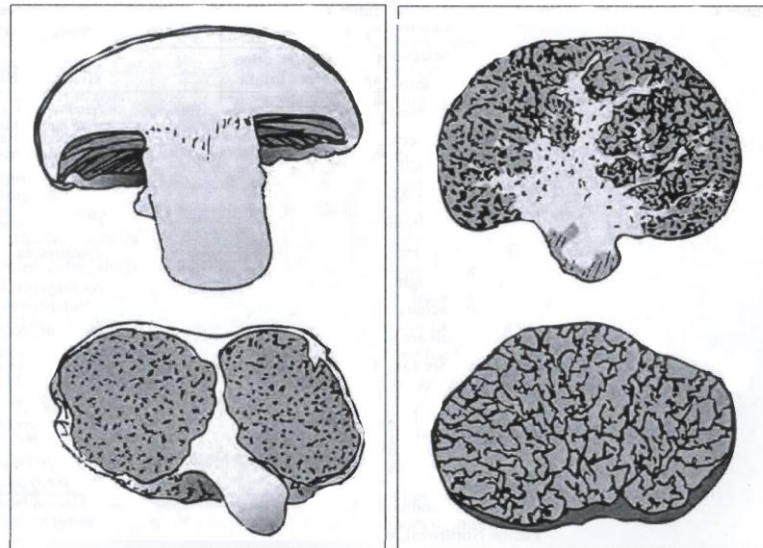


Figure 1. Évolution de la morphologie des champignons hypogés. Du haut vers le bas dans la colonne 1 puis dans la colonne 2 : la forme originale du champignon est perdue alors que le chapeau et le pied sont réduits jusqu'à ce que les tissus reproducteurs soient enclavés (Trappe et al., 2009). Illustration de Gretchen Bracher.

De plus, les champignons hypogés, nécessitant les mycophages pour disperser leurs spores, ont développé, au cours de l'évolution, un moyen pour être repérés. Fogel et Trappe (1978) ont observé que l'odeur des spécimens immatures n'était pas détectable et

qu'à l'approche de la maturité, une légère odeur était perceptible. Au fur et à mesure que la proportion de spores matures augmente, l'intensité de l'odeur en fait tout autant.

Avantages retirés par les animaux du phénomène de mycophagie

Les animaux mycophages obtiennent de manière directe des avantages en termes de nutriments puisqu'ils consomment les fructifications. Ces champignons ont souvent une haute teneur en protéines, acides aminés, glucides, lipides, vitamines et minéraux (Maser et al., 2008). Les champignons hypogés fournissent aussi la majorité de l'eau dont les mycophages ont besoin (Maser et al., 2008).

Modifications morphologiques des mycophages

Des modifications morphologiques ont été observées chez certains mycophages obligatoires. Par exemple, chez le campagnol roussâtre de Californie (*Clethrionomys californicus* var. *californicus*), on retrouve des dents qui ne continuent pas de pousser tout au long de la vie de l'animal contrairement à la majorité des rongeurs. Leurs dents sont fragiles et inadaptées à de la nourriture abrasive ou solide (dans Dighton et al. (2005) : Maser, 1998).

De plus, Claridge et al. (1999) ont testé l'hypothèse que des systèmes digestifs spécialisés permettent une digestion efficace des sporocarpes de champignons hypogés contrairement aux autres espèces de mammifères et ont obtenu une réponse positive concernant le campagnol roussâtre de Californie qui, malgré qu'il possède une masse corporelle six fois moindre que celle du grand polatouche, a réussi à surpasser ou à égaler les capacités de ce dernier concernant l'obtention d'azote des tissus des champignons hypogés et sa digestion. Dans cet article, ils citent d'autres auteurs ayant obtenu des résultats similaires permettant de conclure que certaines adaptations permettent de mieux profiter d'une alimentation fongique (dans Claridge et al. (1999) : Cork et Kenagy, 1989 ; Claridge et Cork, 1994).

On peut s'attendre à ce que le degré d'adaptations morphologiques et physiologiques soit en fonction du degré de mycophagie (Dighton et al., 2005).

