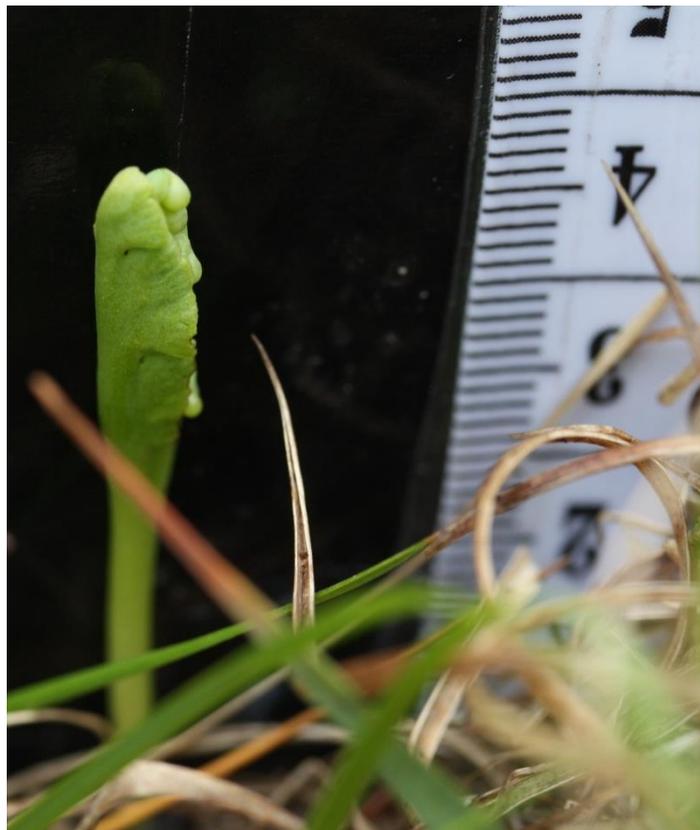


Suivi des botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) au parc national du Bic (été 2022) : Deuxième année du suivi démographique individuel



Samuel Harimanana 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, Société des établissements de plein air du Québec (SÉPAQ)

Mars 2023

Samuel Harimanana

Université du Québec à Rimouski

Courriel : samuel.harimanana@uqar.ca

Guillaume de Lafontaine

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 botryches (genres *Botrychium* et *Sceptridium*) sont des fougères eusporangiées particulièrement menacées à l'échelle globale. Selon la base de données Nature Serve, il y aurait sur la planète, autant d'espèces de botryches vulnérables, en péril ou gravement en péril (16 espèces de statut G3, G2 ou G1) que de d'espèces de botryches en sécurité ou apparemment en sécurité (16 espèces de statut G4 ou G5) (NatureServe, 2022). Au parc national du Bic (PNB), on retrouve actuellement de grands effectifs de deux espèces susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables (*B. pallidum* et *B. michiganense*) (CDNPQ, 2022 ; Ducharme-Martin et de Lafontaine 2020, 2022 ; de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Deux autres espèces qui sont sur la même liste, *B. lineare* et *B. spathulatum*, ont également été répertoriées sporadiquement au PNB, mais étant donné leur faible effectif et la grande difficulté d'identification taxonomique des botryches, leur présence locale demeure ambiguë (Labrecque et Cayouette, 2006 ; de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021 ; Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2022). Néanmoins, la présence historique de *B. spathulatum* au parc a été confirmée grâce à des tests génétiques menés sur des spécimens d'herbier (Dauphin *et al.*, 2017). Outre ces espèces en situation précaire, on retrouve également plusieurs autres espèces de botryches au PNB, comme *B. matricariifolium*, *B. tenebrosum*, *B. simplex*, *B. minganense* (présent en faible effectif), *B. lanceolatum* et *S. multifidum*. Les espèces *B. lunaria* et *B. neolunaria* ont également été répertoriées au Bic (Labrecque *et al.*, 2011) et, bien que la présence de ces espèces ait été confirmée par des tests génétiques (Dauphin *et al.*, 2017), elles n'ont pas été retrouvées depuis 2008 (Labrecque *et al.*, 2011).

Depuis 2019, l'équipe de la Chaire de recherche du Canada en biologie intégrative de la flore nordique étudie les botryches du PNB, produit des rapports et fournit des recommandations dans le but d'assurer leur conservation. Les inventaires généraux des trois dernières années ont permis de recenser les espèces présentes sur le territoire du PNB et de dénombrer le nombre de tiges émergées pour chaque espèce dans les différentes colonies. Ce suivi général a mis en évidence une grande variabilité interannuelle des effectifs de botryches. Par exemple, en 2019, 1107 individus émergés ont été dénombrés (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2020) alors qu'en 2020, cet estimé n'atteignait que 602 (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Cependant, en 2022, le nombre de sporophytes émergés remontait à 1258 individus (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2022). Selon de Lafontaine et Ducharme-Martin (2021), ces fluctuations pourraient être causées

par la dormance de certains individus lors de conditions météorologiques adverses. En effet, la chute draconienne des effectifs de botryches en 2020 était associée à une sécheresse printanière particulièrement importante la même année (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021).

Le protocole de l'inventaire général permet de bien documenter les fluctuations de l'effectif total au PNB, mais n'a pas été conçu pour étudier la trajectoire démographique des colonies (les processus de recrutement, dormance, mortalité) puisqu'il ne permet pas de suivre les mêmes individus au fil du temps. Étant donné la difficulté à trouver et à identifier les botryches, ce protocole de suivi général demeure sensible aux biais d'échantillonnage. Ce problème s'avère particulièrement important aux sites où l'effort d'échantillonnage demeure insuffisant pour couvrir toute la superficie de la colonie. Par exemple, alors que l'effectif a fluctué partout au PNB, le nombre d'individus inventoriés au site 2007-3 (secteur Rioux, Baie du Ha ! Ha !) n'a cessé de croître annuellement alors que l'équipe se familiarisait avec les zones où les botryches étaient présents en plus grande abondance.

La variabilité morphologique interannuelle peut également se révéler problématique pour l'identification des espèces rares. En effet, seuls quelques individus de *B. spathulatum* et *B. lineare* ont été trouvés entre 2019 et 2021 (6 individus ressemblant à *B. spathulatum* et 3 ressemblant à *B. lineare* en 2020 (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021) ; 12 ressemblant à *B. spathulatum* et 18 individus ressemblant à *B. lineare* en 2021 (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2022). Bien que ces individus correspondent à la description morphologique de ces espèces, il demeure possible qu'il s'agisse d'identifications erronées. Des travaux menés sur les plantes du complexe *B. matricariifolium* indiquent que la variabilité morphologique intraspécifique peut être plus importante que la variabilité morphologique interspécifique chez les plantes du genre *Botrychium* (Williams *et al.*, 2016). Le suivi de certains individus a également montré que la morphologie du trophophore, le principal organe utilisé pour l'identification des botryches, varie considérablement entre les années (Williams et Waller, 2015). Une telle variabilité, à la fois intraspécifique et intra-individuelle, peut se révéler problématique dans un contexte de conservation, car elle empêche le dénombrement précis du nombre d'individus appartenant à des espèces en situation précaire. Dans le cas où seulement quelques individus appartenant à de telles espèces sont présents sur le territoire, cela peut rapidement biaiser (surestimer ou sous-estimer) le nombre d'espèces en situation précaire et leurs effectifs respectifs.

Plusieurs espèces de botryches peuvent faire de la dormance végétative, un phénomène d'évitement pendant lequel aucune structure aérienne n'est produite durant une ou plusieurs saisons de croissance, bien que l'individu enfoui dans le sol soit toujours vivant. La possibilité de dormance pourrait biaiser l'estimation de l'effectif réel des colonies, car les individus dormants sont vivants, mais alors impossibles à inventorier lors d'un relevé annuel. La dormance complique également les inférences portant sur la trajectoire démographique des colonies. En effet, la mortalité peut être confondue avec l'entrée en dormance des individus et, inversement, le recrutement peut être confondu avec une sortie de la dormance. Aux fins de la conservation, il est pourtant essentiel de bien quantifier les processus démographiques tels que la mortalité et le recrutement pour savoir si les colonies sont en croissance, stables ou en déclin.

En 2021, un protocole de suivi individuel annuel a été mis en place pour permettre d'évaluer la trajectoire démographique des colonies de botryches et compléter l'inventaire général, qui sera désormais effectué aux 2 à 5 ans (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2022). Ainsi, la saison de croissance 2022 marque la deuxième année du suivi individuel. Cette année a été caractérisée par de fortes précipitations au printemps. En effet, il s'agit de la première année depuis le début du suivi par la Chaire de recherche du Canada en biologie intégrative de la flore nordique où l'abondance des précipitations printanières (du 1^{er} mai au 26 juin) se situe au-dessus de la moyenne historique (164 mm en 2022 alors que la moyenne est 144 mm). Si, comme suggéré dans les derniers rapports (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021 ; Ducharme-Martin et de Lafontaine 2022), le régime de précipitations printanières a bien un effet sur l'émergence des botryches, on peut s'attendre à observer une augmentation du nombre de sporophytes de botryches dans les placettes-échantillons par rapport à 2021 (**Prédiction 1**). En 2020, les individus étaient particulièrement petits et endommagés en raison de la sécheresse. En considérant que les précipitations printanières de 2021 étaient aussi en-dessous des moyennes historiques alors qu'elles étaient supérieures à la moyenne en 2022, les botryches devraient avoir augmenté de taille depuis l'année dernière, en plus d'être en meilleur état (moins d'individus flétris) (**Prédiction 2**). Ces effets (augmentation du nombre et de la taille) devraient être plus importants dans les parcelles-échantillons en milieu ouvert que dans celles sous un couvert forestier, car le couvert pourrait atténuer l'impact des conditions de sécheresses printanières (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). On s'attend donc à observer moins de dormance dans les microsites ombragés. Donc, par rapport à l'échantillonnage de 2021, ceci devrait se traduire par une plus forte proportion de

réémergence des botryches et une moins grande proportion de nouvelles émergences dans les parcelles-échantillons sous couvert forestier que dans celles en pleine lumière (**Prédiction 3**). Finalement, comme les patrons de dormance peuvent varier entre les espèces (Lesica et Ahlenslager, 1996), on devrait s'attendre à observer des changements de composition, de richesse et de diversité spécifique dans les colonies de botryches par rapport à 2021 (**Prédiction 4**).

Matériel et méthodes

Entre le 16 et le 22 juin 2022, 28 des 30 parcelles installées en 2021 ont été revisités. La parcelle 14 est située à Pointe-au-Père et ne compte qu'un seul individu (n°164), il n'a donc pas été jugé nécessaire de le revisiter cette année puisque l'étude porte essentiellement sur les botryches au PNB. La parcelle 20 (site 2019-6, secteur de l'Anse à Wilson) est une colonie linéaire située sous une clôture de bois, entre un sentier pédestre et une piste cyclable. Contrairement aux autres parcelles-échantillons, les médaillons (identifiants uniques) sont cloués dans la clôture de bois et ne sont pas situés immédiatement à proximité des botryches, ce qui augmente le risque de confondre les individus d'une année à l'autre. De plus, l'emplacement est prisé par les visiteurs du parc, ce qui complique considérablement la circulation de l'équipe et sa capacité à exécuter des opérations sur ce site d'étude en plus de limiter la possibilité d'ajouter de nouveaux médaillons susceptibles d'attirer l'attention des visiteurs. Cette parcelle atypique a donc été abandonnée du protocole de suivi démographique, mais le site 2019-6 continuera toutefois d'être visité lors du suivi général. Ainsi, les individus marqués entre 203 et 216 sont dorénavant exclus du suivi démographique.

Pour chaque identifiant unique (médaillon métallique) correspondant à un individu marqué en 2021, le statut du botryche associé a été noté pour l'année 2022 (émergé ou non émergé en 2022). Chaque botryche émergé pour lequel il n'y avait aucun médaillon à proximité a été considéré comme « nouvellement émergé » et un nouveau médaillon (numéroté entre 420 à 758) a été installé. Lorsque deux individus émergés se trouvaient à proximité mais qu'il n'y avait qu'un seul médaillon, le plus grand de ces deux individus était considéré comme celui ayant émergé en 2021 et le plus petit comme celui nouvellement émergé. Les deux médaillons (l'ancien et le nouveau) étaient alors installés sur le même clou. Tous les individus émergés ont été identifiés à l'espèce (indépendamment de l'identification effectuée en 2021) à l'aide des clés dichotomiques de

Cayouette (2001) et de Farrar (2011). Lorsque l'identification était incertaine, la mention *cf.* (*confer*) était ajoutée devant l'identification problématique pour indiquer le doute (le spécimen ressemble à l'espèce à laquelle on réfère, sans toutefois en avoir toutes les caractéristiques diagnostiques). Les botryches impossibles à identifier ont été désignés *Botrychium* sp. Des mesures morphologiques ont été prises à l'aide d'une règle de 30 cm (hauteur, largeur, longueur et tige du trophophore; hauteur, longueur et tige du sporophore) suivant le protocole établi par Ducharme-Martin et de Lafontaine (2022). Chacun de ces individus a été pris en photo devant un fond noir uniforme muni d'un ruban gradué en cm servant d'échelle. Certaines remarques additionnelles étaient parfois notées (p.ex., tige sectionnée, botryche endommagé ou desséché).

