

Suivi des botryches (*Botrychium* spp.) au parc national du Bic (été 2019)



Cassandra Ducharme et Guillaume de Lafontaine
Chaire de recherche du Canada en biologie intégrative de la flore nordique
Université du Québec à Rimouski

Rapport préparé pour la direction du
parc national du Bic, Sépaq

Mars 2020

Cassandra Ducharme

Guillaume de Lafontaine (PhD)

Chaire de recherche du Canada en biologie intégrative de la flore nordique

Université du Québec à Rimouski

Téléphone : 418-723-1986 poste 1061

Courriel : guillaume_delafontaine@uqar.ca

Introduction

Les changements globaux, incluant la modification d'occupation du territoire, l'anthropisation des environnements physiques et biologiques ou encore les changements climatiques, altèrent les écosystèmes naturels et réduisent la biodiversité (Cardinale *et al.* 2012). La conservation des milieux naturels représente un enjeu croissant étant donné la progression rapide de l'impact anthropique sur l'ensemble de la biosphère depuis le début de l'Anthropocène (Crutzen et Steffen 2003). À cet effet, le gouvernement du Québec instaure, dès 1977, la Loi sur les parcs citant comme *objectif prioritaire d'assurer la conservation et la protection permanente de territoires représentatifs des régions naturelles du Québec ou de sites naturels à caractère exceptionnel, notamment en raison de leur diversité biologique* (Loi sur les parcs 2019).

Au Bas Saint-Laurent, le parc national du Bic (PNB) possède un patrimoine floristique important dont plusieurs espèces rares (Fernald 1925 ; Lavoie et Saint-Louis 2008). C'est notamment le cas de certaines espèces de botryches (*Botrychium* spp.), fougères eptosporangiées faisant partie de la famille des *Ophioglossaceae*. On y retrouve notamment deux espèces de botryches rares au Québec, soit *Botrychium michiganense* et *B. pallidum*, figurant sur la liste des espèces végétales susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables du gouvernement du Québec (Labrecque *et al.* 2008 ; Tardif *et al.* 2016). De plus, la seule mention reconnue par le Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec (CDNPQ) de *B. michiganense* est située au PNB, ce qui explique pourquoi l'espèce est jugée en déclin sévère (Cayouette 2001a ; FORMTER 2001 ; Farrar 2008 ; Labrecque *et al.* 2008 ; Tardif *et al.* 2016). Depuis la découverte de *B. michiganense* et de *B. pallidum* en 2001 au PNB, des inventaires furent réalisés en 2006, 2007 et 2008 (Labrecque & Cayouette 2006, 2008 ; Labrecque *et al.* 2011). Une brève visite a aussi été effectuée en 2016 afin de décrire les habitats de botryches dans le secteur de l'ancien camp de vacances du Cap à l'Orignal où des aménagements étaient prévus par le parc (Labrecque et Jolicoeur 2017). Depuis les inventaires exhaustifs de 2006-2008, de nouvelles recherches sur la systématique du genre *Botrychium* ont été conduites permettant de classer formellement *B. michiganense* comme une espèce différente de *B. matricariifolium*, sur la base de critères morphologiques et moléculaires permettant de différencier ces deux espèces (Gilman *et al.* 2015 ; Williams *et al.* 2016).

Considérant l'évolution naturelle des écosystèmes au cours du temps et les nombreux projets d'aménagement au PNB depuis le dernier suivi sur les botryches, tels que les chalets EXP ou le camping Tombolo, il devient hautement important de mettre à jour les inventaires. Le but de la présente recherche est de dresser un portrait actualisé des populations du genre *Botrychium* au parc national du Bic afin d'identifier des unités de gestion stratégiques qui tiennent compte de la composition spécifique des différentes colonies, des aménagements récents dans le parc et des menaces potentielles aux populations actuelles. Ceci permettra d'orienter les recherches futures qui serviront ultimement à établir des mesures de conservation basées sur les dernières données empiriques. La mise à jour de ces inventaires marque donc une nouvelle étape dans l'avancée des recherches universitaires sur les populations de plantes endémiques et la biodiversité au PNB. Étant donné les nouveaux aménagements exécutés au cours des cinq dernières années à plusieurs sites étudiés lors des inventaires précédents, il est possible que certaines populations de botryches aient été perturbées. Cette étude a donc également pour but de constater l'impact général des modifications anthropiques et naturelles sur les populations de botryches du PNB.

Biologie du genre *Botrychium*

Au sein de la famille des *Ophioglossaceae*, on retrouve la sous-famille des *Botrychioideae* constituée de deux sous-genres nommés *Botrychium* et *Sceptridium*. Au Québec, le sous-genre *Sceptridium* est représenté par une seule espèce, soit *S. multifidum* caractérisée par une taille moyenne possédant un trophophore persistant, coriace et ayant la texture du cuir (Farrar 2006 ; Dignard 2013). Le genre *Botrychium* comprend 27 espèces au Canada dont 15 espèces au Québec (Cayouette 2001b ; Desmet et Brouillet 2013). Ces plantes herbacées vivaces possèdent des rhizomes courts et des racines simples ou légèrement ramifiées (Dignard 2013). Le bourgeon apical, qui est souterrain, produit normalement une seule feuille aérienne en une année de croissance. Il existe une symbiose mycorhizienne arbusculaire avec le champignon *Glomus sp.* permettant un échange mutuel de nutriments essentiels à la plante, puisque celle-ci ne possède pas de poils racinaires (Kelly 1994 ; Winther et Friedman 2007). La partie aérienne se divise en deux axes : un des axes se nomme trophophore ou segment stérile, et est une fronde photosynthétique, l'autre axe est appelé sporophore et constitue la partie fertile qui peut porter de 20 à 100 sporanges, chacun contenant ~1000 spores (Farrar et Johnson-Groh 1986 ; Wagner 1998 ; Anderson et Cariveau 2004 ; Farrar 2006 ; Williams *et al.* 2016). Chaque individu

(sporophyte) ne compte qu'un trophophore saisonnier et un ou deux sporophores, rarement absent. Les botryches sont souvent retrouvés en groupes (colonies) dans de petites ouvertures de la forêt (clairières) ou encore dans des prairies basses (Kolb et Spribille 2000 ; Colorado Natural Heritage Program 2004). Il a été proposé que cette distribution particulière « en colonies » au sein d'un site pourrait être causée par la distribution mycorhizienne ou par d'autres facteurs abiotiques ou biotiques tels que le broutement de la partie fertile par des mammifères qui permet la dissémination locale des spores (Wagner *et al.* 1985 ; Wagner 1998 ; Buell 2001 ; Anderson et Cariveau 2004).

Le cycle vital des botryches est particulier (Figure 1 ; Farrar 2011) puisque la reproduction sexuée se déroule sous terre, ce qui limite le déplacement des spermatozoïdes et contribue à favoriser l'autofécondation intragamétophytique. Ainsi, le nouveau sporophyte (2n) créé par autofécondation intragamétophytique est entièrement homozygote et génétiquement similaire au gamétophyte (n), puisque l'œuf et le spermatozoïde produits par un même gamétophyte dérivent de la même cellule initiale (c.-à-d., le même spore). Les gamétophytes produits par ce sporophyte

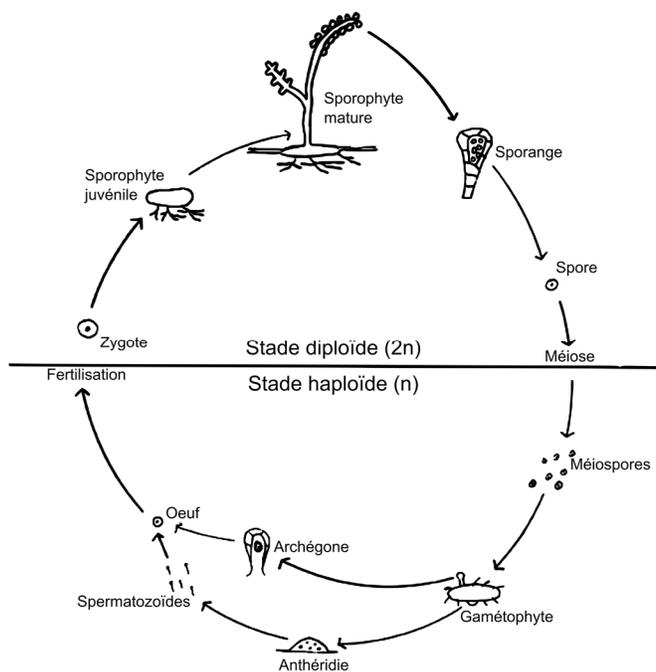


Figure 1. Cycle vital du genre *Botrychium* (modifié d'après Fryer 2014).

seront eux aussi génétiquement identiques au gamétophyte initial et ainsi de suite, tant que survient l'autofécondation intragamétophytique. En pratique, ce mode de reproduction sexuée, dans lequel la diversité génétique ne peut jamais augmenter par recombinaison, équivaut à une forme de reproduction végétative (c.-à-d., clonale). Ainsi, un spore unique peut initier, à lui seul, une nouvelle population. Puisque tous les allèles sont exprimés en condition homozygote, les allèles récessifs délétères sont rapidement purgés par l'autofécondation intragamétophytique. Ce système de reproduction permet donc de maintenir des populations isolées, faiblement diversifiées génétiquement et fortement consanguines, sans toutefois accumuler de charge

génétique et subir la dépression de consanguinité habituellement observée chez les espèces principalement exogames. Ainsi, la petite taille des populations de botryches au PNB n'impliquerait pas nécessairement que ces populations soient génétiquement affaiblies. Enfin, il existe de rares cas d'individus (sporophytes) hétérozygotes issus de la fécondation croisée entre deux gamétophytes (allogamie). De manière générale, les conséquences de la reproduction particulière chez les botryches permettent de mieux comprendre la biologie des populations de ce genre (Williams *et al.* 2016). Par exemple, chez les botryches, la diversité génétique est généralement fortement structurée entre les populations (forte différenciation interpopulationnelle) alors que les individus à l'intérieur d'une population sont génétiquement très similaires (faible différenciation intrapopulationnelle) (Farrar *et al.* 2001). De plus, certaines espèces de botryches peuvent se reproduire de manière asexuée par des propagules végétatives originaires de régions méristématiques du cortex externe de la tige. En cas d'abscision de la tige, ces gemmules sphériques (de 0,5 à 1 mm de diamètre) contenant une cellule apicale et un mycorhize peuvent se différencier et croître en sporophyte (Farrar et Johnson-Groh 1990). Ce mode de reproduction a été observé chez plusieurs espèces diploïdes et allotétraploïdes sur des sites xériques aux États-Unis, témoignant d'une adaptation pour la reproduction dans des milieux où le risque de dessiccation du gamétophyte est élevé et où l'absence d'environnement liquide limite le déplacement des spermatozoïdes jusqu'à l'archégone (Farrar et Johnson-Groh 1990 ; Camacho 1996). Pour le moment, il est reconnu que *B. minganense*, espèce présente au PNB, peut se reproduire ainsi en conditions sèches et il est possible que ce mode de reproduction asexuée permette également le maintien d'autres espèces lors de saisons sèches au PNB. Pour envisager une stratégie de conservation des botryches efficace au PNB, il serait essentiel de mieux caractériser la diversité génétique des populations. Pour chaque espèce de botryche présente au PNB, ceci permettrait de savoir si tous les individus du parc appartiennent à une seule population génétique ou si chaque colonie de botryches spatialement isolée à l'intérieur du parc constitue une population évolutive distincte. De telles connaissances permettraient l'établissement d'un plan de conservation adapté à la réalité des populations du parc. Une meilleure compréhension de la diversité génétique des populations de botryches du PNB permettrait également de mieux comprendre la dynamique reproductive de chaque espèce (importance relative de l'autofécondation intragamétophytique, allogamie et la reproduction asexuée) en lien avec les variables environnementales spécifiques au PNB.

Systematique du genre *Botrychium*

La distribution des haplotypes d'ADN chloroplastique au sein du genre *Botrychium* se subdivise en trois clades : Lanceolatum, Simplex-Campestre et Lunaria. En Amérique du Nord, Simplex-Campestre domine tant par sa fréquence (60% des haplotypes) que par sa répartition géographique alors que les deux autres clades présentent des proportions semblables et moindres (~20% chacun ; Dauphin *et al.* 2017). Selon les analyses morphologiques et génétiques (allozymes), le clade Lanceolatum est le plus éloigné phylogénétiquement et comprend 17 taxa dont trois diploïdes (Dauphin *et al.* 2017). Au PNB, les espèces diploïdes *B. lanceolatum* et *B. angustisegmentum* et les allotétraploïdes *B. matricariifolium* et *B. michiganense* ont déjà été rapportées. Le clade Simplex-Campestre est le plus diversifié et comprend un total de 20 taxa dont neuf sont polyploïdes (Dauphin *et al.* 2017). Au PNB, on retrouve trois des quatre sous-clades existants, soit Pallidum, Simplex et Minganense (Dauphin *et al.* 2014), représentés par *B. pallidum* et *B. simplex*, espèces diploïdes, et *B. minganense*, allotétraploïde. *B. minganense* est issu de plusieurs événements d'hybridations entre *B. neolunaria* et *B. pallidum* ou un parent éteint de celui-ci (Farrar 2006 ; Williams *et al.* 2012 ; Dauphin *et al.* 2014). Finalement, le clade Lunaria comprend 10 taxa diploïdes et un seul polyploïde (Dauphin *et al.* 2017). Au PNB, ce clade serait représenté par deux espèces diploïdes *B. lunaria* et *B. neolunaria* qui n'ont pas été revues en 2019 (voir *Résultats*).

Les origines multiples des allotétraploïdes

Au sein du genre *Botrychium*, le nombre de base de chromosomes est de 45 ($n = 45$). Les espèces diploïdes possèdent deux copies de chromosomes homologues au stade sporophytique donc 90 chromosomes ($2n = 90$). Les espèces allotétraploïdes résultent d'une réplification des paires de chromosomes parentales sans division nucléaire subséquente, elles ont donc 180 chromosomes ($4n = 180$) (Farrar 2006). Ces événements de spéciation allopolyploïde, qui impliquent l'hybridation entre deux espèces diploïdes dont les descendants sont fertiles suite à un doublement des chromosomes, sont survenus plusieurs fois au cours de l'évolution de chacune des espèces de botryches allotétraploïdes résultant en des différences morphogénétiques substantielles au sein de ces espèces. En effet, les mesures de degré de similarité génétique entre les individus d'une même espèce allotétraploïde ne sont pas parfaites (Williams *et al.* 2016). Cela

s'explique par le fait qu'au sein d'une même espèce allotétraploïde, il y a eu plusieurs événements d'hybridation entre parents diploïdes possédant chaque fois de légères différences intraspécifiques. La combinaison répétée d'individus différents résulte en des formes contrastées au sein d'une même espèce allotétraploïde. Considérant que de tels événements de spéciation allotétraploïde se produisent spontanément, à des temps et des endroits différents, cela peut résulter en plusieurs génotypes et morphotypes distincts qui se propagent ensuite par la fertilisation intragamétophytique (Farrar 2006). Par exemple Williams *et al.* (2016) ont combiné des approches moléculaires et morphologiques pour examiner 1500 individus de *B. matricariifolium*, une espèce allotétraploïde (présente au PNB) reconnue pour son vaste spectre phénotypique. L'étude indique un processus de spéciation cryptique au cours duquel au moins quatre événements d'hybridation distincts ont été nécessaires pour générer l'ensemble de la variation génomique existante au sein de cette espèce. Notons que trois de ces événements impliquent des allèles actuellement absents chez *B. pallidum* et *B. angustisegmentum*, les deux espèces parentales de *B. matricariifolium* (Figure 2). Ces allèles orphelins devaient être historiquement présents chez *B. pallidum*, mais ont été perdus au cours de l'évolution (Farrar 2006). Ainsi, les variations génétiques et morphologiques peuvent être expliquées par de multiples événements d'hybridation impliquant des parents ayant eux-mêmes évolués indépendamment (Farrar 2006).

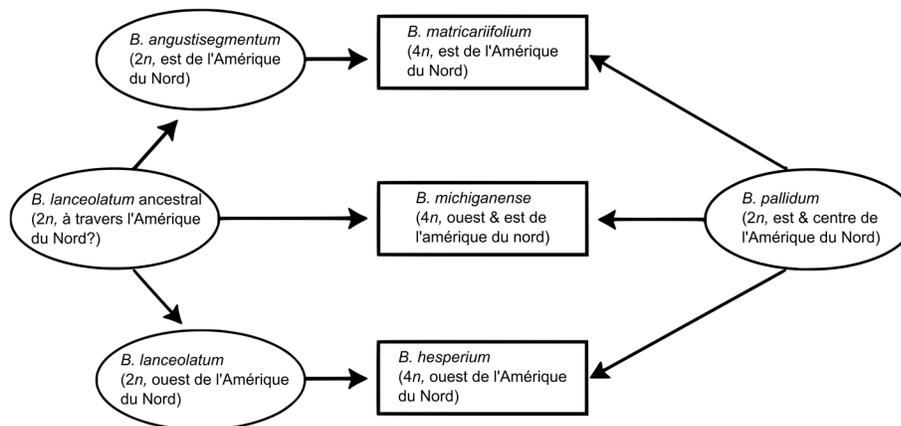


Figure 2. Relations hypothétiques entre certains taxa diploïdes et allotétraploïdes du clade Lanceolatum selon Williams *et al.* (2016). Les ellipses représentent des espèces diploïdes (2n) et les rectangles des allotétraploïdes (4n). Les flèches indiquent les relations de parentés (modifié d'après Williams *et al.* 2016).