Influence des feux sur la mycophagie

La réponse à un feu de certains mammifères est de chercher des champignons hypogés mais il ne faudrait pas en conclure que c'est parce qu'il y a plus de fructifications et encore moins que le feu a déclenché des fructifications tel qu'on pourrait le croire instinctivement. C'est ce pour quoi nous mettent en garde Claridge et Trappe (2004) qui ont étudié la question. D'autres phénomènes sont à même d'expliquer la recherche active de champignons hypogés par les mammifères suite à un feu tels que la non-disponibilité des autres ressources alimentaires ou que le feu altère la chimie des composés volatiles des champignons hypogés modifiant ainsi leur odeur les rendant soit plus attrayants ou plus facilement localisables par les animaux. Plus de recherches sur ce sujet sont nécessaires.

Les feux contrôlés (réalisés par les humains) dans les forêts de pins de Californie décroissent la biomasse d'ectomycorhizes de 90% dans la partie organique du sol, plus en surface (comparé à des sites équivalents non brûlés). Des résultats semblables ont été obtenus en Suède et en Australie (Maser et al., 2008). Ceci soutient l'idée qu'il n'est pas approprié de prescrire des feux sous prétexte que le règne fongique ne s'en porte que mieux ou n'est pas affecté. La mycophagie semble aussi importante pour rétablir la biodiversité des mycorhizes après les perturbations, ceci permettant au règne végétal de se rétablir pleinement lui aussi.

Les méthodes pour étudier la mycophagie

Différentes méthodes sont disponibles pour étudier la mycophagie, nous vous présenterons ici les principales.

Test de cafétéria

On peut quantifier le choix de diète en situation contrôlée par le test cafétéria (possibilité, pour l'animal, de choisir entre deux nourriture) en se basant sur la présomption que l'animal est capable de discriminer les diètes fournies (soit à l'odeur, au goût...). La prédiction ou hypothèse est que l'animal préférera une diète riche en énergie ou en minéraux. Il est ainsi possible de documenter la préférence entre les champignons hypogés et une autre nourriture ; la préférence entre deux genres ou espèces de champignons hypogés ou encore la préférence entre une seule espèce préférée ou une diversité d'espèces de champignons hypogés. On peut lire un tel type d'étude concernant la mycophagie chez les micromammifères réalisée par Dubay et al. (2008).

Exclos

Pour connaître le degré auquel les consommateurs de champignons prélèvent les sporocarpes du sol, il faut comparer des endroits similaires où ils ont eu accès, à d'autres où ils n'ont pas pu consommer les champignons puis, comparer le nombre de fructifications fongiques. Pour se faire, un exclos peut être utilisé. Celui-ci étant défini ainsi par l'Office québécois de la langue française (2011) : zone enclose, considérée quant à ce qu'elle exclut de l'atteinte du bétail ou des animaux sauvages; c'est une façon de mettre en défense ce qui y est enclos. North et Trappe (1994) compare plusieurs types d'enclos pour protéger les fructifications de champignons hypogés, leurs résultats indiquent que la fibre de verre n'est pas un matériel approprié car les rongeurs peuvent y faire des trous. Par contre le métal et la toile galvanisée sont des matériaux appropriés. On peut lire un tel type d'étude concernant la mycophagie chez les micromammifères réalisée par North et al. (1997).

Capture d'animaux / fèces

Plusieurs auteurs ont obtenu l'ADN des aliments consommés à partir de fèces (Carey et al., 2002; Izzo et al., 2005; Clare et al., 2011). Pour évaluer quelles spores se retrouvent dans les fèces, on voudra recueillir ces dernières soit en capturant les animaux

dans des cages ou en laissant ces derniers déposer leurs excréments sur des plaques de nourrissage où on appliquera de l'appât pour les attirer. Plusieurs auteurs choisissent la capture comme méthode d'obtention des fèces (réalisés dans la cage ou retirés à même l'animal) ou encore pour obtenir des contenus stomacaux ou intestinaux (Maser et al., 1978; Colgan et al., 1997; Cázares et al., 1999; Currah et al., 2000; Carey et al., 2002; Pyare et Longland, 2002; Bertolino et al., 2004; Lehmkuhl et al., 2004; Frank et al., 2006; Vernes et Dunn, 2009; Katarzyte et Kutorga, 2011). Des pièges de type Sherman sont habituellement utilisés chez les micromammifères, un groupe particulièrement étudié concernant la mycophagie. Le choix d'une telle méthodologie n'est pas justifiée par les auteurs (on n'argumente pas le choix de la capture relativement aux plaques de nourrissage). Les plaques de nourrissage sont rarement utilisées, par contre, certains auteurs choisissent de recueillir des fèces directement près des nids lorsque des amas sont facilement retrouvés ou en prospectant le sol des zones choisies pour de plus gros animaux chez qui les fèces sont aussi facilement retrouvés visuellement (Cázares et Trappe, 1994; Claridge et al., 2001; Ashkannejhad et Horton, 2006; Vernes et Trappe, 2007). Une raison probable à ce choix est que les méthodes classiques d'identification des micromammifères (qui est réalisée soit par identification visuelle, par mesures crâniennes ou par observation au binoculaire du cadavre de l'animal) impliquent la capture de ceux-ci (Desrosiers et al., 2002). Lors de l'utilisation de plaques de nourrissage, il est tout de même possible d'identifier les micromammifères en utilisant l'ADN contenu dans les fèces (voir section «Analyse moléculaire» ci-dessous), cette méthode est plus dispendieuse mais elle est partiellement compensée par des coûts de prélèvement moins élevés.