Analyse des données

Les photos datant de 2021 et 2022 ont été triées et renommées à l'aide d'un programme Python (Van Rossum et Drake, 1995). Chaque photo a été renommée sous le format « *N° de médaille_Année_N° de photo.jpeg* ». Sur chaque photo, le N° de médaille, l'identification, l'année et le N° de photo ont été inscrits grâce au module *Pillow* (Clark, 2015). Les photos ont été observées une par une pour détecter des signes de dommages sur les botryches (taches brunes, trophophore et sporophore sectionné ou endommagé, tige sectionnée). La présence ou l'absence de détérioration était notée de manière binaire.

Toutes les analyses statistiques et représentations graphiques ont été réalisées dans la suite R 4.1.2 (R Core Team, 2021). Les compositions spécifiques de 2022 et 2021 (toutes parcelles confondues) ont d'abord été comparées à l'aide d'un test du khi-carré. Puis, les indices de diversité de Simpson et de Shannon ont été calculés pour chaque parcelle et chaque année à l'aide de la bibliothèque R *vegan* (Oksanen *et al.*, 2022). Pour chacun de ces indices de diversité, un test de Student bilatéral pairé par parcelle a été réalisé afin de comparer la diversité entre 2021 et 2022. Enfin, un tableau de contingence, contenant les transitions des identifications entre 2021 et 2022 a été réalisé. Cette analyse a révélé que les identifications de certaines espèces étaient problématiques puisqu'elles variaient significativement entre 2021 et 2022 (voir la section *Résultats*) ; ces espèces ont donc été regroupées en complexe (le complexe *matricariifolium/michiganense* et le complexe *simplex/tenebrosum*) pour faciliter l'interprétation des analyses subséquentes. Pour toutes les analyses, les mentions *cf.* ont été ignorées.

Afin de comparer l'abondance des botryches émergés entre 2021 et 2022, un test de Student unilatéral (hypothèse alternative : $Nombre_{2022} - Nombre_{2021} > 0$) pairé par parcelle a été réalisé. Les botryches émergés en 2022 suivent deux modalités : soit ils ont déjà été répertoriés en 2021 (réémergences), soit ils sont enregistrés pour la première fois en 2022 (nouvelles émergences). Les proportions de réémergences et de nouvelles émergences ont donc été calculées (nombre correspondant à chacune de ces catégories/nombre total de botryches émergés en 2022). Afin de comparer cette étude avec celles réalisées chez d'autres espèces (Montgomery, 1990 ; Muller, 1993 ; Lesica et Ahlenslager, 1996 ; Mesipuu et Shefferson, 2009 ; Williams, 2015), la proportion de botryches réémergés a aussi été calculée par rapport à 2021 comme année de référence (nombre de botryches réémergés en 2022/nombre total de botryches émergés en 2021). Certaines espèces pourraient aussi réémerger davantage que d'autres (Lesica et Ahlenslager, 1996). Un test de khi-carré a donc été effectué pour comparer les proportions de résurgence des différentes espèces. Les identifications utilisées étaient celles datant de 2021, car seuls les individus ayant réémergé ont pu être effectivement réidentifiés en 2022.

Afin de vérifier si les individus étaient plus grands en 2022 qu'en 2021, un test de Student unilatéral (Hypothèse alternative : $\mu_{2022} - \mu_{2021} > 0$) pairé par individu a été réalisé pour chacune des mesures prises en 2021 et en 2022 (hauteur, largeur, longueur et tige du trophophore; hauteur et longueur du sporophore). Pour inclure les individus nouvellement émergés, des moyennes par parcelle ont été calculées pour chacune de ces mesures et un test de Student unilatéral (Hypothèse alternative : $\mu_{2022} - \mu_{2021} > 0$) pairé par parcelle a été effectué.

Pour évaluer si les individus étaient moins endommagés en 2022 qu'en 2021, la proportion de botryches endommagés par parcelle pour chacune de ces années a été comparée grâce à un test de Student unilatéral (Hypothèse alternative : $Prop_{2022} - Prop_{2021} < 0$) pairé par parcelle. La proportion d'individus endommagés pourrait être plus élevée chez certaines espèces que chez d'autres. Ainsi, la proportion de botryches endommagés a été comparée entre les espèces grâce à un test du khi-carré. Les botryches non-identifiables (*Botrychium* sp.) ont été retirés de cette analyse étant donné le rapport de causalité évident qu'il existe entre la détérioration du trophophore et l'impossibilité d'identifier un individu. La proportion de *Botrychium* sp. par parcelle a également été comparée entre 2021 et 2022 grâce à un test de Student unilatéral (Hypothèse alternative $Prop_{2022} - Prop_{2021} < 0$) pairé par parcelle.

Certaines variables microenvironnementales mesurées dans les parcelles (pourcentage de couverture forestière, couvert herbacé, muscinal et lichénique, arbustif et arborescent, hauteur de la végétation et pH) pourraient influencer le nombre, la proportion de réémergence ou de nouvelles émergences et la morphologie des botryches. Ainsi, pour chacune de ces variables dépendantes, un modèle linéaire complet a été réalisé avec toutes les variables microenvironnementales (mesurées en 2021, Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2022) comme variables indépendantes. Lorsque le modèle complet était significatif, toutes les variables dont la pente partielle n'était pas significativement différente de 0 (test de Student) étaient retirées, pour créer un modèle réduit comportant uniquement les variables dont les pentes partielles étaient différentes de 0. Si le modèle complet n'était pas significatif, aucune variable n'était retenue. Les postulats de colinéarité et de normalité des résidus ont été vérifiés pour chacun de ces modèles grâce à la bibliothèque R *performance* (Lüdecke *et al.*, 2021). Étant donné que le couvert forestier était la seule variable influençant les caractéristiques démographiques des botryches (voir la section *Résultats*), les parcelles ont été divisées en trois classes selon leur type de couvert : les parcelles ouvertes (0% de couverture), les parcelles semi-couvertes (1-50% de couverture) et les parcelles couvertes (51-100% de couverture). Cette classification a permis d'explorer si la différence de taille du sporophyte entre 2021 et 2022 variait selon le type de couvert. À cette fin, pour chaque mesure morphologique, une ANOVA a été effectuée, avec la différence de mesure du sporophyte entre 2021 et 2022 comme variable dépendante et le type de couvert comme variable indépendante. Lorsque significatif, ce test était suivi d'une comparaison multiple de Tukey.

Si la dormance chez les botryches est induite par un manque de ressources, les individus plus petits ou endommagés pourraient être plus propices à entrer en dormance (Lesica et Crone, 2007). La capacité à réémerger à l'année $i+1$ pourrait donc dépendre de la taille ou de l'état (endommagé ou non) à l'an i . Pour vérifier si la taille des individus de l'année 2021 a une influence sur l'émergence (ou non) des botryches en 2022, une régression logistique a été effectuée avec l'émergence en 2022 comme variable dépendante binaire et les différentes mesures morphologiques de 2021 (hauteur du trophophore, largeur du trophophore, longueur du trophophore, tige du trophophore, tige du sporophore, hauteur du sporophore, longueur du sporophore) comme variables indépendantes. Les postulats d'application du modèle ont été vérifiés à l'aide de la librairie R *performance*. La hauteur du sporophore a été éliminée du modèle, car elle était colinéaire avec la hauteur du trophophore. Les variables dont la p-valeur était la plus élevée

ont progressivement été enlevées, jusqu'à l'obtention d'un modèle comportant uniquement des variables marginalement significatives ($P < 0,10$). Le modèle ainsi obtenu a été comparé avec le modèle incluant toutes les variables (à l'exception de la hauteur du sporophore) grâce à un test de ratio de vraisemblance (*likelihood ratio test*) afin de déterminer si ce modèle était significativement différent du modèle complet. Le modèle complet et le modèle simplifié ont également été comparés avec un modèle nul (ne comportant aucune variable indépendante). Pour voir si les botryches endommagés, brisés ou flétris en 2021 avaient moins de chances de réémerger en 2022, un test du khi-carré a été effectué. Ce test a permis de déterminer si la probabilité qu'un individu émerge sachant qu'il était endommagé en 2021 était différente de la probabilité qu'un individu émerge sachant qu'il était intact en 2021.

Résultats

De manière générale, la composition spécifique a peu changé entre 2021 et 2022 (Figures 1 et 2). On note néanmoins une plus grande proportion de botryches identifiés comme *B. tenebrosum* et *B. pallidum* et une diminution de la proportion de *B. simplex* (Figures 1 et 2B). Ces changements de proportions ne reflètent toutefois pas forcément une réalité biologique, mais témoignent probablement surtout d'un changement dans les identifications effectuées par l'équipe d'échantillonnage. En effet, *B. tenebrosum* était jusqu'à très récemment considéré comme une variété de *B. simplex* (Farrar, 2011 ; Dauphin *et al.*, 2017) et la distinction entre les deux espèces n'avait pas été faite dans les rapports des années précédentes (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Effectivement, en regroupant ensemble les paires de taxa appartenant à un même complexe d'espèces (*matricariifolium/michiganense* et *tenebrosum/simplex*) et en excluant les *Botrychium* sp., aucun changement significatif dans la composition des botryches du Bic n'est observé entre les deux années ($\chi^2 = 10,08$, $df = 6$, $P = 0,12$; Figure 2B). La diversité par parcelle n'a d'ailleurs pas changé entre 2021 et 2022 (Shannon : $t_{obs} = 0,62$, $df = 27$, $P = 0,27$; Simpson : $t_{obs} = -0,04$, $df = 27$, $P = 0,52$; Figure 2A). La proportion de botryches non-identifiables (*Botrychium* sp.) par parcelle a cependant diminué par rapport à 2021 ($t_{obs} = -5,14$, $df = 27$, $P < 0,001$; Figure 2B).

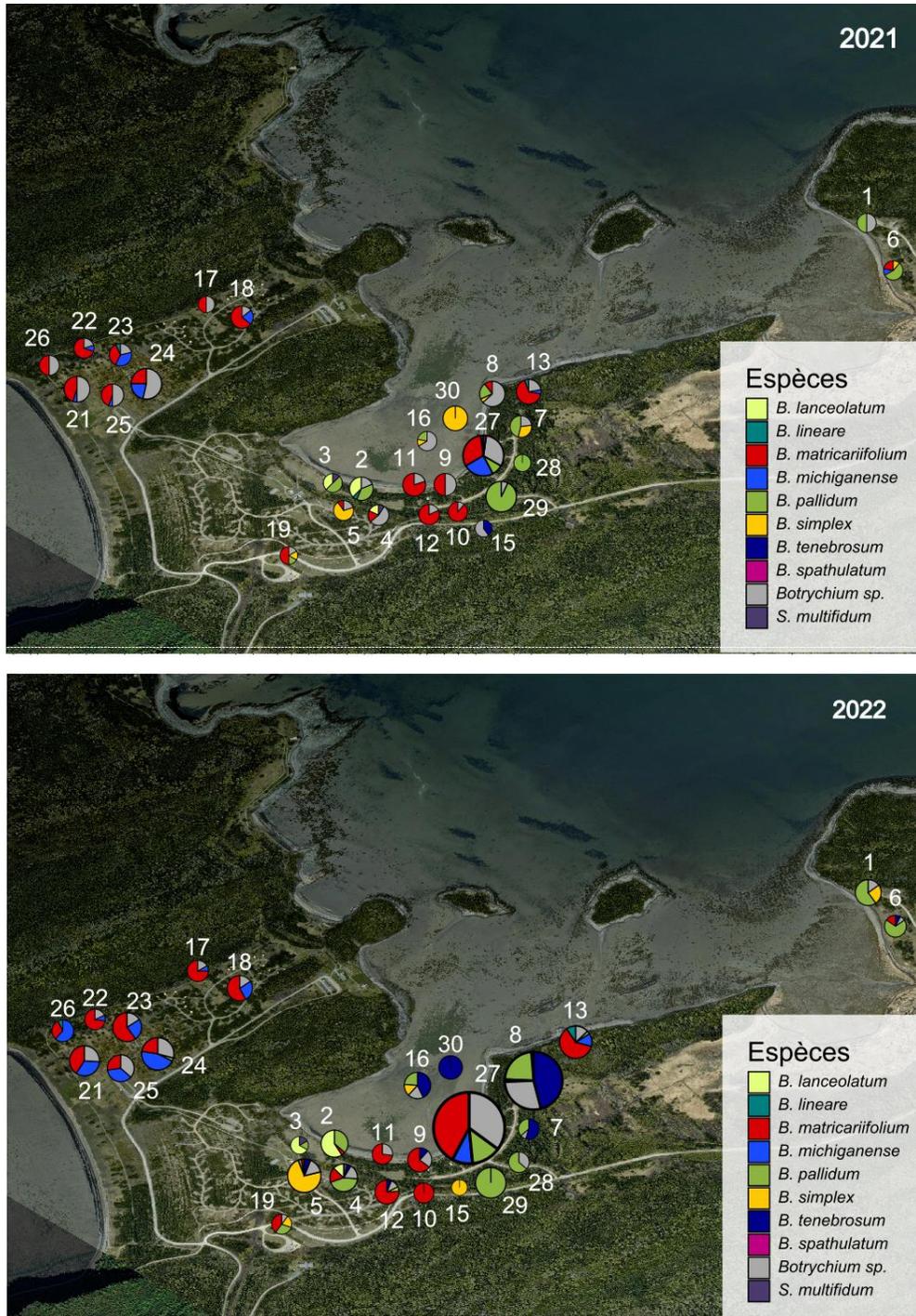


Figure 1. Abondance relative des différentes espèces de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) répertoriées aux 28 parcelles-échantillons du parc national du Bic en 2021 et en 2022. La taille des diagrammes circulaires est proportionnelle au nombre de sporophytes émergés. L'emplacement des parcelles est approximatif sur la figure, mais leurs coordonnées géographiques exactes sont indiquées dans Ducharme-Martin et de Lafontaine (2022).

