



UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE
ECOLE DOCTORALE DES SCIENCES DE LA MATIERE,
DE L'INFORMATION ET DE LA SANTE (ED SMIS 0373)



THESE DE DOCTORAT

Domaine : Sciences de la Vie

Spécialité : Biologie

Mention : Sciences de la Conservation

**Pour une stratégie de conservation
de *Trichomanes speciosum* Willd.
dans le Massif Armoricaïn**

Sandrine Lorient



Soutenue le 8 décembre 2005 devant le jury d'examen composé de :

Mr le Professeur R. Barbault, Université Paris 6, Pierre et Marie Curie

Rapporteur

Mr le Docteur J. Bardat, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris

Rapporteur

Mme le Docteur S. Magnanon, Conservatoire Botanique National de Brest

Examineur

Mr le Professeur E. Deslandes, Université de Bretagne Occidentale

Examineur

Mr le Professeur F. Bioret, Université de Bretagne Occidentale

Examineur

Mr le Professeur A. Cottignies, Université de Bretagne Occidentale

Directeur de thèse

Remerciements

Je remercie l'ensemble des membres du jury de l'intérêt qu'ils ont manifesté pour ce travail et plus particulièrement **Mr Robert Barbault** et **Mr Jacques Bardat** qui ont accepté d'en être les rapporteurs.

J'adresse mes remerciements à **Daniel Malengreau** et **Sylvie Magnanon**, qui ont monté le projet d'étude et obtenu une contribution financière de la **Région Bretagne**, dans le cadre d'un dispositif "Contrats Nature" en partenariat avec la **DIREN Bretagne** et le **Conseil Général du Finistère**. Je remercie le **Conservatoire Botanique National de Brest** pour sa participation financière ayant notamment permis la réalisation des études de terrain (38090 km sur les routes armoricaines) et ma participation au Colloque de Botanique de la BSBI en Angleterre. Je remercie vivement **Sylvie** qui s'est montrée d'une grande disponibilité et avec qui j'ai eu un très grand plaisir à acquérir des méthodes de travail dans le domaine de l'écologie et de la conservation (...et à déguster le "sandwich-breton").

J'exprime ma gratitude envers **Mr Alain Cottignies** qui a accepté de diriger ce travail avec un grand dévouement, me faisant profiter de ses connaissances scientifiques et de ses compétences rédactionnelles. Je le remercie de m'avoir fait bénéficier d'un financement personnel à la faveur d'un contrat d'étude INRA.

Je remercie **Mr Marcel Le Floc'h** de m'avoir accueilli au sein de l'Ecole Doctorale SMIS et **Mr Guy Nonnotte** de m'avoir intégré dans son équipe du Laboratoire Biologie et Physiologie Cellulaires durant les deux premières années de thèse. Merci à **Karine Pichavant**, **Mickaël Théron**, **Valérie Maxime** et **Patrick Calves** sans oublier **Christelle Goanvec** et **Hélène Ollivier** (je passe le flambeau à Anna) pour leur sympathie. Un merci tout particulier à **Stella Roy** pour son aide précieuse et sa profonde gentillesse.

Merci à **Nelly Kervarec** et **Roger Pichon** du service commun de RMN pour leur accueil toujours chaleureux et **Gérard Sinquin** du service commun de microscopie électronique pour les heures passées à observer des petits filaments de gaméophyte. Mes remerciements vont également à **Roger Capitaine** et **Daniel Le Piccard** pour leur aide dans le domaine de la mycologie et à **Gérard Honoré** pour la mise à disposition du matériel nécessaire à l'étude de l'intensité photosynthétique.

Je souhaite remercier vivement **Mr Eric Deslandes** pour son accueil bienveillant au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues Marines pendant mes 3^{ème} et 4^{ème} année de thèse. Merci de l'opportunité qu'il m'a offert de développer une thématique de chimiotaxonomie et de présenter mes travaux au Colloque International de Botanique en Autriche. Je souhaite associer à ces remerciements l'ensemble des membres du laboratoire pour leur gentillesse et plus particulièrement ceux qui ont directement collaboré à mon travail : **Nathalie Poupert**, pour les manipulations d'écophysiologie et les bonnes rigolades ;

Stéphane Cérantola qui a assuré ma formation de biochimiste et m'a apporté toute son aide pour la réalisation des manipulations et la rédaction. Merci à **Valérie Stiger** pour sa contribution aux études de biologie moléculaire et ... le contrôle de l'état de fatigue de mes yeux.

Je suis très reconnaissante envers **Dario Moraga** de l'équipe Réponses aux Stress et Adaptations pour la mise à disposition de l'équipement nécessaire à la réalisation de l'étude génétique. Merci à **Eva-Patricia Murakeozy** dont la collaboration amicale m'a permis de faire aboutir cette étude et à **Abdelkader Ainouche** du Laboratoire ECOBIO de l'Université de Rennes pour ses conseils bienveillants.

Je remercie des plus chaleureusement toute l'équipe du Conservatoire Botanique National de Brest avec qui j'ai eu un immense plaisir à passer ces 4 années. Merci à **Jean-Yves Lesouëf** pour sa passion communicative, **Nicole Annezo** pour sa gentillesse qui fait chaud au cœur dans les moments difficiles, **Pierre Charmard-Bois**, **Dominique Guyader** et **Eric Salis** pour les coups de pouce informatiques, **Christophe Bougault**, **Marion Hardegen** et **Emmanuel Quéré** (et ses rhums arrangés) pour les informations relatives au réseau Natura 2000, pour les sorties de terrain bienvenues au cœur de la rédaction ; merci aussi sincèrement à **Katia Goettel** et **Richard Pouliquen** pour les multiples services rendus, aux **Jardiniers du Stang Alar** pour la confection de la "pelle à échantillon" et la mise à disposition de leur établi lors de l'atelier de travaux pratiques "grilles". Je remercie Gaël Gousseau qui a assuré la conception de la plaquette d'information et des grilles et m'a bien aidé pour la livraison de ces dernières. Merci à **Hélène Fichoux**, **Catherine Gautier**, **Frantz Hopkins**, **Philippe Lamarque**, **Fanch Le Hir**, **Romain Ogor**, **Patrick Perron**, **Loïc Ruellan** pour leur gentillesse et leur bienveillance à mon égard. Merci aux bas-normands **Julien Geslin** (la vue est belle depuis le haut du Castel Vendon) et **Catherine Zambettakis** ainsi qu'aux nantais **Franck Hardy** et **Pascal Lacroix**. Je remercie également **Dominique Dhervé**, nouveau directeur du CBNB, de l'intérêt qu'il a manifesté pour cette étude.

Je suis très reconnaissante envers les botanistes collaborateurs du Conservatoire Botanique National de Brest. Tout d'abord, merci à **Joseph Moisan**, premier observateur de la fougère en Bretagne, qui m'a conduit sur les puits abritant les sporophytes. Merci à **Rémy Prelli** qui m'a présenté les gamétophytes et m'a convié à présenter mes travaux à la réunion du GEP 2005. Je remercie **Gabriel Rivière**, compagnon de terrain si sympathique (merci de l'aide lors de la mesure des puits sous le déluge) ainsi que **Yves le Cœur**, **Jean-Paul Priou** et **Louis Diard**. Je suis très reconnaissante envers **José Durfort**, **Daniel Phillipon** et **Jean-François Glinec** ainsi qu'envers **Patrick Hamon** qui m'a permis d'accéder à l'Île Tomé et de faire mon baptême de zodiac par la même occasion. Comment ne pas remercier **Rémy Ragot**, bien que son pas rapide m'ai souvent fait courir, et **Jean-Yves Monnat** pour les descentes en rappel mémorables en Cap Sizun. Merci à **Vincent Boullé** du Conservatoire Botanique de Mascarin de l'Île de la Réunion, pour l'envoi des échantillons de frondes de *Trichomanes sp.* et *Hymenophyllum sp.*

Je souhaite témoigner de ma gratitude envers **Frédéric Bioret** qui m'a conduit sur les stations ouessantines, offert un souvenir du Tricho à la sauce Cornouailles near the Fox and the Hunt, et le remercier de son concours à

l'organisation de la session de terrain dans le Kreizh Breizh. Je souhaite à ce sujet remercier vivement **Jacques Bardat** de m'avoir accompagné pas à pas lors de la conduite des études de bio-indication.

Je remercie très chaleureusement **Claude Jérôme** pour la ballade dans les Vosges du Nord en compagnie de **Guy Seznec** du Conservatoire Botanique de la ville de Nancy : 🎵 Ah le petit vin blanc...🎵 qu'on boit dans les affleurements de grès...

J'adresse mes sincères remerciements à **Frédéric Blanchard** et **Thomas Lamothe** pour l'organisation de la mission au Pays Basque en compagnie de **Marcel Saule**, avec un souvenir mémorable de la prospection dans les rues de Biarritz ...

Un très grand merci aux "collègues" de Plouzané : à **Grégory** (MERCI), **Elise**, **Justine** et **Luc** (et les alcootests), **Laëtitia** et **Wens** (qui a laissé de côté le "counter" pour m'aider), **Stéphanie S.** (j'lui trouve un goût de poire ... y'en a), **Stéphanie B.** et **Florian**, **Solenn C.**, **Solenn B.** et **Steren** (qui n'ont pas encore réussi à m'emmener en Fest Noz), **Antoine**, **Fathey**, **Carlos**, **Analbery**, **Martha** et **Marie-Sylvie**. Merci à **Xavier** (avec qui Platée prend vite un goût de schnaps), **Erwan** (Bob et Matt t'attendent à Ploug. au cam's pour une sess. en Nautilus au Min's), **Anna** (dite Les Bons Tuyaux, toujours positive, un vrai bonheur. Alors, ça pousse?).

Une mention spéciale pour **Vanessa** (mi-dauphin mi-canard) et **Paulo** : j'espère que vous pourrez bien vite laisser de côté la moutarde pour retrouver le piment d'Espelette...

Enfin, j'adresse un très immense remerciement à **ma famille**, notamment à **mes parents** qui m'ont soutenu, ont financé mes études ainsi que les diverses traversées de la France en camion Avis.

Table des matières

INTRODUCTION	1
1 CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE : UN ENJEU MONDIAL	3
2 CONSERVATION DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD.	5
2.1 STATUT DE PROTECTION	5
2.2 VERS UNE GESTION CONSERVATOIRE DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD. DANS LE MASSIF ARMORICAIN	5
I/ PRESENTATION DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD.	12
1 TAXONOMIE	14
2 MORPHOLOGIE	14
3 REPARTITION	18
4 ECOLOGIE	19
5 CYCLE DE VIE	20
5.1 NOTION DE GAMETOPHYTES INDEPENDANTS	20
5.2 RAREFACTION DES SPOROPHYTES	22
5.3 HYPOTHESES LIEES AUX PARTICULARITES DU CYCLE DE VIE	23
II/ MARQUEURS BIOCHIMIQUES ET GENOMIQUES	27
1 LA PLURALITE MORPHOLOGIQUE DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD.	30
2 LA NECESSITE DU RECOURS AUX CRITERES BIOCHIMIQUES ET GENOMIQUES	30
3 METHODES	32
3.1 ANALYSE CHIMIOTAXONOMIQUE	32
3.2 TAXONOMIE MOLECULAIRE	38
4 RESULTATS	43
4.1 CARACTERISATION CHIMIOTAXONOMIQUE	43
4.2 DISCRIMINATION TAXONOMIQUE PAR SEQUENÇAGE D'ADN	63
5 DISCUSSION PARTIELLE	65
6 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	68
III/ CHOROLOGIE ET ECOLOGIE	70
1. NECESSAIRE ACTUALISATION DES DONNEES CHOROLOGIQUES ET ECOLOGIQUES	73
2 METHODES	75

2.1 INVENTAIRE CHOROLOGIQUE	75
2.2 ABONDANCE DES POPULATIONS	75
2.3 ATTEINTES ET MENACES	76
2.4 DIAGNOSE ECOLOGIQUE DES STATIONS	76
2.5 DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE ET PROSPECTION EN BASSE-NORMANDIE	86
2.6 EPREUVE D'EFFICACITE DU DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE PAR PROSPECTION AU PAYS BASQUE ET DANS LES VOSGES	86
3 RESULTATS	88
3.1 CHOROLOGIE	88
3.2 ABONDANCE DES POPULATIONS	92
3.3 ATTEINTES ET MENACES	93
3.4 DIAGNOSE ECOLOGIQUE DES STATIONS	95
3.5 DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE DE PROSPECTION	128
4 DISCUSSION PARTIELLE	135
5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	142
IV/ BIOLOGIE ET ECOPHYSIOLOGIE	143
1. ENVIRONNEMENT ET ADAPTATIONS MORPHOFONCTIONNELLES	146
2 METHODES	148
2.1 ANALYSE MORPHOFONCTIONNELLE DES STRUCTURES REPRODUCTRICES	148
2.2 CARACTERISTIQUES CYTO-HISTOLOGIQUES	151
2.3 ECOPHYSIOLOGIE	153
3 RESULTATS	158
3.1 MODE DE REPRODUCTION DES GAMETOPHYTES ET DES SPOROPHYTES	158
3.2 CARACTERISTIQUES CYTO-HISTOLOGIQUES	164
3.3 ECOPHYSIOLOGIE	170
4 DISCUSSION PARTIELLE	178
5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	183
V/ DISCUSSION GENERALE ET PROPOSITIONS DE MESURES CONSERVATOIRES	184
1 OBJECTIFS ET METHODES POUR L'ELABORATION D'UN PLAN DE CONSERVATION DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD. DANS LE MASSIF ARMORICAIN	187

1.1 OBJECTIFS EN TERME DE CONSERVATON	187
1.2 CRITERES DE SELECTION DE STATIONS A CONSERVER	189
1.3 OUTILS DE CONSERVATION MOBILISES	191
2 PROPOSITIONS DE CLASSEMENT EN ZONES NATURELLES D'INTERET ECOLOGIQUE, FAUNISTIQUE ET FLORISTIQUE	198
3 PROPOSITIONS DE MESURES DE PREVENTION ET DE SENSIBILISATION	210
4 MESURES DE PROTECTION REGLEMENTAIRE ET DE CLASSEMENT DES STATIONS	212
4.1 PAR ARRETES PREFECTORAUX DE PROTECTION DE BIOTOPE	212
4.2 PAR PRISE EN COMPTE DANS LE RESEAU NATURA 2000	214
4.3 PAR CREATION D'UNE RESERVE NATURELLE REGIONALE	219
5 MESURES DE GESTION ET DE SUIVI DES STATIONS	220
5.1 GESTION DES STATIONS ANTHROPISEES	220
5.2 GESTION DES STATIONS EN MILIEUX NATURELS	224
5.3 PROTOCOLE DE SUIVI DE STATIONS	226
6 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	227
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	229
BIBLIOGRAPHIE	233

INTRODUCTION

INTRODUCTION	1
1 CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE : UN ENJEU MONDIAL	3
2 CONSERVATION DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD.	5
2.1 STATUT DE PROTECTION	5
2.2 VERS UNE GESTION CONSERVATOIRE DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD. DANS LE MASSIF ARMORICAIN	5
2.2.1 Constats et besoins identifiés par les acteurs de la conservation	5
2.2.2 De la connaissance à la conservation : objectifs de l'étude et démarche adoptée	9

1. CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE : UN ENJEU MONDIAL

La diversité biologique est aujourd'hui gravement menacée parce que le rythme des extinctions s'accélère considérablement, en particulier sous l'effet des perturbations anthropiques. Les activités humaines sont désormais génératrices de très fortes pressions sur les écosystèmes et les espèces vivantes. La production industrielle associée à une consommation toujours croissante conduisent à l'utilisation effrénée des ressources naturelles, liée à des dégradations environnementales parfois irréversibles. L'essor rapide des villes, des industries et de l'agriculture intensive, qui s'accélèrent notamment dans les pays en voie de développement, porte toujours plus d'atteintes à la biodiversité. La surexploitation des animaux et des végétaux, la destruction et la fragmentation des habitats perturbent les équilibres environnementaux. Les prélèvements accrus des ressources naturelles favorisent la pratique des cultures et des élevages intensifs d'un nombre limité d'espèces dont la production bien maîtrisée est plus rentable à court terme. Le 20^{ème} siècle a connu l'essor des manipulations génétiques d'êtres vivants, ayant pour objectifs d'augmenter toujours plus les rendements. Seules quelques espèces sont sélectionnées et occupent de vastes territoires au détriment des milieux naturels et des espèces indigènes sauvages qui, de fait, disparaissent. La diversité spécifique, génétique et écosystémique, les trois composantes de la biodiversité, s'en trouvent donc fortement menacées. L'homme façonne les territoires suivant des exigences non plus de survie mais selon des logiques économiques de profit et de rentabilité.

Depuis une trentaine d'années, la prise de conscience des dégâts causés par les activités humaines sur l'environnement et de leurs conséquences s'exprime publiquement lors de réunions internationales : en 1972, la Conférence des Nations Unies sur l'Environnement Humain (Stockholm) ; en 1973, la Convention de Washington, en 1987 ; la Commission des Nations Unies sur l'Environnement et le Développement publie le rapport Brundtland, document par lequel émerge le principe du développement durable ; en 1992, la Conférence des Nations Unies sur l'Environnement et le Développement de Rio de Janeiro ; dernièrement, en janvier 2005, la Conférence Internationale "Biodiversité : Sciences et Gouvernance", s'est tenue à Paris avec pour enjeu d'établir un dialogue entre scientifiques, politiques et décideurs économiques.

Si les conventions et les traités européens identifient les problèmes, présentent les objectifs et fixent les mesures à prendre, c'est à chaque gouvernement des Etats engagés que revient la

responsabilité de mettre en place la législation donnant un cadre légal à la protection de l'environnement sur son territoire national. En France, la Stratégie Nationale pour la Diversité Biologique est établie en 2004 dans le cadre de la Stratégie Nationale de Développement Durable de juin 2003, c'est à dire incluse dans le plan de développement économique et social du pays, avec pour objectif de "stopper la perte de la biodiversité d'ici à 2010".

Dans le cadre législatif établi par le Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, ce sont les Conseils Régionaux, les Conseils Généraux, les Directions Régionales de l'Environnement (DIREN), les Directions Régionales de l'Industrie, de la Recherche et de l'Environnement (DRIRE), qui sont les principaux organismes habilités à prendre des décisions en matière de gestion des territoires. Ils s'appuient sur des structures scientifiques ou des associations qui oeuvrent pour la protection de l'environnement. En France, la loi du 10 juillet 1976, relative à la protection des espaces naturels et des paysages et à la préservation des espèces animales et végétales, est le premier outil législatif pour la protection de la nature. Une liste d'espèces végétales protégées sur le territoire national est publiée en 1982. A l'échelle de l'Europe, la Directive "Habitats Faune-Flore" (92/43/CEE) dresse en annexes I et II la liste des espèces animales et végétales qui nécessitent une protection stricte. La plupart des Etats membres de l'Union Européenne éditent des « Livres Rouges », c'est à dire des listes nationales de recensement actualisé des espèces de la flore et de la faune en danger. Le Livre Rouge de la Flore Menacée de France, Tome I : espèces prioritaires, est ainsi publié en 1995 (Olivier *et al.*, 1995). Les niveaux de rareté des espèces étant très variables d'une région à l'autre, la liste nationale est complétée et précisée par des listes régionales d'espèces en danger.

Pour établir et réviser ces listes, le Ministère en charge de l'environnement s'appuie sur le réseau des Conservatoires Botaniques Nationaux. Dans le Massif Armoricain, le Conservatoire Botanique National de Brest, créé en 1975 sous l'impulsion de J.Y Lesouëf et de la Mairie de Brest, puis agréé par le Ministère de l'Environnement en 1990, apporte un appui scientifique et technique aux services de l'Etat et aux collectivités territoriales, pour la préservation de la flore sauvage rare et menacée. C'est dans ce cadre que le Conservatoire Botanique National de Brest établit une liste de 37 espèces à très forte valeur patrimoniale pour la Bretagne (Annezo *et al.*, 1996) parmi lesquelles figure la fougère *Trichomanes speciosum* Willd., le Trichomanès remarquable.

2. CONSERVATION DE *TRICHOMANES SPECIOSUM* WILLD.

2.1 STATUT DE PROTECTION

Trichomanes speciosum Willd. (*Hymenophyllaceae*) est l'une des Ptéridophytes les plus rares et les plus menacées d'Europe (Boudrie *In*: Olivier *et al.*, 1995). Le taxon est ainsi cité en Annexe I de la Convention de Berne, ce qui le place comme l'une des espèces pour lesquelles des mesures législatives et réglementaires de protection doivent être engagées. Le Trichomanès remarquable figure en Annexe II et IV de la Directive Européenne Habitats (Directive 92/43/CEE) : sa rareté impose une protection stricte de la plante et de ses habitats. Dans le Livre Rouge britannique de la flore menacée, l'espèce est qualifiée de vulnérable en Europe (Ratcliffe *et al.*, 1999), ce qui rejoint les données de l'IUCN qui définit le taxon comme "rare" dans le Monde. En France, le Trichomanès remarquable est classé par l'IUCN dans les espèces "en danger", information reprise dans le Livre Rouge de la Flore Menacée de France (Boudrie *In* : Olivier *et al.*, 1995). Le taxon bénéficie d'une protection réglementaire sur l'ensemble du territoire national. De plus, la fougère figure sur les listes d'espèces menacées éditées par les régions françaises où elle est recensée, notamment sur la liste rouge des plantes rares et menacées du Massif Armoricaïn (Annezo *et al.*, 1996 ; Magnanon, 1997).

2.2. VERS UNE GESTION CONSERVATOIRE DE *TRICHOMANES SPECIOSUM* WILLD. DANS LE MASSIF ARMORICAÏN

2.2.1 Constats et besoins identifiés par les acteurs de la conservation

Dans le Massif Armoricaïn, le nombre de stations de *Trichomanes speciosum* Willd. diminue comme sur l'ensemble de son aire de répartition (Ratcliffe *et al.*, 1999). Dans cette région biogéographique française, l'espèce se singularise par un habitat singulier. La fougère sous sa forme de frondes n'a longtemps été recensée qu'à l'intérieur de vieux puits (Louis-Arsène, 1953 ; Annezo *et al.*, 1996 ; Prelli, 1992 ; Boudrie *In*: Olivier, 1995). Dans les autres pays, le taxon n'a jamais été observé dans des habitats anthropisés, mais toujours en milieu naturel (Rumsey *et al.*, 1998). Depuis 1949 et la découverte dans le Morbihan du premier édifice abritant les sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (Louis-Arsène, 1953), une exploration systématique des puits de la région a conduit au recensement, dans les années 50, de 171 puits abritant les frondes de la fougère.

La fougère est observée en habitats naturels dans l'ensemble des parties du monde qu'elle colonise. Cependant, dans le Massif Armoricain, elle n'est recensée que sous la forme de "gamétophytes indépendants". Les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. présentent en effet la capacité de se maintenir par reproduction végétative (Farrar, 1967), sans passage par le stade sporophytique comme dans le cycle de vie classique des Ptéridophytes. C'est seulement très récemment, en 2002, que Ch. Guérolé découvre pour la première fois les frondes de la fougère en habitat naturel armoricain (Poux *et al.*, 2003), dans la vallée du Blavet sur la commune de Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor). A la fin de cette même année, Ch. Guérolé signale une seconde station naturelle de la fougère développant des frondes (Poux *et al.*, 2003) dans un chaos rocheux de la *Forêt de Duault* (Saint-Servais, Côtes d'Armor). Cependant, dans ces deux stations de milieu naturel, l'identité des frondes reste l'objet de controverses (Loriot *et al.*, sous presse). En effet, les sporophytes qui s'y développent présentent une morphologie atypique avec un limbe anormalement peu découpé et une longueur environ trois fois inférieure à celle des frondes classiquement observées dans les puits ou décrites dans la littérature (Prelli, 1992 ; Page, 1997). De telles observations ont toutefois permis de mettre un terme aux théories qui tentaient d'expliquer la stricte localisation, dans le Massif Armoricain, des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. à l'intérieur des puits.

Ces données majeures ne doivent cependant pas masquer la régression du Trichomanès remarquable dans la région (Annezo *et al.*, 1996 ; Bioret *et al.*, 1994 ; Magnanon *et al.*, 2001). Les populations de sporophytes recensées dans les puits ont connu un rythme extrêmement rapide d'extinction : sur les 171 puits recensés dans les années 50, seuls 128 sont comptabilisés en 1976 (J. Moisan, communication personnelle, 2003). L'habitat anthropisé des populations armoricaines à sporophytes les rend particulièrement fragiles. Leur maintien est entièrement soumis aux usages des propriétaires des édifices. En 1995, le dernier inventaire effectué par J. Moisan et F. Tournay confirme le mauvais état de conservation de la fougère : seuls 43 puits abritent toujours les sporophytes (Rivière, 1999). Plus de la moitié (60%) des puits ayant abrité les frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont fermés par des tôles, des planches de bois (**figures 1 et 2**) ou détruits (**figure 3**). Il est probable que ces édifices paraissent dangereux et inutiles à l'époque de l'eau courante au robinet (Loriot *et al.*, sous presse).



Figure 1 : Puits fermé qui abrite des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. (Bourg, La Croix-Helléan, Morbihan)



Figure 2 : Aspect sublétal des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans un puits fermé (Le Rohello, Helléan, Morbihan)



Figure 3 : Puits détruit ayant abrité des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. (Melrand, Morbihan)

Les populations de la fougère en milieu naturel sont elles aussi menacées par les activités humaines. Cela peut-être constaté par exemple après le déboisement de certaines stations (**figure 4**).



Figure 4 : Déboisement d'une station de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. (Cascaëc, Scaër, Finistère)

Ainsi, pour les acteurs de la conservation de la biodiversité, et en particulier pour le Conservatoire Botanique National de Brest, il est apparu urgent d'agir pour mettre en place des mesures s'opposant à l'extinction prévisible à court terme de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain. La protection du taxon dans cette zone biogéographique représente un enjeu d'autant plus important que s'y concentre toujours la majorité des stations à sporophytes du Trichomanès remarquable en France, avec 43 puits recensés en 1995. En effet, au Pays Basque, seconde zone biogéographique où se développent des frondes de la fougère, seules 12 stations sont décomptées en 1992 (Boudrie *In* : Olivier *et al.*, 1995), un nombre à comparer aux 21 stations recensées en 1960.

Dans la mesure où les populations de sporophytes sont présentes à l'intérieur de puits privés, le plus souvent localisés dans des villages, seules 16 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. sont incluses dans l'inventaire des ZNIEFF (Zones Naturelles d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique) de type I ou II. De même, les stations n'ont pas toujours été prises en compte dans le pré-inventaire des sites Natura 2000 et figurent pour bon nombre d'entre elles, en dehors des futurs sites d'intérêt communautaire. Seul un puits appartenant à la ferme éducative de *Lan Bern* (Glomel, Côtes d'Armor) a fait l'objet d'une proposition de convention de gestion (Magnanon *et al.*, 2001) entre le Conseil Général des Côtes d'Armor, propriétaire,

et le gestionnaire de l'édifice. Quant aux stations de gamétophytes indépendants en milieu naturel, c'est uniquement l'ancienne mine de fer gérée par Bretagne Vivante - SEPNEB (*Haut-Sourdéac*, Glénac, Morbihan) qui fait l'objet d'un Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope motivé d'ailleurs, non par la présence de la fougère, mais par celle de chauves-souris. Les gamétophytes indépendants du *Trichomanes* remarquable y bénéficient indirectement du régime de protection.

Jusqu'à présent, desservi par son habitat particulier et de son cycle de vie d'apparence énigmatique, le *Trichomanes speciosum* Willd. reste peu concerné par des mesures de protection ou de gestion conservatoire dans le Massif Armoricaïn. Fort de ces constats, dès 1997, le Conservatoire Botanique National de Brest (Annezo *et al.*, 1996) propose d'inscrire le *Trichomanes* remarquable dans la liste de "37 taxons à très forte valeur patrimoniale pour la Bretagne", établie afin de démontrer aux décideurs régionaux (DIREN, Conseil Régional) que de très importants enjeux floristiques existent et qu'il est nécessaire d'engager des programmes de conservation visant à maintenir, voire à restaurer, ces espèces.

2.2.2 De la connaissance à la conservation : objectifs de l'étude et démarche adoptée

Toute action de préservation de la flore nécessite au préalable une bonne connaissance des espèces et plus précisément de leur chorologie, leur écologie et leur biologie. Dans le Massif Armoricaïn, la protection réglementaire et la gestion conservatoire des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. doivent répondre à deux nécessités : d'une part améliorer les connaissances liées aux particularités du cycle biologique de la fougère dont les gamétophytes sont capables de se maintenir indépendamment sur l'ensemble de son aire de répartition mondiale ; d'autre part, mieux appréhender la spécificité de la fougère dans le Massif Armoricaïn où les populations à sporophytes et celles de gamétophytes indépendants se développent apparemment dans des habitats différents (Annezo *et al.*, 1996 ; Magnanon *et al.*, 2001). Le Conservatoire Botanique National de Brest, dans le cadre d'un dispositif "Contrats Nature" mis en place par la Région Bretagne, avec l'aide financière de la Région, de la DIREN Bretagne et du Conseil Général du Finistère, élabore dès la fin 2001, un projet d'étude et de conservation des stations de *Trichomanes speciosum* Willd.

Le travail se décline en trois objectifs principaux :

Le premier est de vérifier l'identité taxonomique des gamétophytes indépendants et des frondes atypiques pour s'assurer de leur appartenance à l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd.

Le deuxième est l'identification des causes de blocage du cycle de vie de la fougère. Les facteurs environnementaux susceptibles de contrôler la reproduction par voie sexuée des gamétophytes du Trichomanès remarquable et donc la production de frondes, en habitat anthropisé et plus rarement en milieu naturel, sont recherchés.

Le troisième objectif est de montrer si la différence pressentie de niches écologiques entre sporophytes et gamétophytes indépendants de la fougère peut être liée à des adaptations morphofonctionnelles et écophysiological propres à chacune des deux générations.

L'objectif final est la proposition d'un premier plan de conservation de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn. La réalisation de l'ensemble de ces objectifs exige l'adoption d'une démarche multidisciplinaire menée à l'Université de Bretagne Occidentale (UBO), en collaboration avec le Conservatoire Botanique National de Brest, en prenant appui sur les compétences scientifiques et techniques de plusieurs laboratoires et institutions qui nous ont accueillis successivement, en fonction des divers aspects que notre problématique exigeait de développer.

La question de l'identité taxonomique des gamétophytes indépendants et des frondes atypiques est ainsi abordée par la recherche de chimio-marqueurs sur la base de techniques de Résonance Magnétique Nucléaire réalisée au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues Marines (UBO) dirigé par le Professeur E. Deslandes. Elle est complétée par une approche de taxonomie moléculaire menée en collaboration avec le Docteur D. Moraga (LEMAR, équipe RSA ; UBO) et le Docteur A. Aïnouche (ECOBIO ; Rennes 1).

La prise en compte de l'influence des facteurs environnementaux sur le développement des différentes formes de Trichomanès remarquable exige une diagnose des stations armoricaines à sporophytes d'une part et de celles à gamétophytes indépendants d'autre part. Ces aspects

sont traités au Conservatoire Botanique National de Brest, successivement dirigé par Monsieur D. Malengreau puis par Monsieur Dhervé et avec l'aide du Docteur S. Magnanon (Conservatoire Botanique National de Brest), le Docteur J. Bardat (Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris), et le Professeur F. Bioret (Géoarchitecture, UBO).

Les expérimentations visant à établir des critères morphofonctionnels et écophysologiques des gamétophytes et des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont menées pour tenter de mettre en évidence des adaptations potentielles propres à chacune des deux formes de la fougère en fonction de l'habitat. Les analyses sont réalisées conjointement au Laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues Marines et au Laboratoire de Biologie et de Physiologie Cellulaires (UBO) dirigé par le Professeur G. Nonnotte.

Enfin, à partir de l'ensemble des données recueillies sur la chorologie, l'écologie, la biologie et l'écophysologie de *Trichomanes speciosum* Willd., et avec l'aide du Docteur S. Magnanon, des mesures de protection réglementaire, de gestion conservatoire et de suivi des stations de la fougère dans le Massif Armoricaïn sont proposées.

I/ PRESENTATION DE
TRICHOMANES SPECIOSUM WILLD.

I/ PRESENTATION DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD.	12
1 TAXONOMIE	14
2 MORPHOLOGIE	14
3 REPARTITION	18
4 ECOLOGIE	19
5 CYCLE DE VIE	20
5.1 NOTION DE GAMETOPHYTES INDEPENDANTS	20
5.2 RAREFACTION DES SPOROPHYTES	22
5.3 HYPOTHESES LIEES AUX PARTICULARITES DU CYCLE DE VIE	23
5.3.1 Déficience génétique	23
5.3.2 Rareté des structures de la reproduction sexuée	24
5.3.3 Influence des conditions environnementales	25

1 TAXONOMIE

Trichomanes speciosum Willd. est une Ptéridophyte de la classe des Filicopsida, de l'ordre des Filicales. Le taxon appartient à la famille des *Hymenophyllaceae* qui comprend deux genres, *Trichomanes* et *Hymenophyllum*. Le genre *Trichomanes*, défini par Linné en 1853, constitue une entité taxonomique bien délimitée sur la base de critères morphologiques (Héban-Mauri, 1972) : le réceptacle porteur des sporanges est central, filiforme, et dépasse largement le sommet de l'involucre tubulaire à maturité. Au contraire, pour les espèces du genre *Hymenophyllum*, le réceptacle est court. Le filament portant les sporanges demeure dans l'involucre fendu en deux valves.

Le genre *Trichomanes* rassemble plus de 80 espèces (Iwatsuki, 1990) qui se répartissent principalement dans les régions tropicales. Par exemple, *Trichomanes superbum* Backhouse est présent à Bornéo et *Trichomanes meifolium* à la Réunion. Le genre est également présent dans les régions extra-tropicales comme *Trichomanes reniforme* G. Forst en Nouvelle Zélande, *Trichomanes boschianum* Sturm en Amérique du Nord ou *Trichomanes bimarginatum* (Bosch) Bosch. au Japon. En Europe, seules deux espèces sont connues pour représenter le genre *Trichomanes* : d'une part *Trichomanes venosum* R. Br., qui bien que décrit comme une espèce endémique d'Australie et de Nouvelle-Zélande, est recensé en Cornouailles anglaises (Rumsey *et al.*, 1993) ; d'autre part, *Trichomanes speciosum* Willd.

Trichomanes speciosum Willd. n'a été distingué de *Trichomanes radicans* auct., non Schwartz, à distribution pantropicale, qu'en 1810 (Kerguelen, 1993). Il a parfois aussi été confondu avec *Trichomanes anceps* Wall., *Trichomanes birmanicum* Bedd., *Trichomanes japonicum* Fr., *Trichomanes orientale* Christ., *Trichomanes naseanum* Christ., *Trichomanes liu-kiuense* Yabe., *Trichomanes amabile* Nakai, *Trichomanes quelpaertense* Nakai ou encore *Trichomanes kalamocarpum* Hayata. Une telle abondante synonymie est probablement liée à la plasticité phénotypique du taxon (Copeland, 1933 ; Ratcliffe *et al.*, 1993).

2 MORPHOLOGIE

Trichomanes speciosum Willd. se présente sous deux formes distinctes correspondant à une alternance de générations, sporophytique et gamétophytque, comme classiquement chez les Ptéridophytes (Des Abbayes *et al.*, 1971). Les frondes (**figure 5**) sont d'un vert pâle au stade

juvénile puis foncé à l'âge adulte. Elles présentent un long pétiole et un limbe triangulaire typiquement translucide du fait qu'une unique assise cellulaire le compose (Boodle, 1900), sauf au niveau de la nervure centrale. Les frondes peuvent mesurer de 10 à 30 cm de longueur en moyenne (Prelli, 2002) et jusqu'à 50 cm (Makgomol *et al.*, 2001).



Figure 5 : Sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans un puits du Massif Armoricain

Deux à trois fois pinnatiséquées (Stace, 1997), les frondes adultes portent des sores en bordure des pinnules, à l'extrémité de chacune des nervures. L'involucre tubulaire laisse dépasser à maturité le filament porteur des sporanges (**figure 6**).

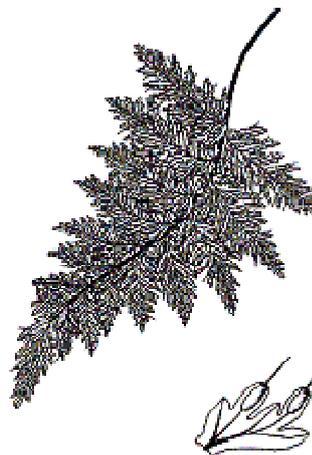


Figure 6 : Fronde de *Trichomanes speciosum* Willd. (x 1/3) et de deux involucre tubulaires (x 3)
(D'après un dessin de P. Danton)

Le rhizome est fin (Stace, 1997). Il mesure jusqu'à 5 mm de diamètre. Il serait dépourvu de racines (Makgomol, 2001), mais porte des fibrilles brun roux qui assurent la fixation au substrat (Jermy *et al.*, 1991). Les frondes se forment sur le rhizome à intervalle de 0,5 à 4 cm (Cusset, 1997).

Les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont des filaments dont l'enchevêtrement forme des coussins vert clair (**figure 7**). Les parois des cellules constitutives des gamétophytes du Trichomanès remarquable sont perpendiculaires à l'axe d'allongement du filament (**figure 8**).



Figure 7 : Gamétophytes filamenteux de *Trichomanes speciosum* Willd. réunis en coussins

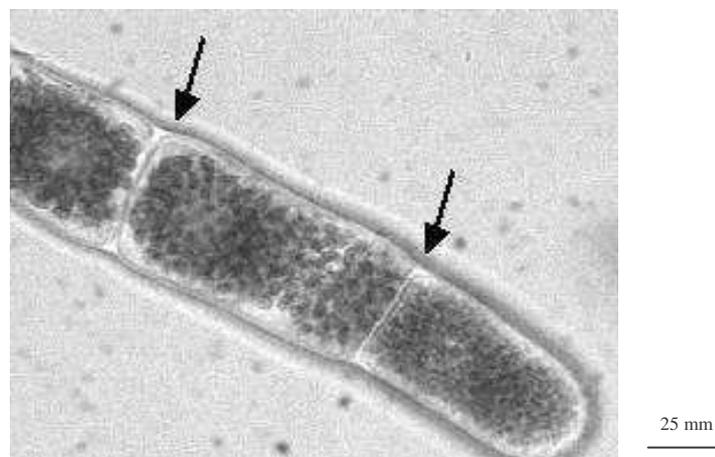


Figure 8 : Parois perpendiculaires à l'axe d'allongement des gamétophytes (microscope optique x 40 ; montage à l'eau)

Les rhizoïdes brun clair unicellulaires (**figure 9**) servent à la fixation et à la nutrition (Rumsey *et al.*, 1998). Ils caractérisent les filaments gamétophytiques.

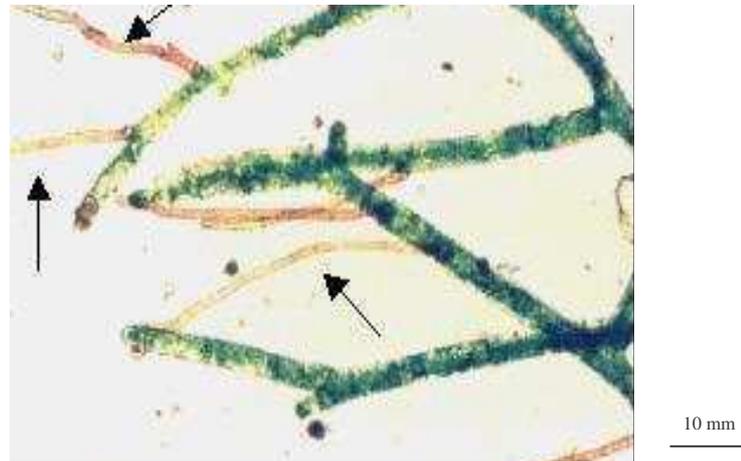


Figure 9 : Rhizoïdes brun clair (microscope optique x10 ; montage à l'eau). D'après C. Jérôme.

Les gamétophytes présentent des cellules gemmifères coniques (**figure 10**) portant des propagules de 0,2 à 1 mm de long (Makgomol *et al.*, 2001). La libération de ces dernières assure la dissémination et laisse une cicatrice caractéristique au niveau des cellules gemmifères et des propagules (**figure 11**).

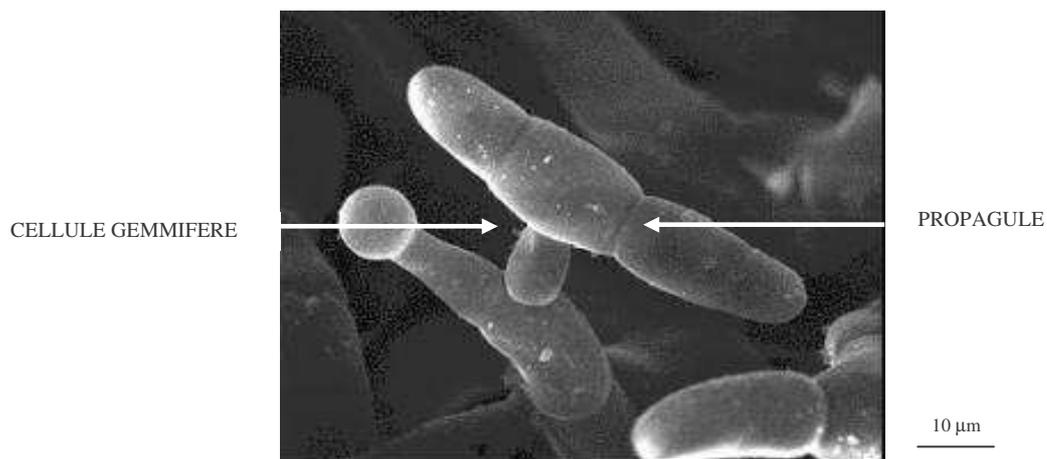


Figure 10 : Cellule gemmifère portant une propagule (microscope électronique à balayage, x 30)

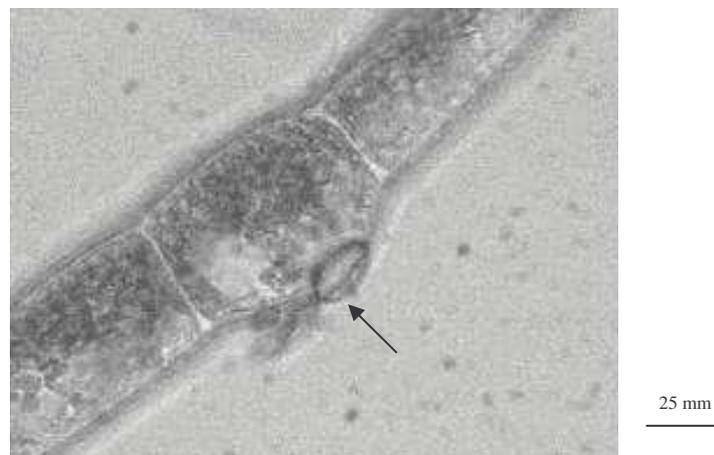


Figure 11 : Cicatrice laissée au niveau de la propagule après sa libération (microscope optique x 40 ; montage à l'eau)

Le gamétophyte porte les structures mâles et femelles de la reproduction sexuée, respectivement les anthéridies et les archégonies (Prelli, 2002). La fécondation donne naissance à un zygote dont le développement résulte en l'émergence d'une nouvelle fronde.

3 REPARTITION

Le *Trichomanes* remarquable est recensé dans les îles de la Macaronésie (archipels de Madère, des Açores et Iles Canaries) ainsi qu'en Europe Occidentale (**figure 12**), en Péninsule Ibérique, en France, Italie, Suisse, Belgique, Allemagne, Luxembourg et dans les Iles Britanniques où l'espèce atteint sa limite septentrionale (Ratcliffe *et al.*, 1993 ; Rich *et al.*, 1995). Dans la partie orientale de son aire de répartition, l'espèce est signalée en République Tchèque (Boudrie *In* : Olivier *et al.*, 1995) ainsi qu'en Pologne (Krukowski *et al.*, 2002).

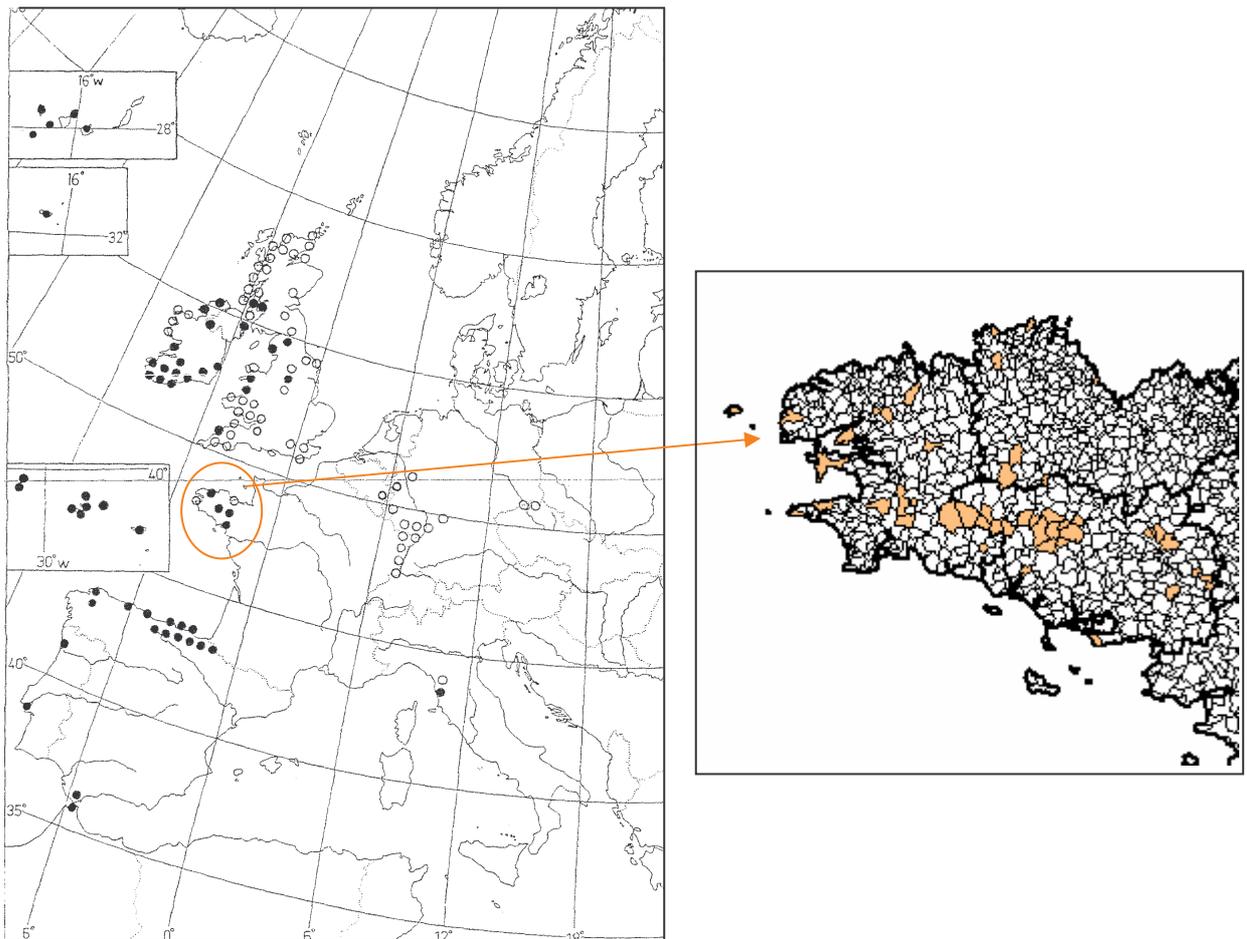


Figure 12 : Carte de répartition mondiale de *Trichomanes speciosum* Willd. (d'après Flora Europaeae)
● stations à sporophytes ○ stations de gamétophytes indépendants (à gauche). Carte de répartition de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain en 2001 (données CBN Brest) (à droite)

La répartition des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. se caractérise par l'importance des hiatus géographiques entre deux stations : ils peuvent atteindre plus d'un millier de kilomètres. Ainsi, en France, la fougère est présente en trois grands pôles disjoints : le Pays Basque (Blanchet, 1891), le Massif Armoricain (**figure 12**) (Louis-Arsène, 1953 ; des Abbayes *et al.*, 1971 ; Prelli *et al.*, 1992 ; Bioret *et al.*, 1994) et les Vosges du Nord (Jérôme *et al.*, 1994) auxquels s'ajoutent des stations éparses sur le territoire national. Trois stations sont recensées dans les Ardennes (Bizot, 2000), quatre dans le Limousin (Boudrie, 2001 ; J.P Barbe, communication personnelle, 2003), une dans le Tarn (Bizot, 2004).

4 ECOLOGIE

Le Trichomanès remarquable se localise dans des affleurements et des chaos rocheux non calcaires (Page, 1997 ; Prelli, 1992), dans des ravines étroites profondément encaissées, sous couverts boisés (**figure 13**). La fougère y occupe le dessous des surplombs légèrement ruisselants, les parois humides des excavations, des fissures ou les rochers proches de cours d'eau, de petite cascade. Dans ces habitats, abrités des courants d'air, l'atmosphère semble constamment saturée d'humidité (Prelli *et al.*, 1992). La plante peut également coloniser l'entrée de grottes suintantes situées dans les falaises des côtes maritimes (**figure 14**). *Trichomanes speciosum* Willd. se développe dans des sites peu éclairés où règnent des luminosités faibles et diffuses (Annezo *et al.*., 1996).



Figure 13 : Chaos rocheux au sein d'une vallée boisée abritant *Trichomanes speciosum* Willd. (Kerlenevez, Saint-Nicolas-du-Pélem ; Côtes d'Armor)

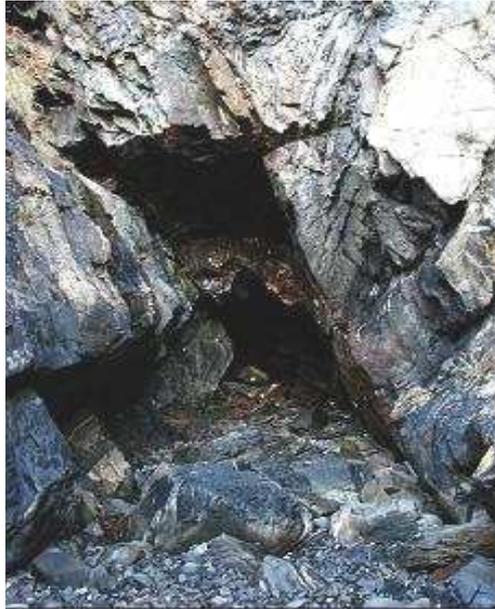


Figure 14 : Grotte située dans une falaise de côte maritime qui abrite les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (Vau Burel, Etables-sur-Mer ; Côtes d'Armor)

5 CYCLE DE VIE

5.1 NOTION DE GAMETOPHYTES INDEPENDANTS

Les frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. ne sont pas observées sur l'ensemble de l'aire de répartition présentée précédemment (figure 12, p. 18). Elles ne sont recensées que dans les régions atlantiques, c'est à dire en Macaronésie et dans certaines stations du Royaume-Uni, du Portugal, d'Espagne, de France, et d'Italie. La distribution du taxon décrite comme "eu-atlantique macaronésienne" (Boudrie *In* : Olivier *et al.*, 1995) se rapporte donc uniquement à la localisation des stations à sporophytes. En effet, dans les autres stations, plus continentales, la fougère n'est représentée que par ses gamétophytes. Pourtant, dans le cycle de vie complet du Trichomanès remarquable, comme classiquement chez les Ptéridophytes, le gamétophyte haploïde est éphémère et ne survit habituellement que le temps de donner naissance à une nouvelle génération diploïde de sporophytes (**figure 15**).

Cependant, les gamétophytes du *Trichomanes speciosum* Willd. ont aussi la capacité de se maintenir par reproduction végétative (**figure 15**) sans transition par le stade sporophytique (Ratcliffe *et al.*, 1993 ; Rumsey *et al.*, 1998 ; Prelli, 2002). Ce sont Wagner *et al.* (1963) qui

les premiers, aux Etats-Unis, ont mis en évidence la capacité des gamétophytes de certaines fougères à se maintenir en absence de sporophyte. Ce phénomène, que Farrar (1967) a nommé «gamétophyte indépendant», n'est pas isolé. Il se rencontre au sein de trois familles de Ptéridophytes : les *Vittariaceae*, les *Grammitidaceae* et les *Hymenophyllaceae*.

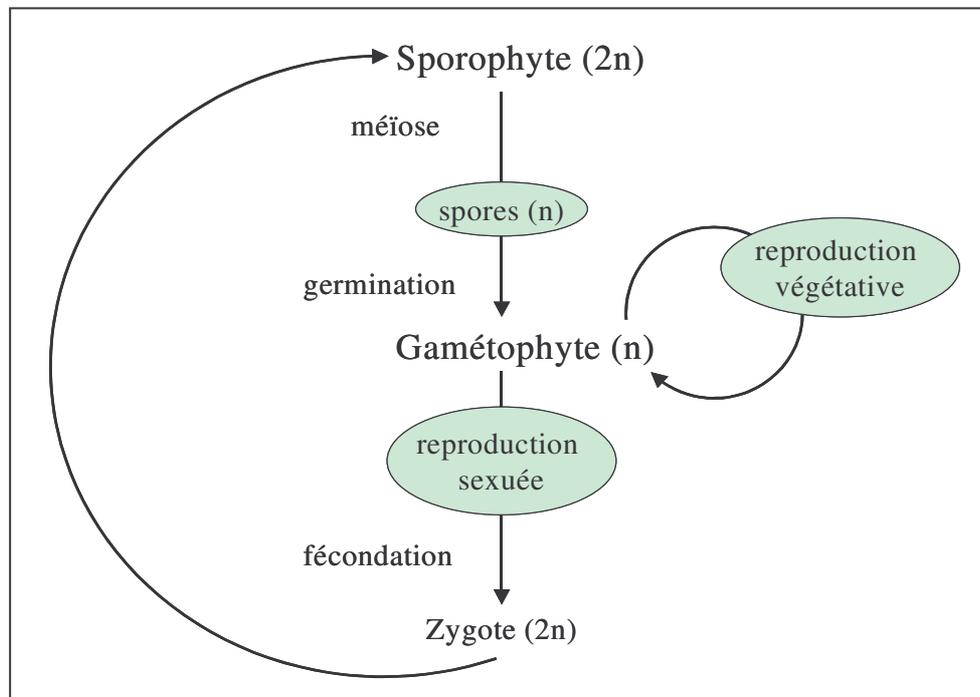


Figure 15 : Cycle de vie de *Trichomanes speciosum* Willd. (d'après Loriot, 2005)

Des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. composées uniquement de gamétophytes sont identifiées en 1989 dans les Iles Britanniques (Rumsey *et al.*, 1990 ; Jermy *et al.*, 1991). Des études par électrophorèse enzymatique (Soltis *et al.*, 1983) permettent alors d'affirmer que les gamétophytes observés sont effectivement ceux du Trichomanès remarquable (Rumsey *et al.*, In : Ide *et al.*, 1992). A l'occasion d'une mission scientifique en Bretagne, des britanniques mettent en évidence la présence de gamétophytes indépendants de la fougère dans le Finistère, en forêt du Huelgoat et au Cap Sizun (Prelli *et al.*, 1992). Les communications scientifiques consécutives révèlent l'identification des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. dans de nombreuses régions d'Europe, y compris dans des pays où l'espèce n'était pas encore recensée sous forme de frondes, comme en Belgique (Bizot, 2001), au Luxembourg, en Allemagne, en République Tchèque et en Pologne (Krukowski, 2002). En France, dans les Vosges, 750 stations de gamétophytes indépendants de la fougère sont ainsi décrites (Jérôme *et al.*, 2001).

5.2 RAREFACTION DES SPOROPHYTES

Les localités où *Trichomanes speciosum* Willd. produit des sporophytes (figure 12, cf. page 18) ont vu leur nombre diminuer durant le siècle passé pour cause de collecte ou de dégradation des habitats (Ratcliffe *et al.*, 1993 ; Boudrie *In* : Olivier *et al.*, 1995). Dans les stations qui se maintiennent, il ne subsiste souvent qu'un petit nombre de frondes. L'exemple de l'état de conservation de la fougère en Irlande ou en Angleterre illustre cette raréfaction : de nombreuses populations historiquement connues (Lees, 1888) ne sont pas retrouvées dans les années 90 par Ratcliffe et ses collaborateurs (1993).

Cependant, dans le même temps, de minuscules lames vertes d'aspect sporophytique, de moins de 1 cm de longueur, sont mises en évidence dans les stations de gamétophytes indépendants, directement portées sur des filaments gamétophytiques (Rumsey *et al.*, 1998). C'est ainsi qu'au Royaume-Uni, de 1990 à 1994, au sein des 105 stations de gamétophytes indépendants recensées, 3 minuscules lames sporophytiques ont pu être décelées (Rumsey *et al.*, 1996). En France, l'observation de 4 micro-frondes est rapportée (Jérôme *et al.*, 1994) dans les Vosges du Nord (*Grotte Saint-Vit*, Savernes ; Bas-Rhin). La plus grande d'entre elles mesure 8 mm (**figure 16**) et montre encore l'attache au niveau de l'archégone du filament gamétophytique, attestant son origine sexuée et non pas végétative (Jérôme *et al.*, 1994).

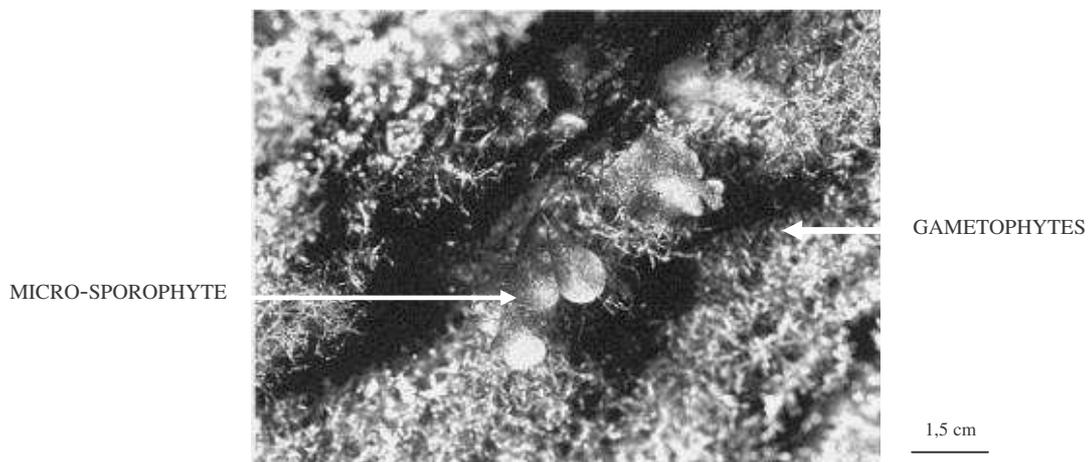


Figure 16 : Micro-sporophytes (<1 cm) observés en 1994 dans la *Grotte de Saint-Vit*, Savernes ; Bas-Rhin. (D'après C. Jérôme)

Des micro-frondes présentant de telles caractéristiques ont fait l'objet de recherches minutieuses, notamment en Allemagne : Starck (2002) parvient à en découvrir dans une station de *Trichomanes speciosum* Willd. proche de la frontière franco-germanique. Mais les observations de micro-sporophytes au sein de l'enchevêtrement des filaments de gamétophytes indépendants demeurent peu nombreuses du fait de leur petite taille et sans doute de leur rareté. Toutefois, le phénomène n'est pas limité au Trichomanès remarquable puisque, aux Etats Unis, des sporophytes de moins de 3 cm de longueur sont décelés (Farrar, 1967) dans une station de gamétophytes indépendants de la fougère *Grammitis nimbata* (Jenm) Proctor (*Grammitidaceae*).

5.3 HYPOTHESES LIEES AUX PARTICULARITES DU CYCLE DE VIE

5.3.1 Déficience génétique

L'absence de développement de frondes adultes au sein des populations de gamétophytes indépendants pourrait avoir une cause génétique. Des cultures contrôlées de gamétophytes de *Blechnum spicant* L. (*Pteridophyta*, *Blechniaceae*) montrent des différences de taux de reproduction entre individus placés dans des conditions similaires (Cousens, 1970). Ceci tend à prouver qu'une composante génétique intervient dans l'accomplissement de la reproduction. Les conséquences de l'hybridation sont invoquées par l'auteur pour expliquer les résultats. Ainsi, chez les fougères, il n'est pas inhabituel que des hybrides inter-spécifiques stériles produisent des spores diploïdes viables (Gastony, 1986) ayant la capacité de germer et de développer des gamétophytes. Cependant, les gamétophytes se montrent alors généralement incapables de générer des sporophytes, sauf occasionnellement par apogamie. Le fait a été observé en deux occasions dans des cultures de gamétophytes indépendants de fougère du genre *Vittaria* (Caponetti *et al.*, 1982). De tels phénomènes pourraient rendre compte des rares observations de micro-sporophytes produits par les gamétophytes indépendants du Trichomanès remarquable.

Klekowski (1976) propose que l'absence de fronde adulte dans certaines populations de Ptéridophytes soit liée à la manifestation d'une dépression de consanguinité. Selon l'auteur, les gamétophytes colonisateurs d'un site sont contraints à des croisements intra-gamétophytiques puisqu'aucun autre individu n'est localement disponible pour une reproduction croisée. Dans

cette situation, si le gamétophyte porte dans son génome haploïde des allèles délétères récessifs ou fardeau génétique, le sporophyte diploïde produit par fécondation porte ces allèles à l'état homozygote : les effets délétères sont exprimés. Chez les Ptéridophytes, la manifestation la plus courante, au niveau phénotypique, de la dépression de consanguinité consiste en la terminaison du développement embryologique avant l'émergence des sporophytes ou bien la production rare de sporophytes viables de morphologie inhabituelle (Raghavan, 1989). Cette dernière hypothèse pourrait expliquer les observations de minuscules sporophytes au sein des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd.

Rumsey et Sheffield (1996) émettent l'hypothèse que le Trichomanès remarquable serait une espèce fréquemment soumise à la dépression de consanguinité du fait de sa triploïdie (Manton, 1950). Les auteurs ont mené des études de polymorphisme enzymatique dont les résultats indiquent que les populations de gamétophytes indépendants pourraient être des clones issus de la reproduction végétative d'un individu fondateur. Cependant Rumsey et Sheffield (1996) n'ont pas pu mettre en évidence une diversité génétique plus importante au sein des populations de gamétophytes associés à des frondes adultes par rapport aux populations de gamétophytes indépendants. Ces travaux semblent donc suggérer que l'absence de développement de sporophytes adultes dans les stations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. n'est pas imputable à la dépression de consanguinité.

5.3.2 Rareté des structures de la reproduction sexuée

La rareté des micro-sporophytes, voire l'absence complète de frondes, pourrait s'expliquer par un défaut de formation des structures reproductrices sur les filaments gamétophytiques dans les stations où ils se maintiennent indépendamment (Rumsey *et al.*, 1996). Il semble que ces structures, plus particulièrement les archégonies, soient très peu observées chez les fougères du genre *Trichomanes*. Farrar (1971) a montré que les gamétophytes indépendants des espèces présentes aux Etats-Unis, par exemple *Trichomanes boschianum* Sturm. et *Trichomanes petersii* A. Gray, présentent le plus souvent peu d'anthéridies et encore moins d'archégonies. En Angleterre, au sein des populations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd., les structures reproductrices femelles n'ont été observées que dans 6 stations (**tableau I**) en 3 ans de recherche (Rumsey et Sheffield, 1996).

Tableau I : Production de gamétanges durant trois années consécutives dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. des Iles Britanniques. D'après Rumsey et Sheffield, 1996

Pays	Nombre de stations	Organes mâles	Organes femelles
Angleterre et Pays de Galle	48	11	2
Ecosse	13	2	3
Irlande	8	5	1
Total pour les Iles Britanniques	69	18	6

5.3.3 Influence des conditions environnementales

Différents paramètres environnementaux sont cités comme pouvant interférer avec la reproduction sexuée des Ptéridophytes. Ainsi, les mouvements flagellaires des anthérozoïdes seraient influencés par le pH de l'eau dans laquelle ils se déplacent, de même que par sa température ou son oxygénation (Dyer, 1979). Par ailleurs, des cultures de gamétophytes de *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. (*Pteridophyta*, *Pteridaceae*) réalisées dans des milieux carencés en sels minéraux mettent en évidence l'absence de production de sporophyte lorsque le phosphore est déficitaire dans le milieu (Dyer, 1979). Chez *Trichomanes speciosum* Willd, Raine (1994) montre que la culture *in vitro* de gamétophytes sous éclairage et température plus élevés qu'*in situ*, mais "non rigoureusement fixées", semble induire la production d'un plus grand nombre d'anthéridies (**tableau II**) mais pas davantage d'archéogones.

Tableau II : Production de gamétanges par des filaments de gamétophytes prélevés dans des stations des Iles Britanniques et cultivés *in vitro*. D'après Raine. In : Rumsey et Sheffield, 1996

Pays	Organes mâles		Organes femelles	
	<i>In situ</i>	<i>In vitro</i>	<i>In situ</i>	<i>In vitro</i>
Angleterre et Pays de Galles	11	37	2	3
Ecosse	2	6	3	3
Irlande	5	7	1	1
Total pour les Iles Britanniques	18	50	6	7

Par ailleurs, Rumsey et Sheffield (1996) envisagent que le manque de lumière puisse être le facteur qui limite le développement des micro-sporophytes observés sur les gamétophytes indépendants de *Trichomanes* remarquable. Les auteurs testent cette hypothèse par des mesures ponctuelles de radiations photosynthétiquement actives (PAR) dans des stations à sporophytes adultes, des stations de gamétophytes indépendants totalement dépourvues de forme sporophytique et des stations de gamétophytes dans lesquelles de minuscules frondes sont décelées. Les analyses n'ont pas montré de différence significative entre les conditions lumineuses moyennes régnant dans les trois types de station (**tableau III**).

Tableau III : Lumière ambiante reçue dans chaque type de micro-site, mesurée par l'estimation des radiations photosynthétiquement actives (PAR). D'après Rumsey et Sheffield, 1996

Génération de la fougère	Nombre de stations	Moyenne du % de PAR	Gamme des mesures (en %)
Sporophytes adultes	13	10	2-26
Sporophytes juvéniles et gamétophytes	8	4	1-8
Gamétophytes	43	1	0,05- 8

Reprenant l'hypothèse de Rumsey et Sheffield (1996), Johnson et ses collaborateurs (2000) analysent les conditions d'éclairement dans deux stations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. de février 1992 à décembre 1993 et d'avril 1992 à décembre 1993 respectivement, selon un rythme "approximativement" mensuel. La densité de flux de photons est en moyenne toujours plus faible dans ces stations que celle enregistrée pendant 3 jours de mai 2003 dans une station irlandaise à sporophytes adultes. Les résultats corroborent les observations de Farrar (1971) qui rapporte que les gamétophytes indépendants de l'espèce nord-américaine *Trichomanes boschianum* Sturm., se développent dans des sites plus sombres que ses sporophytes.

Enfin, les sporophytes adultes de *Trichomanes speciosum* Willd. étant absents des régions d'Europe les plus continentales, depuis la longitude de la Belgique (5°E) jusqu'en Pologne (20°E), la répartition plus large des gamétophytes de la fougère pourrait être liée au climat. Les gamétophytes du Trichomanès remarquable pourraient coloniser une aire géographique plus large par une capacité à se maintenir dans une gamme plus large de conditions environnementales.