Analyse moléculaire

L'analyse moléculaire permet de réaliser deux parties du travail. Premièrement, il est possible d'établir quel est l'émetteur de la ou des fèces. Deuxièmement il est possible de déterminer quelles spores de champignons se retrouvent dans ces fèces (Izzo et al., 2005).

L'identification moléculaire des champignons peut être réalisée de la manière suivante : premièrement l'extraction de la totalité de l'ADN de l'échantillon ; deuxièmement l'amplification de l'ADN fongique uniquement en utilisant les amorces spécifiques aux champignons, soit ITS1F et ITS4 relatives à l'espaceur transcrit interne de l'ADN ribosomique (de l'anglais *internal transcribed spacer region* (ITS)), tel que décrit dans Zolan et Pukkila (1986) et Stéfani et Bérubé (2006) ; troisièmement, le clonage et le séquençage des ADN fongiques amplifiés.

L'étape de l'extraction permet de libérer l'ADN des protections offertes par la cellule (l'enveloppe du noyau par exemple) pour ainsi pouvoir la manipuler lors des étapes suivantes.

L'étape de l'amplification permet de cibler l'ADN avec lequel on veut travailler et éliminer virtuellement les autres ADN. Cette étape peut être réalisée grâce à la PCR (réaction en chaîne par polymérase, de l'anglais *polymerase chain reaction*), qui est une méthode permettant la multiplication d'une courte séquence d'ADN (jusqu'à deux ou trois kilobases en routine) appelée séquence cible, à partir d'une infime quantité d'ADN génomique. Le taux de multiplication (ou taux d'amplification) est tel que la réaction revient à rendre négligeable le reste du génome qui n'a pas été amplifié car le produit de PCR contient presque exclusivement des millions d'exemplaires de la séquence cible. Il est donc facilement analysable (Mornet, 2011).

Le séquençage est une méthode permettant de définir l'ordre des nucléotides d'un du fragment d'ADN sur lequel on a travaillé pour ensuite permettre son identification. On utilisera la technique du séquençage lorsqu'on tentera d'obtenir l'ADN de l'émetteur d'une fèce par exemple, puisqu'un seul ADN sera recherché. On utilisera une région d'ADN à amplifier adaptée aux espèces qui peuvent être rencontrés sur les lieux de l'échantillonnage et que nous soupçonnons d'être l'émetteur de la fèce selon les caractéristiques de celle-ci, par exemple, on pourra utiliser la région MVZ du cytochrome b pour des micromammifères (Gonzalez-Ittig et al., 2007; Sears, 2008).

Le pyroséquençage est une méthode de séquençage permettant de définir l'ordre des nucléotides d'un même fragment d'ADN mais de plusieurs individus (voir différents genres ou espèces) dans un même échantillon. On utilisera la technique du pyroséquençage plutôt que celle du séquençage lors de la recherche d'ADN de champignons dans des fèces puisque l'on recherchera plusieurs séquences d'ADN dans un même échantillon (il est attendu qu'un individu puisse consommer plusieurs champignons dans un court laps de temps), bref le pyroséquençage nous permettra d'obtenir toutes les séquences fongiques de la diversité présente plutôt qu'une seule, soit la plus représentée, comme nous le permettrait le séquençage.