Tableau 1. Matrice de transition représentant les changements d'identification entre 2021 et 2022 pour les différentes espèces de botryches (*Botrychium* et *Sceptridium*) du parc national du Bic. Le nombre de changements d'identification est indiquée entre les parenthèses. Les identifications confirmées sont représentées en gras.

	2021									
	<i>B. matricariifolium</i>	<i>B. michiganense</i>	<i>B. simplex</i>	<i>B. pallidum</i>	<i>B. tenebrosum</i>	<i>B. lanceolatum</i>	<i>Botrychium sp.</i>	<i>B. lineare</i>	<i>B. spathulatum</i>	<i>S. multifidum</i>
<i>B. matricariifolium</i>	74% (60)	50% (12)	0	0	0	9% (1)	27% (25)	33% (1)	100% (1)	0
<i>B. michiganense</i>	14% (11)	38% (9)	0	0	0	0	21% (19)	33% (1)	0	0
<i>B. simplex</i>	0	0	28% (7)	0	100% (2)	0	3% (3)	0	0	0
<i>B. pallidum</i>	4% (3)	0	0	85% (47)	0	9% (1)	15% (14)	0	0	0
2022 <i>B. tenebrosum</i>	0	0	72% (18)	4% (2)	0	0	5% (5)	0	0	0
<i>B. lanceolatum</i>	0	0	0	2% (1)	0	82% (9)	2% (2)	33% (1)	0	0
<i>Botrychium sp.</i>	9% (7)	12% (3)	0	9% (5)	0	0	22% (20)	0	0	0
<i>B. lineare</i>	0	0	0	0	0	0	3% (3)	0	0	0
<i>B. spathulatum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>S. multifidum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100% (2)

Bien que globalement les proportions de chaque espèce demeurent stables, les identifications taxonomiques ont changé considérablement entre les deux années de suivi. Au total, près de la moitié (48%) des individus réémergés étaient identifiés différemment en 2022 par rapport à 2021. Une grande partie de ces changements reflète les botryches mal formés, endommagés, desséchés ou de petite taille qui étaient virtuellement impossibles à identifier (*Botrychium sp.*) en 2021 mais qui ont finalement pu être identifiés en 2022 (Tableau 1). On remarque aussi beaucoup de changements d'identification entre *B. matricariifolium* et *B. michiganense* et entre *B. simplex* et *B. tenebrosum*, ce qui justifie de regrouper ces paires d'espèces en complexes *matricariifolium/michiganense* et *simplex/tenebrosum* dans les analyses subséquentes. Seulement 38% des *B. michiganense* identifiés en 2021 ont été confirmés en 2022, alors que 50% ont été réidentifiés comme *B. matricariifolium*. À l'inverse, 74% des *B. matricariifolium* identifiés en 2021 ont été confirmés en 2022, alors que 14% ont été réidentifiés comme *B. michiganense*. Pour *B. simplex*, 27% des identifications ont pu être confirmées et tous les autres individus ont été réidentifiés comme *B. tenebrosum* en 2022. Aucune identification des espèces peu abondantes en 2021 (*B. lineare*, *B. spathulatum* et *B. tenebrosum*) n'a pu être confirmée en 2022. Les quelques « *B. lineare* » de 2021 étaient plutôt réidentifiés comme *B. matricariifolium*, *B. michiganense* ou *B. lanceolatum* (Annexe 1). Le seul individu de « *B. spathulatum* » a été réidentifié comme *B. matricariifolium* (Annexe 2) et les deux individus de « *B. tenebrosum* » ont été réidentifiés en tant que *B. simplex*. *S. multifidum*, *B. pallidum* et *B. matricariifolium* ont généralement été confirmés (100%, 85% et 74% de confirmation, respectivement ; Tableau 1)

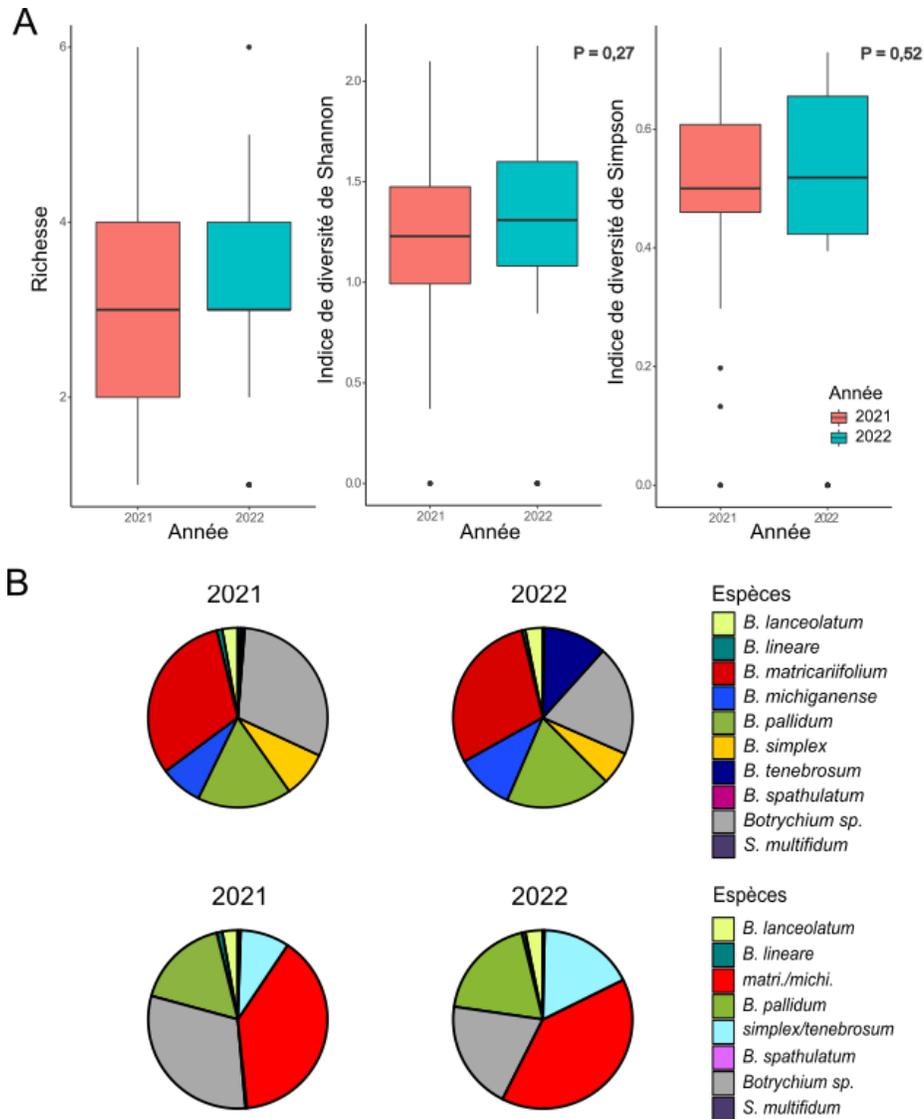


Figure 2. Diversité spécifique des botryches au Parc national du Bic en 2021 et en 2022. (A) Comparaison de la richesse, de l'indice de diversité de Shannon et de l'indice de diversité de Simpson dans les 28 parcelles-échantillons entre 2021 et 2022. (B) Composition spécifique des botryches répertoriés pour l'ensemble des parcelles-échantillons en 2021 et en 2022. Les espèces sont représentées individuellement dans la rangée du haut alors que certains taxa sont regroupés en complexes (*matricariifolium/michiganense* [*matri./michi.*] et *simplex/tenebrosum*) dans la rangée du bas.

Au total, le nombre de sporophytes émergés dans les parcelles-échantillons était plus élevé en 2022 qu'en 2021 ($t_{obs} = 3,20$, $df = 27$, $P < 0,001$; Figure 3A). Des 395 médaillons qui avaient été installés en 2021, 13 n'ont pas été retrouvés en 2022. Aussi, 339 médaillons marquant individuellement les nouvelles émergences ont été ajoutés en 2022. La base de données inclut donc

actuellement un total de 721 sporophytes qui ont été marqués et qui seront revisités annuellement. De tous ces individus échantillonnés en 2022 (émergés ou non), près de la moitié (46%) correspondent à de nouvelles émergences. (Figure 3B). L'autre moitié se divise en trois catégories : les réémergés, les non-émergés et les non-retrouvés. En considérant seulement les individus qui avaient émergé en 2021 et en excluant les non-retrouvés, on obtient 77% de réémergence et 23% de non-émergence. Toutes les espèces ont réémergé dans les mêmes proportions ($\chi^2 = 9,49$, $df = 10$, $P = 0,19$), même lorsqu'elles étaient regroupées en complexe (*matricariifolium/michiganense* et *simplex/tenebrosum*) ($\chi^2 = 8$, $df = 8$, $P = 0,43$).

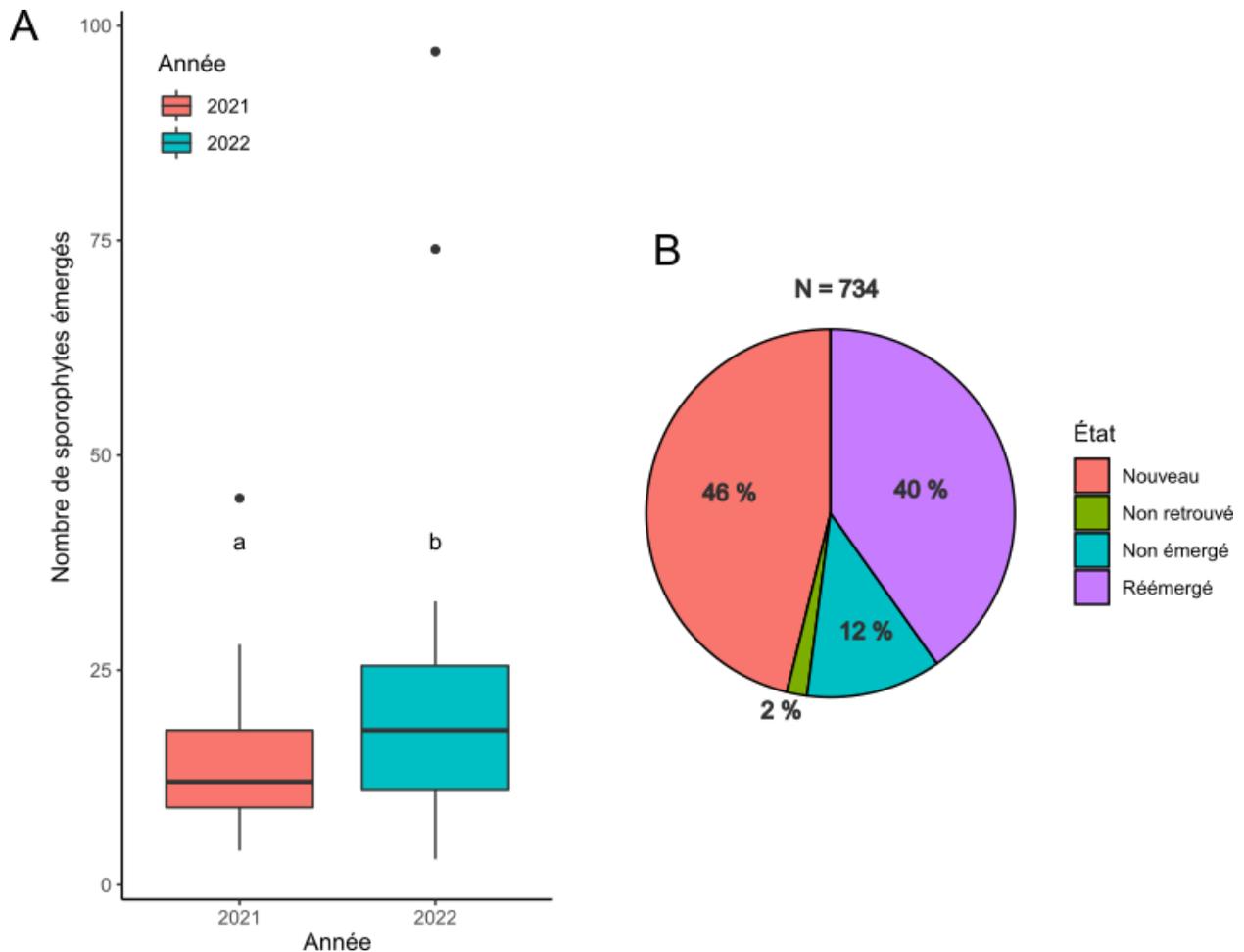


Figure 3. Caractéristiques démographiques des botryches du parc national du Bic en 2021 et en 2022. (A) Comparaison du nombre de sporophytes émergés entre 2021 et 2022. La différence significative ($P < 0.05$) est indiquée par les lettres a et b. (B) Proportion des individus appartenant à chaque classe démographique en 2022.