II/ MARQUEURS BIOCHIMIQUES ET GENOMIQUES

II/ MARQUEURS BIOCHIMIQUES ET GENOMIQUES	27
1 PLURALITE MORPHOLOGIQUE DE <i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD.	30
2 NECESSITE DU RECOURS AUX CRITERES BIOCHIMIQUES ET GENOMIQUES	30
3 METHODES	32
3.1 ANALYSE CHIMIOTAXONOMIQUE	32
3.1.1 Recherche et caractérisation de molécules discriminant <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)	32
3.1.1.1 Principe de la caractérisation de molécules par RMN	33
3.1.1.1.1 Analyse par RMN en séquence à 1 dimension	33
3.1.1.1.2 Analyse par RMN en séquence à 2 dimensions	33
3.1.1.2 Analyse par RMN d'échantillons frais	34
3.1.1.3 Analyse par RMN d'extraits d'échantillons lyophilisés	35
3.1.2 Fractionnement des extraits par Chromatographie Liquide Haute Pression (CHLP)	36
3.1.2.1 Principe	36
3.1.2.2 Protocole pour le fractionnement des extraits de fougère par CHLP	36
3.1.3 Chromatographie par échange d'ions	37
3.1.3.1 Principe	37
3.1.3.2 Protocole pour l'analyse par chromatographie par échange d'ions	37
3.1.4 Caractérisation de molécules par Electro-Spray et Spectrométrie de Masse (ES - SM)	37
3.1.4.1 Principe	37
3.1.4.2 Protocole pour l'analyse par ES-SM	38
3.2 TAXONOMIE MOLECULAIRE	38
3.2.1 Echantillons analysés	38
3.2.2 Extraction et purification de l'ADN	40
3.2.3 Séquençage d'ADN chloroplastique	40
3.2.3.1 Principe	40
3.2.3.2 Protocole de séquençage de l'ADN	42
4 RESULTATS	43
4.1 CARACTERISATION CHIMIOTAXONOMIQUE	43
4.1.1 RMN du proton	43

4.1.2 Fractionnement des extraits de sporophytes par CHLP	47
4.1.3 Identification de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque chez <i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	50
4.1.3.1 Caractérisation partielle de la structure de la molécule par analyse RMN 2D et expérience <i>J</i> -MOD ¹³ C	50
4.1.3.2 Précision de la structure de la molécule en chromatographie par échange d'ions	55
4.1.3.3 Identification de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque dans l'extrait de sporophytes de <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. par ES-MS	55
4.1.4 Vérification par analyse RMN 2D de la présence de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque dans les extraits de gamétophytes	57
4.1.5 Caractérisation d'une seconde molécule dans les extraits de <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. : la dopamine	58
4.1.6 Vérification par analyse RMN 2D de l'absence de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque et de la dopamine dans l'extrait de sporophytes d'<i>Hymenophyllum tunbrigense</i> L.	62
4.2 DISCRIMINATION TAXONOMIQUE PAR SEQUENÇAGE D'ADN	63
5 DISCUSSION PARTIELLE	65
6 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	68

1 LA PLURALITE MORPHOLOGIQUE DE *TRICHOMANES SPECIOSUM* WILLD.

La bibliographie (Anzezo *et al.*, 1996 ; Rivière, 1999 ; Poux *et al.*, 2003) et les données de terrain centralisées par le Conservatoire Botanique National de Brest montrent que *Trichomanes speciosum* Willd. serait présent sous différentes formes dans les stations armoricaines. Ainsi, trois catégories de stations peuvent être distinguées : 1/ des stations localisées dans des puits, où des gamétophytes et des sporophytes sont conjointement présents ; 2/ des stations sous couvert forestier (*Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem et *Forêt de Duault*, Saint-Servais ; Côtes d'Armor) qui abritent les deux seules populations à sporophytes en milieu naturel armoricain, mais dont les frondes adoptent une morphologie atypique ; 3/ des stations en milieux naturels ou anthropisés, où seuls des gamétophytes indépendants sont recensés.

Préalablement à toute nouvelle étude sur les populations de *Trichomanes* remarquable, il apparaît donc indispensable de vérifier que les frondes atypiques et les gamétophytes indépendants nommés dans la bibliographie *Trichomanes speciosum* Willd., appartiennent effectivement à cette espèce et qu'ils sont par conséquent à prendre en considération.

2 NECESSITE DU RECOURS AUX CRITERES BIOCHIMIQUES ET GENOMIQUES

La détermination de l'identité taxonomique des frondes atypiques et des gamétophytes indépendants nécessite de faire appel à d'autres critères que la seule morphologie utilisée traditionnellement pour classer les espèces animales et végétales. En effet, dans les deux stations de frondes recensées en milieu forestier armoricain, à *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor) et dans la *Forêt de Duault* (Saint-Servais ; Côtes d'Armor), les sporophytes présentent une morphologie qui diffère notablement de celle des frondes localisées dans les puits et des descriptions de la littérature (Stace, 1997 ; Page, 1997 ; Prelli et Boudrie, 1992 ; Boudrie *In* : Olivier *et al.*, 1995). Les limbes triangulaires ne sont pas classiquement pinnatiséqués mais très peu découpés. Leur longueur est réduite par rapport à la normale [10 – 50 cm] (Des Abbayes *et al.*, 1971 ; Prelli, 2002) puisque les plus longues mesurent au maximum 6 cm dans l'une des stations et moins de 3 cm dans l'autre. D'une part, ces caractères morphologiques atypiques peuvent résulter d'une plasticité phénotypique. En effet, sous l'influence de paramètres externes, un génotype peut s'exprimer en des phénotypes variés (Bradshaw, 1965). Ratcliffe et ses collaborateurs (1993) observent une extrême

variabilité morphologique des frondes du *Trichomanes* remarquable entre les stations d'Angleterre et d'Irlande. Il rapporte que Lowe va même, pour cette raison, jusqu'à décrire plusieurs variétés de la fougère, tels qu'*alatum*, *andrewsii*, *cambricum*, *crispum*, *dilatatum*, *dissectum* et *furcatum*. D'autre part, les caractères morphologiques des individus atypiques conduisent à penser qu'il pourrait s'agir d'une autre espèce de la famille des Hyménophyllacées, *Hymenophyllum tunbrigense* L. ou bien d'hybrides entre cette dernière et *Trichomanes speciosum* Willd. (M. Saule, communication personnelle, 2002). Les deux espèces sont très proches taxonomiquement et écologiquement.

Par ailleurs, les gamétophytes filamenteux des fougères du genre *Trichomanes* ne peuvent pas être discriminés sur la simple base de l'anatomie comparée. En effet, leur morphologie est entièrement analogue au sein de ce genre. Ils sont identifiés en Europe comme appartenant à l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd. parce qu'aucun autre taxon de fougère n'est connu de nos jours dans cette partie du monde pour produire des gamétophytes filamenteux (Rumsey *et al.*, 1998). Cependant, il pourrait s'agir de représentants d'une autre espèce dont la génération sporophytique a disparu, tout au moins sur le continent européen. Ainsi, Farrar (1992) a démontré, par analyses allozymiques, que des gamétophytes indépendants identifiés en Amérique du Nord comme *Trichomanes petersii* A. (Gray), appartiennent en réalité à une autre espèce jusqu'alors inconnue et qu'il a nommé *Trichomanes intricatum* Farrar. En Europe, Rumsey et ses collaborateurs (1993), suivant les mêmes méthodes d'étude, ont montré que les gamétophytes indépendants du Royaume-Uni sont véritablement des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Mais, aucune étude similaire n'ayant été menée sur les populations de gamétophytes armoricaines, il s'avère nécessaire de déterminer l'identité taxonomique des gamétophytes indépendants. Ainsi, deux approches, complémentaires, sont adoptées : la recherche de marqueurs biochimiques d'une part et de marqueurs génomiques d'autre part.

Les marqueurs chimiotaxonomiques permettent de discriminer des familles, des genres ou des espèces par la caractérisation d'une molécule ou d'association de molécules qui leur sont propres. Les données bibliographiques indiquent par exemple que les genres *Trichomanes* et *Hymenophyllum* se distinguent l'un de l'autre d'un point de vue biochimique (Markham *et al.*, 1978 ; Cusset, 1997) par leur composition en flavonoïdes. Les espèces du genre *Trichomanes* produisent des C-glycosylflavones tandis que celles du genre *Hymenophyllum*, produisent des flavonol O-glycosides. De plus, au sein des deux genres, chaque espèce est caractérisée par la

production d'une ou plusieurs flavonoïdes caractéristiques (Harbone et Baxter, 1999). Dans le but d'identifier les échantillons soit de sporophytes, soit de gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., et notamment, de les différencier de *Hymenophyllum tunbrigense* L, la caractérisation de la composition en molécules des échantillons de fougère est réalisée par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN).

En première approche, l'une des techniques d'identification par RMN des grands types de composés présents dans un échantillon frais, la HRMAS, High Resolution Magic Angle Spining, est mise en oeuvre. Une préparation d'extraits est ensuite réalisée, suivant le protocole adapté aux différents types de molécules mises en évidence par HRMAS ou retenues d'après les données bibliographiques, ici les flavonoïdes. Le fractionnement des extraits, réalisé par Chromatographie Liquide Haute Performance, s'est imposé pour caractériser, par RMN, les molécules présentes dans les échantillons de fougère à partir de mélanges moins complexes. Lorsque les données RMN ne permettent pas d'aboutir à la caractérisation complète d'une molécule, les hypothèses de structure relatives à celle-ci sont testées par différentes techniques : la chromatographie échangeuse d'ion qui permet notamment de détecter la présence de radicaux chargés sur un composé ou la spectrométrie de masse qui conduit à la détermination de la masse moléculaire d'une molécule et donc à sa composition atomique.

La caractérisation taxonomique des frondes atypiques et des gamétophytes indépendants observés dans le Massif Armoricaïn, est complétée par séquençage d'ADN d'échantillons de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., des gamétophytes associés, de frondes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L., de frondes atypiques et de gamétophytes indépendants. Les espèces ont pour origine un ancêtre commun à partir duquel elles divergent : la biodiversité spécifique s'est ainsi mise en place par mutations du génome, successives et aléatoires. La taxonomie moléculaire permet de préciser l'identité d'un organisme par analyse de son génome.

3 METHODES

3.1 ANALYSE CHIMIOTAXONOMIQUE

3.1.1 Recherche et caractérisation de molécules discriminant *Trichomanes speciosum* Willd. par Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)

3.1.1.1 Principe de la caractérisation de molécules par RMN

3.1.1.1.1 Analyse par RMN en séquence à 1 dimension

La Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) permet d'accéder à la structure chimique de composés. Elle repose sur le principe de la résonance caractéristique de certains noyaux atomiques placés dans un spectromètre dans lequel un champ magnétique est généré. L'un des avantages de cette méthode est d'être non invasive et non destructrice. Il est possible, en première approche, de travailler sur des échantillons fraîchement prélevés par des analyses en HRMAS (High Resolution Magic Angle Spinning) pour obtenir un profil global des petites molécules présentes. Les analyses par RMN sont ensuite classiquement réalisées sur des extraits bruts ou sur des fractions d'extraits purifiés.

L'analyse la plus couramment pratiquée est la RMN du proton en séquence à 1 dimension (^1H -RMN). Elle permet d'apprécier la complexité d'un extrait et de déterminer s'il est nécessaire de le fractionner pour caractériser les molécules composant l'échantillon. L'analyse ^1H -RMN permet également d'obtenir des informations générales sur les familles de composés auxquelles appartiennent les molécules en présence. Concrètement, un spectre RMN se compose de signaux ayant la forme de pics représentant chacun un des noyaux qui entrent dans la composition des molécules. Le déplacement chimique, la forme du signal et les couplages (J) entre pics sont conditionnés par l'environnement chimique des noyaux. L'analyse par RMN en une dimension du carbone (^{13}C) est également pratiquée : l'expérience J -MOD, par exemple, permet de mettre en évidence le degré de substitution des carbones en différenciant ceux qui sont quaternaires (C) et en CH_2 de ceux qui sont en CH et CH_3 .

3.1.1.1.2 Analyse en RMN en séquence à 2 dimensions

Suite aux analyses en séquence à 1 dimension ^1H -RMN et J -MOD ^{13}C , la caractérisation des molécules composant un échantillon est affinée par des analyses RMN en séquence à 2 dimensions (2D). Ces techniques permettent notamment la mise en évidence des couplages entre les noyaux ^1H - ^1H et ^1H - ^{13}C . L'analyse COSY (COrrélation SpectroscopY), séquence en

2D homonucléaire, montre les couplages scalaires en 2J ou 3J entre deux noyaux de même nature. La COSY concerne classiquement les couplages 1H - 1H et le spectre obtenu se présente sous forme de taches de corrélation. Les 2D hétéronucléaires mettent en évidence les couplages entre deux noyaux de nature différente 1H - ^{13}C . Ainsi, l'analyse HMQC (Heteronuclear Multiple Quantum Coherence) identifie le ^{13}C porteur d'un proton ($^1J_{C-H}$), tandis que l'analyse HMBC (Heteronuclear Multiple Bound Coherence) met en évidence les corrélations hétéronucléaires à plus longue distance ($^2J_{C-H}$, $^3J_{C-H}$ voire $^4J_{C-H}$). L'ensemble des informations apportées par l'analyse des spectres RMN c'est à dire l'examen des taches de corrélation, du déplacement chimique et de la forme des signaux, permet de caractériser la structure des molécules par comparaison à des références. Des bases de données, comme par exemple le tableau des déplacements chimiques des carbones et des protons en RMN (Le Corre *et al.*, 1997), indiquent à quels types de groupement chimique peut appartenir par exemple un proton en fonction de son déplacement chimique.

3.1.1.2 Analyse par RMN d'échantillons frais

Deux frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont collectées à *Saint-Fiacre* (Saint-Barthélémy, Morbihan), deux frondes atypiques à *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor) et 10 frondes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. à la *Chapelle-Ruinée* (La Roche-Maurice, Finistère). Des échantillonnages (5 cm²) de gamétophytes indépendants sont réalisés dans la station du *Haut-Sourdéac* (Glénac, Morbihan). Des gamétophytes sont également prélevés dans le puits de *Roc Brien* (Ploërmel, Morbihan) où ils se développent à proximité des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. Les échantillons de sporophytes sont nettoyés à l'eau distillée de même que les gamétophytes qui sont également minutieusement débarrassés sous loupe binoculaire des Bryophytes en mélange pour éviter toute contamination. Pour une première approche visant à comparer la composition en petites molécules des différents types d'échantillons frais de fougères, une analyse par HRMAS en 1H -RMN est entreprise sur des sporophytes et les gamétophytes de *Trichomanes* remarquable et sur des frondes de l'Hyménophylle de Tunbridge. Les échantillons sont placés dans une sonde en présence de solvant deutéré qui permet, en particulier, de simplifier le spectre RMN par élimination des signaux des protons échangeables remplacés par le deutérium. Les spectres 1H -RMN des échantillons de *Trichomanes speciosum* Willd. et d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. sont comparés en portant une attention particulière à la zone des déplacements chimiques de 6 à 7 ppm. Il s'agit en effet de la partie du spectre où sont attendus certains signaux caractéristiques

des flavonoïdes, molécules susceptibles de discriminer les genres *Trichomanes* et *Hymenophyllum* d'après les données bibliographiques (Markham *et al.*, 1978 ; Cusset, 1997).

3.1.1.3 Analyse par RMN d'extraits d'échantillons lyophilisés

Suite aux expérimentations par HRMAS sur des frondes et des gamétophytes frais, des études par RMN sont réalisées sur des extraits. Pour cela, des échantillons de même nature et provenant des mêmes stations que ceux précédemment décrits sont congelés, lyophilisés, puis réduits en poudre à l'aide d'un broyeur à bille. Deux types d'extraction sont testés sur les échantillons de sporophytes de *Trichomanès* remarquable et d'*Hyménophylle* de Tunbridge : soit par un mélange binaire hydro-alcoolique à 50%, 70% ou 90% de méthanol (Wallace, 1996 ; Johnson *et al.*, 2002 ; Oliveira *et al.*, 2003), soit par un solvant composé de méthanol, de chloroforme et d'eau (MCW) dans les proportions volumétriques respectives de 12 / 5 / 3 (Dickson, 1979). Ce dernier mélange de solvant d'extraction présente l'avantage d'éliminer les pigments photosynthétiques des extraits. Le solvant d'extraction est utilisé dans les proportions de 2,5 mL par 100 mg de poudre de fougère. Après agitation magnétique pendant 20 min à température ambiante, les échantillons sont centrifugés à 4000 rpm, à 4°C, pendant 15 min. Ce protocole d'extraction est répété deux fois sur le culot résultant de la centrifugation et les trois surnageants sont rassemblés. Les extractions par le mélange MCW nécessitent de rajouter au final un volume minimal d'eau pour qu'une phase inférieure organique, éliminée, et une phase supérieure hydro-alcoolique, prélevée, se ségrègent.

Les fractions collectées suivant les deux modes d'extraction sont amenées à sec, sous vide, à l'aide d'un évaporateur rotatif et reprises dans 650 µL d'un solvant deutéré approprié, l'eau, le méthanol ou le chloroforme par exemple, pour les analyses RMN ultérieures. Le protocole ayant permis d'obtenir la meilleure résolution de signaux sur les spectres est appliqué pour préparer les extraits de frondes atypiques et de gamétophytes pour lesquels seuls quelques milligrammes sont disponibles. Le spectre ¹H-RMN des frondes atypiques est comparé à celui des sporophytes de *Trichomanès* remarquable et d'*Hyménophylle* de Tunbridge. Le spectre des gamétophytes indépendants et celui des gamétophytes associés aux frondes de *Trichomanès* remarquable sont comparés avec celui des sporophytes de cette fougère. Des analyses par ¹H-RMN, des expériences *J*-MOD et des 2D COSY, HMQC et HMBC sont réalisées afin de caractériser les molécules qui permettent de discriminer l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd, sous forme de sporophyte et de gamétophyte. Une analyse

RMN HMBC est réalisée sur l'extrait de sporophytes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. afin de vérifier l'absence, chez cette espèce, des molécules permettant de caractériser le Trichomanès remarquable.

3.1.2 Fractionnement des extraits par Chromatographie Liquide Haute Pression (CHLP)

3.1.2.1 Principe

L'analyse d'un mélange complexe peut être simplifiée en le fractionnant ou en isolant ses différents composants par chromatographie. La Chromatographie Liquide Haute Pression (CHLP) consiste à faire progresser différenciellement les molécules constitutives du mélange à travers une colonne, appelée phase stationnaire, sous l'effet de la pression exercée par un fluide éluant ou phase mobile. Les constituants du mélange sont inégalement retenus en fonction de leur structure chimique et de leur affinité avec la colonne. Le chromatogramme CLHP résultant est caractéristique de l'échantillon analysé : il présente, sous forme de pics, l'élution progressive des composés en fonction du temps. La sortie de colonne d'un composé ou d'un groupe de composés co-élus est signalée par un détecteur, UV par exemple, ce qui permet de les collecter séparément pour des analyses ultérieures.

3.1.2.2 Protocole pour le fractionnement des extraits de fougère par CLHP

L'extrait de frondes atypiques et celui de sporophytes (*Trichomanes speciosum* Willd. ou *Hymenophyllum tunbrigense* L.) dont les spectres ¹H-RMN sont semblables, sont fractionnés par Chromatographie Liquide Haute Pression. Ils sont chromatographiés sur une colonne inverse de type C18 Waters Spherisorb ODS2 5μ avec une détection UV à 280 nm (Carnat *et al.*, 1998 ; Johnson *et al.*, 1998 ; Onyilagha *et al.*, 2003). Le protocole le plus couramment utilisé pour l'étude des flavonoïdes est appliqué (William *et al.*, 1995 ; Oliveira *et al.*, 2003 ; Krenn *et al.*, 2003) pour tenter de discriminer, sur la base de ces molécules ciblées, l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd. au sein des échantillons de frondes et de gamétophytes. Un gradient d'eau (A) et d'acétonitrile (B) (Krenn *et al.*, 2003 ; Albach *et al.*, 2003) se révèle le plus adapté au fractionnement des extraits avec, de t₀ à t_{5 min}, 100% de A ; à partir de t_{5 min} un gradient linéaire permet d'atteindre à t_{30 min} : 40% de A et 60% de B et de t_{30 min} à t_{40 min}, de nouveau 100% de A. Les profils chromatographiques des différents extraits de frondes sont

comparés. Par ailleurs, un extrait de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd. est chromatographié afin de le fractionner et de collecter les solutés élués ou co-élués pour des analyses RMN 2D qui visent à caractériser les molécules permettant de discriminer le Trichomanès remarquable de l'Hyménophylle de Tunbridge.

3.1.3 Chromatographie par échange d'ions

3.1.3.1 Principe

La chromatographie par échange d'ions permet de séparer les composants d'un mélange en fonction de leur charge ionique. Elle se pratique le plus souvent par passage d'un échantillon à travers une colonne qui contient des résines échangeuses d'ions. Il s'agit de petites billes qui portent des groupements ionisables soit cationiques, soit anioniques, ayant la propriété d'échanger de façon réversible certains de leurs ions avec ceux des molécules composant l'échantillon. Classiquement, après dépôt de l'échantillon en tête de colonne, un volume d'eau est passé sur la colonne afin d'entraîner les composés non retenus par la résine : il s'agit de l'effluent. Pour éluer les composés fixés à la résine, un solvant choisi en fonction de sa force éluante, du type de résine et des composés à analyser, est déposé sur la colonne : l'éluat est collecté en sortie de colonne.

3.1.3.2 Protocole pour l'analyse par chromatographie par échange d'ions

Afin de préciser la structure d'un des composés permettant de discriminer les échantillons de *Trichomanes speciosum* Willd. de ceux d'*Hymenophyllum tunbrigense* L., la fraction d'extrait de sporophyte de Trichomanès remarquable préalablement isolée par CHLP et contenant ce composé est analysée par chromatographie par échange d'ions sur résine échangeuse de cations BIO-RAD AG[®] 50W-X8. Un volume de 5 mL de la fraction CHLP de Trichomanès remarquable est déposé au sommet de la colonne et 25 mL d'eau distillée sont passés sur la résine. L'effluent est collecté. Puis, 16 mL d'hydroxyde d'ammonium (2M) sont déposés sur la colonne et l'éluat est collecté. Après évaporation des solvants, les résidus de l'effluent d'une part et de l'éluat d'autre part sont analysés par ¹H-RMN.

3.1.4 Caractérisation de molécules par Electro-Spray et Spectrométrie de Masse (ES-SM)

3.1.4.1 Principe

La spectrométrie de masse (SM) est une technique analytique très puissante qui permet de déterminer la masse moléculaire de composés organiques. L'échantillon est dissout dans un mélange classiquement composé d'un mélange binaire d'acétonitrile et d'eau dans les proportions équivalentes. Introduit par l'intermédiaire d'un capillaire dans le spectromètre, l'échantillon est désolvaté et selon la technique de l'electrospray (ES), il est transformé en un fin brouillard de gouttelettes ionisées sous l'action d'un gaz nébulisateur tel que l'azote. Les molécules, chargées, sont analysées en spectrométrie de masse. Elles sont pour cela placées dans un champ magnétique établi dans le vide et décrivent des trajectoires propres à leur composition atomique. Les résultats de l'ES-SM se présentent sous forme d'un spectre de masse formé de pics correspondant aux masses moléculaires détectées par un analyseur.

3.1.4.2 Protocole pour l'analyse par ES-SM

Afin de déterminer la masse moléculaire d'un composé discriminant les échantillons de *Trichomanes speciosum* Willd., un échantillon de la fraction CHLP d'extrait de sporophyte de la fougère le contenant est préparé pour des analyses en ES-SM. La fraction est lyophilisée puis remise en solution dans un mélange binaire eau : acétonitrile (50:50, v:v) pour obtenir les trois concentrations de 1 mg.L⁻¹, 5 mg.L⁻¹ et 10 mg.L⁻¹. Chaque échantillon est analysé par ES-MS. La masse indiquée pour le composé analysé est confrontée aux hypothèses de structures proposées pour ce composé à partir des analyses RMN effectuées au préalable.

3.2 TAXONOMIE MOLECULAIRE

3.2.1 Echantillons analysés

Des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont collectés dans 4 puits armoricains (**tableau IV**) et 2 frondes atypiques dans la station forestière de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem) en deux placettes différentes. Pour la vérification de l'identité taxonomique des gamétophytes indépendants, des prélèvements sont effectués dans 5 stations armoricaines éloignées géographiquement et représentatives de la diversité des habitats. Des gamétophytes

sont également échantillonnés dans 3 puits où se développent des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Trois échantillons de frondes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. sont prélevés à la *Chapelle Ruinée* (La Roche-Maurice, Finistère), une station forestière où se développent aussi des gamétophytes indépendants (**tableau IV, figure 17**). Les gamétophytes sont examinés sous une loupe binoculaire pour éliminer les éléments contaminants tels que des Bryophytes, des algues d'eau douce ou des insectes. Les échantillons sont lavés à l'eau distillée et conservés dans des tubes Eppendorf à -80°C .

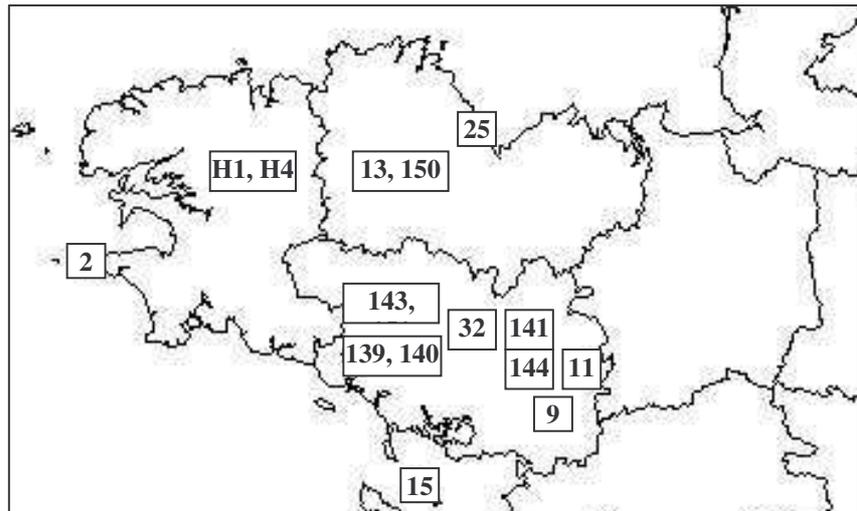


Figure 17 : Carte de répartition des stations échantillonnées pour une analyse par séquençage d'ADN (les stations sont indiquées par leur numéro code)

Tableau IV : Caractéristiques des échantillons analysés par séquençage de l'ADN

Espèce	Type d'échantillon	N°	Station	Type de station
<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	Sporophytes	143	Castelgal, Lignol	puits
		139	Saint-Barthélémy, Saint-Fiacre	
		141	La Touche, Taupont	
		144	Roc Brien Ploërmel	
	Gamétophytes à proximité de sporophytes	151	Castelgal, Lignol	
		32	Botcalper, Bubry	
<i>Hymenophyllum tunbrigense</i> L.	Sporophytes	H1	Chapelle-Ruinée placette 1 La Roche-Maurice	affleurement rocheux sous couvert forestier
		H4	Chapelle Ruinée placette 2 La Roche-Maurice	
Identité à vérifier	Gamétophytes indépendants	2	Golvinog, Plogoff	grotte des côtes maritimes
		9	Haut-Sourdéac, Glénac	ancienne carrière
		11	La Ruaudais Saint-Nicolas-du-Tertre	puits
		25	Plage de la Banche, Binic	grotte des côtes maritimes
		15	Port Saint Nicolas, Houat	grotte des côtes maritimes
	Sporophytes atypiques	13	Kerlenevez placette 1 Saint-Nicolas-du-Pélem	chaos rocheux sous couvert forestier
		150	Kerlenevez placette 2 Saint-Nicolas-du-Pélem	

3.2.2 Extraction et purification de l'ADN

Les échantillons de gamétophytes et de sporophytes, conservés à -80°C , sont broyés au pilon dans l'azote liquide. Afin d'extraire et de purifier l'ADN, un kit Dneasy[®] Plant (Qiagen), spécialement adapté au matériel végétal, est utilisé. Les Ptéridophytes contiennent en effet de nombreux métabolites secondaires qui peuvent inhiber l'amplification de l'ADN. Le protocole prescrit par le fournisseur du kit Qiagen est appliqué : le matériel est tout d'abord lysé par adjonction d'un tampon dans lequel est ajoutée une RNase permettant de dégrader les ARN. Les protéines et les polysaccharides sont ensuite précipités par centrifugation et éliminés avec les débris cellulaires. L'échantillon est transféré sur une colonne dans laquelle l'ADN se fixe spécifiquement sur une membrane de silice. Deux lavages de la colonne suivis de centrifugations permettent d'éliminer le reste des contaminants. L'ADN extrait et purifié est ensuite élué de la membrane et repris dans un tampon permettant sa conservation à 4°C .

3.2.3 Séquençage d'ADN chloroplastique

3.2.3.1 Principe

Le séquençage de l'ADN est une technique d'exploration du polymorphisme génétique qui décrit la succession des nucléotides d'une région déterminée du génome. Par la technique de réaction en chaîne de polymérisation (Polymorphism Chain Reaction, PCR), une séquence sélectionnée est amplifiée par réplifications successives afin d'augmenter exponentiellement la quantité d'ADN au locus ciblé (**figure 18**). Les séquences des extrémités du fragment à amplifier sont connues ce qui permet de synthétiser les 2 amorces oligonucléotidiques, chacune complémentaire de l'un des brins de l'ADN à répliquer. La PCR se base sur un cycle renouvelé 20 à 40 fois, au cours duquel la quantité d'ADN double. Ce cycle comprend 3 étapes (**figure 18**) : une dénaturation initiale de l'ADN par la chaleur permettant la séparation des brins, une hybridation des amorces et une élongation des amorces par liaison de nucléotides (dNTP) par l'enzyme Taq Polymerase. Chacune des étapes est réalisée à une température et pendant un temps choisi en fonction de la séquence à analyser.

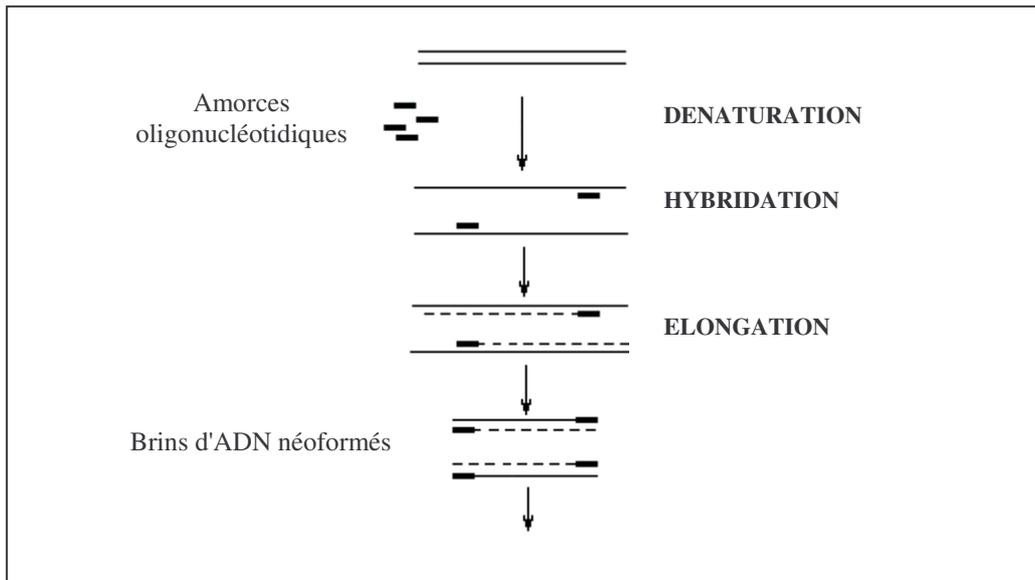


Figure 18 : Principe de la Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR) de l'ADN

Pour déterminer l'enchaînement des bases dans la région du génome d'intérêt, une faible proportion de désoxyribonucléotides triphosphates, dNTP, (**figure 19**) est remplacée par des didésoxyribonucléotides triphosphates (ddNTP) qui se caractérisent par l'absence du groupement hydroxyle sur lequel s'opère habituellement la liaison d'un nouveau nucléotide lors de l'allongement du brin néoformé.

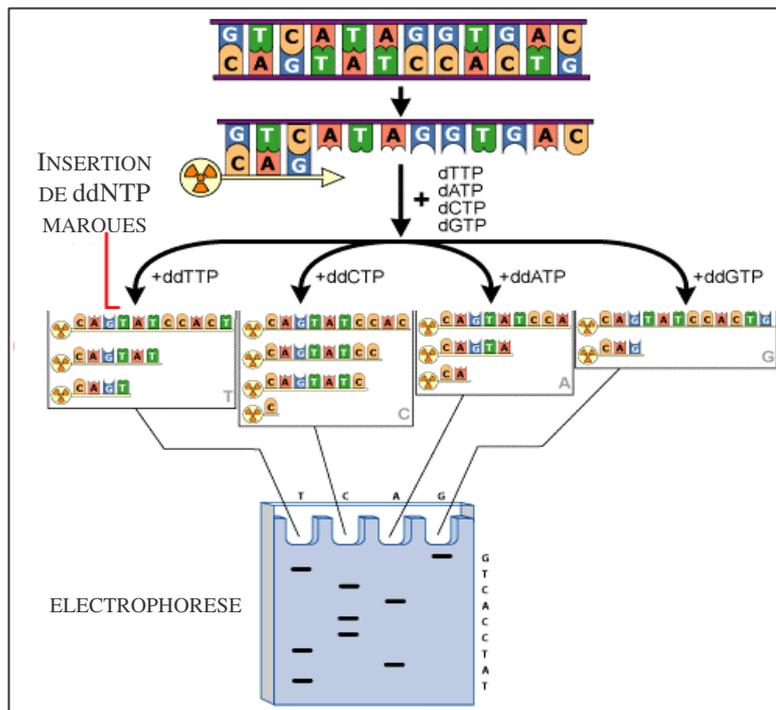


Figure 19 : Principe du séquençage (d'après *The National Biological Information Structure, USA*).
 dNTP, désoxyribonucléotides triphosphates ; ddNTP, didésoxyribonucléotides triphosphates. Le marquage des ddNTP est obtenu par radioactivité ou par des fluorochromes

Lorsque l'enzyme polymérase insère un ddNTP, la réaction de polymérisation de l'ADN est interrompue ce qui aboutit à la formation de fragments de différentes longueurs. L'électrophorèse permet la séparation de ces fragments sur le principe de la migration différentielle des acides nucléiques dans un champ électrique selon leur charge et leur poids moléculaire. Les ddNTP étant marqués radioactivement ou par des fluorochromes, la lecture du profil électrophorétique est effectuée par un séquenceur automatique qui reconstitue la séquence de la région amplifiée.

3.2.3.2 Protocole de séquençage de l'ADN

Afin de vérifier l'identité taxonomique des gamétophytes indépendants et des frondes atypiques, deux régions non codantes du génome (**tableau V**) sont sélectionnées dans "GeneBank", une base de données informatiques regroupant l'ensemble des séquences d'ADN connues chez des organismes vivants. Ces régions sont séquencées chez les 17 échantillons de fougère (cf. tableau IV, p 39) et comparées.

Tableau V : Séquences d'ADN retenues ; Espèces pour lesquelles ces séquences sont disponibles dans GeneBank et références bibliographiques associées

Séquences	Taille	GeneBank	Nature de l'ADN	Référence bibliographique	Amorces "sens"	Amorces "antisens"
<i>trn L-trn F</i>	1015 pb	tabac	ADN chloroplastique non codant	Taberlet <i>et al.</i> , 1991	5'CGAAATCG GTAGACGCTACG	5'ATTGAACT GGTGACACGAG
ITS1-ITS4	700 pb	champignon	ADN ribosomique région intergénique	White <i>et al.</i> , 1990	5' TCCGTAGGTG AACCTGCGG	5'CCTCCGCTTAT TGATATGC

Le séquençage est effectué à partir d'ADN amplifié par Réaction de Polymérisation en Chaîne (PCR). L'amplification des régions à séquencer se déroule dans un milieu réactionnel de 50 µL composé de 1X de tampon (10X), de 2,5 U de Taq Polymerase (Uptitherm DNA polymerase, Uptima), 4 mM de MgCl₂ (50mM), 1 mM de dNTP (2mM), 0,4 mM de chaque amorce (10 µM), 50 ng.µL⁻¹ d'ADN et de l'eau ultra-pure pour ajuster le volume à 50µL. Pour l'amplification de la séquence *trn L – trn F*, le cycle de PCR est réalisé selon les conditions suivantes : un pré-cycle avec 5 min à 94°C ; 22 cycles d'amplification avec 1 min à 94°C, 1 min à 48°C, 2 min à 72°C et finalement 5 min à 72°C. Pour la séquence ITS 1 - ITS 4, le cycle de PCR inclus un pré-cycle avec 1 min à 85°C puis 3 min à 94°C ; 30 cycles d'amplification avec 40 sec à 94°C, 40 sec à 48°C, 1 min 30 à 72°C et finalement 7 min à

72°C. Les températures d'hybridation sont calculées d'après la formule $T_m - 3^\circ\text{C}$ avec T_m correspondant à la température de fusion des amorces calculée d'après Breslauer et ses collaborateurs (1986).

Les produits PCR sont ensuite purifiés à l'aide d'un kit Geneclean[®] II, suivant le protocole délivré par le fournisseur. Cette étape permet d'éliminer les résidus d'amorces et de nucléotides non incorporés lors de la PCR. Le principe de cette purification est de retenir l'ADN sur des billes de silice de façon à laver le produit PCR des contaminants, puis d'éluer l'ADN ainsi purifié. Les produits PCR sont ensuite expédiés à la société prestataire de service Macrogen (Séoul, Corée du Sud) pour être séquencés. Le séquençage y est conduit avec un kit d'amplification "Big Dye Terminator", c'est à dire un marquage des ddNTP par des fluochromes. Les séquences sont lues par un séquenceur automatique 3730xl. Les séquences ainsi obtenues sont visualisées à l'aide du logiciel Chromas v. 1.45 puis elles sont alignées avec le logiciel BioEdit v.6.0.7 (Idid Pharmaceutical Inc.) et corrigées manuellement. Les reconstructions phylogénétiques sont conduites sur le logiciel Mega v. 2.1 (Kumar *et al.*, 2001) suivant deux méthodes : le maximum de parcimonie et la méthode UPGMA basée sur les distances K2P (Kimura deux paramètres ; Kimura, 1980).

4 RESULTATS

4.1 CARACTERISATION CHIMIOTAXONOMIQUE

4.1.1 RMN du proton

Les analyses ¹H-RMN par HRMAS d'échantillons frais ne montrent pas de résultat exploitable (**figure 20**) du fait de la sédimentation des gamétophytes et des sporophytes dans le rotor.

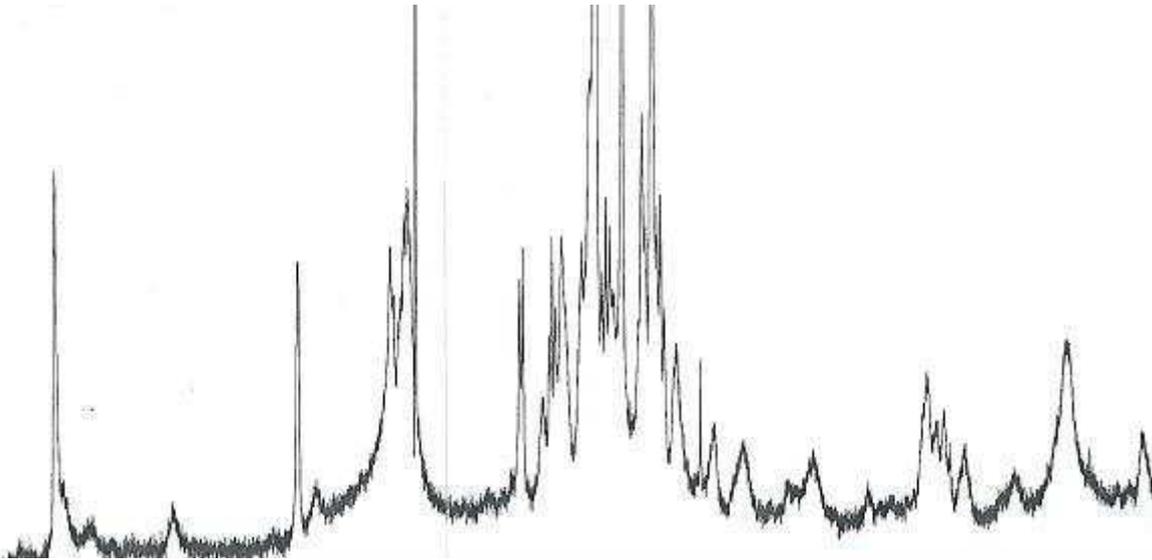


Figure 20 : Spectre de l'analyse ^1H -RMN par HRMAS d'un échantillon frais de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.

En revanche, les analyses ^1H -RMN d'extraits de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. et de *Hymenophyllum tunbrigense* L., lyophilisés et réduits en poudre, permettent l'obtention de spectres de bonne résolution. L'ensemble des protocoles d'extraction testés se révèle efficace. Cependant, l'extraction par le mélange hydro-alcoolique au méthanol à 70% donne constamment des spectres de meilleure qualité. Elle est donc appliquée pour l'analyse des échantillons de frondes atypiques et de gamétophytes, indépendants ou non.

La comparaison des spectres ^1H -RMN met en évidence des différences significatives entre les frondes de *Trichomanes* remarquable (**figure 21**) et celles de l'Hyménophylle de Tunbridge (**figure 22**), notamment dans la zone de 6-7 ppm (parties par million) dans laquelle sont attendus certains des signaux caractéristiques des flavonoïdes que nous avons *a priori* retenus comme molécules discriminantes des genres *Trichomanes* et *Hymenophyllum*.

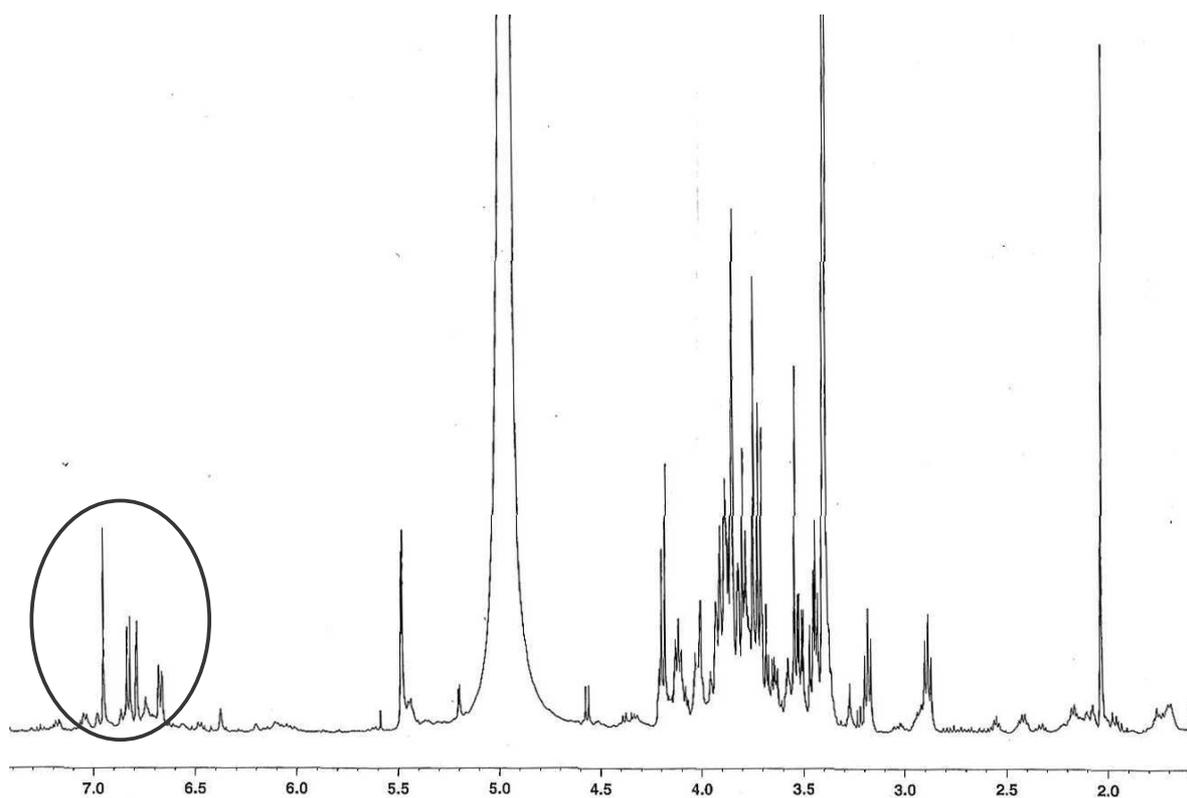


Figure 21 : Spectre ^1H -RMN de l'extrait de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd. (méthanol deutéré). Les signaux de la zone de 6 à 7 ppm dans laquelle sont attendus ceux des flavonoïdes sont entourés

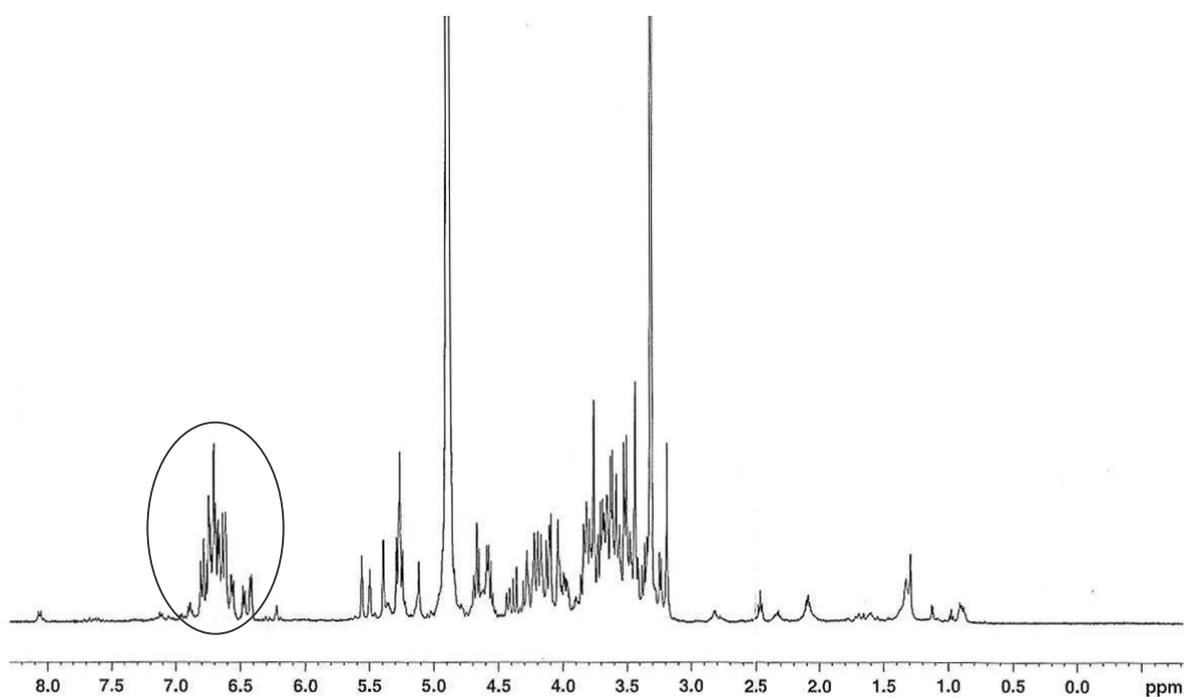


Figure 22 : Spectre ^1H -RMN de l'extrait de sporophytes de *Hymenophyllum tunbrigense* L. (méthanol deutéré). Les signaux de la zone de 6 à 7 ppm dans laquelle sont attendus ceux des flavonoïdes sont entourés.

La comparaison du spectre ^1H -RMN de l'extrait de frondes atypiques (**figure 23**) avec celui de chacun des deux sporophytes (**figures 21 et 22**, cf. p 45) montre une homologie certaine avec *Trichomanes speciosum* Willd, notamment dans la zone des 6-7 ppm.

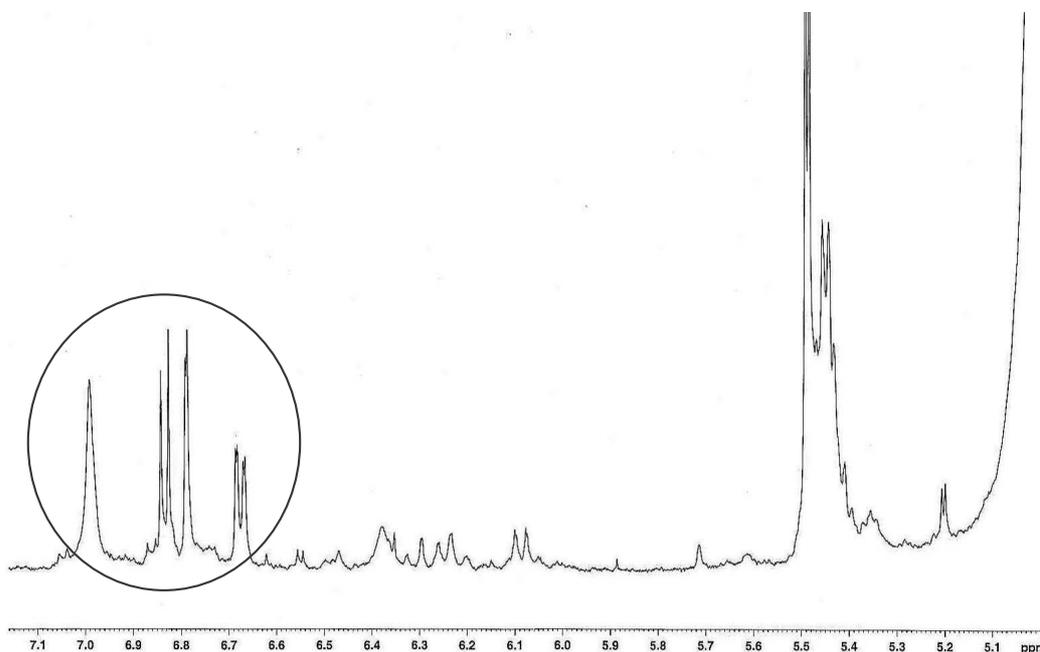


Figure 23 : Spectre ^1H -RMN de l'extrait de fronde atypique (méthanol deutéré). Les signaux de la zone de 6 à 7 ppm dans laquelle sont attendus ceux des flavonoïdes sont entourés.

Le spectre ^1H -RMN des extraits de gamétophytes dont les échantillons ont été récoltés à proximité des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. (**figure 24**) montre aussi des signaux semblables à ceux des sporophytes de la fougère et des frondes atypiques.

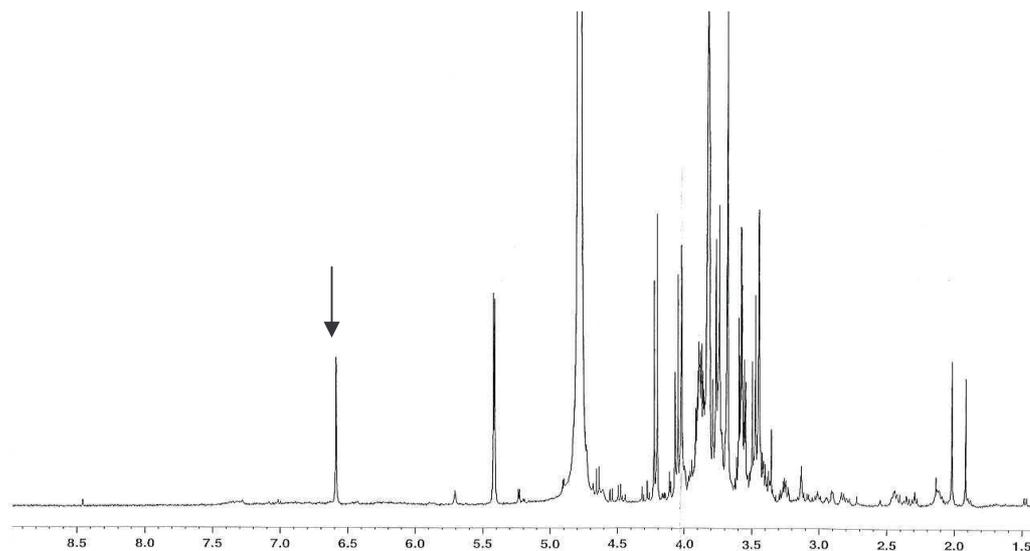


Figure 24 : Spectre ^1H -RMN d'extrait de gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (eau deutérée). Le signal à 6,6 ppm est indiqué par une flèche

Un signal à 6,6 ppm est en effet observé sur le spectre ^1H -RMN des extraits de gamétophytes. Il correspond au signal détecté à 6,9 ppm sur celui des extraits de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd. et de fronde atypique. Un léger déplacement de pic, répétable à l'identique d'une manipulation à l'autre, en fonction du solvant deutéré est en effet connu et admis. Le signal à 6,6 ppm dans l'eau deutérée (à 6,9 ppm dans le méthanol deutéré) pourrait donc correspondre au noyau d'une molécule commune à ces trois échantillons.

Le spectre ^1H -RMN de l'extrait de gamétophytes indépendants, quoique de résolution médiocre, présente toutefois nettement des signaux dans la zone des 6 à 7 ppm, en particulier au niveau de 6,6 ppm, comme pour les extraits de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., de frondes atypiques et de gamétophytes associés aux sporophytes (**figure 25**).

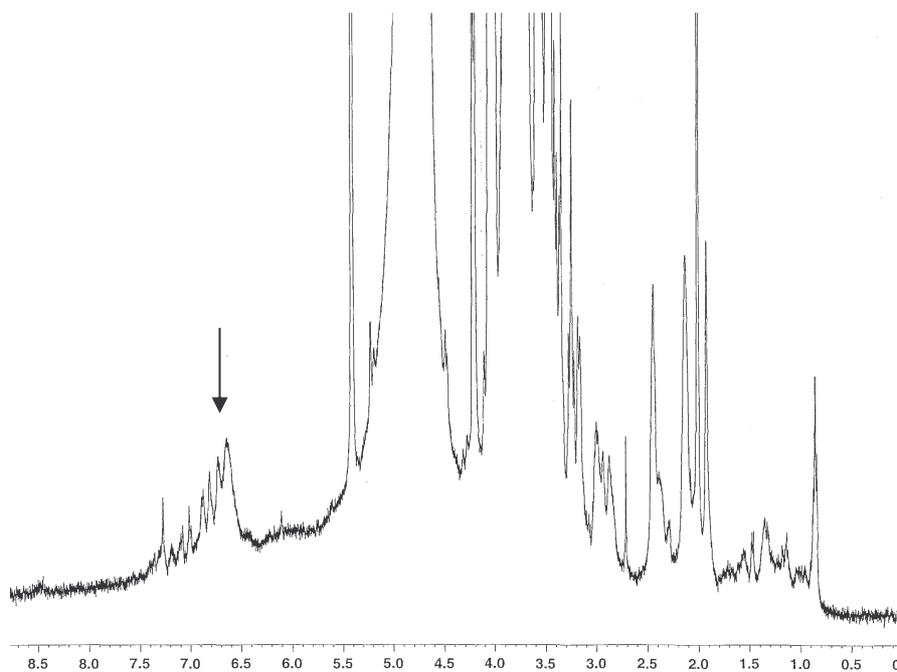


Figure 25 : Spectre ^1H -RMN de l'extrait de gamétophyte indépendant (eau deutérée). Le signal à 6,6 ppm est indiqué par une flèche

4.1.2 Fractionnement des extraits de sporophytes par CLHP

Sur la base de l'homologie entre les spectres ^1H -RMN des extraits de fronde atypique et de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd., ces deux échantillons sont fractionnés par Chromatographie Liquide Haute Pression et leur chromatogrammes comparés. La similitude

entre les profils CHLP des frondes atypiques et des sporophytes du *Trichomanès* remarquable est observée, corroborant l'homologie de leurs spectres $^1\text{H-RMN}$. A la longueur d'onde de 280 nm, les chromatogrammes CLHP présentent, l'un comme l'autre, 9 signaux respectivement détectés aux temps de rétention 3 min, 4 min, 4 min 15 sec, 5 min, 5 min 30 sec, 20 min 30 sec, 21 min, 22 min, et 22 min 30 sec (**figures 26 et 27**). Douze accumulations de 150 μL d'extrait de fronde atypique d'une part et de sporophyte du *Trichomanès* remarquable d'autre part sont effectuées. Sept fractions sont collectées correspondant aux signaux représentés sur le chromatogramme, en groupant d'une part, les pics élués à 4 min et 4 min 15 sec, et d'autre part, ceux élués à 5 min et 5 min 30 sec.

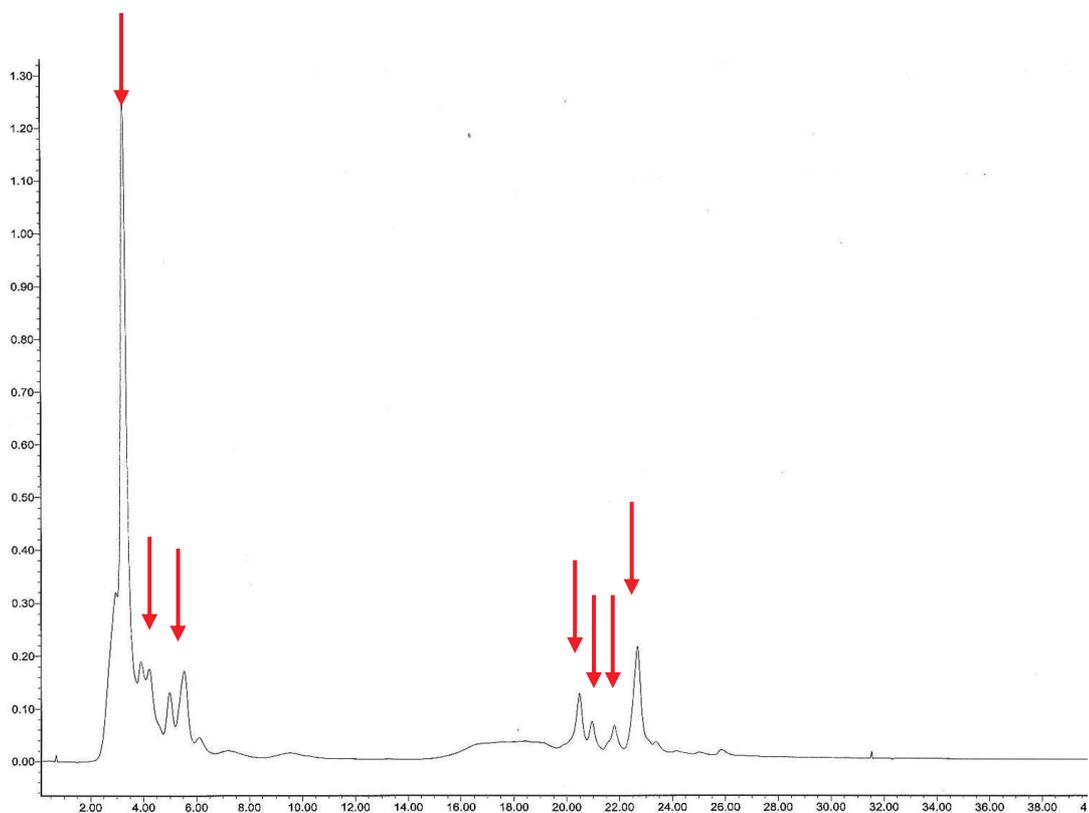


Figure 26 : Chromatogramme CHLP de l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd montrant les fractions collectées en sortie de colonne.

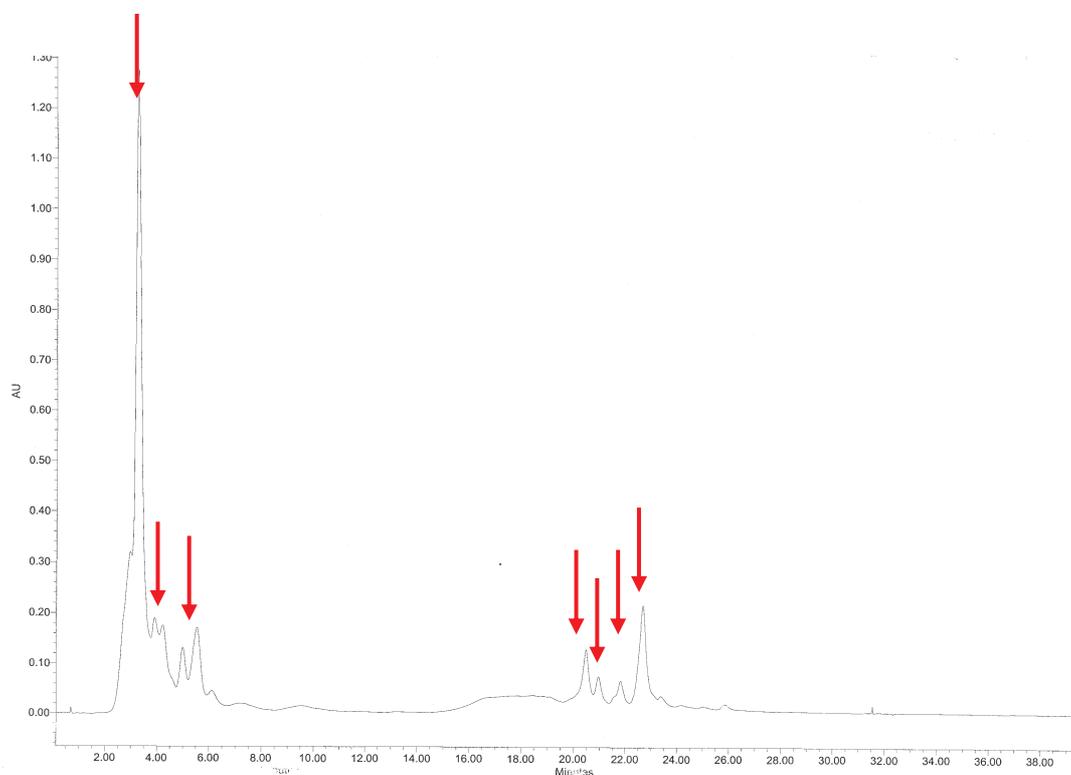


Figure 27 : Chromatogramme CHLP de l'extrait de frondes atypiques montrant les pics identiques à ceux du spectre CHLP de l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.

L'analyse ^1H -RMN des fractions de l'extrait de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd. obtenues par Chromatographie Liquide Haute Pression permet de montrer que le fractionnement s'est avéré efficace. En effet, le spectre RMN de chacune des fractions se révèle moins complexe que celui de l'extrait brut. Du fait de l'homologie de spectres ^1H -RMN et des chromatogrammes CHLP de cet extrait avec celui des frondes atypiques, les analyses RMN ultérieures de caractérisation ne sont effectuées que sur la fraction CHLP de l'extrait de sporophyte de *Trichomanès* remarquable.

L'analyse ^1H -RMN de la fraction 1 (**figure 28**) éluée entre $t_{2\text{min}30}$ et $t_{3\text{min}30}$, permet de déceler la présence du signal à 6,6 ppm, commun au sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd. (cf. figure 21, p. 45), aux gamétophytes associés (cf. figure 24 p. 46), aux frondes atypiques (cf. figure 23, p. 46) et vraisemblablement aux gamétophytes indépendants (cf. figure 25, p. 47). Le spectre ^1H -RMN de la même fraction présente aussi certains signaux dont le déplacement chimique à 4,1 ppm, 4,2 ppm et 5,4 ppm et la forme sont caractéristiques du saccharose (**figure 28**). En ce qui concerne les six autres fractions de l'extrait de sporophytes de *Trichomanès* remarquable collectées en CHLP, la faible quantité de matériel disponible ne permet pas d'entreprendre des analyses RMN en 2D nécessaires pour caractériser leur contenu. Leur analyse ^1H -RMN semble indiquer que ces fractions contiennent essentiellement des sels.

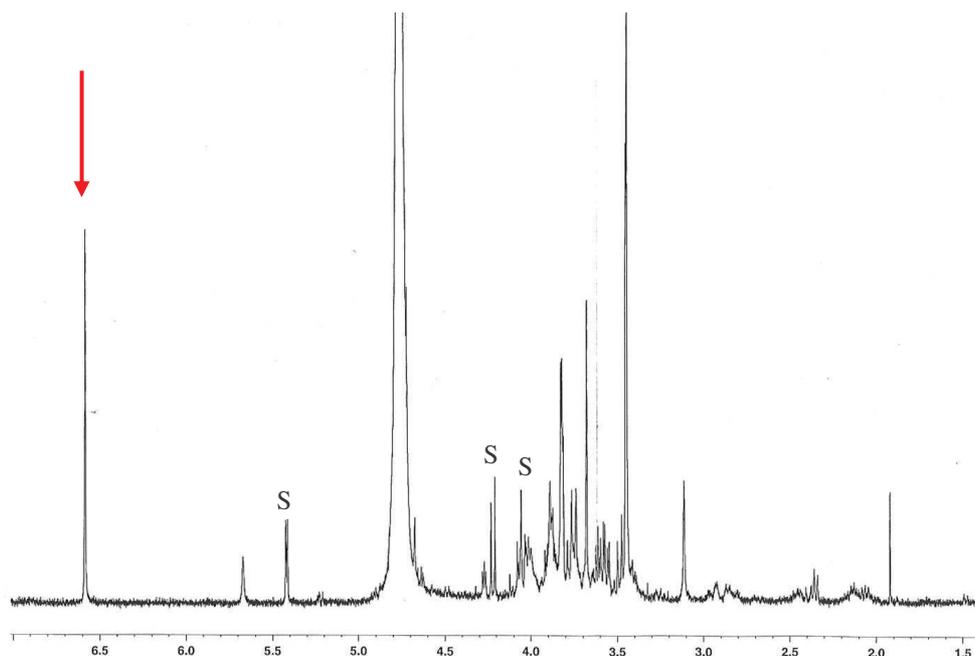


Figure 28 : Spectre ^1H -RMN de la fraction CHLP éluée 1 de l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Le signal à 6,6 ppm est indiqué par une flèche. Certains des signaux caractéristiques du saccharose sont signalés par le symbole S

4.1.3 Identification de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque chez *Trichomanes speciosum* Willd.

4.1.3.1 Caractérisation partielle de la structure de la molécule par analyse RMN 2D et expérience J -MOD ^{13}C

L'analyse CHLP de l'extrait brut de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. permet d'isoler une fraction 1 contenant, outre du saccharose, un composé dont la présence se matérialise sur les spectres ^1H -RMN par un signal de type singulet à 6,6 ppm (**figure 28** ; **tableau VI**, cf. p. 55). L'analyse du spectre RMN 2D COSY ^1H - ^1H de la fraction 1 met en évidence une tache de corrélation entre le proton à 6,6 ppm et celui à 3,4 ppm (**figure 29** ; **tableau VI**, cf. p. 55). Ceci permet d'attribuer à la molécule, un deuxième proton, de type singulet également.