Au sein du complexe de *B. matricariifolium*, il existe trois morphotypes : acuminé, en bloc et typique. Bien qu'ils soient différents génétiquement et morphologiquement, ces morphotypes ne constituent pas des espèces différentes en raison de leur similarité génétique élevée (Williams

et al. 2016). Ainsi, le vaste spectre phénotypique à l'intérieur du complexe rend les identifications de *B. matricariifolium* particulièrement difficiles. De plus, *B. michiganense* (aussi retrouvé au PNB) présente une forme périphérique aux morphotypes acuminé et en bloc de *B. matricariifolium*, ce qui complique davantage les identifications (Williams *et al.* 2016). Il a longtemps été pensé que *B. michiganense* faisait partie du complexe de *B. matricariifolium* et ce n'est qu'en 2015, que ces taxa sont officiellement considérées comme des espèces distinctes (Gilman *et al.* 2015). Elles possèdent néanmoins une grande similarité génétique, qui reflète leur proximité évolutive parentale. Ces deux espèces partagent un même parent diploïde (*B. pallidum*) alors que l'autre parent diploïde est *B. angustisegmentum* chez *B. matricariifolium* et il s'agit plutôt d'une forme ancestrale éteinte de *B. lanceolatum* chez *B. michiganense* (Figure 2).

De manière générale, il peut être assez laborieux d'identifier les espèces du genre *Botrychium*. En pratique c'est même parfois impossible sur le terrain, en raison des variations morphologiques importantes à l'intérieur des taxa, mais aussi lorsque les stades phénologiques sont peu avancés. Étant donné la grande diversité morphologique, le fort potentiel d'hybridation et le processus de spéciation cryptique qui semble la norme chez le genre *Botrychium*, des tests génétiques apparaissent essentiels pour assurer une identification plus robuste des botryches au PNB. Puisque l'espèce *B. michiganense* est susceptible d'être désignée menacée ou vulnérable et que sa seule occurrence québécoise officielle est au PNB, il est fortement recommandé d'effectuer des analyses génétiques afin de confirmer la présence et mieux évaluer l'effectif de cette espèce au PNB.

Méthodologie

L'étude inclut deux sections principales. Dans un premier temps, les sites d'occurrences connues à partir des inventaires de 2006-2008 (Labrecque & Cayouette 2006, 2008 ; Labrecque *et al.* 2011) ont tous été revisités afin de mettre à jour les données sur les effectifs et la localisation des colonies. Ce suivi des sites individuels a aussi permis de noter des modifications de l'habitat par rapport aux inventaires passés, de caractériser les impacts potentiels des aménagements récents et d'identifier certaines menaces potentielles spécifiques à chaque site. Dans un deuxième temps, les données des sites individuels ont été regroupées pour effectuer des analyses de la biodiversité floristique des botryches à l'échelle du PNB. Ces analyses visent à regrouper les sites individuels

afin de proposer des unités de gestion de la conservation des botryches basées sur des données empiriques qui tiennent compte de la composition spécifique et l'abondance relative des espèces de botryches, des aménagements récents, de la localisation des sites dans le parc et des menaces potentielles.

Suivi des sites individuels

Entre 2006 et 2008, plusieurs espèces de botryches ont été identifiées sur 13 sites au parc national du Bic (Figure 3). Les sites étudiés lors des inventaires de 2006, 2007 et 2008 ont tous été revisités du 17 au 20 juin et le 27 juin 2019. De plus, six sites supplémentaires ont été identifiés et étudiés à l'été 2019. Les coordonnées géographiques des sites des inventaires antérieurs ont permis d'établir un point de départ pour la recherche. Pour chaque site, le dénombrement des individus durait une heure (suite à la découverte d'un premier individu) avec une équipe de cinq personnes ce qui représente un effort d'échantillonnage constant entre les sites, équivalent à 5 heures-personnes/site. Des drapeaux piqués à proximité de chaque individu ont d'abord permis d'établir l'aire de répartition de chaque colonie de botryches. Ensuite, tous les individus ont été identifiés à l'aide des clefs d'identification de Cayouette (2001b) et de Farrar (2006). Pour chaque site étudié, la coordonnée géographique du centre de la colonie et le nombre d'individus de chaque espèce ont été relevés. Lors des visites, une inspection visuelle de l'habitat a permis d'identifier certaines menaces potentielles au maintien de chaque colonie.

Analyse de la diversité floristique des botryches au PNB

À l'échelle du PNB, il peut rapidement devenir compliqué de gérer indépendamment la conservation des botryches sur chaque site. En pratique, il est donc plus utile de regrouper les sites qui partagent des caractéristiques communes en unités de gestion écologiquement significatives. À cette fin, plusieurs approches ont été employées pour regrouper les sites individuels sur la base de la composition et de la diversité floristique des botryches du PNB. Toutes les méthodes statistiques sélectionnées ont été réalisées dans R 3.6.2 (R Core Team, 2019). Ces regroupements, définis selon une base empirique, serviront ensuite de fondement pour suggérer des unités de gestion de la conservation qui tiennent également compte de la localisation des sites, de l'effectif des colonies et des menaces potentielles au maintien.

Premièrement, un groupement hiérarchique sur une matrice de dissimilarité basée sur les indices de Bray-Curtis (*hclust*) a permis de déceler une première structure hiérarchique dans les données et de visualiser comment les sites individuels se concentrent en groupes de rang supérieur sur la base de la similarité de leur composition en espèces (méthode 1). Les indices de Bray-Curtis ont été calculés avec la fonction *vegdist* dans la librairie R *vegan* (Oksanen *et al.* 2019) alors que la fonction *hclust* a été employée pour le groupement hiérarchique dont le dendrogramme a été visualisé sur une carte thermique de la matrice d'abondance d'espèces (fonction *heatmap*).

Deuxièmement, une analyse en composante principale (PCA) a été employée pour générer des combinaisons de sites en réduisant la dimensionnalité tout en conservant la majorité de la variation de l'ensemble des données (méthode 2). La PCA permet aussi de visualiser les associations possibles entre les sites et l'abondance relative des espèces de botryches. La PCA a été exécutée à l'aide de fonction *rda* de la librairie R *vegan* (Oksanen *et al.* 2019).

Troisièmement, l'approche hybride hiérarchique des *K*-moyennes (*hbk-means*) combine le groupement hiérarchique et l'algorithme des *K*-moyennes (méthode 3). Cette approche hybride permet de réduire la sensibilité de l'algorithme des *K*-moyennes aux conditions aléatoires initiales. Afin de partitionner les données sans connaissances *a priori* du nombre de groupes (*K*), l'algorithme hiérarchique des *K*-moyennes a été exécuté pour des valeurs de *K* allant de 1 à 10. Pour chaque valeur de *K*, la somme des carrés intra-groupe (*SCintra*) est calculée et la position d'une rupture de pente dans la courbe des *SCintra* en fonction de *K* indique le nombre approprié de groupes. La fonction *hkmeans* dans la librairie R *factoextra* (Kassambara et Mundt 2019) a été employée pour cette analyse.

Quatrièmement, l'analyse multidimensionnelle non-paramétrique (NMDS) regroupe l'information de plusieurs sites individuels en réduisant leur dimensionnalité (méthode 4). La principale différence avec la PCA de la méthode 2 est sa grande flexibilité, puisque la NMDS est une méthode non-paramétrique qui permet d'accommoder différents jeux de données. Cette analyse emploie la fonction *metaMDS* de la librairie R *vegan* (Oksanen *et al.* 2019).

Finalement, l'algorithme DBSCAN (density-based spatial clustering of applications with noise) présente de nombreux avantages par rapport aux autres algorithmes de partitionnement (méthode 5). Par exemple, l'algorithme ne requiert aucune connaissance *a priori* du nombre de groupes. Aussi, l'approche permet d'identifier des singletons (groupes représentés par un seul site) plutôt que de forcer artificiellement les sites aberrants au sein des groupes existants. Cette analyse a été exécutée avec la fonction *dbscan* de la librairie R *dbscan* (Hahsler *et al.* 2019).

Résultats du suivi des sites individuels

La localisation de tous les sites a été possible grâce aux données géoréférencées (GPS) fournies dans les rapports des inventaires de 2006, 2007 et 2008 (Labrecque et Cayouette 2006, 2008 ; Labrecque *et al.* 2011) et la visite de 2016 (Labrecque et Jolicoeur 2017). Les nouveaux sites identifiés étaient situés près des secteurs déjà connus et étudiés (sauf un site à l'anse à Wilson rapporté *a posteriori* par Louise Tremblay [parc national du Bic] mais non visité lors de l'inventaire). Les botryches sont essentiellement présents dans quatre secteurs au PNB, soit la Baie des Cochons, la Pointe aux Épinettes, le secteur Rioux/Baie du Ha! Ha! ainsi que le secteur Tombolo (Figure 3).

Lors de l'inventaire de l'été 2019, un total de 1107 individus ont été observés appartenant à sept espèces, soit *B. matricariifolium*, *B. minganense*, *B. simplex*, *B. pallidum*, *B. michiganense*, *B. lanceolatum* et *Sceptridium multifidum*. Certaines espèces répertoriées lors des inventaires antérieurs telles que *B. lunaria*, *B. neolunaria*, *B. spathulatum* n'ont pas été revues. Cela peut être expliqué par plusieurs raisons. D'abord pour plusieurs individus, l'identification s'est avérée impossible en raison de leur stade phénologique (trop précoce ou trop tardif), de leur état endommagé ou parce que leur morphologie ne se rapportait pas clairement aux clefs d'identification (n = 406 individus identifiés comme *Botrychium* spp.). En général, les botryches étaient encore peu développés lors de l'échantillonnage à la mi-juin. Il est recommandé de varier la période des futurs inventaires entre la mi-juin et le début juillet (p. ex., entre le 20 juin et le 5 juillet) afin d'augmenter la probabilité d'observer les espèces et les individus à différents stades phénologiques. Même pour les individus bien développés, certaines identifications demeurent problématiques, et ce, autant dans les inventaires passés que lors du présent inventaire. Les outils et les critères d'identifications ont évolué au cours de la dernière décennie et les identifications

n'ont pas été faites par les mêmes équipes, créant deux sources de variabilité qui se confondent entre les inventaires. Aussi, l'hybridation et l'introgession possibles entre certaines espèces génèrent un vaste spectre phénotypique qui ne se rapporte pas toujours bien aux clefs d'identifications. Des études génétiques permettraient de confirmer hors de tout doute la présence des différentes espèces au PNB tout en éclairant les critères morphologiques associés à celles-ci, surtout chez les espèces hybrides où de nombreux morphotypes ont été observés (Williams *et al.* 2016). Finalement, certaines populations n'ont peut-être pas été retrouvées lors de cet inventaire en raison de leur effectif très restreint ou encore parce qu'elles sont éteintes localement.

Descriptif des sites individuels

Les coordonnées géoréférencées (GPS) de tous les sites à l'étude (Figure 3) sont fournies à l'Annexe 1. L'habitat et la flore des sites sont résumés dans les rapports des inventaires de 2006, 2007 et 2008 et la visite de 2016 (Labrecque et Cayouette 2006, 2008 ; Labrecque *et al.* 2011 ; Labrecque et Jolicoeur 2017). Le descriptif de chaque site inclut la date de l'échantillonnage, une explication sommaire de la localisation, le nombre d'individus répertoriés et le nombre d'espèces identifiées. La section *remarques* fournit des informations complémentaires spécifiques à chaque site. Finalement, un tableau résume les données colligées pour chaque espèce identifiée et compare les effectifs observés à l'été 2019 avec ceux estimés lors des précédents inventaires. Lors du présent inventaire, certaines observations ont été faites concernant les menaces potentielles, l'impact des aménagements récents et la trajectoire naturelle de l'environnement des botryches. Ces observations devraient être envisagées ici comme des hypothèses visant à orienter les recherches futures. En effet, elles devront être corroborées par des données écologiques qui serviront de base scientifique solide sur laquelle pourront s'appuyer les recommandations de gestion. En plus d'une réévaluation de l'effectif des botryches à chaque site, il est notamment suggéré de procéder rapidement à une caractérisation écologique de l'habitat des botryches spécifique au PNB. Par exemple, une évaluation de l'âge et de la taille des arbres et arbustes qui envahissent les clairières permettrait de documenter l'impact de la dynamique d'expansion de la forêt sur les botryches. Une analyse de la communauté végétale à chaque site permettrait d'estimer l'influence de la compétition interspécifique (notamment par les espèces exotiques). Des mesures de variables microclimatiques et environnementales permettraient de modéliser l'habitat optimal des botryches au PNB.

SITE 2006-1

Date : 19 juin 2019

Localisation : Secteur Baie des Cochons, site ouvert longeant le sentier. Le site est de forme rectangulaire (33,4 m × 6,6 m) délimité par une corde avec une indication « zone en régénération ». Terrain de l'ancien camp de vacances du Cap à l'Original.

Nombre d'individus : 350

Nombre d'espèces : 6

Remarques : Site actuellement ouvert mais menacé de fermeture progressive sur deux côtés par la régénération de *Picea glauca* et *Populus tremuloides*. La superficie du site est limitée sur les deux autres côtés par un sentier pédestre (Annexe 2, Photo 1). Comme pour la plupart des clairières au PNB, la trajectoire de la succession naturelle de l'écosystème en absence d'intervention favorisera l'établissement des espèces forestières. Cette succession écologique secondaire vers un écosystème forestier se fera vraisemblablement au détriment des botryches, puisque l'habitat forestier leur est peu propice. Afin d'assurer la conservation de ce site exceptionnel tant par la richesse spécifique que par l'effectif des populations de botryches, il serait impératif de continuer le suivi sur une base annuelle ou bisannuelle afin de réévaluer régulièrement la trajectoire démographique de cette importante colonie (densification, stabilité ou déclin) par rapport à la dynamique d'envahissement de la clairière par les arbres pionniers et des autres facteurs de perturbations potentiels (p. ex., piétinement).

Il s'agit du seul site au PNB où *B. lanceolatum* a été répertorié. Au Québec, *B. lanceolatum* est représenté par deux sous-espèces : *B. lanceolatum* var. *lanceolatum*, de répartition nordique et colonisant des milieux ouverts et *B. lanceolatum* var. *angustisegmentum*, plus méridional et colonisant des habitats généralement boisés. Le spécimen recensé correspond à cette dernière. Le rapport de Labrecque *et al.* (2011) mentionne que trois individus précédemment identifiés comme *B. michiganense* à ce site se sont finalement avérés être des *B. matricariifolium* après une analyse d'isoenzymes alors que presque tous les individus identifiés comme des *B. matricariifolium* appartenaient bien à cette espèce. Ainsi, il est possible que certains individus identifiés en 2019 comme *B. michiganense* soient en fait des *B. matricariifolium*. Les deux espèces peuvent être particulièrement difficiles à départager sur la base de la morphologie puisque, d'une part, elles sont proches phylogénétiquement et, d'autre part, *B. matricariifolium* est fortement variable morphologiquement (Williams *et al.* 2016). Rappelons ici que *B. michiganense* et *B. matricariifolium* sont toutes deux des allotétraploïdes issues d'événements d'hybridation impliquant des espèces parentales très rapprochées : *B. michiganense* est un hybride entre *B. pallidum* et une forme ancestrale de *B. lanceolatum* var. *lanceolatum* alors que *B. matricariifolium* est un hybride entre *B. pallidum* et *B. lanceolatum* var. *angustisegmentum*. La grande variabilité morphologique observée chez *B. matricariifolium* reflète son origine multiple impliquant plusieurs événements d'hybridation entre les mêmes espèces parentales. Le rapport de Labrecque *et al.* (2011) ne fait état que de trois spécimens de *B. michiganense* soumis à l'analyse génétique. Bien que ce petit nombre suggère que la mauvaise identification de *B. michiganense* est possible, une telle analyse ne permet pas d'estimer correctement la fréquence de la mauvaise identification de *B. michiganense*. On ne connaît pas non plus les critères diagnostiques qui avaient alors été employés pour identifier les spécimens, l'espèce n'étant formellement décrite que depuis 2015. Aussi, l'analyse des isoenzymes est une approche moléculaire peu diagnostique et les conclusions basées sur ces analyses doivent aujourd'hui être interprétées avec prudence. Des analyses génétiques plus poussées, s'appuyant sur de nouveaux marqueurs moléculaires tels que les régions de l'ADN chloroplastique (ADNcp) employées dans Williams et Waller (2012) et Dauphin *et al.* (2014, 2017) devraient être réalisées sur un large échantillonnage incluant plusieurs individus de chaque espèce et sur l'ensemble des sites au PNB afin de mieux caractériser les botryches du PNB.

En absence de données génétiques fiables, la clé d'identification de Gilman *et al.* (2015) qui décrit formellement l'espèce *B. michiganense*, demeure l'approche de prédilection pour séparer les deux espèces.

Trophophore sessile ou à pédoncule court jusqu'à 3 mm, ové ou étroitement ové ; taille des segments brusquement réduits entre la paire basilaire et la paire adjacente ; segments au-dessus de la paire basale moins découpés sur les marges acroscopiques par rapport aux marges basiscopiques.....*B. michiganense*

Trophophore généralement pédonculé jusqu'à 10 mm (rarement sessile), ovale à oblong ; segments réduits graduellement et symétriquement de la base au sommet ; si les segments sont disséqués, les incisions sont équivalentes en profondeur sur les marges basiscopiques et acroscopiques.....*B. matricariifolium*

La clé de Cayouette (2001b) fournit un critère diagnostique supplémentaire pour faciliter l'identification.