La morphologie a changé entre les deux années de suivi (Figure 4). En moyenne, chaque individu avait un trophophore plus haut ($t_{obs} = 7,31$, $df = 239$, $P < 0,001$), plus long ($t_{obs} = 3,42$, $df = 231$, $P < 0,001$) et une tige plus longue ($t_{obs} = 2,37$, $df = 233$, $P = 0,009$) en 2022 par rapport à 2021. Le sporophore était aussi plus haut ($t_{obs} = 4,76$, $df = 245$, $P < 0,001$). En revanche, le trophophore n'était pas plus large ($t_{obs} = 0,89$, $df = 210$, $P = 0,19$) et le sporophore et sa tige n'étaient pas plus longs (longueur du sporophore : $t_{obs} = 1,19$, $df = 240$, $P = 0,12$; tige du sporophore : $t_{obs} = -1,49$, $df = 239$, $P = 0,93$). En considérant les moyennes par parcelles, ce qui permet d'inclure également la morphologie des nouvelles émergences (2022) dans l'analyse, seule la hauteur du trophophore était plus importante en 2022 ($t_{obs} = 1,90$, $df = 26$, $P = 0,03$; Figure 4). Les botryches étaient moins endommagés en 2022 qu'en 2021 ($t_{obs} = 3,10$, $df = 27$, $P < 0,001$) et aucune espèce n'était significativement plus ou moins endommagée par rapport aux autres ($\chi^2 = 14,35$, $df = 9$, $P = 0,11$).

Les variables microenvironnementales considérées dans les modèles ne contribuent peu ou pas à expliquer la différence entre les parcelles quant à la proportion de réémergence et de nouvelles émergences ($P > 0,05$; Tableau 2). Le modèle tentant d'expliquer la proportion de sporophytes n'ayant pas réémergé dans chaque parcelle n'était pas significatif, ce qui suggère que la différence de réémergence des botryches entre les parcelles est sous l'influence d'autres variables microenvironnementales non-considérées (ou sous l'influence d'aucune variable microenvironnementale). Par ailleurs, seul le pourcentage de couverture de la canopée contribue à expliquer les différentes proportions de nouvelles émergences entre les parcelles ($P < 0,05$; Tableau 2). La relation négative entre le couvert forestier et la proportion de nouvelles émergences indique que, lors d'un printemps pluvieux, plus le couvert est important, moins les conditions sont propices à de nouvelles émergences dans la parcelle. La morphologie moyenne des botryches dans une parcelle n'est pas prédite par les variables microenvironnementales considérées dans le modèle ($P > 0,05$; Tableau 3). Ainsi, aucune des variables microenvironnementales mesurées ne contribue à expliquer les différences moyennes de la morphologie des botryches entre les parcelles.

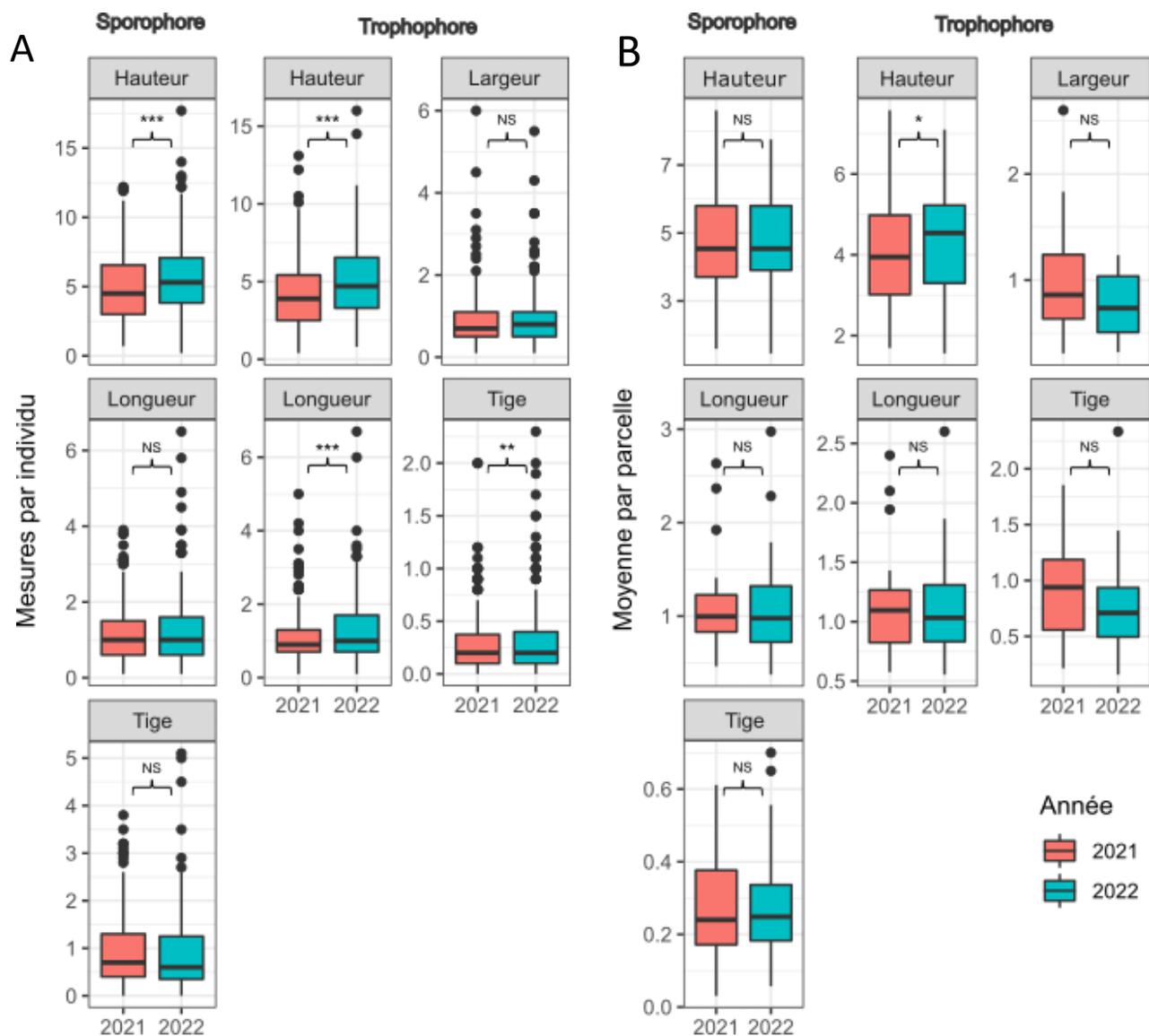


Figure 4. Comparaison de la morphologie des botryches du parc national du Bic entre 2021 et 2022. (A) Comparaison de la morphologie des individus entre 2021 et 2022. (B) Comparaison des moyennes par parcelle entre 2021 et 2022. Les astérisques désignent le niveau de significativité (* : significatif ($P < 0,05$), ** : très significatif ($P < 0,01$), *** : très hautement significatif ($P < 0,001$), NS : Non significatif ($P > 0,05$)).

Tableau 2. Influence des variables microenvironnementales (couvert forestier, pH, hauteur de la végétation, couverture muscinale et lichénique, arbustive et arborescente, herbacée et de litière) sur les caractéristiques démographiques des botryches du parc national du Bic. Pour chaque caractéristique démographique (taux de non-émergence et de nouvelles émergences par parcelle), une régression multiple a été effectuée avec toutes les variables microenvironnementales comme variables indépendantes. Les modèles et variables significatifs ($P < 0,05$) sont indiqués en gras.

	Intercept	Couvert	pH	Hauteur végétation	Mousse et lichens	Végétation arbustive	Végétation herbacée	Litière		
Taux de non émergence	0,911 ± 1,102	0,002 ± 0,002	-0,123 ± 0,144	0,008 ± 0,005	-0,001 ± 0,004	0,001 ± 0,002	-0,002 ± 0,003	0,000 ± 0,002	$F_{[7,19]} = 0,775$	$P = 0,615$
Nouvelles émergences	0,428 ± 0,918	-0,003 ± 0,002	-0,042 ± 0,120	-0,003 ± 0,004	0,001 ± 0,003	0,000 ± 0,002	0,004 ± 0,002	0,003 ± 0,002	$F_{[7,19]} = 3,039$	$P = 0,025$

Tableau 3. Influence des variables environnementales (couvert forestier, pH, hauteur de la végétation, couverture muscinale et lichénique, arbustive et arborescente, herbacée et de litière) sur la morphologie des botryches du parc national du Bic en 2021 et en 2022. Pour chaque mesure morphologique (moyenne par parcelle), une régression linéaire multiple a été effectuée avec toutes les variables environnementales comme variables indépendantes. Aucun modèle n’était significatif ($P > 0,05$).

	Trophophore				Sporophore		
	Hauteur	Largeur	Longueur	Tige	Hauteur	Longueur	Tige
2021	$F_{[7,18]} = 1,38$ $P = 0,27$	$F_{[7,18]} = 0,91$ $P = 0,52$	$F_{[7,19]} = 1,97$ $P = 0,11$	$F_{[7,18]} = 0,75$ $P = 0,63$	$F_{[7,19]} = 1,18$ $P = 0,36$	$F_{[7,19]} = 0,98$ $P = 0,47$	$F_{[7,19]} = 1,19$ $P = 0,35$
2022	$F_{[7,19]} = 1,32$ $P = 0,30$	$F_{[7,19]} = 1,43$ $P = 0,25$	$F_{[7,19]} = 1,89$ $P = 0,13$	$F_{[7,19]} = 1,33$ $P = 0,29$	$F_{[7,19]} = 1,02$ $P = 0,45$	$F_{[7,19]} = 1,24$ $P = 0,33$	$F_{[7,19]} = 1,82$ $P = 0,14$

La présence d’un couvert forestier au-dessus de la parcelle influence toutefois la différence morphologique interannuelle des botryches. L’augmentation de la taille des individus entre 2021 et 2022 était moins marquée dans les parcelles couvertes que dans les parcelles semi-couvertes ou ouvertes. L’analyse suggère même une diminution de la taille des botryches dans les parcelles couvertes (Figure 5). Ainsi, pour la hauteur, la longueur et la largeur du trophophore de même que pour la hauteur et la longueur du sporophore, deux groupes se distinguent clairement : les parcelles couvertes et les parcelles ouvertes/semi-couvertes ($P < 0,05$). Dans les parcelles couvertes, on observe une stabilité, voire une diminution de la taille par rapport à 2021, tandis que dans les parcelles ouvertes/semi-couvertes, on observe une augmentation de la taille. Pour les autres mesures (tige du sporophore et du trophophore), il n’y aucune différence significative entre les parcelles couvertes, semi-couvertes et ouvertes

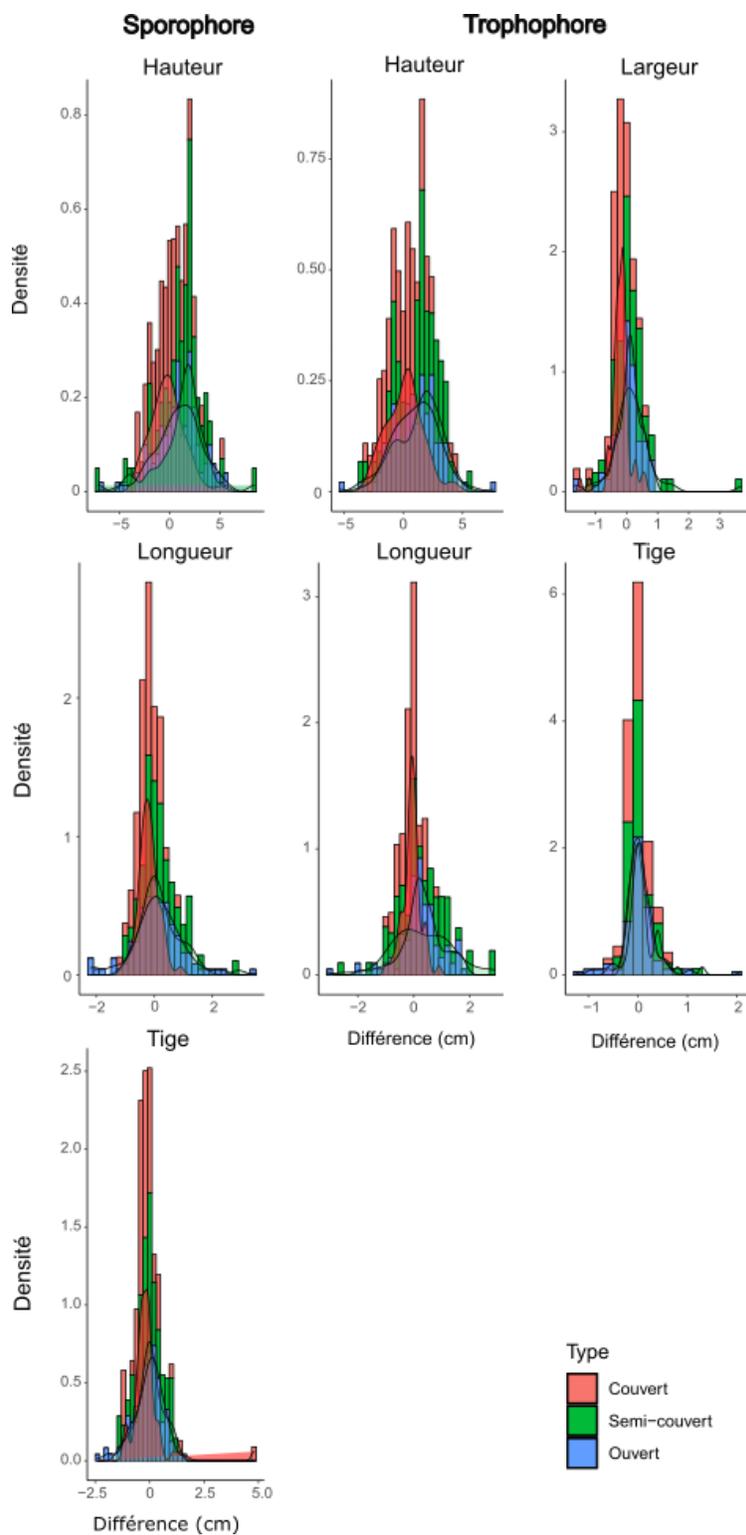


Figure 5. Différences morphologiques entre 2021 et 2022 en fonction de la couverture forestière.