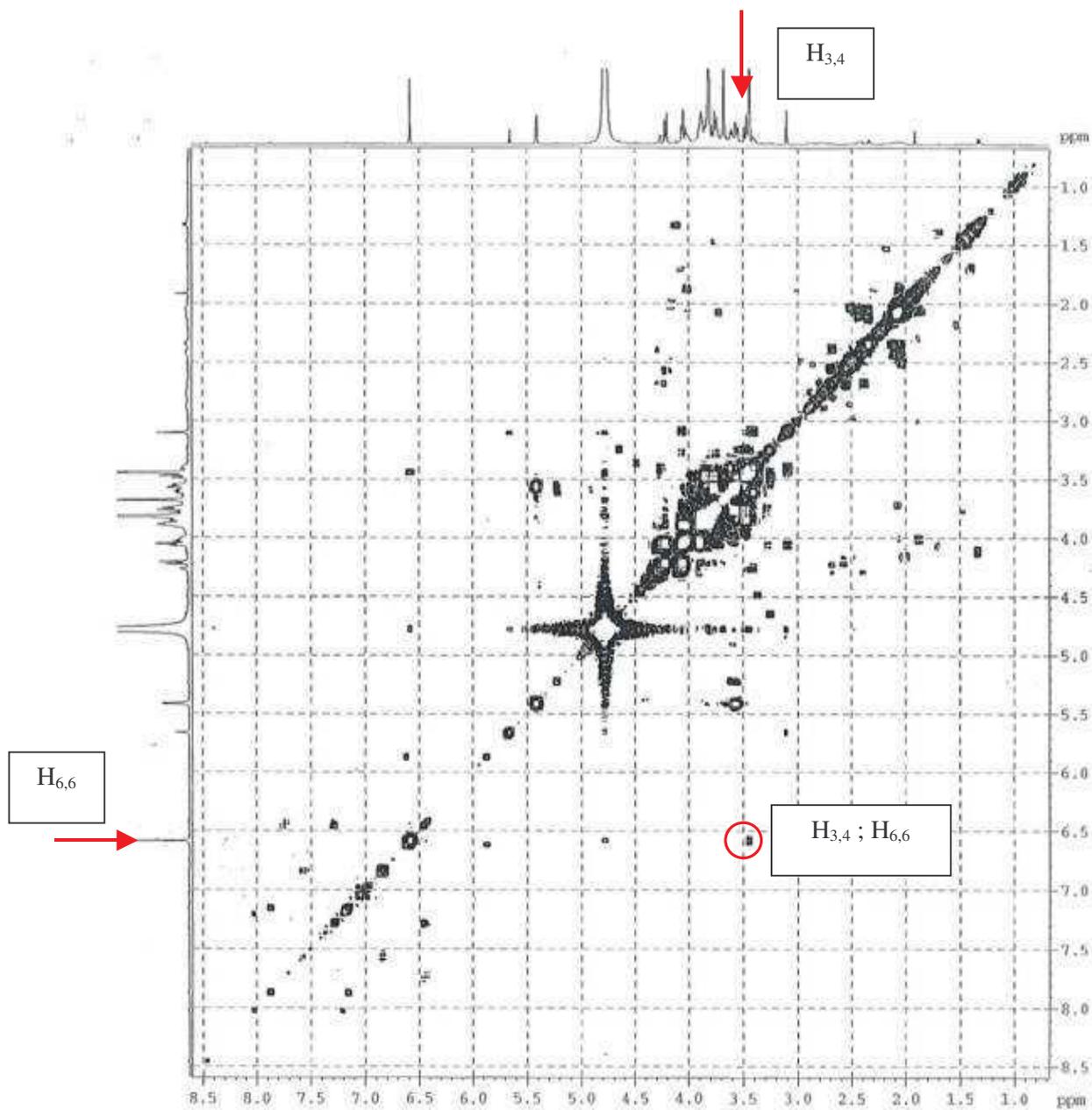


Figure 29 : Spectre RMN 2D homonucléaire COSY de la fraction 1 obtenue par CHLP. Les flèches indiquent les protons à 6,6 ppm et 3,4 ppm dont la COSY montre la corrélation (tache de corrélation entourée d'un cercle)

D'après l'HMQC, les protons à 6,6 ppm et 3,4 ppm dont la corrélation est mise en évidence par la COSY sont respectivement portés par les carbones résonnant à 134 ppm et à 40 ppm (figure 30 ; tableau VI, cf. p. 55).

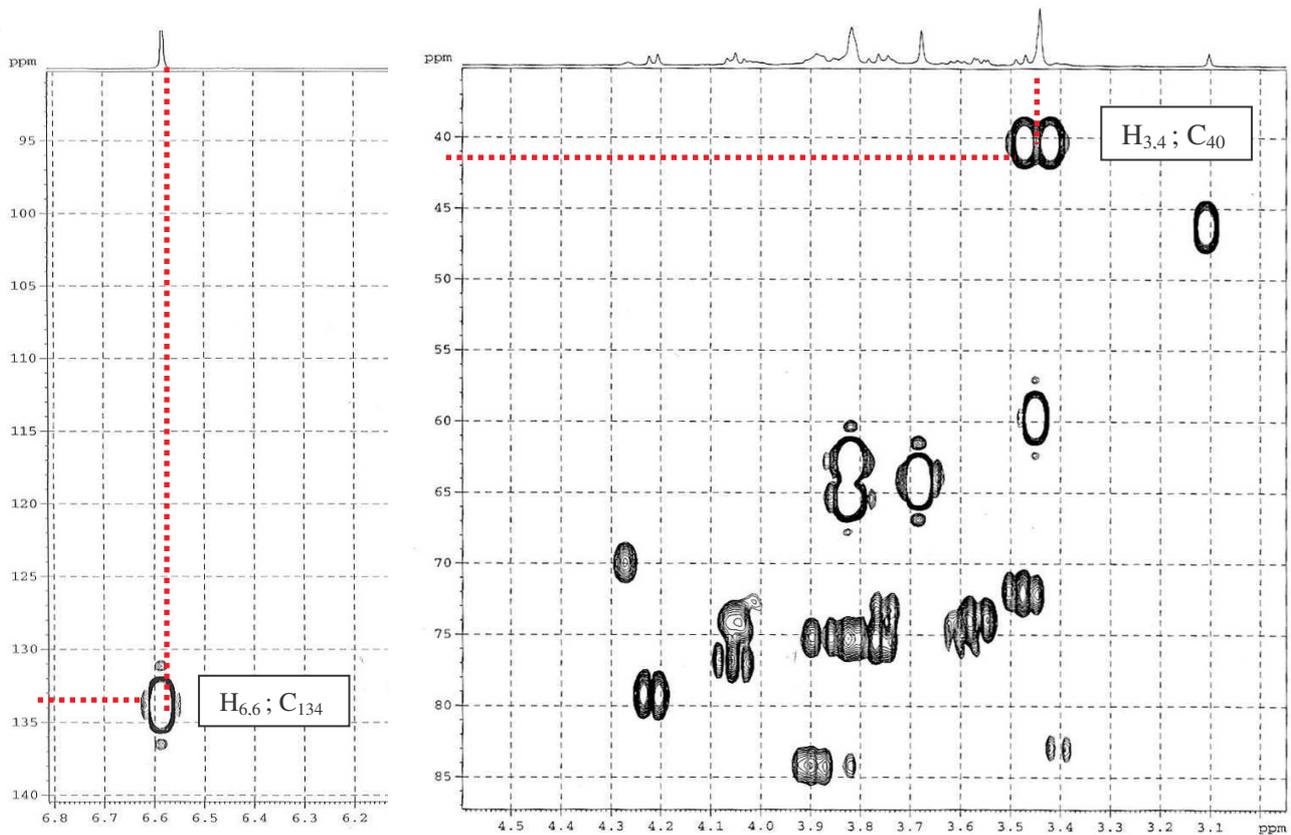


Figure 30 : Spectre RMN 2D hétéronucléaire HMQC. Les pointillés montrent les couplages entre les protons et carbones appartenant à la molécule

Considérant le carbone à 134 ppm et le proton à 6,6 ppm dont il est porteur, la base de données des déplacements chimiques du carbone et du proton en RMN et l'expérience J -MOD ^{13}C (figure 31 ; tableau VI, cf. p. 55) indiquent qu'il pourrait s'agir d'un groupement CH et probablement d'un carbone olifénique $>\text{CH}=\text{}$.

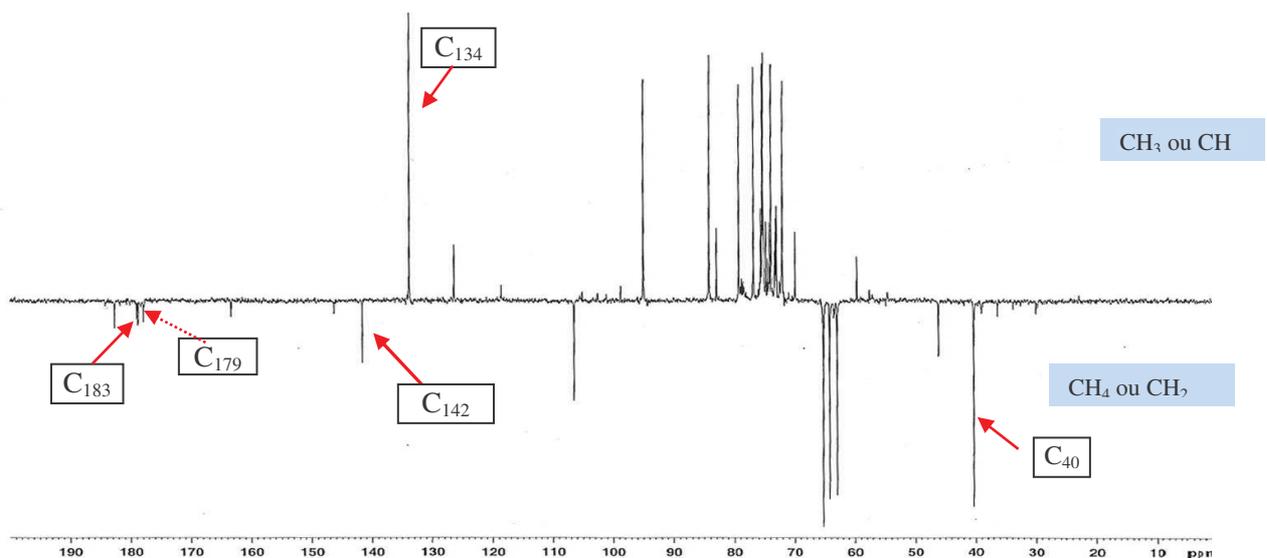


Figure 31 : Spectre de l'expérience en J -MOD ^{13}C de la molécule.

L'analyse RMN 2D HMBC (**figure 32** ; **tableau VI**, cf. p. 55) de la fraction 1 révèle, par comparaison avec le spectre de l'analyse HMQC, la présence de 3 carbones supplémentaires. Ces carbones, quaternaires, comme le corrobore la *J*-MOD (cf. figure 31, p. 52), résonnent respectivement à 142 ppm, 179 ppm et 183 ppm.

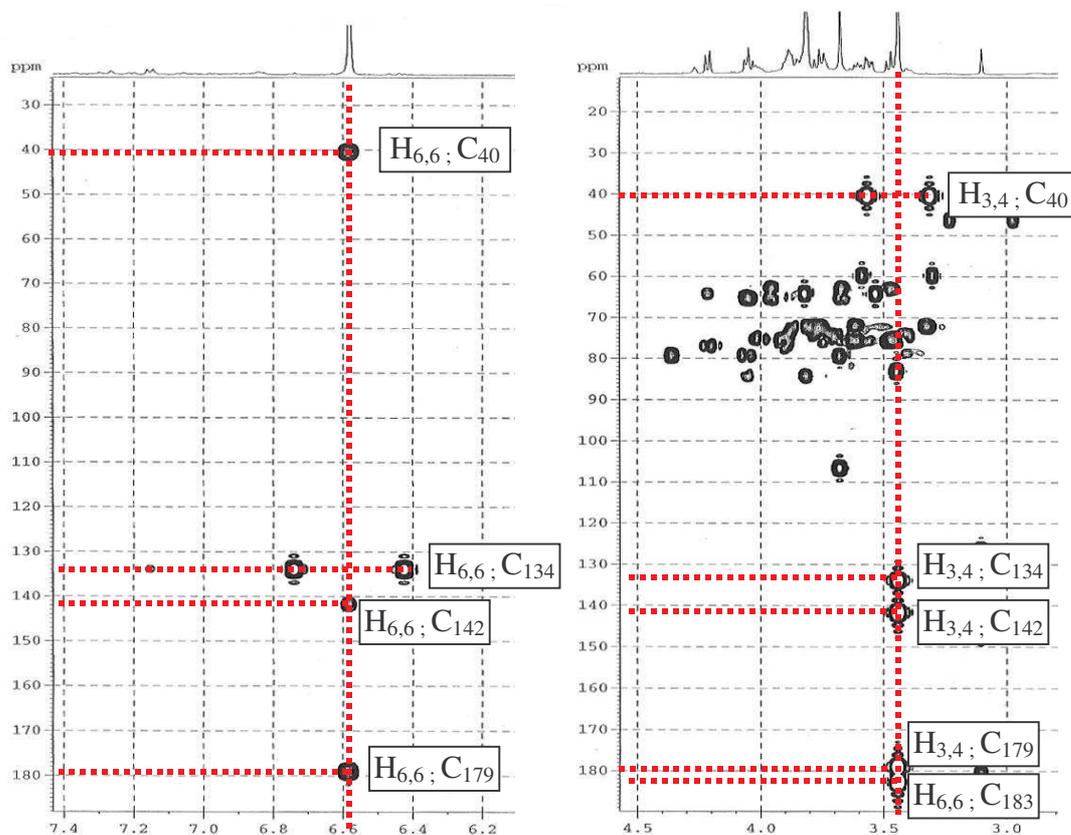


Figure 32 : Spectre RMN 2D hétéronucléaire HMBC. Les pointillés indiquent les signaux attribués à la molécule à identifier et les couplages entre carbones et protons

Le déplacement chimique du carbone quaternaire à 142 ppm, mis en évidence par l'HMBC, semble indiquer qu'il pourrait s'agir d'un deuxième carbone oléfénique $>C=$. Par convergence avec les informations précédentes concernant le carbone à 134 ppm, il en résulte une structure partielle A présentée par la **figure 33**.

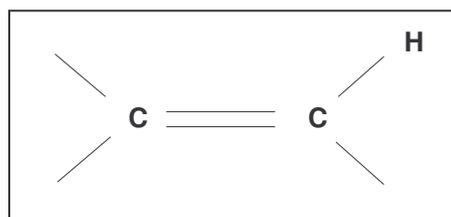


Figure 33 : Structure partielle A de la molécule à identifier

Les bases de données et l'expérience en J -MOD ^{13}C (cf. figure 31, p. 52) indiquent que le carbone à 40 ppm est un groupement méthylénique (CH_2). Les constantes de couplage des protons de ce CH_2 et du proton qui résonne à 6,6 ppm sont très faibles puisqu'elles sont inférieures à 2 Hz (**tableau VI**, cf. p. 55). Ceci indique que le couplage entre les protons est faible comme le conforte l'analyse du spectre de la COSY qui montre une tache de corrélation de petite taille. Les deux protons ne sont donc pas portés par le même carbone, ce qui permet de déduire la nouvelle structure partielle, B, présentée à la **figure 34**.

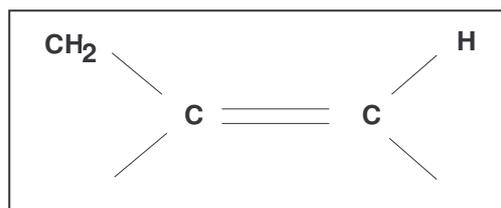


Figure 34 : Structure partielle B de la molécule

Le déplacement chimique des carbones quaternaires qui résonnent à 179 et 183 ppm est très caractéristique des groupements carboxyles COOH . La structure de la molécule peut alors être complétée en substituant chacun des carbones à 142 ppm et à 134 ppm par un COOH . Les analyses RMN ne permettent cependant pas la caractérisation complète de la molécule mais, seulement d'aboutir à une structure partielle C présentée à la **figure 35**.

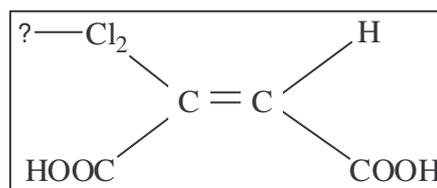


Figure 35 : Structure partielle C de la molécule

Pour compléter la structure de la molécule, une substitution manque au niveau du groupement méthylénique. D'après le déplacement chimique du carbone à 40 ppm et des protons à 3,4 ppm formant le groupement méthylénique, les hypothèses les plus plausibles sont la substitution par un halogène, un atome de chlore ou un brome, ou bien par une amine libre NH_2 , plutôt qu'un radical fluoré ou iodé. Ces hypothèses sont établies en considérant les molécules classiquement extraites chez les plantes.

Tableau VI : Récapitulatif des corrélations hétéronucléaires établies par les analyses RMN à 2 dimensions

¹ H		Corrélation en HMQC		Corrélation en HMBC	
δ ¹ H ppm	multiplicité du signal	δ ¹³ C ppm en α	degré de substitution des carbones	δ ppm des carbones	degré de substitution des carbones
6,6	doublet (<i>J</i> < 2 Hz)	134	CH	40 179 142	CH ₂ COOH C
3,4	doublet (<i>J</i> < 2 Hz)	40	CH ₂	134 142 179 183	CH C COOH COOH

4.1.3.2 Précision de la structure de la molécule en chromatographie par échange d'ions

Parmi les hypothèses de structure envisagées suite aux analyses RMN en 1D et 2D pour la molécule mise en évidence dans la fraction CHLP 1, la présence d'une fonction amine libre, et donc au moins une charge positive, est envisagée. La fraction 1 est ainsi chromatographiée sur une résine échangeuse de cations. L'analyse ¹H-RMN permet de déceler la molécule dans l'effluent. Le composé n'est donc pas retenu par la résine. Etant donné les propriétés de la colonne, il est dès lors peu probable que la molécule porte une charge positive et donc une fonction amine.

4.1.3.3 Identification de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque dans l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. par ES-MS

Les deux hypothèses de structure les plus vraisemblables pour le composé contenu dans la fraction CHLP 1 demeurent une molécule substituée soit par un chlore, soit par un brome. La masse moléculaire attendue d'un tel composé est alors de 164,5 g.mol⁻¹ dans le cas du chlore, pour une molécule de formule C₅H₅O₄Cl ou bien de 208,9 g.mol⁻¹ dans le cas du brome et d'une molécule de formule C₅H₅O₄Br. L'analyse par ES-MS de l'échantillon de la fraction 1, préparée à la concentration de 5 mg.L⁻¹, permet l'obtention d'un spectre de masse de qualité, montrant un signal à 164,5 (m/z, M⁺) ce qui valide l'hypothèse d'une molécule chlorée (**figure 36**).

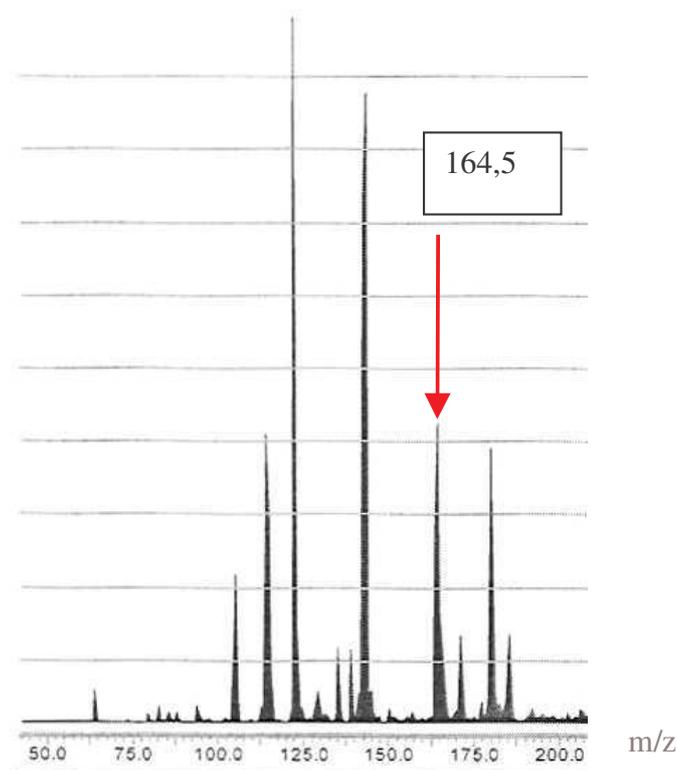


Figure 36 : Spectre de masse en ES-SM de la fraction obtenue par CHLP. Le pic à 164,5 est indiqué par une flèche

Le résultat de l'analyse par ES-SM de la fraction 1 permet d'établir la structure complète de la molécule en substituant le groupement méthylénique par un atome de chlore (**figure 37**) et ainsi d'identifier l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque dans les extraits de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. L'analyse des spectres RMN révèle la présence des deux énantiomères de la molécule. Sur le spectre ^1H -RMN (cf. figure 21 p. 45), la seconde forme de la molécule correspond aux signaux en 3,1 ppm et 5,65 ppm.

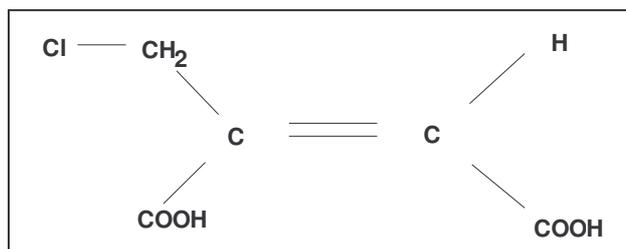


Figure 37 : Structure chimique de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque

La présence de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque est avérée dans l'extrait de frondes atypiques par l'homologie de son spectre ^1H -RMN et de son chromatogramme CHLP avec ceux de l'extrait de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd.

4.1.4 Vérification par analyse RMN 2D de la présence de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque dans les extraits de gamétophytes.

Les analyses RMN en 2D HMBC montrent une homologie des signaux entre le spectre des extraits de gamétophytes se développant auprès de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. et le spectre des frondes de cette fougère. Ainsi le spectre HMBC de l'extrait de gamétophytes associés aux sporophytes met en évidence les mêmes couplages du proton à 6,6 ppm (**figure 38**) que ceux observés sur le spectre HMBC de l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (cf. figure 32 p.53).

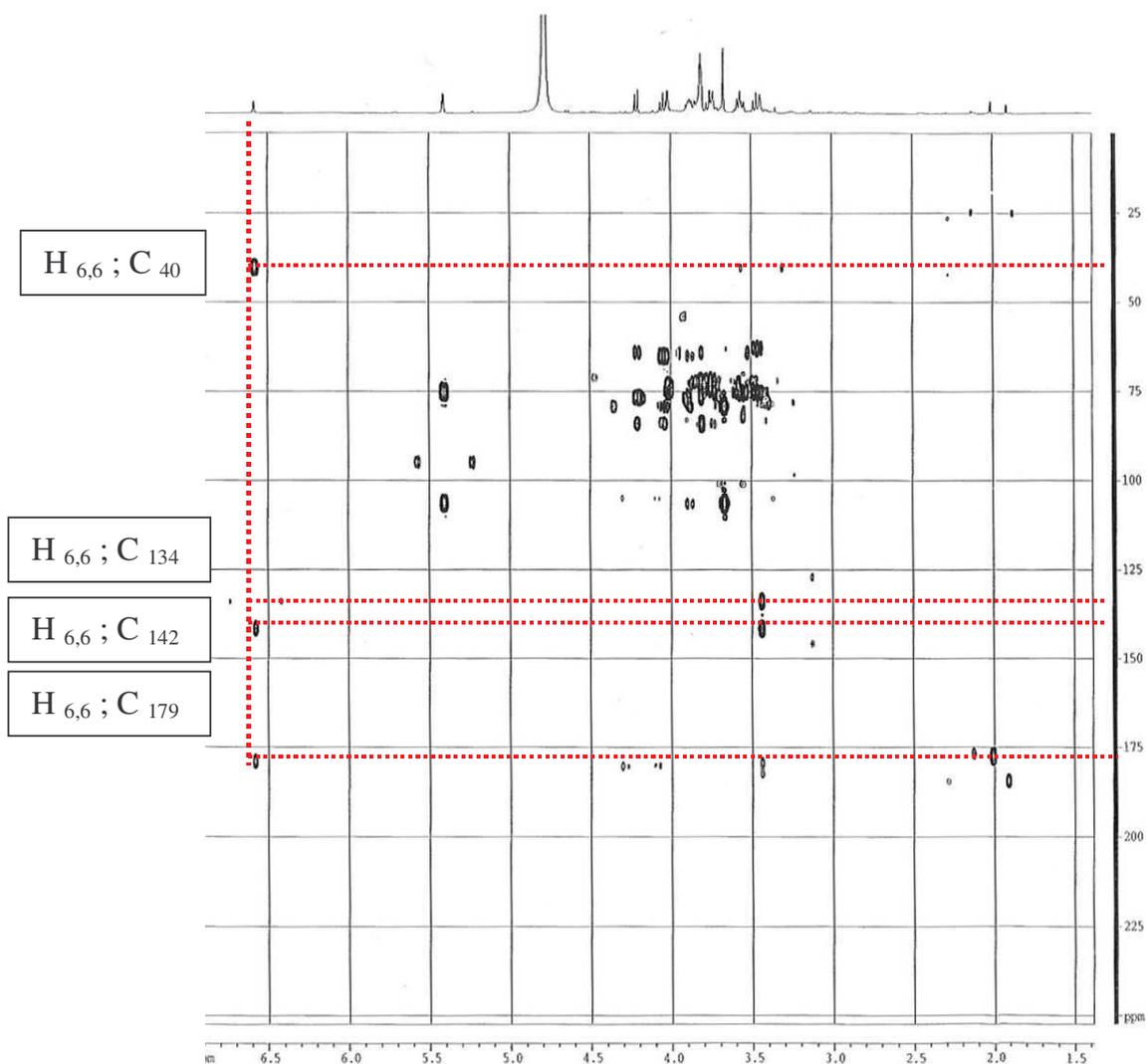


Figure 38 : Spectre RMN 2D hétéronucléaire HMBC de la molécule extraite des gamétophytes se développant à proximité des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd.

Le proton est couplé en 1J avec le carbone à 134 ppm et en 2J , 3J , 4J avec les carbones résonnant à 40 ppm, 142 ppm, 179 ppm et 183 ppm. L'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque est donc également produit par les gamétophytes associés aux sporophytes du *Trichomanes* remarquable. Des analyses RMN en 2D ne peuvent pas être envisagées pour rechercher ce composé dans l'extrait de gamétophytes indépendants du fait de la mauvaise résolution du spectre 1H -RMN résultant vraisemblablement d'une faible quantité de produit.

4.1.5 Caractérisation d'une seconde molécule dans les extraits de *Trichomanes speciosum* Willd. : la dopamine

La comparaison du spectre 1H -RMN des fractions collectées par CHLP (cf. figure 28 p. 50) avec celui de l'extrait brut de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (cf. figure 21 p. 45) met en évidence la perte de plusieurs signaux majoritaires : 3 protons dans la zone des signaux aromatiques à 6,55 ppm, 6,7 ppm et 6,75 ppm et 2 protons dans la zone des signaux aliphatiques à 2,8 ppm et 3,1 ppm. La ou les molécules correspondant à ces signaux ne peut (peuvent) donc pas être isolée(s) par CHLP. Des analyses RMN de l'extrait brut de *Trichomanes speciosum* Willd. sont mises en œuvre pour la (les) caractériser. Ceci est envisageable parce que l'extrait n'est pas trop complexe et qu'il est possible de faire abstraction des signaux attribués à l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque. Les corrélations des signaux en 1H -RMN des protons à 6,55 ppm, 6,7 ppm et 6,75 ppm, 2,8 ppm et 3,1 ppm sont analysées en RMN à 1D et 2D.

L'examen de l'analyse COSY révèle deux corrélations, la première entre les protons à 2,8 ppm et 3,1 ppm et la seconde entre les protons à 6,55 ppm, 6,7 ppm et 6,75 ppm (**figure 39 ; tableau VII**, cf. p. 61). Le spectre RMN 2D de HMQC montre que les protons 6,75 ppm, 6,7 ppm, 6,55 ppm, 3,1 ppm et 2,8 ppm. sont portés par les carbones résonnant respectivement à 117 ppm, 117,3 ppm, 121 ppm, 42 ppm et 34 ppm (**figure 40 ; tableau VII**, cf. p 61).

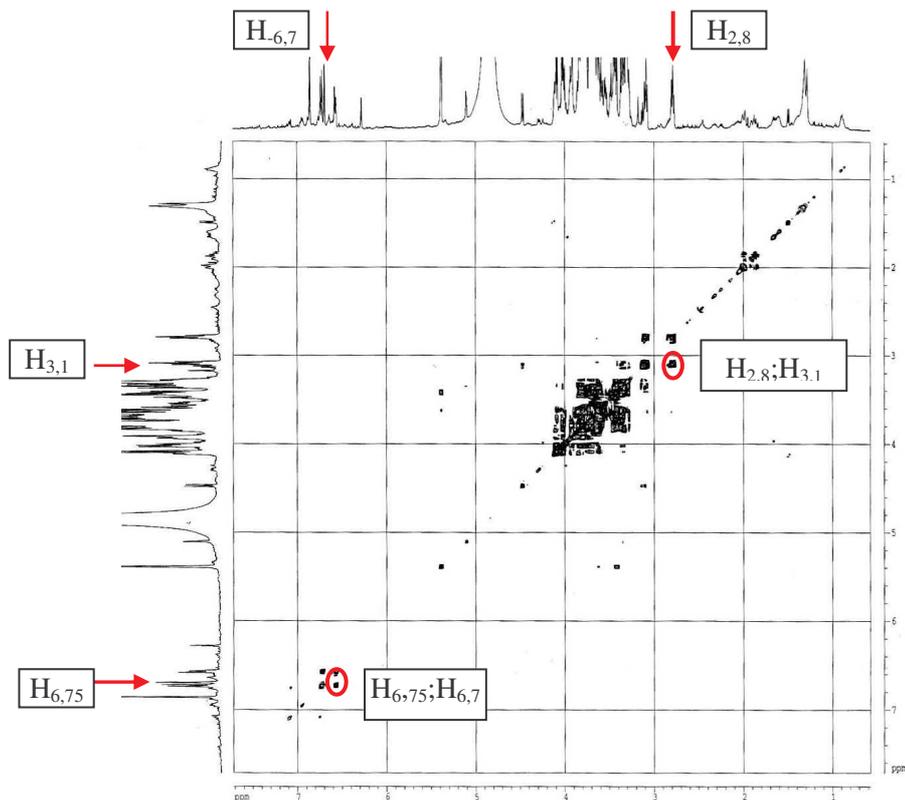


Figure 39 : Spectre RMN 2D homonucléaire COSY de l'extrait brut de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Les taches de corrélation sont indiquées par des cercles

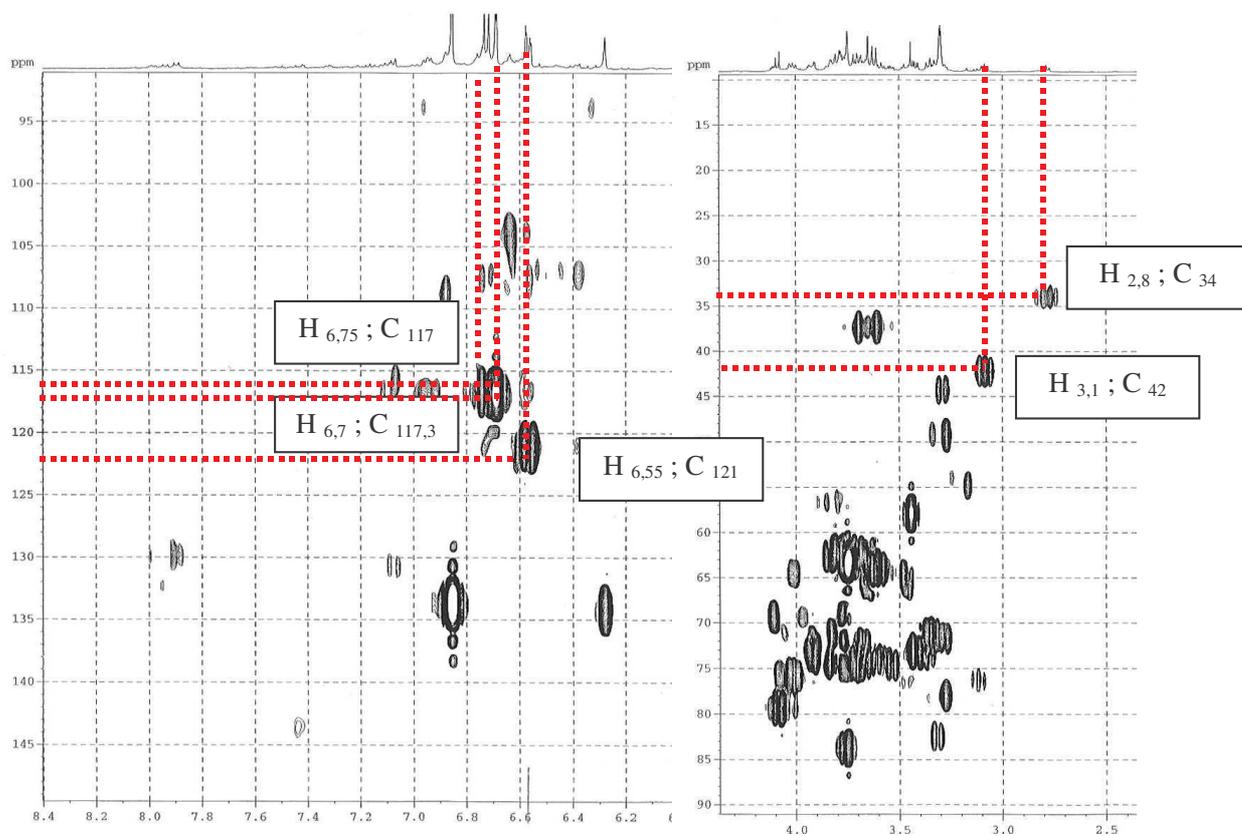


Figure 40 : Spectre RMN 2D hétéronucléaire HMQC de l'extrait brut de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Les couplages entre les carbones et les protons sont indiqués par des pointillés.

L'analyse de l'HMBC (**figure 41** ; **tableau VII**, cf. p. 61) met en évidence 3 carbones supplémentaires, quaternaires, à 129,8 ppm, 145 ppm et 147 ppm. Elle révèle également le couplage en 2J , 3J , 4J des protons à 2,8 ppm et 3,1 ppm avec le carbone à 129,8 ppm, des protons à 6,55 et 6,7 ppm avec le carbone à 145 ppm et du proton à 6,75 ppm avec le carbone à 147 ppm.

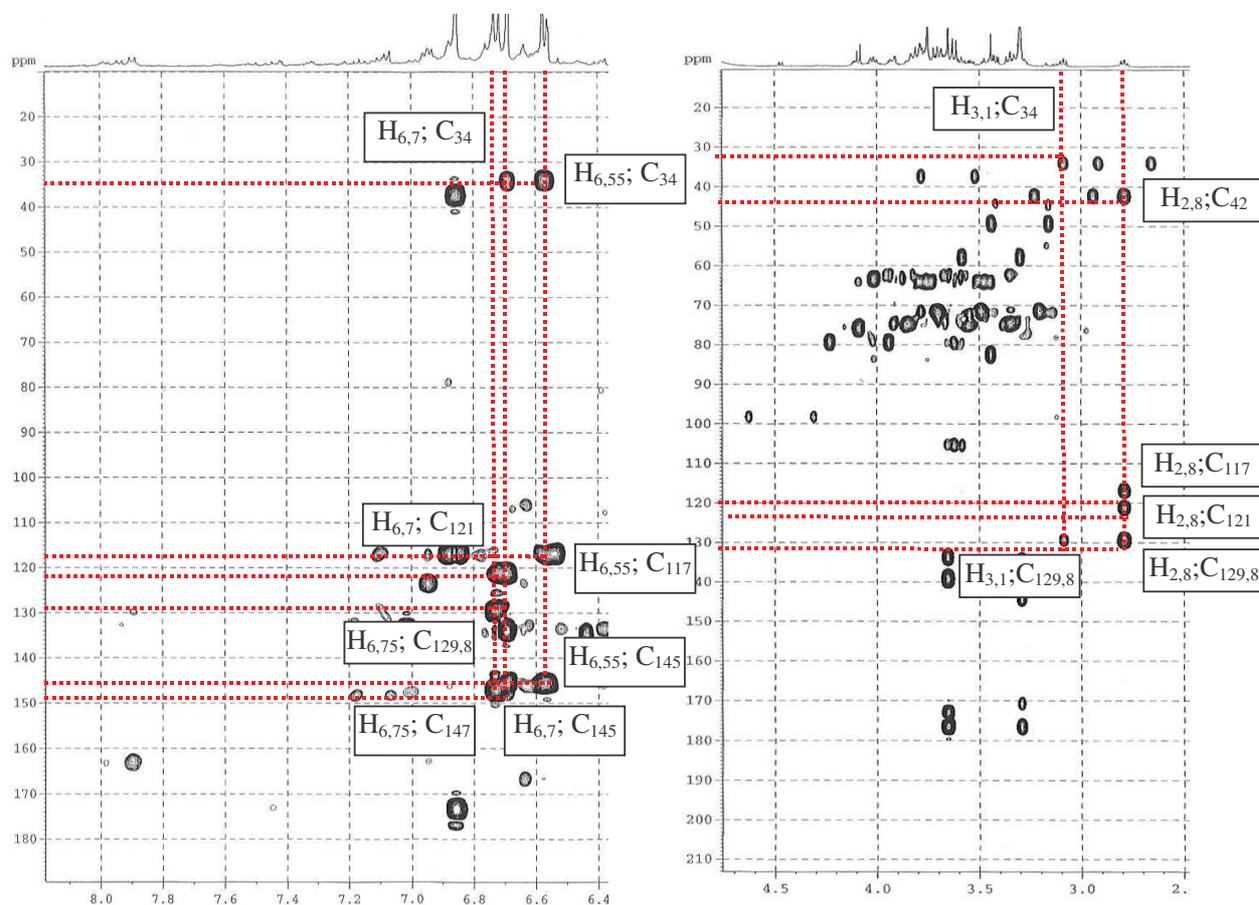


Figure 41 : Spectre RMN 2D hétéronucléaire HMBC de l'extrait brut de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Les pointillés montrent les couplages entre protons et carbones en 2J , 3J , 4J

D'après les bases de données, le déplacement chimique des protons à 6,55 ppm, 6,7 ppm et 6,75 ppm et des carbones à 117 ppm, 117,3 ppm et 121 ppm indique qu'ils pourraient appartenir à des groupements oliféniques ($>C=$) inclus dans un cycle. Le déplacement chimique des carbones résonnant à 145 et 147 ppm indique qu'il s'agirait de deux groupements $=C-OH$: le cycle serait ainsi dihydroxylé. Le déplacement chimique des deux autres carbones qui résonnent à 34 ppm et 42 ppm et l'expérience J -MOD (**figure 42**), indiquent qu'ils pourraient correspondre à des groupements méthyléniques et plus précisément, pour le carbone à 42 ppm, d'un groupement méthylénique substitué par une fonction amine libre

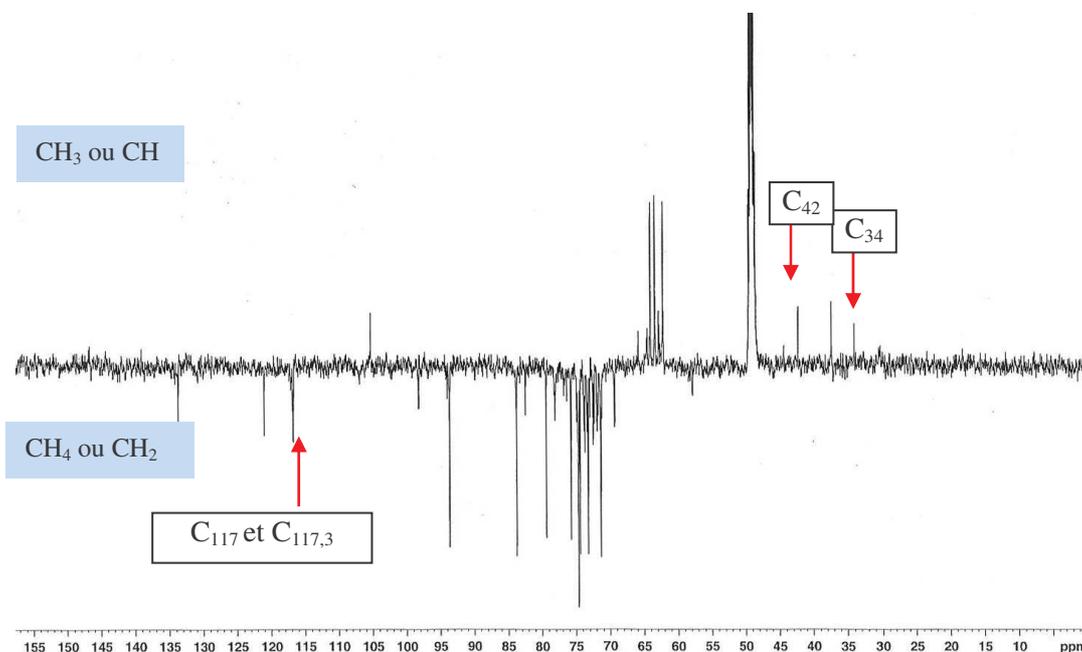


Figure 42 : Spectre de l'expérience J -MOD ^{13}C réalisée sur l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.

Outre la corrélation des protons du cycle entre eux (6,55 ppm, 6,7 ppm et 6,75 ppm), ces derniers couplent également avec les protons de la chaîne aliphatique que formeraient les deux carbones à 34 et 42 ppm (**tableau VII**). La chaîne aliphatique pourrait être liée au cycle au niveau du carbone à 129,8 ppm puisqu'il est le seul à être couplé en 2J ou 3J , voire en 4J , avec les protons qui résonnent à 2,8 et 3,1 ppm et qui sont portés par les carbones à 34 et 42 ppm (**tableau VII**).

Tableau VII : Récapitulatif des corrélations hétéronucléaires établies par les analyses RMN à 2 dimensions pour la seconde molécule

H		Corrélations en HMQC		Corrélations en HMBC	
δ ^1H ppm	multiplicité du signal	δ ^{13}C ppm en α	degré de substitution des carbones	δ ppm des carbones	degré de substitution des carbones
6,75	doublet	117	CH	129,8 147	C C
6,7	type singulet	117,3	CH	34 121 145	CH ₂ CH C
6,55	doublet	121	CH	34 117 145	CH ₂ C C
3,1	triplet	42	CH ₂	34 129,8	CH ₂ C
2,8	triplet	34	CH ₂	42 117 121 129,8	CH ₂ CH CH C

La synthèse des données apportées par l'examen des spectres RMN 1D et 2D permet alors de proposer la structure complète d'une seconde molécule : la dopamine (**figure 43**). La comparaison des données du tableau récapitulatif des corrélations hétéronucléaires établies par les analyses RMN à 1D et 2D et l'expérience en J -MOD ^{13}C (cf. tableau VII, p. 61) avec celles disponibles dans la littérature sur la structure de la dopamine (Mueller *et al.*, 1993) permettent de valider l'identification de la molécule.

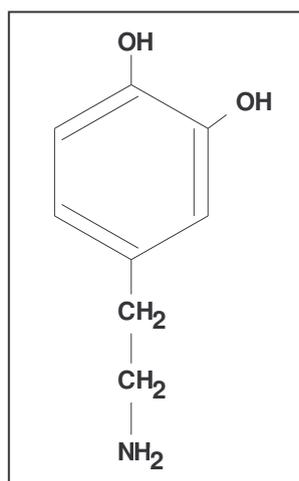


Figure 43 : Structure de la dopamine

Les signaux correspondant à cette molécule ne sont pas retrouvés dans le spectre ^1H -RMN des gamétophytes associés aux sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. ni dans celui des gamétophytes indépendants.

4.1.6 Vérification par analyse RMN 2D de l'absence de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque et de la dopamine dans l'extrait de sporophytes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L.

L'analyse 2D RMN HMBC (**figure 44**) effectuée sur l'extrait de sporophytes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. met en évidence l'absence des couplages $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ en 2J , 3J , voire 4J , caractéristiques (cf. figure 32 p. 53 ; tableau VI p. 55) de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque : il n'y a pas de couplage du proton à 6,6 ppm avec un carbone à 40 ppm, 142 ppm et 179 ppm de même que le proton à 3,4 ppm n'est pas couplé en 2J , 3J , voire 4J , avec des carbones à 134 ppm, 142 ppm, 179 ppm et 183 ppm. L'HMBC (**figure 44**) ne montre pas non plus les signaux attendus pour la dopamine (cf. figure 41 p. 60 ; tableau VII p. 61). Le spectre 2D RMN indique qu'il n'existe pas de couplage entre le proton à 6,75 ppm et les carbones à

129,8 ppm et 147 ppm, entre le proton à 6,7 ppm et les carbones à 34 ppm, 121 ppm et 145 ppm, entre le proton à 6,55 ppm et les carbones à 34 ppm, 117 ppm et 145 ppm, entre le proton à 3,1 ppm et les carbones à 34 ppm et 129,8 ppm ni finalement entre le proton à 2,8 ppm et les carbones à 42 ppm, 117 ppm, 121 ppm et 129,8 ppm.

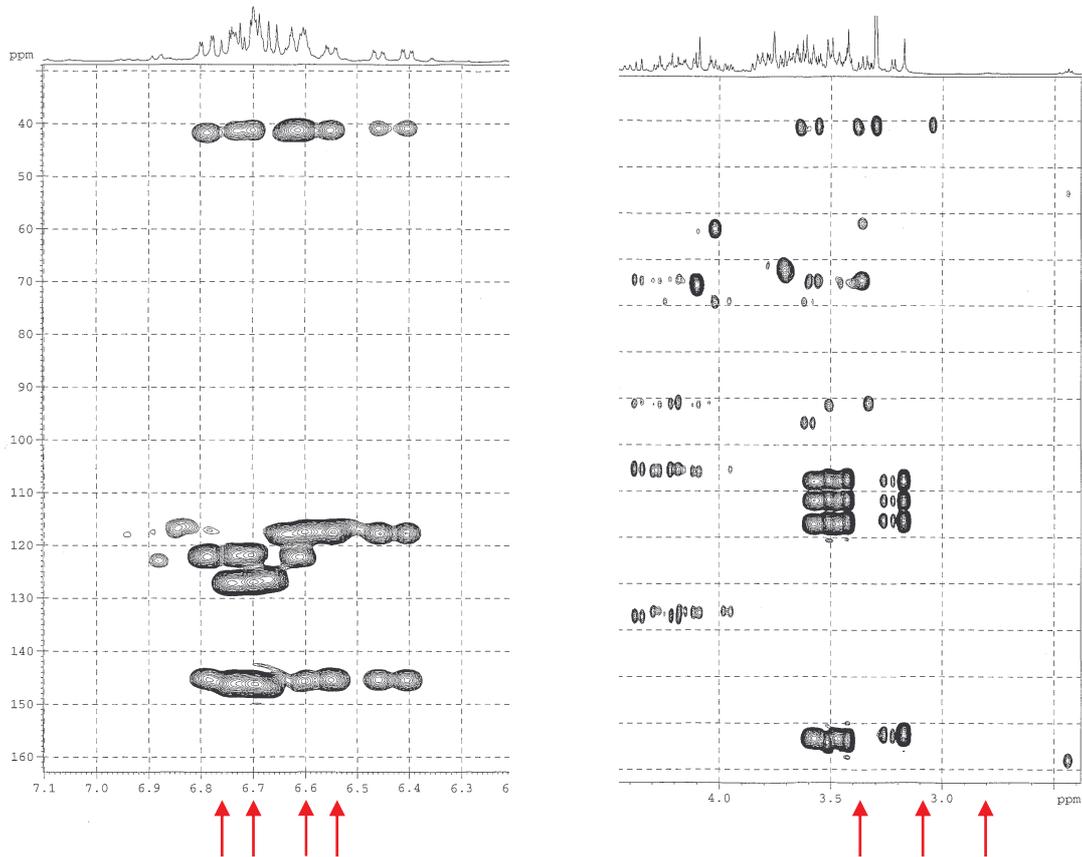


Figure 44 : Spectre RMN 2D hétéronucléaire HMBC de l'extrait brut de sporophytes de *Hymenophyllum tunbrigense* L. Les flèches montrent l'emplacement attendu des couplages entre protons et carbones en 2J , 3J , voire 4J , caractéristiques du spectre de l'extrait de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.

L'acide 2 (chlorométhyl)-butenedioïque et la dopamine ne figurent pas dans les extraits hydro-alcooliques de sporophytes de *Hymenophyllum tunbrigense* L. Ces deux molécules constituent donc des chimio-marqueurs permettant de distinguer les échantillons de *Trichomanes* remarquable de ceux de l'Hyménophylle de Tunbridge.

4.2 DISCRIMINATION TAXONOMIQUE PAR SÉQUENÇAGE D'ADN

La faible résolution des profils de séquençages obtenus pour le locus ITS 1 – ITS 4 n'en permet pas l'interprétation rigoureuse. L'analyse des séquences du locus *trn* L – *trn* F donne

des résultats exploitables pour 14 des 17 échantillons. Ainsi une séquence composée de 725 bases est analysable pour l'ensemble formé par 3 échantillons de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd, 3 de gamétophytes prélevés à proximité de sporophytes, 2 échantillons de frondes atypiques et 4 de gamétophytes indépendants. Par ailleurs, l'analyse met en évidence une séquence analysable de 705 positions pour les 2 échantillons de sporophytes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L.

L'analyse des 725 positions du premier groupe d'échantillons montre 3 positions variables entre les 12 séquences analysables : une insertion et deux substitutions. La comparaison de ces 12 séquences avec les deux disponibles pour l'Hyménophylle de Tunbridge révèle 198 positions variables : 157 substitutions et 41 insertions. La différence entre les séquences d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. et celles du groupe formé des 12 échantillons comprenant de gamétophytes et sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., des frondes atypiques et des gamétophytes indépendants, atteint jusqu'à 27,04 % par le calcul des distances de Kimura, avec une valeur de bootstrap (ou robustesse) de 100%. Au sein du groupe de 12 séquences, la plus grande différenciation atteint seulement 2,77%. Sur la base du locus génétique *trn* L – *trn* F, l'homologie de séquence (**figure 45**) mise en évidence entre ces 12 séquences permet donc d'identifier les frondes atypiques et les gamétophytes indépendants analysés comme des représentants de l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd.

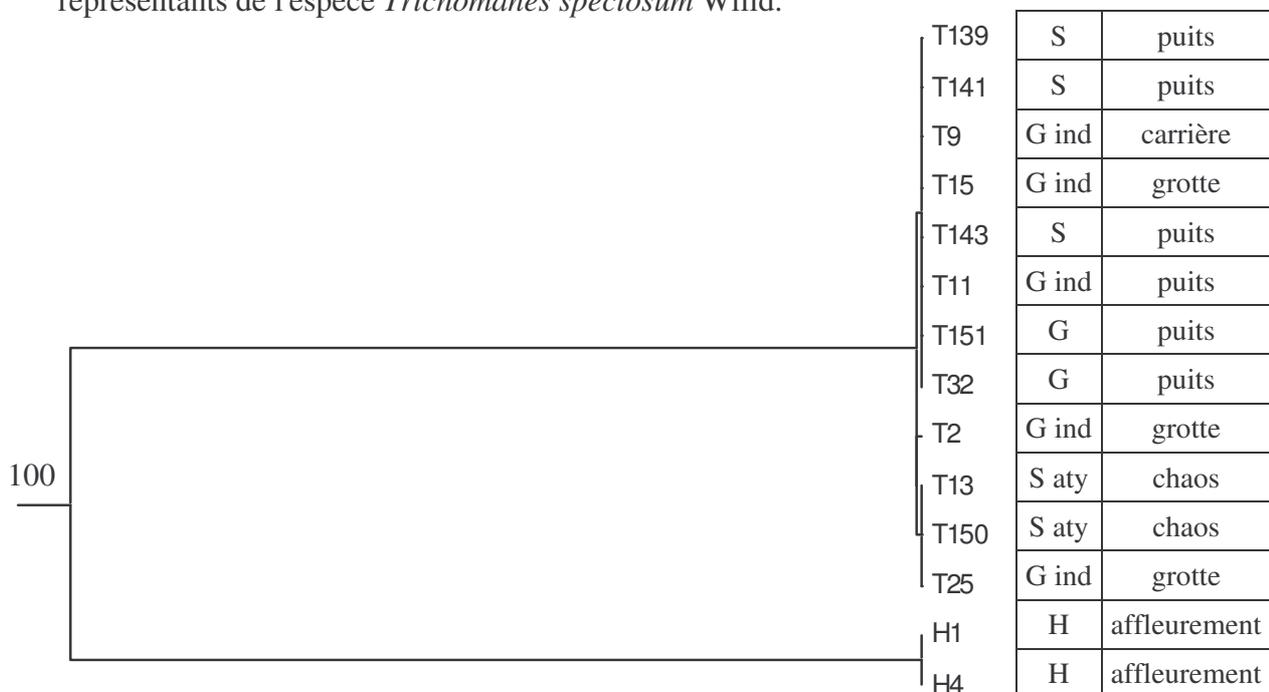


Figure 45 : Dendrogramme de similitude montrant la différenciation des séquences d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. (H) et de *Trichomanes speciosum* Willd. (T). S : sporophytes ; S aty : frondes atypiques ; G : gamétophytes à proximité de sporophytes ; G ind : gamétophytes indépendants

5 DISCUSSION PARTIELLE

1/ Au cours des analyses chimiotaxonomiques par Résonance Magnétique Nucléaire en HRMAS sur des échantillons frais de *Trichomanes speciosum* Willd. et d'*Hymenophyllum tunbrigense* L., la sédimentation des tissus dans la sonde est sans doute à l'origine de la mauvaise résolution des spectres. Il est probable que celle-ci est due à la finesse des tissus constitutifs des échantillons de fougères analysés. Les Hyménophyllacées sont d'ailleurs appelées "filmy fern" en anglais, ce qui qualifie bien des frondes dont le limbe est dans sa grande majorité constitué d'une unique assise cellulaire.

2/ D'après notre expérimentation, et en adéquation avec des données RMN de la bibliographie (Kronberg et Franzen, 1993), un composé commun est mis en évidence dans les différents extraits de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. : l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque. Il s'agit, à notre connaissance, de la première mise en évidence de cette molécule dans une plante et plus généralement, dans un organisme vivant. Une seule publication mentionne le nom de ce composé : l'article de Kronberg et Franzen (1993) évoque des composés organiques chlorés formés lors de la désinfection de l'eau potable par des traitements au chlore dans les stations d'épuration. Les auteurs y rapportent des expériences de synthèse de nouveaux composés chlorés dont l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque, à partir de ceux décelés dans les eaux retraitées.

Cette molécule, par son activité mutagène mise en évidence par Kronberg et Franzen (1993), pourrait-être impliquée dans les mécanismes de défense de la plante, comme bactéricide ou fongicide potentiel. Le *Trichomanes* remarquable se développe en effet dans des milieux saturés d'humidité (Prelli, 2002), donc favorables aux contaminations biologiques.

Un protocole classique d'extraction est utilisé comme en témoigne une abondante littérature. Dans l'ensemble des publications portant sur des extractions de plantes par le méthanol à 70%, aucune n'a visiblement abouti à la caractérisation de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque, ce qui conforte l'idée que la molécule est un chimiomarqueur de l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd. Par ailleurs, la molécule n'a pas été mise en évidence dans l'extrait d'*Hymenophyllum tunbrigense* L., ni dans l'extrait d'autres fougères comme l'*Asplenium scolopendrium* L par exemple (résultats non présentés ici). Les échantillons sont toujours nettoyés à l'eau distillée avant leur analyse biochimique pour éviter les

contaminations par des substances exogènes. Ainsi, la présence de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque à la fois dans les extraits de sporophytes et de gamétophytes associés, échantillonnés dans deux puits différents, de frondes atypiques provenant d'un habitat forestier, mais aussi très vraisemblablement dans l'extrait de gamétophytes indépendants collectés dans une carrière en sous-bois, permet d'éliminer l'hypothèse d'une contamination extérieure. Ce composé permet d'identifier les frondes atypiques comme des représentants du taxon *Trichomanes speciosum* Willd.

Ainsi, les frondes atypiques observées sous couvert forestier à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor) sont bien *Trichomanes speciosum* Willd. Dans le Massif Armoricain, la fougère peut donc développer des frondes en milieu forestier et non pas uniquement dans les puits, contrairement à ce qu'indiquaient les données disponibles jusqu'à présent. Même si aucune analyse RMN n'a été effectuée dans la seconde station de frondes atypiques (*Forêt de Duault* à Saint-Servais, Côtes d'Armor), cela en raison de la faible densité de population, l'homologie des caractères morphologiques atypiques des frondes suffit dès lors à l'inventorier elle aussi dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. L'atypie morphologique observée dans les deux stations de milieu naturel forestier pourrait correspondre à des caractères juvéniles.

Dans le même temps, la caractérisation de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque apporte une première indication concernant l'identité des gamétophytes indépendants. La mauvaise qualité du spectre RMN renvoie probablement à la faible quantité des molécules en présence dans l'extrait. Ceci peut-être lié à la physiologie de la fougère : dans les stations où le cycle de vie n'est pas complet, le métabolisme des gamétophytes pourrait être différent de celui des gamétophytes qui parviennent à produire des frondes et de celui des frondes elles-mêmes.

3/ La dopamine est une seconde molécule mise en évidence à la fois dans les extraits de frondes typiques de *Trichomanes speciosum* Willd. et dans les frondes atypiques, mais pas dans l'extrait de sporophyte d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. Par ailleurs, c'est visiblement en raison de phénomènes de dégradation lors du passage de l'échantillon à l'évaporateur rotatif sous vide, à une température de 40°C, qu'elle n'est pas retrouvée dans les extraits de gamétophytes, indépendants ou non. Commune dans le règne animal, la dopamine n'est pas ubiquiste chez les végétaux. Ainsi, la détection des signaux de la dopamine, qui plus est lorsqu'ils sont en association avec ceux de l'acide 2-(chlorométhyl)-butènedioïque, permet de différencier les échantillons de *Trichomanes* remarquable de ceux de l'*Hyménophylle* de

Tunbridge. Le rôle de la dopamine, et plus généralement celui des molécules de la famille des catécholamines chez les plantes, reste peu documenté : ces composés pourraient être des précurseurs de différents alcaloïdes, et associés à des processus de tubérisation (Hourmant *et al.*, 1994), de floraison, de fixation de l'azote ou de défense contre les herbivores (Kuklin et Conger, 1995).

4/ Les composés de la famille des flavonoïdes qui, d'après la littérature, permettent de discriminer le genre *Hymenophyllum* et le genre *Trichomanes* ne sont pas caractérisés dans les extraits de *Trichomanes speciosum* Willd. malgré le recours à un protocole d'extraction classique par le méthanol à 70%. Il n'existe aucune donnée concernant la caractérisation des flavonoïdes chez le Trichomanès remarquable : ces composés pourraient exister, mais peut-être à l'état de traces difficilement décelables.

5/ Les analyses de taxonomie moléculaire permettent quant à elles de corroborer et d'enrichir les résultats obtenus concernant l'identification des frondes atypiques par chimiotaxonomie. En effet, les séquences d'ADN *trn L – trn F* analysées se révèlent homologues pour les échantillons de sporophytes typiques adultes de *Trichomanes speciosum* Willd., pour les gamétophytes associés à des sporophytes et pour les frondes atypiques. Au contraire, elles se différencient très nettement de celles des sporophytes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. Si les études chimiotaxonomiques ne permettent pas de préciser l'identité des gamétophytes indépendants, les analyses de taxonomie moléculaire avèrent l'homologie de la séquence génomique *trn L – trn F* entre gamétophytes indépendants, gamétophytes associés aux sporophytes, les frondes typiques et atypiques analysées. Il est donc possible d'affirmer sur la base des résultats de l'étude génomique que les échantillons de gamétophytes indépendants analysés appartiennent véritablement à l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd.

L'élargissement de l'étude à un plus grand nombre de stations de gamétophytes indépendants permettrait d'établir cette identité spécifique pour l'ensemble des stations de gamétophytes se développant en l'absence de sporophyte dans le Massif Armoricaïn. Les résultats pourraient également être renforcés par l'analyse d'autres séquences d'ADN. L'amplification de région du génome par PCR présente l'inconvénient d'être moins spécifique que l'amplification par clonage. Il semble que l'étape de clonage soit nécessaire pour exploiter la séquence ITS1 - ITS4.

Des essais d'analyse par une autre technique d'étude du polymorphisme génétique, "polymorphisme de longueur de fragments de restriction" ou RFLP (Random Fragment Length Polymorphism) (résultats non présentés ici) ont permis de détecter 3 régions génomiques ("Nad5", Vangerow *et al.*, 1998 ; "trn T – trn L", Taberlet *et al.*, 1991 ; "rbcL", Murakami *et al.*, 1999) dont nous avons pu mettre au point les conditions d'amplification chez *Trichomanes speciosum* Willd. et *Hymenophyllum tunbrigense* L. sans que les analyses par RFLP soient malheureusement exploitables pour cause de difficultés d'amplification de l'ADN survenues de façon inopinée (manifestations de traînées ou "smears"). Ces locus pourraient à l'avenir faire aussi l'objet de séquençage pour explorer le polymorphisme génétique des populations de *Trichomanes speciosum* Willd., sous forme de sporophytes, des gamétophytes associés, de frondes atypiques ou encore de gamétophytes indépendants.

Au final, la démonstration conjointe, par les analyses de chimiotaxonomie et de taxonomie moléculaire, de l'identité des frondes atypiques et des gamétophytes indépendants, nous conduit à inclure les stations composées de ces formes de la fougère dans l'étude globale des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn. La preuve étant ainsi faite de la capacité des gamétophytes de la fougère à produire des frondes en milieu naturel, les causes de leur rareté sont recherchées en s'attachant à comparer les conditions environnementales régnant au sein de stations à sporophytes localisées dans les puits avec d'une part celles des stations à frondes atypiques situées toutes deux en milieu naturel et d'autre part avec celles des stations de gamétophytes indépendants.

6 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE

- Les analyses chimiotaxonomiques conduisent à avérer que les frondes atypiques des deux milieux forestiers armoricains appartiennent à l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd.
- Le *Trichomanès* remarquable présente la capacité de produire des frondes en milieu naturel armoricaïn et pas seulement dans les habitats anthropisés

- Les analyses moléculaires vérifient l'identité spécifique des frondes atypiques et permettent d'attester que les échantillons de gamétophytes indépendants analysés sont ceux de *Trichomanes speciosum* Willd.

III/ CHOROLOGIE ET ECOLOGIE

I/ CHOROLOGIE ET ECOLOGIE	70
1. NECESSAIRE ACTUALISATION DES DONNEES CHOROLOGIQUES ET ECOLOGIQUES	73
2 METHODES	75
2.1 INVENTAIRE CHOROLOGIQUE	75
2.2 ABONDANCE DES POPULATIONS	75
2.3 ATTEINTES ET MENACES	76
2.4 DIAGNOSE ECOLOGIQUE DES STATIONS	76
2.4.1 Description de la diversité des habitats	76
2.4.2 Etude du substrat	77
2.4.3 Etude des conditions d'humidité et de température	77
2.4.4 Etude des conditions lumineuses	79
2.4.5 Caractérisation phyto-écologique des habitats	80
2.4.5.1 Habitats anthropisés et grottes littorales	80
2.4.5.2 Habitats forestiers	80
2.4.5.2.1 Définition et application d'une méthode pour la description et la comparaison des habitats forestiers	81
i) Type de couvert végétal et géomorphologie des habitats	81
ii) Etude des Bryophytes associées à <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. pour la caractérisation des micro-habitats intra-forestiers	82
2.4.5.2.2 Discrimination des différents habitats forestiers	83
2.4.5.2.3 Caractérisation des micro-habitats intra-forestiers à partir des données bryologiques	83
2.4.5.3 Etude de la dynamique des populations de <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. en habitats forestiers à partir de l'analyse de la compétition interspécifique avec les Bryophytes associées	85
2.5 DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE ET PROSPECTION EN BASSE-NORMANDIE	86
2.6 EPREUVE D'EFFICACITE DU DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE PAR PROSPECTION AU PAYS BASQUE ET DANS LES VOSGES	86
3 RESULTATS	88
3.1 CHOROLOGIE	88
3.2 ABONDANCE DES POPULATIONS	92
3.3 ATTEINTES ET MENACES	93

3.4 DIAGNOSE ECOLOGIQUE DES STATIONS	95
3.4.1 Diversité des habitats	95
3.4.2 Substrat	97
3.4.3 Température	97
3.4.4 Humidité	99
3.4.5 Conditions lumineuses	101
3.4.5.1 Exposition	101
3.4.5.2 Position des sporophytes et des gamétophytes dans les puits en fonction de l'architecture	102
3.4.5.3 Analyse comparative de l'éclairement	104
3.4.5.4 Mesures ponctuelles de l'éclairement dans les puits	106
3.4.6 Analyse phyto-écologique des habitats	106
3.4.6.1 Habitats anthropisés	106
3.4.6.2 Grottes des côtes maritimes	108
3.4.6.3 Habitats forestiers	109
3.4.6.3.1 Description géomorphologique et floristique	109
3.4.6.3.2 Discrimination des différents habitats forestiers	113
3.4.6.3.3 Bryophytes associées à <i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	115
3.4.6.3.4 Discrimination des micro-habitats intra-forestiers à partir des données bryologiques	117
3.4.6.3.5 Dynamique des populations de <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. en habitats forestiers à partir des données bryologiques	125
3.5 DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE DE PROSPECTION	128
3.5.1 Elaboration du diagnostic écologique	128
3.5.2 Résultats des prospections en Basse-Normandie	129
3.5.3 Application à d'autres territoires : le Pays Basque et les Vosges	131
3.5.3.1 Mise en évidence des gamétophytes au Pays Basque	131
3.5.3.2 Comparaison des paramètres environnementaux enregistrés dans le Massif Armoricaïn avec ceux du Pays Basque et des Vosges	132
4 DISCUSSION PARTIELLE	135
5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	142

1 NECESSAIRE ACTUALISATION DES DONNEES CHOROLOGIQUES ET ECOLOGIQUES

Suite au premier signalement de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. au Royaume-Uni en 1989, puis en France en 1990, une trentaine de stations de la fougère sont recensées dans le Massif Armoricain jusqu'en 2001. De plus, la découverte en milieu naturel armoricain de deux stations de la fougère situées dans des chaos rocheux des Côtes d'Armor (*Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem et *Forêt de Duault*, Saint Servais) d'aspect atypique, mais appartenant bien à l'espèce (cf. partie II), remet en question les acquis sur la répartition de la plante. Le recensement des stations de gamétophytes indépendants est actualisé à l'occasion de notre étude et les données sont compilées dans une base informatique, tandis que la prospection se poursuit et est encouragée auprès des botanistes locaux.

La comparaison des données historiques disponibles depuis 1953 avec celles du dernier recensement effectué en 1995 par J. Moisan et F. Tournay, laisse supposer que la régression des populations s'est probablement poursuivie. L'actualisation de la répartition de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain est donc entreprise. Elle servira de base de réflexion pour la définition d'un plan de conservation du taxon. Toute action de préservation de la flore nécessite non seulement une bonne connaissance de la répartition géographique passée et actuelle des espèces, mais aussi de leur niveau de rareté et de vulnérabilité au sein des stations. Une description des effectifs des populations ainsi que des menaces et des atteintes les concernant est établie.

Une niche écologique (Hutchinson, 1957) se définit comme l'habitat auquel un organisme vivant est sélectivement adapté de part sa génétique, sa biologie et sa physiologie. Elle est décrite par l'ensemble des paramètres géomorphologiques et environnementaux qui la composent. Chaque espèce présente des exigences physiologiques qui sont autant de contraintes vis-à-vis de son environnement puisqu'elles ne lui permettent de vivre que dans une gamme plus ou moins large d'habitats. Ainsi, si certaines espèces se montrent tolérantes à différentes conditions environnementales, d'autres sont au contraire strictement adaptées à un seul type d'habitat. La prise en compte des principales exigences écologiques d'une espèce menacée est indispensable à l'établissement d'une stratégie de protection. En effet, la conservation *in situ* d'un organisme passe souvent en premier lieu par le maintien ou la restauration de son habitat.