Plutôt que de pyroséquencer, il est aussi possible de séquencer tous les fragments un à un. Cette méthode est moins coûteuse mais augmente les risques d'amplifier seulement certains fragments (par exemple il sera possible de retrouver seulement les champignons saprophytes s'ils sont en beaucoup plus grande quantité sur les fèces que les spores de champignons ectomycorhiziens - Serge Sokolski comm. pers.). Cette méthode consiste à cloner, sur un milieu de culture, les différentes souches de champignons d'un échantillon puis à les isoler (repiquer / transférer dans un nouveau plat de pétri). Quand chacune des colonies (souche) est isolée, elle sera envoyée au séquençage individuellement. Il est possible de réaliser cette étape en plat de pétri, par exemple en utilisant une trousse de Quiagen® ou Invitrogen® ou en culture liquide ou solide.

Une fois l'ordre des nucléotides défini soit par séquençage ou pyroséquençage, on pourra comparer les séquences obtenues, une à une, avec des bases de données génétiques telles que Genbank® en utilisant BLAST, un algorithme de comparaison de séquences (disponible gratuitement à l'adresse internet : <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) et ainsi établir à quelle espèce elles appartiennent. Les espèces ne pouvant pas être identifiées directement grâce aux bases de données génétiques peuvent tout de même faire l'objet d'une analyse phylogénétique permettant de les situer par rapport à un groupe connu (Bonito et al., 2010).

Identification des spores au microscope

Cette méthode consiste à regarder les spores au microscope et à utiliser une clé d'identification pour déterminer à quelles espèces elles appartiennent. Cet exercice est moins dispendieux que l'analyse moléculaire mais comporte les désavantages suivants (Colgan et al., 1997) :

- Une courbe d'apprentissage considérable doit être prévue pour les analyses (identification au microscope des spores de champignons hypogés) si la personne réalisant les travaux n'a pas de précédent en mycologie.
- Cette méthode est longue à réaliser : une personne expérimentée pourra analyser les fèces de 12 individus en 11 heures ou, si on regroupe les excréments en 3 ou 4 fèces, elle pourra analyser les 12 individus en 3,5 heures.

La distinction entre les spores de champignons épigés versus hypogés est réalisée de la manière suivante (Claridge et al., 2001) : les épigés possèdent des spores bilatéralement asymétriques contrairement aux hypogés qui eux, arborent des spores bilatéralement symétriques.

Les spores peuvent se retrouver dans leur milieu (tel qu'au sein de la fèce macérée dans de l'alcool par exemple) ou séparées de leur milieu.

Séparation des spores de leur milieu

De manière à séparer les spores de leur milieu, on peut utiliser le tamisage, la décantation ou la séparation selon leur densité spécifique grâce à la centrifugation par gradient de concentration. Toutes ces techniques ont été décrites dans Daniels et Skipper (1982). Dans un premier temps on utilisera le tamisage ou la décantation pour extraire les particules grossières d'argile et/ou de sable. Le tamisage est effectué en remuant un tamis où on aura déposé le sol (ou la matière contenant des spores) recueilli, on conservera ce qui aura passé au travers du tamis, une fois le tamis rincé à l'eau claire pour récupérer les spores qui auraient pu adhérer à sa surface. On pourra ensuite utiliser un tamis plus fin de type Nitex® pour discriminer une grosseur de spores en particulier. De son côté, la

décantation sera effectuée dans un liquide choisi pour sa densité semblable à celle des spores qu'on s'attendra à retrouver (par exemple du glycérol 50%), les grosses particules se retrouveront au fond et les spores ainsi que les particules de même densité se retrouveront dans la colonne de liquide. Suivra habituellement la centrifugation.

La centrifugation est une technique utilisée en biochimie pour séparer ou analyser des fractions ou des structures cellulaires, des macromolécules, etc. (Kamoun, 1987).

On peut augmenter la précision de la séparation en réalisant cette centrifugation dans un gradient de concentration. Effectivement, un des facteurs qui influence la vitesse de sédimentation est la différence entre la densité du fragment et celle du solvant. Si la densité du fragment est plus grande que celle du milieu, il sédimentera. S'il n'y a pas de différence de densité, la sédimentation n'aura pas lieu, peu importe l'accélération. Si le fragment observé est moins dense que le milieu, celui-ci s'élèvera dans le tube pour atteindre un niveau de densité égal ou jusqu'à flotter à la surface. Plusieurs produits peuvent être utilisés pour créer ce gradient soit du saccharose, chlorure de césium ou des produits spécialisés de différentes compagnies (Gauthier, 2004). Il s'agit de pipeter des couches du produit choisi, c'est-à-dire de déposer au fond du contenant le produit à sa concentration la plus forte (i.e. 75%), puis de déposer par-dessus cette dernière couche, le même produit mais à concentration moindre (i.e. 50%) et ainsi de suite sans perturber les couches déjà déposées (Martin Trépanier, comm. pers.).