Des modèles de régression logistique ont été réalisés pour déterminer si la taille des botryches en 2021 affectait leur émergence en 2022. Les deux modèles comportant des variables morphologiques (les modèles complet et réduit) étaient meilleurs que le modèle nul pour prédire la probabilité d'émergence à partir de la taille des botryches (Tableau 4). Toutefois, le modèle complet n'était pas significativement différent du modèle nul ($P = 0,61$) et son critère d'information d'Akaike (AIC) était plus élevé, ce qui suggère que la plupart des variables morphologiques incluses n'étaient pas nécessaires pour prédire l'émergence (Tableau 4). La simplification du modèle complet par le retrait progressif des variables a mené à l'obtention d'un modèle réduit n'incluant que trois variables : la hauteur du trophophore, la tige du trophophore et la tige du sporophore. De ces trois variables, la hauteur du trophophore était significative ($P < 0,05$), alors que les deux autres étaient marginalement significatives ($P < 0,07$). La hauteur du trophophore et la tige du trophophore figuraient également comme variables significatives dans le modèle complet, ce qui corrobore leur importance pour prédire l'émergence des botryches. Selon le modèle réduit, un trophophore haut et une tige longue augmenteraient la probabilité de réémerger à l'année suivante, tandis qu'une tige du sporophore courte diminuerait cette probabilité. Les botryches qui étaient endommagées en 2021 n'avaient pas plus de probabilité de rester sous terre en 2022 ($\chi^2 = 1,30$, $df = 1$, $P = 0,26$).

Tableau 4. Influence de la morphologie en 2021 sur la probabilité de réémergence en 2022. Les variables significatives ($P < 0,05$) sont indiquées en gras. Les variables marginalement significatives ($P < 0,10$) sont soulignées.

	Coefficient	Écart-type	z	P-valeur	AIC	Déviance résiduelle	Comparaison avec le modèle nul (P-valeur)
Modèle complet					289,17	275,17	<u>0,061</u>
Ordonnée à l'origine	<u>0,624</u>	<u>0,358</u>	<u>1,744</u>	<u>0,081</u>			
Hauteur du trophophore (cm)	0,233	0,111	2,094	0,036			
Largeur du trophophore (cm)	-0,607	0,480	-1,266	0,206			
Longueur du trophophore (cm)	0,370	0,343	-1,078	0,281			
Tige du trophophore (cm)	1,822	0,877	2,078	0,038			
Tige du sporophore (cm)	-0,481	0,342	-1,408	0,159			
Longueur du sporophore (cm)	0,544	0,358	1,518	0,129			
Modèle réduit					286,96	278,96	0,044
Ordonnée à l'origine	<u>0,631</u>	<u>0,358</u>	<u>1,761</u>	<u>0,078</u>			
Hauteur du trophophore (cm)	0,179	0,085	2,094	0,036			
Tige du trophophore (cm)	<u>1,617</u>	<u>0,858</u>	<u>1,886</u>	<u>0,059</u>			
Tige du sporophore (cm)	<u>-0,566</u>	<u>0,307</u>	<u>-1,846</u>	<u>0,065</u>			
Modèle nul					289,04	287,04	
Ordonnée à l'origine	1,262	0,146	8,632	<0,001			

Discussion

Prédiction 1. Augmentation du nombre de botryches émergés en 2022 par rapport à 2021

Tel qu'attendu, le nombre de botryches émergés a augmenté en 2022, atteignant presque le double des effectifs enregistrés dans les parcelles en 2021. Ce résultat corrobore l'importante variabilité interannuelle des effectifs de botryches au PNB, phénomène qui avait déjà été observé dans les inventaires généraux depuis 2019 (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2020, 2022 ; de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Cette variation importante pourrait s'expliquer par un fort renouvellement de la population (mortalité et recrutement élevés) ou par des proportions de dormance variables entre les années. Avec seulement deux années de suivi démographique individuel, il n'est toutefois pas possible de distinguer pour l'instant entre les processus de mortalité/recrutement et la dormance, c'est pourquoi on utilise plutôt les termes « nouvelle émergence », « réémergé » et « non-émergé ». Ceci est à prendre en compte dans la comparaison avec les suivis pluriannuels de botryches publiés à ce jour (Montgomery, 1990 ; Muller, 1993 ; Lesica et Ahlenslager, 1996 ; Mesipuu et Shefferson, 2009 ; Williams et Waller, 2015) qui peuvent, quant à eux, estimer la dormance, la mortalité et le recrutement. La comparaison avec ces études s'affinera donc au cours des prochaines années du suivi, alors qu'il deviendra possible de distinguer entre les processus de dormance et de mortalité/recrutement.

Pour comparer entre les différentes études, il faut d'abord distinguer les deux sources d'augmentation du nombre de botryches : la sortie de dormance d'individus préétablis et le recrutement de nouveaux individus (natalité), que l'on regroupe ici sous le qualificatif de « nouvelles émergences ». Les nouvelles émergences représentent près de la moitié des botryches émergés au PNB en 2022. Ce nombre, qui peut sembler impressionnant, est en fait similaire à ceux déjà mesurés dans des études comparables. En effet, dans un suivi de 5 ans portant sur *B. matricariifolium*, Muller (1993) rapporte une proportion de nouvelles émergences d'environ 50% chaque année. De manière similaire, Lesica et Ahlenslager (1996) ont mesuré des proportions de recrutement entre 25% et 38% *B. hesperium* et entre 30% et 65% pour *B. paradoxum*¹ au cours d'un suivi sur 6 ans. Dans toutes ces études, il y a donc chaque année une grande proportion d'individus qui émergent pour la première fois, ou du moins qui émergent alors qu'ils n'avaient

¹ Valeurs déterminées à partir de Lesica et Ahlenslager (1996, Fig. 3). Notons qu'il s'agit seulement de la proportion de recrutement et non de la proportion de nouvelles émergences, qui inclut le recrutement et la sortie de dormance.

pas encore été détectés lors des précédentes années du suivi. Il est donc probable que le recrutement (au sens de « première émergence », car le rhizome des botryches qui émergent pour la première fois est déjà établi sous terre depuis 3 à 8 ans ; Ahlenslager et Potash, 2001) joue un rôle important dans la fluctuation interannuelle des effectifs.

De manière similaire, deux processus peuvent expliquer une diminution du nombre de sporophytes émergés : l'entrée en dormance ou la mortalité des individus. Dans le relevé de 2022, ces deux causes de diminution sont regroupées au sein de la catégorie « non-émergé ». Ainsi, seulement 23% des individus qui avaient émergé en 2021 ne sont pas réapparus en 2022. Cette proportion inférieure à celles mesurées dans d'autres études : Muller (1993) rapporte une proportion de non-émergence entre 50 et 60%, alors que Lesica et Ahlenslager (1996) estiment cette proportion entre 34 et 44% pour *B. hesperium* et entre 56 et 76% pour *B. paradoxum*. Avec un protocole similaire au nôtre, Williams et Waller (2015) ont obtenu des proportions de non-émergence d'environ 55%. Cela suggère qu'entre 2021 et 2022, il y a eu relativement peu de mortalité et/ou d'entrée en dormance au PNB. Cette faible proportion de non-émergés pourrait s'expliquer par les précipitations supérieures à la moyenne au PNB au printemps 2022, des conditions favorables ayant conduit à une faible mortalité et/ou une faible dormance. Sur la base de deux années de suivi démographique dans les parcelles, il n'est pas encore possible de distinguer entre l'entrée en dormance et la mortalité. De fait, même lorsque plusieurs années de données sont disponibles, il n'est pas nécessairement trivial de distinguer ces deux processus. En effet, il faut présumer que si les individus n'ont pas été revus pendant plusieurs années, alors ils sont morts (et non en dormance) et déterminer arbitrairement le moment de la mort. Il est impossible de savoir si l'individu est mort immédiatement après sa dernière émergence ou s'il est entré en dormance, puis mort quelques années plus tard sans jamais avoir réémergé. Ces suppositions peuvent éventuellement conduire à des estimations erronées, voire aberrantes, de la proportion de la population dormante (Kéry *et al.*, 2005). De telles sources de biais ne peuvent être évitées qu'en ayant recours à 1) plusieurs années de suivi et 2) des analyses statistiques complexes, comme les analyses de capture/recapture de Cormack-Jolly-Seber ou multi-états (Kéry *et al.*, 2005). Jusqu'à présent, les résultats des suivis à long terme déjà publiés suggèrent que, chez le genre *Botrychium*, la mortalité est la source de diminution des effectifs qui prédomine (Muller, 1993 ; Lesica et Ahlenslager, 1996), mais la méthodologie utilisée dans ces études pourrait surestimer la mortalité et sous-estimer la dormance (voir Kéry *et al.*, 2005).

Un recrutement et une mortalité importantes ne suffisent toutefois pas pour expliquer l'association apparente entre le nombre de botryches et l'abondance des précipitations printanières depuis 2019 au PNB. En effet, une fois que le gamétophyte a été fertilisé, le sporophyte peut mettre entre 3 et 8 ans pour émerger (Ahrensleger et Potash, 2001). Ainsi, même si les pluies printanières augmentaient la probabilité de germination de spores ou de fécondation du gamétophyte, ces effets ne seraient pas visibles avant plusieurs années. Les gamétophytes ou les sporophytes juvéniles souterrains pourraient jouer un rôle analogue à celui des banques de graines chez certains gymnospermes et angiospermes (Johnson-Groh *et al.*, 2002). Ces individus pourraient demeurer sous terre et n'émerger pour la première fois que lorsque les conditions météorologiques leur sont favorables, par exemple lors des printemps particulièrement humides. Cette hypothèse, qui permettrait d'expliquer la fluctuation des effectifs de botryches uniquement par le recrutement et la mortalité, demeure peu explorée, notamment parce que les effets des conditions météorologiques sur les stades de vie souterrains des botryches sont mal connus et difficiles à étudier.

Si elle est avérée sur le long terme, l'association entre l'émergence des sporophytes et l'abondance des précipitations printanières pourrait aussi s'expliquer par la dormance. Chez plusieurs espèces capables de dormance végétative, l'entrée en dormance semble correspondre à des conditions de sécheresse et la sortie de dormance, à un retour de conditions d'humidité adéquates (Kéry *et al.*, 2005 ; Reintal *et al.*, 2010 ; Hawrizky *et al.*, 2011). La vulnérabilité à la sécheresse et son association avec la dormance végétative a été proposée chez *Botrychium campestre* (Anderson et Cariveau, 2003) mais la généralisation de cette association pour d'autres espèces de botryches semble ambiguë pour l'instant sur la base des données empiriques disponibles (Muller, 1992 ; Muller, 1993 ; Mesipuu et Shefferson, 2009). Par exemple, malgré des fluctuations importantes de précipitations au cours d'un suivi pluriannuel, la densité et la proportion de réapparition de *Botrychium matricariifolium* sont demeurées invariables (Muller, 1993). Chez *Sceptridium dissectum*, l'effet des précipitations printanières semblent varier d'un site à l'autre, avec un impact positif sur la production de tiges fertiles à un site d'étude et un impact négatif à l'autre (Mesipuu et Shefferson, 2009). Ces résultats équivoques contrastent clairement avec les tendances observées au PNB depuis 2019 (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2020, 2022 ; de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Jusqu'à présent, les études qui se sont intéressées à la relation entre les caractéristiques météorologiques et la trajectoire démographique des populations de botryches ne prennent pas en compte certaines variables écologiques comme la présence d'un

couvert forestier, la capacité de rétention de l'eau par les sols ou la disponibilité et la composition des communautés de mycorhizes (Anderson et Cariveau, 2003). Pourtant, ces variables pourraient modifier l'accessibilité de l'eau dans les sols et le stress hydrique effectivement subi par les botryches (voir *Discussion, Prédiction 3*). L'intégration de ces variables dans les futurs suivis au PNB semble donc essentielle pour mieux comprendre l'écologie des botryches et mettre en place des mesures de conservation adéquates.