La caractérisation des habitats de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn, est donc primordiale d'autant que, comme nous l'avons vu précédemment, les sporophytes de la fougère semblent localisés en très grande majorité à l'intérieur de vieux puits, à l'exception des deux stations découvertes récemment en milieu naturel. Les gamétophytes sous forme de populations indépendantes, s'ils sont également recensés dans les puits, sont observés dans de nombreuses stations naturelles. Il semble donc envisageable que les gamétophytes et les sporophytes du Trichomanès remarquable présentent chacun des affinités pour des habitats différents. Pour assurer le maintien de l'espèce, voire pour favoriser le retour à un cycle de vie complet en milieu naturel, il est donc important de caractériser les éventuels facteurs écologiques différenciant les habitats des gamétophytes indépendants et ceux des sporophytes de la fougère dans le Massif Armoricaïn. C'est dans ce but qu'une diagnose écologique est réalisée dans chacune des stations armoricaines du Trichomanès remarquable. La description des caractéristiques géomorphologiques, floristiques et environnementales est effectuée pour chaque population. Un suivi mensuel des principaux paramètres environnementaux (humidité, température, éclairage) est effectué afin de mettre en évidence, par comparaison, de possibles différences entre les conditions environnementales régnant dans les stations de gamétophytes indépendants et celles où des sporophytes se développent. Ainsi, l'hypothèse d'une cause environnementale du blocage du cycle de vie de la fougère en milieu naturel est testée.

Pour affiner la diagnose écologique, l'étude des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. en milieu forestier est approfondie. Des indicateurs biologiques permettant de caractériser précisément les conditions environnementales dans lesquelles se développe la fougère, sous forme de gamétophytes et/ou de sporophytes, sont recherchés. Une attention particulière est portée à la description des espèces compagnes du Trichomanès remarquable, et en particulier aux cortèges bryologiques. En effet, les Bryophytes sont des espèces bio-indicatrices très performantes dont l'analyse permet d'avoir accès aux données micro-environnementales (Ah-Peng *et al.*, 2004). Par ailleurs, les Bryophytes constituant le groupement végétal le plus étroitement associé au Trichomanès remarquable, notamment sous sa forme de gamétophyte, la description micro-topographique des cortèges bryologiques doit permettre de mieux appréhender la dynamique des populations de la fougère au sein des stations forestières

La diagnose écologique générale une fois définie à partir de celle de chaque station armoricaine, un diagnostic est établi pour permettre d'orienter les recherches de nouvelles stations dans des zones du Massif Armoricain sous-prospectées, comme la Basse-Normandie. L'objectif est ainsi de contribuer à l'amélioration rapide des connaissances sur la répartition et l'abondance de la fougère. Afin d'en généraliser la portée, l'efficacité du diagnostic est testée par comparaison avec des données collectées dans des stations de la fougère situées à plus large échelle géographique, au Pays Basque et dans les Vosges du Nord.

2 METHODES

2.1 INVENTAIRE CHOROLOGIQUE

Afin d'actualiser les données sur la répartition de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain, le réseau des 300 observateurs du Conservatoire Botanique National de Brest est mobilisé. Ainsi, la mise à jour de la chorologie de la fougère se poursuit durant notre étude. Chacune des stations de la fougère historiquement connue ou récemment recensée fait l'objet de notre visite. Dans tous les puits abritant les sporophytes, la présence des gamétophytes, dont il n'avait jamais été fait mention auparavant, est systématiquement recherchée. Chacune des stations est pointée sur une carte au 1/25 000^{ème} de l'Institut Géographique National. Ces données sont ensuite intégrées dans le SIG (Système d'Information Géographique) du Conservatoire Botanique National de Brest (base "Calluna" développée sous Access et Map Info). Une carte de répartition de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain, actualisée au 1^{er} janvier 2005, est établie, en distinguant les stations à sporophytes de celles à gamétophytes indépendants.

2.2 ABONDANCE DES POPULATIONS

L'évaluation de l'abondance des sporophytes s'effectue par un dénombrement des frondes. Ce comptage est réalisé depuis l'ouverture du puits. La longueur moyenne des frondes est estimée en centimètres. Pour les gamétophytes, 6 catégories d'abondance (**tableau VIII**) sont définies afin de décrire la surface de recouvrement dans chaque station. La fréquence de relevé de chaque catégorie d'abondance des gamétophytes est calculée par types d'habitats, naturels et anthropisés. Les résultats sont analysés par des tests statistiques de comparaison de pourcentages ou test du Chi^2 (Scherrer, 1984) de façon à décrire l'abondance des

gamétophytes en fonction du type d'habitat et comparer les surfaces occupées en milieux naturels et anthropisés.

Tableau VIII : Définition des 6 catégories d'abondance des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.

Catégorie	Description
0	pas de gamétophyte décelé
1	de 1 à 10 coussins épars de 1 cm ² chacun
2	11 à 50 coussins épars de 1 cm ² chacun
3	plus de 50 coussins de 1 cm ² plus ou moins contigus, jusqu'à un tapis quasi-continu d'environ 1 m ²
4	tapis quasi-continu de 1 à 2 m ²
5	tapis quasi-continu de plus de 2 m ² .

2.3 ATTEINTES ET MENACES

Dans les habitats anthropisés, les atteintes et les menaces pesant sur les populations sont définies. Pour les puits plus précisément, une enquête réalisée auprès des propriétaires permet de prendre connaissance des usages présents et futurs des édifices. Compte-tenu de l'ouverture ou de la fermeture des puits, la vitalité des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. est décrite en distinguant d'une part les sporophytes à limbes verts de ceux déshydratés brunissants et d'autre part les gamétophytes luisants et d'aspect humide de ceux secs et ternes. Pour les stations localisées en habitats naturels, les atteintes et menaces d'origine anthropique ou naturelle sont caractérisées.

2.4 DIAGNOSE ECOLOGIQUE DES STATIONS

2.4.1 Description de la diversité des habitats

Les grands types d'habitats colonisés par le Trichomanès remarquable dans le Massif Armoricaïn sont décrits en référence au code CORINE Biotopes (Bissardon et Guibal, 1997). Il s'agit d'une typologie proposant un standard européen de description des milieux naturels. Elle permet à tous les acteurs de la conservation du patrimoine naturel de communiquer clairement entre eux. En France, le Service du Patrimoine Naturel de l'Institut d'Ecologie et de Gestion de la Biodiversité du Muséum National d'Histoire Naturelle veille à favoriser

l'utilisation de cette référence dans le cadre de tous les programmes qu'il coordonne en France pour le compte du Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, tels que ceux menés pour la mise en place du réseau Natura 2000 ou de l'inventaire ZNIEFF. Pour décrire la diversité des habitats de *Trichomanes speciosum* Willd. et comparer la localisation des deux générations de la fougère, le pourcentage de stations à sporophytes d'une part et de gamétophytes indépendants d'autre part par grand type d'habitat et par département inclus dans le Massif Armoricaïn est calculé.

2.4.2 Etude du substrat

Une fiche descriptive est dressée pour chacune des stations armoricaines de Trichomanès remarquable. Elle permet de rassembler l'ensemble des informations relatives au biotope de la fougère acquises lors de la visite des stations, de façon ponctuelle ou au cours du temps. Les données géomorphologiques sur la nature du substrat, l'abondance de l'humus y sont ainsi renseignées. L'ensemble des informations portées sur les fiches est saisi dans la base de données informatiques du Conservatoire Botanique National de Brest de laquelle sont extraites des fiches de synthèse. Une confrontation de ces fiches entre elles est effectuée afin de dégager des informations globales concernant la nature du substrat sur lequel se développe le Trichomanès remarquable dans le Massif Armoricaïn.

2.4.3 Etude des conditions d'humidité et de température

Dans les fiches descriptives des stations de *Trichomanes speciosum* Willd., des données sur l'humidité ambiante qui règne sont également reportées telles que la présence d'un cours d'eau générant une brumisation, un écoulement de pluvio-lessivats le long des parois où se développe la fougère ou encore une atmosphère sèche.

Treize stations armoricaines de la fougère sont sélectionnées pour un suivi mensuel pendant une année, du taux d'humidité atmosphérique, du pH des pluvio-lessivats s'écoulant à proximité de la fougère et de la température ambiante. Les sites d'étude sont choisis selon que la fougère se développe sous la forme de sporophytes associés à des gamétophytes, de gamétophytes indépendants ou de frondes de morphologie atypique. Par ailleurs, les populations sont choisies de façon à ce qu'elles soient suffisamment représentatives de

l'ensemble des types d'habitats de la fougère dans la région (**tableau IX**). Les stations de suivi sont également retenues en fonction de leur position géographique pour que toute l'aire de répartition du *Trichomanes* remarquable dans le Massif Armoricain soit couverte (**figure 46**).

Tableau IX : Stations sélectionnées pour un suivi mensuel pendant une année du pH des pluvio-lessivats, du taux d'humidité atmosphérique et de la température. G : station de gamétophytes indépendants ; S/G : station de sporophytes associés à des gamétophytes ; S* : station à sporophytes de morphologie atypique, en milieu naturel

Département	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	Stations	Type d'habitat	n°
Finistère	G	<i>Chapelle-Ruinée</i> , La Roche Maurice	affleurement rocheux	1
		<i>Golvinog</i> , Plogoff	grotte des côtes maritimes	2
		<i>Kerlez</i> , Briec	affleurement rocheux	3
	S / G	<i>Manoir du Rusquec</i> , Loqueffret	puits	4
Côtes d'Armor	G	<i>Plage de la Banche</i> , Binic	grotte des côtes maritimes	5
		<i>Saut du Chevreuil</i> , Perret	affleurement rocheux	6
	S / G	<i>Lan Bern</i> , Glomel	puits	7
	S* / G	<i>Kerlenevez</i> , Saint-Nicolas-du-Pélem	chaos rocheux	8
Morbihan	G	<i>La Ruaudaie</i> , Saint-Nicolas-du-Tertre	puits	9
		<i>Haut-Sourdéac</i> , Glénac	ancienne carrière	10
		<i>Haut Roussimel</i> , Glénac	puits	11
	S / G	<i>Saint-Fiacre</i> , Saint-Barthélémy	puits	12
	S / G	<i>Roc Brien</i> , Ploërmel	puits	13

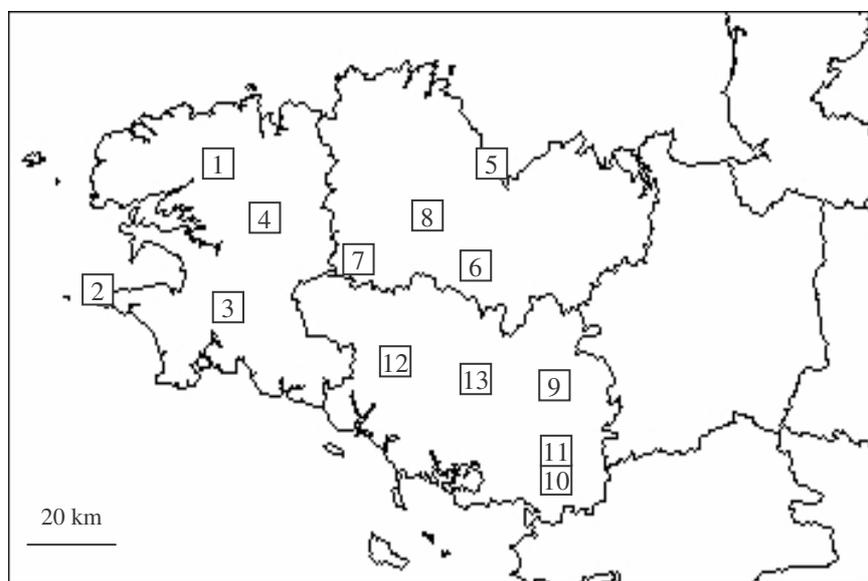


Figure 46 : Localisation géographique des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. sélectionnées pour un suivi mensuel sur un an du pH des pluvio-lessivats, du taux d'humidité atmosphérique et de la température. 1 : *La Chapelle-Ruinée*, La Roche-Maurice ; 2 : *Golvinog*, Plogoff ; 3 : *Kerlez*, Briec ; 4 : *Manoir du Rusquec*, Loqueffret ; 5 : *Plage de la Banche*, Binic ; 6 : *Saut-du-Chevreuil*, Perret ; 7 : *Lan Bern*, Glomel ; 8 : *Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem ; 9 : *La Ruaudaie*, Saint-Nicolas-du-Tertre ; 10 : *Haut-Sourdéac*, Glénac ; 11 : *Haut-Roussimel*, Glénac ; 12 : *Saint-Fiacre*, Saint-Barthélémy ; 13 : *Roc Brien*, Ploërmel.

Dans chacune des stations, la température, le taux d'humidité atmosphérique et le pH des pluvio-lessivats s'écoulant à proximité de la fougère sont mesurés mensuellement d'août 2002 à juillet 2003. L'humidité relative de l'atmosphère et la température sont mesurées avec un hygro-thermomètre 74880 Quick[®] (Bioblock). Le pH des pluvio-lessivats est évalué à l'aide de papier pH-Fix 0-14 (Macherey-Nagel). Les valeurs obtenues pour chacun des paramètres environnementaux sont comparées, au cours du temps et entre stations, selon les méthodes statistiques classiques d'analyse de variance (ANOVA) et après que les conditions d'application soient vérifiées par l'estimation de la normalité des données et la vérification de l'homoscédasticité par un test de Hartley (Underwood, 1997).

Afin de réaliser une comparaison à l'échelle micro-climatique, deux thermo-hygrographes Testo 175-H1 (Bioblock) sont mis en place dans une même station, *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor) : l'un dans une placette où la fougère développe des frondes et des gamétophytes (appareil n°1) et l'autre dans une placette où seuls des gamétophytes indépendants sont observés (appareil n°2). Après un mois (mars 2004) d'enregistrement de la température et de l'humidité relative de l'atmosphère selon un rythme de quatre mesures journalières à 0h, 6h, 12h et 18h, les données sont récoltées afin de vérifier que l'enregistrement se déroule convenablement. Les appareils sont remis en place afin d'effectuer un enregistrement continu, selon la même cadence de mesure du 1^{er} avril 2004 au 20 novembre 2004. Les suivis ont toutefois dû être interrompus avant les enregistrements de l'hiver suite à la disparition de l'appareil n°2. La comparaison des moyennes par un test *t* de Student (Scherrer, 1984) est effectuée pour détecter d'éventuelles différences de conditions micro-environnementales de température et de taux d'humidité atmosphérique entre la placette à sporophytes et celles à gamétophytes indépendants.

2.4.4 Etude des conditions lumineuses

Pour l'analyse des conditions lumineuses, l'exposition sous laquelle se développent les sporophytes et / ou les gamétophytes du *Trichomanès* remarquable est reportée dans les fiches descriptives de stations. L'architecture des puits qui abritent la fougère est variable. Les conditions lumineuses régnant à l'intérieur des édifices le sont sans doute elles aussi, en conséquence. La position des gamétophytes et des sporophytes du *Trichomanès* remarquable en fonction du type de puits est analysée. Par ailleurs, dans les treize stations de *Trichomanes*

speciosum Willd. sélectionnées pour le suivi des paramètres "humidité" et "température" précédemment décrites, l'éclairement est enregistré grâce à un luxmètre LX-105 Lutron® (Bioblock). Les données obtenues sont exprimées selon le système international en micro-moles par mètre carré par seconde ($1 \text{ lux} = 0,018 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$). Enfin, une étude des conditions lumineuses dans lesquelles se développent le Trichomanès remarquable à l'intérieur de l'habitat singulier que constituent les puits est menée. Pour cela, une série de mesures de l'éclairement est effectuée dans tous les édifices, non totalement fermés, qui abritent la fougère, en distinguant les stations à sporophytes de celles à gamétophytes indépendants. Les enregistrements sont réalisés au mois de juin 2003 au cours de deux journées ensoleillées, sans nuage, afin de s'affranchir du biais qu'induirait des conditions météorologiques variables. Les mesures sont effectuées au centre de la surface occupée par les frondes et/ou les gamétophytes. La comparaison des moyennes par test *t* de Student (Scherrer, 1984) est effectuée afin de déceler d'éventuelles différences entre les conditions lumineuses où se développent les sporophytes de la fougère et celles où se développent ses gamétophytes.

2.4.5 Caractérisation phyto-écologique des habitats

2.4.5.1 Habitats anthropisés et grottes littorales

Des relevés floristiques sont effectués dans les habitats anthropisés abritant le Trichomanès remarquable dans le Massif Armoricain, majoritairement des puits mais également une ancienne carrière, un tunnel, un caveau et un édifice religieux. La présence de Bryophytes est renseignée. Cependant, l'identité taxonomique des Bryophytes en présence n'est pas déterminée. Les caractéristiques écologiques de ce type d'habitat sont dressées à partir des données ainsi collectées. Des relevés phytologiques sont également réalisés dans l'ensemble des grottes des côtes maritimes où se développent le Trichomanès remarquable. La présence de Bryophytes est précisée sans que les espèces soient distinguées. Seule la végétation terrestre est décrite. Les algues présentes dans les flaques d'eau douce présentes au sol de la grotte sont omises.

2.4.5.2 Habitats forestiers

2.4.5.2.1 Définition et application d'une méthode pour la description et la comparaison des habitats forestiers

i) Type de couvert végétal et géomorphologie des habitats

Afin de définir une méthode de description des habitats forestiers de la fougère, neuf stations sont visitées au cours du mois de mars 2004. Ce travail est réalisé avec le concours des Docteurs S. Magnanon (Déléguée Régionale Bretagne du Conservatoire Botanique National de Brest) et J. Bardat (Laboratoire Ecosystèmes et Interactions Toxiques, Equipe Bryophytes et Bioindication du Muséum National d'Histoire Naturelle à Paris) et du Professeur F. Bioret (Institut de Géoarchitecture de l'Université de Bretagne Occidentale, Brest). Les stations sont sélectionnées en fonction de leur position géographique dans le but de couvrir l'aire de répartition armoricaine de la fougère et afin de représenter au mieux la diversité des configurations des stations recensées. Pour décrire précisément les habitats forestiers du *Trichomanes* remarquable, 4 échelles spatiales successives sont requises. Le **tableau X** et la **figure 47** présentent les niveaux N1 à N4. La présence d'un cours d'eau est renseignée.

Tableau X : Les 4 niveaux de description des habitats forestiers

Niveau	Définition
N1	Couvert végétal de plantes vasculaires décrit par strates, arborée, arbustive et herbacée
N2	Type de formation rocheuse, (affleurement ou chaos de blocs plus ou moins volumineux)
N3	Support (paroi sous surplomb de type auvent, bloc rocheux abrité) du groupement à <i>Trichomanes speciosum</i> Willd.
N4	Situation micro-topographique du <i>Trichomanes</i> remarquable (fissure, replat, flanc de rocher)

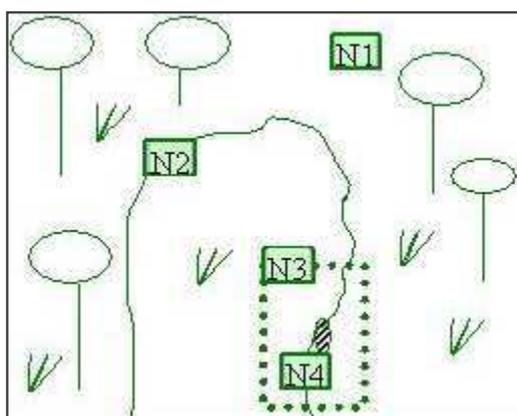


Figure 47 : Schéma des 4 niveaux de description des habitats forestiers. N1: couvert végétal ; N2: type de formation rocheuse ; N3: support rocheux du groupement à *Trichomanes speciosum* Willd. ; N4: situation micro-topographique du *Trichomanes* remarquable

La méthode de description des habitats forestiers, définie et mise en œuvre dans les 9 stations de *Trichomanes speciosum* Willd., est appliquée aux 15 autres stations localisées sous couvert forestier qui sont recensées dans le Massif Armoricain. Seules les 2 stations bas-normandes, découvertes *a posteriori* et la station de Scaër ayant subi des atteintes majeures par déforestation, sont exclues. Ceci porte à 24 le nombre total de stations forestières ayant fait l'objet d'une diagnose phyto-écologique.

ii) Etude des Bryophytes associées à Trichomanes speciosum Willd. pour la caractérisation des micro-habitats intra forestiers

Le relevé floristique des espèces composant les cortèges bryologiques dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. est effectué en mars 2004 selon un protocole défini à partir des 9 stations de milieu forestier présentées ci-dessus. Des prélèvements sont effectués au niveau des micro-habitats (Niveau 4, cf. figure 47, p. 81) du *Trichomanes* remarquable. Au sein de ce niveau, 4 stades dynamiques successifs de colonisation des Bryophytes, de S1 à S4, sont caractérisés (**tableau XI** et **figure 48**).

Tableau XI : Description des quatre stades dynamiques successifs dans lesquels les Bryophytes sont échantillonnés

Stades	Définition
S1	stade pionnier à post-pionnier : végétation à même la roche
S2	stade post-pionnier à nomade : la végétation se développe sur une épaisseur d'humus de 1 à 5 mm
S3	stade nomade à climacique stationnel : la végétation se développe sur une épaisseur d'humus de plus de 5 mm et jusqu'à 1 cm
S4	stade climacique stationnel : la végétation repose sur une couche d'humus supérieure à 1 cm

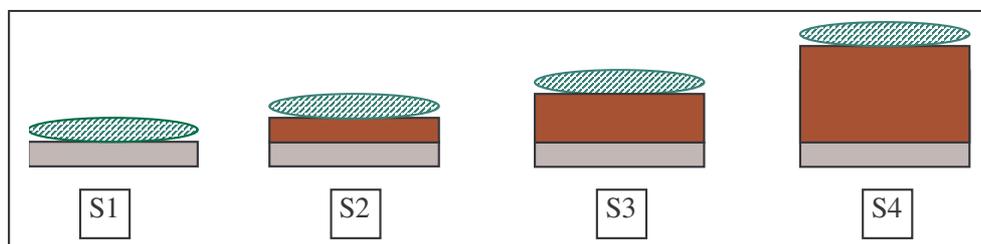


Figure 48 : Schémas des 4 stades dynamiques successifs échantillonnés au sein du niveau microtopographique N4. En gris, le substrat rocheux ; en foncé la couche d'humus et en hachuré, le groupement à *Trichomanes* remarquable

Des échantillons sont collectés depuis le stade 1 (S1), stade pionnier à post-pionnier (à même la roche), jusqu'au stade 4 (S4), stade climacique stationnel (présence d'une couche d'humus très épaisse >1 cm), en passant successivement par les stades dynamiques intermédiaires (S2), post-pionnier à nomade et (S3), nomade à climacique stationnel (litière organique "peu épaisse", de 1 à 5 mm, à "épaisse", de 5 mm à 1 cm). Dans certains stades 1, la collecte n'est pas effectuée, soit pour sauvegarder les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. en mélange au sein des Bryophytes, soit parce que ce stade n'implique pas la détermination de Bryophytes. Suite à ces collectes dans les 9 stations, des prélèvements sont réalisés dans 7 autres stations forestières durant le même mois de mars 2004 et selon la même méthodologie. L'ensemble des échantillons est conservé dans des enveloppes de papier. La composition floristique des cortèges bryologiques de chacune des 16 stations est établie grâce aux déterminations réalisées par J. Bardat.

2.4.5.2.2 Discrimination des différents habitats forestiers

Afin de discriminer les différents types d'habitats forestiers de *Trichomanes speciosum* Willd., les données collectées sur la flore vasculaire (Niveau 1) et la géomorphologie (Niveaux 2 à 4) de 24 stations forestières de la fougère sont traitées statistiquement par des Analyses en Composantes Principales (ACP).

2.4.5.2.3 Caractérisation des micro-habitats intraforestiers à partir des données bryologiques

Pour les 16 stations dont les données bryologiques sont disponibles, les relevés sont classés manuellement dans un tableau diagonalisé (**tableau XII**) présentant les espèces identifiées en fonction des stations. A partir du tableau, des cortèges bryologiques, c'est-à-dire des groupes d'espèces fréquemment associées, sont caractérisés.

Tableau XII : Principe de la construction d'un tableau diagonalisé présentant les espèces relevées par stations et montrant la possibilité de distinguer différents cortèges bryologiques (espèce 1 : ubiquiste ; espèces 2 à 5 : cortège A ; espèces 6 à 10 : cortège B)

	Station 1	Station 2	Station 3	Station 4	Station 5	Station 6	Station 7	Station 8	Station 9	Station 10
Espèce 1	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Espèce 2	X	X	X	X	X					
Espèce 3		X	X	X	X					
Espèce 4			X	X	X					
Espèce 5				X	X					
Espèce 6						X	X	X	X	X
Espèce 7						X	X	X	X	X
Espèce 8							X	X	X	X
Espèce 9								X	X	X
Espèce 10								X	X	X

Au sein des cortèges bryologiques mis en évidence, pour chacune des espèces de Bryophytes identifiées, le nombre et le pourcentage de relevés dans lequel elles figurent sont calculés afin de vérifier que les données bryologiques permettent de discriminer nettement des groupes de stations parmi les 16 étudiées. Dans ces conditions, un type de cortège bryologique est attribué à chaque station. Cette donnée phytologique est utilisée en complément des données disponibles sur la flore vasculaire et la géomorphologie, pour la réalisation de l'Analyse en Composante Principale.

Les propriétés connues des Bryophytes en tant qu'espèces bio-indicatrices sont utilisées pour tenter de caractériser les conditions micro-environnementales régnant au sein des différents types d'habitats forestiers discriminés, voire de discriminer les stations à sporophytes de celles à gamétophytes indépendants. Pour cela, l'auto-écologie de chaque cortège bryologique est examinée : elle est définie à partir des données, apportées par J. Bardat, sur l'auto-écologie (Ellenberg *et al*, 1991 ; Dierssen, 2001) de chacune des espèces le composant. Puisqu'au sein d'un cortège, les espèces ne sont pas relevées avec la même fréquence, il est nécessaire d'associer à chacune des Bryophytes une classe de fréquence et un coefficient de pondération (**tableaux XIII**) défini arbitrairement (Bardat et Hugonnot, 2002).

Tableau XIII : Classes de fréquence traduisant la fréquence de relevé d'une espèce dans un cortège bryologique et coefficient de pondération associé

Fréquence de relevé de l'espèce dans un cortège	Classe de fréquence	Coefficient de pondération
80-100% des relevés	V	16
60-80% des relevés	IV	8
40-60% des relevés	III	4
20-40% des relevés	II	2
5-20% des relevés	I	1
< 5% des relevés	+	0,5

Ensuite, pour un facteur environnemental donné, les coefficients de pondération se rapportant aux espèces qui présentent la même sensibilité sont additionnés (**tableau XIV**). La somme obtenue correspond ainsi à un coefficient de sensibilité pondéré. Afin de comparer les deux cortèges, un indice de sensibilité est calculé par le pourcentage relatif du coefficient pondéré de chaque sensibilité par rapport à la somme des coefficients des sensibilités pondérées des espèces du cortège (**tableau XIV**). Les conditions micro-environnementales (type de substrat, humidité, température, lumière) régnant au niveau des différents groupements à *Trichomanes speciosum* Willd., correspondant à autant de cortèges bryologiques, sont comparées.

Tableau XIV : Méthode d'analyse des données pour la définition de l'auto-écologie des cortèges bryologiques. Ici, le cortège est composé en majorité d'espèces hyper-acidiphiles

Espèces	Sensibilité	Classe de fréquence	Coeff. de pondération	Sensibilité des espèces du cortège 1	Coeff. de sensibilité pondéré	Indice de sensibilité pondéré
Espèce 1	hyper-acidiphile	V	16	hyper-acidiphile	16 + 8 = 24	(24 x 100)/32,5 = 73,9 %
Espèce 2	acidicline	III	4	acidicline	4	(4x100)/32,5 = 12,3 %
Espèce 3	neutrophile	+	0,5	neutrophile	0,5	(0,5x100)/32,5 = 1,5 %
Espèce 4	acidiphile strict	II	2	acidiphile strict	2 + 2 = 4	(4x100)/32,5 = 12,3 %
Espèce 5	acidiphile strict	II	2	somme	32,5	100%
Espèce 6	hyper-acidiphile	IV	8			

2.4.5.3 Etude de la dynamique des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. en habitats forestiers à partir de l'analyse de la compétition interspécifique avec les Bryophytes associées

Le statut dynamique des Bryophytes identifiées est étudié dans 16 stations de milieu forestier armoricain de *Trichomanes speciosum* Willd. Pour cela, le pourcentage de Bryophytes identifiées dans chaque statut dynamique (pionnier à post-pionnier, post-pionnier à nomade, nomade, nomade à climacique stationnel, climacique stationnel) est calculé. Ensuite, suivant le même principe que pour les exigences écologiques, l'indice pondéré traduisant la fréquence d'occurrence de chaque statut dynamique au sein d'un cortège est calculé. Par ailleurs, le nombre moyen de taxons de Bryophytes par stade dynamique échantillonné est calculé. Finalement, pour l'ensemble des 24 stations en milieu forestier, y compris celles où l'identification des Bryophytes n'a pas été menée, les recouvrements moyens des Bryophytes ainsi que des gamétophytes et/ou sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont décrits et comparés pour analyser l'évolution des peuplements en fonction du stade dynamique.

2.5 DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE ET PROSPECTION EN BASSE-NORMANDIE

En 2002, seules deux stations de *Trichomanes speciosum* Willd. sont recensées en Basse-Normandie, dans de petites grottes situées sur le littoral de la Manche (Provost, 2002). Le Trichomanès remarquable n'avait jusqu'alors pas été recherché en habitat forestier dans cette partie du Massif Armoricaïn. Sur la base des caractéristiques communes relevées dans les stations recensées dans le Massif Armoricaïn, un diagnostic écologique est établi. Il permet d'orienter et d'accélérer considérablement la prospection réalisée en avril 2004 en collaboration avec J. Geslin (antenne régionale de Basse-Normandie du Conservatoire Botanique National de Brest), dans des sites potentiels de l'Orne et de la Manche susceptibles d'abriter la fougère, sous sa forme de sporophytes et/ou de gamétophytes.

2.6 EPREUVE D'EFFICACITE DU DAGNOSTIC ECOLOGIQUE PAR PROSPECTION AU PAYS BASQUE ET DANS LES VOSGES

Le diagnostic écologique établi à partir des stations armoricaines de *Trichomanes speciosum* Willd. est testé à plus large échelle géographique par une analyse des conditions environnementales régnant dans des stations de la fougère du Pays Basque et des Vosges. Au préalable, une mission de prospection est menée au Pays Basque, en collaboration avec le Docteur F. Blanchard et T. Lamothe de la mission Conservatoire Botanique National Aquitaine – Poitou – Charentes. En effet, la présence des gamétophytes de la fougère n'y était jusqu'alors que mentionnée (Boudrie, 2001) sans précision géographique. Les gamétophytes sont recherchés au sein des stations de sporophytes historiquement connus (Jovet, 1933) sous la conduite du botaniste local Marcel Saule (**tableau XV**).

Tableau XV : Vallées du Pays Basque prospectées en juillet 2002 pour rechercher les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (S : sporophytes)

Commune	Lieu-dit	Connaissances historiques sur la présence de <i>Trichomanes speciosum</i> Willd. dans la vallée
Itxassou	<i>Laxia</i>	S
Bidarray	<i>Bastan</i>	S
Sare	<i>Hirruetako erreka</i>	S
Urrugne-Ascaïn	<i>Larrungo erreka</i>	S
Biriatoù	<i>Lancette</i>	-
	<i>Lizarlan</i>	-
Aldudes	<i>Hayra</i>	-

Les gamétophytes du *Trichomanes* remarquable sont ensuite recherchés en amont et en aval des placettes où sont localisées les frondes recensées dans les vallées. Enfin, d'après la typologie dressée dans le Massif Armoricain, des vallées potentiellement favorables à la présence de la fougère, mais où elle n'a jamais été recensée, sont pointées sur des cartes IGN au 1:25 000^{ème} du Pays Basque et prospectées.

Dans les stations de gamétophytes nouvellement recensées et dans celles de sporophytes, les paramètres environnementaux étudiés dans le Massif Armoricain (pH des pluvio-lessivats, taux d'humidité atmosphérique, température et lumière) sont analysés par une mesure ponctuelle réalisée au début du mois de juillet 2002. Dans les Vosges du Nord, à la fin du mois de juillet 2002, ces paramètres font l'objet de mesures ponctuelles au sein de 5 stations de gamétophytes indépendants (**tableau XVI**), sélectionnées comme quelques-unes des plus remarquables en terme d'abondance par C. Jérôme, botaniste local, qui a recensé 750 stations de gamétophytes indépendants dans cette région (Jérôme *et al.*, 2001).

Tableau XVI : Localisation des 5 stations vosgiennes de gamétophytes indépendants (G) de *Trichomanes speciosum* Willd. visitées en juillet 2002 pour l'enregistrement des principaux paramètres environnementaux

Commune	Lieu-dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.
Savernes	<i>Grotte de Saint-Vit</i>	G
La Petite Pierre	<i>Petite Pierre</i>	G
Phalbourg	<i>Près de la grotte des amoureux</i>	G
Eckartswiller	<i>Près de la grotte des amoureux</i>	G
Neuwiller-lès-Savernes	<i>Près de Kohltalerhof</i>	G

La comparaison des moyennes par test *t* de Student (Scherrer, 1984) est effectuée pour rechercher d'éventuelles différences entre les paramètres environnementaux relevés dans les stations basques à sporophytes et dans celles à gamétophytes indépendants. Concernant les données vosgiennes, une moyenne des valeurs relevées pour chaque paramètre est calculée. Les données basques et vosgiennes sont ensuite confrontées à celles des relevés mensuels réalisés pendant une année dans le Massif Armoricain de façon à valider ou non l'homogénéité des diagnoses.

3 RESULTATS

3.1 CHOROLOGIE

La **figure 49** présente la cartographie actualisée au 1^{er} janvier 2005 de la répartition de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn. Les stations sont essentiellement localisées en Bretagne et dans les départements limitrophes d'Ille-et-Vilaine et de Loire-Atlantique. La station armoricaïnne de la fougère la plus septentrionale se trouve en Basse-Normandie et la plus méridionale, sur l'île d'Houat. Les départements de la Loire-Atlantique, de la Vendée, des Deux-Sèvres et du Maine-et-Loire sont sous-prospectés.

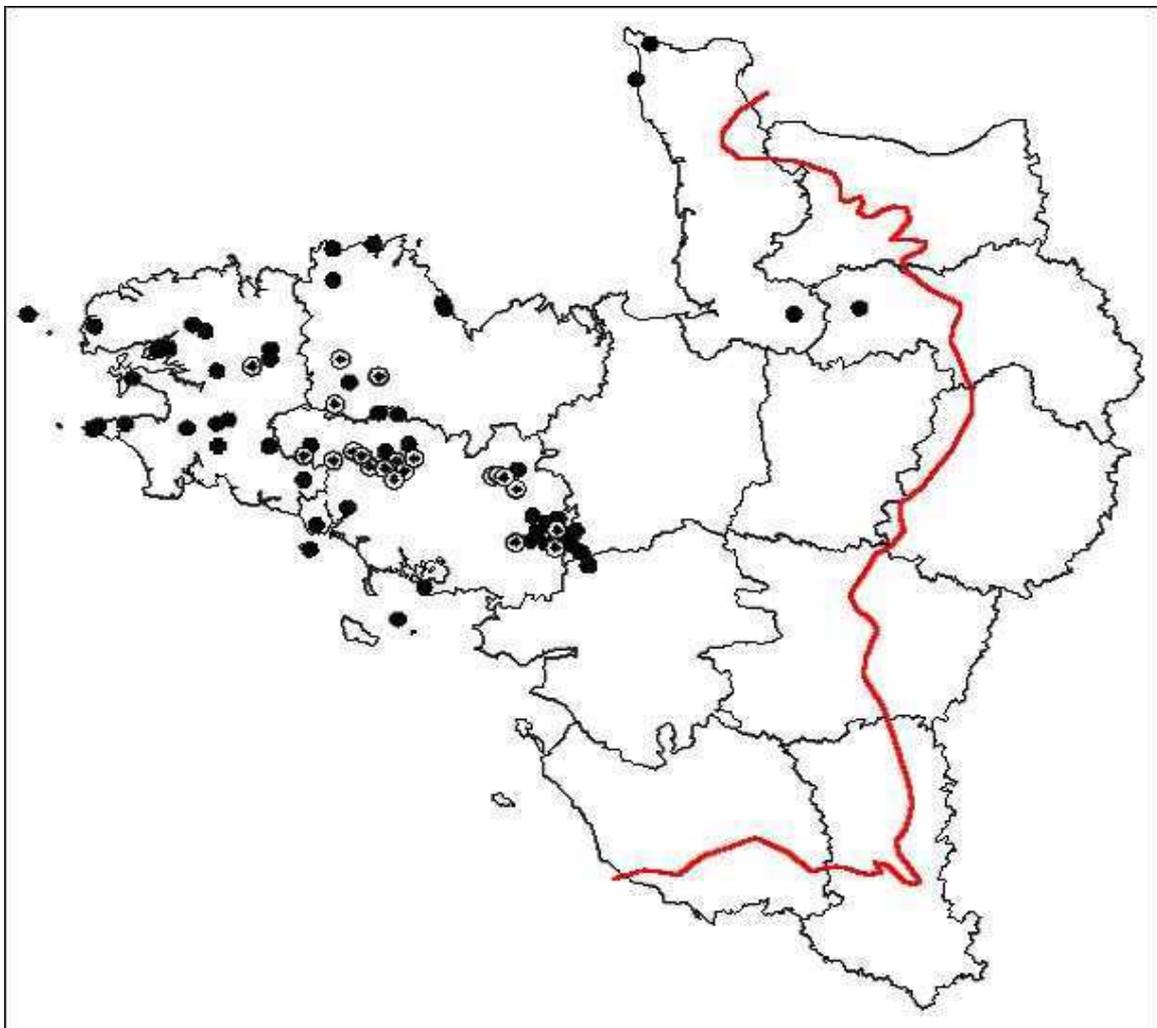


Figure 49 : Cartographie de répartition actualisée de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn dont les limites sont figurées par le trait gras
, Commune où est recensée au moins une station de sporophytes ; ● Commune où est recensée au moins une station de gamétophytes indépendants

Le **tableau XVII** répertorie, pour chaque département inclus dans le Massif Armoricain, les 165 stations (communes et lieux-dits) de la fougère. Il indique pour chaque station, le grand type d'habitat, le nombre de frondes relevé et le recouvrement estimé des gamétophytes . Il apparaît que des gamétophytes sont systématiquement associés aux sporophytes, sauf à l'intérieur de deux puits où seules des frondes sont décelées (*Le Roscoat*, Lanvenegen dans le Morbihan et *Lestrou*, Glomel dans les Côtes d'Armor).

Tableau XVII : Stations de *Trichomanes speciosum* Willd. recensées au 1^{er} janvier 2005 dans le Massif Armoricain. S : sporophyte ; G : gamétophyte, * : frondes atypiques ; Δ : frondes en mauvais état de conservation ; 0 : pas de gamétophyte décelé ; (+) : coussins épars de 1 cm² chacun ; (++) : 11 à 50 coussins épars de 1 cm² chacun ; (+++) : plus de 50 coussins de 1 cm² chacun plus ou moins disjoints jusqu'à former un tapis quasi-continu d'environ 1 m² ; (++++) : tapis quasi-continu de 1 à 2 m² ; (+++++) : tapis quasi-continu de plus de 2 m² ;

Commune	Lieu-dit	Habitat	S	G
Morbihan (56)				
Berne	<i>Guernalgout</i>	puits	50 *	+
Bieuzy	<i>Bourg</i>	puits	7 *	+++
	<i>Bourg 2</i>	puits	0	+++
	<i>Castennec</i>	puits	20 *	+++
Bubry	<i>Saint-Armel</i>	puits	0	+++
		puits	0	+
	<i>Botcalper</i>	puits	0	+++
Carentoir	<i>Margandais</i>	puits	15	+++
Cournon	<i>Lestun</i>	puits	0	+++
		puits	0	+++
		puits	0	+
Croix-Helléan (La)	<i>Bambruan</i>	puits	50	+++
		puits	0	+
		puits	0	+
		puits	0	+
	<i>Bellon</i>	puits	0	+
	<i>Bourg</i>	puits	0	+++
Fauët (Le)	<i>Sainte Barbe</i>	édifice religieux	0	++
Gacilly (La)	<i>La Bouère</i>	puits	0	+++
		puits	0	+++
		puits	0	++
	<i>La Villio</i>	puits	400	+++
Glénac	<i>Haut-Roussimel</i>	puits	0	+++
	<i>Haut-Sourdéac</i>	carrière	0	+++++
	<i>Les Pâtis</i>	puits	0	++
Groix	<i>Port Saint- Nicolas</i>	grotte de côte maritime	0	+++
		grotte de côte maritime	0	++
Guern	<i>Guerneur</i>	puits	0	+
	<i>Kermélinaire</i>	puits	0	+++
	<i>Quilio</i>	puits	0	+++
Guiscriff	<i>Stang Ludu</i>	puits	0	Ind.
Helléan	<i>Basse-Houssaie</i>	puits	0	++
	<i>Le Rohello</i>	puits	30 *	+
		puits	0	+++

Commune	Lieu-dit	Habitat	S	G
Helléan	<i>Petit Penlan</i>	puits	150*	++
		puits	0	++
Hennebont	<i>Saint Hervé</i>	caveau	0	++++
Houat	<i>Port Navallo</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Lanvenegen	<i>Le Cleuziou</i>	puits	6	+++
	<i>Le Roscoat</i>	puits	20 *	0
puits		50	+++	
Lignol	<i>Castelgal</i>	puits	80	+++
	<i>Quelfenec</i>	puits	0	+
Loyat	<i>Levran</i>	puits	0	++
	<i>Penhouët</i>	puits	0	+
Melrand	<i>Kercloarec</i>	puits	2 [△]	+++
	<i>Kermer</i>	puits	0	++
	<i>Kerhoh</i>	puits	2 [△]	+++
Peillac	<i>La Niette</i>	puits	0	+
Persquen	<i>Presbytère</i>	puits	10	+++
Ploëmeur	<i>Kerroc'h</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Ploërmel	<i>Bezon</i>	puits	0	+++
		puits	0	+
	<i>Boyac</i>	puits	30	+++
		puits	19 *	+++
	<i>Roc Brien</i>	puits	200	+++
<i>Ville Roulais</i>	puits	0	+++	
Pluherlin	<i>Le Fol</i>	puits	200	+++
Pluméliaou	<i>Talvern-Nenez</i>	puits	2	+++
		puits	20 *	+++
		puits	0	++
Pontivy	<i>Château des Rohan</i>	tunnel	0	+++
Ruffiac	<i>Lodinieü</i>	puits	0	++
	<i>La Rivière</i>	puits	0	+
Saint-Aignan	<i>Lanniguel</i>	affleurement	0	+
Saint-Barthélémy	<i>Kerhuilic</i>	puits	16 *	+++
	<i>Lann Vraz</i>	puits	0	+++
	<i>Saint-Fiacre</i>	puits	50	+++
Saint-Gildas-de-Rhuys	<i>Grand Mont</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Saint-Martin	<i>La Bogeraie</i>	puits	0	+
		<i>Chantepie</i>	puits	0
	<i>La Burgotais</i>	puits	0	+
		puits	0	+
		puits	0	++
		puits	0	+
		puits	0	++
	<i>La Croix-Piguel</i>	puits	0	++
	<i>Lauzanne</i>	puits	0	+
	<i>La Touche</i>	puits	0	+++
<i>Vêret</i>	puits	0	++	
Saint-Nicolas-du-Tertre	<i>Le Bot</i>	puits	0	+
	<i>La Ruaudais</i>	puits	0	+++
	<i>Quilvin</i>	puits	0	+
Saint-Thuriau	<i>Bod en Bren</i>	puits	15 *	+++
	<i>Kerlebost</i>	puits	8	+++
Saint-Vincent-sur-Oust	<i>Les Métairies</i>	puits	100	+++

Commune	Lieu-dit	Habitat	S	G
Taupont	<i>Bodiel</i>	puits	10	++
		puits	0	+++
	<i>Lézillac</i>	puits	200	+++
		puits	6 *	+++
	<i>La Touche</i>	puits	120	+++
		puits	0	+
		puits	5	+++
		puits	0	+
	<i>Le Val</i>	puits	0	+
<i>Loguel</i>	puits	Inacc.	Inacc.	
<i>Vieille Ville</i>	puits	0	+++	
Côtes d'Armor (22)				
Binic	<i>Plage de la Banche</i>	grotte de côte maritime	0	++
Etables-sur-Mer	<i>Vau-Burel</i>	grotte de côte maritime	0	++
Glomel	<i>Lan Bern</i>	puits	100*	++
	<i>Lestrou</i>	puits	4 *	0
	<i>Meinguen</i>	puits	0	++
Kergrist-Moëlou	<i>Pontou-Mein</i>	chaos rocheux	0	++
Perret	<i>Saut du chevreuil</i>	affleurement	0	++
Perros-Guirec	<i>Ile Tomé 1</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Perros-Guirec	<i>Ile Tomé 2</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Ploubezre	<i>Vallée du Léguer</i>	affleurement	0	++
Plougrescant	<i>Ile d'Er</i>	grotte de côte maritime	0	++
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez</i>	chaos rocheux	80 [△]	+++
Saint-Servais	<i>Linglay</i>	chaos rocheux	10 [△]	+++
	<i>Kerrivoat</i>	chaos rocheux	0	+++
Finistère (29)				
Berrien	<i>La Mare aux Sangliers</i>	affleurement	0	+
Beuzec-Cap-Sizun	<i>Pointe du Millier</i>	grotte de côte maritime	0	++
Briec	<i>Forêt de Kerlez</i>	affleurement	0	++
Clédén-Cap-Sizun	<i>Plage de Theolen</i>	grotte de côte maritime	0	++
	<i>Toull Kerneur</i>	grotte de côte maritime	0	++
Crozon	<i>Saint Nicolas</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Crozon-Morgat	<i>Pointe de Morgat</i>	grotte de côte maritime	0	++
Edern	<i>Park an Oh'Ru</i>	affleurement	0	++
Ergué-Gaberic	<i>Stangala</i>	affleurement	0	++
Guiclan	<i>Roch Toull</i>	affleurement	0	++
Huelgoat	<i>Le Gouffre</i>	chaos rocheux	0	+
	<i>La Grotte d'Arthur</i>	affleurement	0	+
Loqueffret	<i>Rusquec</i>	puits	200	+++
Loperec	<i>Bois du Nivot</i>	affleurement	0	++
Loperhet	<i>Gorréquer</i>	affleurement	0	+
	<i>Ker Simon</i>	affleurement	0	+
Ouessant	<i>Kerch'ééré</i>	grotte de côte maritime	0	++
		grotte de côte maritime	0	++
	<i>Plage du Prat</i>	grotte de côte maritime	0	+++
	<i>Kadoran</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Plogoff	<i>Golvinog</i>	grotte de côte maritime	0	++++
	<i>Ti ar chaz'kozh</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Plogonnec	<i>Meil Roc'h</i>	affleurement	0	++
Plouarzel	<i>Pointe Corsen</i>	grotte de côte maritime	0	++
Ploudiry	<i>Milin Coz</i>	affleurement	0	++
	<i>Frouit Bihan</i>	affleurement		++
Plougastel-Daoulas	<i>Kerherault</i>	affleurement	0	+
	<i>Roch Nivelen</i>	affleurement	0	+

Commune	Lieu-dit	Habitat	S	G
Roche-Maurice	<i>Chapelle Ruinée</i>	affleurement	0	++
Scaër	<i>Cascadec</i>	affleurement	0	++
Tremeven	<i>Rive de l'Ellé</i>	affleurement	0	++
Ille-et-Vilaine (35)				
Bains-sur-Oust	<i>La Giraudais</i>	puits	0	+
	<i>Le Port Corbin</i>	puits	0	++
	<i>Les Touches</i>	puits	0	+++
	<i>Saint-Marcellin</i>	puits	0	+++
	<i>La Halais</i>	puits	0	++
	<i>La Bonniais</i>	puits	0	+
	<i>Le Quilien d'Oust</i>	puits	0	+
Sainte-Marie	<i>Maupertuis</i>	puits	0	+
	<i>Le Pê</i>	puits	0	+++
		puits	0	+
	<i>L'Aumônerie</i>	puits	0	+++
	<i>La Couplais</i>	puits	0	+++
	<i>Le Pont d'Apé</i>	puits	0	+++
Sixt-sur-Aff	<i>La Ferme Neuve</i>	puits	0	+++
	<i>La Remaudais</i>	puits	0	++
	<i>Le Val</i>	puits	0	++
	<i>Cresiolan</i>	puits	0	+++
Loire-Atlantique (44)				
Avessac	<i>La Mercerais</i>	puits	0	++
Manche (50)				
Flamanville	<i>Anse du Quedoy</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Gréville-Hague	<i>Point de vue sur le Castel Vendon</i>	grotte de côte maritime	0	+++
Mortain	<i>La Grande Cascade</i>	affleurement	0	++
Orne (61)				
Le Châtelier	<i>La Chapelle des Roches</i>	affleurement	0	+

3.2 ABONDANCE DES POPULATIONS

Dans les puits qui abritent des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., l'effectif moyen de frondes est estimé à $63,53 \pm 86$ (risque $\alpha = 0,05$). Leur nombre varie de 2 à 400 (cf. tableau XVII p. 89 à 92). Sachant que l'évaluation s'opère depuis l'ouverture des puits, la longueur des limbes observés peut-être estimée à 8 cm pour les plus petits (*Kerhoh*, Melrand, Morbihan), 15 à 20 cm en moyenne et 30 cm pour les plus développés (*La Villio*, La Gacilly, Morbihan). La surface occupée par les gamétophytes indépendants est variable. Ceci est plus particulièrement contrôlable en milieu naturel (forêt, grottes des côtes maritimes). L'abondance moyenne des recouvrements de gamétophytes est estimée (**figure 50** ; cf. tableau XVII p. 89 à 92) grâce aux 6 types de recouvrement définies. Les tests de χ^2 effectués pour comparer les fréquences des 6 catégories d'abondance des gamétophytes mettent en évidence des différences très significatives ($p < 0.01$) entre les habitats naturels et les habitats

anthropisés pour les catégories 2 et 3. Ainsi, en habitat naturel, les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont majoritairement observés sous forme de 11 à 50 coussins épars de 1 cm² (catégorie 2). En habitat anthropisé, les recouvrements sont souvent plus denses, d'une cinquantaine de coussins de 1 cm² à un tapis quasi-continu d'environ 1 m² (catégorie 3).

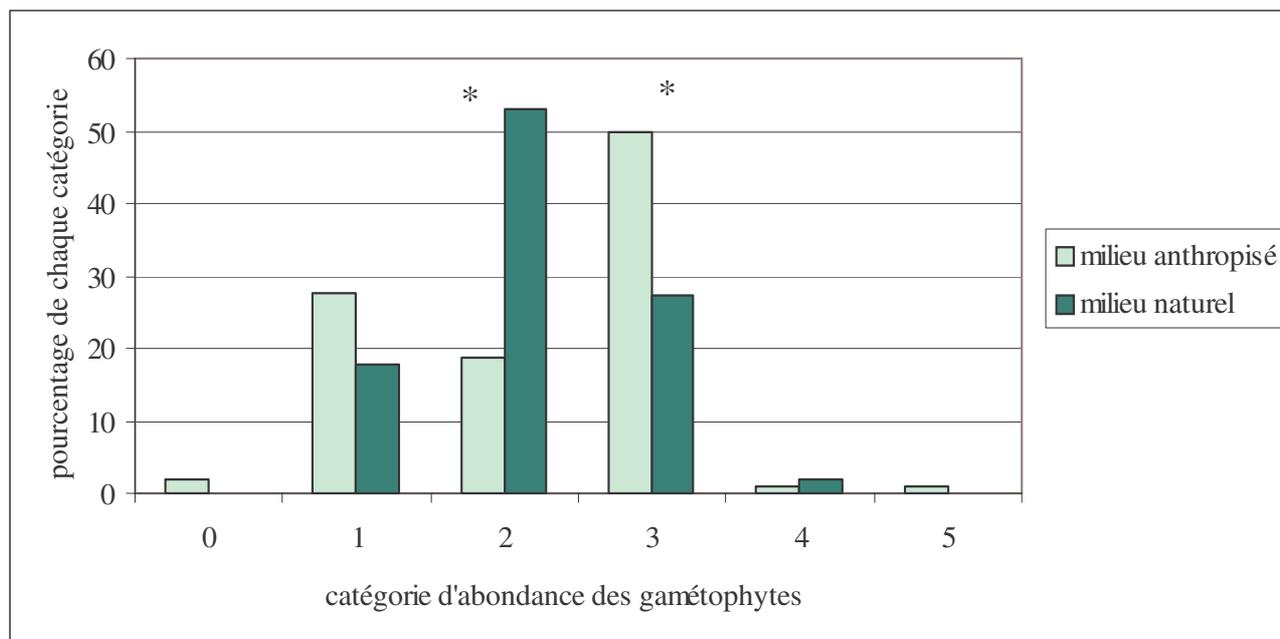


Figure 50 : Pourcentage d'observation des 6 catégories d'abondance des gamétophytes en fonction du type d'habitat, naturel ou anthropisé. 0 : pas de gamétophyte décelé ; 1: de 1 à 10 coussins épars de 1 cm² chacun ; 2 : 11 à 50 coussins épars de 1 cm² chacun ; 3 : plus de 50 coussins de 1 cm² chacun plus ou moins disjoints jusqu'à former un tapis quasi-continu d'environ 1 m² ; 4 : tapis quasi-continu de 1 à 2 m² ; 5 : tapis quasi-continu de plus de 2 m² ; *différences significatives (test de *Chi*² , $\alpha=5\%$).

3.3 ATTEINTES ET MENACES

Sur un total de 35 puits à sporophytes, 20 édifices abritent des populations de *Trichomanes* remarquable composées de frondes vertes et vigoureuses. Dans les 13 autres édifices, les frondes sont très desséchées et brunes (**tableau XVIII**) si bien que la capacité de maintien de ces individus dégradés semble fortement remise en question. Deux populations sont inaccessibles à l'observation en raison de la fermeture des puits. C'est le cas au lieu-dit *Loguel* à Taupont (Morbihan) où le puits abritant les frondes est fermé par une planche de contreplaqué. De même, au *Manoir du Rusquec* à Loqueffret (Finistère), les sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. dont la vigueur avait été constatée jusqu'en 2004, ne sont plus visibles en raison de la fermeture du puits, par des planches de bois, opérée par le propriétaire au cours de l'année 2005. Il est à craindre que, dans de telles conditions, les sporophytes

voient leur état de conservation se dégrader, à l'instar des 8 puits récemment fermés, à l'intérieur desquels la présence du Trichomanès remarquable est toujours détectée, mais dont les frondes adoptent un aspect létal, marron et desséché.

Tableau XVIII : Etat de conservation des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans des puits où est constatée une modification de l'habitat

Commune	Lieu-Dit	Modification de l'habitat	Etat de conservation
Berné	<i>Guernalgout</i>	fermé par des tôles	frondes sèches et brunes
Bieuzy	<i>Bourg</i>	fermé par des tôles	frondes sèches et brunes
	<i>Castennec</i>	arrêt du puisage, sécheresse	frondes sèches et brunes
Glomel	<i>Lan Bern</i>	dévégétalisation	frondes sèches et brunes
	<i>Lestrou</i>	arrêt du puisage, sécheresse	frondes sèches et brunes
Hélléan	<i>Petit Penlan</i>	fermé par des tôles	frondes sèches et brunes
	<i>Le Rohello</i>	fermé par des tôles	frondes sèches et brunes
Lanvenegen	<i>Le Roscoat</i>	fermé par des planches de bois	frondes sèches et brunes
Loqueffret	<i>Manoir du Rusquec</i>	fermé par des planches de bois	inaccessible
Ploërmel	<i>Boyac</i>	fermé par des tôles	frondes sèches et brunes
Pluméliau	<i>Talvern-Nenez</i>	fermé par une boîte aux lettres	frondes sèches et brunes
Saint-Barthélémy	<i>Kerhuilic</i>	fermé par une dalle de béton	frondes sèches et brunes
Saint-Thuriau	<i>Bod en Bren</i>	arrêt du puisage, sécheresse	frondes sèches et brunes
	<i>Bodiel</i>	fermé par des tôles	frondes sèches et brunes
Taupont	<i>Lézillac</i>	arrêt du puisage, sécheresse	frondes sèches et brunes
	<i>Le Loguel</i>	fermé par une planche de contreplaqué	inaccessible

Dans les puits maintenus ouverts, mais dont l'atmosphère est devenue anormalement sèche par arrêt du puisage de l'eau, les frondes présentent également un mauvais état de conservation tel qu'à *Castennec* (Bieuzy), *Bod en Bren* (Saint-Thuriau), *Lézillac* (Taupont) dans le Morbihan et *Lestrou* (Glomel) dans les Côtes d'Armor. Dans les puits de *Lan Bern* à Glomel, les frondes de la fougère sont desséchées et brunes, suite à la dévégétalisation quasi-totale du puits, malencontreusement réalisée en automne 2003.

Cependant, dans l'ensemble des puits où une modification de l'habitat est récemment intervenue et où les sporophytes sont peu vigoureux, les gamétophytes ne sont apparemment pas atteints par la dégradation, sauf dans celui du *Roscoat* à Lanvenegen (Morbihan) et de *Lestrou* à Glomel (Côtes d'Armor) où ils ne sont pas détectés. Par ailleurs, neuf des 74 puits qui abritent le Trichomanès remarquable sous la forme de gamétophytes indépendants sont actuellement fermés par des planches de bois, du béton ou des tôles, deux sont envahis par la végétation, essentiellement *Rubus gr. fruticosus* L., *Hedera helix* L. et un autre abrite *Taxus baccata* L. (tableau XIX)

Tableau XIX : Atteintes aux puits abritant les gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd.

Commune	Lieu-Dit	Modification de l'habitat	Etat de conservation
Bubry	<i>Saint-Armel</i>	fermé par des planches	aspect vital et couleur verte
		fermé par une dalle béton	
Carentoir	<i>Margandais</i>	<i>Taxus baccata</i> L.	
Croix-Helléan (La)	<i>Bourg</i>	fermé par une tôle	
Guern	<i>Guermeur</i>	fermé par une dalle béton	
Loyat	<i>Penhouët</i>	fermé par des planches de bois	
Melrand	<i>Kermer</i>	fermé par une dalle béton	
Ploërmel	<i>Bezon</i>	fermé par une tôle	
Saint-Nicolas-du-Tertre	<i>Le Bot</i>	envahi par la végétation	
Taupont	<i>La Touche</i>	fermé par une tôle	
	<i>Vieille Ville</i>	fermé par une tôle	

Ainsi, les gamétophytes indépendants qui se maintiennent dans des puits fermés conservent leur aspect vital et leur couleur verte. Le fait semble lié à la possibilité pour l'eau de pluie de s'infiltrer et de ruisseler sur les parois internes du puits en dépit de la fermeture de l'édifice. En effet, dans l'ensemble des puits, la principale atteinte des gamétophytes est toujours corrélée avec un déficit d'humidité plus ou moins permanent, que ce soit une absence d'eau s'écoulant sur les parois ou une faiblesse d'humidité atmosphérique. Il en va d'ailleurs de même pour les quatre populations de gamétophytes indépendants qui se développent dans des habitats anthropisés autres que des puits.

En milieu naturel, il n'est constaté aucune atteinte ou menace dans les grottes des côtes maritimes. En habitat forestier, les sporophytes atypiques et les gamétophytes associés se développant dans les deux populations recensées sont vigoureux, de même que les gamétophytes indépendants présents dans les autres stations forestières. Une seule modification d'habitat naturel du *Trichomanès* remarquable est observée dans l'affleurement de *Cascadec* à Scaër (Finistère) où le site a été récemment déboisé. Certainement, les conditions environnementales de lumière, de taux d'humidité atmosphérique et de température de la station sont profondément altérées. De plus, les troncs d'arbres coupés, débardés le long de la pente, ont emporté les blocs rocheux où se développaient des gamétophytes indépendants.

3.4 DIAGNOSE ECOLOGIQUE DES STATIONS

3.4.1 Diversité des habitats

Les données actualisées (**tableau XX ; figure 51**) montrent que le puits est l'habitat privilégié de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain. La fougère occupe en effet 110 de ces édifices, parmi lesquels 35 populations à sporophytes et 75 de gamétophytes indépendants. Les puits représentent donc 94,4% des stations armoricaines dans lesquelles des frondes sont recensées et 59 % des stations armoricaines de gamétophytes indépendants. Quatre populations de gamétophytes indépendants sont recensées dans d'autres habitats anthropisés : un tunnel, un caveau, un édifice religieux et une carrière. Tous ces habitats peuvent être rattachés au code CORINE biotope 86 : Villes, villages et sites industriels. Le *Trichomanès* remarquable est également présent dans 51 stations constituées par un habitat naturel, mais la fougère est presque exclusivement présente sous forme de populations de gamétophytes indépendants, exceptées deux stations à frondes atypiques récemment inventoriées (Saint-Nicolas-du-Pélem et Saint-Servais, Côtes d'Armor). Des gamétophytes indépendants sont aussi recensés dans plusieurs types d'habitats naturels. Ainsi, ils se développent en habitats forestiers (Code CORINE Biotopes 41 : Forêts caducifoliées) au sein de 22 affleurements et dans 5 chaos rocheux (code CORINE Biotopes 6 : Rochers continentaux). De même, le long des côtes maritimes, le taxon est représenté par 24 populations localisées dans des grottes (codes CORINE Biotopes 65 : Grottes) ou de profondes fissures (code CORINE Biotopes 18 : Côtes rocheuses ou falaises maritimes).

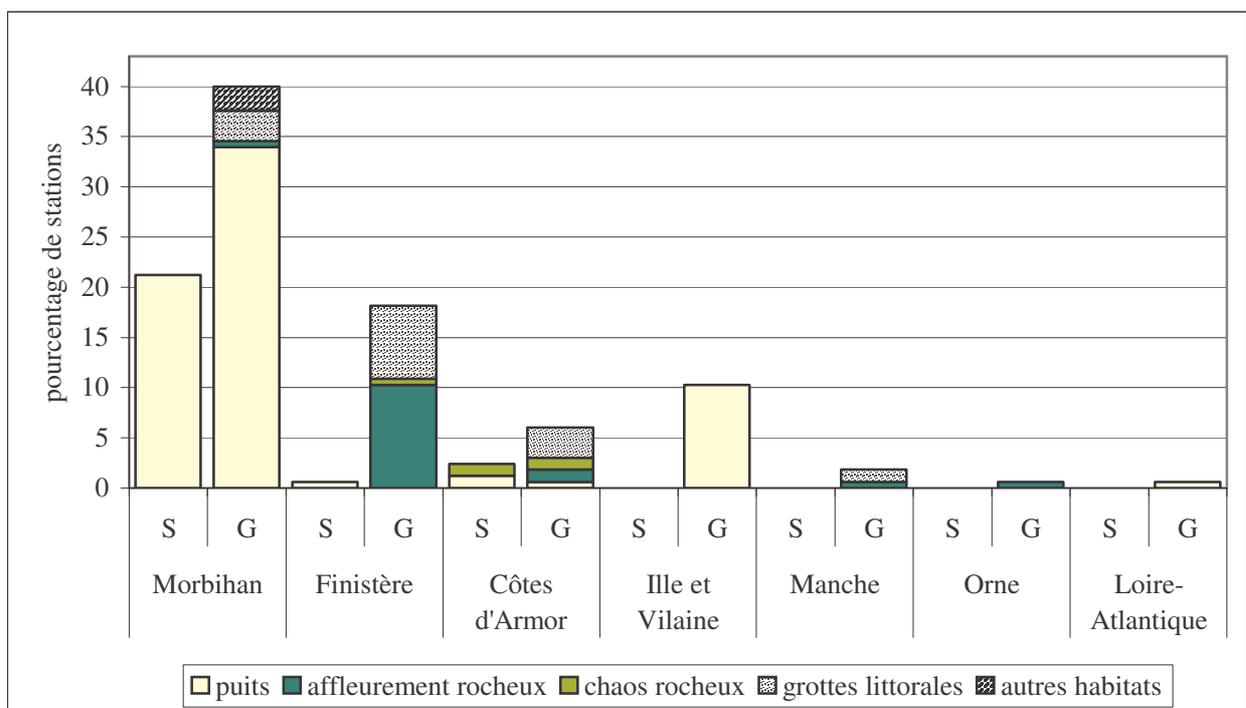


Figure 51 : Pourcentages de stations à sporophytes (S) et de stations de gamétophytes indépendants (G) de *Trichomanes speciosum* Willd. en fonction du département et du type d'habitat.

Tableau XX : Répartition des populations armoricaines de *Trichomanes speciosum* Willd. en fonction du type d'habitat

165 stations dans le Massif Armoricain				
114 stations en habitat anthropisé		51 stations en habitat naturel		
110 puits	4 autres habitats	27 habitats forestiers		24 grottes des côtes maritimes
		22 affleurements rocheux	5 chaos rocheux	
<ul style="list-style-type: none"> • 33 abritent des sporophytes et des gamétophytes • 2 abritent des sporophytes seuls • 75 abritent des gamétophytes indépendants 	<ul style="list-style-type: none"> • le caveau, l'édifice religieux, le tunnel et la carrière abritent des gamétophytes indépendants 	<ul style="list-style-type: none"> • 2 stations en chaos abritent des sporophytes et des gamétophytes • 3 stations en chaos abritent des gamétophytes indépendants • les 22 affleurements et les 24 grottes des côtes maritimes abritent uniquement des gamétophytes indépendants 		

3.4.2 Substrat

Quel que soit le type d'habitat, naturel ou anthropisé, les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. sont toujours localisées sur un substrat acide. Le *Trichomanes* remarquable, sous forme de gamétophytes et / ou de sporophytes n'est jamais recensé sur substrat calcaire. Le rhizome des sporophytes court le plus souvent à même la roche dépourvue de couche de matière organique. De même, les gamétophytes se développent aussi sur la roche ou sur une fine couche constituée d'anciens filaments gamétophytiques nécrosés. Dans deux stations seulement, le gamétophyte occupe un substrat terreux (*Kerlez*, Brieç ; *Le Stangala*, Ergué-Gabéric ; Finistère).

3.4.3 Température

Au cours de l'année de suivi et dans les 13 stations, la température moyenne enregistrée dans les stations où se développent sporophytes et gamétophytes est $\mu_S = 18,5^\circ\text{C} \pm 3,2$ (risque $\alpha=0.05$) et $\mu_G = 17,8^\circ\text{C} \pm 3,7$ (risque $\alpha=0.05$) dans celles où se maintiennent uniquement des gamétophytes indépendants (**figure 52**). Les températures présentent nettement un rythme annuel cyclique. Les mois d'octobre à mars sont les plus froids avec un minimum de $4,1^\circ\text{C}$, enregistré en décembre 2002, dans la station d'affleurement du *Saut du Chevreuil* (Perret). La température maximale enregistrée est 31°C , dans le puits du *Manoir de Rusquec* (Loqueffret) en juillet 2003.

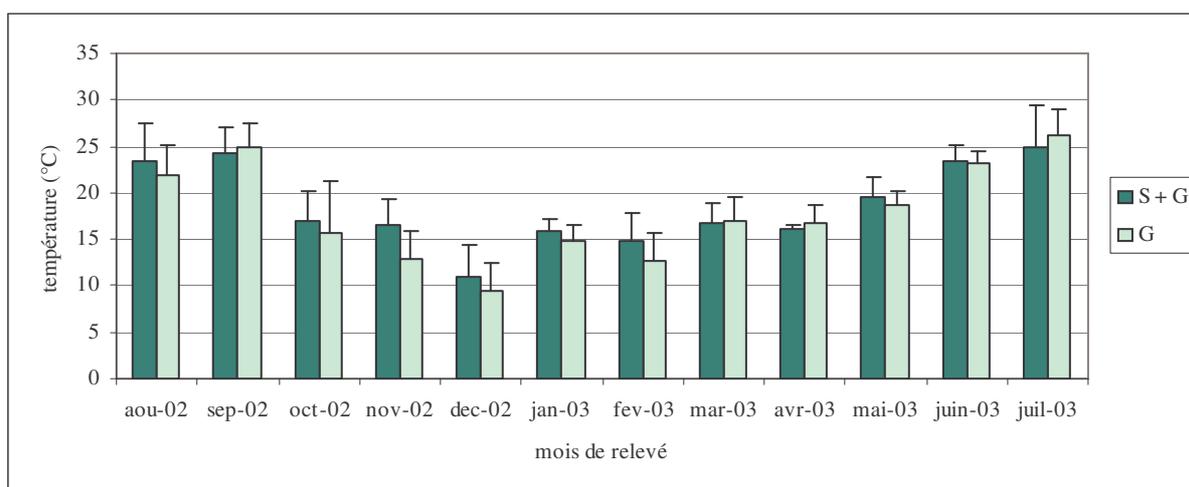


Figure 52 : Relevé mensuel des températures sur une année dans une sélection de 13 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. S+G : stations à sporophytes ; G : stations de gamétophytes indépendants

La normalité des températures relevées chaque mois dans les stations à sporophytes ou à gamétophytes indépendants est vérifiée. Le test de Hartley avère l'homoscédasticité au risque 5%. Les analyses de la variance font apparaître que la température n'est pas significativement dépendante ($p = 0,0986$; **tableau XXI**) du type de station, à sporophytes ou à gamétophytes indépendants. Des variations significatives de température sont observées en fonction des différents mois de relevé ($p = 0,000^{***}$). Aucun effet significatif ($p = 0,7298$) de l'interaction entre type de station et mois de relevé sur la valeur des températures n'est mis en évidence.