Ces techniques sont utilisées pour les mycorhizes arbusculaires (Redon, 2009) et fonctionnent aussi chez les ectomycorhizes (Grouzis et Le Floc'h, 2011).

Réflexion, piste de recherche

Le domaine des champignons ectomycorhizien n'est que très peu étudié et l'étendue des influences de ces organismes n'a été que survolé. Voici une réflexion sur une piste de recherche que j'espère pouvoir investiguer au cours de ma carrière :

Nous ne connaissons pas encore les causes sous-jacentes aux populations cycliques caractéristiques des régions arctiques, boréales et tempérées froides. La faible diversité végétale du milieu boréal n'est en aucun cas représentative de la diversité observée chez les champignons ectomycorhiziens. Leurs nombres ont été quantifiés aux alentours de 6000 espèces, dont la majorité aurait la capacité de s'associer avec des arbres situés en forêt boréale (dans Maneli (2008) : Molina et al., 1992).

Les liens prédateurs-proie et les liens végétaux-herbivores ont abondamment été prospectés sans pouvoir expliquer complètement les fondements de ces cycles. Par contre, certains auteurs ont établis des liens entre ces cycles biologiques et le cycle solaire (Kivana et al., 2004). Est-ce que les sucres transférés aux champignons par les arbres, régit par la luminosité solaire (et donc, par le cycle solaire), pourraient influencer les fructifications des ectomycorhizes et ainsi la quantité de nourriture disponibles aux micromammifères ? Les micromammifères étant une ressource alimentaire pour plusieurs mésocarnivores et prédateurs, est-ce envisageable que cela déclenche les cycles observés ? Si oui, ce règne tellement négligé, ici en symbiose avec les végétaux et les animaux, aurait été la réponse à cette question encore irrésolue.

Références

- Ashkannejhad S, Horton TR. 2006. Ectomycorrhizal ecology under primary succession on coastal sand dunes: interactions involving *Pinus contorta*, suilloid fungi and deer. *New Phytologist* 169: 345-354.
- Berit I. 2007. Reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) feeding on lichens and mushrooms: traditional ecological knowledge among reindeer-herding Sami in northern Sweden. *Rangifer* 27: 93-106.
- Bertolino S, Vizzini A, Wauters LA, Tosi G. 2004. Consumption of hypogeous and epigeous fungi by the red squirrel (*Sciurus vulgaris*) in subalpine conifer forests. *Forest Ecology and Management* 202: 227-233.
- Bonito GM, Gryganskyi AIP, Trappe JM, Vilgalys R. 2010. A global meta-analysis of Tuber ITS rDNA sequences: species diversity, host associations and long-distance dispersal. *Molecular Ecology* 19: 4994–5008.
- Carey AB, Colgan W, Trappe JM, Molina R. 2002. Effects of forest management on truffle abundance and squirrel diets. *Northwest Science* 76: 148-157.
- Cázares E, Luoma DL, Amaranthus MP, Chambers CL, Lehmkuhl JF. 1999. Interaction of fungal sporocarp production with small mammal abundance and diet in Douglas-fir stands of the southern cascade range. *Northwest Science* 73: 64-76.
- Cázares E, Trappe JM. 1994. Spore dispersal of ectomycorrhizal fungi on a glacier forefront by mammal mycophagy. *Mycologia* 86: 507-510.
- Clare EL, Barber BR, Sweeney BW, Hebert PDN, Fenton MB. 2011. Eating local: influences of habitat on the diet of little brown bats (*Myotis lucifugus*). *Molecular Ecology* 20: 1772-1780.
- Claridge AW, Trappe JM. 2004. Managing habitat for mycophagous (fungus-feeding) mammals: a burning issue? dans *Conservation of Australia's forest fauna*. Royal Zoological Society of New South Wales. 1073 pages.
- Claridge AW, Trappe JM. 2005. Sporocarp Mycophagy : Nutritional, Behavioral, Evolutionary and Physiological Aspects. in *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*, Third Edition CRC Press. 960 pages.
- Claridge AW, Trappe JM, Claridge DL. 2001. Mycophagy by the swamp wallaby (*Wallabia bicolor*). *Wildlife Research* 28: 643-645.