Paire de segments basilaire beaucoup plus longue que la paire adjacente et située dans un autre plan.....*B. michiganense*

Paire de segments basilaire pratiquement égale à la paire adjacente et située dans le même plan.....*B. matricariifolium*

Tableau 1. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2006-1.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. lanceolatum</i> var. <i>angustisegmentum</i>	6	-	N = 4 en 2006 N = 5 en 2007 Recensé en 2008	Photos 1 et 2
<i>B. matricariifolium</i>	45	-	Rare en 2006 Abondant en 2007 Recensé en 2008	-
<i>B. michiganense</i>	25	Certains individus pourraient être <i>B. matricariifolium</i> , voir la section <i>Remarques</i>	-	Photo 3
<i>B. minganense</i>	9	-	-	-
<i>B. pallidum</i>	69	-	N = 7 en 2006 N = 10+ en 2007 Recensé en 2008	-
<i>B. simplex</i>	78	-	N = 6+ en 2006 N = 50+ en 2007 Très abondant en 2008	Photo 4
<i>Botrychium</i> spp.	118	-	-	-

SITE 2006-2**Date :** 18 juin 2019**Localisation :** Secteur Baie des Cochons, terrasse marine derrière la ligne d'érosion dans la Baie des Cochons.**Nombre d'individus :** 1**Nombre d'espèces :** 1

Remarques : Site menacé par l'érosion. Alors que les inventaires passés faisaient mention de la présence de *B. michiganense* (2006 à 2008), *B. pallidum* (2006 à 2008), et *B. matricariifolium* (2008), aucune de ces espèces n'a été recensée en 2019. En 2007, il est mentionné que la colonie de *B. michiganense* semblait menacée de disparition par l'érosion progressive du talus. Il est possible que cette colonie n'existe plus en 2019 en raison de l'érosion importante à ce site (Annexe 2, Photo 2). En 2016, une épaisse couche de sable et de gravier recouvre l'habitat des botryches possiblement en raison d'une tempête en 2010 qui a largement endommagé le site (Labrecque et Jolicoeur 2017). Également, on mentionne la prédominance de la gesse maritime (*Lathyrus japonicus*), espèce qui semble défavorable à la présence de botryches (Labrecque et Jolicoeur 2017). À part continuer de suivre l'état de cette colonie, aucune intervention ne semble nécessaire pour l'instant à ce site, puisque la progression de l'érosion semble inexorable et la colonie est déjà beaucoup amoindrie si bien qu'en 2019, on ne compte qu'un seul individu de botryche à ce site.

Tableau 2. Effectif (N), remarque, comparaisons avec les inventaires passés et photo du seul botryche identifié au site 2006-2.

Espèce	N	Remarque	Comparaison avec les inventaires passés	Photo de l'annexe 3
<i>S. multifidum</i>	1	Aucun sporophore	Vu en 2005 Recensé en 2008	Photo 5

SITE 2006-3**Date :** 18 juin 2019**Localisation :** Secteur Baie des Cochons. Entre deux chalets EXP, ancien sentier piétonnier aujourd'hui fermé.**Nombre d'individus :** 101**Nombre d'espèces :** 4

Remarques : Site potentiellement menacé à court-moyen terme par la fermeture rapide de la canopée par *Picea glauca* et *Populus tremuloides* (Annexe 2, Photos 3 à 5). Les clairières sont circonscrites par la jeune forêt (pessière) en expansion qui envahira vraisemblablement les trouées actuelles. Le site semble situé dans un ancien sentier piétonnier aujourd'hui fermé. Bien que l'accès hors-sentier soit prohibé au PNB, la proximité des chalets EXP entraîne inévitablement une certaine circulation dont l'effet sur les botryches reste à déterminer. Afin d'assurer la conservation de ce site important pour le maintien de *B. pallidum*, il serait important de faire le suivi sur une base annuelle ou bisannuelle, ce qui permettra de réévaluer régulièrement la trajectoire démographique de cette importante colonie (densification, stabilité ou déclin) par rapport à la dynamique d'envahissement progressive par les arbres pionniers et les autres facteurs de perturbations potentiels (p. ex., piétinement).

Présence d'un *S. multifidum* en 2006 qui n'a pas été recensé en 2019. En 2007, ce site était considéré comme étant le plus riche au PNB et en 2008, il représentait la population la plus abondante de *B. pallidum* au Québec. En 2008, *B. neolunaria*, *B. michiganense* et *B. spatulatum* ont été recensés mais n'ont pas été revus en 2019. En 2016, *B. pallidum* est observé, mais les ouvertures de la forêt semblaient se refermer rapidement. En 2019, *B. pallidum* est bien présent mais son abondance est bien loin de l'effectif de 2008. Une caractérisation écologique de l'habitat incluant une étude de la dynamique des populations d'arbres permettrait d'estimer la vitesse d'envahissement des trouées et de fermeture de la canopée par les espèces ligneuses afin d'envisager des stratégies de coupes sélectives informées par des données empiriques.

Tableau 3. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2006-3. Les lettres (A à C) dans la colonne des remarques se réfèrent aux différentes colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. matricariifolium</i>	2	A	Occasionnel en 2006 et en 2007 Très abondant en 2008	-
<i>B. minganense</i>	1	C	N = 20 en 2006.	-
<i>B. pallidum</i>	34	A : 1 B : 11 C : 22	N = 120 en 2006 N = 120+ en 2007 N = 1000+ en 2008 Présent en 2016	-
<i>B. simplex</i>	31	A : 7 B : 2 C : 22	Fréquent en 2006 et en 2007 Très abondant en 2008	Photos 6 et 7
<i>Botrychium</i> spp.	33	A : 2 B : 6 C : 25	-	-

SITE 2006-4

Date : 18 juin 2019

Localisation : Île-aux-Amours, extrémité ouest.

Nombre d'individus : 0

Nombre d'espèces : 0

Remarques: Présence d'érosion sur le site et d'une zone désignée en régénération. L'équipe est retournée le 27 juin et le 9 juillet 2019 et aucun individu n'a été trouvé. En 2006, 2007 et 2008, un individu de *B. matricariifolium* et de *B. pallidum* avaient été recensés. Mis à part une vérification régulière de la présence éventuelle de botryche, aucune intervention ne semble nécessaire pour l'instant à ce site actuellement exempt de botryche.

SITE 2006-5

Date : 18 juin 2019

Localisation : Île-aux-Amours, terrasse se terminant en pointe très sablonneuse, présence d'érosion.

Nombre d'individus : 0

Nombre d'espèces : 0

Remarques : L'équipe est retournée le 27 juin et le 9 juillet 2019 et aucun individu n'a été trouvé. L'abondance de *Juniperus horizontalis* pourrait limiter les botryches. En 2006, deux individus de *B. pallidum* et quelques individus végétatifs de *S. multifidum* ont été retrouvés. Alors qu'en 2007 et 2008 seulement quelques individus végétatifs de *S. multifidum* étaient présents. Mis à part une vérification régulière de la présence éventuelle de botryche, aucune intervention ne semble nécessaire pour l'instant à ce site actuellement exempt de botryche.

SITE 2006-6**Date :** 17 juin 2019**Localisation :** Secteur Pointe aux Épinettes. Entre la piste cyclable et la route du portage (Annexe 2, Photo 6).**Nombre d'individus :** 14**Nombre d'espèces :** 1

Remarques : Le site est largement ouvert mais déjà colonisé par de jeunes plantules de *Populus tremuloides* et *Picea glauca* et partiellement occupé par *Juniperus communis*. Un suivi annuel ou bisannuel permettra de réévaluer régulièrement la trajectoire démographique de cette petite population de *B. pallidum* par rapport à la dynamique d'envahissement par les jeunes arbres, mais aucune intervention ne semble urgente à ce site.

En 2006, deux *B. matricariifolium* et un *B. simplex* s'ajoutent aux *B. pallidum* alors qu'en 2007, sept *B. matricariifolium*, neuf *B. simplex* sont recensés. En 2008, le site n'a pas été visité.

Tableau 4. Effectif (N), remarques et comparaisons avec les inventaires passés selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2006-6. Les lettres (A à D) dans la colonne des remarques se réfèrent aux différentes colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés
<i>B. pallidum</i>	12	A : 1 (endommagé) B : 8 C : 2 D : 1	N = 4 en 2006 N = 9 en 2007
<i>cf. B. pallidum</i>	2	B	-

SITE 2006-7**Date :** 17 juin 2019**Localisation :** Secteur Pointe aux Épinettes. Au bout de la route du portage, entre le stationnement et le rivage.**Nombre d'individus :** 51**Nombre d'espèces :** 3

Remarques : Puisque le site se situe entre le stationnement et le rivage, il est soumis à un piétinement régulier (Annexe 2, Photo 7). Évidemment, un piétinement excessif pourrait ultimement entraîner la compaction du sol, menant à la création de sentiers en terre battue impropres aux botryches. Cependant, à plus court terme, il semble que l'environnement propice aux botryches à ce site soit plutôt menacé d'envahissement par le gaillet mollugine (*Galium mollugo*; Annexe 2, Photo 8), une espèce exotique invasive (Lavoie 2019). Afin d'assurer le maintien à long terme de cette population dominée par *B. pallidum*, une espèce susceptible d'être désignée menacée ou vulnérable, il est nécessaire d'effectuer des suivis plus rapprochés afin de mesurer la vitesse et l'impact de l'envahissement par les plantes exotiques, mais également de voir l'effet, à plus ou moins long terme, du piétinement. Certaines espèces telles que *B. hesperium* colonisent les milieux perturbés naturellement (p. ex., érosion des sols, feux, chablis) ou artificiellement (suivant des activités humaines, comme la tonte de gazon, la maintenance de routes et de sentiers, la coupe d'arbres). Par contre, les perturbations qui permettent de créer initialement un habitat pour les botryches peuvent aussi représenter une menace à leur survie une fois établies (Anderson et Cariveau, 2004). Par exemple, le piétinement empêche l'établissement des arbres pionniers, créant un habitat idéal aux botryches, mais peut devenir nuisible au maintien de la population lorsque le site est surfréquenté. Un suivi à long terme permettra d'associer la variation de l'effectif avec des processus environnementaux afin de dresser un portrait plus juste des menaces réellement nuisibles aux populations de botryches et de faciliter l'instauration de mesures de conservations adéquates.

En 2008, quelques individus de *Botrychium neolunaria*, *B. matricariifolium* et *B. michiganense* ont été observés mais ces espèces n'ont pas été recensées en 2019.

Tableau 5. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2006-7. Les lettres (A, B) dans la colonne des remarques se réfèrent aux deux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. pallidum</i>	32	A : 29 B : 3	N = 14 en 2006 N = 20+ en 2007 Beaucoup en 2008	Photo 8
<i>B. minganense</i>	2	A	N = 1 en 2006 Observé en 2008	Photo 9
<i>B. simplex</i>	7	A	N = 4 en 2006 N = 2 en 2007 Abondant en 2008	-
<i>Botrychium</i> spp. (cf. <i>pallidum</i>)	12	A : trop jeunes	-	-

SITE 2007-1**Date :** 19 juin 2019**Localisation :** Secteur Baie des Cochons. Entre le chalet EXP Anémone et la Baie des Cochons.**Nombre d'individus :** 0**Nombre d'espèces :** 0

Remarques : Aucun individu n'a été retrouvé à ce site. La coordonnée géographique se situe directement sur un sentier balisé entre la Baie des Cochons et un chalet EXP (Anémone) qui traverse une jeune forêt d'épinettes blanches (*Picea glauca*) en régénération (Annexe 2, Photos 9 à 12). En 2008, ce site comptait plusieurs individus de *B. michiganense*, alors que *B. matricariifolium* et *B. pallidum* étaient aussi abondants. En 2019, en raison des aménagements (chalet EXP) mais surtout de la fermeture des trouées par les arbres depuis le dernier inventaire, cette colonie semble disparue au détriment des populations de deux espèces de botryches susceptibles d'être désignées menacés ou vulnérables (*B. michiganense* et *B. pallidum*). Bien qu'aucun sporophyte n'ait été retrouvé à l'été 2019, il est possible que certaines propagules (gemmules, spores) ou structures souterraines (gamétophytes, sporophytes) persistent dans le sol. Si tel est le cas, un éclaircissement de la forêt au cours des prochaines années pourrait peut-être permettre une émergence des sporophytes de botryches. Afin de tester cette possibilité, il est recommandé de couper quelques arbres et gaulis afin de recréer une ouverture centrée sur la coordonnée géographique du site 2007-1 (latitude : 48,3508° ; longitude : -68,7937°) dans laquelle un suivi sera fait afin de vérifier la présence des botryches. Ce site où la colonie de botryches est sinon complètement éteinte, du moins considérablement en déclin, indique que la transformation directe de l'habitat des botryches à des fins récréotouristiques et l'envahissement des espaces ouverts par la forêt nuisent inexorablement aux colonies de botryches et représentent de sérieuses menaces à leur maintien au PNB à long terme. Du point de vue de la conservation des botryches, il est clair que les prochains aménagements effectués au PNB devraient prendre en compte la localisation des colonies, leur composition en espèces et l'abondance relative de chacune des espèces dans les sites. Aussi, une meilleure connaissance de la structure génétique des populations permettra de mieux définir les unités de gestion de la conservation à prendre en compte lors de la construction d'infrastructures. Enfin, il est impératif de réévaluer régulièrement la trajectoire démographique des colonies par rapport à la dynamique de succession écologique par les arbres pionniers.

SITE 2007-2

Date : 19 juin 2019

Localisation : Secteur Baie des Cochons. À l'est du stationnement du chalet EXP Élyme.

Nombre d'individus : 105

Nombre d'espèces : 4

Remarques : Le site a été subdivisé en quatre colonies (A à D). Selon le rapport de Labrecque et Cayouette (2008), la coordonnée géographique du site 2007-2 correspond à la colonie A, aujourd'hui située directement à l'emplacement du stationnement d'un chalet EXP (Élyme, Annexe 2, Photo 13). Aucun botryche n'a donc pu être recensé dans cette colonie. À proximité du point GPS, on note la présence d'un sentier aménagé où l'on retrouve *Trifolium pratense*, d'autres légumineuses et une pelouse basse. Ce milieu a été perturbé récemment par la construction du chalet et l'aménagement paysager fait autour de celui-ci. La colonie B est située dans une clairière (possiblement un sentier abandonné) immédiatement à l'est du stationnement du Chalet EXP Élyme composée principalement de lichens et de *Fragaria virginiana* (Annexe 2, Photos 14 et 15). La plupart des individus étaient à un stade phénologique plutôt avancé, certains atteignant une hauteur de plus de 7 cm. L'ouverture est circonscrite par une jeune forêt et progressivement envahie par *Picea glauca* et *Juniperus communis*. Les colonies C et D sont situées dans des petites trouées forestières, non loin à l'est de la colonie B. Elles sont déjà sous un couvert forestier beaucoup plus dense que celui de la colonie B et présentent d'ailleurs des effectifs moindres. Les aménagements du chalet et du terrassement ont possiblement mené à l'éradication directe de la colonie A qui comprenait l'essentiel de l'effectif des deux espèces rares *B. pallidum* et *B. michiganense* à ce site aujourd'hui virtuellement dépourvu de ces espèces. Les futurs projets d'aménagements au PNB devraient non seulement prendre en compte la localisation des colonies mais également la composition et l'abondance relative des espèces vulnérables au sein de celles-ci. Pour ce qui reste du site 2007-2, il sera impératif de suivre la progression de la fermeture de la voûte forestière afin de poser des actions stratégiques visant à limiter la fermeture éventuelle des trouées résiduelles. À cet effet, des entretiens réguliers (coupes d'arbres sélectives) pourraient être envisagées pour conserver les botryches, après une étude de la dynamique de colonisation par les arbres et arbustes. Il sera aussi pertinent de suivre la progression de l'occupation du sol par les lichens qui ont possiblement un impact délétère sur les botryches (compétition, allélopathie).

En plus des botryches mentionnés dans le Tableau 6, *B. michiganense* avait été observé en 2008.

Tableau 6. Effectif (N), remarques et comparaisons avec les inventaires passés selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2007-2. Les lettres (B, C, D) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés
<i>B. matricariifolium</i>	84	B : 76 C : 4 D : 4	Fréquent en 2007 Très abondant en 2008
<i>B. pallidum</i>	2	B	N = 10+ en 2007 Présent 2008
<i>B. simplex</i>	6	B : 5 D : 1	N = 10+ en 2007 Abondant en 2008
<i>cf. B. matricariifolium</i>	1	B	-
<i>Botrychium</i> spp.	12	B : phénologie peu avancée	-

SITE 2007-3**Date :** 20 juin 2019**Localisation :** Secteur Rioux. Baie du Ha! Ha! au nord de la piste cyclable.**Nombre d'individus :** 72**Nombre d'espèces :** 3

Remarques : Le site est étendu entre le camping Rioux et le stationnement P2. De nombreuses (n = 8) mais petites colonies ont été retrouvées au nord de la piste cyclable, alors que Labrecque et Cayouette (2007) avaient trouvé autant d'individus des deux côtés de celle-ci. Cependant, à l'été 2019, l'équipe de recherche a concentré ses efforts du côté nord en raison de la superficie des environnements apparemment favorables dans cette partie du site. Les botryches se trouvent principalement dans quelques trouées herbacées constituées de graminées basses situées entre les épinettes blanches qui colonisent le site, les clones envahissants de *Juniperus communis*, les dépôts de cailloux et les parcelles de lichens (Annexe 2, Photo 16). Ils étaient à un stade phénologique relativement avancé à cette période de la saison. Il sera important de retourner sur ce site afin d'évaluer l'abondance et la diversité des botryches du côté sud de la piste cyclable. Toutefois, la forte abondance de *Juniperus communis* pourrait avoir contribué à une diminution de l'effectif des botryches dans cette partie du site. Bien que la superficie totale du site soit importante, l'abondante régénération de *Picea glauca* et de *Juniperus communis* de même que l'étalement des lichens pourraient restreindre l'habitat propice et ainsi représenter des menaces au maintien des botryches à plus long terme. Il sera donc important de suivre l'expansion des espèces pionnières au cours des prochaines années afin de planifier des actions stratégiques visant à limiter la perte de l'habitat des botryches.

En 2008, deux individus *B. lanceolatum* avaient été recensés alors que *B. simplex* a été répertorié en 2007 et 2008.