Tableau XXI : Analyse de la variance des relevés mensuels de température sur une année dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. (NS : non significatif; *** hautement significatif)

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	test F	Probabilité p
type de station	23,37	1	23,37	2,766	0,098662 NS
mois de relevé	3160,48	11	287,32	34,001	0,00***
interaction	65,74	11	5,98	0,707	0,729876 NS
résiduelle	1115,43	132	8,45		
totale	4365,02	155			

Par les mesures en continu réalisées grâce aux thermohygrographes, dans la station de *Trichomanes* remarquable de *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor), une température moyenne, $\mu T_S = 5,9 \pm 3,26$ °C ($\alpha = 0,05$) est mesurée au cours du mois de mars 2004 dans la placette à sporophytes (thermo-hygrographe n°1) et $\mu T_G = 6,1 \pm 3,03$ °C dans celle à gamétophytes indépendants (thermo-hygrographe n°2). Aucune différence

significative ($t = 0,34 > 1,96$; $\alpha = 0,05$) n'est mise en évidence entre les valeurs des températures mesurées dans la placette à sporophytes et celle à gamétophytes indépendants.

Pour la période du 1^{er} avril au 20 novembre 2004, les données de la placette à gamétophytes indépendants sont inexploitable du fait du vol supposé de l'appareil enregistreur (thermo-hygrographe n°2). Seules les mesures effectuées au niveau des sporophytes et gamétophytes associés sont donc disponibles. La température moyenne mesurée est $\mu T_s = 12,3 \pm 2,71$ °C ($\alpha = 0,05$). Ces données confirment que les températures suivent le cycle saisonnier classique pour la région.

3.4.4 Humidité

Les populations les plus denses de sporophytes du *Trichomanes* remarquable s'épanouissent dans les puits dont l'eau, régulièrement puisée au seau, asperge la fougère (communication personnelle des propriétaires de puits). Dans certains puits, les frondes restent même totalement immergées jusqu'à 3 mois consécutifs sans que, apparemment, cela ne les endommage (*Lézillac*, Taupont ; *Les Métairies*, Saint-Vincent-sur-Oust ; Morbihan). En milieu naturel, la fraîcheur est liée à la présence de cours d'eau et l'humidité est entretenue par des apports plus ou moins réguliers en pluvio-lessivats. Les deux stations où la fougère développe des frondes en milieu naturel sont ainsi caractérisées par une forte hygrométrie entretenue par le cours d'eau qui s'écoule en contrebas. A *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor), l'analogie est frappante entre un puits et l'agencement naturel de gros blocs de granit de près d'un mètre sur deux, disposés en cercle au pied desquels sont situées les frondes, à 15 cm au-dessus la rivière. Dans la deuxième station naturelle où des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont observés (*Forêt de Duault*, Saint-Servais ; Côtes d'Armor), les frondes sont accrochées par leur rhizome au plafond d'une petite alcôve rocheuse, au-dessus d'un cours d'eau formant, en ce point, en cascaille.

Le pH des pluvio-lessivats s'écoulant au niveau des gamétophytes indépendants et des sporophytes de la fougère, mesuré mensuellement sur une année d'août 2002 à juillet 2003 est invariablement de $6,5 \pm 0,5$ dans chacune des 13 stations sélectionnées. Aucune différence significative ne peut être mise en évidence, ni au cours du temps, ni entre stations.

Le taux d'humidité atmosphérique mesuré n'est jamais descendu en dessous de 51,5%, la valeur enregistrée à la *Chapelle-Ruinée* (La Roche-Maurice) en février 2003. Il atteint la valeur maximale de 83,1%, en août 2002 dans le puits du *Haut-Roussimel* (Glénac). La moyenne annuelle du taux d'humidité atmosphérique enregistré est de $\mu_S = 61,1 \pm 4,6 \%$ ($\alpha=0.05$) dans les stations à sporophytes et de $\mu_G = 60,3 \pm 4,2 \%$ ($\alpha=0.05$) dans les stations de gaméophytes indépendants (**figure 53**).

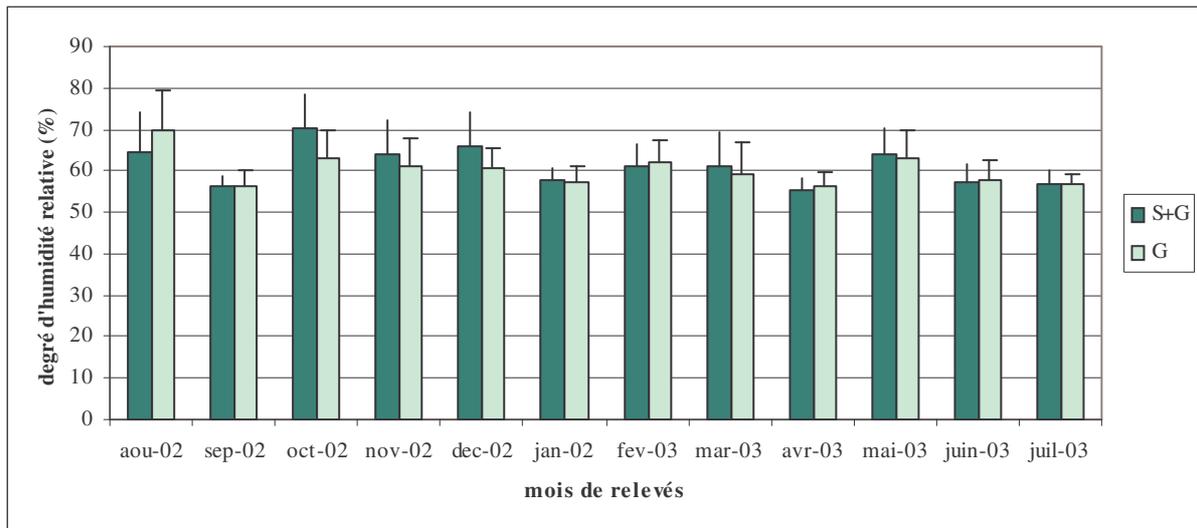


Figure 53 : Moyennes mensuelles des taux d'humidité atmosphérique sur une année dans une sélection de 13 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. S+G : stations à sporophytes ; G : stations de gaméophytes indépendants. Aucune différence significative n'est relevée.

Après contrôle du domaine de validité (test de Hartley non significatif ; $\alpha = 0,05$), l'analyse statistique de la variance (ANOVA, **tableau XXII**) révèle que le taux d'humidité atmosphérique ne varie pas significativement en fonction du type de station de *Trichomanes* remarquable ($p = 0,32$).

Tableau XXII : Analyse de la variance des données du taux d'humidité de l'atmosphère mesuré chaque mois pendant une année dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. (NS : non significatif; *** hautement significatif)

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	Test F	Probabilité p
type de station	28,1	1	28,1	0,77	0,322008 NS
mois de relevé	2166	11	196,9	5,39	0,0000***
interaction	348,9	11	31,7	0,87	0,573177 NS
résiduelle	4822,5	132	36,5		
totale	7365,5	155			

Au contraire, le mois de relevé influence de manière très significative ($p = 0,00***$) le taux d'humidité atmosphérique. Mais, aucune interaction n'est décelée entre le mois de relevé et le type de station ($p = 0,57$). Aucune tendance cyclique du taux d'humidité atmosphérique ne peut être décrite : seules des variations irrégulières d'un mois à l'autre, sans relation avec les saisons, sont mises en évidence.

Par les mesures en continu réalisées grâce aux thermohygrographes, dans la station de Trichomanès remarquable de *Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor), une hygrométrie atmosphérique moyenne $\mu HR_S = 99,8 \pm 0,24 \%$ (au risque $\alpha = 0,05$) est enregistrée au cours du mois de mars 2004, dans la placette à sporophytes et gamétophytes (thermo-hygrographe n°1). Dans la placette à gamétophytes indépendants, une hygrométrie atmosphérique $HR_G = 98,9 \pm 1,77 \%$ ($\alpha = 0,05$) est relevée (thermo-hygrographe n° 2). Les valeurs du taux d'humidité atmosphérique sont significativement différentes ($t = 3,72 > 1,96$; $\alpha = 0,05$) entre la placette à sporophytes et celle où se maintiennent des gamétophytes indépendants. Pour la période du 1^{er} avril au 20 novembre 2004, seules les mesures effectuées dans la placette à sporophyte sont disponibles. L'hygrométrie atmosphérique moyenne mesurée est $\mu HR_S = 99,6 \pm 2,3 \%$ ($\alpha = 0,05$). Ces résultats confirment la permanence de la saturation de l'atmosphère en humidité dans la placette où se sont développés des sporophytes de la forêt de *Kerlenevez*.

3.4.5 Conditions lumineuses

3.4.5.1 Exposition

Le Trichomanès remarquable est le plus souvent exposé au nord (**figure 54**). Il ne subit jamais un ensoleillement direct et se développe dans des conditions de mi-ombre à ombre : l'emploi d'une torche électrique est ainsi le plus souvent nécessaire pour observer la fougère, notamment ses gamétophytes.

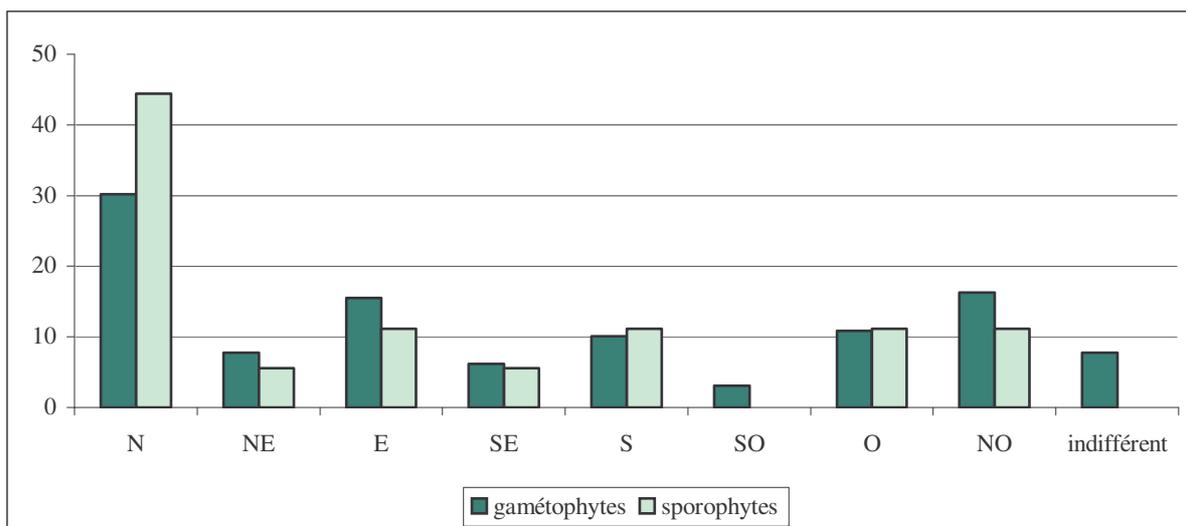


Figure 54 : Exposition des populations à sporophytes et de celles à gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd.

3.4.5.2 Position des sporophytes et des gamétophytes dans les puits en fonction de leur architecture

Plusieurs modèles de construction des puits sont recensés dans le Massif Armoricain (cf. travaux annexes : "Les puits de Bretagne, un patrimoine menacé, Lorient 2004). La position des sporophytes et des gamétophytes du *Trichomanes* remarquable est fortement corrélée à l'architecture des édifices. Ainsi, dans la région de Pontivy (Morbihan), où l'ouverture des puits est horizontale (**figure 55**), les frondes de la fougère se développent à environ un mètre sous la margelle. Mais lorsque les puits sont surmontés d'une potence protégée par un "toit" qui génère un certain ombrage à l'intérieur du puits, les sporophytes sont généralement plus près de la margelle, à moins de 50 cm de profondeur (**figure 56**). Par ailleurs, les frondes ne se développent jamais sur toutes les parois à l'intérieur du puits, mais seulement sur un quart du pourtour, où l'éclairement est maximal par rapport à la course du soleil dans le ciel (**figure 57**). Au contraire, les gamétophytes s'établissent sur toute la circonférence formée par les parois internes des puits et atteignent les zones de la paroi des puits situées parfois jusqu'à 3 mètres plus en profondeur que celles occupées par les sporophytes. Un étagement spatial des deux générations de *Trichomanes speciosum* Willd est ainsi observé dans les puits, en liaison avec les différences de conditions lumineuses résultant de l'architecture des édifices.



Figure 55 : Architecture d'un puits à ouverture horizontale comportant une potence et un toit surmontant la margelle (région de Pontivy, Morbihan)



5 cm

Figure 56 : Frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. se développant à moins de 50 cm de la margelle sous une potence disposant d'un toit (Castelgal, Lignol ; Morbihan)



Figure 57 : Position des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. se développant sur le quart le plus ensoleillé du pourtour des parois intérieures d'un puits (Le Roscoat, Lanvenegen ; Morbihan)

Plus à l'est, dans les environs de Ploërmel (Morbihan), les puits ont une ouverture verticale (**figure 58**). Dans cette configuration, les frondes de la fougère se développent exclusivement sur la paroi faisant face à l'ouverture, à environ 1 m en dessous du niveau de l'ouverture, régulièrement exposée au nord. Dans ces puits comme dans ceux à ouverture horizontale, les gamétophytes occupent la paroi située sous les frondes ainsi que les deux parois latérales, plus rarement la paroi en dessous de l'ouverture qui est totalement à l'obscurité.



Figure 58 : Architecture d'un puits à ouverture verticale (*La Touche*, Taupont ; Morbihan)

3.4.5.3 Analyse comparative de l'éclairciment

Le suivi de l'éclairciment dans les 13 stations armoricaines de *Trichomanes speciosum* Willd. montre que la densité moyenne de flux de photons dans les stations de sporophytes μ_S est de $3,19 \pm 0,87 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$) et environ 10 fois moins, $\mu_G = 0,4 \pm 0,09 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$) dans les stations à gamétophytes indépendants. La densité minimale de flux de photons relevée est $0,07 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$, enregistrée à 3 reprises dans des stations de gamétophytes indépendants : le puits de *La Ruaudais* en août 2002 (Saint-Nicolas-du-Tertre), la grotte de la côte maritime de *La plage de la Banche* en septembre 2002 (Binic) et l'affleurement rocheux du *Saut du Chevreuil* en juin 2003 (Perret). La valeur maximale d'éclairciment, $9,9 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$, est enregistrée en avril 2003 à Saint-Nicolas-du-Pélem dans la forêt de *Kerlenevez* dans une placette abritant des sporophytes (**figure 59**).

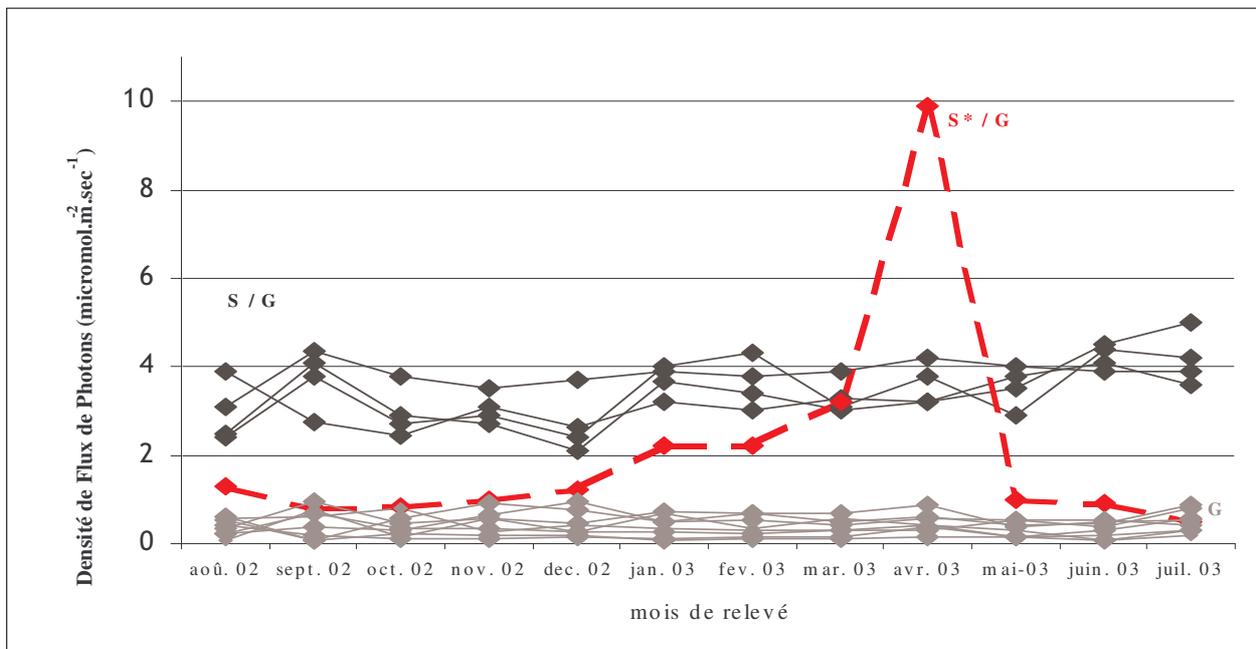


Figure 59 : Relevés mensuels des densités de flux de photons pendant une année dans une sélection de 13 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. ♦ S / G : stations à sporophytes dans des puits, ♦ S*/G : station à sporophytes en milieu naturel ; ♦ G : stations de gamétophytes indépendants

La normalité distributionnelle des mesures et l'homoscédasticité étant acceptée (test de Hartley), l'analyse de la variance montre la discrimination hautement significative entre l'éclairement moyen enregistré durant une année dans les stations à sporophytes et celui des stations de gamétophytes indépendants ($p = 0,000***$; **tableau XXIII**). Par ailleurs, une variation significative des conditions lumineuses en fonction des mois de relevé est également mise en évidence ($p = 0,037^*$). Un certain effet par interaction entre le type de station, à sporophytes ou à gamétophytes indépendants, et le mois de relevé semble possible bien que, rigoureusement, l'analyse de la variance par le test F reste en limite de la non-significativité ($p = 0,0537$). Le développement du *Trichomanès* remarquable est indéniablement dépendant des conditions d'éclairement : la présence de frondes est nettement liée à une intensité de près de 10 fois supérieure à celle qui caractérise les stations de gamétophytes indépendants.

Tableau XXIII : Analyse de la variance des densités de flux de photons relevées chaque mois pendant une année dans les 13 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. (NS : non significatif ; * significatif, *** hautement significatif)

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	Test F	Probabilité p
type de station	287,4558	1	287,4558	411,4615	0,00***
mois de relevé	15,0686	11	1,3699	1,9608	0,037240*
interaction	14,1173	11	1,2834	1,8370	0,053788 NS
résiduelle	92,2180	132	0,6986		
totale	408,8597	155			

3.4.5.4 Mesures ponctuelles de l'éclairement dans les puits

Les densités de flux de photons relevées au mois de juin 2003 dans l'ensemble des puits armoricains abritant le Trichomanès remarquable et accessibles à la mesure, indiquent que les sporophytes de la fougère (21 mesures ponctuelles) se développent sur des parois de puits recevant un éclairement moyen $\mu_S = 3,42 \pm 0,29 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$). Les gamétophytes, en populations indépendantes ou associées aux sporophytes (56 mesures ponctuelles), reçoivent un éclairement moyen, $\mu_G = 0,63 \pm 0,22 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$). Là encore, la comparaison des moyennes indique que les sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. se développent sur des parois de puits recevant une quantité de photons très significativement supérieure ($t = 8,2 > 1,96$, au seuil $\alpha=0,05$) à celles des parois à gamétophytes.

3.4.6 Analyse phyto-écologique des habitats

3.4.6.1 Habitats anthropisés

Les relevés phytologiques des espèces végétales compagnes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans les puits mettent en évidence la présence prédominante des Bryophytes. Des mousses et des hépatiques tapissent les parois internes des puits (**tableau XXIV**). L'identification systématique des Bryophytes, reconnues comme bio-indicatrices, n'est pas réalisée dans le cadre de la présente étude. Elle est envisagée ultérieurement pour caractériser finement les conditions écologiques régnant dans les puits qui abritent sporophytes et/ou gamétophytes du Trichomanès remarquable. L'absence de substrat terreux et de matière organique sur les parois des puits favorise une végétation peu exigeante, dominée par les Bryophytes et les Ptéridophytes. *Asplenium adiantum-nigrum* L., *Asplenium obovatum* ssp. *bilotii* (F.W. Schulz) Kerguélen, *Asplenium scolopendrium* L., *Asplenium trichomanes* L., *Blechnum spicant* (L.) Roth, *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *Dryopteris filix-mas* (L.) Schott, *Pteridium aquilinum* L. figurent fréquemment dans les relevés. *Umbilicus rupestris* (Salisb.) Dandy est également bien représenté. Les puits non entretenus sont envahis par *Hedera helix* L. et *Rubus fruticosus* L.

Tableau XXIV : Relevés des espèces compagnes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans les puits

	Lieu-dit, Commune
Bryophytes	x La Halais, Bains sur Oust
	x Guernalgout, Berne
	x Bourg 1, Bieuzy
	x Bourg 2, Bieuzy
	x Saint Armel 1 Bubry
	x Saint Armel 2, Bubry
	x Saint Armel 3, Bubry
	x Lestun 1, Cournon
	x Lestun 2, Cournon
	x Meinguen, Glomel
	x Guerneur, Guern
	x Kermélinaire, Guern
	x Stang Ludu, Guisriff
	x Basse-Houssaie, Helléan
	x Petit Penlan 2, Helléan
	x Le Rohello 2, Helléan
	x Bourg, La Croix-Helléan
	x Bambruan 4, La Croix-Helléan
	x Bellon, La Croix-Helléan
	x La Bouère 11, La Gacilly
	x Le Roscoat 1, Lanvenegen
	x Quelfévec, Lignol
	x Lesvran, Loyat
	x Penhouët, Loyat
	x Kermer, Melrand
	x La Niette, Peillac
	x Bezon 2, Ploërmel
	x Boyac 1, Ploërmel
	x Boyac 2, Ploërmel
	x Roc Brien, Ploërmel
	x Lodinieü, Ruffiac
	x La Rivière, Ruffiac
	x La Burgotais 1, Saint-Martin
	x La Burgotais 2, Saint-Martin
	x La Burgotais 3, Saint-Martin
	x La Burgotais 4, Saint-Martin
	x Chantepie, Saint-Martin
	x La Croix-Piguel, Saint-Martin
	x Véret, Saint-Martin
	x Quilvin, S'-Nicolas-du-Tertre
	x Kerhulic, Saint-Barthélémy
	x L'Aumônerie, Sainte-Marie
	x Le Val, Sixt-sur-Aff
	x Bodiel 1, Taupont
	x Bodiel 2, Taupont
	x Lézillac 1, Taupont
	x Loguel, Taupont
	x La Touche 1, Taupont
	x La Touche 2, Taupont
	x La Touche 4, Taupont
	x Le Val, Taupont
	x Vieille Ville, Taupont
	x Petit Penlan 1, Helléan
	x Le Rohello 1, Helléan
	x Bambruan 1, La Croix-Helléan
	x La Touche 3, Taupont
	x Lauzanne, Saint-Martin
	x La Touche, Saint-Martin
	x Quilio, Guern
	x Kerhoh, Melrand

	Lieu-dit, Commune
Bryophytes	x La Margandais, Carentoir
	x Les Pâtis, Glénac
	x La Couplais, Sainte-Marie
	x Lézillac 2, Taupont
	x La Remaudaie, Sixt-sur-Aff
	x Bambruan 2, La Croix-Helléan
	x Kercloarec, Melrand
	x Ville Roulais, Ploërmel
	x Lestun 3, Cournon
	x La Ferme Neuve
	x Lestrou, Glomel
	x Maupertuis, Sainte-Marie
	x Botcalper, Bubry
	x Haut Roussimel, Glénac
	x Bod en Bren, Saint-Thuriau
	x La Ruaudais, S'-Nicolas-du-Tertre
	x La Bouère 3, La Gacilly
	x Le Fol, Pluherlin
	x Saint Fiacre, Saint-Barthélémy
	x Les Métaïries , S'-Vincent-sur-Oust
	x Talvern-Nenez 1, Pluméliau
	x Talvern-Nenez 2, Pluméliau
	x Talvern-Nenez 3, Pluméliau
	x La Giraudais, Bains-sur-Oust
	x Le Roscoat 2, Lanvenegen
	x Bezon 1, Ploërmel
	x La Bogeraie, Saint-Gravé
	x Le Bot, Saint-Nicolas-du Tertre
	x Cresiolan, Sixt-sur-Aff
	x Port Corbin, Bains-sur-Oust
	x Castennec, Bieuzy
	x Bambruan 3, La Croix-Helléan
	x Castelgal, Lignol
	x Les Touches, Bains-sur-Oust
	x Kerlebost, Saint-Thuriau
	x La Bouère 2, La Gacilly
	x Le Quilien d'Oust, Bains-sur-Oust
	x Le Pont d'Apé, Sainte-Marie
	x La Villio, La Gacilly
	x Presbytère, Persquen
	x Manoir du Rusquec, Loqueffret
	x Le Cleuziou, Lanvenegen
	x Lann Vraz, Saint-Barthélémy
	x Le Pé 2, Sainte-Marie
	x La Bonniais, Bains-sur-Oust
	x La Burgotais 5, Saint-Martin
	x Le Pé 1, Sainte-Marie
	x La Mercerais, Avessec
	x Saint Marcellin, Bains-sur-Oust
	x Lan Bern, Glomel

3.4.6.2 Grottes des côtes maritimes

La présence de la fougère *Asplenium marinum* L. est relevée à l'entrée de 60% des grottes qui abritent les gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. (**tableau XXV**). Des recouvrements de Bryophytes figurent sur les parois. Leur l'identité n'est pas spécifiquement déterminée ici. Comme précédemment indiqué, cette investigation, envisagée, caractérisera finement les conditions environnementales qui règnent dans ces habitats. Le développement de *Umbilicus rupestris* (Salisb.) Dandy est également noté. Plus rarement, dans les deux grottes de l'Anse du Quedoy à Flamanville et celle du Point de Vue sur le Castel Vendon de Gréville-Hague (Manche), *Athyrium filix-femina* Roth., *Asplenium obovatum* ssp *bilotii* (F.W. Schultz) Kerguélen et *Pteridium aquilinum* L. sont recensés. A Crozon, l'accès à la grotte de *Saint-Nicolas* étant dangereux, il n'est pas effectué de relevé phytologique.

Tableau XXV : Relevé des espèces compagnes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans les grottes des côtes maritimes.

Lieu-dit, Commune	Pointe du Millier, Beuzec-Cap-Sizun	Plage de Theolen, Cléden-Cap-Sizun	Pointe de Morgat, Crozon-Morgat	Kerch'éré 1, Ouessant	Kerch'éré 2, Ouessant	Kerroch, Ploëmeur	Ti ar chaz'kozh, Plogoff	Ile d'Er, Plougrescant	Rocher de la Vache, Groix	Vau-Burel, Etables-sur-Mer	Port Navallo, Houat	Kadoran, Ouessant	Plage du Prat, Ouessant	Ile Tomé 1, Perros-Guirec	Ile Tomé 2, Perros-Guirec	Golvinog, Plogoff	Pointe Corsen, Plouarzel	Grand Mont, Saint-Gildas de Rhuys	Toull Kerneur, Cléden-Cap-Sizun	Plage de la Banche, Binic	Port Saint-Nicolas, Groix	Point de vue Gréville-Hague	Anse du Quedoy, Flamanville
Bryophytes	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Asplenium marinum</i> L.										x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
<i>Umbilicus rupestris</i> (Salisb.) Dandy																					x	x	x
<i>Hedera helix</i> L.																						x	
<i>Athyrium filix-femina</i> Roth.																						x	
<i>Pteridium aquilinum</i> L.																						x	
<i>Asplenium obovatum</i> ssp <i>bilotii</i> (F.W. Schultz) Kerguélen																							x

Des algues vertes d'eau douce se développent sur les parois humides ainsi que, au sol, dans les flaques. Les algues marines ne sont pas présentes puisque les grottes ne sont pas envahies par la mer, même en vives eaux. L'absence d'humus sur les parois des grottes semble ici surtout propice aux gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., aux Bryophytes et, à l'entrée des grottes où l'éclairage est le plus important, à *Asplenium marinum* L.

3.4.6.3 Habitats forestiers

3.4.6.3.1 Description géomorphologique et floristique

La strate arborescente, arbustive et herbacée est décrite dans chaque station située sous couvert forestier (**tableau XXVI**). Les cortèges bryologiques sont omis dans un premier temps pour être étudiés plus finement dans 16 des 24 stations forestières de la fougère.

Tableau XXVI : Description de la végétation des habitats forestiers de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn.

sylvocoenoses	Chêne acidilicline																								Chêne-hêtraie	chêne-hêtraie	chataîgneraie	Chêne - érablaie	chêne acidiphile	Facès à Ilex hêtraie
	Le Gouffre	La Grotte d'Arthus	Stangala 2	Rive de l'Ellé	Forêt de Duault 2	Bois du Nivot	Kerléz	Kererault	Frot Bihan	Mare aux	Samoliers	Milin Coz	Kerlenevez	Ker Simon	Forêt de Duault 1	Pontou Mein	Meil Roch	Stangala 1	Vallée du Léguer	Park an Oa'h Ru	Chapelle-Ruinée	Lanniguel	Roch Nivelen	Saut du Chevreuil						
<i>Hedera helix</i> L.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				
<i>Quercus robur</i> L.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				
<i>Rubus gr. fruticosus</i> L.	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x				
<i>Luzula sylvatica</i> (Huds.) Gaud	x	x		x	x		x	x	x	x		x	x		x		x	x		x			x			x				
<i>Polypodium vulgare</i> L.	x	x	x	x			x	x	x			x					x	x				x		x		x				
<i>Ilex aquifolium</i> L.	x	x	x	x	x	x	x					x		x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	x	x				
<i>Corylus avellana</i> L.	x	x	x					x		x	x	x	x	x					x		x					x				
<i>Taxus baccata</i> L.	x		x				x					x		x		x		x	x							x				
<i>Fagus sylvatica</i> L.			x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x					x				
<i>Dryopteris dilatata</i> (Hoffm.) A Gray			x	x	x	x	x	x		x	x		x	x		x				x	x		x			x				
<i>Blechnum spicant</i> (L.) Roth.			x	x	x	x		x	x	x	x				x					x		x				x				
<i>Vaccinium myrtillus</i> L.				x	x		x	x	x	x					x					x		x		x		x				
<i>Dryopteris aemula</i> (Aiton.) O.Kuntze					x	x	x	x							x											x				
<i>Pteridium aquilinum</i> (L.) Kuhn								x	x	x	x											x		x		x				
<i>Hymenophyllum tunbrigense</i> L.	x							x	x			x		x						x	x	x				x				
<i>Betula alba</i> L.												x	x													x				
<i>Prunus laurocerasus</i> L.												x	x								x					x				
<i>Primula vulgaris</i> Huds.		x											x		x											x				
<i>Rhododendron ponticum</i> L.													x								x					x				
<i>Oxalis acetosella</i> L.															x	x					x					x				
<i>Lamastrium galeobdolon</i> (L.) Ehrhard	x																									x				
<i>Anemone nemerosa</i> L.																										x				
<i>Urtica dioica</i> L.																										x				
<i>Mentha aquatica</i> L.																										x				
<i>Castanea sativa</i> L.																	x	x	x	x						x				
<i>Hyacinthoides non scripta</i> L.																										x				
<i>Ruscus aculeatus</i> L.																										x				
<i>Acer pseudoplatanus</i> L.																								x		x				
<i>Calluna vulgaris</i> Salisb.																								x	x	x				
<i>Ulex europaeus</i> L.																								x	x	x				
<i>Quercus petrae</i> (Matt) Liebl.																										x				
<i>Silene nutans</i> L.	x																									x				
<i>Ranunculus ficaria</i> L.	x																									x				

Les données floristiques collectées permettent de distinguer plusieurs grands types de phytocénoses :

- une hêtraie caractérisée par une strate arborée composée de *Fagus sylvatica* L., une strate arbustive à *Prunus laurocerasus* L., *Rhododendron ponticum* L., deux espèces introduites, et une strate herbacée à *Ilex aquifolium* L. et *Taxus baccata* L.
- des chênaies-hêtraies à *Quercus robur* L. et *Fagus sylvatica* L., avec une strate arbustive composée de *Betula alba* L., *Prunus laurocerasus* L. et *Rhododendron ponticum* L. La strate herbacée est souvent dominée par *Luzula sylvatica* (Huds.) Gaud. et représentée par de nombreuses Ptéridophytes, *Blechnum spicant* (L.) Roth., *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn, *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray, *Dryopteris aemula* (Aiton.) O. Kuntze et *Hymenophyllum tunbrigense* L. Elle se compose également de *Vaccinium myrtillus* L. associée avec *Primula vulgaris* Huds., *Oxalis acetosella* L., *Lamastrium galeobdolon* (L.) Ehrhard, *Anemone nemorosa* L., *Urtica dioica* L. ou encore *Mentha aquatica* L. dans les stations caractérisées par la présence d'un cours d'eau.
- des peuplements de chênaie-hêtraie-chataîgneraie à *Quercus robur* L., *Fagus sylvatica* L. et *Castanea sativa* L. avec la présence de *Hyacinthoides non scripta* L., *Ruscus aculeatus* L.
- une chênaie-érablaie à *Quercus robur* L. et *Acer pseudoplatanus* L. caractérisée par une strate herbacée à *Luzula sylvatica* (Huds.) Gaud., *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A. Gray et la présence de *Hymenophyllum tunbrigense* L.

Le Trichomanès remarquable se développe également dans des chênaies à *Quercus robur* L. Un mélange avec *Quercus petrae* (Matt) Liebl. est observé au sein d'une station (cf. tableau XXVI, p. 109). Deux types de chênaie sont recensés ici :

- des chênaies acidiphiles composées d'espèces qui se développent sur un sol acide, avec la présence caractéristique de *Calluna vulgaris* L., *Ulex europaeus* L. et *Vaccinium myrtillus* L.
- Des chênaies acidiclives dont la végétation présente une légère préférence pour des sols acides tel que *Vaccinium myrtillus* L. et où la strate herbacée est plus variée que dans les groupements acidiphiles. Des espèces telles que *Primula vulgaris* L., *Silene nutans* L. ou encore *Ranunculus ficaria* L. y sont ainsi parfois recensées.

La végétation devant l'entrée de la grotte de *Roch' Toull* (Guiclan, Finistère), à l'intérieur de laquelle se développent des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd., est un faciès arbustif à *Ilex aquifolium* L.

Le **tableau XXVII** rapporte les caractéristiques géomorphologiques et floristiques des 24 stations forestières selon 4 niveaux successifs de description spatiale : le couvert végétal, le type de formation rocheuse, le support rocheux du groupement à *Trichomanes speciosum* Willd. et la situation micro-topographique du Trichomanès remarquable. Les stations du *Stangala* (Ergué-Gaberic) et *Le Gouffre* (Huelgoat) se scindent en deux sous-unités correspondant à la présence de la fougère dans deux configurations environnementales distinctes. De même, la station de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem) s'analyse en 3 sous-unités floristiques comparables, mais géomorphologiquement différentes.

Concernant les types de formations rocheuses abritant le Trichomanès remarquable, deux grandes catégories se distinguent : d'une part les affleurements, avec ou sans présence de grotte, et d'autre part, les chaos rocheux formés d'amas de blocs de tailles variées. Dans les différents systèmes, *Trichomanes speciosum* Willd. se développe soit sous des surplombs rocheux abrités par des auvents, soit à la surface de blocs rocheux plus ou moins volumineux. Au niveau micro-topographique, la fougère est présente dans le fond de fissures ou à flanc de paroi rocheuse. Seules certaines stations se caractérisent par la présence d'un cours d'eau à proximité de la fougère, mais toutes présentent des parois où s'écoulent, au moins transitoirement, des pluvio-lessivats.

Tableau XXVII : Caractéristiques des 24 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. en habitat forestier armoricain, en fonction des 4 niveaux de description spatiale. Niveau 1, le couvert végétal ; Niveau 2, le type de formation rocheuse ; Niveau 3, le support rocheux du groupement à *Trichomanes speciosum* Willd. Niveau 4, la situation micro-topographique du Trichomanès remarquable

Communes	Lieu-dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	niveau 1	niveau 2	niveau 3	niveau 4	cours d'eau
Berrien	<i>Mare aux Sangliers</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	présence
Briec	<i>Kerlez</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Edern	<i>Park an Oa'h Ru</i>	G	chênaie-hêtraie-chataîgneraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Ergué-Gaberic	<i>Stangalal</i>	G	chênaie-hêtraie-chataîgneraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	présence
Ergué-Gaberic	<i>Stangala 2</i>	G	chênaie acidifline	amas de petits blocs	petit bloc abrité	flanc de bloc	absence
Guiclan	<i>Roch Toull</i>	G	Facès à <i>Ilex aquifolium</i>	affleurement (grotte)	surplomb sur schistosités	fissure-replat	absence
Huelgoat	<i>Le Gouffre 1</i>	G	chênaie acidifline	amas de gros blocs	gros bloc abrité	flanc de bloc	présence
Huelgoat	<i>Le Gouffre 2</i>	G	chênaie acidifline	amas de gros blocs	sous surplomb à auvent	fissure-replat	présence
Huelgoat	<i>La Grotte d'Arthus</i>	G	chênaie acidifline	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Kergrist-Moëlou	<i>Pontou Mein</i>	G	chênaie-hêtraie	amas de petits blocs	petit bloc abrité	flanc de bloc	présence
Loperec	<i>Bois du Nivot</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Loperhet	<i>Gorrequer</i>	G	hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Loperhet	<i>Ker Simon</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Perret	<i>Saut du Chevreuil</i>	G	chênaie acidiphile	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Plogonnec	<i>Meil Roch</i>	G	chênaie-hêtraie-chataîgneraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Ploubezre	<i>Vallée du Léguer</i>	G	chênaie-hêtraie-chataîgneraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Ploudiry	<i>Près de Milin Coz</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	présence
Ploudiry	<i>Frouit Bihan</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	présence
Plougastel-Daoulas	<i>Kererault</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Plougastel-Daoulas	<i>Roch Nivelen</i>	G	chênaie acidiphile	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Roche-Maurice	<i>Chapelle Ruinée</i>	G	chênaie-érablaie	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Saint-Aignan	<i>Lanniquel</i>	G	chênaie acidiphile	affleurement	sous surplomb à auvent	fissure-replat	absence
Saint Nicolas du Pelem	<i>Kerlenevez 1</i>	S + G	chênaie-hêtraie	amas de gros blocs	gros bloc abrité	flanc de bloc	présence
Saint Nicolas du Pelem	<i>Kerlenevez 2</i>	S + G	chênaie-hêtraie	amas de gros blocs	gros bloc abrité	flanc de bloc	présence
Saint Nicolas du Pelem	<i>Kerlenevez 3</i>	S + G	chênaie-hêtraie	amas de gros blocs	gros bloc abrité	flanc de bloc	présence
Saint-Servais	<i>Forêt de Duault 1</i>	G	chênaie-hêtraie	amas de gros blocs	gros bloc abrité	flanc de bloc	présence
Saint-Servais	<i>Forêt de Duault 2</i>	S + G	chênaie-hêtraie	amas de gros blocs	petit bloc abrité	flanc de bloc	présence
Tremeven	<i>Rive de l'Ellé</i>	G	chênaie-hêtraie	affleurement de pente	sous surplomb à auvent	fissure-replat	présence

3.4.6.3.2 Discrimination des différents habitats forestiers

La discrimination des habitats forestiers de *Trichomanes speciosum* Willd. résulte de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) effectuée à partir des données floristiques, géomorphologiques et environnementales acquises dans 24 stations. La représentation de la distribution des facteurs géomorphologiques et floristiques en fonction des stations montre la distinction de deux types de biotopes : I, les affleurements rocheux où le Trichomanès remarquable se trouve au niveau de fissures, de replats, de tombants et II, les chaos rocheux où la fougère se développe à flanc de blocs (**figure 60**). La contribution des deux premiers axes est significative (52%) avec un axe F1 (34%) justifié par la situation micro-topographique (niveau 4) et le type de formation rocheuse (niveau 2) et un axe F2 qui fournit 18% de la contribution, justifié par le type de couvert forestier (niveau 1).

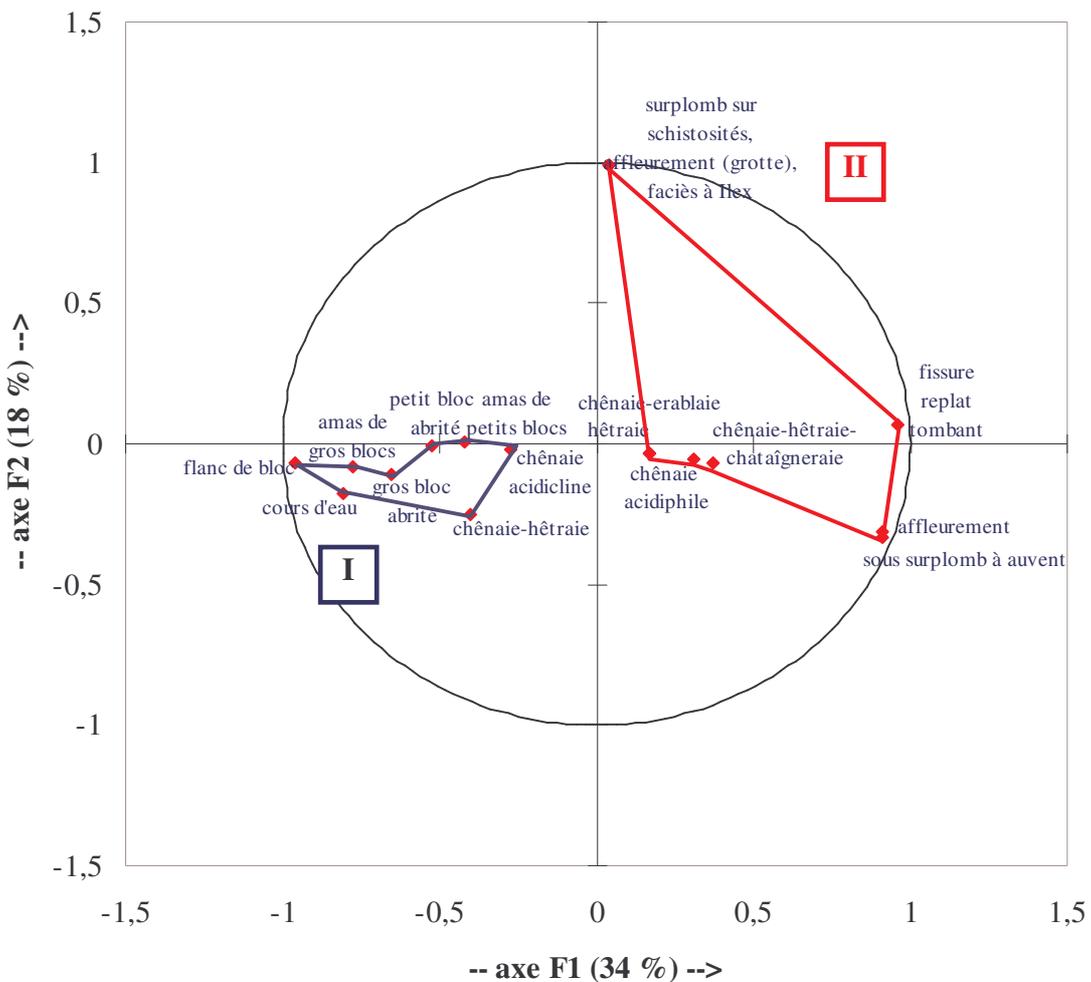


Figure 60 : Analyse en Composantes Principales sur les données des 24 stations sous couvert forestier. Distribution des caractéristiques géomorphologiques et floristiques en fonction des stations ; Distinction de 2 groupes de stations, I et II (l'axe 1 est justifié par la situation micro-topographique, le type de formation rocheuse et l'axe F2 par le couvert forestier)

La représentation des résultats de l'ACP montrant la distribution des 24 stations forestières, en fonction des caractéristiques géomorphologiques et floristiques (**figure 61**) discrimine aussi deux groupes de stations : un groupe I de stations de gamétophytes indépendants et un groupe II incluant les stations de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem) et de la *Forêt de Duault 1* (Saint-Servais) où la fougère développe à la fois des gamétophytes et des sporophytes.

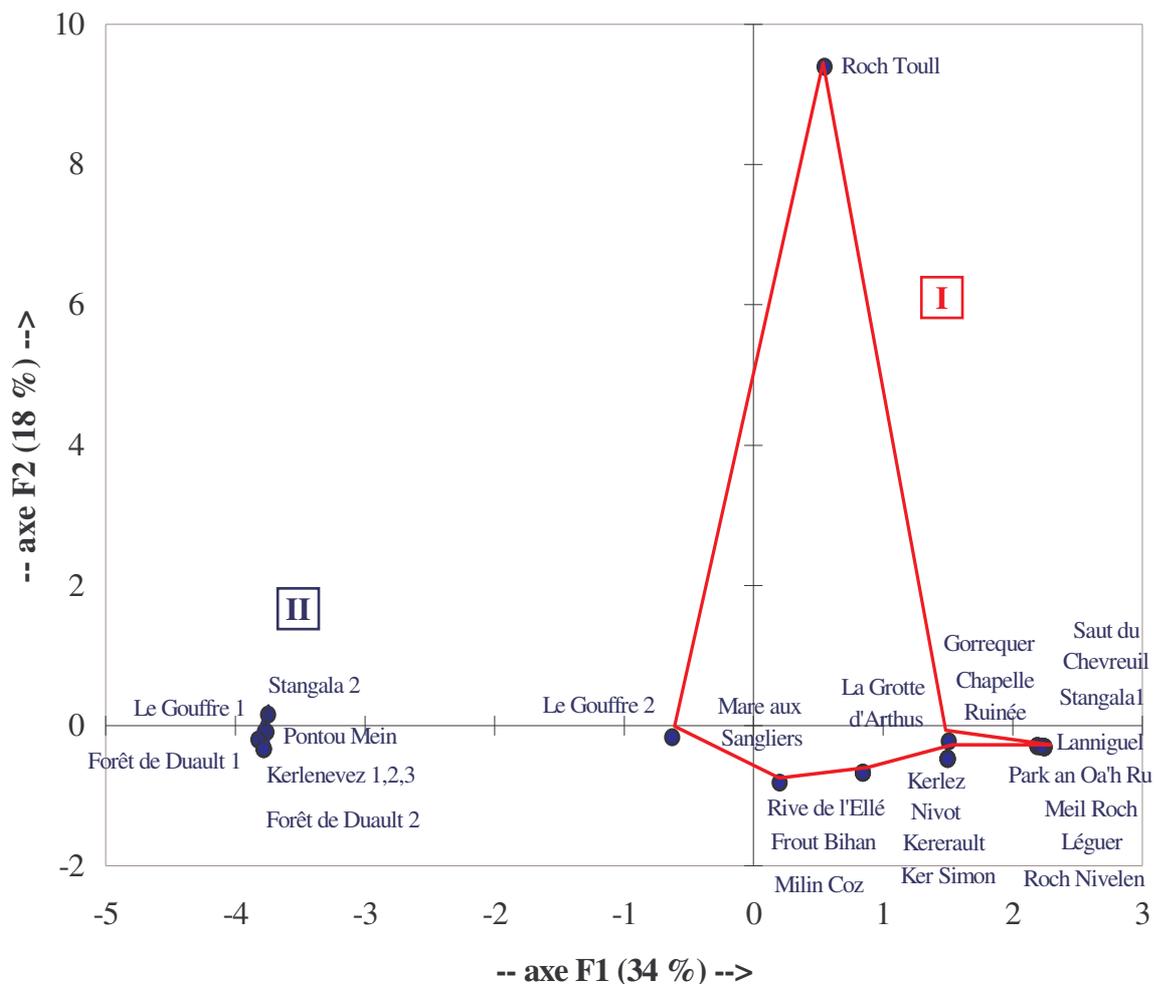


Figure 61 : Analyse en Composantes Principales sur les données des 24 stations ; distribution des stations en fonction des caractéristiques géomorphologiques et floristiques. Deux groupes de stations, I et II, sont mis en évidence

La comparaison des diagrammes des ACP (**figures 60 et 61**) suggère que les chaos rocheux à proximité d'un cours d'eau, sous couvert de chênaie-hêtraie ou de chênaie acidophile, sont favorables à la présence de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Cette analyse permet de désigner des stations de gamétophytes qui présentent des caractéristiques similaires ou très proches de celles des stations de sporophytes : *Le Gouffre* (1 et 2), à Huelgoat, *Stangala* (2) à Ergué-Gabéric ou encore *Pontou-Mein* à Kergrist-Moëlou. En revanche, les affleurements sous couvert de hêtraie, de chênaie acidiphile ou encore de chênaie-hêtraie-

châtaigneraie, sans cours d'eau à proximité, apparaissent comme des habitats favorables à la présence de gamétophytes indépendants

3.4.6.3.3 Bryophytes associées à *Trichomanes speciosum* Willd.

Les prélèvements effectués dans 16 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. en milieu forestier, permettent d'identifier 28 espèces de Bryophytes dont 9 hépatiques à feuilles, une hépatique à thalle et 18 mousses (**tableau XXVIII**). Aucune espèce rare n'est observée, même si certains taxons, comme *Dicranum scottianum* Turn., *Scapania gracilis* Lindb., *Plagiochila spinulosa* (Dicks) Dumort. ou *Hookeria lucens* (Hedw.) Sm., assez fréquents dans le Massif Armoricaïn, se raréfient dans d'autres régions françaises.

La construction du tableau diagonalisé (**tableau XXVIII**) des espèces de mousses et d'hépatiques met en évidence deux cortèges bryologiques, A et B, corrélés chacun à l'un des deux types de formations rocheuses précédemment distingués. Le premier cortège, A, est dominé par *Pseudotaxiphyllum elegans* (Brid.) Iwats., *Dicranum scottianum* Turn., *Diplophyllum albicans* (L.) Dumort. et *Isothecium myosuroides* Brid. var. *myosuroides*. Le second cortège, B, se caractérise par *Heterocladium heteropterum* (Schwaegr.) Br. Eur. var. *flaccidum* Br. Eur., *Plagiothecium succulentum* (Wils.) Lindb., *Lophocolea minor* Nees et *Hookeria lucens* (Hedw.) Br. Eur. Le dénombrement et le pourcentage des différents taxons bryologiques dans les cortèges A et B montrent un niveau d'exclusion significatif (**tableau XXIX**) puisque, sur un total de 28 taxons, 17 sont uniquement recensés dans le groupe A et 7 autres uniquement dans le groupe B. Seules 5 espèces sont communes aux deux cortèges.

Tableau XXVIII :Tableau diagonalisé des relevés phytologiques de Bryophytes identifiées dans 16 stations forestières de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain. Stades dynamiques échantillonnés depuis S1, le stade pionnier jusqu'au stade S4, stade climax stationnel en passant par les stades S2 et S3 intermédiaires. Mise en évidence de deux cortèges bryologiques A et B.

cortèges bryologiques	A A A A A A A A A A A A A A A A A A															
	stations	S3														
<i>Pseudotaxiphyllum elegans</i> (Brid.) Iwals.	x															
<i>Rhabdoweisia fugax</i> (Hedw.) B.S.G.																
<i>Isoetecium myosuroides</i> var. <i>cavemosum</i> Mol.																
<i>Dicranella heteromalla</i> (Hedw.) Schimp.																
<i>Leucobryum juniperoides</i> (Brid.) C. Müll.																
<i>Cephalozia lamulifolia</i> (Dumort.) Dumort.																
<i>Isoetecium myosuroides</i> Brid. var. <i>myosuroides</i>																
<i>Lepidozia reptans</i> (L.) Dumort.																
<i>Plagiothecium undulatum</i> (Hedw.) Br. Eur.																
<i>Dicranum scottianum</i> Turn.																
<i>Diplophyllum albicans</i> (L.) Dumort.																
<i>Mnium hornum</i> Hedw.																
<i>Plagiochila spinulosa</i> (Dicks.) Dumort.																
<i>Plagiothecium curvifolium</i> Schlieph.																
<i>Calyptogea arguta</i> Nees & Mont.																
<i>Scapania gracilis</i> Lindb.																
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>heteropterum</i>																
<i>Lejeunea lamersiana</i> (Steph.) Schiffn.																
<i>Plagiothecium succulentum</i> (Wils.) Lindb.																
<i>Eurhynchium cf. speciosum</i> (Brid.) Jur.																
<i>Eurhynchium cf. praelongum</i> (Hedw.) Br. Eur.																
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>flaccidum</i> Br. Eur.																
<i>Chyloseyphus polyanthos</i> (L.) Corda var. <i>polyanthos</i>																
<i>Lophocola minor</i> Nees																
<i>Thamnobryum alopecurum</i> (Hedw.) Nieuwl.																
<i>Fissidens dubius</i> P. Beauv.																
<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.																
<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dumort.																

Tableau XXIX : Nombre et pourcentage de relevés de chacun des 28 taxons de Bryophytes dans les deux cortèges d'espèces, A et B. Niveau d'exclusion significatif avec 5 espèces communes aux deux cortèges

Types de cortège bryologique	A		B	
	nombre	%	nombre	%
Totaux	43	100	11	100
<i>Dicranum scottianum</i> Turn.	6	13,95		
<i>Diplophyllum albicans</i> (L.) Dumort.	6	13,95		
<i>Isothecium myosuroides</i> Brid. var. <i>mysuroides</i>	5	11,63		
<i>Rhabdoweisia fugax</i> (Hedw.) B.S.G.	5	11,63		
<i>Lepidozia reptans</i> (L.) Dumort.	4	9,3		
<i>Leucobryum juniperoideum</i> (Brid.) C. Müll.	4	9,3		
<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dumort.	4	9,3		
<i>Cephalozia lunulifolia</i> (Dumort.) Dumort.	3	6,98		
<i>Fissidens dubius</i> P. Beauv.	3	6,98		
<i>Dicranella heteromalla</i> (Hedw.) Schimp	2	4,65		
<i>Isothecium myosuroides</i> var. <i>cavernosum</i> Mol.	2	4,65		
<i>Lejeunea lamersiana</i> (Steph.) Schiffn.	2	4,65		
<i>Plagiothecium undulatum</i> (Hedw.) Br. Eur.	2	4,65		
<i>Scapania gracilis</i> Lindb.	1	2,33		
<i>Plagiothecium curvifolium</i> Schlieph.	1	2,33		
<i>Plagiochila spinulosa</i> (Dicks.) Dumort.	1	2,33		
<i>Pseudotaxiphyllum elegans</i> (Brid.) Iwtas.	36	83,72	5	45,45
<i>Mnium hornum</i> Hedw.	3	6,98	1	9,09
<i>Calypogeia arguta</i> Nees & Mont.	3	6,98	3	27,27
<i>Thamnobryum alopecurum</i> (Hedw.) Nieuwl.	4	9,3	2	18,18
<i>Plagiothecium succulentum</i> (Wils.) Lindb.	2	4,65	8	72,72
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>flaccidum</i> Br. Eur.			8	72,72
<i>Lophocolea minor</i> Nees			5	45,45
<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.			3	27,27
<i>Chiloscyphus polyanthos</i> (L.) Corda var. <i>polyanthos</i>			2	18,18
<i>Eurhynchium cf. speciosum</i> (Brid.) Jur.			2	18,18
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>heteropterum</i>			1	9,09
<i>Eurhynchium cf. praelongum</i> (Hedw.) Br. Eur.			1	9,09

3.4.6.3.4 Discrimination des micro-habitats intra-forestiers à partir des données bryologiques

La synthèse des caractéristiques auto-écologiques des espèces de Bryophytes identifiées dans l'ensemble des 16 stations répertoriées est présentée au **tableau XXX**. Son analyse montre que 89,3% des taxons sont hyper-acidiphiles à acido-neutroclines (**tableau XXXI**), 68% sont hygrophiles aquatiques à méso-hygrophiles (**tableau XXXII**) et 75% sont cryophiles oligothermes à mésothermes (**tableau XXXIII**). Il est remarquable de constater que 93% des espèces de Bryophytes sont lucifuges à sciaphiles (**tableau XXXIV**).

Tableau XXX : Auto-écologie des taxons bryologiques identifiés dans les 16 stations en habitat forestier. Les principales exigences écologiques et le statut dynamique sont indiqués. HT : Hépatiques à thalles ; HF : Hépatiques à feuilles ; M : Mousses

type	taxon	substrat	lumière	température	hygrométrie	Statut dynamique
HF	<i>Calypogeia arguta</i> Nees & Mont.	acidiline préférent	sciaphile strict	mésio-thermocline	mésio-hygrophile	pionnier terricole
HF	<i>Cephalozia lunulifolia</i> (Dumort.) Dumort.	acidiphile strict	sciaphile préférent	cryophile oligotherme	mésio-hygrophile	pionnier saprolognigole
HF	<i>Chiloscyphus polyanthos</i> (L.) Corda var. <i>polyanthos</i>	acidiphile strict	sciaphile préférent	cryophile mésotherme	hygrophile à aquatique	nomade aquatique
HF	<i>Diplophyllum albicans</i> (L.) Dumort.	acidiphile strict	sciaphile strict	mésiotherme	mésio-xérocline	post-pionnier à nomade terrico-humicole
HF	<i>Lejeunea lamersiana</i> (Steph.) Schiffn.	acidiphile strict	sciaphile strict	mésio-thermocline	hygrophile préférent	post pionnier terricole à épilithique
HF	<i>Lepidozia reptans</i> (L.) Dumort.	acidiphile strict	sciaphile strict	cryophile oligotherme	mésophile	post pionnier à nomade saprolognigole
HF	<i>Lophocolea minor</i> Nees	neutrophile	sciaphile préférent	cryophile oligotherme	mésophile	post pionnier épilithique à épibryophylle
HF	<i>Plagiochila spinulosa</i> (Dicks.) Dumort.	acidiphile préférent	sciaphile strict	mésio-thermocline	mésio-hygrophile	nomade humo-terricole
HF	<i>Scapania gracilis</i> Lindb.	acidiline	sciaphile préférent	mésiotherme	mésio-hygrophile	post-pionnier à nomade humo épilithique
HT	<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dumort.	acido-neurocline	sciaphile préférent	cryophile oligotherme	mésio-xérocline	post-pionnier à nomade corticole épilithique parfois épibryophylle
M	<i>Dicranella heteromalla</i> (Hedw.) Schimp.	acidiphile strict	sciaphile préférent	cryophile mésotherme	mésio-xérocline	pionnier à post-pionnier terrico-humicole
M	<i>Dicranum scottianum</i> Turn.	acidiphile strict	sciaphile préférent	thermocline	hygro-mésophile	post-pionnier à nomade humo-épilithique
M	<i>Eurhynchium cf. praelongum</i> (Hedw.) Br. Eur.	acidiline préférent	sciaphile préférent	cryophile mésotherme	mésio-hygrophile	nomade terrico-humicole parfois humo-épilithique
M	<i>Eurhynchium cf. speciosum</i> (Brid.) Jur.	acido-neurocline	semi-héliophile	mésio-thermocline	hygrophile préférent	nomade terrico-humicole
M	<i>Fissidens dubius</i> P. Beauv.	neutrophile	sciaphile préférent	cryophile mésotherme	mésio-xérocline	nomade à climacique stationnel terrico-humicole
M	<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>flaccidum</i> Br. Eur.	acidiphile préférent	lucifuge préférent	mésio-thermocline	hygrophile préférent	pionnier à post-pionnier épilithique à humo-épilithique
M	<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>heteropterum</i>	acidiphile préférent	sciaphile strict	cryophile oligotherme	hygrophile préférent	pionnier à post-pionnier épilithique à humo-épilithique
M	<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.	acido-neurocline	sciaphile strict	cryophile oligotherme	hygrophile strict	humicole nomade à climacique stationnel
M	<i>Isoetecium myosuroides</i> Brid. var. <i>cavernosum</i> Mol.	acidiline strict	lucifuge préférent	mésio-thermocline	hygrophile préférent	pionnier à post-pionnier épilithique à humo-épilithique
M	<i>Isoetecium myosuroides</i> Brid. var. <i>myosuroides</i>	acidiphile strict	sciaphile strict	cryophile mésotherme	mésio-hygrophile	climacique stationnel humo-corticole
M	<i>Leucobryum juniperoides</i> (Brid.) C. Müll.	acidiphile strict	semi-héliophile	cryophile mésotherme	mésio-hygrophile	climacique stationnel humicole à humo-épilithique
M	<i>Mnium hornum</i> Hedw.	acidiphile préférent	sciaphile préférent	cryophile oligotherme	mésio-hygrophile	nomade à climacique stationnel humicole
M	<i>Plagiothecium curvifolium</i> Schlieph.	acidiphile strict	sciaphile préférent	mésiotherme	mésio-xérocline	nomade humicole à humo-corticole
M	<i>Plagiothecium succulentum</i> (Wils.) Lindb.	acidiphile strict	sciaphile préférent	cryophile oligotherme	mésio-hygrophile	post pionnier à nomade terrico-humicole
M	<i>Plagiothecium undulatum</i> (Hedw.) Br. Eur.	hyper-acidiphile	sciaphile strict	cryophile oligotherme	mésio-hygrophile	climacique stationnel humicole
M	<i>Pseudotaxiphyllum elegans</i> (Brid.) Iwats.	acidiphile strict	lucifuge préférent	cryophile mésotherme	mésophile	pionnier à post-pionnier épilithique à terricole
M	<i>Rhabdoweisia fugax</i> (Hedw.) B.S.G.	acidiphile strict	sciaphile strict	cryophile oligotherme	mésophile	post-pionnière à nomade
M	<i>Thamnobryum alopecurum</i> (Hedw.) Nieuwl.	neurocline préférent	sciaphile strict	cryophile mésotherme	mésio-hygrophile	climacique stationnel terricole à terrico-épilithique

Tableau XXXI : Exigences écologiques des Bryophytes associées vis-à-vis du substrat

Facteur : substrat	%	Nombre de taxons
hyper-acidiphile	3,57	1
acidiphile stricte	42,86	12
acidiphile préférante	14,29	4
acidicline stricte	10,71	3
acidicline préférante	7,14	2
acido-neutrocline	10,71	3
neutrocline préférante	3,57	1
neutrophile	7,14	2
total	100	28

Tableau XXXII : Exigences écologiques des Bryophytes associées vis-à-vis de l'hygrométrie

Facteur : hygrométrie	%	Nombre de taxons
hygrophile à aquatique	3,57	1
hygrophile stricte	3,57	1
hygrophile préférante	17,86	5
hygro-mésophile	3,57	1
mésophylophile	39,28	11
mésophile	14,29	4
mésophylocline	17,86	5
total	100	28

Tableau XXXIII : Exigences écologiques des Bryophytes associées vis-à-vis de la température

Facteur : température	%	Nombre de taxons
cryophile oligotherme	35,72	10
cryophile mésotherme	28,57	8
mésotherme	10,71	3
mésophylotherme	21,43	6
thermocline	3,57	1
total	100	28

Tableau XXXIV : Exigences écologiques des Bryophytes associées vis-à-vis des conditions lumineuses

Facteur : lumière	%	Nombre de taxons
lucifuge préférante	10,71	3
sciaphile stricte	39,29	11
sciaphile préférante	42,86	12
semi-héliophile	7,14	2
total	100	28

Des variétés de taxons particulièrement adaptées à de faibles luminosités sont observées : *Heterocladium heteropterum* (Schwaegr.) Br. Eur. var *flaccidum* Br. Eur., à rameaux très grêles ; *Isothecium myosuroides* Brid. var *cavernosum* Mol. variété non dendroïde sans

rameaux tertiaires ; *Pseudotaxiphyllum elegans* (Brid.) Iwats., vraisemblablement de la variété *nanum* Jur., grêle à tige ascendante donnant des rameaux plus ou moins filiformes et peu propagulifères.

Pour affiner les résultats concernant l'étude des micro-habitats intra-forestiers, l'ACP (cf. figures 60 et 61, p. 113 et 114) est reprise pour les 16 stations ayant fait l'objet d'une étude bryologique. La représentation de la distribution des facteurs géomorphologiques et floristiques, incluant le type de cortège bryologique associé à chaque station (cf. tableau XXVIII p. 116), en fonction des stations (**figure 62**) confirme la ségrégation entre deux grands types d'habitats forestiers, I et II, corroborant l'analyse précédente, qui portait sur 24 stations sans donnée bryologique.

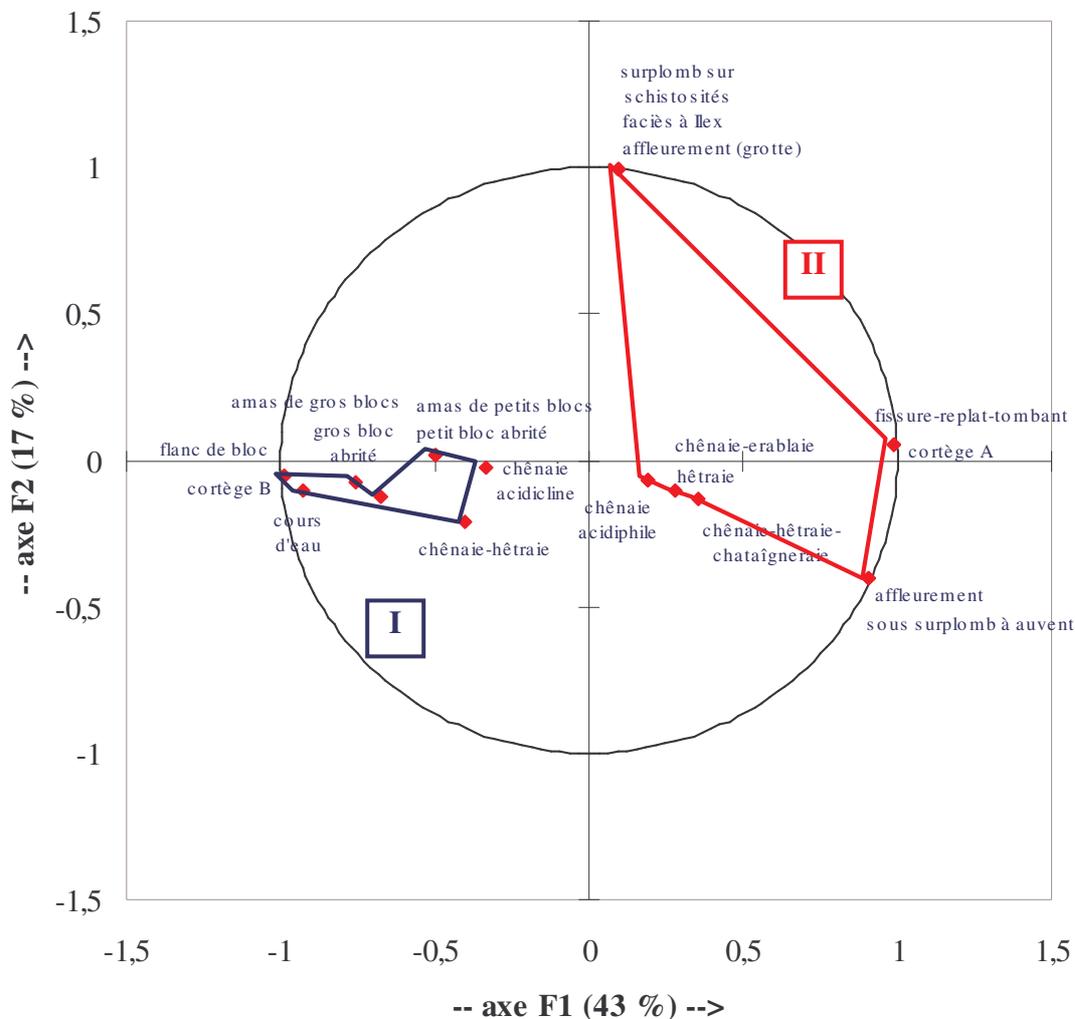


Figure 62 : ACP sur les données des 16 stations incluant le type de cortège bryologique associé ; Distribution des facteurs géomorphologiques et floristiques, incluant les données bryologiques en fonction des stations

Cependant, la contribution des deux premiers axes s'en trouve renforcée puisqu'elle atteint 60% (contre 52% cf. figures 60 et 61 p. 113 et 114) ; 43% sont attribuables à l'axe F1 déterminé par le type de cortège bryologique (A ou B) et la situation micro-topographique (N4). L'axe F2 fournit 17% de la contribution. Il est déterminé par les peuplements forestiers du niveau 1 : les chênaies et hêtraies occupent la partie négative de l'axe tandis qu'à l'opposé se trouve le faciès arbustif à *Ilex aquifolium* L. sous la plantation de résineux (station de Roch' Toull, Guiclan).