La divergence des résultats entre les différentes études peut aussi s'expliquer par les espèces étudiées. Certaines études ont été menées sur des fougères du genre *Sceptridium* (Montgomery, 1990 ; Mesipuu et Shefferson, 2009), qui ne représentent en fait qu'une faible proportion des botryches du PNB. Les plantes du genre *Sceptridium* vivent plus longtemps (demi-vie de 43,2 ans chez *S. dissectum* ; Montgomery, 1990) que les plantes du genre *Botrychium* (demi-vie de 3 ans ou moins ; Lesica et Ahlenslager, 1996). Ces différences de longévité pourraient modifier substantiellement les caractéristiques de la dormance entre les deux genres et leur relation avec les conditions météorologiques (Shefferson, 2009). En effet, si la dormance chez les botryches représente une adaptation dans le cadre d'une stratégie biodémographique (Gremer *et al.*, 2012), alors la différence de longévité entre *Sceptridium* et *Botrychium* pourraient impliquer des compromis différents entre les espèces. Par exemple, étant donné la courte longévité de *Botrychium*, la dormance pourrait permettre de synchroniser les efforts de reproduction avec les années les plus clémentes, plutôt que de maximiser la survie. Une association de la dormance avec les conditions météorologiques serait donc attendue chez *Botrychium*. À l'inverse, la faculté de survivre à des perturbations comme l'herbivorie pourrait être plus importante chez les espèces longévives du genre *Sceptridium* (Shefferson, 2009). La défoliation pourrait représenter un coût plus important que chez *Botrychium*, puisque les feuilles de *Sceptridium* sont sempervirentes et représentent donc un investissement énergétique plus important (Hauk *et al.*, 2003). Les plantes entreraient donc en dormance à la suite d'une défoliation par herbivorie plutôt que lors de conditions météorologiques adverses (Montgomery, 1990, Mesipuu et Shefferson, 2009). La distinction écologique et taxonomique entre les espèces des genres *Sceptridium* et *Botrychium* n'est pas toujours considérée dans les études (Berch et Kendrick, 1982 ; Morrow et Dute, 1998 ; Rothwell et Karrfalt, 2008), notamment parce que les deux genres *Sceptridium* et *Botrychium* ont été séparés récemment (Kato 1988 ; Hauk *et al.*, 2003 ; Dauphin *et al.*, 2017). Il convient donc de faire preuve de prudence avant d'appliquer les résultats de recherches sur *Sceptridium* à la

conservation des botryches du PNB, car la plupart des espèces et individus au PNB appartiennent plutôt au genre *Botrychium*.

Bref, il est encore trop tôt pour déterminer si la fluctuation des effectifs de botryches au PNB est davantage attribuable au renouvellement de la population (mortalité et recrutement) ou à la variation interannuelle de la dormance. D'une part, l'association généralement observée depuis 2019 entre le nombre de botryches émergés et les précipitations printanières suggère que la dormance est la principale cause de cette fluctuation. D'autre part, la faible longévité des plantes du genre *Botrychium*, leur recrutement important et la forte mortalité impliquent un renouvellement dynamique. La comparaison avec les études similaires dans la littérature demeure limitée, étant donné leur nombre réduit (Anderson et Cariveau, 2003), les résultats contradictoires qu'elles ont produits et les communautés d'espèces distinctes de celles du PNB. L'intégration des caractéristiques microenvironnementales à l'échelle du site et la distinction, lorsque nécessaire, des caractéristiques écologiques des différentes espèces étudiées semblent cruciales afin de bien orienter les efforts de conservation.

Prédiction 2. Augmentation de la taille des sporophytes et meilleur état des botryches en 2022 par rapport à 2021

En 2022, les botryches du PNB étaient généralement de plus grande taille par rapport à 2021. Comme la taille est souvent utilisée comme indicateur de la performance ou de la valeur adaptative (Younginger *et al.*, 2017), ces résultats suggèrent que les botryches sont sensibles à la quantité de précipitations durant leur période d'émergence, c'est-à-dire aux mois de mai et juin (Johnson-Groh et Lee, 2002). D'autres études ont produit des résultats similaires concernant la croissance et l'intensité des précipitations printanières (Hutchings, 2010 ; Hawrizki *et al.*, 2011). La relation entre le stress hydrique et la diminution de la croissance chez les plantes est bien connue, particulièrement chez les angiospermes (Taiz *et al.*, 2015). Lors des périodes de sécheresse, une cascade de signalisation réduit l'ouverture des stomates, ce qui permet de limiter les pertes d'eau par transpiration, mais également l'importation de CO₂. Cela mène à une réduction de la photosynthèse, et donc de la croissance (Walter, 2018 ; McAdam et Sussmilch, 2021). Un mécanisme de contrôle stomatal similaire existe également chez les fougères, bien qu'il semble reposer uniquement sur des phénomènes de turgescence et non sur un système de signalisation complexe (McAdam et Sussmilch, 2021). Cette réduction de taille liée aux conditions

météorologiques pourrait avoir des impacts négatifs sur la survie et la reproduction des botryches, en limitant leur capacité à capter de la lumière ou en réduisant la hauteur à partir de laquelle les spores sont disséminés et donc leur capacité de dispersion (Olejnik et Celka, 2015).

La dépendance des botryches envers leurs mycorhizes pour acquérir de l'eau pourrait influencer leur susceptibilité à la sécheresse. En effet, les botryches n'ont pas de poils racinaires (Berch et Kendrick, 1982), ce qui limite considérablement leur capacité à acquérir de l'eau. L'interaction entre les plantes hôtes, les mycorhizes et les facteurs abiotiques demeure encore assez mal comprise (Walter, 2018) et pourrait limiter ou amplifier l'impact des sécheresses sur les botryches. Le réseau de mycorhizes pourrait être plus efficace pour aller puiser de l'eau à de faibles potentiels hydriques (Augé *et al.*, 2015), donc rendre les botryches plus tolérantes aux sécheresses (Augé *et al.*, 2015). Alternativement, les mycorhizes pourraient elles-mêmes souffrir des conditions de sécheresse, ce qui limiterait leur capacité à coloniser les racines des botryches (Walter, 2018).

Parmi toutes les mesures qui ont été utilisées pour estimer la performance des botryches lors des suivis individuels de 2021 et de 2022, la hauteur du trophophore semble être la plus robuste. Même en utilisant les mesures par parcelle (moyennes), plutôt que par individu, pour déterminer si les botryches étaient plus grands qu'en 2021, la hauteur du trophophore demeure la seule variable significative. En théorie, l'utilisation des mesures agrégées par parcelle devrait rendre plus difficile la détection d'une augmentation de taille, car elle inclut les individus nouvellement émergés, qui sont généralement plus petits que ceux déjà recensés en 2021. De plus, la proportion de nouvelles émergences varie beaucoup entre les parcelles et on aurait pu s'attendre à une réduction de la hauteur moyenne dans les parcelles avec une majorité d'individus nouvellement émergés. Or, la hauteur du trophophore, lorsqu'on la mesure par parcelle, demeure plus grande en 2022 qu'en 2021. Il s'agit donc d'un indicateur particulièrement robuste pour estimer la performance des individus et des populations de botryches lors des futurs suivis.

La hauteur du trophophore est également la variable qui permet de mieux prédire l'émergence des botryches à l'année suivante. Alors que les botryches de grande taille ont une plus grande probabilité de réémerger, les botryches de petite taille ont plus de chances de ne pas réapparaître. L'absence d'un individu peut correspondre à sa mort ou sa dormance (*Discussion, Prédiction 1*). Tout comme la mortalité, l'entrée en dormance peut parfois s'expliquer par une

mauvaise performance, particulièrement chez les espèces où la dormance semble non-adaptative ou maladaptative (Hutchings, 1987 ; Shefferson *et al.*, 2003 ; Shefferson et Tali 2007). Ceci expliquerait pourquoi, chez certaines espèces, les petits individus peuvent entrer en dormance plus fréquemment (Shefferson, 2006). De tels résultats ont été rapportés dans des populations de botryches (Williams et Waller, 2015) et suggèrent que la dormance chez les botryches n'a peut-être pas forcément un rôle adaptatif. Les petits individus pourraient simplement être plus sensibles à la sécheresse, à cause de leur réservoir interne d'eau limité et leur plus grande surface d'évapotranspiration (Zots *et al.*, 2001). Lors des printemps secs, la fermeture prématurée de leurs stomates les empêcherait d'acquérir assez de carbone pour émerger hors de la terre. Alors que la relation entre la hauteur du trophophore et la probabilité d'émergence semble intuitive, celle impliquant la longueur de la tige du trophophore ou du sporophore l'est beaucoup moins. La longueur de la tige du trophophore est une mesure qui varie beaucoup entre les espèces : au PNB, la présence d'un trophophore sessile est une caractéristique de *B. michiganense* ou de *B. lanceolatum* (Farrar, 2011). Comme la longueur de la tige du trophophore ne varie pas (ou peu) chez ces espèces, cette variable est virtuellement inutile pour prédire leur émergence à l'année suivante. Quant à la longueur de la tige du sporophore, il est difficile d'établir un lien entre une tige plus courte et une meilleure probabilité d'émergence. Étant donné la difficulté de trouver un sens biologique, la présence de ces deux variables dans le modèle de prédiction d'émergence pourrait représenter un artefact de la méthode de sélection de modèle utilisée.

En plus d'être de plus grande taille, les botryches étaient moins endommagés et plus facilement identifiables en 2022 par rapport à 2021 (*Prédiction 2*). Plusieurs botryches endommagés en 2021 étaient en fait desséchés ou flétris, ce qui reflète les conditions plus sèches. Cependant, d'autres individus en 2022 et en 2021 portaient des marques d'herbivorie telles que des traces de broutement, le trophophore ou le sporophore tronqué ou manquant. Parfois, tout le sporophyte avait été brouté, ne laissant qu'un fragment de tige de quelques millimètre visibles (Annexe 3). Dans les suivis individuels, les traces de dommages et leur cause (sécheresse ou herbivorie) n'ont pas notées systématiquement. Pourtant, il pourrait y exister une relation entre l'herbivorie et l'entrée en dormance (Shefferson *et al.*, 2005, Reintal *et al.*, 2010). Par exemple, il a été démontré que la défoliation par herbivorie pourrait provoquer la dormance chez *Sceptridium* (Montgomery, 1990, Mesipuu et Shefferson, 2009), mais pas chez *Botrychium* où la défoliation expérimentale n'a pas eu d'impact sur la dormance (Hoefflerle, 1999). Afin de mieux documenter

les facteurs qui induisent la dormance ou qui nuisent à la survie des botryches au PNB, il serait pertinent d'inclure les informations relatives aux dommages lors des prochains suivis individuels.

Prédiction 3. Atténuation des impacts de la sécheresse et des précipitations (diminution de taille, nouvelles émergences) dans les parcelles sous couvert forestier

Bien que les botryches soient généralement plus nombreux et de plus grande taille en 2022 au PNB, la situation semble s'inverser dans les parcelles sous couvert forestier. Dans ces parcelles, les nouvelles émergences sont moins nombreuses et la taille des botryches semble avoir diminué par rapport à 2021. Ces résultats sont cohérents dans la mesure où les botryches sont des espèces rudérales, nécessitant des habitats de pleine lumière pour le maintien des populations. Le couvert forestier pourrait néanmoins permettre de réduire l'impact des fluctuations de précipitations (de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Ainsi, lors des années sèches, l'ombrage limiterait l'évapotranspiration, ce qui permettrait aux individus situés sous un couvert d'émerger malgré les conditions de sécheresses. À l'inverse, lors des printemps plus humides, comme en 2022, l'ombrage empêcherait les botryches de capter pleinement la lumière du soleil, réduisant leur performance par rapport à celle des individus présents en pleine lumière.

Avec seulement deux années de suivi, il est encore trop tôt pour tenter d'expliquer formellement pourquoi la taille des botryches a diminué dans les parcelles sous couvert forestier et si cette diminution de taille est effectivement liée ou non aux précipitations abondantes. En effet, cette diminution de taille pourrait aussi être causée par l'augmentation graduelle de l'ombrage au-dessus des botryches à cause de la croissance des arbres et de la fermeture du couvert forestier, auquel cas on observerait, année après année, une réduction graduelle de la taille des botryches indépendante des précipitations. Elle pourrait également être causée par un surplus de précipitations au printemps 2022. En effet, au-delà d'un niveau optimal, les précipitations peuvent devenir nuisibles pour les espèces végétales, car l'oxygène diffuse mal dans les sols (Walter, 2018). La faible évapotranspiration dans les parcelles ombragées, combinée à des précipitations trop importantes, auraient ainsi pu nuire aux botryches, limitant leur croissance. Si tel était le cas, on devrait observer une augmentation de taille dans ces parcelles si les précipitations diminuent lors des futurs suivis individuels.

Contrairement aux prédictions de départ, la proportion de réémergence n'était pas plus élevée dans les parcelles sous couvert forestier. Ces résultats demeurent toutefois cohérents avec

une entrée en dormance des individus lors des conditions météorologiques adverses. Il est possible qu'en 2021, seuls les individus les plus performants aient été capables d'émerger, autant dans les parcelles sous couvert forestier, où la croissance est limitée par la faible disponibilité en lumière, que dans les parcelles de pleine lumière, où la croissance était alors limitée par la faible disponibilité en eau. Sous les conditions plus clémentes de 2022, ces individus « performants » auraient réémergé avec les mêmes proportions dans les deux types de parcelles.

Les nouvelles émergences étaient quant à elles effectivement plus nombreuses dans les parcelles de pleine lumière que dans les parcelles sous couvert forestier. Deux mécanismes permettent d'expliquer cette tendance. D'une part, plusieurs botryches dans les parcelles ouvertes auraient pu être dormants lors des conditions plus sèches de 2021 et seraient sortis de la dormance grâce aux précipitations plus importantes en 2022. D'autre part, les précipitations importantes de 2022 auraient pu permettre à plusieurs sporophytes juvéniles d'émerger pour la première fois en 2022, résultant en un recrutement important. Ces effets ne seraient pas observés dans les parcelles sous couvert forestier, car les conditions d'humidité étaient déjà optimales en 2022. Puisqu'il est pour l'instant impossible de distinguer la mortalité et le recrutement de la dormance, ces résultats restent difficiles à interpréter et les prochaines années de suivi seront essentielles pour explorer l'impact du couvert forestier sur la trajectoire démographique des colonies de botryches.