Tableau 7. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2007-3. Les lettres (A, B, C, D, E, F, G, H) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. matricariifolium</i>	27	A : 4 D : 5 E : 4 F : 3 H : 3 G : 8	N = 100+ en 2007 Présent en 2008	Photo 10
<i>B. michiganense</i>	18	B : 3 C : 4 D : 2 G : 4 H : 5	Occasionnel en 2008	Photo 11
<i>B. pallidum</i>	5	D : 5	N = 10+ en 2007 Assez abondant en 2008	-
<i>Botrychium</i> spp.	22	C : 5 D : 7 E : 1 F : 4 G : 1 H : 4	-	-

SITE 2007-4

Date : 18 juin 2019

Localisation : Secteur Baie des Cochons. À l'est du stationnement du chalet EXP Salicorne, près d'un écriteau « espèces rares ».

Nombre d'individus : 215

Nombre d'espèces : 4

Remarques : Plusieurs individus de la colonie A portent des sporanges sur les segments basaux du trophophore. Certains individus plus petits présentent une sorte de nécrose. Lors des prochains inventaires il conviendra de vérifier si ces caractéristiques sont toujours présentes, afin de mieux les documenter le cas échéant. Plusieurs individus n'ont pas pu être identifiés en raison de leur phénologie trop précoce et les inventaires subséquents permettront de raffiner les informations actuelles. Toutefois, il est déjà évident que ce site présente un fort effectif ainsi qu'une richesse spécifique élevée. Aussi, à court terme, aucune menace immédiate ne semble mettre en péril ces colonies. Par contre, les colonies actuelles sont déjà bien envahies par des espèces ligneuses (*Picea glauca* et *Populus tremuloides*) qui menacent de fermer progressivement les clairières qui constituent l'habitat de prédilection des botryches. En plus de continuer de vérifier la présence et l'abondance des botryches et de parfaire les identifications pour mieux caractériser les colonies, il est suggéré de documenter rapidement la dynamique de colonisation par les espèces ligneuses afin d'assurer la protection des colonies contre l'éventuelle fermeture des trouées par les jeunes plantules et gaulis (*Picea glauca* et *Populus tremuloides*) actuellement en régénération (Annexe 2, Photos 17 et 18).

Tableau 8. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2007-4. Les lettres (A, B) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. matricariifolium</i>	6	A : 4 B : 2	Abondant en 2007	-
<i>B. michiganense</i>	2	B : 2	-	-
<i>B. pallidum</i>	26	A	Présente en 2007	-
<i>B. simplex var. tenebrosum</i>	18	A	N = 350 individus en 2007	Photo 12 et 13
<i>Botrychium</i> spp.	103	A : dont 8 ayant un trophophore fusionné avec le sporophore	-	Photo 14
cf. <i>B. simplex</i> X <i>B. pallidum</i>	3	-	-	-
cf. <i>B. simplex</i>	49	A : 26 B : 23	-	-

SITE 2007-5**Date :** 20 juin 2019**Localisation :** Camping secteur Tombolo, nouveau développement.**Nombre d'individus :** 7**Nombre d'espèces :** 3

Remarques: Le site est situé dans une pelouse rase (probablement entretenue par des tailles régulières) traversée par une route et une piste cyclable aménagées récemment (Annexe 2, Photo 19). La superficie de l'habitat propice aux botryches a été substantiellement réduite au cours de la dernière décennie puisque le site a été considérablement perturbé par l'aménagement des deux voies de transport et de la création d'espaces de camping, tel qu'indiqué par la présence d'amoncellements de terre retournée partout autour de la zone où les quelques individus ont été retrouvés. En 2007, 45 individus *B. matricariifolium*, huit de *B. simplex* var. *simplex* et un individu de *B. pallidum*, ont été répertoriés, alors que le site n'a pas été revisité en 2008. En 2019, l'espèce rare *B. pallidum* n'a pas été retrouvée et l'effectif se limite maintenant à sept individus isolés et séparés entre eux par la route et la piste cyclable. Il est possible que l'aménagement important dans le secteur au cours des dernières années (route, piste cyclable, camping) ait perturbé la colonie de botryches et que celle-ci ait déclinée depuis 2007. Aucune intervention ne semble nécessaire pour l'instant à ce site hormis continuer de vérifier la présence des colonies de botryches. Par ailleurs, il sera particulièrement intéressant de suivre la dynamique des différentes espèces de botryches à ce site au cours du temps afin d'évaluer la capacité de celles-ci à recoloniser les milieux récemment perturbés.

Tableau 9. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2007-5. Les lettres (A, B, C, D) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. matricariifolium</i>	4	A : 4, ressemble à <i>B. michiganense</i> , très pâle.	N = 45 en 2007	Photo 15
<i>Botrychium</i> spp.	2	B : 1 D : 1	-	-
cf. <i>B. lanceolatum</i>	1	C	-	-

SITE 2008-1**Date :** 17 juin et 20 juin 2019**Localisation :** Pointe aux Épinettes. Entre la piste cyclable et le rivage.**Nombre d'individus :** 37**Nombre d'espèces :** 1

Remarques: Lors d'une première visite, le 17 juin 2019, aucun individu n'a d'abord été retrouvé, possiblement en raison du stade phénologique encore trop précoce. En 2008, Labrecque *et al.* (2011) avaient visité le site les 26 et 27 juin, soit dix jours après la date de l'inventaire de 2019. L'équipe est retournée le 20 juin 2019 et il a alors été possible d'observer plusieurs individus. Ceux-ci se trouvaient plutôt vers le chemin, et non vers le rivage contrairement aux observations de Labrecque *et al.* (2011). Afin d'obtenir un meilleur estimé de l'effectif et de la composition spécifique, il sera impératif de visiter ce site plus tard en saison (début juillet). De plus, la coordonnée géographique de Labrecque *et al.* (2011) tombait dans un environnement aujourd'hui envahi par *Galium mollugo*, ce qui peut aussi expliquer pourquoi les botryches n'ont pas été retrouvés à la position fournie initialement. De manière générale, on ne peut plus décrire cet habitat ouvert comme une prairie basse, puisqu'il s'agit plutôt d'une friche littorale (Annexe 2, Photo 20). Ainsi, la trajectoire de la succession écologique est à surveiller et une intervention de débroussaillage hors de la saison d'émergence des sporophytes pourrait être envisagée pour maintenir l'habitat des botryches. Il est donc recommandé de révéifier régulièrement la présence des colonies de botryches et de suivre l'étendue de l'envahissement graduel de l'habitat par *Picea glauca*, *Juniperus communis* et surtout *Galium mollugo* lors des prochains inventaires.

En 2008, *Botrychium lunaria sensu stricto* a été répertorié. *B. matricariifolium*, *B. neolunaria*, *B. spathulatum* *B. pallidum* étaient abondants alors que *B. simplex var. simplex* était occasionnel.

Tableau 10. Effectif (N), remarques, comparaisons avec les inventaires passés et photos selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2008-1. Les lettres (A, B, C) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques	Comparaison avec les inventaires passés	Photos de l'annexe 3
<i>B. pallidum</i>	36	A : 6 B : 26 C : 4	Abondant en 2008.	Photos 16 et 17
<i>Botrychium</i> spp.	1	C : Élargi à la base et de couleur rose brun. Probablement <i>B. lanceolatum</i> ou <i>B. matricariifolium</i> .	-	-

Nouveaux sites année 2019

SITE 2019-1

Date : 17 juin 2019

Localisation : Secteur de la Pointe aux Épinettes. À mi-chemin entre les sites 2006-7 et 2008-1 ; entre la piste cyclable et la rive (à \pm 5m de la piste).

Nombre d'individus : 1

Nombre d'espèces : 1

Remarques : L'individu a été trouvé accidentellement en recherchant le site 2006-6. Tous les individus observés la même journée (17 juin 2019) dans ce secteur (2006-6, 2006-7 et 2008-1) étaient dans un stade phénologique peu avancé et c'est peut-être pourquoi un seul individu a été trouvé à ce nouveau site. Aucune intervention ne semble nécessaire pour l'instant à ce site mais il est suggéré de vérifier la présence de botryches plus tard en saison (fin juin, début juillet) afin de mieux évaluer l'effectif et la composition spécifique à ce site.

Tableau 11. Effectif de *Botrychium* (N) et remarques au site 2019-1.

Espèces	N	Remarques
<i>B. pallidum</i>	1	phénologie peu avancée

SITE 2019-2

Date : 19 juin 2019

Localisation : Secteur Baie des cochons. À l'ouest du chalet EXP Élyme. Ce site était possiblement anciennement inclus dans 2007-2.

Nombre d'individus : 37

Nombre d'espèces : 3

Remarques: Le site est situé à l'ouest du chalet EXP Élyme. Il a été trouvé en cherchant des individus à la coordonnée géographique du site 2007-2 fournie par Labrecque et Cayouette (2008). La coordonnée GPS correspond aujourd'hui au stationnement du chalet EXP Élyme où aucun individu n'a été retrouvé (colonie éteinte 2007-2A). La présence de colonies de chaque côté du chalet EXP Élyme (colonies 2007-2B à D à l'est et 2019-2A à C à l'ouest, Figure 3) suggère que l'infrastructure a été établie au cœur de l'ancien site 2007-2 étudié par Labrecque et Cayouette (2008). La nouvelle nomenclature des sites (2007-2 et 2019-2) reflète cette division de l'ancien site 2007-2 de Labrecque et Cayouette (2008) en deux entités écologiques désormais indépendantes. Conséquemment, il conviendra dorénavant d'étudier la dynamique indépendante des deux sites isolés (2007-2 & 2019-2) afin d'évaluer l'impact de l'aménagement des chalets sur la trajectoire écologique, l'effectif et la composition en espèces des colonies disjointes de botryches résiduelles. Il sera particulièrement intéressant de vérifier si les deux sites suivent des trajectoires démographiques similaires ou s'ils se mettent à dériver progressivement l'un par rapport l'autre. Comme à la plupart des sites de ce secteur (2006-3, 2007-2, 2007-4), la présence de plantules et de gaulis de *Picea glauca* en régénération et l'étalement de *Juniperus communis*, représentent une menace d'envahissement du site et de fermeture éventuelle des trouées qui constituent l'habitat des botryches. Ainsi, il sera nécessaire de suivre attentivement et de documenter empiriquement la dynamique de fermeture du couvert forestier lors des prochains inventaires afin de poser des actions concrètes visant à limiter le déclin de cette colonie.

Tableau 12. Effectif (N) et remarques selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2007-2. Les lettres (A, B, C) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques
<i>B. pallidum</i>	1	C
<i>B. matricariifolium</i>	30	A : 22 B : 2 C : 6
<i>B. simplex</i>	2	C
<i>Botrychium</i> spp.	4	C : dont un qui était à un stade phénologique très peu avancé.

SITE 2019-3

Date : 27 juin et 9 juillet 2019

Localisation : Secteur Baie des Cochons. Chalets EXP entre les sites 2006-3 et 2007-4.

Nombre d'individus : 60

Nombre d'espèces : 4

Remarque : Une courte visite a été faite le 27 juin 2019 et a permis de repérer une dizaine d'individus de *B. pallidum* qui présentaient une sorte de nécrose à la base du sporophore. La clairière est en périphérie d'une zone de jeune forêt maintenant fermée à l'intérieur de laquelle la présence de banderoles « danger » indique que le site était probablement plus étendu et considéré par Labrecque et al. (2011) et Labrecque et Jolicoeur (2017) comme une extension au nord-est du site 2006-3. Le développement rapide de la forêt et la construction des chalets EXP dans ce secteur ont possiblement contribué à l'isolement spatial des habitats propices aux botryches. Conséquemment, cette partie isolée au nord-est est aujourd'hui considérée comme un site indépendant de 2006-3. Le 9 juillet 2019, la phénologie est avancée et les spores ont été libérés. La taille des individus est variable : certains individus de la même espèce font près de 15 cm à maturité, tandis que d'autres mesurent moins de 4 cm. Le site est menacé d'une part par la fermeture des clairières par *Picea glauca* en régénération et d'autre part, par le piétinement. La colonie D est spécifiquement menacée de fermeture par les épinettes et par l'expansion du lichen. Comme à tous les autres sites de ce secteur, il est suggéré d'évaluer la dynamique de succession écologique et de quantifier le taux de fermeture de la voûte forestière afin de procéder éventuellement à des coupes partielles. Bien qu'un piétinement modéré pourrait permettre de retarder l'envahissement par les arbres et le lichen, si le site est trop piétiné pendant la période d'émergence des botryches, cela pourrait représenter une menace pour les colonies. L'impact du piétinement au PNB demeure incertain.

Tableau 13. Effectif (N) et remarques selon différentes espèces de botryches recensées au site 2019-3. Les lettres (A, B, C, D) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques
<i>B. pallidum</i>	26	A : 9 B : 16 D : 1
<i>B. matricariifolium</i>	13	B : 7 pâles et 6 normaux
<i>S. multifidum</i>	3	A : 2 B : 1 texture épaisse
<i>B. michiganense</i>	3	Colonie non spécifiée
<i>Botrychium</i> spp.	21	C : 7 teintes orangées et parties sèches

SITE 2019-4

Date : 27 juin et 9 juillet 2019

Localisation : Secteur Baie des Cochons.

Nombre d'individus : 1

Nombre d'espèces : 1

Remarques : Bien qu'un seul individu ait été retrouvé, l'ouverture est vaste alors il est possible qu'il y ait davantage d'individus *B. pallidum*. La fermeture graduelle de la canopée par *Picea glauca* et *Juniperus communis* représente une menace possible. Il est suggéré de continuer de vérifier la présence de botryches, de mieux évaluer l'effectif et la diversité et d'estimer la progression de la fermeture du site par les espèces ligneuses. Aucune intervention ne semble nécessaire pour l'instant à ce site.

SITE 2019-5**Date :** 9 juillet 2019**Localisation :** Secteur Rioux. Dans une petite ouverture entre deux emplacements de camping.**Nombre d'individus :** 50**Nombre d'espèces :** 4

Remarques : Le site se situe dans une ouverture dominée par *Fragaria virginiana*, *Picea glauca*, *Juniperus communis*. La présence de fèces de chevreuil, indique que le site est fréquemment piétiné et brouté. On note également la présence d'un sentier piétonnier bordé par les botryches. Il se pourrait que le broutement et un piétinement modéré soient favorable au maintien des ouvertures et donc aux botryches. Puisque le site est situé directement dans le camping, il serait tout de même pertinent de restreindre les déplacements des campeurs aux sentiers balisés et aux emplacements de tente (éviter les déplacements hors des sentiers). En raison de la présence de *B. pallidum* et de la dominance de *B. michiganense* à ce site, il est recommandé de porter une attention particulière lors des prochains inventaires. Aucune intervention immédiate n'est nécessaire.

Tableau 14. Effectif (N) et remarques selon différentes espèces de *Botrychium* recensées au site 2019-5. Les lettres (A, B, C, D, E, F) dans la colonne des remarques se réfèrent aux colonies présentes sur le site.

Espèces	N	Remarques
<i>B. pallidum</i>	2	C : 1 F : 1
<i>B. matricariifolium</i>	10	A : 5 C : 1 D : 3 E : 1
<i>B. simplex</i>	1	A : 1
<i>B. michiganense</i>	15	A : 1 B : 5 C : 3 D : 6
<i>Botrychium</i> spp.	22	A : 5 trop jeunes B : 1 C : 6 D : 3 F : 6 E : 1

SITE 2019-6

Date : Été 2019

Localisation : Secteur de l'Anse à Wilson

Nombre d'individus : ± 5

Nombre d'espèces : 2

Remarques : Communication personnelle de Louise Tremblay (parc national du Bic). L'information a été transmise *a posteriori* et le site n'a donc pas été inclus dans l'inventaire de l'été 2019. Il conviendra d'inclure ce site dans les inventaires futurs afin de faire une évaluation plus rigoureuse de l'effectif et la composition en espèces.

Tableau 15. Espèces de *Botrychium* recensées au site 2019-6 et nombre d'individus observés par Louise Tremblay (PNB).

Espèces	N	Photos de l'annexe 3
<i>B. pallidum</i>	1	-
<i>B. minganense</i>	4	Photo 18

Résultats de l'analyse de la diversité floristique des botryches au PNB

À l'été 2019, un total de sept espèces de botryches ont été identifiées sur 16 sites au parc national du Bic. La richesse spécifique et l'abondance relative des espèces varient entre les sites (Figure 4). Selon les sites, *Botrychium pallidum*, *B. matricariifolium*, *B. simplex* et *B. michiganense* dominent les assemblages alors que *B. minganense*, *B. lanceolatum* et *Sceptridium multifidum* sont retrouvées occasionnellement. À plusieurs sites, une grande proportion des individus n'ont pas pu être identifiés au rang de l'espèce. Ceci reflète d'une part la difficulté d'identifier les botryches en général et d'autre part la nécessité de varier la période d'échantillonnage entre les inventaires annuels afin de maximiser l'observation des botryches à divers stades phénologiques. Par exemple, en échantillonnant un peu plus tard en saison, il est possible que certains *Botrychium* spp. mieux développés puissent être correctement identifiés, mais les effectifs seraient susceptibles d'être sous-estimés puisque certains individus précoces seraient déjà flétris. En continuant le suivi sur une base annuelle ou bisannuelle, une comparaison des valeurs de l'échantillonnage de 2019 (année de référence) avec les données des inventaires au cours des prochaines années permettra de raffiner l'état de la situation des botryches au PNB.