La représentation, en fonction des caractéristiques géomorphologiques et floristiques, de la distribution des 16 stations de *Trichomanes speciosum* Willd. dont le cortège bryologique est caractérisé (**figure 63**), indique que le groupe des stations de type II, des chaos rocheux sur cours d'eau, est lié au cortège bryologique B. Ce groupe inclus les stations à sporophytes. Les stations du groupe I, en affleurement rocheux, se caractérisent par les cortèges bryologiques du groupe A et correspondent toutes à des stations de gamétophytes indépendants.

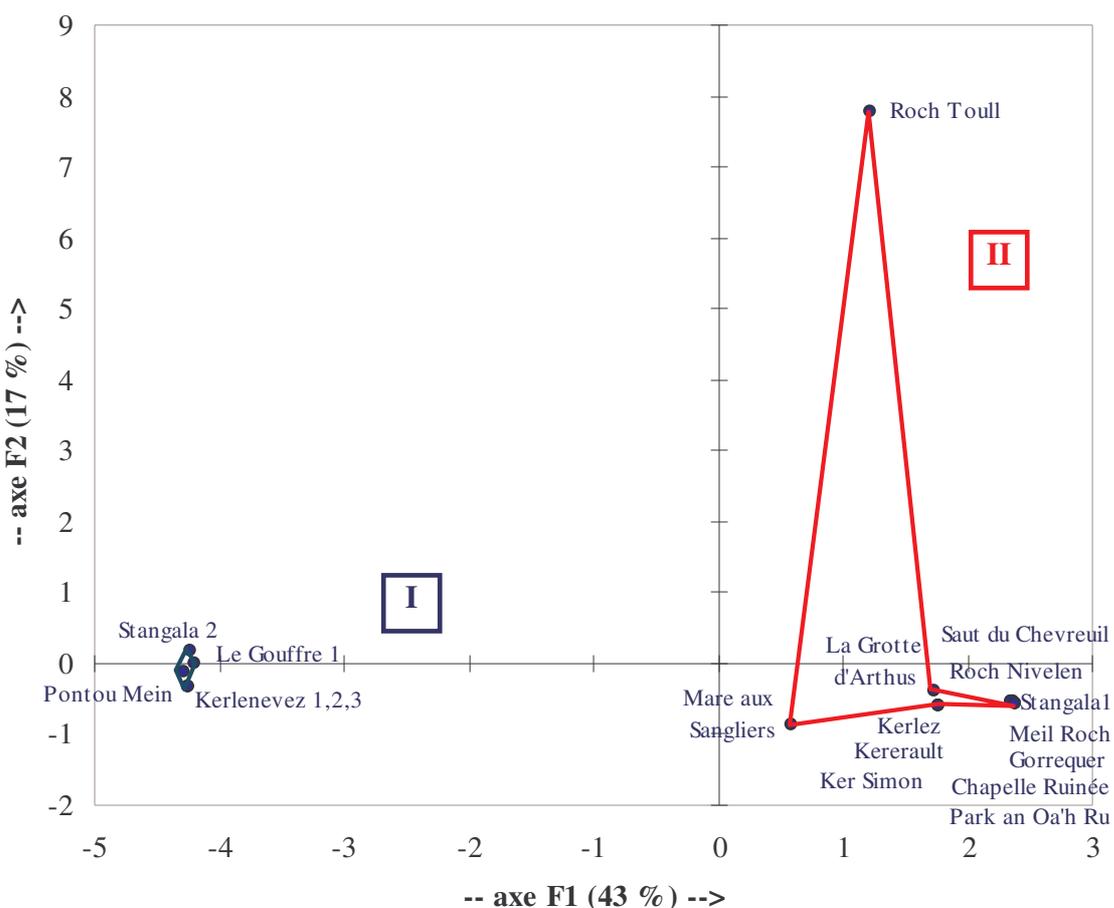


Figure 63 : ACP sur les données des 16 stations incluant les cortèges bryologiques : distribution des stations en fonction des caractéristiques géomorphologiques et floristiques

L'examen des différentes exigences écologiques des deux cortèges bryologiques A et B mis en évidence précédemment (cf. tableaux XXXI à XXXIV p. 119) est réalisé selon la méthode des indices pondérés (cf. p. 84 et 85). Les résultats sont présentés dans les **tableaux XXXV, XXXVI et XXXVII.**

Tableau XXXV : Nombre, pourcentage de relevés, classe de fréquence et coefficient de pondération associés de chaque taxon de Bryophytes dans les groupes de stations à cortège A ou B

Cortège	A				B			
	nombre	%	Classe de fréquence	Coefficient de pondération	nombre	%	Classe de Fréquence	Coefficient de pondération
<i>Pseudotaxiphyllum elegans</i> (Brid.) Iwats.	36	83,72	V	16	5	45,45	III	4
<i>Dicranum scottianum</i> Turn.	6	13,95	I	1				
<i>Diplophyllum albicans</i> (L.) Dumort.	6	13,95	I	1				
<i>Isothecium myosuroides</i> Brid. var. <i>myosuroides</i>	5	11,63	I	1				
<i>Rhabdoweisia fugax</i> (Hedw.) B.S.G	5	11,63	I	1				
<i>Lepidozia reptans</i> (L.) Dumort.	4	9,3	I	1				
<i>Leucobryum juniperoideum</i> (Brid.) C. Müll.	4	9,3	I	1				
<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dumort.	4	9,3	I	1				
<i>Cephalozia lunulifolia</i> (Dumort.) Dumort.	3	6,98	I	1				
<i>Fissidens dubius</i> P. Beauv.	3	6,98	I	1				
<i>Dicranella heteromalla</i> (Hedw.) Schimp	2	4,65	+	0,5				
<i>Isothecium myosuroides</i> var. <i>cavernosum</i> Mol.	2	4,65	+	0,5				
<i>Lejeunea lamersiana</i> (Steph.) Schiffn.	2	4,65	+	0,5				
<i>Plagiothecium undulatum</i> (Hedw.) Br. Eur.	2	4,65	+	0,5				
<i>Scapania gracilis</i> Lindb.	1	2,33	+	0,5				
<i>Plagiothecium curvifolium</i> Schlieph.	1	2,33	+	0,5				
<i>Plagiochila spinulosa</i> (Dicks.) Dumort.	1	2,33	+	0,5				
<i>Mnium hornum</i> Hedw.	3	6,98	I	1	1	9,09	I	1
<i>Calypogeia arguta</i> Nees & Mont.	3	6,98	I	1	3	27,27	II	2
<i>Thamnobryum alopecurum</i> (Hedw.) Nieuwl.	4	9,3	I	1	2	18,18	I	1
<i>Plagiothecium succulentum</i> (Wils.) Lindb.	2	4,65	+	0,5	8	72,72	IV	8
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>flaccidum</i> Br. Eur.					8	72,72	IV	8
<i>Lophocolea minor</i> Nees					5	45,45	III	4
<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.					3	27,27	II	2
<i>Chiloscyphus polyanthos</i> (L.) Corda var. <i>polyanthos</i>					2	18,18	I	1
<i>Eurhynchium</i> cf. <i>speciosum</i> (Brid.) Jur.					2	18,18	I	1
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>heteropterum</i>					1	9,09	I	1
<i>Eurhynchium</i> cf. <i>praelongum</i> (Hedw.) Br. Eur.					1	9,09	I	1
Nombre de relevés dans A ou dans B	43				11			

Tableau XXXVI : Exigences écologiques des Bryophytes et coefficient de pondération associé

Espèces	Lumière		Substrat		Température		Humidité					
	Exigences	Coeff. A	Coeff. B	Exigences	Coeff. A	Coeff. B	Exigences	Coeff. A	Coeff. B			
<i>Pseudotaxiphyllum elegans</i> (Brid.) Jwats.	lucifuge préférente	16	4	acidiphile stricte	16	4	cryophile mésotherme	16	4	mésophile	16	4
<i>Dicranum scottianum</i> Turm.	sciaphile préférente	1		acidiphile stricte	1		thermocline	1		hygro-mésophile	1	
<i>Diplrophyllum albicans</i> (L.) Dumort.	sciaphile stricte	1		acidiphile stricte	1		mésotherme	1		méso-xérocline	1	
<i>Isoetecium myosuraoides</i> Brid. var. <i>myosuraoides</i>	sciaphile stricte	1		acidicline stricte	1		cryophile mésotherme	1		méso-hygrophile	1	
<i>Rhabdoweisia jigax</i> (Hedw.) B.S.G	sciaphile stricte	1		acidiphile stricte	1		cryophile oligotherme	1		mésophile	1	
<i>Leptozia reptans</i> (L.) Dumort.	sciaphile stricte	1		acidiphile stricte	1		cryophile oligotherme	1		mésophile	1	
<i>Leucobryum juniperoides</i> (Brid.) C. Müll.	semi-héliophile	1		acidiphile stricte	1		cryophile mésotherme	1		méso-hygrophile	1	
<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dumort.	sciaphile préférente	1		acido-neutrocline	1		cryophile oligotherme	1		méso-xérocline	1	
<i>Capitozia lanulifolia</i> (Dumort.) Dumort.	sciaphile préférente	1		acidiphile stricte	1		cryophile oligotherme	1		méso-hygrophile	1	
<i>Fissidens dubius</i> P. Beauv.	sciaphile préférente	1		neutrophile	1		cryophile mésotherme	1		méso-xérocline	1	
<i>Dicranella heteromalla</i> (Hedw.) Schimp	sciaphile préférente	0,5		acidiphile stricte	0,5		cryophile mésotherme	0,5		méso-xérocline	0,5	
<i>Isoetecium myosuraoides</i> var. <i>cavernosum</i> Mol.	lucifuge préférente	0,5		acidicline stricte	0,5		méso-thermocline	0,5		hygrophile préférente	0,5	
<i>Lejeunea lamersiana</i> (Steph.) Schiffn.	sciaphile stricte	0,5		acidiphile stricte	0,5		méso-thermocline	0,5		hygrophile préférente	0,5	
<i>Plagiothecium undulatum</i> (Hedw.) Br. Eur.	sciaphile stricte	0,5		hyper-acidiphile	0,5		cryophile oligotherme	0,5		méso-hygrophile	0,5	
<i>Scapania gracilis</i> Lindb.	sciaphile préférente	0,5		acidicline	0,5		mésotherme	0,5		méso-hygrophile	0,5	
<i>Plagiothecium curvifolium</i> Schlieph.	sciaphile préférente	0,5		acidiphile stricte	0,5		mésotherme	0,5		méso-xérocline	0,5	
<i>Plagiochila spinulosa</i> (Diels.) Dumort.	sciaphile stricte	0,5		acidiphile préférente	0,5		méso-thermocline	0,5		méso-hygrophile	0,5	
<i>Mnium hornum</i> Hedw.	sciaphile préférente	1	1	acidiphile préférente	1	1	cryophile oligotherme	1	1	méso-hygrophile	1	1
<i>Calyptogea arguta</i> Nees & Mont.	sciaphile stricte	1	2	acidicline préférente	1	2	méso-thermocline	1	2	méso-hygrophile	1	2
<i>Thamnobryum atopecurum</i> (Hedw.) Nieuwl.	sciaphile stricte	1	1	neutrocline préférente	1	1	cryophile mésotherme	1	1	méso-hygrophile	1	1
<i>Plagiothecium succulentum</i> (Wils.) Lindb.	sciaphile préférente	0,5	8	acidiphile stricte	0,5	8	cryophile oligotherme	0,5	8	méso-hygrophile	0,5	8
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>flaccidum</i> Br. Eur.	lucifuge préférente		8	acidiphile préférente		8	méso-thermocline		8	hygrophile préférente		8
<i>Lophocolea minor</i> Nees	sciaphile préférente		4	neutrophile		4	cryophile oligotherme		4	mésophile		4
<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.	sciaphile stricte		2	acido-neutrocline		2	cryophile oligotherme		2	hygrophile stricte		2
<i>Chiloscyphus polyanthos</i> (L.) Corda var. <i>polyanthos</i>	sciaphile préférente		1	acidiphile stricte		1	cryophile mésotherme		1	hygrophile à aquatique		1
<i>Eurhynchium</i> cf. <i>speciosum</i> (Brid.) Jur.	semi-héliophile		1	acido-neutrocline		1	méso-thermocline		1	hygrophile préférente		1
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>heteropterum</i>	sciaphile stricte		1	acidiphile préférente		1	cryophile oligotherme		1	hygrophile préférente		1
<i>Eurhynchium</i> cf. <i>praelongum</i> (Hedw.) Br. Eur.	sciaphile préférente		1	acidicline préférente		1	cryophile mésotherme		1	méso-hygrophile		1

Tableau XXXVII : Indices pondérés et pourcentages relatifs des indices pondérés traduisant la fréquence de chaque sensibilité écologique des Bryophytes composant les cortèges A ou B

CORTEGE	A	B
Lumière	%	%
lucifuge préférante	51,56	34,29
sciaphile stricte	23,44	17,14
sciaphile préférante	21,875	45,71
semi-héliophile	3,125	2,86
Substrat	%	%
hyper-acidiphile	1,56	-
acidiphile stricte	75	30
acidiphile préférante	4,69	33,33
acidicline	0,38	10
acido-neutrocline	3,125	10
neutrocline préférante	3,125	3,33
neutrophile	3,125	13,33
Température	%	%
cryophile oligotherme	19,35	47,06
cryophile mésotherme	62,9	20,6
mésotherme	6,45	-
méso-thermocline	8,06	32,35
thermocline	3,22	-
Hygrométrie	%	%
hygrophile à aquatique	-	3,45
hygrophile stricte	-	6,9
hygrophile préférante	3,15	34,48
hygro-mésophile à méso-hygrophile	28,125	41,38
mésophile	56,25	13,8
méso-xérocline	12,5	-

Les résultats indiquent que 76,56% des espèces de Bryophytes constitutives du cortège A sont hyper-acidiphiles à acidiphiles strictes. Ainsi, plus de trois quarts de la communauté de mousses et d'hépathiques associées à *Trichomanes speciosum* Willd. dans les stations de type I affectionnent nettement les substrats acides. Au contraire dans le cortège B, seuls 30% des taxons bryophytiques sont acidiphiles stricts et 33% acidiphiles préférants. Vis à vis de la lumière, les Bryophytes du cortège A sont majoritairement lucifuges (51,56%) à sciaphiles strictes (23,44%), alors que 45% de celles du cortège B sont sciaphiles préférantes. Pour la température, les Bryophytes du cortège A associées au Trichomanès remarquable sont majoritairement cryophiles mésothermes (62,9%) alors que celles du cortège B, cryophiles oligothermes (47,06%) à méso-thermoclines (32,35%), tolèrent une gamme plus vaste de conditions thermiques. Vis-à-vis de l'hygrométrie, plus de la moitié des espèces du cortège A

sont mésophiles (56,25%). Au contraire le cortège B est surtout composé d'espèces hygrophiles préférantes (34,48%) et hygro-mésophiles à méso-hygrophiles (41,38%).

Ainsi, des différences marquées au niveau des exigences écologiques des Bryophytes des deux cortèges A ou B sont mises en évidence, permettant par là-même de discriminer les deux types de stations de *Trichomanes speciosum* Willd., I et II, qui leur sont associés. Les stations forestières de type II (comprenant les deux sites où des sporophytes sont recensés) qui se localisent sur les flancs de blocs de chaos rocheux en bord d'un cours d'eau, se caractérisent par une plus faible amplitude thermique, mais aussi par des conditions d'éclaircissement et d'hygrométrie nettement supérieures à celles des stations de fissures en affleurements rocheux qui constituent les stations de type I, où seuls des gamétophytes indépendants se développent.

3.4.6.3.5 Dynamique des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. en habitats forestiers à partir des données bryologiques

L'identification des mousses et des hépatiques dans les 16 stations forestières référencées de *Trichomanes speciosum* Willd. révèle qu'il s'agit majoritairement d'espèces pionnières et post-pionnières (**tableau XXXVIII**).

Tableau XXXVIII : Statut dynamique des Bryophytes identifiées dans 16 stations en milieu forestier de *Trichomanes speciosum* Willd.

Statut dynamique	%	Nombre de taxons
Pionnier à post pionnier	32,14	9
Pionnier à nomade	25	7
Nomade	17,86	5
Nomade à climacique stationnel	10,71	3
Climacique stationnel	14,29	4
Total	100	28

Les indices pondérés calculés (**tableaux XXXIX et XL**) pour caractériser le statut dynamique des espèces composant le cortège A montrent que les mousses et les hépatiques identifiées dans les stations de *Trichomanes* remarquable du groupe I (c'est-à-dire dans les stations où des gamétophytes indépendants de la fougère sont recensés) sont majoritairement pionnières à post-pionnières. Les taxons bryologiques constitutifs du cortège B corrélé aux stations de type II, qui comporte notamment les deux stations où se sont développés des sporophytes,

présentent également un caractère majoritairement pionnier à post-pionnier avec cependant la présence de 10% d'espèces nomades et 10% de climaciques stationnelles.

Tableau XXXIX : Classe de fréquence et coefficient de pondération associé pour chaque taxon de Bryophytes, en fonction des cortèges A et B

Espèces	Stade dynamique	Classe de fréquence	Coefficient de pondération	Classe de fréquence	Coefficient de pondération
<i>Pseudotaxiphyllum elegans</i> (Brid.) Iwats.	pionnier à post-pionnier	V	16	III	
<i>Dicranum scottianum</i> Turn.	post-pionnier à nomade	I	1		
<i>Diplophyllum albicans</i> (L.) Dumort.	post-pionnier à nomade	I	1		
<i>Isothecium myosuroides</i> Brid. var. <i>myosuroides</i>	climacique stationnel	I	1		
<i>Rhabdoweisia fugax</i>	post-pionnier à nomade	I	1		
<i>Lepidozia reptans</i> (L.) Dumort.	post pionnier à nomade	I	1		
<i>Leucobryum juniperoideum</i> (Brid.) C. Müll.	climacique stationnel	I	1		
<i>Metzgeria furcata</i> (L.) Dumort.	post-pionnier à nomade	I	1		
<i>Cephalozia lunulifolia</i> (Dumort.) Dumort.	pionnier	I	1		
<i>Fissidens dubius</i> P. Beauv.	nomade à climacique stationnel	I	1		
<i>Dicranella heteromalla</i> (Hedw.) Schimp	pionnier à post-pionnier	+	0,5		
<i>Isothecium myosuroides</i> var. <i>cavernosum</i> Mol.	pionnier à post-pionnier	+	0,5		
<i>Lejeunea lamersiana</i> (Steph.) Schiffn.	post pionnier	+	0,5		
<i>Plagiothecium undulatum</i> (Hedw.) Br. Eur.	climacique stationnel	+	0,5		
<i>Scapania gracilis</i> Lindb.	post-pionnier à nomade	+	0,5		
<i>Plagiothecium curvifolium</i> Schlieph.	nomade	+	0,5		
<i>Plagiochila spinulosa</i> (Dicks.) Dumort.	nomade	+	0,5		
<i>Mnium hornum</i> Hedw.	nomade à climacique stationnel	I	1	I	1
<i>Calyptogeia arguta</i> Nees & Mont.	pionnier	I	1	II	2
<i>Thamnobryum alopecurum</i> (Hedw.) Nieuwl.	climacique stationnel	I	1	I	1
<i>Plagiothecium succulentum</i> (Wils.) Lindb.	post pionnier à nomade	+	0,5	IV	8
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>flaccidum</i> Br. Eur.	pionnier à post-pionnier			IV	8
<i>Lophocolea minor</i> Nees	post pionnier			III	4
<i>Hookeria lucens</i> (Hedw.) Sm.	nomade à climacique stationnel			II	2
<i>Chiloscyphus polyanthos</i> (L.) Corda var. <i>polyanthos</i>	nomade			I	1
<i>Eurhynchium cf. speciosum</i> (Brid.) Jur.	nomade			I	1
<i>Heterocladium heteropterum</i> (Schwaegr.) Br. Eur. var. <i>heteropterum</i>	pionnier à post-pionnier			I	1
<i>Eurhynchium cf. praelongum</i> (Hedw.) Br. Eur.	nomade			I	1

Tableau XL : Indices de pondération traduisant le statut dynamique des Bryophytes composant les deux cortèges A ou B dans les 16 stations forestières de *Trichomanes speciosum* Willd.

Statut dynamique	Indice de pondération A	Indice de pondération A (%)	Indice de pondération B	Indice de pondération B (%)
Pionnier à post-pionnier	19,5	60,94	15	50
Post-pionnier à nomade	6	18,75	8	26,7
Nomade	1	3,12	3	10
Nomade à climacique stationnel	2	6,25	3	10
Climacique stationnel	3,5	10,94	1	3,3
Total	32	100	30	100

Le tableau **XLI** récapitule le nombre de taxons bryologiques identifiés en fonction du stade de prélèvement (cf. tableau XI et figure 48, p. 82) depuis le stade S1 pionnier jusqu'au stade S3 proche du stade climax stationnel caractérisé par une couche épaisse de matière organique. Le nombre d'espèces dans le stade S1 est faible. La diversité des taxons augmente progressivement aux stades S2 et S3. Ces résultats indiquent que lorsque la couche de matière organique s'épaissit, le nombre d'espèces entrant en concurrence avec le *Trichomanes* remarquable pour l'occupation du substrat augmente.

Tableau XLI : Nombre d'espèces de Bryophytes associées à *Trichomanes speciosum* Willd. par stade dynamique. S1 : stade pionnier à post-pionnier (à même la roche) ; S2 : stade post-pionnier à nomade (sur humus de 1 à 5 mm) ; S3 : stade nomade à climacique stationnel (humus de plus de 5 mm à 1 cm); - : pas de stade 3

Commune	Lieu-dit	S1	S2	S3
Berrien	<i>Mare aux Sangliers</i>	0	2	1
Briec	<i>Kerlez</i>	0	4	5
Roche-Maurice	<i>Chapelle-Ruinée</i>	4	7	6
Guiclan	<i>Roch Toull</i>	0	2	3
Edern	<i>Park an Oah'Ru</i>	0	2	1
Ergué-Gaberic	<i>Stangala 1</i>	2	1	9
Ergué-Gaberic	<i>Stangala 2</i>	0	6	-
Huelgoat	<i>Le Gouffre 1</i>	0	6	-
Huelgoat	<i>Le Gouffre 2</i>	0	4	8
Huelgoat	<i>La Grotte d'Arthus</i>	2	2	5
Kergrist-Moëlou	<i>Pontou-Mein</i>	3	6	5
Loperhet	<i>Gorrequer</i>	2	2	2
Loperhet	<i>Ker Simon</i>	0	3	3
Perret	<i>Saut du Chevreuil</i>	2	2	1
Plogonnec	<i>Meil Roch</i>	0	1	-
Plougastel-Daoulas	<i>Kererault</i>	0	4	4
Plougastel-Daoulas	<i>Roc'h Nivelen</i>	0	3	1
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez 1</i>	4	5	-
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez 2</i>	4	5	-
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez 3</i>	5	3	-
Nombre moyen d'espèces par stade dynamique		1,4	3,5	3,86

Lorsque les taux de recouvrement des Bryophytes sont comparés à ceux de *Trichomanes speciosum* Willd. dans les situations micro-topographiques, les gamétophytes de la fougère prédominent au stade 1, stade pionnier à même la roche (**tableau XLII**). Ils y présentent un taux de recouvrement de 92,2%. Au stade S2, sur humus de 1 à 5 mm, et encore davantage au stade S3, sur humus de 5 mm à 1 cm, ce sont les Bryophytes qui présentent le taux de recouvrement le plus important et qui donc supplantent le *Trichomanes* remarquable. La

fougère parvient à concurrencer les Bryophytes dans les placettes où l'humus est peu disponible, dans le fond des fissures ou à flanc de bloc, sur des parois quasi verticales.

Tableau XLII : Taux de recouvrement moyens des Bryophytes et des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. selon les 3 stades dynamiques. S1, stade pionnier à même la roche ; S2, sur humus de 1 à 5 mm ; S3, sur humus de 5 mm à 1 cm. * gamétophytes sur et sous les Bryophytes ; # recouvrement de 5% des sporophytes

Communes	Lieu-dit	Bryophytes			<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.		
		S1	S2	S3	S1	S2	S3
Berrien	<i>Mare aux sangliers</i>	0	60	100	30	20	0
Briec	<i>Kerlez</i>	0	20	80	40	80	20
Ederm	<i>Park an Oah'Ru</i>	0	45	100	80	45	0
Ergué-Gaberic	<i>Stangala 1</i>	20	100	100	80	0	0
Ergué-Gaberic	<i>Stangala 2</i>	0	50	-	60	0	-
Guiclan	<i>Roch Toull</i>	0	90	100	95	0	0
Huelgoat	<i>Le Gouffre</i>	0	60	-	80	20	-
Huelgoat	<i>Le Gouffre 2</i>	0	80	85	75	20	5
Huelgoat	<i>La Grotte d'Arthus</i>	20	70	100	80	30	0
Kergrist-Moëlou	<i>Pontou-Mein</i>	0	20	95	100	80	5
Lopérec	<i>Bois du Nivot</i>	0	-	-	30	-	-
Loperhet	<i>Gorrequer</i>	0	20	80	50	60	20
Loperhet	<i>Ker Simon</i>	0	40	70	40	60	30
Plogonnec	<i>Meil Roch</i>	0	60	-	95	20	-
Ploubezre	<i>Vallée du Léguer</i>	0	70	90	100	30	0
Ploudiry	<i>Près de Milin Coz</i>	0	50	100	90	40	0
Ploudiry	<i>Frouit Bihan</i>	0	60	100	50	10	0
Plougastel-Daoulas	<i>Kererault</i>	0	70	100	100	30	0
Plougastel-Daoulas	<i>Roc'h Nivelen</i>	0	70	100	50	20	0
Roche-Maurice	<i>Chapelle-Ruinée</i>	5	50	90	95	45	10
Saint-Aignan	<i>Lanniguel</i>	0	-	-	80	-	-
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez 1</i>	15	20	95	80	70 #	30*
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez 2</i>	10	15	-	80	65 #	-
Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez 3</i>	5	45	-	75	45	
Saint-Servais	<i>Près de Linglay</i>	0	-	-	80	-	-
Saint-Servais	<i>Près de Kerrivoat</i>	0	-	-	50	-	-
Trémeven	<i>Rive de l'Ellé</i>	0	-	-	30	-	-
Recouvrement moyen par stade		3,39	51,74	70,54	92,22	37,61	6,66

3.5 DIAGNOSTIC ECOLOGIQUE DE PROSPECTION

3.5.1 Elaboration du diagnostic écologique

Trichomanes speciosum Willd. se développe sur substrat rocheux, rarement terreux (deux stations de gamétophytes indépendants sur un total de 128), strictement non calcaire Les

sporophytes et les gamétophytes se développent à même la roche et la couche de matière organique est quasi-inexistante. La synthèse des données écologiques collectées dans le Massif Armoricain conduit à considérer que le *Trichomanes* remarquable, sous sa forme de gamétophyte et / ou de sporophyte, colonise des parois rocheuses très humides, peu exposées aux variations de température. Les populations de la fougère occupent des puits et des vallées boisées. Les gamétophytes indépendants sont recensés dans des hêtraies, chênaies-êrabraies, chênaies acidiphiles et hêtraies-chênaies-chataigneraies tandis que les populations à sporophytes semblent affines des stations sous couvert de chênaies acidiclinales et de hêtraies-chênaies. Les sporophytes colonisent des flancs de blocs rocheux proches de cours d'eau permettant aux frondes de bénéficier d'une brumisation continue. Si les gamétophytes sont également présents dans ce type d'habitat, ils colonisent par ailleurs le fond de fissures d'affleurements rocheux qui ne bénéficient que de pluvio-lessivats transitoires. L'éclairement dont bénéficie la fougère dans ces situations peut devenir très faible. Il semble que les sporophytes, qui se développent dans des conditions de lumière diffuse, nécessitent toutefois pour leur croissance et leur maintien un éclairement minimum supérieur à celui qui est disponible dans les stations à gamétophytes indépendants. Les grottes aux parois humides des côtes maritimes apparaissent comme un habitat où la fougère peut trouver les conditions de se développer mais uniquement sous la forme de gamétophytes indépendants.

3.5.2 Résultats des prospections en Basse-Normandie

Grâce au diagnostic phyto-écologique des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. précédemment établi dans les stations bretonnes de la fougère, des recherches ciblées sont effectuées dans les zones sous-prospectées de Basse-Normandie. Elles conduisent rapidement au recensement de deux nouvelles stations de gamétophytes indépendants de la fougère. Dans le site de la *Grande Cascade* (Mortain, Manche), une vallée boisée caractérisée par une chute d'eau qui se prolonge en rivière. L'étude floristique menée selon la méthodologie de description par niveaux (cf. p. 81) révèle la présence d'une strate arborescente à *Fagus sylvatica* L., *Quercus robur* L., *Hedera helix* L., d'une strate arbustive à *Ilex aquifolium* L. et d'une strate herbacée à *Rubus* gr. *fruticosus* L., *Polypodium vulgare* L. avec la présence de Bryophytes en abondance. Au bord du cours d'eau se trouve un affleurement de nature schisteuse (niveau 2) haut de 15 m environ, exposé au nord-est. Dix centimètres carrés de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. sont présents sur une paroi

située sous un surplomb rocheux (niveau 3), plus précisément, dans une fissure verticale humide (niveau 4). Le Trichomanès remarquable est également identifié à la *Chapelle des Roches* (Le Châtellier, Orne). Il s'agit d'une station sous couvert forestier (niveau 1) à strate arborescente composée de *Fagus sylvatica* L. et *Quercus robur* L. et strate herbacée limitée à *Umbilicus rupestris* (Salisb.) Dandy avec de nombreuses Bryophytes. Deux centimètres carrés de gamétophytes indépendants se développent dans un affleurement de nature schisteuse (niveau 2) orienté à l'est, s'élevant à 2,5 m, sur une paroi oblique (niveau 3) où se dessine une fissure (niveau 4).

Deux autres tentatives se sont révélées infructueuses, mais confirment cependant le diagnostic. Si les conditions floristiques et géomorphologiques laissent présager une forte potentialité, le Trichomanès remarquable n'est pas décelé à la *Fosse Arthur* (Saint-Georges-du-Rouelley, Manche) bien qu'il s'agisse d'un affleurement de grès armoricain (niveau 2). L'absence du taxon pourrait être liée à l'exposition défavorable au sud-ouest : le site, où se pratique l'escalade, est réputé pour la disparition rapide des traces d'humidité après la pluie. En face de cet affleurement, au bord de la Sonce qui s'écoule en contrebas, se trouvent des petits blocs rocheux (niveau 2) mais la concurrence des Bryophytes y est visiblement trop importante pour être compatible avec une colonisation par le *Trichomanes speciosum* Willd.

Ainsi, tous les éléments du diagnostic doivent être réunis pour que la prospection conduise à un résultat positif. Le même constat s'impose à la *Petite Cascade* (Mortain, Manche). En effet, le site est un affleurement gréseux (niveau 2), creusé par une rivière où l'ambiance est fraîche avec des pluvio-lessivats ruisselant abondamment sur les parois. Mais, il est frappant de constater que le recouvrement des parois rocheuses par la végétation est quasiment de 100% avec, notamment, de nombreuses mousses et hépatiques ainsi que *Hymenophyllum tunbrigense* (L.) Sm. Du fait d'une trop grande concurrence végétale, et malgré de minutieuses recherches à la lampe électrique, *Trichomanes speciosum* Willd. reste indécélable sous les surplombs rocheux (niveau 3), au niveau des fissures et replats (niveau 4) ou sur les parois de blocs abrités (niveaux 3 et 4).

3.5.3 Application à d'autres territoires : le Pays Basque et les Vosges

3.5.3.1 Mise en évidence des gamétophytes au Pays Basque

La présence des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. dans les stations historiquement connues (Jovet, 1933) pour abriter les frondes de la fougère est démontrée dans deux stations de la vallée du *Laxia* (Itxassou, Pyrénées-Atlantiques). L'une des stations est d'ailleurs connue (Jovet, 1933) pour abriter la plus remarquable des populations basques de la fougère : environ 350 frondes vigoureuses y sont effectivement dénombrées. Dans la vallée du *Bastan* (Bidarray, Pyrénées-Atlantiques), les gamétophytes du *Trichomanès* remarquable sont également présents en association avec une cinquantaine de frondes. De même, ils sont décelés dans une nouvelle placette à sporophytes recensée à l'occasion de la prospection. Il est remarquable de constater que les frondes y présentent une morphologie atypique, analogue à celle des sporophytes des deux stations de milieu naturel du Massif Armoricain (Saint-Nicolas-du-Pélem et Saint-Servais ; Côtes d'Armor). De plus, dans cette vallée, la prospection ciblée permet la mise en évidence rapide de gamétophytes indépendants de la fougère en de nombreux points, sous forme de recouvrements allant de quelques centimètres carrés à plusieurs décimètres carrés.

Dans la vallée de la *Larrungo erreka* (Urrugne-Ascaïn, Pyrénées-Atlantiques) où les sporophytes du taxon sont historiquement recensés (Jovet, 1933), une vingtaine de frondes est effectivement dénombrée. L'association avec des gamétophytes est là aussi avérée. Plusieurs nouvelles stations de gamétophytes indépendants situées en amont dans la vallée sont mises en évidence. Dans la vallée de l'*Hirruetako erreka* (Sare, Pyrénées-Atlantiques), des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. sont découverts, alors même que les frondes historiquement recensées dans ce site (Jovet, 1933) ne sont pas retrouvées. Par ailleurs, dans des vallées où aucune population de *Trichomanès* remarquable n'avait été observée jusqu'à présent, une station de gamétophytes indépendants est identifiée (Loriot *et al.*, 2002) sur les rives du ruisseau de *Lancette* (Biriatoù, Pyrénées-Atlantiques). Une autre est inventoriée dans la vallée de *Lizarlan* (Biriatoù, Pyrénées-Atlantiques) et 3 dans celle de l'*Hayra* (Aldudes, Pyrénées-Atlantiques).

Récemment, 3 nouvelles stations de gamétophytes indépendants sont signalées au Pays Basque, la première dans les *Gorges de Soussignaté* (Pyrénées-Atlantiques), la deuxième dans le *Massif de Olhartzarré* (Pyrénées-Atlantiques), et la troisième jouxtant la frontière près d'*Ondarolle* en Espagne. Ces derniers résultats sont acquis en 2003 par le Conservatoire Botanique National Aquitaine – Poitou Charentes (Blanchard *et al.*, 2003), toujours sur la base de la prospection ciblée. L'ensemble des données collectées au Pays Basque permet de dresser (**figure 64**) une première carte de répartition des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Sud-Ouest de la France (Blanchard *et al.*, 2003). Ceci prouve l'efficacité de la méthode d'orientation de la prospection, y compris hors du Massif Armoricaïn.

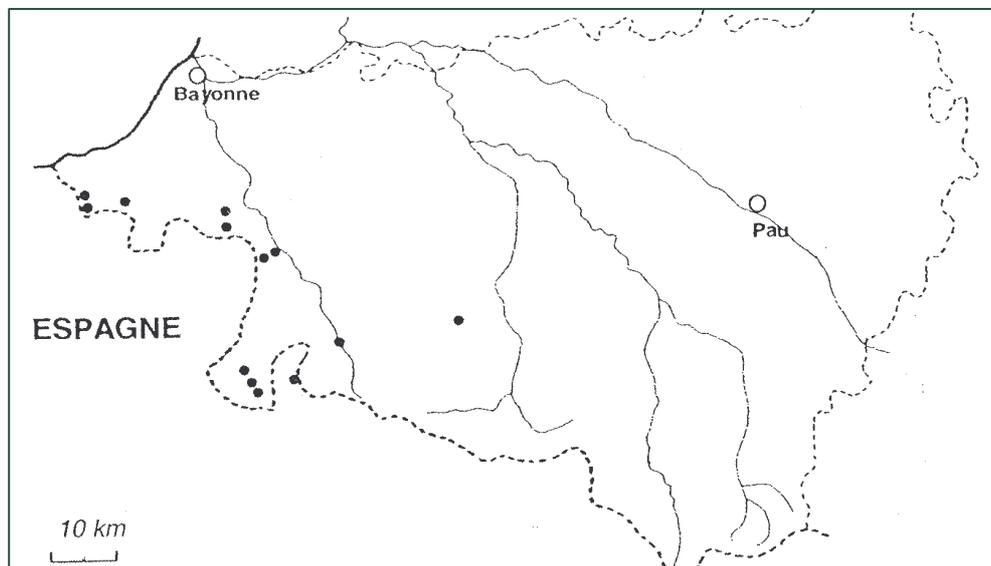


Figure 64 : Carte de répartition des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. au Pays Basque ; ● stations de gamétophytes indépendants (D'après Blanchard *et al.*, 2003).

3.5.3.2 Comparaison des paramètres environnementaux enregistrés dans le Massif Armoricaïn avec ceux du Pays Basque et des Vosges

Le diagnostic écologique établi dans le Massif Armoricaïn s'applique à la mise en évidence de nouvelles stations de *Trichomanes speciosum* Willd. au Pays Basque. Les caractéristiques environnementales des stations doivent donc être identiques dans les deux régions biogéographiques. Dans les stations du Pays Basque, le pH des pluvio-lessivats, le taux d'humidité atmosphérique, l'éclairement et la température sont mesurés au mois de juillet

2002 (**tableau XLIII**). Comme dans les stations armoricaines, le pH des pluviollessivats ($7 \pm 0,5$) est quasi invariable. Le taux d'humidité atmosphérique dans les placettes à sporophytes est de $\mu_S = 54,68 \pm 5,2 \%$ ($\alpha=0,05$). Il n'est pas significativement différent ($t = 1,5 < 2,16$, $\alpha=0,05$) du taux moyen enregistré dans les stations de gamétophytes indépendants, $\mu_G = 57,21 \pm 1,8 \%$ ($\alpha=0,05$). Dans le Massif Armoricain comme au Pays Basque, le taux d'humidité atmosphérique enregistré au thermo-hygromètre des stations est de l'ordre de 55 à 61%.

Tableau XLIII : Valeurs des paramètres environnementaux relevées en juillet 2002 dans des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. du Pays Basque (G: station de gamétophytes indépendants ; S : station à sporophytes et gamétophytes ; S* : station à sporophytes atypiques)

Commune	Lieu-dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	pH	Eclairement ($\mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$)	Humidité relative (%)	Température (°C)
Itxassou	<i>Laxia 1</i>	S	7	7,956	51,1	24,4
	<i>Laxia 2</i>	S	6	6,66	50,5	23,8
Bidarray	<i>Bastan 1</i>	S	7	3,24	60	22,5
	<i>Bastan 2</i>	S *	7	1,656	58	22
	<i>Bastan 3</i>	G	7	0,54	59,6	21,6
	<i>Bastan 4</i>	G entrée de grotte	7	0,9	59	28
		G au fond de grotte	7	0,54	56,3	26
		G fond de grotte	7	0,072	56	26
Sare	<i>Hirruetako erreka</i>	G	7	1,08	53,2	23
Urrugne-Ascaïn	<i>Larrungo erreka</i>	S	7	2,7	53,8	23,3
		G	7	0,9	53,5	23,6
Biriatoú	<i>Lancette</i>	G	7	1,26	57,6	23,6
	<i>Lizarlan</i>	G	7	0,576	62,3	24,1
Aldudes	<i>Hayra</i>	G	7	0,486	55,7	23,1

Pour la température, comme dans le Massif Armoricain, aucune différence significative n'est mise en évidence ($t = 0,1 < 2,16$; $\alpha=0,05$) entre la moyenne des valeurs enregistrées dans les stations où se développent des sporophytes, $\mu_S = 23,2 \pm 1,2^\circ\text{C}$ ($\alpha=0,05$), et la moyenne des stations de gamétophytes indépendants, $\mu_G = 23,1 \pm 0,64^\circ\text{C}$ ($\alpha=0,05$).

En ce qui concerne les conditions lumineuses régnant dans les stations basques du *Trichomanès* remarquable, la densité de flux de photons enregistrée au sein des populations comprenant des frondes est en moyenne $\mu_S = 4,47 \pm 2,81 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$) avec un maximum de $7,96 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ dans la station la plus remarquable du *Laxia* et un minimum de $2,7 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ dans la vallée de *Larrungo erreka*. Dans la vallée du Bastan, la densité de flux de photons mesurée est de $3,24 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ au niveau des frondes atypiques. Dans les stations de gamétophytes indépendants, la moyenne de la densité

de flux de photons est de $\mu_G = 0,65 \pm 0,21 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$) avec un minimum de $0,072 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ enregistré dans la vallée du *Bastan* et un maximum, dans la vallée de la *Lancette*, de $1,26 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$. Les éclairagements moyens enregistrés dans les stations à sporophytes et celles à gamétophytes indépendants diffèrent de façon très significative ($t = 4,77 > 2,16$; $\alpha=0,05$) tel que dans les stations armoricaines.

Dans les Vosges du Nord, les quatre principaux paramètres environnementaux (pH des pluvio-lessivats, taux d'humidité atmosphérique, température, éclairagement) sont enregistrés dans les cinq stations de gamétophytes indépendants (**tableau XLIV**).

Tableau XLIV : Valeurs des paramètres environnementaux relevés en juillet 2002 dans des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. des Vosges du Nord (G : station de gamétophytes indépendants)

Commune	Lieu-Dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	pH	Eclaircement ($\mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$)	Taux d'humidité atmosphérique (%)	Température (°C)
Saverne	<i>Saint Vit</i>	G (entrée de grotte)	6	2,34	57	22,8
		G (milieu de grotte)	7	0,72	59	22,5
		G (fond de grotte)	7	0,126	60,2	22,2
Phalbourg	<i>Près de la grotte des amoureux</i>	G	6	2,052	60,1	24,5
Eckartswiller	<i>Près de la grotte des amoureux</i>	G	7	0,252	57,5	24,5
La Petite Pierre	<i>Petite Pierre</i>	G	7	0,27	55,7	24,6
Neuwiller-lès-Savernes	<i>Près de Kohltalerhof</i>	G	7	0,306	59,3	23,4

La densité moyenne de flux de photons mesurée est $0,56 \pm 0,4 \mu\text{moles.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ ($\alpha=0,05$), la température moyenne de $23,5^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ($\alpha=0,05$), le taux d'humidité atmosphérique moyen est de $58,4 \pm 1,7 \%$ ($\alpha=0,05$) et le pH des pluvio-lessivats est de l'ordre de 6,5 à $7 \pm 0,5$. L'analogie entre les caractéristiques environnementales des stations vosgiennes de *Trichomanes speciosum* Willd. est ainsi établie par rapport à celles des stations du Massif Armoricaïn et du Pays Basque. Les caractéristiques écologiques observées dans le Massif Armoricaïn, le Pays Basque et les Vosges sont similaires.

4 DISCUSSION PARTIELLE

1/ L'analyse de la répartition actualisée des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn révèle une concentration remarquable des populations de la fougère dans le Morbihan, autour des villes de Pontivy et de Ploërmel. Elle corrobore en cela la carte dessinée par J. Moisan dans les années 50, époque à laquelle, premier observateur d'une population de frondes dans le puits du lycée agricole de *La Touche* à Ploërmel, il effectue une prospection systématique des puits alentours. Dans ce même département du Morbihan, l'effort particulier de prospection, mené antérieurement et plus encore après le démarrage de la présente étude par deux botanistes locaux, G. Rivière et Y. Le Cœur, explique la progression rapide des connaissances sur la chorologie de la fougère. Cependant, un biais en résulte : la prospection n'atteint jamais une telle intensité dans aucun des autres départements inclus dans les limites du Massif Armoricaïn.

Néanmoins, par l'information relative à la mise en place par le Conservatoire Botanique National de Brest, du programme d'étude des populations armoricaines de *Trichomanes* remarquable initié fin 2001, la prospection, la collecte et la transmission des données de terrain se sont considérablement dynamisées sur l'ensemble du Massif Armoricaïn. Ainsi, avec le réseau des nombreux botanistes collaborateurs du Conservatoire Botanique National de Brest, les données armoricaines sur la répartition de *Trichomanes speciosum* Willd. sont progressivement centralisées, mises à jour et améliorées. Depuis le début du programme, cent trois populations de la fougère sont ainsi recensées, portant leur nombre à 165. Si les stations découvertes sont en très grande majorité composées de gamétophytes indépendants, il faut signaler 3 nouveaux puits à l'intérieur desquels la fougère développe des frondes (*Roc Brien*, Ploërmel ; *Kerhoh* et *Kercloarec*, Melrand). Par ailleurs, de petites frondes d'une dizaine de centimètres sont de nouveau décelées dans un puits où l'espèce était déclarée éteinte, sous forme de sporophytes au moins (*Le Cleuziou*, Lanvégen). Ceci met en valeur l'importance du suivi des stations pour l'actualisation des données.

2/ La mise au point d'un diagnostic écologique, qui résulte de la synthèse des données géomorphologiques, floristiques et environnementales collectées dans les stations du Massif Armoricaïn, permet d'orienter les prospections vers des sites potentiellement favorables à la présence de la fougère, sur une large échelle géographique, dans d'autres régions françaises. C'est ainsi qu'au Pays Basque, non seulement une nouvelle station de sporophytes est

inventoriée, mais aussi 9 stations de gamétophytes indépendants dont 8 en France et 1 en Espagne. Ces informations corroborent les résultats obtenus dans le Massif Armoricaïn, qui montrent que les populations de gamétophytes indépendants (128 stations armoricaines) de *Trichomanes speciosum* Willd. présente une aire de répartition nettement plus large que les stations à sporophytes (37 stations armoricaines).

La mise en évidence de nouvelles stations signalées sur un laps de temps relativement bref est particulièrement enthousiasmante. Malheureusement, il ne faut pas perdre de vue qu'une donnée essentielle du recensement actualisé de la fougère est l'extinction catastrophique des populations armoricaines, en particulier des stations à sporophytes localisées dans les puits. Ainsi, depuis le dernier inventaire de 1995, 14 stations se sont éteintes suite à l'abandon, la fermeture ou la destruction des puits. C'est par exemple le cas à *Manelan* ou à *Nenez* sur la commune de Melrand (Morbihan). Il faut estimer que le nombre de puits abritant des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. a chuté d'environ 80% en 50 ans.

Pour les 35 populations résiduelles de sporophytes qui croissent dans les puits, la possibilité de perdurer en l'état actuel semble compromise. En effet, pour près d'un tiers des populations, la couleur marron et l'aspect sublétal étioilé et déshydraté des frondes présagent une extinction à court terme. Dans 9 puits seulement, plus d'une centaine de frondes vigoureuses sont comptabilisées. De plus, les populations de gamétophytes indépendants, caractérisées par des recouvrements de faible importance (catégorie 1, 1 à 10 coussins épars de 1 cm² chacun, et catégorie 2, 11 à 50 coussins épars de 1 cm²), connaissent des vagues d'extension puis de régression au cours du temps. Ceci révèle la fragilité des stations à petites surfaces de gamétophytes indépendants en relation avec des conditions environnementales fluctuantes. L'ensemble des résultats chorologiques conduit à conclure que, même si les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. ne sont pas rares, l'espèce n'est pas abondante. Son maintien durable, sous forme de sporophytes mais aussi de gamétophytes, n'est pas assuré.

3/ L'actualisation des données chorologiques montre que, dans le Massif Armoricaïn, les deux tiers des stations de *Trichomanes* remarquable sont recensées dans des puits. C'est dans ces édifices que se développent quasiment toutes les populations de frondes adultes. Au contraire, en milieu naturel, la fougère bien représentée, ne se présente quasi exclusivement que sous la forme de gamétophytes indépendants (exceptées 2 stations forestières).

4/ L'estimation de l'abondance des gamétophytes indique que, en moyenne, les recouvrements sont plus denses dans les habitats anthropisés (catégorie d'abondance 3) qu'en milieu naturel (catégorie d'abondance 2). Les larges surfaces de gamétophytes indépendants se développent donc de façon privilégiée dans les puits et les autres habitats anthropisés, tels que la carrière de Glénac (Morbihan) ou le tunnel du Château de Pontivy (Morbihan). De tels habitats offrent en effet presque toujours de grandes parois favorables où la concurrence végétale est limitée de la même façon que dans les grottes littorales, habitat naturel cette fois, qui constitue 77% des stations de catégorie d'abondance 3. Mais, en milieu forestier, où se trouve la majorité des stations de gamétophytes indépendants, c'est la catégorie d'abondance 2 qui est la plus fréquemment relevée : dans 53% des stations en affleurements et en chaos rocheux, les populations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. se présentent sous la forme de coussins de quelques centimètres carrés.

5/ Les habitats des gamétophytes et des sporophytes peuvent se discriminer sur la base de deux paramètres environnementaux particuliers, le taux d'humidité atmosphérique et l'éclairement, comme le prouvent les résultats. Des valeurs saturantes du taux d'humidité atmosphérique sont relevées, plus élevées dans les stations à sporophytes, où une brumisation permanente émane des cours d'eau systématiquement présents. Sur les parois à gamétophytes indépendants, des pluvio-lessivats sont abondants mais ils s'écoulent de façon transitoire.

Le suivi annuel de la densité de flux de photons montre que les conditions d'éclairement permettent de distinguer très significativement deux types les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. Ainsi, l'éclairement dans les stations où la fougère développe des frondes est constamment de l'ordre de 10 fois plus intense que dans celles qui abritent uniquement des gamétophytes indépendants. La capacité des gamétophytes à se développer dans des sites où la quantité de lumière disponible est extrêmement faible, en moyenne de $0,4 \mu\text{mol.m}^{-2} \text{sec}^{-1}$, est ainsi vérifiée (Rumsey *et al.*, 1998 ; Johnson *et al.*, 2000). L'emploi d'une lampe torche s'est d'ailleurs souvent avérée nécessaire pour distinguer les filaments verts dans la quasi-pénombre des stations. Au Pays Basque comme dans les Vosges du Nord, les mesures de densité de flux de photons confortent les résultats armoricains.

Même lorsqu'ils partagent le même habitat anthropisé, la différence d'exigence des sporophytes et gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. vis à vis de la lumière se manifeste visuellement par l'étagement caractéristique le long des parois internes des puits.

Les frondes occupent toujours la partie supérieure de la paroi – variable selon l'architecture du puits – au-dessus d'une zone occupée par les gamétophytes qui peuvent coloniser les parois jusqu'à 1 à 3 m plus en profondeur. Les mesures ponctuelles d'éclairement effectuées dans les puits montrent qu'il s'agit bien d'une ségrégation par la lumière : les sporophytes bénéficient d'un éclairement en moyenne 6 fois supérieur à celui reçu par les gamétophytes.

Parmi les principales composantes de l'environnement, la lumière s'impose donc comme le paramètre le plus étroitement corrélé à la présence des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. L'exemple exceptionnel de la station de *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor) est particulièrement éloquent : l'éclairement maximal reçu par la population de la fougère correspond à la période de l'année où le couvert végétal est le plus réduit, c'est à dire de janvier à avril. Le maximum est atteint lorsque les arbres n'ont pas encore pleinement développé leurs feuilles ce qui permet à la lumière de pénétrer jusque dans les strates inférieures de la forêt. De telles arrivées de lumière, saisonnières et ponctuelles dans la journée, semblent indispensables au développement des sporophytes et à leur maintien. L'historique de la forêt de *Kerlenevez* confirme l'hypothèse d'une liaison étroite entre l'intensité de l'éclairement suffisante et le développement sporophytique : les propriétaires relatent en effet que la tempête qu'a connue la France en 1999 a causé la chute d'arbres là où sont aujourd'hui observées des frondes du *Trichomanes* remarquable. Des ouvertures se sont ainsi créées dans un couvert végétal très dense. Coïncidant avec l'apport supplémentaire de lumière dans les strates basses de la végétation, la présence de coussins de gamétophytes a sans doute conduit à l'émergence des frondes du *Trichomanes speciosum* Willd. Les trois placettes où des sporophytes se développent, sont effectivement situées de façon systématique là où des arbres sont tombés lors de la tempête. Ceci explique d'ailleurs la découverte très récente (2002) de ces frondes, de morphologie atypique, forcément juvéniles puisque la station avait été prospectée auparavant, sans succès.

L'effet de la trouée de lumière sur le développement des sporophytes évoqué à propos du *Trichomanes* remarquable peut être extrapolé à une autre fougère, *Hymenophyllum tunbrigense* L., de la même famille des Hyménophyllacées. En forêt du Cranou (Finistère), des frondes de l'Hyménophylle de Tunbridge (**figure 65**) sont observées en février 2004, le long du talus d'un fossé encaissé suite à la réalisation d'une coupe d'éclaircie (**figure 66**). Une recherche minutieuse de l'espèce avant travaux (Pasqualini M., données non publiées, 2000) s'était révélée négative.



Figure 65 : Population d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. qui s'est développée à l'endroit de la coupe d'éclaircie



Figure 66 : Parcelle de la forêt du Cranou ayant subi une coupe d'éclaircie

6/ L'intérêt particulier porté à la description des habitats forestiers de *Trichomanes speciosum* Willd. se justifie par la rareté des stations où se développent des sporophytes dans le Massif Armoricaïn. Les résultats établissent nettement l'existence de deux grands types d'habitats forestiers. D'une part (type I), des affleurements rocheux, essentiellement sous couvert de hêtraie, chênaie-érablaie, chênaie acidiphile ou encore de chênaie-hêtraie-chataîgneraie où la fougère est confinée au fond de fissures situées sous des surplombs en auvent. D'autre part, (type II), des chaos rocheux sous couvert de hêtraie-chêne ou chênaie acidiline, caractérisés le plus souvent par la présence d'un cours d'eau, où la fougère colonise les flancs ombragés de blocs rocheux plus ou moins volumineux. Or, respectivement, les habitats de type affleurements (type I), n'abritent exclusivement que des populations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. tandis que les habitats de type chaos rocheux (type II), peuvent aussi abriter des populations de la fougère où se développent des frondes.

7/ La composition des cortèges bryologiques en association avec la fougère indique que les gamétophytes du Trichomanès remarquable peuvent se développer sur des substrats plus acides que ne le peuvent les populations à sporophytes. Au sein des affleurements rocheux, la présence de Bryophytes majoritairement cryophiles mésothermes implique une tolérance des gamétophytes à une fraîcheur constante. Vis à vis de l'humidité, la comparaison des deux différents cortèges de Bryophytes associés respectivement aux stations d'affleurement rocheux ou à celles des chaos rocheux amènent à des conclusions analogues : dans les affleurements, les Bryophytes sont majoritairement mésophiles tandis que dans les stations en

chaos rocheux, incluant les deux populations à sporophytes, elles sont nettement hygrophiles. Corrélativement d'ailleurs, un cours d'eau est le plus souvent présent dans les stations de chaos rocheux où se développent des sporophytes. De même, les enregistrements permanents par thermo-hygrographes montrent nettement que la placette à sporophytes de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem) bénéficie d'une ambiance plus humide que la placette à gamétophytes indépendants. Les phases transitoires de sécheresse supportées par les gamétophytes indépendants dans les stations d'habitat forestier, au niveau d'affleurements dépourvus de cours d'eau, ne semblent pas pouvoir être tolérées par les sporophytes qui exigent une hygrométrie atmosphérique élevée, liée en général à la proximité d'un cours d'eau générant une brumisation. Ainsi, à *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem), les frondes qui se développent près de l'eau, sont accompagnées d'un cortège bryologique hygrophile à subaquatique.

Concernant les conditions lumineuses, les Bryophytes du cortège associées aux stations d'affleurements rocheux et accompagnant les gamétophytes indépendants, sont majoritairement sciaphiles à lucifuges. Elles sont indicatrices d'habitats qui ne bénéficient que d'un faible éclaircissement. Au contraire, dans les chaos rocheux, où se développent des sporophytes et des gamétophytes, le cortège associé au *Trichomanes speciosum* Willd. est constitué de Bryophytes en majorité sciaphiles préférantes. Ceci, ajouté aux résultats du suivi sur une année des paramètres environnementaux, confirme encore que l'éclaircissement joue de toute évidence un rôle de facteur limitant pour le développement des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd.

8/ De façon concordante, tous les résultats tendent à prouver que les exigences des sporophytes du *Trichomanes* remarquable sont plus importantes que celles des gamétophytes que ce soit vis à vis de la nature du substrat ou des températures, mais surtout vis à vis du taux d'humidité atmosphérique et plus encore de l'éclaircissement. L'ensemble des conditions favorables à la croissance des sporophytes semble être réuni dans certains des habitats seulement : des chaos rocheux situés à proximité immédiate d'un cours d'eau et sous couvert forestier laissant passer la lumière en hiver, mais assurant une protection contre l'éclaircissement excessif en été. Des stations de gamétophytes indépendants situées dans ce type d'habitat, comme celles du *Gouffre* à Huelgoat, du *Stangala* à Ergué-Gabéric ou encore de *Pontou-Mein* à Kergrist-Moëlou, pourraient donc être *a priori* des sites présentant la potentialité de voir émerger des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. Toutefois, la lumière trop faible et

la sécheresse transitoire, semblent être les facteurs qui limitent le développement de frondes. C'est probablement la raison de l'extrême rareté des stations où se développent des frondes en milieu naturel armoricain : elles doivent présenter simultanément toutes les exigences environnementales requises.

9/ Les gamétophytes de la fougère sont capables de coloniser des substrats où la couche de matière organique est le plus souvent inexistante : ils se comportent comme des végétaux pionniers. Dans les situations les plus extrêmes comme dans le fond des fissures des affleurements rocheux, les gamétophytes forment des recouvrements où même les Bryophytes ne peuvent pas se développer. Lorsque la fissure s'élargit vers l'extérieur, la couche de matière organique s'épaissit et les Bryophytes pionnières telle que *Pseudotaxiphyllum elegans* (Brid.) Iwats. rentrent alors en concurrence avec les gamétophytes du Trichomanès remarquable. Lorsque la matière organique est suffisamment épaisse, les gamétophytes de la fougère ne sont visiblement plus compétitifs et sont supplantés par des Bryophytes climaciques. Dans les stations de chaos rocheux où *Trichomanes speciosum* Willd. vit à flanc de blocs, les gamétophytes colonisent des parois en surplombs du cours d'eau ou des abris sous roche. Dans cette configuration, ils se trouvent souvent en concurrence avec *Heterocladium heteropterum* (Schwaegr.) Br. Eur. var *flaccidum*. Br. Eur. De ce fait, les populations de gamétophytes à flanc de blocs rocheux sont moins mono-spécifiques que ceux du fond des fissures.

L'analyse chorologique et écologique prouve l'existence de deux types d'habitats : le premier accueille à la fois des gamétophytes et des sporophytes alors que le second ne convient strictement qu'aux gamétophytes indépendants. Ces derniers pourraient être confinés en situation de refuge extrême dans des habitats où règnent une pénombre particulièrement intense, des températures fraîches et où la sécheresse peut s'installer transitoirement, une configuration intolérable pour la survie des sporophytes. L'aire de répartition plus large des gamétophytes du Trichomanès remarquable par rapport à celle des sporophytes de la fougère s'explique alors par la simple capacité des gamétophytes à coloniser une plus large gamme d'habitats. Par ailleurs, le nombre important de micro-stations dispersées de gamétophytes correspond peut-être à la situation résiduelle d'une distribution passée plus large du taxon, précédant par exemple les changements climatiques du Tertiaire. Les températures ayant diminué de même que le régime des précipitations, les conditions se seraient retrouvées trop drastiques pour les sporophytes qui auraient régressé pour ne se maintenir que dans un certain

nombre de stations caractérisées par des conditions environnementales compatibles avec leurs exigences. Les gamétophytes auraient pu se maintenir malgré des conditions environnementales plus extrêmes grâce à de possibles adaptations physiologiques dont ne bénéficieraient pas les sporophytes. Dans le Massif Armoricain, la fougère s'installe dans les puits aménagés par l'homme et dans certains d'entre eux, elle trouve les conditions environnementales requises pour le développement de frondes adultes.

5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE

- Les gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. présentent une aire de répartition armoricaine plus grande que celle des sporophytes.
- Dans le Massif armoricain, les gamétophytes indépendants colonisent une plus grande diversité d'habitats que les sporophytes.
- L'établissement de la diagnose écologique des stations montre que la présence de frondes est également liée à un taux d'humidité élevé entretenu, en milieu naturel, par la présence d'un cours d'eau et, en milieu anthropisé, par l'eau stagnante dans les puits. Dans les stations de gamétophytes indépendants, les pluvio-lessivats peuvent être abondants mais ils sont transitoires.
- L'étude comparative des conditions environnementales entre stations de gamétophytes indépendants et stations à sporophytes montrent que le développement de frondes adultes requiert un éclairage minimal qui fait défaut dans la plupart des stations où seuls des gamétophytes sont recensés.

IV/ BIOLOGIE ET ECOPHYSIOLOGIE

IV/ BIOLOGIE ET ECOPHYSIOLOGIE	143
1. ENVIRONNEMENT ET ADAPTATIONS MORPHOFONCTIONNELLES	146
2 METHODES	148
2.1 ANALYSE MORPHOFONCTIONNELLE DES STRUCTURES REPRODUCTRICES	148
2.1.1 Gamétophytes	148
2.1.2 Sporophytes	149
2.2 CARACTERISTIQUES CYTO-HISTOLOGIQUES	151
2.2.1 Cuticule et stomates	151
2.2.2 Trichomes	152
2.3 ECOPHYSIOLOGIE	153
2.3.1 Influence de l'éclairement sur la morphogénèse des sporophytes	153
2.3.1.1 Formation des sporophytes	153
2.3.1.2 Croissance des sporophytes	155
2.3.2 Capacités photosynthétiques des gamétophytes et des sporophytes	155
2.3.2.1 Teneur en chlorophylle a et b	155
2.3.2.2 Mesure d'intensité photosynthétique	156
2.3.3 Test de la tolérance à la sécheresse et aux conditions halophiles	156
2.3.3.1 Test de la tolérance à la sécheresse	156
2.3.3.2 Test de la tolérance aux conditions halophiles	157
3 RESULTATS	158
3.1 MODE DE REPRODUCTION DES GAMETOPHYTES ET DES SPOROPHYTES	158
3.1.1 Gamétophytes	158
3.1.1.1 Multiplication végétative	158
3.1.1.2 Reproduction sexuée	158
3.1.2 Sporophytes	160
3.1.2.1 Production de nouvelles frondes	160
3.1.2.2 Production de spores	161
3.1.2.3 Viabilité et pouvoir germinatif des spores	162
3.2 CARACTERISTIQUES CYTO-HISTOLOGIQUES	164
3.2.1 Cuticule et stomates	164
3.2.2 Trichomes	166
3.2.2.1 Structure	166

3.2.2.2 Fonction	169
3.3 ECOPHYSIOLOGIE	170
3.3.1 Génèse des sporophytes en fonction de l'éclairement	170
3.3.2 Croissance des sporophytes en fonction de l'éclairement	171
3.3.3 Capacités photosynthétiques en fonction des conditions lumineuses	173
3.3.3.1 Teneur en chlorophylles	173
3.3.3.2 Intensités de photosynthèse	174
3.3.4 Tolérance à la sécheresse et aux conditions halophiles	176
3.3.4.1 Tolérance à la sécheresse	176
3.3.4.2 Tolérance aux conditions halophiles	176
4 DISCUSSION PARTIELLE	178
5 PRINCIPALES CONCLUSIONS AU CHAPITRE	183

1 ENVIRONNEMENT ET ADAPTATIONS MORPHOFONCTIONNELLES

Les êtres vivants adoptent une grande variété de morphologies ou de phénotypes qui correspondent à l'expression d'autant de génotypes, modulée par les interactions des organismes avec leur environnement (Barbault, 1995). Les forces sélectives s'exercent sur les caractères morphologiques des individus ainsi que sur leur physiologie. Les grandes fonctions vitales des êtres vivants sont ainsi en adéquation avec leur habitat. La pression de sélection peut être forte pour les espèces végétales qui, relativement fixes, ne peuvent fuir un environnement changeant dans lequel elles ne sont plus adaptées. La définition d'un plan de conservation pour une espèce impose donc de réunir les caractéristiques morphofonctionnelles concernant son ou ses mode(s) de reproduction, sa biologie et ses exigences écophysiologicals (Barbault, 1995). Les mesures de gestion doivent en effet être respectueuses des besoins fondamentaux de l'espèce et de ses potentialités pour qu'elle puisse continuer à accomplir son cycle de vie ou le recouvrer.

Il importe donc d'appréhender les particularités du cycle de vie du *Trichomanes* remarquable dans le Massif Armoricain, parfois complet, le plus souvent en habitat anthropisé, parfois réduit à la seule génération gamétophytique, en milieu anthropisé et naturel. L'analyse des structures de reproduction de la fougère est nécessaire. En effet, l'absence de frondes dans les stations de gamétophytes indépendants pourrait être liée à un défaut de la reproduction sexuée. Les structures indispensables à la réalisation de la fécondation, archégonies et anthéridies, sont donc recherchées et leur fonctionnalité est étudiée. La présence de "microsporophytes" de taille inférieure à un centimètre tels que ceux décrits dans les Vosges du Nord en France (Jérôme *et al.*, 1994) et en Angleterre (Rumsey *et al.*, 1998) est recherchée au sein des gamétophytes associés à des frondes adultes et dans les filaments de gamétophytes indépendants. En ce qui concerne les sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., la formation de nouvelles frondes par allongement du rhizome est suivie. Par ailleurs, la production de spores, leur viabilité et leur capacité à germer sont étudiées qualitativement et quantitativement.

La dualité des habitats dans lesquels se développent soit des gamétophytes indépendants, soit des sporophytes en association avec des gamétophytes, correspond à des exigences écologiques propres à chacune des formes de la fougère (cf. chapitre III). Les deux générations du *Trichomanes* remarquable ayant des exigences environnementales différentes,

des adaptations structurales susceptibles de les caractériser selon leur biotope sont recherchées aux niveaux cytologiques et histologiques.