Hormis le couvert forestier, la plupart des variables microenvironnementales considérées (pH, pourcentage de couverture par les mousses/lichens, les herbacées, la litière ou les arbres/arbustes, hauteur de la végétation) n'avaient pas d'impact sur la taille des botryches ou sur les caractéristiques démographiques des colonies. Ces variables n'ont été mesurées qu'en 2021, bien qu'elles puissent possiblement varier annuellement. Par exemple, les plantes envahissantes comme le gaillet (*Galium mollugo*) ou le rosier (*Rosa rugosa*) ou l'afforestation par l'épinette blanche ou le peuplier faux-tremble pourraient modifier rapidement les conditions microenvironnementales. Lors des prochaines années, il serait utile de remesurer ces variables et les inclure dans les modèles de régression linéaire multiple afin d'améliorer la puissance des analyses statistiques. De plus, à l'exception du pH, ces variables se rapportent à des phénomènes affectant les parties aériennes, ce qui pourrait expliquer qu'elles aient peu d'impact sur les botryches, étant donné que leur cycle de vie se déroule majoritairement sous terre (Johnson-Groh *et al.*, 2002). Bien que la hauteur moyenne de la végétation dans les parcelles-échantillons ne

semble pas influencer le nombre ou la taille des sporophytes émergés, la densité d'herbacées pourrait bien avoir un impact. En effet, cette association a déjà été observée (Olejnik et Celka, 2015) et serait cohérente avec la sensibilité des botryches au couvert forestier. Une association entre le pH et la probabilité de germination (Krinitsyn *et al.*, 2020) ou la composition des communautés de mycorhizes qui colonisent les botryches a également déjà été proposée (Sandoz *et al.*, 2020), mais cette association ne semble pas présente au PNB, ou du moins ne semble pas influencer les caractéristiques démographiques des colonies et la taille des individus.

Puisque les premières étapes du cycle de vie des botryches se déroulent sous terre et sont associées à une forte mortalité (Johnson-Groh *et al.*, 2002), d'autres variables environnementales se rapportant aux caractéristiques édaphiques, comme l'épaisseur des horizons de sol, la texture, la concentration en nutriments ou le degré d'humidité, pourraient être plus adéquates pour expliquer les différences entre les parcelles (Gundale, 2002 ; Olejzik et Celka, 2015). L'inclusion des variables météorologiques (précipitations, températures de l'air et du sol, etc.) dans les futures analyses pluriannuelles permettra également d'améliorer la capacité explicative des modèles.

Prédiction 4. Changements de la composition spécifique par rapport à 2021

Contrairement à ce qui était attendu, il y a eu relativement peu de changements de composition spécifique en 2022 par rapport à 2021. La plupart des changements de composition en 2022 sont attribuables à la distinction entre *B. tenebrosum* et *B. simplex*, qui n'avait pas été faite depuis le début des inventaires généraux de botryches, en 2019 (Ducharme-Martin et de Lafontaine, 2020, 2022 ; de Lafontaine et Ducharme-Martin, 2021). Bien que décrit depuis 1899 (Eaton, 1903), *B. tenebrosum* a longtemps été considéré comme l'une des formes que pouvait prendre *B. simplex* dans certains environnements spécifiques (« *In contrast to many moonworts which react only slightly to habitat differences, in B. simplex [...] shaded bog edges [yields] var. tenebrosum* (Wagner et Wagner, 1983, p.52) ». Ce n'est que depuis 2011 que *B. tenebrosum* est proposé comme un taxon indépendant de *B. simplex*, sur la base de critères morphologiques (Farrar, 2011). Cette distinction a ensuite été reconnue par les phylogénies moléculaires (Dauphin *et al.*, 2017). Les récents développements des approches en systématique et la présence confirmée de ce taxon au PNB (Dauphin *et al.*, 2017) ont motivé l'équipe de recherche à appliquer cette nomenclature en 2022. Morphologiquement, *B. tenebrosum* se distingue de *B. simplex* par son point de jonction entre le trophophore et le sporophore situé plus haut sur la feuille (Farrar, 2011). Ce point de

jonction est situé près du sol chez *B. simplex*, alors qu'il arrive souvent à la moitié de la tige chez *B. tenebrosum* (Annexe 4). *Botrychium tenebrosum* peut aussi éventuellement être confondu avec *B. pallidum*, à cause de son trophophore parfois embrassant. Cependant, ces deux espèces se différencient facilement par leur couleur (*B. pallidum* est plus pâle) et par la taille de leur sporophore relative à leur trophophore. Le trophophore de *B. tenebrosum* atteint généralement la même hauteur que son sporophore, alors que celui de *B. pallidum* est souvent plus haut (Farrar, 2011) (Annexe 5).

En regroupant les espèces susceptibles d'être confondues dans les analyses (complexes *matricariifolium/michiganense* et *simplex/tenebrosum*) et en ignorant les individus non-identifiables (*Botrychium* sp.), il n'y avait aucun changement significatif de la composition spécifique entre les deux années. Ces résultats contrastent avec l'hypothèse selon laquelle les caractéristiques démographiques (mortalité, recrutement) et celles de la dormance diffèrent entre les espèces, entraînant des changements interannuels de composition spécifique. Lesica et Ahlenslager (1996) rapportent des différences marquées entre les caractéristiques démographiques de *B. paradoxum* et *B. hesperium*, qui expliqueraient la rareté et le caractère vulnérable de *B. paradoxum*. Sur la base des deux premières années de suivi, nos résultats suggèrent que toutes les espèces réagissent de manière similaire aux variations des conditions météorologiques telles que les précipitations printanières. Ces résultats rejoignent ceux obtenus par Williams et Waller (2015) sur des communautés de botryches semblables.

Plusieurs identifications taxonomiques ont changé entre 2021 et 2022. Ces changements d'identification sont cohérents avec le consensus autour de la difficulté d'identifier les botryches par leurs caractéristiques morphologiques (Wagner et Wagner, 1993 ; Paris, 1989 ; Anderson, 2006 ; Farrar, 2011 ; Dauphin *et al.*, 2017). Non seulement la variabilité intraspécifique est plus grande que la variabilité interspécifique dans ce groupe (Williams *et al.*, 2016), mais en plus la plasticité phénotypique est importante (Williams et Waller, 2015). Un individu peut donc ressembler à une espèce pendant une période, puis éventuellement davantage à une autre espèce sous d'autres conditions. Cette difficulté est exacerbée dans le complexe *matricariifolium/michiganense*, au sein duquel nous rapportons de nombreux changements d'identification au PNB en 2022, particulièrement de *B. michiganense* vers *B. matricariifolium*. Ces deux espèces sont des allotétraploïdes (4n), c'est-à-dire qu'elles proviennent d'évènements

d'hybridation entre espèces diploïdes (2n), suivis d'un dédoublement du génome (Williams *et al.*, 2016). Cette origine allotétraploïde augmente considérablement le degré de confusion morphologique chez ces deux espèces, qui s'ajoute à la variabilité morphologique intraspécifique et à la plasticité phénotypique inhérentes aux botryches. D'une part, elles sont issues d'évènements de spéciation similaires, ce qui explique leur grande ressemblance morphologique. *Botrychium matricariifolium* provient de l'hybridation entre *B. pallidum* et *B. lanceolatum ssp. angustisegmentum* (deux taxa présents au PNB) et *B. michiganense* provient de l'hybridation entre *B. pallidum* et un ancêtre de *B. lanceolatum ssp. angustisegmentum* (Williams *et al.*, 2016). D'autre part, au sein de chacun de ces taxa, il pourrait y avoir eu plusieurs origines différentes, issues d'évènements d'hybridation indépendants. Ces multiples origines auraient produit des individus avec des morphologies distinctes, amplifiant la variabilité morphologique déjà existante chez les botryches (Williams *et al.*, 2016). Sur le terrain, les principaux critères d'identification utilisés pour distinguer *B. michiganense* de *B. matricariifolium* étaient le trophophore sessile (Farrar, 2011), la taille disproportionnée des pinnaes basales (Cayouette, 2001) et la disposition des pinnaes basales dans un autre plan que le reste du trophophore (Cayouette, 2001). Ces trois critères pourraient toutefois s'avérer insuffisants pour distinguer adéquatement *B. michiganense* de *B. matricariifolium* sur le terrain, car certains individus appartenant probablement à *B. matricariifolium* arboraient ces critères en 2021, mais pas en 2022. Gilman *et al.* (2015) proposent d'autres critères morphologiques ne figurant pas dans les clés de Cayouette (2001) ou Farrar (2011), mais qui permettraient de discriminer les deux espèces, parmi lesquels figure le degré d'incision des pinnaes médianes et distales. Chez *B. michiganense*, les incisions des marges basiscopiques sont plus profondes que celles des marges acroscopiques, alors que, chez *B. matricariifolium*, les incisions sont autant profondes pour les deux marges. L'inclusion de ce critère d'identification lors des futures années du suivi, couplée à des analyses génétiques, pourrait permettre de discriminer de manière plus robuste les espèces du complexe *matricariifolium/michiganense*.

En plus des changements au niveau du complexe *B. matricariifolium/michiganense*, les identifications d'espèces rares au PNB (*B. spathulatum*, *B. lineare*) n'ont pas été confirmées en 2022. Dans la majorité des cas (3 cas sur 4), ces espèces ont été réidentifiées comme appartenant au complexe *matricariifolium/michiganense*, démontrant encore une fois l'incroyable plasticité phénotypique de ce complexe. Ces individus pourraient en fait avoir été mal formés en 2021,

rendant la forme de leur trophophore atypique. Dans la clé dichotomique de Cayouette (2001), la présence ou l'absence de nervures centrales est l'un des premiers critères qui permet de distinguer les individus de la section *Lanceolatum* de ceux de la section *Simplex/Lunaria* (Dauphin *et al.*, 2017). Or, même lorsqu'elles sont présentes, les nervures centrales ne sont pas toujours bien visibles, particulièrement chez les individus mal formés, ce qui peut amener à éliminer d'emblée la possibilité que ces individus appartiennent à la section *Lanceolatum* et donc à *B. matricariifolium* ou *B. michiganense*. À la suite des printemps secs de 2020 et 2021, la surabondance d'individus mal formés aurait pu exacerber la ressemblance morphologique entre certains individus de *B. matricariifolium* et *B. lineare* ou *B. spathulatum*. Bien que la présence historique de *B. spathulatum* au PNB ait été confirmée par des analyses moléculaires (Dauphin *et al.*, 2017), il n'est pas certain que *B. spathulatum* et *B. lineare* soient toujours effectivement présents sur le territoire du Bic. Ces sources de confusion morphologique renforcent la nécessité de recourir à des tests génétiques pour estimer plus précisément l'abondance des taxa rares et vulnérables et confirmer leur présence. Les suivis individuels des prochaines années permettront également de préciser certaines de ces identifications problématiques.

Malgré la difficulté d'identification morphologique inhérente aux botryches, les identifications de certains taxons (*B. pallidum*, *B. lanceolatum* et *S. multifidum*) ont été en grande partie confirmées. Pour *S. multifidum*, il n'est pas étonnant d'observer 100% de confirmation puisqu'il s'agit de la seule espèce du genre *Sceptridium* présente au Bic et sa morphologie contraste nettement avec celle du genre *Botrychium*. Les deux autres taxons (*B. lanceolatum* et *B. pallidum*) sont diploïdes, c'est-à-dire qu'ils n'ont pas pour origine des événements d'hybridation et de doublement du génome. Les sources de confusion morphologique propres aux allotétraploïdes (espèces parentes similaires, origines multiples) n'existent donc pas chez ces espèces, ce qui pourrait expliquer pourquoi leur identification est plus facile que pour les plantes du complexe *matricariifolium/michiganense*. Comme *B. simplex* et *B. tenebrosum* sont également diploïdes (Dauphin *et al.*, 2017), on s'attend à ce que leurs identifications soient en grande partie confirmées lors du suivi de 2023, bien qu'elles puissent être difficiles à distinguer puisque très rapprochées phylogénétiquement et qu'elles ont longtemps été considérées comme une même espèce.

Conclusion

Le printemps 2022 a été le plus pluvieux depuis le début des inventaires généraux par la Chaire de recherche du Canada en biologie intégrative de la flore nordique. Jusqu'à présent, les résultats soutiennent l'hypothèse selon laquelle les fluctuations interannuelles des effectifs de botryches sont déterminés par la dormance pour éviter les conditions de sécheresse printanière. En effet, les sporophytes émergés étaient plus nombreux et de plus grande taille en 2022 qu'en 2021. Dans les parcelles protégées par un couvert forestier, les effets des sécheresses seraient diminués, ce qui expliquerait pourquoi on n'y observe pas une augmentation des effectifs ou de la taille lorsque les précipitations reviennent à la normale. Toutefois, avec seulement deux années de suivi, il n'est pas possible de distinguer entre la dormance et la dynamique démographique naturelle des botryches (mortalité et recrutement). Étant donné la courte longévité des botryches, la variation des taux de survie et de recrutement en fonction des conditions météorologiques pourrait contribuer de façon importante à la variabilité interannuelle de leurs effectifs. Les futurs suivis permettront de mieux établir l'importance relative de ces deux sources de variabilité.

Cette deuxième année de suivi individuel met également en évidence la difficulté de distinguer les espèces du complexe *matricariifolium/michiganense*. Cependant, *B. michiganense* figure parmi les espèces susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables. De plus, l'identification des espèces rares potentiellement présentes au PNB (*B. spathulatum* et *B. lineare*) n'a pu être confirmée en 2022 et pourrait avoir comme origine la plasticité phénotypique impressionnante de *B. matricariifolium*. Pour assurer l'identification, la détection et la conservation de ces espèces à statut, le recours à des tests génétiques lors des prochaines années s'avère nécessaire.