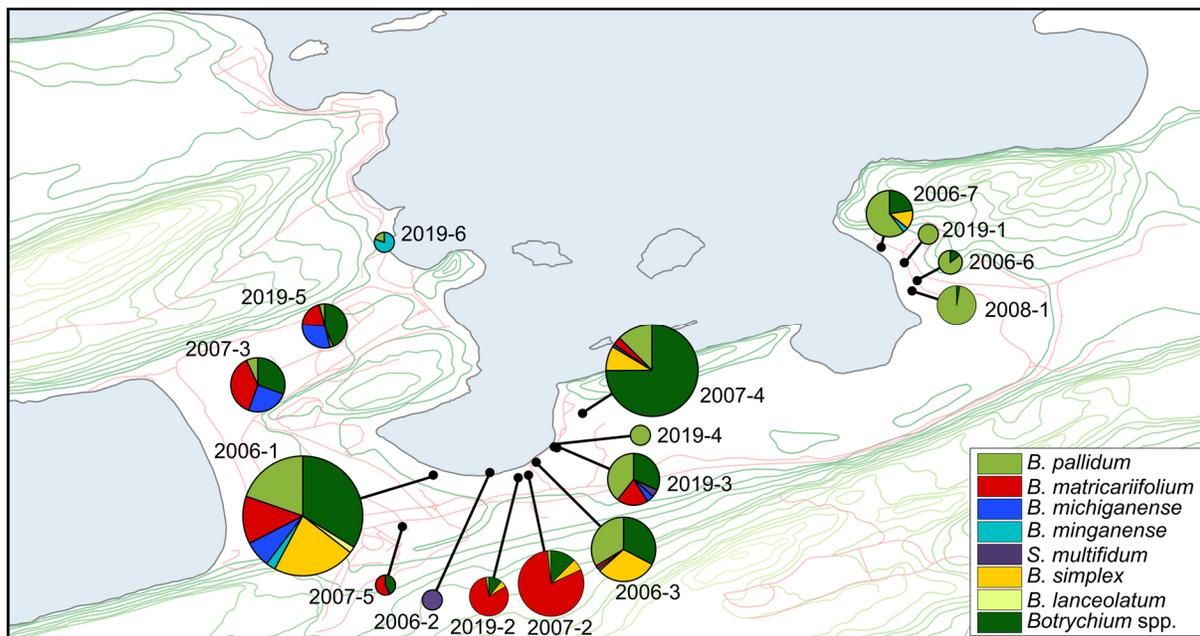


Figure 4. Abondance relative des différentes espèces de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) répertoriées aux 16 sites étudiés au parc national du Bic à l'été 2019. La taille des cercles est proportionnelle au nombre total d'individus observés sur chaque site.

La carte de la Figure 4 suggère que les sites dont les compositions spécifiques apparaissent relativement similaires semblent se regrouper en divers secteurs dans le parc. Ce patron visuel a été exploré de manière plus détaillée en déployant plusieurs approches d'analyse numérique de classification de la végétation afin de regrouper les sites individuels sur la base de la composition et de la diversité floristique des botryches du PNB (Figure 5).

L'analyse de groupement hiérarchique sur la matrice de dissimilarité basée sur les indices de Bray-Curtis (hclust ; Figure 5A) organise les sites en six groupes distincts ($K = 6$). Les sites 2006-1, 2006-3, 2007-4 et 2019-3 du secteur de la Baie des Cochons sont regroupés ensemble. Bien que ces sites aient en commun une abondance de *Botrychium simplex* (moyenne : 15%) supérieure aux autres sites et un nombre important de *B. pallidum* (26%), ils semblent surtout caractérisés par la grande abondance des botryches non identifiés (*Botrychium* spp. ; 43%). Les sites 2007-3 et 2019-5 du secteur Rioux ont des proportions similaires ($P_{\text{fisher.test}} = 0.15$) et tous les deux sont dominés par *B. michiganense* (28%) et *B. matricariifolium* (28%) avec plusieurs botryches non identifiés (37%). Les sites 2007-2, 2007-5 et 2019-2 des secteurs Baie des Cochons et Tombolo ont aussi des proportions similaires ($P_{\text{fisher.test}} = 0.45$) et sont largement dominés par *B. matricariifolium* (73%). Dans le secteur de la Pointe aux Épinettes, les sites 2006-6, 2006-7, 2008-1 et 2019-1 se regroupent avec 2019-4 de secteur de la Baie des Cochons. Tous ces sites sont fortement dominés par *B. pallidum* (87%). Enfin, les sites 2006-2 et 2019-6 forment deux groupes singletons dominés respectivement par *Sceptridium multifidum* (un seul individu sur le site) et *B. minganense* (quatre individus sur les cinq observés).

Les deux premiers axes de l'analyse en composante principale (PCA) expliquent respectivement 27% et 20% de la variance dans le jeu de données (Figure 5B). Cette analyse positionne les sites dans un espace à dimension réduite (ici, selon deux axes principaux) et les vecteurs d'espèces permettent de visualiser les associations entre les sites et les espèces. Les sites situés dans les valeurs positives de l'axe PC1 sont dominés par *B. pallidum*, *B. minganense* et *Sceptridium multifidum* alors que les sites dans les valeurs négatives de PC1 sont dominés par *B. matricariifolium*, *B. michiganense*, *B. lanceolatum*, *B. simplex* et les botryches non identifiés. L'axe PC2 discrimine les sites dominés par *B. matricariifolium*, *B. michiganense*, *B. minganense* et *S. multifidum* dans les valeurs positives, des sites dominés par *B. pallidum*, *B. lanceolatum*, *B.*

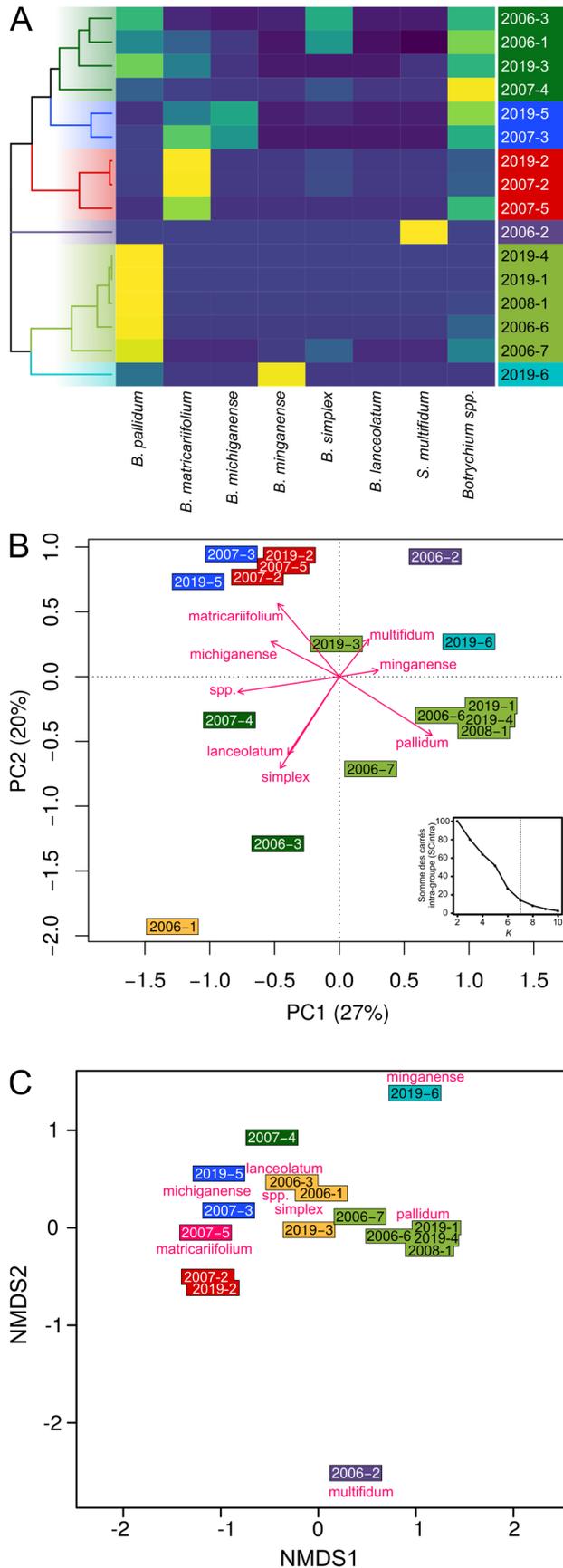


Figure 5. Résultats des analyses de groupement des sites basés sur la composition et l'abondance des espèces de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*). (A) Carte thermique (*heat map*) de la matrice de l'effectif de chaque espèce (colonnes) à chaque site (rangées). Le gradient de couleur allant du bleu foncé au jaune reflète l'abondance relative croissante des espèces dans chaque site (c.-à-d., bleu foncé : faible abondance relative ; jaune : forte abondance relative). Le dendrogramme à gauche illustre l'analyse de groupement hiérarchique sur la matrice de dissimilarité basée sur les indices de Bray-Curtis (méthode 1 : hclust). Les extrémités des branches (qui correspondent à chaque site) se rejoignent à des nœuds plus ou moins distants selon les indices de dissimilarité de Bray-Curtis. Les nœuds situés près des extrémités indiquent des sites dont l'abondance et la composition des taxa sont similaires alors que les nœuds éloignés sont plus dissimilaires. Les branches de couleurs distinctes représentent le groupement optimal des sites retenus par cette analyse ($K = 6$). (B) Diagramme de double projection (*biplot*) des sites et des espèces illustrant les résultats de l'analyse en composante principale (méthode 2 : PCA). Les flèches roses représentent les vecteurs des différentes espèces incluses dans le modèle. Les sites sont encadrés par des rectangles de différentes couleurs qui représentent les groupes identifiés par l'analyse hybride hiérarchique des K -moyennes (méthode 3 : *hbk-means*). L'encart en bas à gauche indique le nombre optimal de groupes retenus par cette analyse, identifié par une rupture de pente dans la courbe des sommes des carrés intra-groupe en fonction du nombre de groupes ($K = 7$). (C) Diagramme de double projection (*biplot*) des sites et des espèces illustrant les résultats de l'analyse multidimensionnelle non métrique (méthode 4 : NMDS). Les sites sont encadrés par des rectangles de différentes couleurs qui représentent les groupes identifiés par l'algorithme DBSCAN (méthode 5 : *dbscan*).

simplex et les botryches non identifiés dans les valeurs négatives. Il est intéressant de noter que l'axe PC1 est fortement corrélé négativement avec l'indice de diversité D de Simpson (Figure 6 ; $r = -0.81$, $P = 0.0001$). Par exemple, les sites 2006-1, et 2006-3 sont fortement diversifiés et se situent dans les valeurs les plus négatives de l'axe PC1, à l'opposé des sites 2006-2, 2006-6, 2008-1, 2019-1, 2019-4 et 2019-6 qui sont tous fortement dominés par une seule espèce (c.-à-d., peu diversifiés ; Figures 5B, 6).

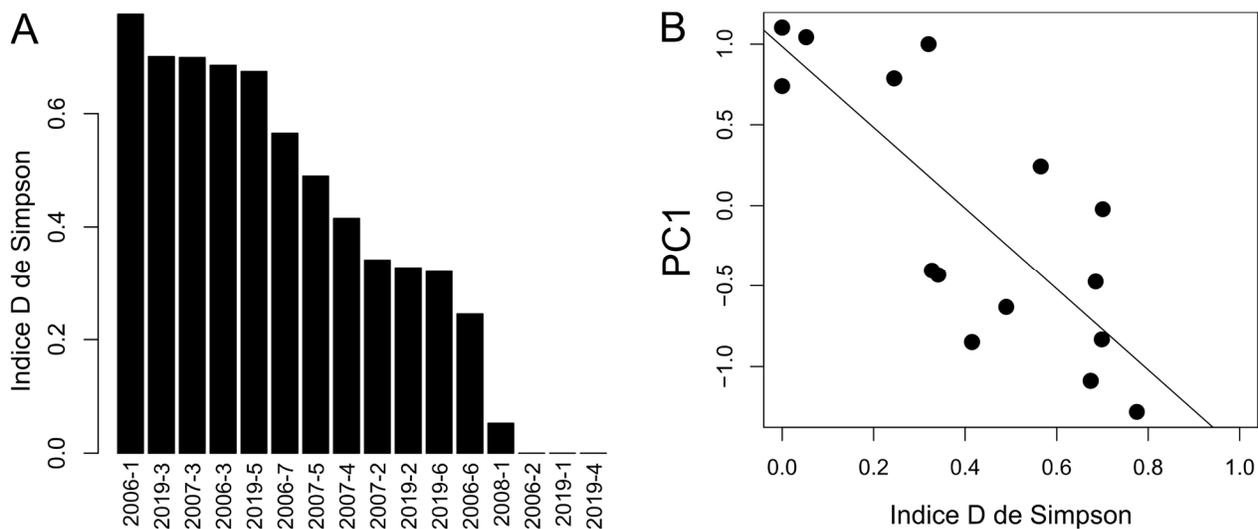


Figure 6. Analyses de la diversité des botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) au parc national du Bic. (A) Indice de diversité D de Simpson selon les différents sites étudiés. (B) Association entre l'axe PC1 de la PCA et l'indice D de Simpson.

L'approche hybride hiérarchique des K -moyennes (*hhk-means* ; Figure 5B) génère une partition optimale des sites en sept groupes distincts ($K = 7$). Les groupes identifiés par cette approche sont généralement semblables à ceux proposés par la méthode *hclust* (Figure 7). Comparativement à *hclust*, *hhk-means* reconnaît un septième groupe singleton constitué uniquement de 2006-1, le site le plus fortement diversifié. Aussi, *hhk-means* regroupe le site 2019-3 avec les sites dominés par *B. pallidum* (2006-6, 2006-7, 2008-1, 2019-1 et 2019-4).

Comme pour la PCA, l'analyse multidimensionnelle non métrique (NMDS ; Figure 5C) permet de réduire la dimensionnalité, ce qui facilite autant la visualisation de l'organisation des sites dans un espace à deux dimensions (2D) que l'interprétation des associations avec les espèces. Plus les sites sont rapprochés sur le diagramme, plus leur composition en espèces est

similaire. Comme dans les analyses précédentes, les sites 2006-6, 2006-7, 2008-1, 2019-1 et 2019-4 sont regroupés autour de *B. pallidum*, les sites 2007-2, 2007-5 et 2019-2 se regroupent autour de *B. matricariifolium* et les sites 2007-3 et 2019-5 se regroupent autour de *B. michigansense*. Les sites 2006-2 et 2019-6 sont toujours isolés dans l'analyse NMDS et s'associent respectivement avec *Sceptridium multifidum* et *B. minganense*. Enfin, les sites de diversité spécifique élevée, 2006-1, 2006-3, 2019-3 et 2007-4, sont positionnés au centre du diagramme et ne semblent pas associés à une espèce en particulier (*B. simplex*, *B. lanceolatum*, *Botrychium* spp. ; Figure 5C).

hclust	hhk-means	dbscan
2007-4	2007-4	2007-4
2006-3	2006-3	-
2006-1	-	-
2019-3	-	-
2019-5	2019-5	2019-5
2007-3	2007-3	2007-3
2019-2	2019-2	2019-2
2007-2	2007-2	2007-2
2007-5	2007-5	2007-5
2006-2	2006-2	2006-2
2019-6	2019-6	2019-6
2019-4	2019-4	2019-4
2019-1	2019-1	2019-1
2008-1	2008-1	2008-1
2006-6	2006-6	2006-6
2006-7	2006-7	2006-7
-	2019-3	-
-	2006-1	2006-1
-	-	2019-3
-	-	2006-3
K = 6	K = 7	K = 8

Figure 7. Les différentes partitions des sites de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) au parc national du Bic obtenues selon trois approches de groupement. Les nom de sites en italiques indiquent les changements de groupes entre les analyses. hclust : analyse de groupement hiérarchique sur la matrice de dissimilarité basée sur les indices de Bray-Curtis ; hhk-means : approche hybride hiérarchique des K-moyennes ; dbscan : *density-based spatial clustering of applications with noise*.

La méthode *density-based spatial clustering of applications with noise* (dbscan ; Figure 5C) indique une solution optimale de partitionnement des sites avec huit groupes ($K = 8$). Pour la plupart des sites, le patron de partition demeure stable par rapport aux analyses précédentes (Figure 7). Une différence notable par rapport à hclust et hhk-means est le regroupement des sites 2006-3 et 2019-3 avec 2006-1, formant un groupe caractérisé par la forte diversité spécifique des sites ($D_{\text{moyen}} = 0.720$; Figure 6A ; Tableau 16) plus que par une espèce en particulier (*B. simplex*-18%, *B. pallidum*-31%, *B. matricariifolium*-12% et *Botrychium* spp.-33%). Selon dbscan, le site 2007-4 qui était initialement regroupé avec ces trois sites, forme un

groupe singleton caractérisé par une forte abondance de botryches non identifiés (75%). Enfin, un nouveau groupe singleton isole le site 2007-5 du secteur Tombolo, auparavant classé avec 2007-2 et 2019-2.