- Claridge AW, Trappe JM, Cork SJ, Claridge DL. 1999. Mycophagy by small mammals in the coniferous forests of North America: nutritional value of sporocarps of *Rhizopogon vinicolor*, a common hypogeous fungus. *Journal of Comparative Physiology B Biochemical, Systems, and Environmental Physiology* 169: 172-178.
- Colgan W, Carey AB, Trappe JM. 1997. A reliable method of analyzing dietaries of mycophagous small mammals. *Northwestern naturalist* 78: 65-69.
- Currah RS, Smreciu EA, Lehesvirta T, Niemi M, Larsen KW. 2000. Fungi in the winter diets of northern flying squirrels and red squirrels in the boreal mixedwood forest of northeastern Alberta. *Canadian journal of botany-revue canadienne de botanique* 78: 1514-1520.
- Daniels B.A., Skipper H.D. 1982. Methods for the recovery and quantitative estimation of propagules from soil. in Schenk N.C. *Methods and principles of mycorrhizal research*. American Phytopathological Society. 244 pages.
- Desrosiers N, Morin R, Jutras J. 2002. *Atlas des micromammifères du Québec*. Société de la faune et des parcs du Québec Direction du développement de la faune. 92 pages.
- Dighton J, White Jr. JF, Oudemans P. 2005. *The Fungal Community: Its Organization and Role in the Ecosystem*, Third Edition. 960 pages.
- Dubay SA, Hayward GD, del Rio CM. 2008. Nutritional value and diet preference of arboreal lichens and hypogeous fungi for small mammals in the Rocky Mountains. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne de Zoologie* 86: 851-862.
- Fogel R, Trappe JM. 1978. Fungus Consumption (Mycophagy) by Small Animals. *Northwest Science* 52.
- Fortin JA, Plenchette C, Piché Y. 2008. *Les Mycorhizes. La nouvelle révolution verte*. Éditions MultiMondes. 138 pages.
- Frank JL, Barry S, Southworth D. 2006. Mammal mycophagy and dispersal of mycorrhizal inoculum in Oregon white oak woodlands. *Northwest Science* 80: 264-273.
- Gauthier D. 2004. Introduction aux techniques utilisées en biochimie. Centrifugation en gradient de densité. Université de Moncton. http://www8.umoncton.ca/umcm-gauthier_didier/siitub/centgradient.html. Accédé le 23 novembre 2011.

- Gonzalez-Ittig RE, Patton JL, Gardena CN. 2007. Analysis of cytochrome-b nucleotide diversity confirms a recent range expansion in *Calomys musculus* (rodentia, muridae). *Journal of Mammalogy* 88: 777-783.
- Grouzis M, Le Floc'h É. 2011. Un arbre au désert, *Acacia raddiana*. Institut de recherche pour le développement (IRD).
- Hanson AM, Hodge KT, Porter LM. 2003. Mycophagy among primates. *Mycologist* 17: 6-10.
- Izzo AD, Meyer M, Trappe JM, North M, Bruns TD. 2005. Hypogeous ectomycorrhizal fungal species on roots and in small mammal diet in a mixed-conifer forest. *Forest Science* 51: 243-254.
- Johnson CN. 1996. Interactions between mammals and ectomycorrhizal fungi. *Trends in Ecology & Evolution* 11: 503-507.
- Kamoun P. 1987. Appareils et méthodes en biochimie. Flammarion Médecine-Sciences. 374 pages.
- Katarzyte M, Kutorga E. 2011. Small mammal mycophagy in hemiboreal forest communities of Lithuania. *Central European Journal of Biology* 6: 446-456.
- Kendrick B. 1985. The fifth kingdom. Mycologue Publications. 364 pages.
- Klvana I, Berteaux D, Cazelles B. 2004. Porcupine feeding scars and climatic data show ecosystem effects of the solar cycle. *The american naturalist* 164: 283-297.
- Lehmkuhl JF, Gould LE, Cázares E, Hosford DR. 2004. Truffle abundance and mycophagy by northern flying squirrels in eastern Washington forests. *Forest Ecology and Management* 200: 49-65.
- Loeb SC, Tainter FH, Cázares E. 2000. Habitat associations of hypogeous fungi in the southern appalachians: Implications for the endangered northern flying squirrel (*Glaucomys sabrinus coloratus*). *American Midland Naturalist* 144: 286-296.
- Luoma DL. 1991. Annual changes in seasonal production of hypogeous-sporocarps in oregon douglas-fir forests. *Wildlife and Vegetation of Unmanaged Douglas-Fir Forests* 285: 83-90.
- Maneli D. 2008. Écologie des champignons ectomycorhizels comestibles en peuplements de pin gris (*Pinus banksiana*). Mémoire Université du Québec à Montréal 74 pages.
- Maser C, Claridge AW, Trappe JM. 2008. Trees, truffles, and beasts : how forests function. Rutgers University Press. 282 pages.