L'une des principales contraintes pour un végétal terrestre est de limiter les pertes hydriques. Si l'atmosphère n'est pas saturée en humidité, il perd l'eau contenue dans ses tissus par transpiration. La cuticule, qui recouvre la face externe de l'épiderme des végétaux, consiste en une pellicule de nature lipidique composée d'un ensemble de cutine, cires et triterpènes (Laval-Martin et Mazliak, 1995). Elle limite les échanges entre la plante et l'atmosphère et permet notamment de freiner les échanges d'eau. L'imperméabilité à l'eau est liée à la nature chimique, mais aussi à l'épaisseur de la cuticule. Généralement, la transpiration cuticulaire est faible, de l'ordre de 10% de la transpiration totale (Heller *et al.*, 1986). L'essentiel de la transpiration ainsi que les échanges gazeux, oxygène et dioxyde de carbone, se font par des stomates. Il s'agit de pores à ouverture contrôlée, situés le plus souvent en majorité sur la face inférieure de l'épiderme. Ils permettent les échanges entre les atmosphères extérieure et intérieure de la plante via la chambre sous-stomatique (Laval-Martin et Mazliak, 1995). Les stomates sont composés de deux cellules de garde, placées en regard l'une de l'autre ménageant entre elles une ostiole (Heller *et al.*, 1986). La cuticule et les stomates sont étudiés chez les gamétophytes et les sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.

Une autre contrainte majeure pour les végétaux est de puiser l'eau nécessaire à leur nutrition ainsi qu'à la compensation des pertes par transpiration et au maintien du potentiel hydrique. L'appel d'eau créé par la transpiration permet l'absorption au niveau des racines de l'eau et des substances minérales dissoutes, nécessaires au maintien et à la croissance des espèces végétales. Chez *Trichomanes speciosum* Willd., la présence de trichomes particuliers est mise en évidence sur les sporophytes. Chez les végétaux, de telles structures peuvent avoir des rôles aussi variés que celui de cellules d'absorption (Flores, 1975), de sécrétion (Choi *et al.*, 2001) ou de protection (Lai *et al.*, 2000). L'aspect morphofonctionnel des trichomes des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. est analysé.

Le suivi des paramètres environnementaux ayant révélé que les conditions lumineuses semblent influencer le développement de frondes de *Trichomanes* remarquable, des cultures contrôlées de gamétophytes indépendants sont mises en œuvre afin de tester les exigences écophysiologicals de la fougère pour accomplir son cycle de vie. L'hypothèse selon laquelle la disponibilité en lumière est un des facteurs environnementaux limitant la croissance des

frondes est donc testée *in vitro* ainsi qu'*in situ*, dans une station offrant naturellement une configuration expérimentale appropriée. Les végétaux ayant besoin d'énergie lumineuse pour réaliser la photosynthèse, la capacité des gamétophytes à se maintenir là où l'éclairement est extrêmement faible pourrait-être le fait d'une ou de plusieurs adaptation(s) physiologique(s). La teneur en chlorophylles des deux formes de la fougère est évaluée. Par ailleurs, l'intensité de la photosynthèse des gamétophytes et des sporophytes en fonction des conditions lumineuses est comparée. Des tests de viabilité sont effectués afin de vérifier si les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont réellement tolérants à une plus large gamme de conditions environnementales que les sporophytes.

2 METHODES

2.1 ANALYSE MORPHOFONCTIONNELLE DES STRUCTURES REPRODUCTRICES

2.1.1 Gamétophytes

Des prélèvements non destructifs de gamétophytes indépendants ou se développant auprès de sporophytes sont effectués ponctuellement dans l'ensemble des stations armoricaines du *Trichomanes* remarquable. La taille des échantillons est modulée en fonction des abondances, depuis quelques filaments pour les plus faibles jusqu'à 1 à 2 cm² pour les plus importantes. De plus, des gamétophytes sont prélevés régulièrement dans les 13 stations suivies pendant une année (cf. chapitre III). Une partie des échantillons fraîchement récoltés fait l'objet d'observations directes sous la loupe binoculaire ou après montage à l'eau entre lame et lamelle, en microscopie optique.

Pour des investigations par microscopie électronique à balayage (MEB), une partie des échantillons est immédiatement immergée au moment du prélèvement dans divers liquides fixateurs : soit du glutaraldéhyde à 4% en solution aqueuse (pH 7, 4 h à 4°C à l'obscurité), soit une solution aqueuse (pH 7) de formol à 4% ou encore de l'éthanol 50 ou 70. C'est la fixation par l'éthanol 70 qui s'avère la technique optimale de préservation des structures. Après lavage dans l'eau distillée, les échantillons sont progressivement déshydratés par des bains successifs d'éthanol de degré croissant (70, 80, 90) puis 3 bains renouvelés de 20 minutes dans l'alcool 100 (Gabe, 1968) et conservés à 4°C dans l'éthanol absolu. Les gamétophytes sont alors traités classiquement suivant la méthode du "point critique" (Guillaumin, 1979). Après

métallisation à l'or (appareil de pulvérisation JEOL JFC 1100), les échantillons sont examinés à l'aide d'un Microscope Electronique à Balayage HITACHI S-3200N.

Les structures de reproduction végétative sont recherchées par examen sous la loupe binoculaire, par microscopie optique et par MEB pour caractériser la production de propagules. Des comparaisons sont opérées entre les deux catégories d'échantillons de gamétophytes, associés à des sporophytes ou indépendants. Les structures reproductrices mâles et femelles des gamétophytes sont recherchées, de même que la présence éventuelle de micro-sporophytes imperceptibles à l'œil nu.

2.1.2 Sporophytes

La capacité de prolifération par la production de frondes des populations de sporophytes est estimée dans les puits par un suivi régulier au rythme d'une visite tous les 3 à 6 mois pendant 3 ans, de janvier 2002 à décembre 2004. Des photographies permettent d'évaluer l'émergence et la croissance de nouvelles frondes en fonction du temps. La station de *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor), une des deux seules stations où se développent des sporophytes en milieu naturel armoricain, fait l'objet d'un suivi photographique mensuel pendant 18 mois.

Par ailleurs, la capacité de multiplication de *Trichomanes speciosum* Willd. par libération de spores est étudiée. Pour cela, dans les puits et en habitat naturel, le développement des involucre et des filaments porteurs des sporanges, est suivi durant 3 années consécutives (2002, 2003 et 2004) avec une attention plus particulière durant les mois de juin à novembre. En effet, d'après la littérature (Prelli, 2002), il s'agit de la période de production et de libération de spores chez *Trichomanes speciosum* Willd. Des spores sont récoltées pour analyse en prélevant quelques frondes au sein de 3 populations localisées dans des puits morbihannais, à *La Villio*, *La Gacilly*, à *Roc Brien*, Ploërmel et à *Saint-Fiacre*, Saint-Barthélemy.

La viabilité des spores est testée par deux techniques complémentaires. La première consiste en des tests de viabilité par coloration au Bleu Evans ou au Rouge Neutre. Avec la mort cellulaire, le plasmalemme n'assure plus sa fonction de barrière sélective et les colorants envahissent le cytoplasme des cellules. Des spores libérées sont prélevées dans les involucre

et des sporanges sont ouverts à l'aide d'une aiguille. Deux lots de spores de 100 unités environ sont traités par immersion (5 minutes) dans une solution aqueuse de Bleu Evans ou de Rouge Neutre. Récupérées à la micro-pipette, les spores, rincées, sont montées à l'eau entre lame et lamelle pour la microscopie optique. La proportion des spores à cytoplasme coloré est estimée par dénombrement.

La deuxième technique est un test au chlorure de 2,3,5 triphényl tétrazolium ou TTC qui consiste à vérifier la viabilité des cellules par leur aptitude à métaboliser le TTC, incolore et hydrosoluble en un produit stable de couleur rouge, le triphényl formozan, sous l'action enzymatique des déshydrogénases cytoplasmiques. D'après le protocole de l'ISTA (1985), des solutions tamponnées (pH 6,5 à 7,5) de TTC à 0,1%, 1% et 5% sont préparées. La solution tampon est réalisée en additionnant 0,363g de KH_2PO_4 dans 40 ml d'eau distillée avec 0,712g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dans 60 ml d'eau distillée. Trois lots de 100 spores sont immergés dans chacune des 3 solutions de TTC. Chaque lot est divisé en 4 sous-lots équivalents et placés à 30°C à l'obscurité totale. Au bout de 12 heures, 24 heures, 48 heures ou 72 heures, les échantillons de spores sont rincés à l'eau distillée et préparés par montage entre lame et lamelle pour la microscopie optique. La proportion des spores colorées, viables, est évaluée par dénombrement.

Afin de tester la capacité de germination des spores, des échantillons sont récoltés tel qu'explicité précédemment. Les spores sont placées dans un sachet fabriqué en papier filtre (Ferdy *et al.*, 1999) et aseptisées (Ford et Fay, 1990) en plongeant les sachets dans un bain d'eau distillée (10 minutes), puis dans une solution aqueuse d'hypochlorite de sodium à 10% sous agitation magnétique (10 minutes). Sous hotte à flux laminaire, chaque sachet est rincé 3 fois dans l'eau distillée renouvelée. L'intérieur du sachet est appliqué délicatement sur le milieu de culture pour y déposer les spores. Le milieu de culture de Murashige & Skoog (MS) (Murashige et Skoog, 1962) solidifié est préparé classiquement à partir de poudre MS commerciale (2,35 g) et de saccharose (15 g) pour 1 litre d'eau distillée (pH 5,6). Après addition de 9 g d'Oxoid No.1 Agar, le mélange est chauffé, stérilisé (15 min à 121°C, 1,05kg/cm²) et coulé en boîtes de Pétri. Après ensemencement, les boîtes, scellées à l'aide d'un film plastique, sont placées en chambre de culture (éclairage 15 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$; photopériode : 16h de jour ; 22°C). La proportion de germination est évaluée au bout de 1, 2 et 3 semaines. En 2004, une seconde méthode de culture est testée. Toutes les conditions identiques par ailleurs, les spores sont placées sur de la fibre de coton synthétique en présence

de milieu Murashige & Skoog liquide (1,652g de poudre commerciale MS de macro-éléments (*macro-salt mixture*) ; 1g de poudre commerciale MS de micro-éléments (*micro-salt mixture*); 7 g de saccharose, 1 litre d'eau distillée).

2.2 CARACTERISTIQUES CYTO-HISTOLOGIQUES

2.2.1 Cuticule et stomates

Des échantillons de filaments gamétophytiques (1 cm² environ) sont collectés dans des stations forestières de *La Chapelle Ruinée* (La Roche-Maurice, Finistère) et de *Kerlez* (Briec, Finistère), dans la grotte littorale de *Golvinog* (Plogoff, Finistère) et les puits de *La Ruaudais* (Saint Nicolas du Tertre, Morbihan) et *Castelgal* (Lignol, Morbihan). De même, une fronde échantillonnée dans le puits de *Castelgal* (Lignol, Morbihan) et une dans celui de *Roc Brien* (Ploërmel, Morbihan) font l'objet d'étude de la cuticule et des stomates. Les échantillons frais sont directement observés sous la loupe binoculaire ou préparés par montage à l'eau entre lame et lamelle pour la microscopie optique. Des échantillons sont fixés selon le protocole précédemment explicité (cf. p. 148), déshydratés jusqu'à l'éthanol absolu et préparés selon les méthodes classiques (cf. p. 148 et 149), pour être ensuite analysés par microscopie électronique à balayage.

Une partie des gamétophytes et sporophytes ainsi préparés sont inclus en paraffine pour la réalisation de coupes histologiques. Pour cela, l'éthanol contenu dans les échantillons est éliminé par 3 bains renouvelés de 30 minutes de Neoclear, solvant de synthèse de la paraffine, miscible à l'éthanol. Les échantillons sont ensuite imprégnés dans la paraffine (58°C ; 2 bains, 16 h puis 4 h). Les blocs de paraffine contenant les échantillons sont débités au microtome en sections sériées de 5 µm d'épaisseur. Les sections obtenues, lissées à chaud sur film aqueux, sont collées sur lame de verre à l'eau albuminée gélatineuse. Après déparaffinage (Neoclear, 2 fois 5 minutes), les préparations sont progressivement réhydratées par immersion dans l'éthanol de degré décroissant (100, 90, 80, 70, 50) puis dans l'eau distillée, pour être colorées.

Les composés lipidiques, en particulier ceux de la cuticule, sont teintés spécifiquement en orange par le Soudan III (Gabe, 1968). Les coupes sériées sont immergées (20 min) dans une solution saturée de Soudan III (1g de poudre de Soudan III dans 5 mL d'éthanol 70 chauffé à 60°C), puis rincées à l'eau distillée. La technique classique de la double coloration par le

Carmin-Vert d'Iode (Gabe, 1968) est également utilisée comme méthode de mise en évidence des différents constituants tissulaires : le Carmin colore en rose les tissus celluloseux, tandis que le Vert d'Iode teinte en vert les tissus lignifiés et en jaune-brun verdâtre, la cuticule et les tissus subérifiés.

La mise en évidence des stomates repose sur la coloration des parois pecto-cellulosiques glycosilées. Les coupes histologiques sont traitées selon la méthode histochimique par l'Acide Periodique-Schiff ou PAS (Gabe, 1968). L'Acide Periodique rompt les liaisons covalentes entre deux fonctions alcool voisines d'un glucopyranose et les oxyde en aldéhydes qui régénèrent la fuschine basique de Schiff rouge vif. Le protocole de coloration (**tableau XLV**) est appliqué aux préparations de gamétophytes et de sporophytes. En parallèle, des témoins négatifs sont réalisés en supprimant l'acide periodique du protocole.

Tableau XLV : Protocole de coloration histochimique par l'Acide Periodique – Schiff

Coloration par l'Acide Periodique - Schiff.
Acide Periodique : 5 min
Eau distillée: 2 x 5 min
Réactif de Schiff: 10 min, à l'abri de la lumière
Eau distillée: 5 min
Eau courante: 5 min x 2
Déshydratation par lavage à l'éthanol
Montage en résine

La mise en évidence des stomates par coloration des pectates des parois épidermiques est également réalisée par coloration au Rouge de Ruthénium. Les préparations histologiques sont plongées (10 min) dans une solution préparée par la dissolution de quelques cristaux de Rouge de Ruthénium dans l'eau distillée juste avant l'emploi. Après rinçage, les préparations sont montées à l'eau glycinée (Gabe, 1968) pour des observations par microscopie optique.

2.2.2 Trichomes

La localisation et l'étude anatomique des trichomes décelés sur les sporophytes sont réalisées à partir de fragments de limbes et de pétiole de frondes et de rhizomes prélevés sur des échantillons morbihannais de *Trichomanes speciosum* Willd. (La Vilio, La Gacilly et Roc

Brien, Ploërmel), sur des frondes de *Trichomanes* remarquable du Pays Basque (juillet 2002) et sur des frondes provenant de différentes stations (non précisées) du Royaume-Uni, fournies par le Jardin Botanique d'Edinburgh. Par ailleurs, l'étude de frondes d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. (*La Chapelle-Ruinée*, La Roche-Maurice, Finistère) et de sporophytes réunionnais de *Trichomanes sp.* et d'*Hymenophyllum sp.*, échantillonnés par V. Boulet du Conservatoire Botanique National de Mascarin (Ile de la Réunion), permettent, par comparaison, d'étendre l'investigation.

Des préparations sont effectuées selon les méthodes exposées ci-avant pour l'examen sous la loupe binoculaire, pour la microscopie optique et la microscopie électronique à balayage. L'existence d'une relation symbiotique des trichomes de *Trichomanes speciosum* Willd. avec des champignons est recherchée. Pour cela, des fragments de frondes fraîchement récoltées sont mis en contact avec du bleu coton 42755 ou bleu d'aniline (Langeron, 1945). En présence de ce composé, les hyphes fongiques se colorent de façon caractéristique en bleu du fait de leurs parois riches en callose, affines du colorant. Pour préciser l'aspect morpho-fonctionnel des trichomes, un montage expérimental simple permet de tester leur capacité d'absorption de l'eau : une goutte de Rouge Neutre (solution aqueuse vitale) est déposée à l'aide d'une micro-seringue au contact de trichomes. Le suivi de l'éventuelle pénétration du colorant dans les vacuoles du trichome, puis dans la plante, est effectué par microscopie optique.

2.3 ECOPHYSIOLOGIE

2.3.1 Influence de l'éclairement sur la morphogénèse des sporophytes

2.3.1.1 Formation des sporophytes

Cinq échantillons de gamétophytes indépendants de 1 cm² sont récoltés dans la station de milieu forestier de la *Chapelle-Ruinée* (La Roche-Maurice, Finistère) et cinq autres dans la grotte de *Golvinog* (côte maritime de Plogoff, Finistère). Ces filaments de prothalle sont mis en culture dans une même armoire thermostatée à la température de 18°C, valeur moyenne enregistrée dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. à sporophytes et à gamétophytes indépendants pendant notre suivi de 12 mois (cf. chapitre III). Deux conditions d'éclairement sont appliquées de façon à recréer d'une part l'éclairement moyen des stations de

gamétophytes indépendants et d'autre part le flux moyen de photons caractéristique des stations où se développent des sporophytes. Dans le compartiment supérieur, un éclairage d'une densité de flux de photons de $4,9 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ est délivré par un tube au néon Gro-lux lumière du jour atténué par une plaque de plexiglas (**figure 67**). Dans le compartiment inférieur, une densité de flux de photons presque 10 fois moindre de $0,54 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$, est obtenue en atténuant l'éclairage par une feuille de papier Whatman. La photopériode est réglée sur 16 heures de jour.

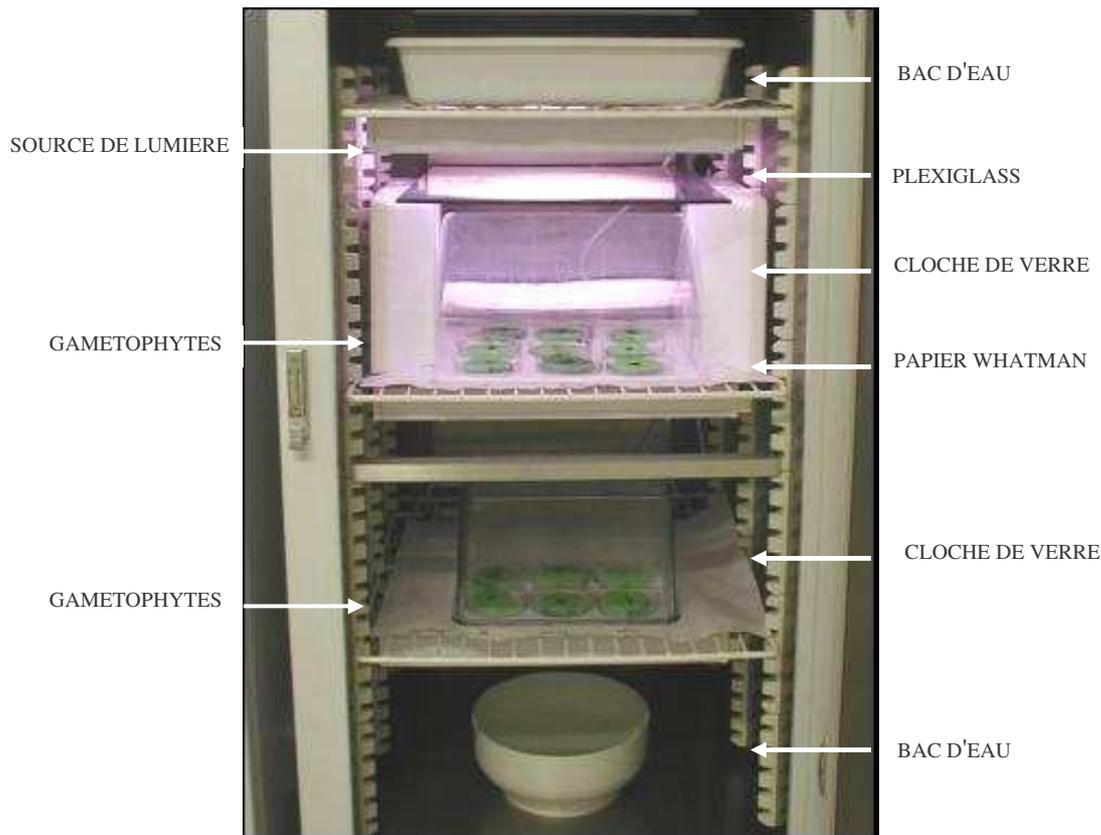


Figure 67 : Système de culture contrôlée de gamétophytes sous deux conditions d'éclairage ($4,9 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ en haut et $0,54 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ en bas. Les gamétophytes sont cultivés sur tissus spongieux imbibés de solution nutritive

Le taux d'humidité atmosphérique est constamment maximisé par la mise en place de cloches de verre sur les gamétophytes cultivés et, en haut et en bas de l'armoire de culture, par deux récipients d'eau s'évaporant librement (**figure 67**). Les échantillons (coussins de 1 cm^2) de gamétophytes indépendants sont placés sur des ronds de tissu synthétique spongieux (Spontex) de 3 mm d'épaisseur, dans des boîtes de Pétri de 8 cm de diamètre. Les gamétophytes sont alimentés par imbibition constante du tissu à l'aide d'une solution nutritive de Murashige et Skoog. L'examen des gamétophytes est effectué selon un rythme hebdomadaire par observation sous la loupe binoculaire.

2.3.1.2 Croissance des sporophytes

A *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor), en milieu naturel, la station de *Trichomanes speciosum* Willd. compte une fronde dont l'axe principal se développe perpendiculairement au substrat et dont le pétiole est aussi long que le limbe. L'hypothèse est posée que la fronde, de morphologie atypique comme l'ensemble des sporophytes de la population, adopte cette position pour recevoir un éclairage maximum. La croissance de la fronde est suivie précisément par une mesure mensuelle de la longueur pendant 12 mois. Simultanément, l'enregistrement de la densité de flux de photons reçue par la fronde est effectué au luxmètre LX-105 Lutron (Bioblock). Ces données sont comparées avec la croissance et l'éclairage reçu par l'ensemble des autres frondes de la placette, qui sont, elles, classiquement plaquées contre le substrat.

2.3.2 Capacités photosynthétiques des gamétophytes et des sporophytes

2.3.2.1 Teneur en chlorophylles a et b

100 mg de gamétophytes indépendants (*Le Saut du Chevreuil*, Perret, Morbihan), 100 mg de gamétophytes associés à des sporophytes (*La Villio*, La Gacilly, Morbihan) et 2 fois 100 mg de sporophytes (*La Villio*, La Gacilly, Morbihan ; *Roc Brien*, Ploërmel, Morbihan) sont analysés pour comparer la teneur en chlorophylles dans les deux générations du *Trichomanès* remarquable. Les mousses, les hépatiques, les insectes et les fragments de substrat rocheux ou terreux sont éliminés des échantillons. Ils sont lavés à l'eau distillée et essorés sur papier absorbant. Le dosage des chlorophylles est effectué à partir d'un extrait acétonique total dilué à 80% selon la méthode Mac Kinney (Mac Kinney, 1941) dont les équations permettent de calculer les concentrations de chlorophylles a et b, avec DO la densité optique à la longueur d'onde (nm) indiquée en indice:

$$\text{Chlorophylle a (mg. L}^{-1}\text{)} = 12,7.\text{DO}_{663} - 2,69.\text{DO}_{645}$$

$$\text{Chlorophylle b (mg. L}^{-1}\text{)} = 22,9.\text{DO}_{645} - 4,68.\text{DO}_{663}$$

Chaque échantillon de gamétophyte ou de sporophyte est broyé dans un mortier contenant 2 mL de mélange acétone-eau (80% - 20%) puis centrifugé (3500 tr/min ; 10 min). Pour chaque extrait, la densité optique (DO) est mesurée par spectrophotométrie aux longueurs d'onde caractéristiques des chlorophylles a et b ($\lambda_1= 645$ nm et $\lambda_2= 663$ nm). Ces données permettent d'évaluer la teneur en chlorophylles dans les 100 mg de matériel végétal, d'après la formule, tirée des équations de Mac Kinney, avec V, le volume de tampon d'extraction ; m, la masse de matière fraîche ; d, le coefficient de dilution :

$$\text{Teneur en chlorophylles}_{(a+b)} = \left[\frac{[C].V}{m} \right].d \text{ où } [C]_{\mu\text{g/mL}} = 20,2 \text{ DO}_{645} + 8,02 \text{ DO}_{663}$$

La comparaison des teneurs en chlorophylles totales des échantillons de gamétophytes et de sporophytes est effectuée sur la base d'un test t de Student (Scherrer, 1984).

2.3.2.2 Mesure d'intensité photosynthétique

L'intensité photosynthétique relative des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. d'une part et des sporophytes d'autre part est appréciée par comparaison de la concentration en dioxygène (O₂) en fonction de l'intensité lumineuse, dans une chambre oxymétrique. La teneur en dioxygène est ainsi enregistrée par une sonde oxymétrique dans une chambre renfermant un échantillon de fronde (*Saint-Barthélémy*, Saint-Fiacre, Morbihan) de 10 cm² environ, découpé finement à la lame de rasoir, et immergé dans un tampon phosphate (pH 6; 0,01 M), en agitation constante, pour éviter les variations de pH. Des éclaircissements d'intensité croissante, depuis 0 jusqu'à 18 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ sont appliqués à l'échantillon. Le même protocole est appliqué avec deux échantillons de 2 cm² de gamétophytes desquels sont préalablement ôtés les Bryophytes en mélange au sein des filaments (*La Chapelle Ruinée*, la Roche-Maurice, Finistère ; *Kerlez*, Briec, Finistère). L'éclaircissement au point de compensation, c'est à dire pour lequel la consommation de dioxygène par respiration est égale à la production de dioxygène par photosynthèse, est analysé pour comparer le métabolisme des gamétophytes et des sporophytes de *Trichomanes* remarquable.

2.3.3 Test de la tolérance à la sécheresse et aux conditions halophiles

2.3.3.1 Test de la tolérance à la sécheresse

Des échantillons fraîchement récoltés de 0,5 cm² de gamétophytes indépendants (*Saut du Chevreuil*, Perret et *Roussimel*, Glénac dans le Morbihan ; *Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem dans les Côtes d'Armor), deux sporophytes de taille adulte (*La Villio*, La Gacilly, Morbihan) et trois sporophytes juvéniles de 1 à 1,5 cm de longueur (*Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor) sont respectivement soumis à la déshydratation en chaleur sèche (30°C en étuve) pendant 5 minutes. Les échantillons visiblement déshydratés sont alors réhydratés par immersion dans un bain d'eau distillée (10 min). La capacité de résistance à la sécheresse des gamétophytes et des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. est testée par le test de la coloration au Rouge Neutre et par le test de viabilité au chlorure de 2,3,5 triphényl tétrazolium (TTC) dont les protocoles sont exposés précédemment.

2.3.3.2 Test de la tolérance aux conditions halophiles

Une analyse ionique comparée de gamétophytes provenant de grottes des côtes maritimes du Massif Armoricain (*Golvinog*, Plogoff, Finistère ; *Plage de la Banche*, Binic, Côtes d'Armor) en environnement halophile (non envahies par la mer, mais soumises aux embruns salés) et de gamétophytes prélevés en habitats forestiers en environnement non halophile (*La Chapelle Ruinée*, La Roche-Maurice, Finistère ; *Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor ; *Haut-Sourdéac*, Glénac, Morbihan) est effectuée. Après pesée de la masse fraîche, chaque échantillon, broyé dans un mortier, est centrifugé (15000 tr/min ; 10 min). Le surnageant est prélevé et une deuxième centrifugation est appliquée au culot (15000 tr/min ; 10 min). Le second surnageant est additionné au premier. Dix microlitres de surnageant sont prélevés pour en mesurer l'osmolarité ; 20 µL sont dosés au chloridomètre pour titrer les ions chlorures, par référence à une solution étalon de 100 mM. 20 µL permettent de titrer les ions sodium et potassium au photomètre de flamme, par référence à des solutions étalons de 100 mM de Na⁺ et 100 mM de K⁺.

Par ailleurs, des mesures analogues sont réalisées, sans préparation préalable, sur des pluvio-lessivats s'écoulant le long des parois abritant la fougère dans les deux grottes des côtes maritimes et dans les stations de *La Chapelle Ruinée* et *Kerlenevez*. Des tests de comparaison de moyennes, test H de Kruskal et Wallis (Scherrer, 1984), permettent de rechercher d'éventuelles différences significatives entre les concentrations en ions Cl⁻, Na⁺ et K⁺ des échantillons de gamétophytes ou de pluvio-lessivats provenant des milieux forestiers d'une part et des grottes des côtes maritimes d'autre part.

3 RESULTATS

3.1 MODE DE REPRODUCTION DES GAMETOPHYTES ET DES SPOROPHYTES

3.1.1 Gamétophytes

3.1.1.1 Multiplication végétative

L'analyse des échantillons en microscopie optique ou microscopie électronique à balayage montre que des propagules et plus encore des cellules gemmifères sont présentes en grand nombre (**figure 68**). Aucune différence n'est décelée entre la production de propagules des gamétophytes indépendants et celle des gamétophytes associés aux frondes, quelle que soit la localisation géographique dans le Massif Armoricain ou la date de prélèvement des échantillons. Parfois plusieurs dizaines de cellules gemmifères portant des propagules ou les ayant libérées sont observées sur un même filament gamétophytique. La multiplication végétative des gamétophytes est donc très intense.

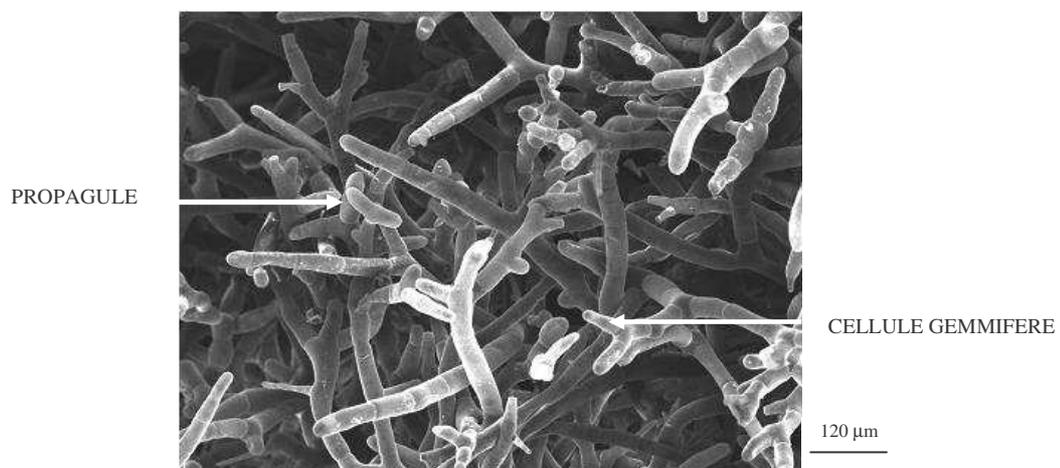


Figure 68 : Gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sur lesquels sont présentes de nombreuses cellules gemmifères et des propagules (MEB x 100)

3.1.1.2 Reproduction sexuée

Les structures impliquées dans la reproduction sexuée, anthéridies et archégonies, sont produites par les gamétophytes indépendants et par ceux associés aux sporophytes. Cependant la fréquence d'observation de ces structures est relativement rare et apparemment sans saisonnalité. Ainsi, chaque échantillon n'est pas toujours pourvu de structures de reproduction

sexuée : la présence d'anthéridies (**figure 69**) est décelée dans près de la moitié des échantillons ; celle d'archéogones (**figure 70**), encore plus rares, n'est constatée que dans un échantillon sur cinq.



Figure 69 : Anthéridie portée sur un filament de gamétophyte indépendant de *Trichomanes speciosum* Willd. (microscopie optique, x 100 immersion, montage à l'eau)

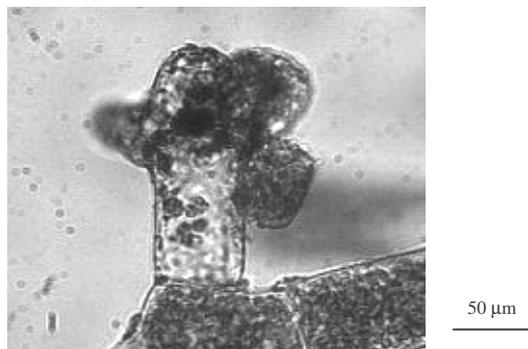


Figure 70 : Archéogones portés sur un filament de gamétophyte indépendant de *Trichomanes speciosum* Willd. (microscopie optique, x 100 immersion, montage à l'eau)

De minuscules sporophytes (**figure 71**) d'une longueur rarement supérieure à 1 cm, de long sont discernés au sein de certains échantillons de gamétophytes indépendants, souvent encore liés sur le gamétophyte "mère". Ces structures sont la preuve manifeste que le gamétophyte indépendant est capable d'une reproduction sexuée efficace.



Figure 71 : Micro-sporophyte de 1 cm de longueur au sein de filaments de gamétophyte indépendant de *Trichomanes speciosum* Willd. (loupe binoculaire, x 30)

Ainsi, dans des échantillons de gamétophytes indépendants provenant de 43 stations, ayant fait l'objet de recherches minutieuses, des micro-sporophytes de longueur toujours inférieure à 1 cm sont observés (Loriot *et al.*, 2003) dans les échantillons provenant de 6 stations du Morbihan (*Haut-Sourdéac*, ancienne mine de fer, Glénac ; *Haut-Roussimel*, puits, Glénac ; *Vieille Ville*, puits, Taupont ; *Lestun*, puits, Cournon ; *Saint-Armel*, puits, Bubry ; *Croix-Piguel*, puits, Saint-Martin), de 3 stations du Finistère (*La Chapelle-Ruinée*, affleurement, La Roche-Maurice ; *Stangala*, affleurement, Ergué-Gaberic ; *Le Gouffre*, chaos rocheux, Huelgoat) et 1 station des Côtes d'Armor (*Vallée du Léguer*, affleurement, Ploubezre). Des vestiges de lames micro-sporophytiques étiolées sont aussi observées dans près de deux tiers des 43 échantillons.

3.1.2 Sporophytes

3.1.2.1 Production de nouvelles frondes

Le suivi photographique des populations armoricaines à sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. montre l'émergence de nouvelles frondes (**figure 72**) par accroissement terminal du rhizome et formation de nouveaux bourgeons latéraux. De telles observations sont effectuées dans le Morbihan (*Saint-Fiacre*, Saint-Barthélémy ; *Castelgal*, Lignol ; *Bambruan*, La Croix-Helléan ; *La Villio*, La Gacilly ; *La Touche*, Taupont) dans des puits abritant des populations vigoureuses.



Figure 72 : Emergence de nouvelles frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. par accroissement du rhizome (puits de *Castelgal*, Lignol ; Morbihan)

Dans le chaos en habitat forestier de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor) l'émergence de nouvelles frondes est enregistrée pendant le suivi de 18 mois. Les frondes juvéniles se présentent sous la forme de lames vertes découpées de 1 à 2 fois seulement (**figure 73**).



Figure 73 : Emergence de nouvelles frondes à *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor)

3.1.2.2 Production de spores

Durant 3 années successives, de 2002 à 2004, pendant les mois d'août et septembre, la formation des sporanges est suivie. Elle se localise initialement à l'intérieur de l'involucre en forme de coupe portée en bordure des pinnules (**figure 74**). Ensuite, le filament sur lequel sont implantés les sporanges s'allonge (**figure 75**).

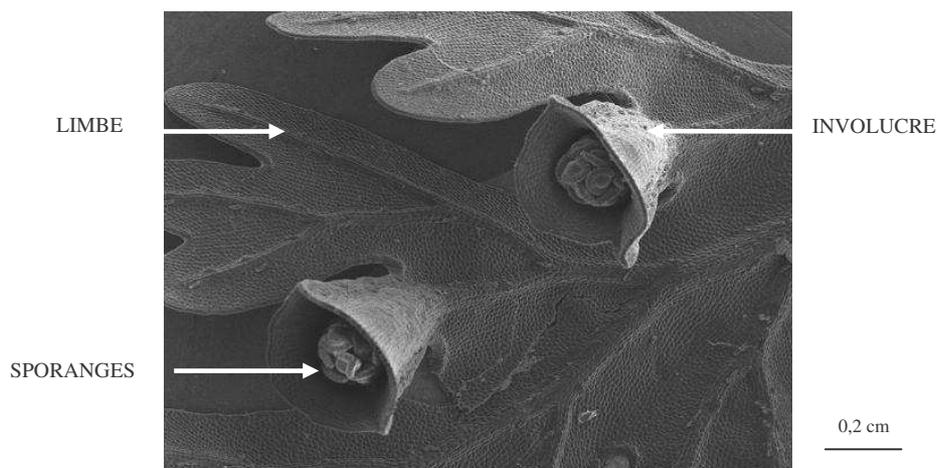


Figure 74 : Involucre en bordure des pinnules sur les frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. Le filament qui porte les sporanges ne dépasse pas encore le sommet de l'involucre (MEB x 25)



Figure 75 : Allongement du filament porteur de sporanges (loupe binoculaire, x 20, montage à l'eau)

Des frondes fertiles, formant généralement une trentaine d'involucres, sont observées dans les puits du Morbihan dans lesquels les populations sont vigoureuses, par exemple à *La Villio*, *La Gacilly* ; *Roc Brien*, Ploërmel ; *Lézillac*, Taupont ; *La Touche*, Taupont ; *Le Fol*, Pluherlin ; *Castelgal*, Lignol ; *Saint-Fiacre*, Saint-Barthélemy ; *Les Métairies*, Saint-Vincent-sur-Oust et dans les Côtes d'Armor, à *Lan Bern*, Glomel. Toutes les frondes adultes d'une population ne sont pas fertiles : l'estimation depuis l'extérieur des puits permet de penser qu'environ un tiers d'entre elles forment des sores. Les frondes adultes fertiles ne semblent pas occuper de position particulière dans les puits par rapport à celles qui restent stériles. Les frondes juvéniles, sans pinnule bien individualisée, ne sont jamais fertiles.

Durant les trois années de suivi, toutes les populations armoricaines de sporophytes ne produisent pas de spores. En particulier, aucune fronde fertile n'est observée dans les deux stations localisées en milieu naturel (*Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pelem et *Forêt de Duault*, Saint-Servais ; Côtes d'Armor) ce qui confirme qu'elles sont probablement composées de frondes juvéniles (cf. chapitres II et III). De même, dans les populations dégradées, comme dans les puits morbihannais de *Guernalgout* (Berne), *Petit Pelan* (Helléan) ou *Le Rohello* (Helléan), aucune production de spores n'est décelée.

3.1.2.3 Viabilité et pouvoir germinatif des spores

Le caractère chlorophyllien des spores de *Trichomanes speciosum* Willd. tient à la présence d'un grand nombre de chloroplastes de couleur verte, typique de la chlorophylle (**figure 76**).

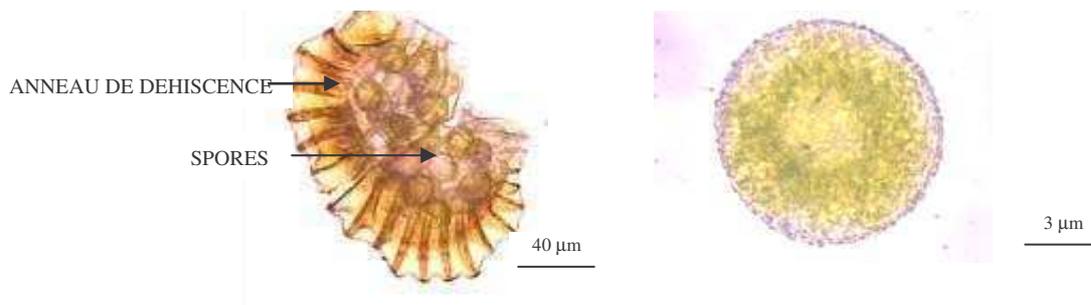


Figure 76 : A gauche, sporange contenant des spores (x 10) ; à droite, une spore chlorophyllienne de *Trichomanes speciosum* Willd. (microscope optique, x 100 immersion, montage à l'eau)

A l'intérieur des sporanges, des spores incolores sont presque toujours observées en mélange avec les spores vertes chlorophylliennes. Le test de coloration par le Rouge Neutre montrent que les spores incolores ne sont plus viables. Au contraire, les spores vertes conservent leur intégrité, ce qui s'oppose à la pénétration du Rouge Neutre dans le cytoplasme (**figure 77**). En moyenne, 45% des spores apparaissent viables dans les sporanges. Des résultats similaires sont obtenus avec les tests de coloration au Bleu Evans.

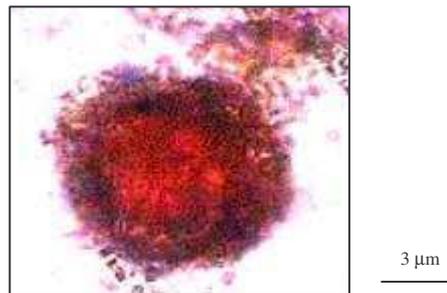


Figure 77 : Spore non viable, colorée après le test de viabilité au Rouge Neutre (microscope optique, x 100 immersion, montage à l'eau)

Avec les tests au chlorure de 2,3,5 triphényl tétrazolium ou TTC (meilleure résolution de coloration : solution de TTC à 1% pendant 48 heures à 30°C), les résultats confirment que le pourcentage moyen de spores viables est d'environ 50% (**figure 78**)

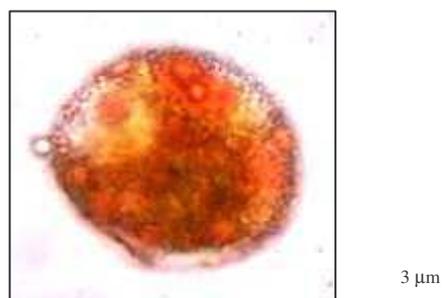


Figure 78 : Test de viabilité au TTC 1% (incubation de 48h). Spore viable (microscope optique, x 100, immersion, montage à l'eau)

En 2002 et 2003, aucune germination des spores *in vitro* n'est obtenue : en effet, une semaine après le semis sur milieu de culture gélosé solide de Murashige et Skoog, toutes les spores perdent leur couleur verte, deviennent translucides et aucune ne germe. Soit le pouvoir germinatif des spores est nul, soit plus vraisemblablement la culture sur milieu solide est létale. En 2004, les cultures réalisées en milieu nutritif liquide de Murashige et Skoog permettent la germination (**figure 79**) des spores de *Trichomanes speciosum* Willd. Le pourcentage de spores germées dans chacun des 3 lots de 100 spores est d'environ 10% en moyenne.

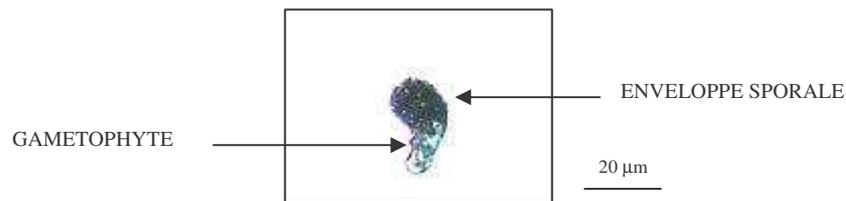


Figure 79 : Germination d'une spore de *Trichomanes speciosum* Willd. cultivée *in vitro* en présence de milieu nutritif liquide Murashige & Skoog (microscope optique, x 40, montage à l'eau)

3.2 CARACTERISTIQUES CYTO - HISTOLOGIQUES

3.2.1 Cuticule et stomates

A la surface du limbe des sporophytes, une cuticule est nettement colorée en jaune-verdâtre typique du Carmin Vert d'Iode (**figure 80**). La cuticule est également bien mise en évidence par la méthode de l'Acide Periodique - Schiff : les composés osidiques sous jacents teintés spécifiquement renforcent l'aspect réfringent des composés lipidiques cuticulaires. La présence de la cuticule est aussi caractérisée sur toute la surface des filaments de gamétophytes (**figure 81**). L'emploi de Rouge de Ruthénium, particulièrement affine des composés pectiques, permet une coloration fine et nette au niveau inférieur de la cuticule confirmant sa présence en continu sur toute la surface cellulaire libre du sporophyte (**figure 82**) et du gamétophyte. La coloration cytohistochimique positive par le Soudan III (**figure 83**), spécifique des composés lipidiques, confirme la nature cutino-cireuse de la pellicule superficielle sur l'ensemble des surfaces libres des cellules de *Trichomanès* remarquable, qu'il s'agisse des gamétophytes ou des sporophytes. Il s'agit bien d'une cuticule de structure classique, riche en composés lipidiques hydrophobes surmontant une assise riche en composés pectiques.



Figure 80 : Cuticule de cellules de limbe de sporophyte (coupe transversale ; coloration Carmin Vert d'Iode, microscope optique, x 100 immersion)

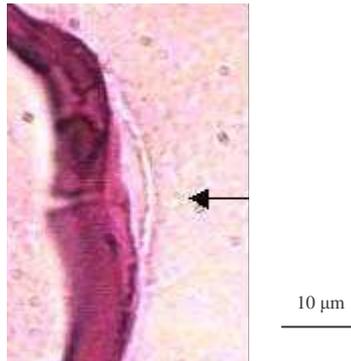


Figure 81 : Cuticule d'une cellule de gamétophyte (coupe transversale ; coloration PAS, microscope optique, x 100 immersion)

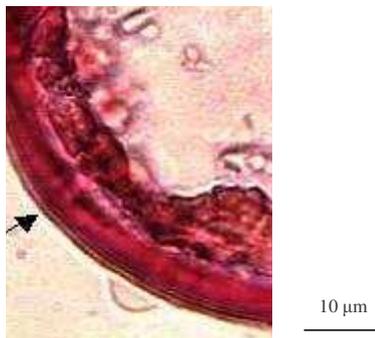


Figure 82 : Cuticule d'une cellule de limbe de sporophyte (coupe transversale ; coloration Rouge de Ruthénium, microscope optique, x 100 immersion)



Figure 83 : Cuticule de cellules de limbe de sporophyte (coupe transversale ; coloration Soudan III, microscope optique, x 100 immersion)

L'examen par microscopie optique permet d'évaluer que la cuticule mesure de l'ordre de 1 μm d'épaisseur. Il n'y a pas de différence notable entre l'épaisseur de la cuticule des sporophytes et celle des gamétophytes.

Aucun stomate n'est observé, ni sur la face supérieure, ni sur la face inférieure des frondes (limbe, nervure ou rachis), ni sur le rhizome ni sur les gamétophytes. La transpiration des sporophytes et des gamétophytes du *Trichomanès* remarquable se limite par conséquent strictement à la transpiration transcuticulaire.

3.2.2 Trichomes

3.2.2.1 Structure

Des trichomes bicellulaires sont portés à la surface des frondes, exclusivement au niveau des nervures (**figure 84**). Chaque trichome est généralement composé d'une cellule pédicellaire, allongée, brune dont la base est implantée dans la nervure, et d'une cellule terminale, incolore et translucide, ovoïde, d'environ 60 μm x 80 μm . Un dénombrement systématique des trichomes montre que ces structures sont deux fois plus présentes sur la face inférieure que sur la face supérieure de la fronde.

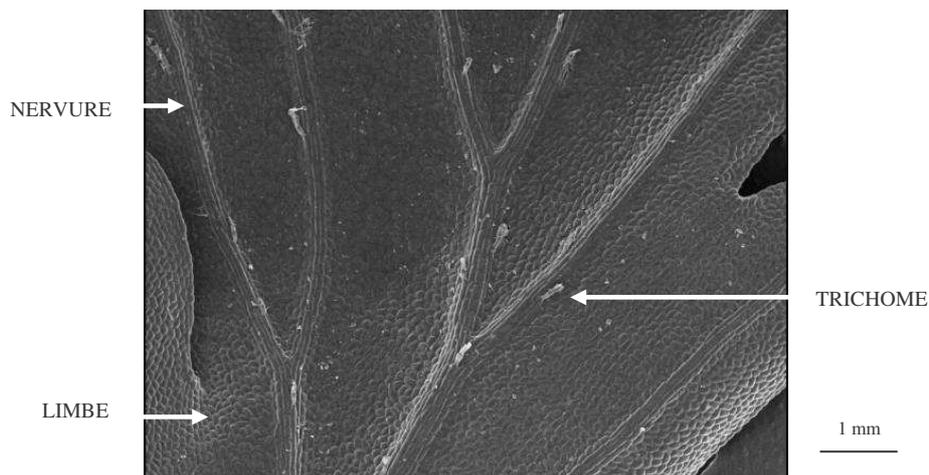


Figure 84 : Trichomes sur les nervures principales et secondaires de la face supérieure du limbe d'une fronde de *Trichomanes speciosum* Willd. (MEB x 30)

En microscopie électronique à balayage, la cellule terminale présente la structure caractéristique d'une cellule turgescente (**figure 85**). La plupart de ces cellules ne semblent

pas résister au protocole de préparation des échantillons : la paroi éclate et l'intérieur creux de la cellule présente l'aspect caractéristique d'une large vacuole déchirée après un choc osmotique.

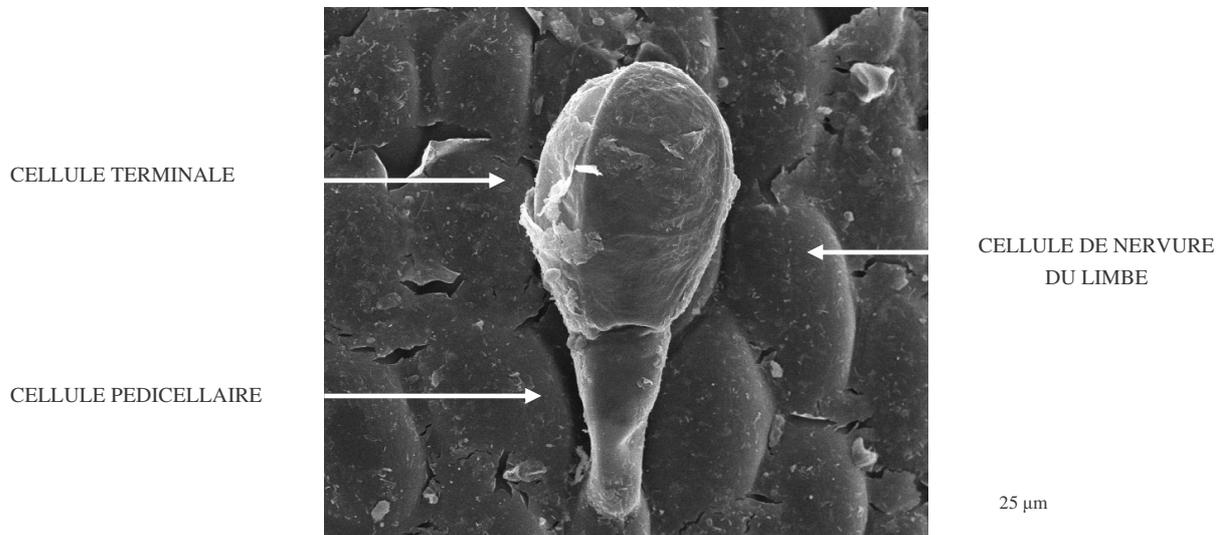


Figure 85 : Trichome localisé sur une nervure du limbe d'une fronde (MEB x 500).

D'autres trichomes de structure analogue sont présents sur le rachis des frondes mais dans ce cas, la cellule terminale est portée par deux à trois cellules pédicellaires brunes (**figure 86**). Sur le rhizome du *Trichomanès* remarquable, mêlés aux poils fibrillaires bruns disposés en réseau dense, les trichomes sont encore plus longs avec de 3 à 10 cellules pédicellaires brunes. Ils se terminent cependant toujours par la cellule ovoïde incolore et translucide caractéristique (**figure 87**). Ainsi, depuis les nervures du limbe jusqu'au rhizome, le nombre des cellules pédicellaires du trichome s'accroît progressivement pour atteindre une dizaine de cellules. Le pédicelle, toujours surmonté de la cellule translucide ovoïde, présente un continuum de longueur selon l'emplacement des trichomes sur le sporophyte (rhizome, pétiole ou nervure du limbe).

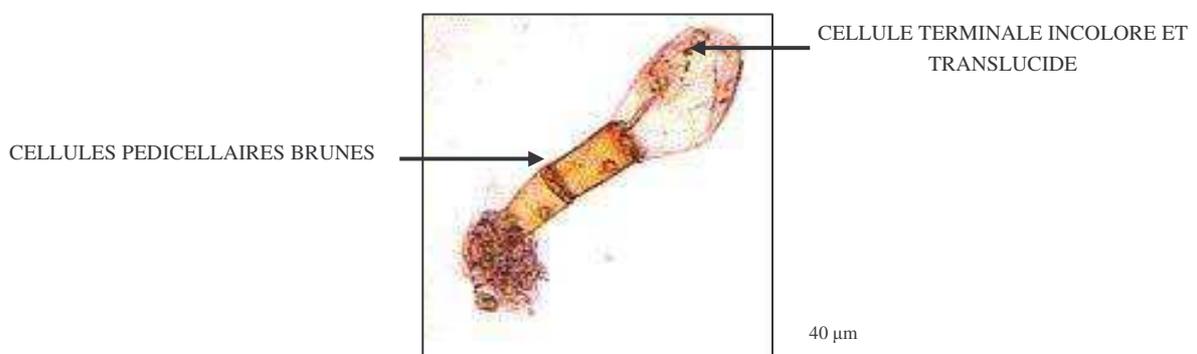


Figure 86 : Trichome du pétiole, constitué de la cellule apicale translucide et de deux cellules pédicellaires brunes (microscope optique, x 100 immersion, montage à l'eau)

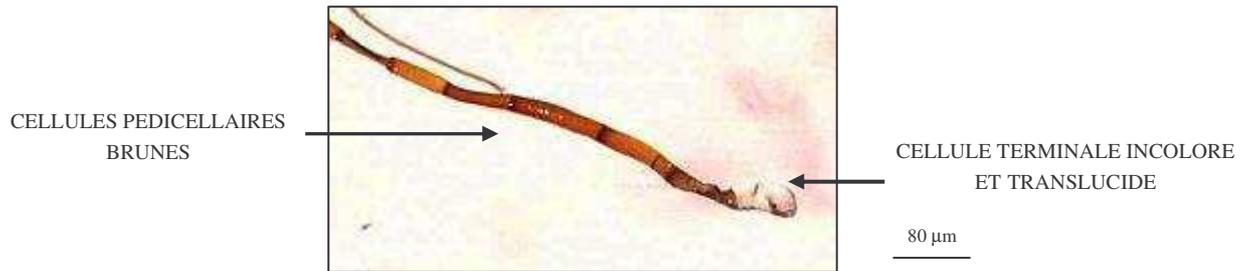


Figure 87 : Trichome constitué de 7 cellules pédicellaires brunes en file et d'une cellule terminale incolore et translucide, porté par le rhizome (loupe binoculaire, x 50, montage à l'eau)

Il est à noter que dès l'état juvénile de la fronde, lorsqu'elle est encore enroulée en crosse au niveau du rhizome, sa nervure principale est déjà porteuse d'un grand nombre de trichomes entièrement différenciés et de taille identique à ceux des frondes adultes (**figure 88**).

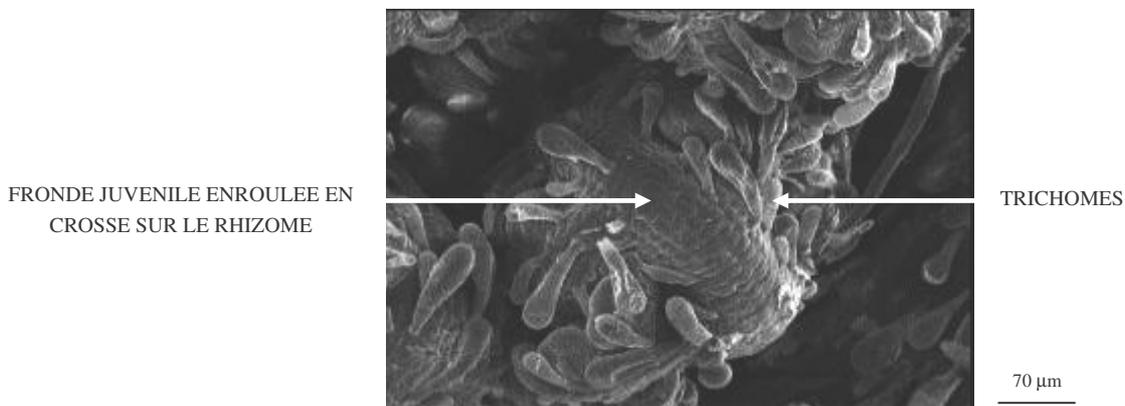


Figure 88 : Trichomes de fronde juvénile de *Trichomanes speciosum* Willd. enroulée en crosse sur l'axe rhizomateux (MEB x 100).

La présence des trichomes se vérifie sur des frondes du *Trichomanès* remarquable du Pays Basque et du Royaume-Uni. De même, la structure est produite en grand nombre sur les frondes de *Trichomanes sp.* de l'île de la Réunion (**figure 89**). Des trichomes de morphologie analogue sont aussi décelés sur des frondes armoricaines d'*Hymenophyllum tunbrigense* L. ou d'*Hymenophyllum sp.* réunionnaises. L'ubiquité de la structure semble indiquer une fonction vitale.

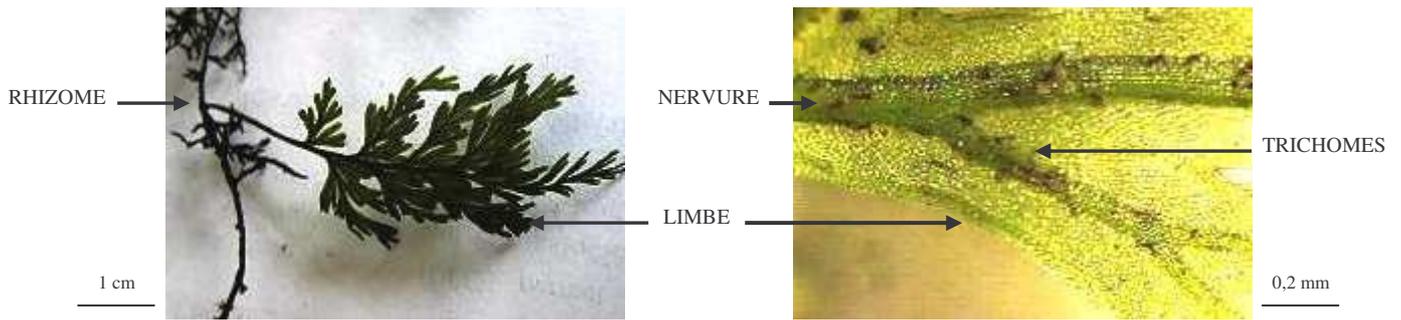


Figure 89 : Sporophyte de *Trichomanes sp.* de l'île de la Réunion présentant de nombreux trichomes le long des nervures du limbe (loupe binoculaire, x 1 à gauche ; x 20 à droite)

3.2.2.2 Fonction

La microscopie électronique à balayage met en évidence la présence de filaments ramifiés qui semblent en relation particulière avec la cellule terminale du trichome. Ces filaments sont régulièrement cloisonnés, avec des parois obliques par rapport à l'axe d'allongement. Ils présentent aussi des bourgeonnements latéraux (**figure 90**). Ces deux caractéristiques indiquent qu'il s'agit vraisemblablement d'hyphes mycéliennes.

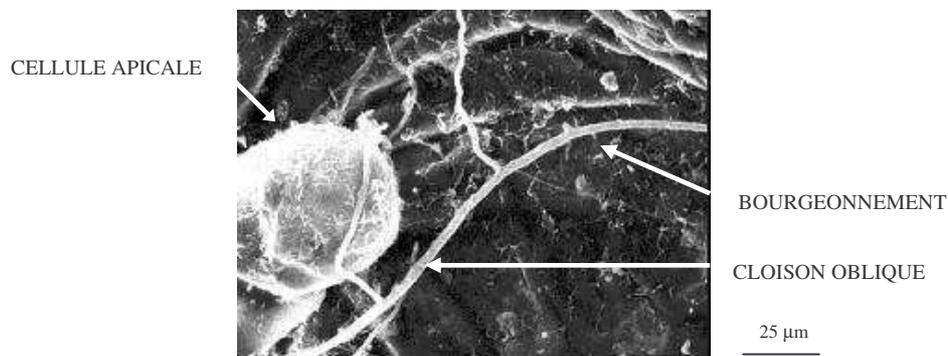


Figure 90 : Cellule terminale d'un trichome en relation avec des filaments de type mycéliens à bourgeonnements et parois obliques par rapport à l'axe d'allongement (MEB x 1200)

La coloration positive des filaments par le Bleu Cotton (**figure 91**) confirme leur nature fongique. Cependant, les cellules terminales de trichomes qui conservent leur intégrité structurale ne sont jamais colorées par le Bleu Cotton. Elles ne contiennent donc pas d'élément fongique et l'hypothèse d'une relation parasitique ou symbiotique entre trichomes et champignons ne peut être confirmée. Aucune présence particulière de bactérie n'est non plus décelée dans les trichomes par examen au microscope électronique à balayage.

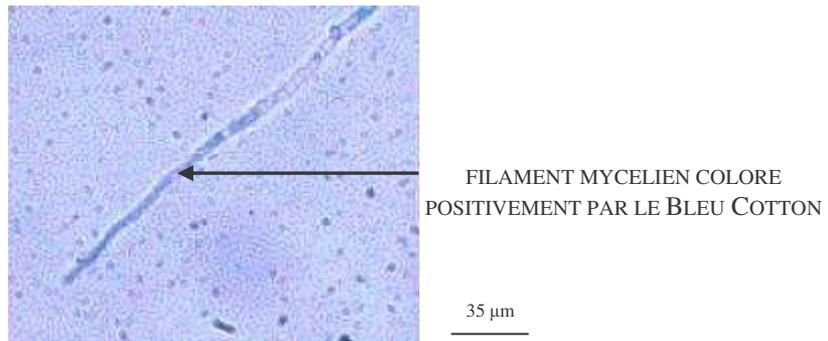


Figure 91 : Coloration positive par le Bleu Cotton des filaments mycéliens souvent en relation avec les cellules de terminales de trichomes (microscope optique, x 100 immersion, montage à l'eau)

L'aspect caractéristique de la cellule terminale du trichome, ovoïde, incolore, translucide largement vacuolisée et turgescente, présente de fortes analogies avec la structure d'un poil absorbant. Lorsqu'une gouttelette de Rouge Neutre en dilution vitale est déposée à l'aide d'une micro-seringue au contact d'une cellule terminale de trichome préalablement légèrement dessiquée, le colorant est instantanément absorbé par la cellule qui recouvre sa turgescence. Après rinçage à l'eau distillée, le colorant est retenu à l'intérieur de la vacuole de la cellule terminale (**figure 92**), confirmant une analogie fonctionnelle avec un poil absorbant.

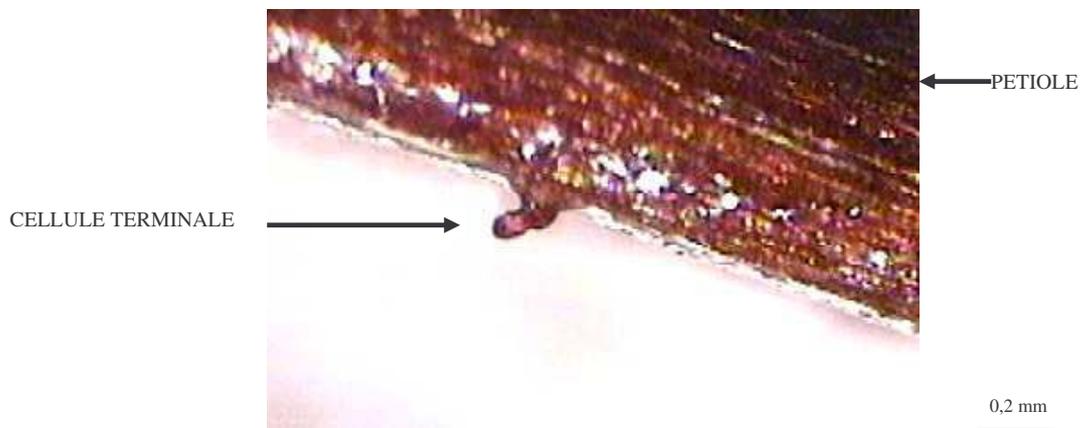


Figure 92 : Cellule terminale de trichome du pétiole en turgescence après absorption et rétention de Rouge Neutre (loupe binoculaire, x 40, montage à l'eau)

3.3 ECOPHYSIOLOGIE

3.3.1 Genèse des sporophytes en fonction de l'éclaircissement

La culture de gamétophytes indépendants (*La Chapelle-Ruinée*, La Roche-Maurice, Finistère) sous conditions contrôlées d'éclairement avec un flux de photons de $4,9 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$, conduit à l'émergence d'une lame verte sporophytique au bout de 2 semaines (**figure 93**). En un mois, le micro-sporophyte se développe jusqu'à atteindre la longueur de 1,2 cm. Puis, après s'être maintenu en l'état pendant 2 mois sans qu'aucune évolution de la morphologie ne soit constatée, la lame s'étiole et se nécrose. Sous un éclairement de $0,54 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$, aucune fronde n'émerge des gamétophytes indépendants. Toutefois, l'examen minutieux final des échantillons révèle le vestige de trois minuscules lamelles sporophytiques d'une longueur n'excédant pas le millimètre. Sous les deux conditions lumineuses, les gamétophytes indépendants sont donc capables d'accomplir une reproduction sexuée aboutissant à la genèse d'une lame sporophytique. Mais le maintien du développement sporophytique semble bien lié à un éclairement suffisant.



Figure 93 : Micro-sporophyte de 1,2 cm engendré par des gamétophytes "indépendants" cultivés *in vitro* sous un flux de photons de $4,9 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$ (loupe binoculaire, x 2, montage à l'eau)

3.3.2 Croissance des sporophytes en fonction de l'éclairement

Dans la station de milieu naturel de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor) où des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. se sont développés, les mesures mensuelles de densité de flux de photons sont effectuées sur 12 mois consécutifs. Elles prouvent que l'éclairement reçu par la fronde modèle, à développement horizontal, reste toujours supérieur à celui que reçoit en moyenne le reste de la population, excepté pendant les 3 mois d'été, sous couvert forestier maximum, durant lesquels il est égal. En hiver et au début du printemps, lorsque les feuilles sont absentes sur les arbres, il est jusqu'à deux fois plus intense. La **figure 94** présente le diagramme cinétique de la longueur de la fronde modèle en

fonction de l'éclairement reçu, et comparativement, en fonction de l'intensité lumineuse moyenne du reste de la station, sur un cycle annuel complet.

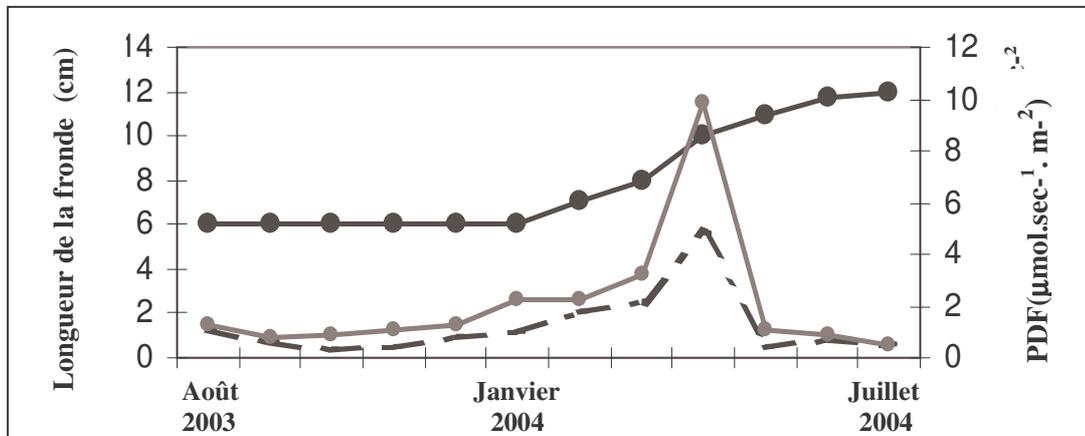


Figure 94 : Croissance en longueur de la fronde de *Trichomanes speciosum* Willd (—●—) en fonction de la densité de flux de photons (PDF) (—●—) reçue comparativement à la densité de flux de photons reçue par les autres frondes de la placette (— —)

Pendant la période d'août 2002 à août 2003, l'allongement de la fronde modèle est nettement corrélé à l'intensité d'éclairement reçu. La liaison est puissante avec un coefficient de régression $r^2 = 0,95$ ($\alpha \ll 1\%$). La fronde voit ainsi sa longueur doubler en un an (**figure 95**), passant de 6 cm à 12 cm d'avril 2002 à juillet 2004.