Parmi les 16 sites échantillonnés, 12 demeurent associés aux mêmes groupes peu importe la méthode employée (Figure 7). En général, ces sites sont fortement dominés par une seule espèce (ou au maximum deux espèces) qui caractérise l'appartenance au groupe auquel les sites s'associent. Par ailleurs, les sites 2006-1, 2006-3, 2007-5 et 2019-3, sont « *problématiques* » puisqu'ils sont difficiles à assigner à un groupe en particulier. Ils se regroupent plutôt avec des sites différents selon les analyses employées. Ces sites, qui comptent parmi les plus diversifiés (Figure 6A, Tableau 16), sont plus difficiles à classer de façon constante car ils ne sont pas dominés par une seule espèce diagnostique. Par exemple, le site 2019-3, du secteur de la Baie des Cochons est « *problématique* » et change de groupe dans toutes les analyses. La méthode hclust classe ce site dans un groupe caractérisé par la grande abondance des botryches non identifiés (Figures 5A, 7). L'approche hkk-means regroupe plutôt ce site avec les sites dominés par *B. pallidum* (Figures 5B, 7) alors que dbscan le classe avec d'autres sites fortement diversifiés (Figures 5C, 7). Le site 2019-3 se positionne directement au centre des analyses PCA (Figure 5B) et NMDS (Figure 5C), ce qui illustre bien la difficulté de classer ce site dans l'espace multidimensionnel sur la base des données d'inventaire actuelles. Le site 2006-1 comporte le plus important effectif et la plus grande diversité de botryches au PNB. L'approche hclust le regroupe avec les sites dominés par les botryches non identifiés (Figures 5A, 7). La PCA et hkk-means isolent le site dans un groupe singleton (Figures 5B, 7) que la PCA associe à *B. simplex* (Figure 5B). L'algorithme dbscan classe 2006-1 avec les autres sites fortement diversifiés (Figures 5C, 7). Comme pour 2019-3, la position de 2006-1 au centre du diagramme de l'analyse NMDS indique un site peu diagnostique. Le site 2006-3 suit une trajectoire relativement semblable au site 2006-1 mais dans une moindre mesure puisque comme hclust, hkk-means assigne aussi ce site au groupe dominé par les botryches non identifiés, un résultat conforme à sa position intermédiaire entre 2007-4 et 2006-1 dans la PCA (Figure 5B). Enfin, bien que la plupart des approches classent 2007-5 dans un groupe dominé par *B. matricariifolium*, l'algorithme dbscan considère le site comme un groupe singleton à part de tous les autres (Figures 5, 7).

Discussion

Sur la base des résultats empiriques issus des nombreuses approches employées pour analyser la diversité floristique des botryches au PNB et en considérant les particularités propres à chaque site individuel (p. ex., localisation dans le parc, effectif des colonies, aménagements), sept unités de gestion de la conservation des botryches sont suggérées au parc national du Bic (UG1 à UG8 ; Figure 8 ; Tableau 16). Chaque unité de gestion est caractérisée par sa composition en espèces (Figure 4), sa diversité spécifique (Tableau 16), sa position géographique dans le PNB (Figure 8) et les menaces potentielles envisagées (Figure 9).

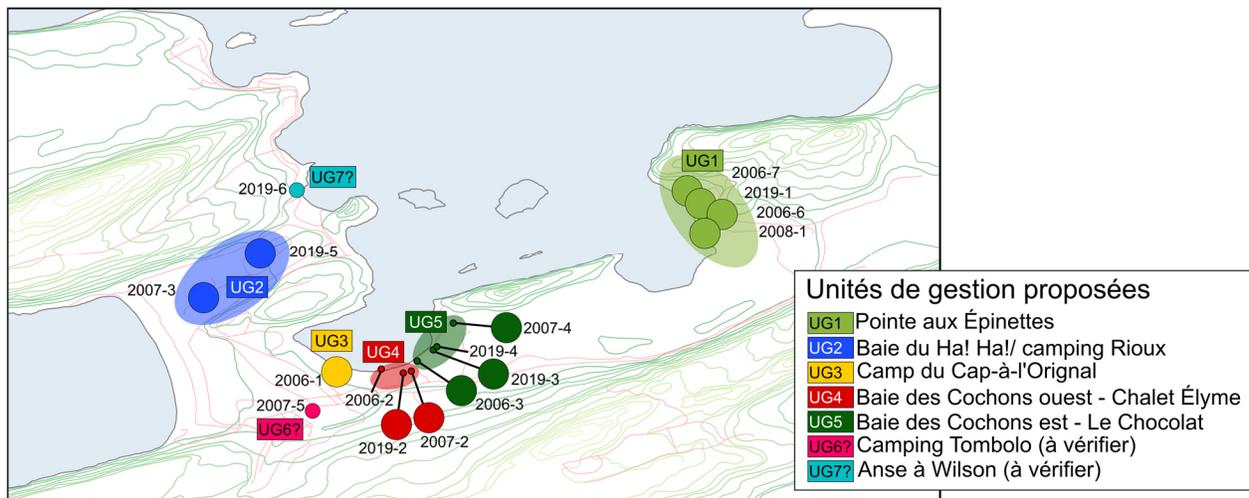


Figure 8. Unités de gestion (UG) de la conservation des botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) proposées au parc national du Bic.

Tableau 16. Effectif, richesse spécifique et indice de diversité pour les sites et les unités de gestions de la conservation des botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) proposées au parc national du Bic.

Sites	N_{site}	S_{site}	D_{site}	UG	N_{UG}	S_{UG}	D_{UG}
2006-6	14	2	0,245	1	105	4	0,380
2006-7	53	4	0,565				
2008-1	37	2	0,053				
2019-1	1	1	0,000				
2007-3	72	4	0,699	2	122	5	0,701
2019-5	50	5	0,674				
2006-1	350	7	0,775	3	350	7	0,775
2006-2	1	1	0,000	4	143	5	0,347
2007-2	105	4	0,341				
2019-2	37	4	0,327				
2006-3	101	5	0,685	5	375	7	0,615
2007-4	207	5	0,415				
2019-3	66	5	0,701				
2019-4	1	1	0,000				
2007-5	7	2	0,490	6?	7	2	0,490
2019-6	5	2	0,320	7?	5	2	0,320

N : nombre d'individus observés ; S : nombre d'espèces identifiées ;
D : indice de diversité de Simpson ; UG : Unité de gestion

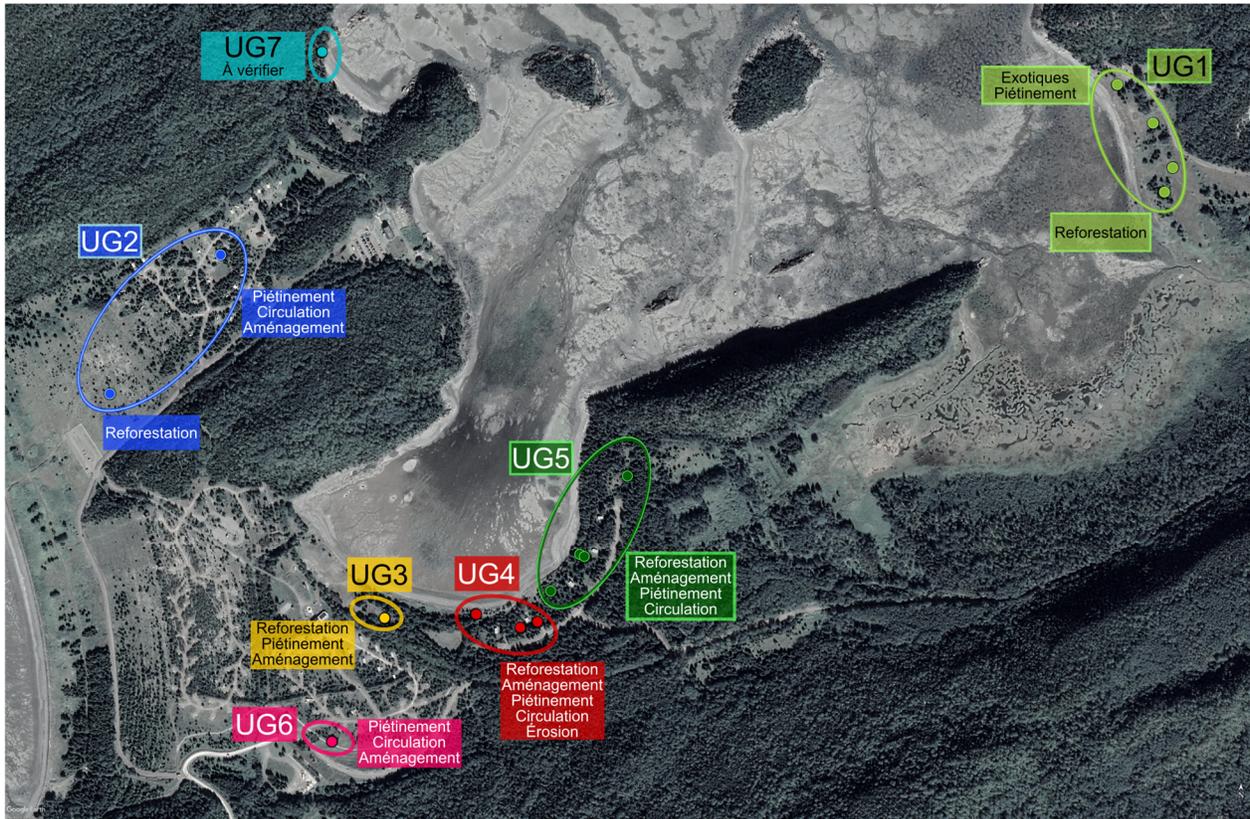


Figure 9. Principales menaces potentielles envisagées selon les différentes unités de gestion de la conservation des botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) proposées au parc national du Bic. (Crédit photo : CNES/Airbus 02/09/2019, modifié d'après Google Earth, 2020).

Le secteur de la Pointe aux Épinettes constitue une première unité de gestion (UG1) proposée qui regroupe les sites 2006-6, 2006-7, 2008-1 et 2019-1 (Figure 8). Ces sites forment un groupe cohérent, ils sont à proximité les uns des autres et ils sont tous largement dominés par *B. pallidum* (86%). À plus ou moins long terme, la colonisation par les arbres (*Picea glauca*, *Populus tremuloides*) et arbustes (*Juniperus communis*) en cours de succession secondaire naturelle pourrait représenter une menace aux colonies de botryches de l'UG1 (Figure 9). Puisque les sites sont généralement ouverts, la fermeture de la canopée par les arbres ne constitue toutefois pas un risque immédiat. Cependant, à plus court terme, l'invasion rapide de l'habitat par *Galium mollugo*, une herbacée exotique envahissante au PNB (Meunier et Lavoie 2012 ; Lavoie 2019) représente une menace immédiate à l'UG1. Un suivi sur une base annuelle ou bisannuelle incluant l'inventaire des botryches et des tiges ligneuses de même qu'une évaluation de la compétition interspécifique avec les autres plantes herbacées permettra de réévaluer régulièrement la trajectoire démographique de ces colonies de botryches par rapport à la

dynamique de succession écologique naturelle par les arbres et arbustes et à l'impact des plantes envahissantes dans le secteur. Aussi, l'UG1 est soumise à un piétinement fréquent dont il convient de mieux évaluer l'impact (favorable ou défavorable) sur les colonies de botryches (voir la section *remarques* du site 2006-7). Cette unité de gestion semble particulièrement importante pour la conservation des botryches au Québec puisque ses colonies sont dominées par *B. pallidum*, une espèce susceptible d'être désignée menacée ou vulnérable. Afin d'assurer le maintien de ces botryches rares, il sera nécessaire d'effectuer un suivi avec des inventaires réguliers plus rapprochés afin de mieux évaluer la vitesse d'envahissement des sites, mais également de mesurer l'impact du piétinement. Au final, un suivi régulier à long terme permettrait de dresser un portrait des menaces réellement nuisibles aux populations de *B. pallidum* du secteur de la Pointe aux Épinettes (UG1).

La seconde unité de gestion (UG2) inclut les sites du secteur Rioux (2007-3 et 2019-5) situés près de la Baie du Ha! Ha! et dans le camping Rioux (Figure 8). L'UG2 forme un groupe cohérent puisque les sites sont similaires sur le plan de la composition en botryches (dominés par *B. michiganense* et *B. matricariifolium* avec une proportion importante de botryches non identifiés ; Figure 4). Étant donné l'importance relative de *B. michiganense* susceptible d'être désignée menacée ou vulnérable, l'UG2 représente aussi une unité significative pour la conservation des botryches au Québec. Cette unité de gestion comporte deux sites de composition très similaire, mais spatialement isolés bien que situés dans le même secteur. Ceci pourrait suggérer que les botryches à l'UG2 formaient autrefois une seule colonie continue qui a été fragmentée par l'aménagement du camping Rioux et la recolonisation du secteur par les espèces ligneuses (*Picea glauca* et *Juniperus communis*) et les lichens depuis la formation du PNB. Ces facteurs représentent toujours une menace potentielle au maintien des colonies résiduelles. Du côté de la Baie du Ha! Ha!, l'espace apparaît vaste et généralement ouvert, mais les colonies de botryches y sont relativement petites puisqu'elles sont restreintes aux quelques habitats favorables entre les arbres, arbustes et parcelles de lichen en recolonisation (Figure 9). Du côté du camping Rioux, l'aménagement du camping (les sentiers, l'incidence du piétinement hors des sentiers, les voies de circulation automobile et les espaces de camping) représente une menace directe qui reste à être mieux évaluée. En attendant une meilleure évaluation des impacts écologiques directs des aménagements au PNB sur les colonies de botryches, il serait pertinent

d'aviser les campeurs de rester dans les zones de campements et d'utiliser les chemins déjà balisés afin de circuler d'un emplacement de camping à l'autre. Aussi, il est recommandé de ne pas développer davantage le Camping Rioux vers l'ouest (vers la Baie du Ha! Ha!) puisqu'un tel aménagement empièterait éventuellement sur le site 2007-3. Contrairement à UG1, la succession secondaire à UG2 semble déjà restreindre les colonies de botryches. Il est suggéré qu'une étude de la dynamique de la succession écologique secondaire par les arbres, arbustes et lichens soit effectuée à l'UG2. Ceci permettrait de mettre en place une stratégie de coupes partielles ciblées visant à maintenir l'habitat des botryches dans ce secteur. Enfin, la poursuite d'un suivi régulier incluant des inventaires de botryches annuels ou bisannuels permettra de parfaire les identifications dans ce secteur qui incluait en moyenne 37% de botryches non identifiés à l'été 2019. À cet effet, l'estimation de l'effectif des différentes espèces à l'UG2 serait améliorée avec des études génétiques qui permettraient de mieux délimiter les espèces rapprochées (*B. michiganense* et *B. matricariifolium*).

Les unités de gestion 3 à 5 sont situées dans le secteur de la Baie des Cochons. Les nombreux aménagements plus ou moins récents, la position des colonies, la composition en espèces (selon les analyses de groupement effectuées) et les menaces potentielles justifient la division du secteur en trois unités de gestions distinctes. L'UG3 est située sur le terrain de l'ancien camp du Cap-à-l'Orignal et correspond au site 2006-1. Ce site est « *problématique* » puisqu'il est difficile à assigner par les analyses de groupements (Figure 7). Il est suggéré de considérer ce site comme une unité de gestion distincte en raison de son isolement géographique (séparé des autres colonies) et puisque la richesse, la diversité et l'effectif des botryches à ce site sont les plus élevés du PNB (Figures 4 et 6 ; Tableau 16). Ce site à caractère exceptionnel n'est dominé par aucune espèce en particulier (bien qu'on y retrouve une importante population de *B. simplex*), mais représente plutôt un « *hotspot* » des botryches au PNB, incluant notamment un nombre important d'individus de botryches rares (*B. pallidum* et *B. michiganense*). L'UG3 ne pourra toutefois pas s'étendre puisqu'elle est ceinturée d'une part par une forêt mature et d'autre part par un sentier (un cordage entourant le site vise à limiter le passage des vélos et des randonneurs). Au contraire, la forêt mature qui borde le site finira inexorablement par envahir l'habitat des botryches si aucune mesure n'est prise pour freiner la dynamique naturelle de succession écologique. Or, puisque la superficie du site est complètement circonscrite, il serait

relativement simple de mettre en place une stratégie de conservation de l'UG3 consistant à retirer à la main toutes les plantules de *Picea glauca* et de *Populus tremuloides* qui colonisent annuellement la clairière. Cette mesure systématique et facile à instaurer permettrait d'assurer le maintien de l'habitat ouvert essentiel aux botryches.

La quatrième unité de gestion est essentiellement située de part et d'autre du chalet EXP Élyme. En effet, l'UG4 est principalement composée des sites 2007-2 et 2019-2. Il est probable que ces deux entités appartenaient auparavant à un même site (2007-2), mais l'aménagement récent des chalets EXP aurait divisé cet ancien site en deux parties résiduelles (2007-2 et 2019-2). Puisque les aménagements sont encore récents (moins de 5 ans), les deux sites n'ont pas encore eu le temps de dériver l'un par rapport à l'autre, ce qui justifie de les regrouper, pour l'instant, dans une même unité de gestion. En effet, ces deux sites nouvellement isolés ont conservé une composition essentiellement similaire et sont tous les deux bien caractérisés par la forte dominance de *B. matricariifolium* (81% ; Figure 4). Les inventaires 2007 et 2008 indiquaient la présence des deux espèces de botryches rares et susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables (*B. pallidum* et *B. michiganense* ; Labrecque et Cayouette 2008 ; Labrecque *et al.* 2011). Cette information ne semble pas avoir été prise en compte lors de la construction des Chalets EXP si bien que lors de l'inventaire de 2019, seulement quelques *B. pallidum* ont été retrouvés, mais aucun *B. michiganense* n'est répertorié. Il est possible que des individus de cette dernière espèce soient présents mais aient été manqués en 2019. Ils seront alors détectés lors des prochains inventaires. Par ailleurs, bien que les botryches puissent bénéficier de perturbations légères à modérées qui permettent de ralentir la succession secondaire (Lesica et Ahlenslager 1996), on considère habituellement qu'il est préférable de minimiser les perturbations du sol (Anderson et Cariveau 2004). En effet, très peu de populations de botryches sont retrouvées dans des sols récemment perturbés. Les aménagements qui nécessitent le retournement du sol constituent d'ailleurs un facteur important qui décime les populations (Buell 2001). Dès que le sol est retourné, les gemmules, les gamétophytes et les complexes racinaires et mycorhiziens sont altérés. Puisque le sporophyte est entièrement dépendant de son association mycorhizienne, toute perturbation du sol a un impact sur les populations de botryches (Anderson et Cariveau 2003, 2004). Aussi, le temps de germination des spores, de maturation et de reproduction du sporophyte adulte est également un facteur pouvant expliquer un délai entre un événement de perturbation et

l'apparition des botryches sur un site (Anderson et Cariveau 2004). Il est donc recommandé de poursuivre les inventaires réguliers (annuels ou bisannuels) afin de constater l'impact des aménagements sur les botryches à l'UG4. Est-ce que l'isolement des sites 2007-2 et 2019-2 entraînera une différenciation de ces sites quant à la composition et l'abondance relative des botryches? Est-ce que *B. michiganense* est effectivement disparu des colonies de l'UG4? Est-ce que les botryches recoloniseront éventuellement les habitats où le sol a été perturbé par les aménagements? Une autre menace importante aux colonies de botryches à l'UG4 est le rétrécissement progressif des ouvertures par la succession secondaire. Les arbres (*Picea glauca*), les arbustes (*Juniperus communis*) et les lichens envahissent les trouées. Au cours des prochains inventaires, il sera important de documenter la dynamique de fermeture du couvert forestier afin de limiter la perte de ces colonies résiduelles. Puisque le processus écologique de fermeture des trouées est déjà bien installé à l'UG4, des coupes partielles stratégiques informées par des données empiriques devront être envisagées à court terme. Enfin, l'UG4 inclut également le site 2006-2. Les analyses de groupement classaient clairement ce site dans un groupe à part. Toutefois, ce site n'inclut qu'un seul individu de *S. multifidum* dans une zone fortement en érosion en plus d'être envahi par la gesse maritime. La survie de l'individu dépendra du rythme d'érosion et il est appelé à disparaître dans les prochaines années. Puisqu'aucune action n'est envisagée, l'inclusion du seul individu de 2006-2 dans l'UG4 reflète seulement une réalité pratique (proximité géographique des sites) pour faciliter les visites lors des inventaires futurs. Si, contre toute attente, l'effectif à 2006-2 devait prendre de l'expansion, l'UG4 devra être revue pour en exclure ce site.