- Maser C, Nussbaum RA, Trappe JM. 1978. Fungal small mammal interrelationships with emphasis on oregon coniferous forests. *Ecology* 59: 799-809.
- Mela F. 2011. Genomic analysis of bacterial mycophagy en Faculty of Science. Leiden University.
- Moore D, Robson G, Trinci T. 2011. 21st Century Guidebook to Fungi. Cambridge University Press. 640 pages.
- Mornet É. 2011. Méthodes d'analyse de l'ADN. Applications médicales et médico-légales. Faculté de médecine Paris Ile-de-France Ouest.
<http://www.sesep.uvsq.fr/formation/methodes.html>. Accédé le 29 novembre 2011.
- North M, Trappe J. 1994. Small mammal exclosures for studies of hypogeous fungi. *Mycologia* 86: 586-587.
- North M, Trappe J, Franklin J. 1997. Standing crop and animal consumption of fungal sporocarps in Pacific northwest forests. *Ecology* 78: 1543-1554.
- Office québécois de la langue française. 2011. Le grand dictionnaire terminologique.
http://www.granddictionnaire.com/BTML/FRA/r_Motclef/index1024_1.asp.
 Accédé le 01 novembre 2011.
- Pyare S, Longland WS. 2002. Interrelationships among northern flying squirrels, truffles, and microhabitat structure in Sierra Nevada old-growth habitat. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 32: 1016-1024.
- Redon P-O. 2009. Rôle de champignons mycorhiziens à arbuscules dans le transfert du cadmium (Cd) du sol à la luzerne (*Medicago truncatula*) en Sciences du Sol, Université Henri Poincaré, Nancy.
- Rodríguez-Pérez J. 2011. Frugivore behaviour determines plant distribution: a spatially-explicit analysis of a plant-disperser interaction. *Ecography*: online version of record published before inclusion in an issue.
- Sears C. 2008. Appendix A: Small mammals DNA analysis. in A biophysical inventory and evaluation of the Lulu Island bog (R Neil Davis and Rose Klinkenberg (editors), British Columbia. Richmond Nature Park Society, Richmond, British Columbia).
- Simpson JA. 2000. More on mycophagous birds. *Australasian mycologist* 19: 49-51.
- Stefani FOP, Berube J. 2006. Biodiversity of foliar fungal endophytes in white spruce (*Picea glauca*) from southern Quebec. *Canadian journal of botany-revue canadienne de botanique* 84: 777-790.

- Tanney JB, Hutchison LJ. 2011. A Brief Survey of Mycophagy in Ruffed Grouse, *Bonasa umbellus*, from Northwestern Ontario. *Canadian Field-Naturalist* 125: 72-73.
- Trappe JM, Molina R, Luoma DL, Cázares E, Pilz D, Smith JE, Castellano MA, Miller SL, Trappe MJ. 2009. Diversity, ecology, and conservation of truffle fungi in forests of the Pacific Northwest. General Technical Reports. PNW-GTR-772. Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 194 pages.
- Vernes K. 2010. Mycophagy in a community of macropodoid species. in *Macropods: The Biology of Kangaroos, Wallabies and Rat-Kangaroos*, 408 pages. CSIRO Publishing.
- Vernes K, Dunn L. 2009. Mammal mycophagy and fungal spore dispersal across a steep environmental gradient in eastern Australia. *Austral Ecology* 34: 69-76.
- Vernes K, Trappe JM. 2007. Hypogeous fungi in the diet of the red-legged pademelon *Thylogale stigmatica* from a rainforest-open forest interface in northeastern Australia. *Australian Zoologist* 34: 203-208.
- Zabel CJ, Anthony RG. 2003. *Mammal Community Dynamics, Management and Conservation in the Coniferous Forest of Western North America*. Cambridge University Press 732 pages.
- Zolan ME, Pukkila PJ. 1986. Inheritance of DNA Methylation in *Coprinus cinereus*. *Molecular and Cellular Biology* 6: 195-200.