Remerciements

Nous tenons à remercier F. Bordeleau, G. Demeule, C. Ducharme-Martin, A. Langlois, L. Nondier, G. Rincon Pinilla, D. Ruffio pour leur aide essentielle sur le terrain.

Bibliographie

- Ahlenslager, K., & Potash, L. (2007). Conservation Assessment for 13 Species of Moonworts (*Botrychium* Swartz Subgenus *Botrychium*). USDA Forest Service Region 6 and USDI Bureau of Land Management, Oregon and Washington.
- Anderson, D. G. & Cariveau, D. (2003). *Botrychium campestre* W.H. Wagner & Farrar (Iowa moonwort): A technical conservation assessment. USDA Forest Service, Rocky Mountain Region, Fort Collins.
- Anderson, D. G. (2006). *Botrychium simplex* E. Hitchcock (little grapefern): A technical conservation assessment. USDA Forest Service, Rocky Mountain Region, Fort Collins.
- Augé, R. M., Toler, H. D., & Saxton, A. M. (2015). Arbuscular mycorrhizal symbiosis alters stomatal conductance of host plants more under drought than under amply watered conditions: a meta-analysis. *Mycorrhiza*, 25, 13-24.
- Berch, S. M., & Kendrick, B. (1982). Vesicular-arbuscular mycorrhizae of southern Ontario ferns and fern-allies. *Mycologia*, 74, 769-776.
- Cayouette, J. (2001). Les Botrychyaceae au Québec. Ottawa.
- CDPNQ (Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec). (2022). Les plantes vasculaires susceptibles d'être désignées menacées ou vulnérables au Québec (235 taxons). Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs, Québec.
- Clark, A. (2015). *Pillow (PIL Fork) Documentation*. [En ligne ; dernier accès le 8 mars 2023] URL : <https://pillow.readthedocs.io/en/stable/>
- Dauphin, B., Farrar, D. R., Maccagni, A., & Grant, J. R. (2017). A worldwide molecular phylogeny provides new insight on cryptic diversity within the moonworts (*Botrychium* ss, Ophioglossaceae). *Systematic Botany*, 42, 620-639.
- de Lafontaine, G., & Ducharme-Martin, C. (2021). Suivi des botryches (*Botrychium* spp.) au parc national du Bic (été 2020). Rapport préparé pour la direction du parc national du Bic, Sépaq, Québec.
- Ducharme-Martin, C., & de Lafontaine, G. (2020). Suivi des botryches (*Botrychium* spp.) au parc national du Bic (été 2019). Rapport préparé pour la direction du parc national du Bic, Sépaq, Québec.
- Ducharme-Martin, C., & de Lafontaine, G. (2022). Suivi des botryches (*Botrychium* spp.) au parc national du Bic (été 2021) : inventaire général et déploiement d'un protocole de suivi démographique. Rapport préparé pour la direction du parc national du Bic, Sépaq, Québec.

- Eaton, A. A. (1903). Additional notes on *Botrychium tenebrosum*. *Rhodora*, 5, 274-276.
- Farrar, D. R. (2011). Systematics and taxonomy of genus *Botrychium*. Iowa State University, Ames.
- Gilman, A. V., Farrar, D. R., & Zika, P. F. (2015). *Botrychium michiganense* sp. nov. (Ophioglossaceae), a new North American moonwort. *Journal of the Botanical Research Institute of Texas*, 295-309.
- Gremer, J. R., Crone, E. E., & Lesica, P. (2012). Are dormant plants hedging their bets? Demographic consequences of prolonged dormancy in variable environments. *American Naturalist*, 179, 315-327.
- Gundale, M. J. (2002). Influence of exotic earthworms on the soil organic horizon and the rare fern *Botrychium mormo*. *Conservation Biology*, 16, 1555-1561.
- Hauk, W. D., Parks, C. R., & Chase, M. W. (2003). Phylogenetic studies of Ophioglossaceae: evidence from rbcL and trnL-F plastid DNA sequences and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 28, 131-151.
- Hawryzki, A. R., Allen, G. A., & Antos, J. A. (2011). Prolonged dormancy in the geophyte *Allium amplexans* on Vancouver Island. *Botany*, 89, 737-744.
- Hoefflerle, A. M. (1999). Impacts of aerial leaf removal on leaf size of the daisy leaf moonwort (*Botrychium marticariifolium*) and the triangle moonwort (*Botrychium lanceolatum* Var. *angustisegmentum*) in the subsequent year, Doctoral dissertation, Michigan Technological University, Houghton.
- Hutchings, M. J. (1987). The population biology of the early spider orchid, *Ophrys sphegodes* Mill. I. A demographic study from 1975 to 1984. *Journal of Ecology*, 75, 711-727.
- Hutchings, M. J. (2010). The population biology of the early spider orchid *Ophrys sphegodes* Mill. III. Demography over three decades. *Journal of Ecology*, 98, 867-878.
- Johnson-Groh, C. L., & Lee, J. M. (2002). Phenology and demography of two species of *Botrychium* (Ophioglossaceae). *American Journal of Botany*, 89, 1624-1633.
- Johnson-Groh, C., Riedel, C., Schoessler, L., & Skogen, K. (2002). Belowground distribution and abundance of *Botrychium* gametophytes and juvenile sporophytes. *American Fern Journal*, 92, 80-92.
- Kato, M. (1988). The phylogenetic relationship of Ophioglossaceae. *Taxon*, 37, 381-386.
- Kéry, M., Gregg, K. B., & Schaub, M. (2005). Demographic estimation methods for plants with unobservable life-states. *Oikos*, 108, 307-320.

- Krinitsyn, I., Zontikov, D., Zontikova, S., Baghizadeh, A., Behroozi, P., & Sergeev, R. (2020). Features of development of hametophytes *Botrychium multifidum* (S.G. Gmel.) Rupr. culture *in vitro*. *Plant diversity: Status, trends and conservation concept, BIO Web of conferences 24*, 00043.
- 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.
- Labrecque, J., Cayouette, J., & Farrar, D. R. (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'Original 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.
- 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.
- Lesica, P., & Crone, E. E. (2007). Causes and consequences of prolonged dormancy for an iteroparous geophyte, *Silene spaldingii*. *Journal of Ecology*, 1360-1369.
- Lüdecke, D., Ben-Shachar, M. S., Patil, I., Waggoner, P., & Makowski, D. (2021). performance: An R package for assessment, comparison and testing of statistical models. *Journal of Open Source Software*, 6, 3139.
- McAdam, S. A., & Susmilch, F. C. (2021). The evolving role of abscisic acid in cell function and plant development over geological time. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 109, 39-45.
- Mesipuu, M., Shefferson, R. P., & Kull, T. (2009). Weather and herbivores influence fertility in the endangered fern *Botrychium multifidum* (SG Gmel.) Rupr. *Plant Ecology*, 203, 23-31.
- Montgomery, J. D. (1990). Survivorship and predation changes in five populations of *Botrychium dissectum* in eastern Pennsylvania. *American Fern Journal*, 80, 173-182.
- Morrow, A. C., & Dute, R. R. (1998). Development and structure of pit membranes in the rhizome of the woody fern *Botrychium dissectum*. *IAWA Journal*, 19, 429-441.
- Muller, S. (1992). The impact of a drought in spring on the sporulation of *Botrychium matricariifolium* (Retz) A. Br. in the Bitcherland (Northern Vosges, France). *Acta Oecologica*, 13, 335-343.
- Muller, S. (1993). Population dynamics in *Botrychium matricariifolium* in Bitcherland (Northern Vosges Mountains, France). *Belgian Journal of Botany*, 126, 13-19.

- NatureServe. 2023. *NatureServe network biodiversity location data accessed through NatureServe Explorer* [Online]. NatureServe, Arlington, Virginia. [En ligne ; dernier accès le 8 mars 2023] URL : <https://explorer.natureserve.org/>
- Oksanen, J., *et al.* (2022). *vegan: Community ecology package*. R package version 2.6-2. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Olejník, N., & Celka, Z. (2015). The growth pattern of Ophioglossoid ferns: A case study of *Botrychium lunaria* (L.) Sw. *American Fern Journal*, 105, 199-210.
- Paris, C. A., Wagner, F. S., & Wagner, W. H. (1989). Cryptic species, species delimitation, and taxonomic practice in the homosporous ferns. *American Fern Journal*, 79, 46-54.
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Reintal, M., Tali, K., Haldna, M., & Kull, T. (2010). Habitat preferences as related to the prolonged dormancy of perennial herbs and ferns. *Plant Ecology*, 210, 111-123.
- Rothwell, G. W., & Karrfalt, E. E. (2008). Growth, development, and systematics of ferns: Does *Botrychium* s.l. (Ophioglossales) really produce secondary xylem? *American Journal of Botany*, 95, 414-423.
- Sandoz, F. A., Bindschedler, S., Dauphin, B., Farinelli, L., Grant, J. R., & Hervé, V. (2020). Biotic and abiotic factors shape arbuscular mycorrhizal fungal communities associated with the roots of the widespread fern *Botrychium lunaria* (Ophioglossaceae). *Environmental Microbiology Reports*, 12, 342-354.
- Shefferson, R. P. (2006). Survival costs of adult dormancy and the confounding influence of size in lady's slipper orchids, genus *Cypripedium*. *Oikos*, 115, 253-262.
- Shefferson, R. P. (2009). The evolutionary ecology of vegetative dormancy in mature herbaceous perennial plants. *Journal of Ecology*, 97, 1000-1009.
- Shefferson, R. P., Proper, J., Beissinger, S. R., & Simms, E. L. (2003). Life history trade-offs in a rare orchid: the costs of flowering, dormancy, and sprouting. *Ecology*, 84, 1199-1206.
- Shefferson, R. P., Kull, T., & Tali, K. (2005). Adult whole-plant dormancy induced by stress in long-lived orchids. *Ecology*, 86, 3099-3104.
- Shefferson, R. P., & Tali, K. (2007). Dormancy is associated with decreased adult survival in the burnt orchid, *Neotinea ustulata*. *Journal of Ecology*, 95, 217-225.
- Taiz, L., Zeiger, E., Moller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development*, 6th edition. Sinauer Associates Inc., Sunderland.

- Van Rossum, G., & Drake Jr, F. L. (1995). *Python reference manual*. Centrum voor Wiskunde en Informatica Amsterdam.
- Wagner, W. H., & Wagner, F. S. (1983). Genus communities as a systematic tool in the study of New World *Botrychium* (Ophioglossaceae). *Taxon*, 32, 51-63.
- Walter, J. (2018). Effects of changes in soil moisture and precipitation patterns on plant-mediated biotic interactions in terrestrial ecosystems. *Plant Ecology*, 219, 1449-1462.
- Williams, E. W. (2015). Tracking morphological change and demographic dynamics in ephemeral *Botrychium* ss (Ophioglossaceae) populations. *Journal of the Torrey Botanical Society*, 142, 152-165.
- Williams, E. W., Farrar, D. R., & Henson, D. (2016). Cryptic speciation in allotetraploids: Lessons from the *Botrychium matricariifolium* complex. *American Journal of Botany*, 103, 740-753.
- Younginger, B. S., Sirová, D., Cruzan, M. B., & Ballhorn, D. J. (2017). Is biomass a reliable estimate of plant fitness? *Applications in Plant Sciences*, 5, 1600094.
- Zotz, G., Hietz, P., & Schmidt, G. (2001). Small plants, large plants: the importance of plant size for the physiological ecology of vascular epiphytes. *Journal of Experimental Botany*, 52, 2051-2056.

Annexes

Annexe 1. Changement d'identification d'un individu identifié comme *Botrychium lineare* en 2021. À gauche, l'individu (N° 159) présentait plusieurs caractéristiques morphologiques *B. lineare* en 2021, telles que le trophophore linéaire et les pinnas étroites. À droite, le même individu en 2022 présentait les caractéristiques typiques de *B. matricariifolium* comme un trophophore oblong-ové avec un seul axe central et la présence de nervures centrales dans les pinnas basales.



Annexe 2. Changement d'identification d'un individu identifié comme *Botrychium spathulatum* en 2021. À gauche, l'individu (N° 319) présentait plusieurs des caractéristiques morphologiques *B. spathulatum* en 2021, telles que les pinnas spatulées et grossièrement dentées. À droite, le même individu en 2022 présentait les caractéristiques typiques de *B. matricariifolium* comme un trophophore oblong-ové avec un seul axe central et la présence de nervures centrales dans les pinnas basales. Bien que les pinnas basales soient de taille disproportionnée, il ne s'agit pas de *B. michiganense* puisque les divisions sur la pinna médiane sont aussi importantes sur la marge acroscopique que basiscopique (Gilman *et al.*, 2015).



Annexe 3. Individu dont la tige a été sectionnée, ne laissant qu'un fragment de quelques millimètres difficilement détectable.



Annexe 4. Différence morphologique entre *Botrychium simplex* et *Botrychium tenebrosum*. À gauche, deux individus typiques de *B. simplex*. Le point de jonction entre le sporophore et le trophophore est situé très près du sol. À droite, un individu typique de *B. tenebrosum*. Le point de jonction entre le sporophore et le trophophore est situé beaucoup plus haut sur la tige.



Annexe 5. Différence morphologique entre *Botrychium pallidum* et *Botrychium tenebrosum*. À gauche, un individu typique de *B. pallidum*. Notons la couleur pâle, le trophophore embrassant et le sporophore beaucoup plus long que le trophophore. À droite, un individu de *B. tenebrosum*. Sa couleur est plus foncée, son trophophore est de la même taille que son sporophore et les divisions de son trophophore sont moins profondes que chez *B. pallidum*.