La cinquième unité de gestion (UG5) est la plus hétérogène. Elle inclut tous les sites à l'est de la Baie des Cochons, vers Le Chocolat (2007-4, 2019-4, 2019-3 et 2006-3). Pour l'instant ces sites sont classés dans une même unité de gestion, car ils sont spatialement regroupés, mais il est possible que l'UG5 soit modifiée en poursuivant le suivi. En effet, ces sites devront être mieux documentés lors des prochains inventaires puisque selon les données de 2019, ils se regroupent ensemble principalement par la forte abondance des botryches non identifiés (Figure 4). Malgré cette lacune, l'UG5 devrait d'ores et déjà être considérée importante pour la conservation des botryches au Québec puisque ses colonies comptent un nombre important de *B. pallidum* et quelques *B. michiganense*. L'effectif de ces espèces susceptibles d'être désignées menacées ou

vulnérables augmentera probablement en confirmant les identifications des nombreux *Botrychium* spp. à l'UG5 lors des prochains inventaires. Au total, l'UG5 compte plus d'individus de botryches que l'UG3 (site 2006-1). Toutefois, une comparaison des effectifs des inventaires passés (2006 à 2008) avec ceux de 2019 suggère que l'UG5 est en déclin démographique. Il est effectivement possible que tout ce secteur fût autrefois une seule grande colonie de botryches que la fermeture de la forêt et l'aménagement des chalets EXP auraient fragmentée en plusieurs sites isolés dont les trajectoires démographiques sont aujourd'hui indépendantes. Les prochains inventaires des botryches et une étude de la dynamique de succession écologique à l'UG5 permettront d'évaluer cette hypothèse de déclin démographique et d'instaurer des stratégies de conservation efficaces. En effet, hormis les aménagements récents dont l'impact demeure encore incertain, de manière générale, l'UG5 est principalement menacée à court terme par la fermeture imminente du couvert forestier. Pour l'instant, l'UG5 semble être l'unité de gestion la plus directement menacée par la succession secondaire et des mesures de conservation doivent être envisagées rapidement pour maintenir, et même idéalement restaurer, cette importante colonie (voir aussi Labrecque et Jolicoeur 2017). Il est également recommandé de maintenir l'interdiction d'accès au passage piétonnier hors des sentiers à proximité des chalets EXP afin de réduire le piétinement des sporophytes.

Les deux dernières unités de gestion, UG6 et UG7, restent à confirmer. En effet, l'UG6 correspond au site 2007-5 situé dans le secteur Tombolo. L'UG6 est disjointe par rapport aux autres sites, elle n'inclut que très peu d'individus et elle est dans un lieu qui a été grandement perturbé par les aménagements du secteur Tombolo. La présence d'amoncellements de terre retournée suggère que cette petite colonie dominée par *B. matricariifolium* est en situation précaire et sa survie à long terme n'est pas assurée. L'UG7 correspond au site 2019-6 de l'Anse à Wilson dont l'existence a été portée à notre attention *a posteriori*. L'effectif et les espèces présentes dans ce secteur restent encore à déterminer. Les prochains inventaires permettront de clarifier la situation aux UG6 et UG7.

Les courbes rang-abondance de la Figure 10 permettent de comparer la richesse spécifique et l'équitabilité des botryches entre les unités de gestion. La longueur de ces courbes indique le nombre d'espèces alors que la pente de la courbe reflète la dominance / équitabilité, où les

courbes les plus abruptes témoignent des unités de gestion dominées par une seule espèce et les courbes plus douces décrivent des unités de gestion plus équitables. Selon les données de l’inventaire 2019, les UG1, UG4 et UG5 indiquent des unités de gestions dominées par une seule espèce (respectivement *B. pallidum*, *B. matricariifolium*, *Botrychium* spp.). L’UG2 est caractérisée par un mélange équitable de *B. michiganense*, *B. matricariifolium* et *Botrychium* spp. alors que l’UG3 est un mélange riche de *B. simplex*, *B. pallidum*, *B. matricariifolium*, *Botrychium* spp. et *B. michiganense*. De telles courbes rang-abondance devraient être préparées à la suite de chaque inventaire subséquent et leur comparaison au cours du temps permettra de visualiser rapidement la progression éventuelle dans les patrons de diversité des unités de gestion, qui témoignera des changements de composition des botryches.

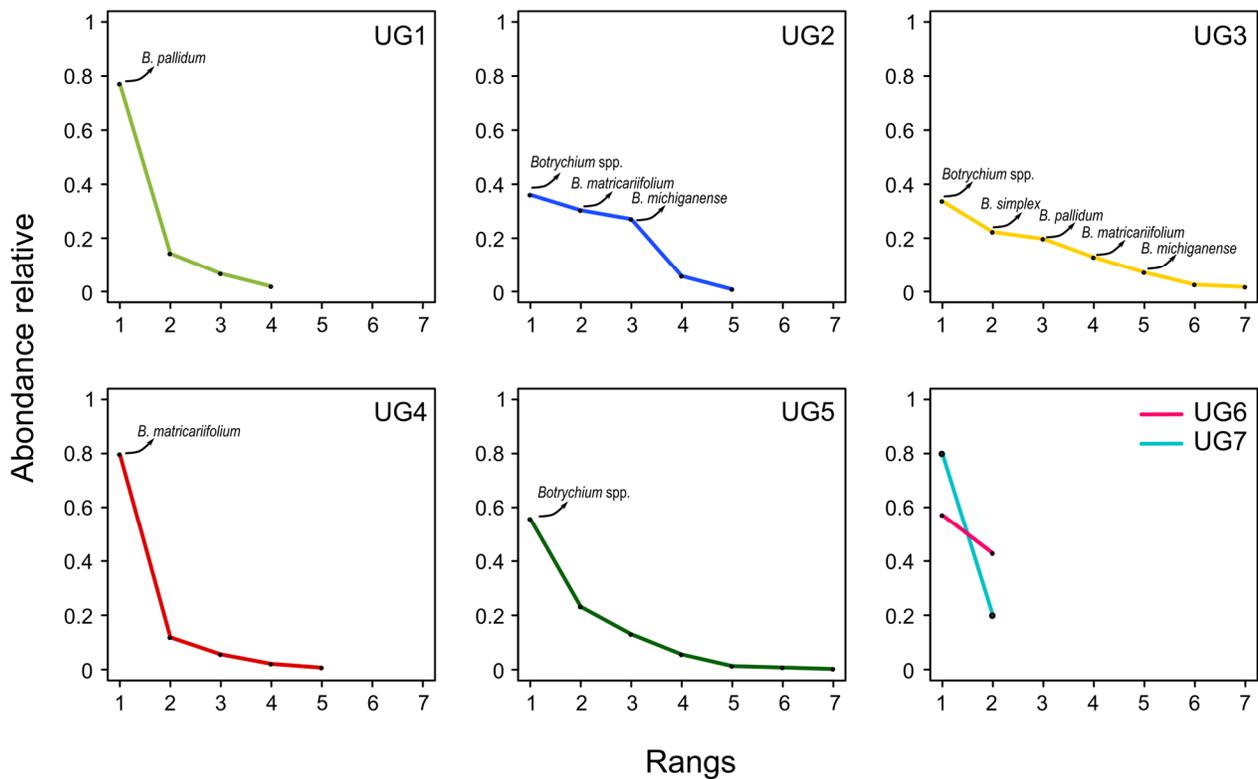


Figure 10. Courbes rang-abondance des espèces de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) pour chaque unité de gestion proposée au parc national du Bic.

Selon Johnson-Groh et Farrar (2003) les sites qui ont été perturbés il y a environ 10 ans puis laissés en friche forment des habitats privilégiés pour les botryches. Buell (2001) suggère plutôt que les botryches sont plus abondants dans les sites ayant subi une perturbation il y a plus de 30 ans, mais qui ont été maintenus dans un état de succession ralentie par le retrait continu des

arbres. Par ailleurs, peu d'individus sont retrouvés dans les habitats ouverts issus de perturbations récentes et la fermeture de la canopée lors de la succession entraîne l'extinction des colonies locales (Lesica et Ahlenslager 1996). Le parc national du Bic a été fondé en 1984, il avait donc 35 ans au moment de l'échantillonnage à l'été 2019. Le parc en reforestation depuis une trentaine d'années (Figure 11) est donc à un moment charnière pour cibler la conservation des botryches. En effet, les botryches semblent se maintenir préférentiellement dans les sites qui ont été maintenus ouverts depuis la formation du parc tels que le camp de vacances du Cap à l'Original (UG3), les sentiers abandonnés le long de la Baie des Cochons (UG4 et UG5), la Pointe aux Épinettes (UG1) et le secteur Rioux (UG2). Toutefois, les botryches semblent en déclin aux sites récemment perturbés par les aménagements comme le Secteur Tombolo (UG6) et les Chalets EXP (UG4 et UG5). Si ces habitats perturbés sont maintenus dans un état d'ouverture et qu'aucun aménagement subséquent n'est envisagé, il n'est pas exclu que les botryches recolonisent ces secteurs dans un horizon de 10 à 20 ans. Par ailleurs, la succession a beaucoup progressé au parc national du Bic depuis ~35 ans de déprise agricole (Figure 11). À l'instar de la colonie qui s'est éteinte au site 2007-1, la plupart des unités de gestion sont menacées à court ou moyen terme par une fermeture de la canopée (principalement les UG5, UG4 et UG2 ; Figure 11). Une simple coupe partielle des arbres, arbustes et gaulis sélectionnés devrait être envisagée afin de ralentir la succession écologique sans altérer les sols. Il semble que ce soit la stratégie à privilégier pour assurer la persistance à long terme des botryches au parc national du Bic. Il est toutefois suggéré de procéder au préalable à une étude de la succession secondaire au parc national du Bic afin de mieux quantifier la dynamique de l'envahissement de l'habitat des botryches par les espèces ligneuses. En connaissant à la fois l'histoire écologique du site, la dynamique de succession et l'écologie des botryches, les recommandations quant à la coupe sélective pourront être mieux ciblées pour conserver les botryches en maintenant une mosaïque de communautés à différents stades successionnels (Pickett et Thompson 1978). Suite à de telles interventions, il sera fortement recommandé de poursuivre le suivi afin de quantifier l'impact des mesures prises sur la démographie des colonies de botryches.

Les principales menaces potentielles aux populations de botryches sont les aménagements récents, la reforestation, le piétinement, la circulation et l'envahissement par des espèces exotiques ou les lichens. Ces menaces ont été identifiées à partir d'observations faites sur le

2004



2019



Figure 11. La reforestation au parc national du Bic entre 2004 et 2020. Les ellipses encerclent les secteurs où la fermeture de la voûte forestière menace éventuellement l'habitat des botryches. La progression de la forêt est évidente dans les UG4 et UG5 où les quelques ouvertures résiduelles ne sont déjà presque plus visibles en 2019. Rappelons que les ouvertures créées par l'aménagement des chalets EXP ne sont pas des habitats propices pour les botryches. L'UG2 est encore largement ouverte mais la colonisation rapide par *Picea glauca* apparaît nettement en comparant les photographies. Les ouvertures à UG1 sont relativement semblables entre les deux périodes mais on note l'expansion de quelques îlots forestiers à surveiller. (Crédit photo : CNES/Airbus 08/05/2004 et 02/09/2019, modifiés d'après Google Earth, 2020).

terrain et devraient être considérées comme des hypothèses de travail. Davantage d'études empiriques sont requises afin de mieux évaluer l'impact réel de ces facteurs présumés. Des données sur la vitesse de fermeture de la canopée et la progression des arbres pionniers dans les trouées sont essentielles à l'application de mesures efficaces de conservation (retrait des plantules, coupe des arbres, etc.). Les prochains suivis permettront également d'identifier les espèces actuellement classées comme *Botrychium* spp. ce qui entraînera peut-être une révision des unités de gestions proposées sur la base de l'inventaire de 2019. De plus, il est probable que de nouvelles régions du parc abritant des populations de botryches soient découvertes, car l'âge actuel des habitats au parc national du Bic est particulièrement propice à l'émergence des botryches. Enfin, il serait hautement pertinent de mieux caractériser la diversité génétique des populations de botryches au PNB. De telles analyses génétiques valideraient les identifications souvent difficiles en raison de l'hybridation et de la variabilité morphologique intraspécifique, et permettraient l'établissement d'un plan de conservation adapté à la réalité des populations génétiques du parc (c.à.d., unités évolutivement significatives-UES ; Moritz 1994).

Johnson-Groh (1999) a estimé le nombre de gamétophytes, sporophytes et gemmules enfouis sous terre dans une population de *B. campestre* en Iowa. Il a révélé qu'en moyenne 21 gamétophytes, 180 sporophytes et 6023 gemmules sont retrouvés enfouis sous 1 m². Dans une étude similaire, il a retrouvé 7000 gamétophytes et 250 sporophytes de *B. mormo* par mètre carré (Johnson-Groh 1998). De telles études suggèrent que le nombre de sporophytes observés dans une année donnée n'est pas nécessairement représentatif de la population réelle (Johnson-Groh *et al.* 2002) puisque chaque sporophyte peut rester en dormance d'une à plusieurs années selon les conditions environnementales (Anderson et Cariveau 2004 ; Kelly 1994). Il peut donc y avoir une forte variabilité interannuelle quant à l'émergence des sporophytes. Ainsi, un inventaire peu fréquent (p. ex., quinquennal) ne serait pas nécessairement représentatif de la population, d'où l'intérêt d'effectuer un suivi plus régulier avec des inventaires rapprochés. Alors que des inventaires réguliers et rapprochés permettent un suivi rigoureux, des inventaires occasionnels ou trop peu fréquents pourraient biaiser les évaluations de la diversité et de l'abondance des botryches. Dorénavant, il est donc fortement suggéré d'établir un protocole de suivi annuel ou bisannuel des colonies.

Conclusion

Cette recherche a dressé un portrait actualisé des colonies de botryches au parc national du Bic. Les données empiriques prises sur le terrain à l'été 2019 ont permis de mettre en évidence les changements d'effectif et les modifications de l'habitat par rapport aux inventaires passés, d'identifier les impacts de certains aménagements récents et d'envisager les menaces potentielles spécifiques à chaque site. Les données d'inventaire ont ensuite été regroupées pour effectuer des analyses de la biodiversité floristique des botryches à l'échelle du parc. À partir des résultats de ces différentes analyses, des unités de gestion de la conservation ont été identifiées en fonction de la composition spécifique et de l'abondance relative des espèces de botryches, des aménagements récents, de la localisation des sites dans le parc et des menaces potentielles. Pour chaque unité de gestion, des stratégies de conservation ont été proposées afin de lutter efficacement contre ces menaces.

Remerciements

Nous tenons à remercier Magali Couture, Muriel Deslauriers, Emmanuelle Pelletier et Romain Claudepierre pour l'aide essentielle sur le terrain.

Références

- Anderson DG, Cariveau D. 2003. *Botrychium campestre* W.H. Wagner & Farrar (Iowa moonwort): A technical conservation assessment. USDA Forest Service, Rocky Mountain Region. Colorado State University, Colorado. 38 p.
- Anderson DG, Cariveau D. 2004. *Botrychium echo* W.H. Wagner (reflected grapefern): A technical conservation assessment. USDA Forest Service, Rocky Mountain Region. Colorado State University, Colorado. 55 p.
- Buell KH. 2001. Moonwort (*Botrychium* subg *Botrychium*) survey report. Prepared for Breckenridge Ski Resort, Breckenridge, Colorado. Submitted to USDA-Forest Service; White River National Forest, Silverthorne, Colorado. Habitat Concepts. Inc., Yampa, Colorado.
- Camacho FJ. 1996. New report of subterranean sporophytic gemmae on *Botrychium pumicola*. *American Fern Journal*, 86: 27–28.
- Cardinale BJ, Duffy JE, Gonzalez A, Hooper DU, Perrings C, Venail P, Narwani A, Mace GM, Tilman D, Wardle DA, Kinzig AP, Daily GC, Loreau M, Grace JB, Larigauderie A, Srivastava DS, Naeem S. 2012. Biodiversity loss and its impact on humanity. *Nature*, 486: 59–67.
- Cayouette J. 2001a. FloraQuebeca au Bic; un botryche nouveau pour le Québec et d'autres raretés. *Alvareka* 58. 6 p.

- Cayouette J. 2001b. Les Botrychyaceae au Québec. Ottawa. 13 p.
- Colorado Natural Heritage Program, 2004. Biodiversity Tracking and Conservation System. Colorado State University. Fort Collins, Colorado.
- Crutzen PJ, Steffen W. 2003. How long have we been in the Anthropocene era? *Climatic Change*, 61: 251–257.
- Dauphin B, Farrar DR., Maccagni A, Grant JR. 2017. A worldwide molecular phylogeny provides new insight on cryptic diversity within the moonworts (*Botrychium ss*, Ophioglossaceae). *Systematic Botany*, 42: 620–639.
- Dauphin B, Vieu J, Grant JR. 2014. Molecular phylogenetics supports widespread cryptic species in moonworts (*Botrychium ss*, Ophioglossaceae). *American Journal of Botany*, 101: 128–140.
- Desmet P, Brouilet L. 2013. Database of Vascular Plants of Canada (VASCAN): a community contributed taxonomic checklist of all vascular plants of Canada, Saint Pierre and Miquelon, and Greenland. *PhytoKeys*, 25: 55–67.
- Dignard N. 2013. Ophioglossaceae. Dans Payette S. (éditeur), *Flore nordique du Québec et du Labrador. Tome 1*, pp. 141–142. Presses de l'Université Laval, Québec.
- Farrar DR. 2006. Systematics of moonworts *Botrychium* subgenus *Botrychium*. Iowa State University, Department of Ecology, Evolution and Organismal Biology. 34 p. [En ligne ; dernier accès 18 mars 2020] URL: <https://www.herbarium.iastate.edu/files/botrychium/Moonwort-Systematics-June-06.pdf>
- Farrar DR. 2008. *Botrychium michiganense*. Moonwort (*Botrychium*) Systematics. 4 p. [En ligne ; dernier accès 18 mars 2020] URL: <https://www.herbarium.iastate.edu/files/page/files/B-michiganense.pdf>
- Farrar DR. 2011. Systematics and taxonomy of genus *Botrychium*. 29 p. [En ligne ; dernier accès 18 mars 2020] URL: <http://www.public.iastate.edu/~herbarium/botrychium/Moonwort-Systematics.pdf>
- Farrar DR, Johnson-Groh CJ. 1986. Distribution, systematics, and ecology of *Botrychium campestre*, the prairie moonwort. *Missouriensis*, 7: 51-58.
- Farrar DR, Johnson-Groh CL. 1990. Subterranean sporophytic gemmae in moonwort ferns, *Botrychium* subgenus *Botrychium*. *American Journal of Botany*, 77 : 1168–1175.
- Fernald ML. 1925. Persistence of plants in unglaciated areas of boreal America. *Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences* 15: 239–342.
- FORMTER. 2001. Banque de données sur les formulaires de terrain, active depuis 2001. Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec (CDPNQ). Gouvernement du Québec, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Direction du patrimoine écologique et des parcs. Québec, Québec.
- Fryer JL. *Botrychium* spp. Dans: Fire Sciences Laboratory (Producer) *Fire Effects Information System*, U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. [En ligne ; dernier accès 18 mars 2020] URL: <https://www.fs.fed.us/database/feis/plants/fern/botspp/all.html>.
- Gilman AV, Farrar DR, Zika PF. 2015. *Botrychium michiganense* sp. nov. (Ophioglossaceae), a new North American moonwort. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 9: 295–309.

- Hahsler M, Piekenbrock M, Doran D. 2019. dbscan: Fast Density-Based Clustering with R. *Journal of Statistical Software*, 91: 1–30.
- Johnson-Groh CL. 1998. Population demographics, underground ecology and phenology of *Botrychium mormo*. Population and habitat viability assessment workshop for the goblin fern (*Botrychium mormo*): Final Report. CBSG, Apple Valley, Minnesota.
- Johnson-Groh CL. 1999. Population ecology of *Botrychium* (moonworts): Status report on Minnesota *Botrychium*. Permanent plot monitoring. Gustavus Adolphus College, St. Peter, Minnesota.
- Johnson-Groh CL, Farrar DR. 2003. *Botrychium* inventory and monitoring technical guide. Rapport préparé pour le USDA Forest Service.
- Johnson-Groh CL, Riedel C, Schoessler L, Skogen K. 2002. Belowground distribution and abundance of *Botrychium* gametophytes and juvenile sporophytes. *American Fern Journal*, 92: 80–92.
- Kassambara A, Mundt F. 2019. factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses. R package version 1.0.6.
- Kelly D. 1994. Demography and conservation of *Botrychium australe*, a peculiar, sparse mycorrhizal fern. *New Zealand Journal of Botany*, 32 : 393–400.
- Kolb A, Spribille T. 2000. New populations and habitat characteristics of rare moonworts (*Botrychium* subg. *Botrychium*) in Summit County, Colorado. Rapport préparé pour le USDA-Forest Service, Dillon Ranger District, White River National Forest, Silverthorne, Colorado.
- Labrecque J, Cayouette J. 2006. Exploration et inventaire des sites de *Botrychium pallidum* et *Botrychium michiganense* du Parc national du Bic (1 et 2 juillet 2006). Rapport préparé pour la direction du Parc national du Bic, Réseau Sépaq, Parc Québec. 25 p.
- Labrecque J, Cayouette J. 2008. Inventaire et nouvelles observations de botryches rares (*Botrychium* spp.) au Parc national du Bic (juin 2007). Rapport préparé pour la direction du Parc national du Bic, Réseau Sépaq, Parc Québec. 28 p.
- Labrecque J, Cayouette J., Farrar DR. 2011. Inventaire, nouvelles observations et dénombrement de botryches rares (*Botrychium* spp.) au Parc national du Bic incluant le territoire du camp du Cap-à-l’Orignal compte rendu d’une année exceptionnelle (23 au 27 juin 2008). Rapport préparé pour la direction du Parc national du Bic, Réseau Sépaq, Parcs Québec et le camp du Cap-à-l’Orignal. 28 p.
- Labrecque J, Jolicoeur G. 2017. Inventaire des habitats de botryches dans le secteur de l’ancien camp du Cap à l’Orignal Parc national du Bic. Ministère du Développement durable, de l’Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques, Québec. 10 p.
- Labrecque J, Lavoie G, Tardif B. 2008. Les plantes vasculaires menacées ou vulnérables du Québec. 3e édition. Gouvernement du Québec, ministère du Développement durable, de l’Environnement et des Parcs, Direction du patrimoine écologique et des parcs, Québec. 40 p.
- Lavoie C. 2019. 50 plantes envahissantes : protéger la nature et l’agriculture. Les Publications du Québec, Québec. 416 p.

- Lavoie C, Saint-Louis A. 2008. Can a Small Park Preserve its Flora? A Historical Study of Bic National Park, Quebec. *Botany*, 86: 26–35.
- Lesica P, Ahlenslager K. 1996. Demography and life history of three sympatric species of *Botrychium* subg. *Botrychium* in Waterton Lakes National Park, Alberta. *Canadian journal of Botany*, 74: 538–543.
- Loi sur les parcs, 2019. RLRQ c P-9. URL: <http://legisquebec.gouv.qc.ca/fr/ShowDoc/cs/P-9>
- Meunier G, Lavoie C. 2012. Roads as Corridors for Invasive Plant Species: New Evidence from Smooth Bedstraw (*Galium mollugo*). *Invasive Plant Science and Management*, 5: 92–100.
- Moritz C. 1994. Defining ‘Evolutionarily Significant Units’ for conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, 9 : 373–375.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O’Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szocs E, Wagner H. 2019. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-6.
- Pickett STA, Thompson JN. 1978. Patch dynamics and the design of nature reserves. *Biological Conservation* 13: 27–37.
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL : <http://www.R-project.org/>.
- Tardif B, Tremblay B, Jolicoeur G, Labrecque J. 2016. Les plantes vasculaires en situation précaire au Québec. Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec (CDPNQ). Gouvernement du Québec, ministère du Développement durable, de l’Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MDDELCC), Direction de l’expertise en biodiversité, Québec, 420 p.
- Wagner WH. 1998. A background for the study of moonworts. Population and habitat viability assessment workshop for the goblin fern (*Botrychium mormo*): Final Report. CBSG, Apple Valley, Minnesota.
- Wagner WH, Wagner FS, Beitel J. 1985. Evidence for interspecific hybridization in pteridophytes with subterranean mycoparasitic gametophytes. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh B*, 86: 273–278.
- Williams E, Farrar DR, Henson D. 2016. Cryptic speciation in allotetraploids: Lessons from *Botrychium matricariifolium* complex. *American Journal of Botany*, 103: 740–753.
- Williams E, Waller DM. 2012. Phylogenetic placement of species within the genus *Botrychium* s.s. (Ophioglossaceae) on the basis of plastid sequences, amplified fragment length polymorphisms, and flow cytometry. *International Journal of Plant Sciences*, 173: 516–531.
- Winther JL, Friedman WE. 2007. Arbuscular mycorrhizal symbionts in *Botrychium* (Ophioglossaceae). *American Journal of Botany*, 94: 1248–1255.

ANNEXES

Annexe 1 : Coordonnées géographiques (degrés décimaux) de tous les sites de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) étudiés au parc national du Bic. Les coordonnées de Labrecque et Cayouette (2006, 2007, 2008) sont en rouge et les nouvelles coordonnées (2019) en noir.

Sites	Latitude	Longitude
2006-1	48,3508	-68,7965
2006-2	48,3509	-68,7943
2006-2-A	48,3509	-68,7943
2006-3	48,3513	-68,7925
2006-3-A	48,3512	-68,7926
2006-3-B	48,3512	-68,7927
2006-3-C	48,3512	-68,7926
2006-4	48,3641	-68,7549
2006-5	48,3639	-68,7552
2006-6	48,3584	-68,7777
2006-6-A	48,3585	-68,7777
2006-6-B	48,3585	-68,7777
2006-6-C	48,3584	-68,7777
2006-6-D	48,3584	-68,7777
2006-7	48,3597	-68,7791
2006-7-A	48,3597	-68,7791
2006-7-B	48,3597	-68,7792
2007-1	48,3508	-68,7937
2007-2	48,3508	-68,7928
2007-2-B	48,3508	-68,7926
2007-2-C	48,3508	-68,7926
2007-2-D	48,3508	-68,7927
2007-3	48,3543	-68,8033
2007-3-A	48,3550	-68,8036
2007-3-B	48,3549	-68,8034
2007-3-C	48,3549	-68,8040
2007-3-D	48,3549	-68,8044
2007-3-E	48,3546	-68,8043
2007-3-F	48,3545	-68,8045
2007-3-G	48,3549	-68,8048
2007-3-H	48,3548	-68,8047
2007-4	48,3532	-68,7907

Sites	Latitude	Longitude
2007-4-A	48,3530	-68,7908
2007-4-B	48,3530	-68,7910
2007-5	48,3488	-68,7977
2007-5-A	48,3488	-68,7982
2007-5-B	48,3489	-68,7982
2007-5-C	48,3488	-68,7981
2007-5-D	48,3487	-68,7985
2008-1	48,3580	-68,7779
2008-1-A	48,3582	-68,7780
2008-1-B	48,3581	-68,7780
2008-1-C	48,3583	-68,7779
2019-1	48,3591	-68,7782
2019-2-A	48,3507	-68,7932
2019-2-B	48,3507	-68,7932
2019-2-C	48,3507	-68,7931
2019-3-A	48,3519	-68,7917
2019-3-B	48,3519	-68,7918
2019-3-C	48,3518	-68,7918
2019-3-D	48,3517	-68,7920
2019-04	48,3519	-68,7918
2019-5-A	48,3566	-68,8007
2019-5-B	48,3565	-68,8006
2019-5-C	48,3564	-68,8005
2019-5-D	48,3564	-68,8003
2019-5-E	48,3564	-68,8004
2019-5-F	48,3563	-68,8004
2019-6	48,3598	-68,7983

Annexe 2. Photographies des sites étudiés au parc national du Bic



Photo 1. Site 2006-1 Clairière balisée "en recolonisation"



Photo 2. 2006-2 Talus d'érosion



Photo 3. Site 2006-3 Trouée circonscrite par *Picea glauca*



Photo 4. Site 2006-3 Trouée circonscrite par *Picea glauca*



Photo 5. Site 2006-3 Trouée circonscrite par *Picea glauca*



Photo 6. 2006-6 Milieu ouvert entre la piste cyclable et la route du portage.



Photo 7. 2006-7 Milieu ouvert entre le rivage et le stationnement.



Photo 8. 2006-7 L'habitat des botryches est menacé par *Galium mollugo*.



Photo 9. 2007-1 Fermeture de la forêt.



Photo 10. 2007-1 Fermeture de la forêt.



Photo 11. 2007-1 Fermeture de la forêt.



Photo 12. 2007-1 Sentier entre le chalet EXP Anémone et la Baie des Cochons.



Photo 13. 2007-2A La coordonnée géographique du site correspond au stationnement du chalet EXP Élyme.



Photo 14. 2007-2B Trouée circonscrite par *Picea glauca*.



Photo 15. 2007-2B Ouverture immédiatement à l'est du stationnement du chalet EXP Élyme.



Photo 16. 2007-3 Petite colonie dans une trouée entre *Picea glauca* et *Juniperus communis*.

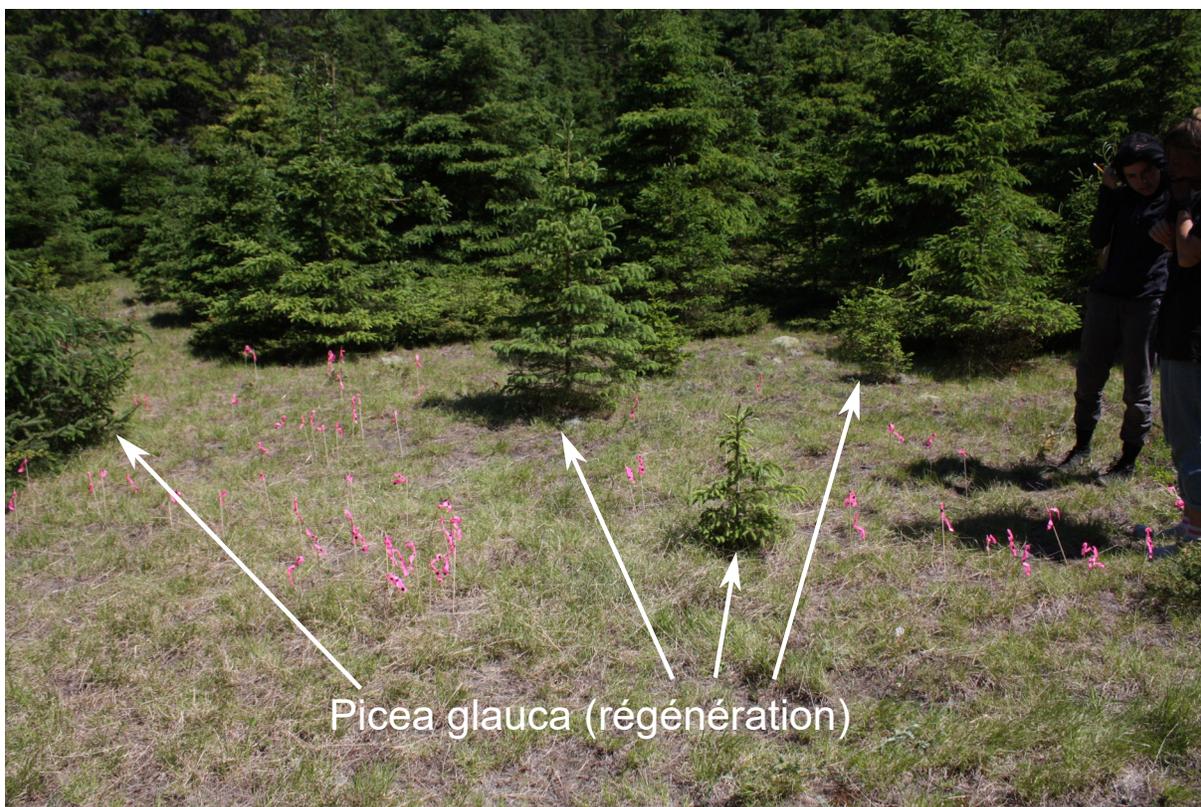


Photo 17. 2007-4 Habitat des botryches éventuellement manacé par la fermeture de la forêt.



Photo 18. 2007-4 Botryches (indiquées par les drapeaux roses) à travers les peupliers en régénération.



Photo 19. 2007-5 Site séparé par une route et une piste cyclable.



Photo 20. 2008-1 Site ouvert recolonisé par *Picea glauca*, *Juniperus communis* et envahi par *Galium mollugo*.

Annexe 3. Photographies de plusieurs espèces de botryches au parc national du Bic.



Photo 1. Site 2006-1; *B. lanceolatum*
var. *angustisegmentum*



Photo 2. Site 2006-1; même individu que sur la photo 1



Photo 3. Site 2006-1; *B. michiganense*



Photo 4. Site 2006-1; *B. simplex*



Photo 5. Site 2006-2; *S. multifidum*



Photo 6. Site 2006-3; *B. simplex*



Photo 7. Site 2006-3; *B. simplex*



Photo 8. 2006-7; *B. pallidum*



Photo 9. 2006-7; *B. minganense*



Photo 10. 2007-3; *B. matricariifolium*



Photo 11. 2007-3; *B. michiganense*



Photo 12. 2007-4; *B. simplex*



Photo 13. 2007-4; *B. simplex*



Photo 14. 2007-4; *Botrychium* sp.



Photo 15. 2007-5; *B. matricariifolium*



Photo 16. 2008-1; *B. pallidum*



Photo 17. 2008-1; *B. pallidum*



Photo 18. 2019-6; *B. minganense*
(Crédit photo : Louise Tremblay)