Figure 95 : Suivi de croissance d'une fronde modèle se développant perpendiculairement au substrat. Depuis avril 2002 (photographie de gauche) jusqu'à janvier 2003 (milieu) puis juillet 2004 (droite), la fronde double de longueur

3.3.3 Capacités photosynthétiques en fonction des conditions lumineuses

3.3.3.1 Teneurs en chlorophylles

Qualitativement, les spectres d'absorption des pigments extraits à l'acétone à partir des échantillons de gamétophytes et de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont identiques. Les deux formes du Trichomanès remarquable captent la lumière visible aux mêmes longueurs d'onde. Quantitativement, l'intensité de l'absorption est également de même ordre pour les deux formes de la fougère (**figures 96 et 97**).

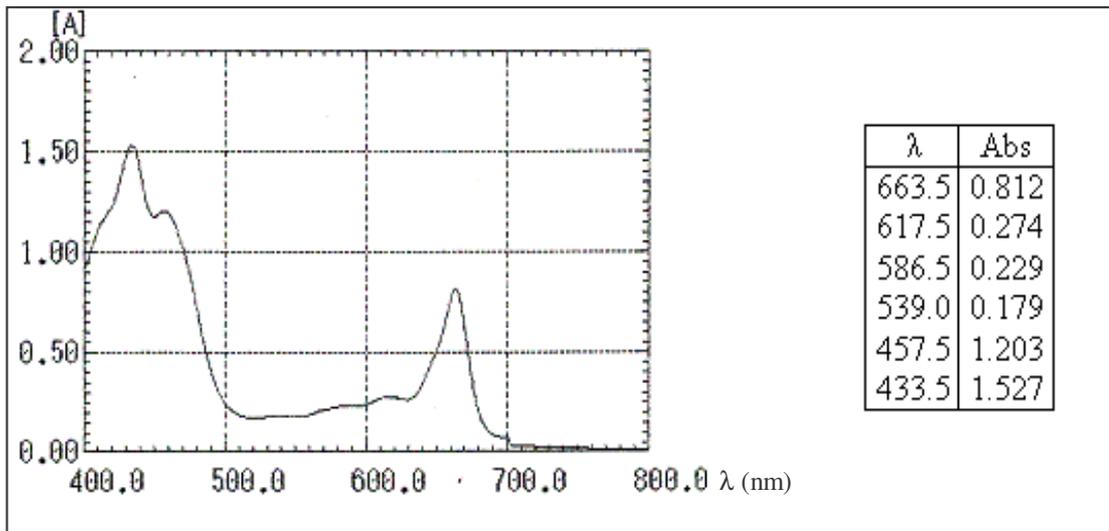


Figure 96 : Spectre d'absorption d'un échantillon de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. et pics d'absorption ; [A] : absorption ; λ , longueur d'onde (nm)

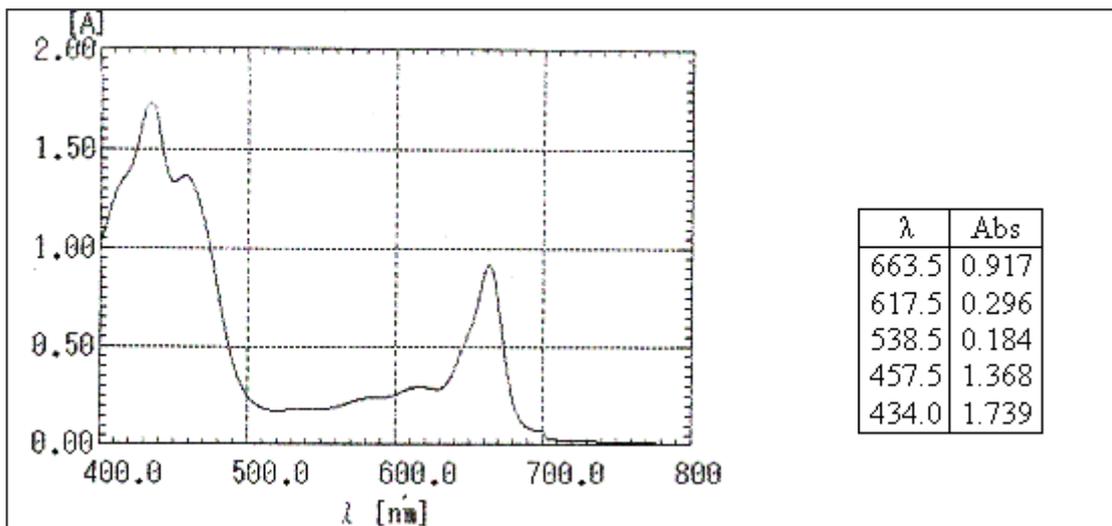


Figure 97 : Spectre d'absorption d'un échantillon de sporophyte de *Trichomanes speciosum* Willd. et pics d'absorption ; [A] : absorption ; λ , longueur d'onde (nm)

La teneur moyenne en chlorophylles a et b est respectivement de $6,226 \pm 0,137 \mu\text{g/g}$ pour les deux échantillons de gamétophytes et $6,07 \pm 0,07 \mu\text{g/g}$ pour les sporophytes. La comparaison des moyennes par test t de Student indique qu'elles ne sont pas significativement différentes au seuil $\alpha = 0,05$ ($t = 1,43 < 4,403$). Il n'y a aucune différence notable, ni dans la nature, ni dans la quantité des chlorophylles entre gamétophytes et sporophytes.

3.3.3.2 Intensités de photosynthèse

L'étude de l'intensité photosynthétique des sporophytes en fonction des conditions lumineuses montre que le point de compensation pour le dioxygène est atteint pour une densité de flux de photons de $7,2 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$. La production nette de dioxygène des frondes et donc leur activité de photosynthèse augmente régulièrement avec l'accroissement de l'éclairement, jusqu'à un maximum ($5 \mu\text{mol.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$ de dioxygène) enregistré pour une densité de flux de photons de $14,4 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$. Au-delà, lorsque l'éclairement augmente, la production de dioxygène et l'intensité photosynthétique chutent rapidement traduisant un effet nocif du rayonnement lumineux (**figure 98**).

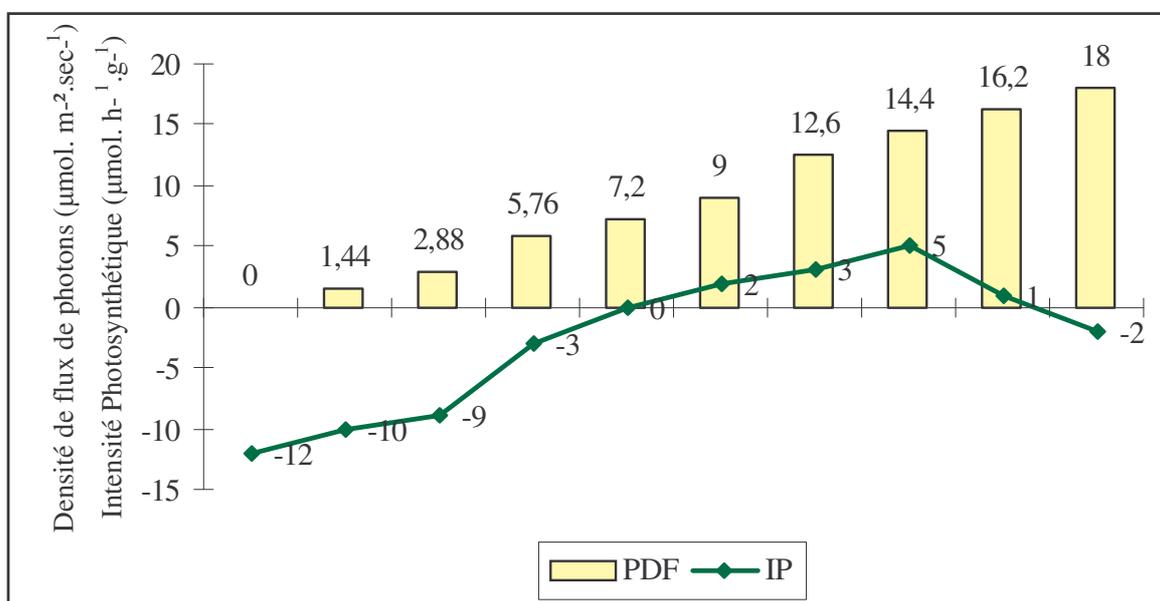


Figure 98 : Intensité photosynthétique, IP (en $\mu\text{mol.h}^{-1}.\text{g}^{-1}$) en présence de sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. et en fonction de la densité de flux de photons (PDF exprimée en $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$).

Pour les gamétophytes, le diagramme (**figure 99**) des enregistrements de la sonde oxymétrique présente une allure générale assez comparable à celui obtenu pour les sporophytes : un point de compensation suivi d'une croissance régulière de pente plus faible jusqu'à un maxima, puis une décroissance rapide. Cependant le point de compensation est presque rejoint dès la densité de flux de photons de $0,72 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$ pour être atteint à $1,44 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$. L'intensité photosynthétique la plus importante avec la production maximale de dioxygène est obtenue dès la densité de flux de photons de $9 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$. Au delà, lorsque l'intensité d'éclairement correspond à des densités de flux de photons égales ou supérieures à $12,6 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$, la production de dioxygène et l'activité photosynthétique chutent, s'annulent et deviennent négatives.

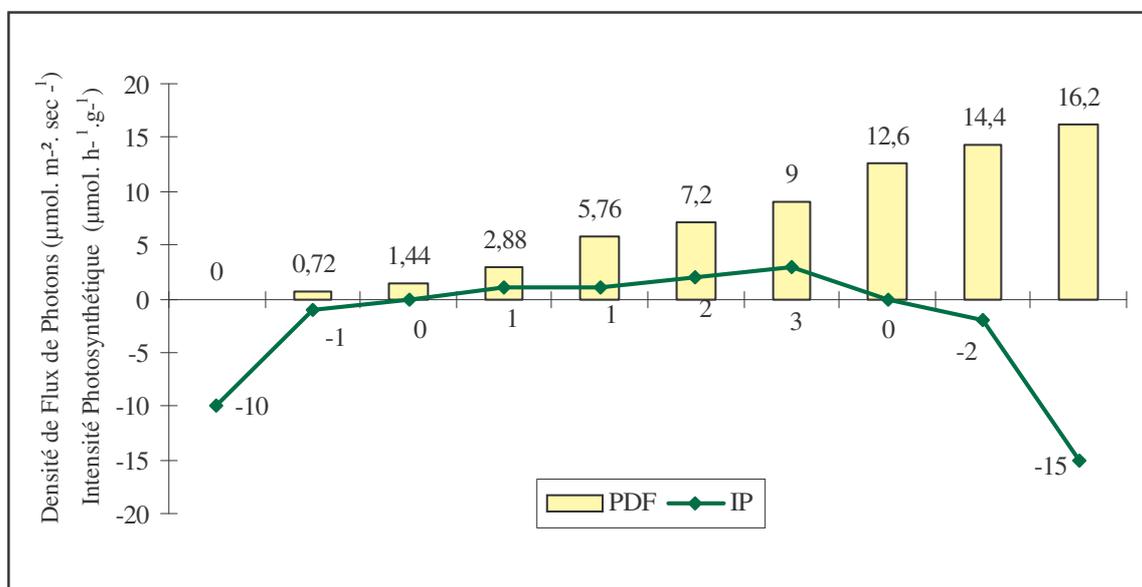


Figure 99 : Intensité photosynthétique, IP ($\mu\text{mol. h}^{-1}.\text{g}^{-1}$) en présence de gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. en fonction de la densité de flux de photons, PDF ($\mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$)

Il en ressort que l'activité photosynthétique des gamétophytes exige pour être efficace des intensités lumineuses nettement moindres, de l'ordre de 5 à 10 fois plus faibles, que celle des sporophytes. Les sporophytes sont plus résistants aux rayonnements lumineux puisqu'ils tolèrent jusqu'à $14,4 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$, au lieu de $9 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$ pour les gamétophytes. Il est très net ici que les gamétophytes et les sporophytes admettent en commun une faible marge d'intensité lumineuse, comprise entre $7,2$ et $9 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$.

3.3.4 Tolérance à la sécheresse et aux conditions halophiles

3.3.4.1 Tolérance à la sécheresse

Après exposition de cinq minutes à 30°C en chaleur sèche, la déshydratation des frondes et des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., est contrôlée par la plasmolyse prononcée de la totalité des cellules ainsi que l'état cassant et friable des structures après dessiccation. Après réhydratation, les frondes adultes comme les sporophytes juvéniles redeviennent souples, sans effondrement des structures. Les deux tests de viabilité (Rouge Neutre et TTC à 1% pendant 48h) démontrent la reviviscence des cellules. Les frondes adultes et les sporophytes juvéniles tolèrent une sécheresse drastique brève. Pour les trois échantillons de gamétophytes réhydratés, en moyenne $30\% \pm 5\%$ ($\alpha = 0,05$) des cellules sont irréversiblement nécrosées suite à la dessiccation, d'après le test au Rouge Neutre (**figure 100**). Le test de viabilité au TTC indique la même proportion de $70\% \pm 5\%$ de cellules reviviscentes. La capacité des gamétophytes à se maintenir en vie après une période de sécheresse est ainsi établie.

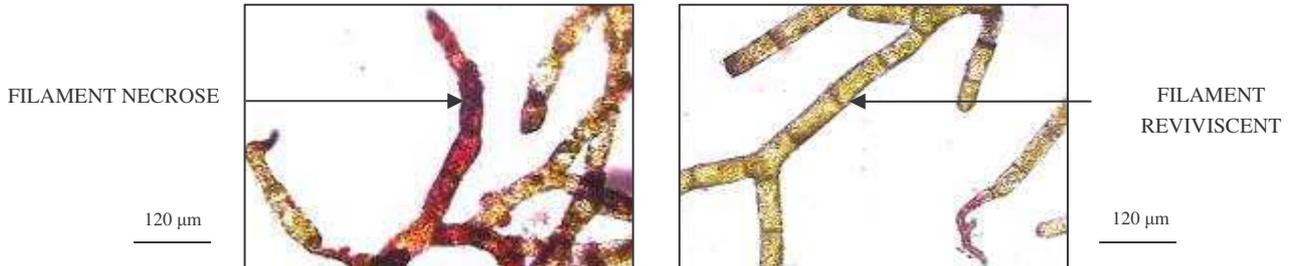


Figure 100 : Tolérance des gamétophytes après dessiccation (test au Rouge Neutre ; x 5)

3.3.4.2 Tolérance aux conditions halophiles

Le dosage des ions Cl^- , Na^+ et K^+ ne met en évidence aucune différence significative entre les échantillons de gamétophytes provenant de milieux forestiers et ceux récoltés dans les grottes des côtes maritimes exposées aux embruns (**figures 101, 102 et 103**).

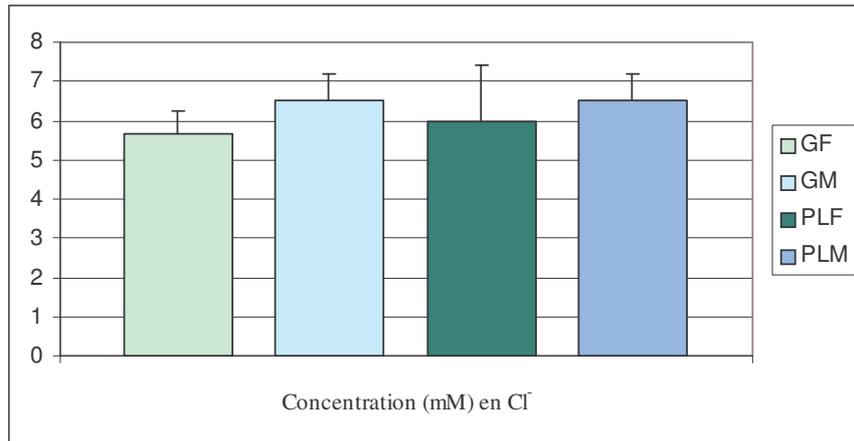


Figure 101 : Concentration moyenne en ions chlorure (Cl⁻) de gamétophytes indépendants de milieu forestier (GF) et de grotte des côtes maritimes (GM), de pluvio-lessivats de milieu forestier (PLF) et de grotte des côtes maritimes (PLM). Pas de différence significative

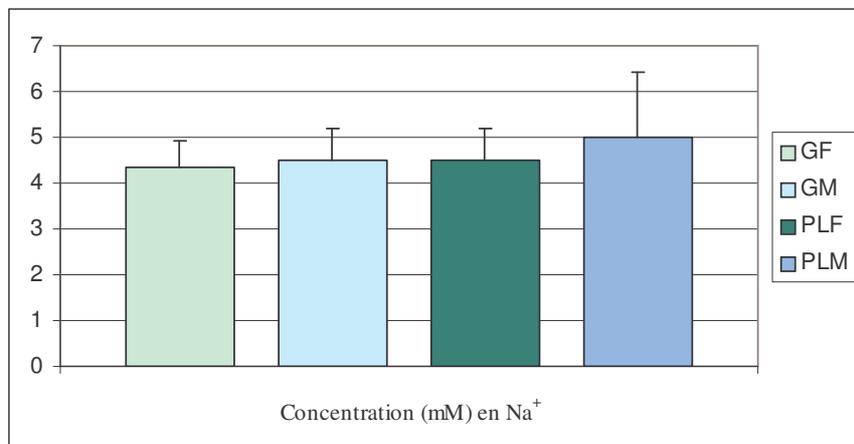


Figure 102 : Concentration moyenne en ions sodium (Na⁺) de gamétophytes indépendants de milieu forestier (GF) et de grotte des côtes maritimes (GM), de pluvio-lessivats de milieu forestier (PLF) et de grotte des côtes maritimes (PLM). Pas de différence significative

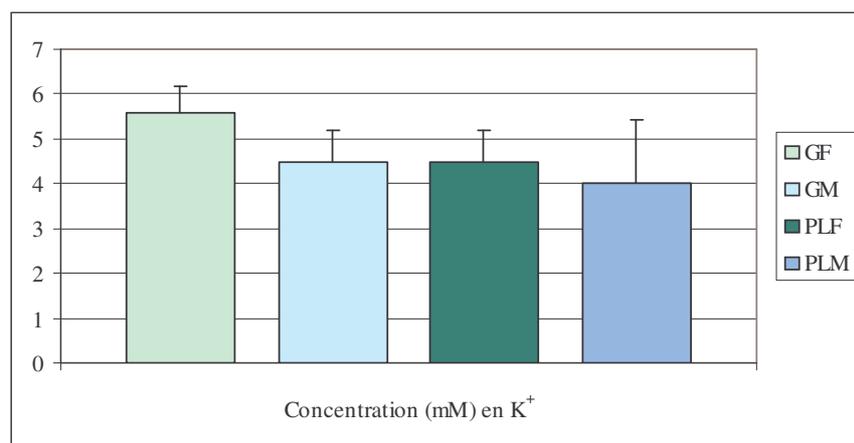


Figure 103 : Concentration moyenne en ion potassium (K⁺) de gamétophytes indépendants de milieu forestier (GF) et de grotte des côtes maritimes (GM), de pluvio-lessivats de milieu forestier (PLF) et de grotte des côtes maritimes (PLM). Pas de différence significative

Les tests de Kruskal-Wallis ($p_{Cl^-} = 0,57$; $p_{Na^+} = 0,91$; $p_{K^+} = 0,24$) montrent que les moyennes des concentrations en ions chlorure, sodium et potassium ne sont pas significativement différentes entre habitats forestiers et habitat littoral. Les concentrations en ions Cl^- , Na^+ et K^+ des échantillons de gamétophytes correspondent à des teneurs équivalentes à celles des pluvio-lessivats reçus. Le maintien des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. en milieu halophile repose sur le ruissellement de l'eau de pluie qui permet d'éviter une teneur excessive en sels et non pas sur une adaptation particulière des gamétophytes à une accumulation ionique.

4 DISCUSSION PARTIELLE

1/ Le suivi pluri-annuel de la production sporophytique dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. où la fougère est vigoureuse, prouve que les effectifs de frondes se renouvellent : les populations s'accroissent avec l'allongement du rhizome et le développement de bourgeons latéraux en nouvelles crosses. Au sein de telles stations, la production de spores est effective sur les frondes matures. Les spores du Trichomanès remarquable sont viables et présentent une capacité à germer non négligeable. Mais la faible proportion de germination (0% en milieu gélosé ; 10% sur milieu liquide *in vitro*) peut être mise en relation avec le caractère chlorophyllien des spores. En effet, *in vitro*, toutes les spores ayant par la suite germé sont restées vertes. La durée de vie des spores est probablement limitée dans des environnement où la disponibilité en lumière est trop faible par rapport aux besoins imposés par leur métabolisme.

Dans le Massif Armoricaïn, pour le Trichomanès remarquable, dont les populations de sporophytes se localisent quasi-exclusivement dans des puits, la contrainte de la disponibilité en lumière est forte. Dans un puits, les spores libérées par les frondes ne peuvent en général pas être disséminées par le vent. Ce sont donc les eaux de pluie ruisselantes qui entraînent les spores à l'intérieur du puits, vers les parois plus profondes ou dans l'eau stagnante au fond, là où elles ne trouvent ni lumière, ni substrat favorable à leur germination. Ce n'est guère qu'à la faveur du puisage de l'eau domestique que les spores auraient une possibilité de germer en nombre. Malheureusement, la plupart des puits sont aujourd'hui abandonnés. Quand bien même ils sont encore en usage, l'eau y est le plus souvent pompée que puisée pour laver les voitures ou arroser les jardins, ce qui exclut tout environnement favorable au maintien de gamétophytes après germination. Dans le Massif Armoricaïn, la production de spores semble

donc ne pas être un facteur de multiplication et de dispersion réellement efficace, non du fait d'une déficience de production de la plante, mais bien à cause de l'habitat si singulier que constitue le puits lui-même. Dans les puits fermés, abritant des populations sans vigueur, souvent nécrosées, aucune croissance du nombre de frondes, ni aucune fronde fertile ne sont observées. En milieu naturel, les deux stations de sporophytes recensées n'abritent que des frondes stériles, probablement immatures. Dans l'une d'entre elles (*Kerlenevez*, Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor), l'émergence de nouvelles frondes confirme la vitalité des sporophytes.

2/ Au niveau des gamétophytes, la production et la libération en nombre des propagules assurent de façon efficace la pérennité et la dispersion de la fougère. La reproduction végétative des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd., indépendants ou associés à des sporophytes, est constamment active quelle que soit la saison. Le suivi des stations de la fougère permet d'établir clairement que la surface de recouvrement des gamétophytes indépendants connaît des phases de régression ou d'expansion qui sont nettement liées à l'alternance de périodes de sécheresse ou de précipitations. La double capacité des gamétophytes à tolérer la sécheresse d'une part et à se reproduire activement de façon végétative d'autre part, permettent la recolonisation permanente des placettes dès que les conditions environnementales sont à nouveau favorables.

En plus d'une reproduction clonale permanente de la génération haploïde de *Trichomanes speciosum* Willd., les gamétophytes, indépendants ou non, de la fougère se reproduisent sexuellement. Moins fréquents que les propagules et les cellules gemmifères impliquées dans la reproduction végétative, des archégonies et des anthéridies sont régulièrement décelés dans l'enchevêtrement de filaments de gamétophytes, dans respectivement 20% et 50% des échantillons examinés. Par conséquent, l'extrême rareté des sporophytes en milieu naturel armoricain ne semble pas pouvoir s'expliquer par l'absence de structures reproductrices mâles ou femelles. Les gamétophytes indépendants du *Trichomanès* remarquable du Massif Armoricain donnent effectivement naissance à la génération diploïde. Sa présence est avérée sous forme de micro-sporophytes, d'une longueur inférieure à 1 cm, dans un grand nombre d'échantillons de gamétophytes, mais souvent à l'état léthal. Il est donc établi que le cycle de vie de la fougère n'est pas interrompu avant la reproduction sexuée et le début du développement des sporophytes, même dans les populations nommées "gamétophytes indépendants". Pourtant, la reproduction sexuée des gamétophytes reste relativement rare :

elle est subordonnée au régime des pluvio-lessivats, puisque le ruissellement d'eau est indispensable au déplacement des gamètes mâles depuis les anthéridies vers les archégonies. Les micro-sporophytes néoformés ne peuvent se développer durablement grâce aux gamétophytes auxquels ils sont liés. La forte proportion de micro-sporophytes étiolés ou morts au sein des filaments de gamétophytes indépendants conduit à comprendre qu'au bout d'un laps de temps, correspondant sans doute au développement d'une lame jusqu'à atteindre au maximum une longueur avoisinant 1 cm, les sporophytes juvéniles doivent connaître des carences physiologiques empêchant leur croissance et déterminant à terme leur nécrose.

3/ L'alimentation hydrique et minérale des sporophytes de *Trichomanes* remarquable, est très certainement facilitée par les trichomes dont l'originalité morphofonctionnelle se trouve précisée par les résultats. Les trichomes, localisés sur le rhizome, le pétiole et le limbe mais exclusivement le long des nervures, sont à comparer à des poils absorbants. Il est vrai que le transfert du Rouge Neutre dans le système vasculaire de la fougère après sa pénétration dans les trichomes n'est pas prouvé : l'échantillon de fronde étant isolé de la plante entière, l'appel d'eau par gradient osmotique à l'origine de la pénétration de la sève dans les végétaux pourrait par exemple faire défaut. Une manipulation de vérification de la pénétration depuis le trichome jusqu'au système vasculaire est envisagée, *in situ*, sur une plante entière comprenant le rhizome. Mais d'ores et déjà, un faisceau convergent d'éléments confortent l'hypothèse d'une analogie avec le poil absorbant. Ainsi, le nombre de trichomes est deux fois plus important sur la face inférieure que sur la face supérieure du limbe. Les trichomes ainsi positionnés sur la face la moins soumise à l'éclairement et donc à la chaleur sont sans doute moins soumis à la dessiccation liée à la chaleur du rayonnement solaire. Ils sont aussi plus susceptibles de recueillir les pluvio-lessivats qui s'écoulent sur le substrat contre lequel les frondes sont habituellement plaquées. Les trichomes pourraient assurer une part non négligeable de la fonction d'absorption en augmentant considérablement la surface d'échange entre plante et environnement.

D'autre part, les trichomes sont présents de façon ubiquiste au sein de la famille des *Hymenophyllaceae*. Or, ces fougères sont en majorité tropicales et la plupart se développent en épiphytes, comme celles particulièrement riches en trichomes, qui nous ont été envoyées de l'île de la Réunion. Leur support étant un autre végétal, de telles espèces trouvent leurs ressources en matière minérale, non pas dans le sol, mais à la faveur du haut degré d'humidité atmosphérique qui caractérise les climats tropicaux et des abondants pluvio-lessivats générés

par les fréquentes précipitations. Les trichomes, en tant que structures d'absorption, apparaissent ici comme des éléments les plus évidemment adaptés pour la nutrition hydro-minérale de ces fougères.

Les trichomes, caractéristique morphofonctionnelle des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. intervenant dans l'alimentation hydrique, vont probablement de paire avec l'absence de stomate. Le limbe des frondes, excepté au niveau des nervures, n'est constitué que d'une seule assise cellulaire. Les auteurs anglo-saxons appellent d'ailleurs "filmy fern" les fougères de la famille des *Hymenophyllaceae*. Chez une plante ainsi dépourvue de stomate, les échanges gazeux avec le milieu extérieur sont essentiellement transcuticulaires et nécessairement la cuticule est peu épaisse, ce qui est le cas pour *Trichomanes speciosum* Willd. Une épaisseur de 1 µm est mesurée ce qui est comparable à celle des espèces mésophytiques (Ashton *et al.*, 1992). Les échanges de dioxygène et de dioxyde de carbone indispensables au métabolisme des plantes, la photosynthèse et la respiration s'effectuent donc par diffusion à travers la paroi des sporophytes et des gamétophytes. Mais pour les sporophytes, dont les besoins en carbone sont de toute évidence beaucoup plus importants, il est possible, qu'une partie complémentaire du CO₂ pénètre par l'intermédiaire des trichomes, avec l'eau absorbée, sous forme d'ions carbonates HCO₃⁻ transformés en CO₂ dans la plante par l'anhydrase carbonique.

4/ Les cultures contrôlées de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. sous conditions lumineuses équivalentes à celles mesurées dans les stations où se développent des sporophytes, aboutissent à la production d'au moins un sporophyte, preuve indéniable que le cycle de vie à deux générations est réalisable. C'est bien l'éclaircissement qui apparaît comme le facteur limitant la croissance de sporophytes viables après reproduction sexuée des gamétophytes. Le sporophyte obtenu *in vitro* s'est d'ailleurs développé verticalement, en direction de la source de lumière, révélant un phototropisme positif et donc la nécessité de disposer d'un éclaircissement suffisant. Son dessèchement létal, après deux mois pendant lesquels aucune évolution morphologique ne s'est manifestée, est plutôt imputable à une carence en eau et en substances minérales liée à notre système expérimental.

La disponibilité en eau est en effet l'autre facteur limitant le développement des frondes d'après les résultats : au stade juvénile précoce, les frondes ne disposent que d'un axe rhizomateux extrêmement réduit les rendant particulièrement dépendantes des écoulements de pluvio-lessivats, ce qui corrobore d'ailleurs le rôle absorbant des trichomes qui sont présents,

nous l'avons vu, dès les premiers stades de développement. Dans ce sens, le montage expérimental employé avec un tissu imbibé de liquide nutritif renouvelé, mais sans écoulement, est déficient par rapport aux conditions environnementales naturelles. L'alimentation des jeunes sporophytes aurait dû comporter un système d'écoulement ou de brumisation temporisé.

In situ, la nette corrélation mise en évidence entre croissance de fronde et conditions lumineuses régnant à *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem, Côtes d'Armor), confirme le rôle majeur de l'éclairement pour le développement des frondes juvéniles. Ainsi, les frondes atypiques, dont nous avons remis en cause l'identité taxonomique, sont des frondes juvéniles, découvertes en cours de développement. Les sporophytes exigent une plus grande énergie lumineuse que les gamétophytes pour leur croissance. Mais ils ne présentent semble-t-il pas d'adaptation, ni qualitative, ni quantitative, de leurs chlorophylles. Les gamétophytes ne présentent pas non plus eux-mêmes d'adaptation de leurs chlorophylles en regard des conditions de quasi-obscurité dans lesquelles ils peuvent se maintenir, au contraire des sporophytes. Cependant, des chercheurs britanniques ont montré que les deux formes de la fougère se différencient par la morphologie et le nombre de leurs chloroplastes. Ainsi, les cellules de gamétophytes présentent de nombreux chloroplastes de petite taille, presque sphériques, avec peu de thylakoïdes, tandis que les cellules sporophytiques renferment peu de chloroplastes, discoïdes et denses en thylakoïdes (Makgomol et Sheffield, 2001). Pour autant, les auteurs font remarquer que ni les gamétophytes, ni les sporophytes du *Trichomanès* remarquable ne présentent les chloroplastes typiques des plantes d'ombre, caractérisés par de très nombreux thylakoïdes, comme les iridoplastes des plantes d'ombre (Makgomol et Sheffield, 2001).

Pour les deux formes de la fougère, les résultats montrent que l'intensité de photosynthèse est faible et que le *Trichomanès* remarquable ne supporte pas d'éclairement intense. Au delà de $16 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$, la photosynthèse diminue drastiquement chez le sporophyte. Le gamétophyte présente le même phénomène dès $12 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$. Les deux formes de la fougère réalisent leur photosynthèse à des intensités lumineuses extrêmement faibles, apparemment des conditions nocturnes pour l'œil humain, jusqu'à $0,5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{sec}^{-1}$ pour le gamétophyte ce qui constitue une sorte de "record" dans le monde végétal. Le très net abaissement du point de compensation de dioxygène des gamétophytes indépendants par

rapport aux sporophytes confirme l'aptitude particulière des gamétophytes à se développer sous faible éclaircissement. La divergence morphologique des chloroplastes mise en évidence par Makgomol et Sheffield (2001) va de pair avec une différence de métabolisme, comme l'ont montré des études physiologiques approfondies (Johnson *et al.*, 2000).

5 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE

- Les gamétophytes présentent une reproduction végétative intense qui doit correspondre à la capacité de recolonisation observée après des périodes de sécheresse transitoire ayant entraîné une régression des recouvrements.
- Les gamétophytes indépendants présentent les structures reproductrices sexuées bien qu'elles soient peu fréquemment observées. Ces structures sont fonctionnelles puisque des micro-sporophytes, de moins de 1 cm de long sont détectés au sein des coussins de gamétophytes indépendants. La rareté des observations tient sans doute en partie à la taille minuscule des lames sporophytiques d'une part et d'autre part, au caractère transitoire des pluvio-lessivats nécessaires pour le transport des anthérozoïdes.
- Les micro-sporophytes ne se développent pas jusqu'à un stade adulte probablement du fait d'une déficience physiologique : l'éclaircissement très faible dans les stations de gamétophytes indépendants n'est pas compatible avec le métabolisme des frondes adultes. De plus, les pluvio-lessivats sont transitoires et pauvres parce que le substrat sur lequel se développent les gamétophytes indépendants est très peu humique.
- Les sporophytes présentent des trichomes dont la structure et la fonction sont comparables à celles de poils absorbants. Les trichomes doivent faciliter l'alimentation hydrique et minérale des sporophytes.

**V/ DISCUSSION GENERALE ET
PROPOSITIONS DE MESURES
CONSERVATOIRES**

V/ DISCUSSION GENERALE ET PROPOSITIONS DE MESURES	184
CONSERVATOIRES	
1 OBJECTIFS ET METHODES POUR L'ELABORATION D'UN PLAN DE CONSERVATION DE	187
<i>TRICHOMANES SPECIOSUM</i> WILLD. DANS LE MASSIF ARMORICAIN	
1.1 OBJECTIFS EN TERME DE CONSERVATION	187
1.2 CRITERES DE SELECTION DE STATIONS A CONSERVER	189
1.3 OUTILS DE CONSERVATION MOBILISES	191
1.3.1 Outils d'inventaire : les Zones Naturelles d'Intérêt Ecologique,	191
Faunistique et Floristique	
1.3.2 Outils de sensibilisation et de prévention	192
1.3.3 Outils de protection réglementaire et de classement des stations	192
1.3.3.1 Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope	192
1.3.3.2 Réseau Natura 2000	193
1.3.3.3 Réserves Naturelles Régionales	193
1.3.4 Outils de gestion	194
1.3.4.1 Gestion d'entretien et gestion active	194
1.3.4.2 Les partenaires de la gestion	195
<i>1.3.4.2.1 Collectivités territoriales</i>	195
<i>1.3.4.2.2 Direction Régionale de l'Environnement</i>	195
<i>1.3.4.2.3 Parc Naturel Régional d'Armorique</i>	196
<i>1.3.4.2.4 Associations de protection de la nature</i>	196
<i>1.3.4.2.5 Office National des forêts</i>	196
<i>1.3.4.2.6 Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage</i>	197
<i>1.3.4.2.7 Centre régional de la Propriété Forestière</i>	197
<i>1.3.4.2.8 Conservatoire de l'Espace Littoral et des Rivages Lacustres</i>	197
<i>1.3.4.2.9 Direction du Transport Maritime, des Ports et du Littoral</i>	198
2 PROPOSITIONS DE CLASSEMENT EN ZONES NATURELLES D'INTERET ECOLOGIQUE,	198
FAUNISTIQUE ET FLORISTIQUE	
3 PROPOSITIONS DE MESURES DE PREVENTION ET DE SENSIBILISATION	210
3.1 EN HABITATS ANTHROPISES	210
3.2 EN HABITATS NATURELS	211
4 MESURES DE PROTECTION REGLEMENTAIRE ET DE CLASSEMENT DES STATIONS	212

4.1 PAR ARRETES PREFECTORAUX DE PROTECTION DE BIOTOPE	212
4.2 PAR PRISE EN COMPTE DANS LE RESEAU NATURA 2000	214
4.2.1 En habitat littoral	214
4.2.2 En habitat forestier	215
4.2.3 En habitat anthropisé	217
4.3 PAR CREATION D'UNE RESERVE NATURELLE REGIONALE	219
5 MESURES DE GESTION ET DE SUIVI DES STATIONS	220
5.1 GESTION DES STATIONS ANTHROPISEES	220
5.1.1 Gestion d'entretien	220
5.1.2 Gestion active	221
5.2 GESTION DES STATIONS EN MILIEUX NATURELS	224
5.2.1 Gestion d'entretien	224
5.2.2 Gestion active	225
5.3 PROTOCOLE DE SUIVI DE STATIONS	226
6 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE	227

1 OBJECTIFS ET METHODES POUR L'ELABORATION D'UN PLAN DE CONSERVATION DE *TRICHOMANES SPECIOSUM* WILLD. DANS LE MASSIF ARMORICAIN

1.1 OBJECTIFS EN TERME DE CONSERVATION

Trichomanes speciosum Willd. est une espèce protégée en France. Elle figure à l'Annexe 2 de la Directive Habitats (Directive 92/43/CEE), ce qui oblige l'Etat à mettre en œuvre, dans les sites Natura 2000, toutes les mesures nécessaires à son maintien dans un "état de conservation favorable".

La présente étude sur les populations armoricaines du Trichomanès remarquable a pour vocation de faire un bilan de la situation de l'espèce en apportant des informations actualisées sur la répartition des stations, l'abondance des populations ainsi que sur les atteintes et les menaces pesant sur les stations. Il s'agit également de mieux appréhender les particularités du cycle de vie de *Trichomanes speciosum* Willd. et d'expliquer les différences observées dans la région entre les habitats de l'espèce, selon le type de populations de Trichomanès remarquable (populations où se développent conjointement des sporophytes et gamétophytes, populations de gamétophytes indépendants et populations marquées par la présence de frondes atypiques). L'objectif de l'ensemble de ces travaux est, *in fine*, de fournir aux acteurs de la conservation du Trichomanès remarquable dans le Massif Armoricain, les arguments scientifiques nécessaires à la mise en place de mesures de protection et de gestion conservatoire des stations, afin de garantir le maintien durable du taxon sur le territoire d'étude.

Un plan de conservation d'une espèce végétale considérée comme rare ou menacée est, selon le Conservatoire Botanique National de Brest (Magnanon, 1997), constitué par trois éléments fondamentaux :

- Des actions de sensibilisation et de prévention qui permettent de travailler en amont et d'assurer une plus grande pérennité des actions de protection et de gestion.
- Des actions de protection réglementaire des sites abritant les populations de l'espèce à sauvegarder, c'est-à-dire la création de périmètres à l'intérieur desquels s'imposent des réglementations.

- Des actions de gestion qui demandent le plus souvent, pour pouvoir s'exercer, des opérations de concertation entre les différents acteurs concernés.

A ces trois éléments complémentaires, s'ajoute la nécessité de mettre en place des suivis pour mesurer l'évolution des populations. Les objectifs visés en terme de conservation de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain sont de trois ordres :

- La volonté d'empêcher toute disparition de station connue est un objectif prioritaire. Ceci peut être atteint par le biais de la sensibilisation des différents acteurs impliqués à la menace la plus importante qui pèse sur les populations de la fougère, celle des risques de modifications des conditions environnementales. Le maintien de l'intégrité des habitats auxquels la fougère est strictement inféodée est en effet indispensable pour assurer sa conservation, comme l'indiquent les analyses écologiques et écophysiologiques. La régression naturelle des recouvrements de gamétophytes en période de sécheresse est démontrée. La présence des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. est de même extrêmement liée à un taux d'humidité atmosphérique importante. Dans les deux stations forestières recensées, les frondes se développent systématiquement au-dessus d'un cours d'eau. D'autre part, le maintien des stations exige de préserver un couvert végétal offrant un éclaircissement suffisant pour être propice au développement et à la croissance de frondes, mais garantissant dans le même temps la protection contre les rayonnements lumineux trop intenses. En première approche, toute modification des habitats qui conduirait à changer durablement l'ambiance générale des stations est à proscrire.

- Comme c'est souvent le cas pour les espèces pouvant être localement relativement abondantes, le nombre de stations (165), notamment de gamétophytes indépendants (128), ainsi que les moyens attribués à la conservation de la nature, rendent impossibles la protection et le suivi de l'ensemble des stations armoricaines de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. Il est donc plutôt envisagé d'assurer la conservation à long terme d'un échantillon représentatif de l'ensemble des populations armoricaines. La réalisation d'une sélection de stations à inclure dans un plan de conservation du *Trichomanes* remarquable alliant protection réglementaire et gestion conservatoire des stations s'est imposée. Pour cela des critères sont définis sur la base des informations recueillies au cours de ce travail, que ce soit en terme de chorologie, d'écologie ou d'écophysiologie.

- Enfin, l'un des axes majeurs du plan de conservation proposé est le renforcement de certaines populations du *Trichomanes* remarquable en favorisant, par modulation contrôlée des conditions environnementales, l'émergence de la génération sporophytique dans les stations de gamétophytes indépendants. En effet, la découverte récente des deux stations forestières dans lesquelles se développent des sporophytes, fait la preuve de la capacité des gamétophytes de la fougère à produire des frondes en milieu naturel armoricain lorsque les conditions environnementales s'y prêtent. De plus, nous l'avons vu, des micro-sporophytes, dont la longueur n'excède jamais 1 cm, sont régulièrement décelés au sein des gamétophytes indépendants du *Trichomanes* remarquable. L'analyse des causes d'arrêt du développement de telles frondes juvéniles, a conduit à mettre en évidence que l'éclairement, extrêmement faible dans les stations de gamétophytes indépendants, semble le principal facteur limitant la production de sporophytes adultes. Cette thèse est corroborée à la fois par les études écophysiological du métabolisme photosynthétique des deux formes de la fougère et par l'obtention de sporophyte *in vitro* sous une densité de flux de photons de l'ordre de 10 fois supérieure à celle qui caractérise les stations de gamétophytes indépendants. Enfin, l'historique de la station forestière à sporophytes de Saint-Nicolas-du-Pélem avère ce résultat, puisque c'est bien semble-t-il à la faveur d'une trouée dans le couvert végétal dense que les frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. ont pu émerger. Ainsi, les stations qui présentent un ensemble de conditions environnementales proches de celles dans lesquelles des frondes adultes se développent pourraient être retenues pour développer des expériences visant au retour à un cycle de vie complet.

1.2 CRITERES DE SELECTION DES STATIONS A CONSERVER

Le type de populations de *Trichomanes speciosum* Willd. est l'un des premiers critères examinés. Cela amène tout d'abord à considérer qu'il est indispensable de proposer des mesures de protection pour toutes les populations où se développent conjointement sporophytes et gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. étant données la raréfaction et la très grande valeur patrimoniale de ce type de populations. L'actualisation des données portant sur les stations de la fougère dans le Massif Armoricain établit en effet la forte régression des populations sporophytiques de la fougère au cours des 50 dernières années. En 2005, seulement 35 populations de sporophytes se maintiennent dans des puits alors que 178 étaient recensées dans les années 1950.

Les données actualisées révèlent aussi que les stations de gamétophytes indépendants du *Trichomanès* remarquable présentent une aire de répartition beaucoup plus large que celles des stations à sporophytes. Comparés aux sporophytes localisés à 95% dans des puits, les gamétophytes présentent une capacité à coloniser une plus grande variété d'habitats naturels (milieux forestiers, grottes littorales) et anthropisés (puits, tunnel, caveau etc...). Pour les populations de gamétophytes indépendants, largement répandues (128 populations de gamétophytes indépendants recensées au 1^{er} janvier 2005), un échantillon représentatif de stations est donc sélectionné suivant les critères suivants :

L'abondance des gamétophytes indépendants dans la station est déterminante pour une prise en considération prioritaire. Ainsi des populations formées d'importants recouvrements (catégorie 3 : plus de 50 coussins de 1 cm² chacun plus ou moins disjoints jusqu'à former un tapis quasi-continu d'environ 1 m² ; catégorie 4 : tapis quasi-continu de 1 à 2 m² ; catégorie 5 : tapis quasi-continu de plus de 2 m²) sont privilégiées par rapport à celles qui ne présentent que quelques coussins de gamétophytes épars.

Cependant, la position géographique des stations de gamétophytes indépendants est également prise en compte de façon à retenir des populations couvrant l'ensemble de l'aire de répartition de la fougère dans le Massif Armoricaïn. En effet, en retenant des populations éloignées géographiquement, la probabilité de préserver au maximum la diversité génétique est augmentée. Des données complémentaires concernant la diversité génétique des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn pourraient permettre à l'avenir d'apporter des arguments supplémentaires pour une sélection des stations de gamétophytes indépendants à protéger en priorité.

La typologie des habitats abritant la fougère sous la forme de gamétophytes indépendants est également prise en compte pour la sélection des stations. Des mesures de protection sont ainsi proposées pour un ensemble de stations considéré comme représentatif des différents contextes écologiques dans lesquels se développent les gamétophytes du *Trichomanès* remarquable. La sélection doit notamment refléter la capacité des gamétophytes indépendants à coloniser différents types d'habitats forestiers discriminés sur la base de critères géomorphologiques, floristiques et le pouvoir de bio-indication des Bryophytes.

L'homologie des conditions environnementales qui règnent dans les stations forestières abritant des frondes atypiques et dans les puits à sporophytes, notamment en terme d'éclairement et d'humidité est démontrée. Cette homologie traduit la capacité des gamétophytes de la fougère à donner naissance à des sporophytes aptes à se développer jusqu'à un stade adulte dès lors que les conditions écologiques exigées sont réunies. Les stations de gamétophytes indépendants dont les habitats forestiers présentent des caractéristiques environnementales analogues à celles des stations abritant des sporophytes sont donc retenues d'office pour figurer parmi la sélection de sites à protéger réglementairement et pour lesquels des mesures de gestion visant à favoriser le retour à un cycle de vie complet, avec formation de frondes et croissance jusqu'à un stade de sporophyte adulte sont préconisées.

Enfin, le caractère réversible des atteintes et des menaces recensées dans les stations est également pris en compte pour sélectionner les stations pouvant faire l'objet de mesures de conservation. Les stations abritant de faibles recouvrement de gamétophytes et localisées dans des puits en très mauvais état de conservation sont écartées systématiquement.

1.3 OUTILS DE CONSERVATION MOBILISES

1.3.1 Outils d'inventaire : les Zones Naturelles d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique

Les Zones d'Intérêt Ecologique, Faunistique et Floristique (ZNIEFF) sont des zones dont le recensement est initié par le Ministère en charge de l'Environnement à partir de 1982. Il en existe de deux types : les zones de type I qui sont caractérisées par leur intérêt biologique remarquable et les zones de type II qui sont de grands ensembles naturels riches et peu modifiés aux potentialités biologiques importantes. La prise en compte d'une zone dans le fichier ZNIEFF ne lui confère aucune protection réglementaire. Cependant, leur inventaire constitue une base de connaissances utile pour améliorer la prise en compte de l'espace naturel. Le recensement des ZNIEFF est un instrument d'appréciation et de sensibilisation destiné à éclairer les décisions législatives et réglementaires protectrices de l'environnement. Dans toutes les régions de France, les Directions Régionales de l'Environnement (DIREN) réalisent un porter à connaissance auprès des communes pour leur signaler l'existence de ZNIEFF sur le territoire dont elles ont la charge.

1.3.2 Outils de sensibilisation et de prévention

L'habitat de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaire reste majoritairement le puits, notamment pour la forme sporophytique. La singularité de cet habitat soumet le taxon à une pression anthropique très forte. Les propriétaires de puits sont donc informés en tout premier lieu et rencontrés chaque fois que cela est possible. Le Trichomanès remarquable, sous sa forme de sporophytes et/ou de gamétophytes leur est montré dans le puits et les enjeux entourant son maintien sont présentés. Les exigences écologiques de la fougère leur sont exposées pour leur démontrer les effets délétères de la fermeture des puits sur la plante. Pour renforcer le discours, une plaquette d'information « le Trichomanès remarquable, une plante rare à sauvegarder » (Magnanon *et al.*, 2003) est réalisée et diffusée auprès des propriétaires de puits. Ce document rassemble des informations sur la localisation des puits abritant la fougère en Bretagne. Il montre les zones de concentration des populations à sporophytes dans les alentours des villes de Pontivy et de Ploërmel dans le Morbihan et insiste sur la rareté de la plante dans la région. Les conditions environnementales favorables à la fougère sont également présentées de façon à préconiser le maintien de l'ouverture des puits et leur entretien raisonné. De façon privilégiée, la plaquette est distribuée directement aux propriétaires et lorsque cela n'est pas possible, le document est envoyé par courrier.

1.3.3 Outils de protection réglementaire et de classement des stations

1.3.3.1 Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope

Les Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope ont pour rôle de conserver un biotope ou un milieu nécessaire à la survie d'espèces protégées, à l'aide de réglementations ou d'interdictions adaptées. L'arrêté fixe ainsi les mesures nécessaires à la sauvegarde d'un biotope (activités interdites, limitées, ou soumises à autorisation). Les Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope sont pris par le Préfet, généralement à la demande d'associations ou d'organismes publics oeuvrant en faveur de la protection de l'environnement. La mise en place de cette procédure est adaptée aux sites de petites surfaces. L'Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope dresse une liste d'interdictions mais ne prévoit pas de mesures de gestion active.

1.3.3.2 Réseau Natura 2000

Le réseau Natura 2000 est fondé sur les Directives européennes "Directive Oiseaux" et "Directive Habitats". Il a pour objectif la mise en œuvre d'actions concrètes pour "assurer le maintien ou le rétablissement dans un état de conservation favorable, des habitats naturels et semi-naturels des espèces de faune et de flore sauvage d'intérêt communautaire" (art. 2 de la Directive Habitats). Ce réseau est constitué de Sites d'Intérêt Communautaire qui recouvrent d'une part les "Zones Spéciales de Conservation" (ZSC) qui abritent des habitats et des espèces de l'annexe I et II de la Directive Habitats et d'autre part les Zones de Protection Spéciales (ZPS) qui abritent des espèces d'oiseaux mentionnées dans la "Directive Oiseaux". En France, la désignation des Zones Spéciales de Conservation est accompagnée d'un "Document d'Objectifs" qui définit les objectifs, les orientations de gestion, les moyens à mettre en œuvre ainsi que les procédures de suivi. Le Trichomanès remarquable est concerné par plusieurs ZSC et par les mesures de conservation proposées à ce titre puisqu'il figure à l'annexe 2 de la Directive Habitats, mentionnant les espèces d'intérêt communautaire. La Directive Habitats oblige les Etats Membres à assurer la surveillance de l'état de conservation des espèces et des habitats d'intérêt communautaire en ZSC, en tenant particulièrement compte des types d'habitats et des espèces prioritaires. Il est demandé aux Etats de rendre compte tous les six ans de l'évolution de l'état de conservation de ces espèces et de ces habitats via un rapport d'évaluation transmis à la Commission Européenne. Il est prévu la possibilité d'établir avec les propriétaires privés concernés des "Contrats Natura 2000" qui permettent l'application des actions proposées dans de cadre des documents d'objectifs afin d'arriver à une gestion équilibrée et durable qui tienne compte des préoccupations économiques et sociales.

1.3.3.3 Réserves Naturelles Régionales

Il s'agit de sites dont la conservation présente une importance particulière ou qu'il convient de soustraire à toute intervention artificielle susceptible de le dégrader. C'est un territoire géré à des fins conservatoires de manière planifiée, par un organisme local spécialisé et une équipe compétente, sous l'autorité du Préfet. La gestion est orientée en priorité dans un but de conservation de la nature et évaluée de façon concertée notamment grâce à un comité consultatif réunissant services de l'Etat, scientifiques, propriétaires et acteurs locaux. Les actions des réserves naturelles sont définies dans un plan de gestion, document de référence

en matière d'état des connaissances, de sensibilisation aux enjeux de protection du site, de concertation et de dialogue lors de son élaboration, de planification, de contrôle de l'avancement et d'évaluation de gestion. Il définit les options et les orientations de gestion pour les années à venir. Le plan de gestion comprend également un volet présentant les moyens à mettre en œuvre et les prévisions budgétaires. Le plan de gestion est mis en œuvre par un organisme nommé par l'Etat, qui se doit de gérer la surveillance et l'application de la réglementation, le suivi scientifique et l'évaluation du patrimoine naturel.

La Loi démocratie de proximité de 2002, à laquelle s'ajoute le décret interministériel d'avril 2005, ouvre aux Régions le droit de créer et de gérer des Réserves Naturelles Régionales. Sur leur propre initiative, les Régions peuvent désormais classer certains sites en Réserves Naturelles Régionales dont la gestion est alors placée sous l'autorité administrative du Président du Conseil Régional. Ces réserves régionales sont créées dans un but de conservation de la nature, mais les contraintes réglementaires qui s'imposent aux propriétaires concernés ne sont pas nécessairement aussi fortes que dans le cas des Réserves Naturelles d'Etat. La durée du classement, les mesures de protection et les modalités de gestion et de contrôle des prescriptions contenues dans l'acte de classement sont prévues par le Code de l'Environnement.

1.3.4 Outils de gestion

1.3.4.1 Gestion d'entretien et gestion active

En parallèle aux propositions de mesures de protection et de classement des stations de *Trichomanes speciosum* Willd., des mesures de gestion s'imposent pour assurer la conservation durable des populations. Tout d'abord les mesures de gestion d'entretien permettent de maintenir l'intégrité des habitats de la fougère qu'ils soient anthropisés ou naturels. Dans les stations ayant subi des atteintes, des mesures de gestion active peuvent être envisagées pour rétablir les conditions environnementales requises pour le maintien du *Trichomanes* remarquable. Pour la mise en œuvre de mesures de gestion, le caractère privé des parcelles où se localisent les stations est une contrainte. En effet, les exigences des propriétaires ne sont pas forcément en accord avec les règles qu'imposent la conservation d'un taxon. Dans le but d'assurer la pérennité d'un milieu présentant un intérêt général, des conventions de gestion environnementale sont donc le plus souvent établies entre les

propriétaires fonciers et des partenaires publics ou des associations de protection de l'environnement. Ce sont des contrats qui prennent la forme d'un cahier des charges préconisant les différentes mesures de gestion à respecter. Des indemnités du propriétaire peuvent exister.

1.3.4.2 Les partenaires de la gestion

1.3.4.2.1 Collectivités territoriales

Les collectivités territoriales, les communes, les départements et les régions, sont des structures administratives distinctes de l'administration de l'Etat, qui doivent prendre en charge les intérêts de la population d'un territoire précis. L'Etat français a une responsabilité majeure en matière de connaissance et de protection des espaces et des espèces. Il a récemment défini une "stratégie nationale en faveur de la biodiversité. Suite à la volonté de décentralisation de l'Etat, les collectivités territoriales se sont vues confier des missions renforcées en matière de protection du patrimoine naturel. Par ailleurs, les collectivités locales ont amplifié les actions et les moyens financiers consacrés à la conservation du patrimoine naturel sur leur territoire d'action. Elles financent des opérations d'inventaires ainsi que des mesures de protection. Il faut signaler que le présent travail, en particulier dans sa dimension diagnose écologique et propositions de mesures conservatoires, a été soutenu financièrement par le Conseil Régional de Bretagne et le Conseil Général du Finistère.

1.3.4.2.2 Direction Régionale de l'Environnement

Les Directions Régionales de l'Environnement (DIREN) sont des services du Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable. Elles comprennent différents services dont le Service Nature et Paysages (SNP), le Service Eau, Milieux Aquatiques, Risques Naturels (SERMARN) ou encore le Service Evaluation et Développement Durable (SEDD). Les DIREN animent et coordonnent des actions avec de nombreux partenaires pour protéger et gérer le patrimoine naturel et les ressources en eau. Elles contribuent tout particulièrement à la connaissance et à l'évaluation environnementale. Le directeur régional de l'environnement exerce ses compétences sous l'autorité du Préfet de Région. La DIREN Bretagne a apporté sa contribution financière à la présente étude des populations de *Trichomanes speciosum* Willd.

1.3.4.2.3 Parc Naturel Régional d'Armorique

Les Parcs Naturels Régionaux sont des territoires ruraux qui présentent une identité forte, au patrimoine naturel et culturel riche, mais à l'équilibre fragile et menacé. Ils sont créés à l'initiative des régions et de l'Etat. Ces parcs ont pour mission de protéger le patrimoine, de contribuer à l'aménagement du territoire, au développement économique, social, culturel et à la qualité de vie, d'assurer l'éducation et l'information du public. Fondé sur la notion de contrat, un parc permet aux communes de préserver et de mettre en valeur, par des mesures réglementaires ou contractuelles, leurs patrimoines locaux. Le Parc Naturel Régional s'appuie sur une charte approuvée par les collectivités locales et l'Etat, qui constitue un projet de développement durable fondé sur la préservation et la valorisation du patrimoine. Elle organise la cohérence et la coordination des actions des partenaires. Les missions du parc sont d'approfondir et diffuser les connaissances sur les milieux naturels, gérer ou participer à la gestion de l'entretien des espaces naturels, agir en faveur du maintien de la diversité des paysages et analyser des études d'impact. Le Parc Naturel Régional d'Armorique comprend les Iles et Mer d'Iroise, la Presqu'île de Crozon, l'Aulne Maritime et les Monts d'Arrée.

1.3.4.2.4 Associations de protection de la nature

Les associations locales de protection de la nature sont des acteurs et des partenaires privilégiés de la conservation du patrimoine naturel. Les principales associations bretonnes d'étude et de protection des milieux naturels tentent de fédérer, au sein du Conservatoire Régional des Espaces Naturels (C.R.E.N) de Bretagne, leurs actions en matière de conservation des espaces naturels remarquables et de protection des espèces végétales ou animales d'intérêt patrimonial. Le but est ainsi de développer un réseau breton des espaces naturels protégés dans le cadre du partenariat avec l'ensemble des acteurs régionaux concernés. Plusieurs associations, dont Bretagne Vivante-SEPNB, gèrent des réserves associatives ou même des Réserves Naturelles d'Etat.

1.3.4.2.5 Office National des Forêts

L'Office National des Forêts (ONF) est un établissement public placé sous la tutelle de l'Etat. Un contrat pluriannuel passé avec l'Etat précise les orientations de gestion et les programmes

d'action de l'ONF ainsi que leurs moyens de mise en œuvre. L'Etat confie à l'ONF des missions telles que la protection de la forêt par la création de réserves naturelles et biologiques, la production conjuguant les exigences économiques, écologiques et sociales, ainsi qu'une activité de "partenaire naturel" au service de tous les responsables de milieux naturels. L'ONF gère des forêts domaniales et des forêts de collectivités locales. Chaque forêt gérée par l'ONF fait en principe l'objet de suivi : typologie et cartographie des peuplements forestiers et des habitats naturels, inventaires phytologiques. L'ONF est amené à proposer aux collectivités territoriales la réalisation d'études et d'expertises, la réalisation de travaux et la gestion.

1.3.4.2.6 Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage

L'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage (ONCFS) est un établissement public national qui contribue à la définition, la mise en œuvre et le contrôle des mesures de gestion, en particulier de la chasse, destinées à préserver la faune sauvage et ses habitats. Au sein de l'ONCFS, des techniciens et agents techniques de l'environnement sont habilités à intervenir dans tous les domaines ayant trait à la protection de la nature dans les domaines de la protection de la faune et de la flore ou de la protection des espaces naturels par exemple. Ils mènent des actions de surveillance, de gestion, d'aménagement et de mise en valeur du patrimoine naturel.

1.3.4.2.7 Centre Régional de la Propriété Forestière

Le Centre Régional de la Propriété Forestière (CRPF) est un établissement public national administré par des propriétaires forestiers élus. Il est chargé de développer et d'orienter la production des bois et forêts privés des régions. Le CRPF est à la disposition des propriétaires forestiers et de toutes personnes souhaitant réaliser un boisement. Ses missions sont d'élaborer les orientations régionales de production s'appliquant aux forêts privées et d'agréer, après instruction, les "plans simples de gestion" demandés aux propriétaires d'une forêt de plus de 25 hectares d'un seul tenant, ou présentés à titre facultatif pour les autres forêts de plus de 10 hectares. Le CRPF réalise également des études et des expérimentations.

1.3.4.2.8 Conservatoire de l'Espace Littoral et des Rivages Lacustres

Le Conservatoire de l'Espace Littoral et des Rivages Lacustres (CELRL) est un établissement public qui mène une politique foncière visant à la protection des espaces naturels et des paysages sur les rivages maritimes et lacustres. Il acquiert des terrains fragilisés ou menacés à l'amiable, par préemption ou exceptionnellement par expropriation. Après avoir fait les travaux de remise en état nécessaire, il confie en général la gestion des terrains aux communes, à d'autres collectivités locales ou à des associations pour qu'ils assurent la gestion dans le respect des orientations qu'il définit.

1.3.4.2.9 Direction du Transport Maritime, des Ports et du Littoral

La Direction du Transport Maritime, des Ports et du Littoral (DTMPL) est un service de l'Etat chargé, notamment, de la protection du domaine public maritime (DPM). Elle doit veiller à maintenir l'équilibre entre l'aménagement et la protection du littoral. Elle travaille pour cela en relation avec les services chargés de l'urbanisme et de l'environnement.

2 PROPOSITIONS DE CLASSEMENT EN ZONES NATURELLES D'INTERET ECOLOGIQUE, FAUNISTIQUE OU FLORISTIQUE

L'actualisation des données portant sur le nombre de stations de *Trichomanes speciosum* Willd. incluses dans une ZNIEFF est effectuée en tenant compte des nouvelles stations recensées depuis 2001 jusqu'au 1^{er} janvier 2005 (**tableaux XLVI à XLIX**). 32 stations sont incluses dans des ZNIEFF de type II et 26 en ZNIEFF de type I. 15 stations sont en limite de ZNIEFF de type II et une en limite de ZNIEFF de type I.

Un élargissement des ZNIEFF est proposé pour inscrire les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. qui sont en limite. Ainsi l'élargissement de la ZNIEFF de type de II "Vallée de l'Oust" permettrait d'inclure 11 puits dans lesquels se développent des gamétophytes indépendants (**tableau XLVI**). Les limites de la ZNIEFF de type II "Menez-Rusquet" pourraient être étendues pour tenir compte de la station du *Manoir du Rusquet* (Loqueffret), un puits qui abrite la seule population finistérienne connue de sporophytes de *Trichomanès* remarquable.

Tableau XLVI : Mesures de protection réglementaire, de gestion conservatoire et de communication proposées ou déjà mises en place au 1^{er} janvier 2005 en fonction des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans des puits. Pour chaque station, la commune, le lieu-dit, le propriétaire, la forme et l'abondance de la fougère sont précisés.

Commune	Lieu dit	Propriétaires	Trichomanes speciosum Willd.		Mesures de protection réglementaire en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de gestion en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de protection réglementaire à envisager	Mesures de gestion à envisager	Mesures de communication effectuées au 1 ^{er} janvier 2005		Mesures de communication à envisager
			Forme	Abondance					Mesures de communication effectuées au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de communication à envisager	
COTES D'ARMOR											
Glomel	<i>Meinguen</i>	Mr Duncan	G	++	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-	-
	<i>Lan Bern</i>	CAT de Glomel	S	100	-	Grille posée par le propriétaire	Extension site Natura 2000 "Rive de l'Elle"	Proposition de convention de gestion entre le propriétaire, A.M.V et le CBNB	Plaquette diffusée	-	-
			G	++	Propriétaire rencontré				-	-	
Glomel	<i>Lestrou</i>	Non identifié	S	4*	ZNIEFF II "Bassin Versant de l'Elle"	Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rive de l'Elle"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Identifier le propriétaire et l'informer
FINISTERE											
Loqueffret	<i>Château du Rusquec</i>	Mr Phelep	S	200	ZNIEFF II à proximité "Menez Du - Le Rusquet"	Puits fermé	Extension de la ZNIEFF "Menez Du - Le Rusquet"	Rouvrir le puits	Plaquette diffusée	-	-
			G	+++	Site Natura 2000 "Mont d'Arrée Centre et Est"			Aspersion ponctuelle des frondes	Propriétaire rencontré	-	-
ILLE-ET-VILAINE											
Bains-sur-Oust	<i>La Bonniais</i>	communal	G	+	-	Grille posée par les ayants droit	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	-	-	Informers la Mairie
Bains-sur-Oust	<i>La Giraudais</i>	De Trogoff	G	+	-	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-	-
Bains-sur-Oust	<i>La Halais</i>	communal	G	++	-	Grille posée par les ayants droit	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	-	-	Informers la Mairie
Bains-sur-Oust	<i>Le Port Corbin</i>	communal	G	++	ZNIEFF I à proximité "Confluence Oust-Aif" Site Natura 2000 à proximité "Marais de Vilaine"	Grille posée par les ayants droit	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Informers la Mairie
Bains-sur-Oust	<i>Saint-Marcellin</i>	Mr Hochet	G	+++	-	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif" Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-	-
Bains-sur-Oust	<i>Les Touches</i>	communal	G	+++	-	Grille posée par les ayants droit	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Informers la Mairie
Bains-sur-Oust	<i>Le Quilten d'Oust</i>	communal	G	+	-	Grille posée par les ayants droit	Extension de la ZNIEFF "Confluence Oust-Aif"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Informers la Mairie
Sainte-Marie	<i>L'Aumônerie</i>	Mr Lollivier	G	+++	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-	-
Sainte-Marie	<i>La Couplais</i>	communal	G	+++	-	Grillage posé par les ayants droit	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Informers la Mairie
Sainte-Marie	<i>Maupertuis</i>	communal	G	+	-	Grille posée par les ayants droit	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Informers la Mairie
Sainte-Marie	<i>Le Pé</i>	Non identifié	G	+	-	Palette de bois posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	-	Identifier le propriétaire et l'informer

Sainte-Marie	<i>Le Pé</i>	Mr Macé	G	+++	-	-	Puits non sécurisés	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	Plaquette diffusée	-
Sainte-Marie	<i>Le Pont d'Apé</i>	communal	G	+++	-	-	Grille posée par les ayants-droit	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Informers la Mairie
Sixt-sur-Aff	<i>Cresiolan</i>	communal	G	+++	-	-	Grille posée par les ayants-droit	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Informers la Mairie
Sixt-sur-Aff	<i>La Ferme Neuve</i>	Mme Cavallon	G	+++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Sixt-sur-Aff	<i>La Renaudais</i>	communal	G	++	-	-	Grille posée par les ayants-droit	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	-
Sixt-sur-Aff	<i>Le Val</i>	Mr Duval	G	++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Informers la Mairie
LOIRE-ATLANTIQUE											
Avesnac	<i>La Mercerais</i>	Mr Boucaud	G	+++	-	-	Palette de bois posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
MORBIHAN											
Beme	<i>Guarnalgout</i>	Mr Quinto Mr Senelonge	S	50*	ZNIEFF II "Bassin versant de l'Elle"		Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
			G	+	Site Natura à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					
Bieuzy	-	Mr Le Sergent	S	7	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"		Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
			G	+++	"Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					
Bieuzy	<i>Castemec</i>	Mr Pérez	G	+++	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"		Planches posées par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
			S	20*	"Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					
Bieuzy	-	Mr Guennec	G	+++	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"		Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
			S	20*	"Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					
Buby	<i>Saint Armel</i>	Mr Le Pen	G	+++	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck"		Puits non sécurisés	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
Buby	<i>Saint Armel</i>	Mr Chapelain	G	+	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Grille CBNB posée					
Buby	<i>Saint Armel</i>	Mr Poulain	G	+++	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck"		Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
			S	15	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					
Buby	<i>Boicalper</i>	Mr Le Stunff Mr Le Franc	G	+++	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck"		Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
			S	15	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					
Carentoir	<i>Margandais</i>	Mr Soullaine	G	+++	-	-	Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Cournon	<i>Lestin</i>	Mr Fielding	G	+++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	-
			S	15	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère					

Cournon	<i>Lestun</i>	Mr Delannée	G	+	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Cournon	<i>Lestun</i>	Mr Clodic	G	+++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
La Croix-Helléan	<i>Bambrian</i>	Mr Piou	G	+	-	-	Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
La Croix-Helléan	<i>Bambrian</i>	Mme Carbillat	S	50	-	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Locataire rencontré	-
La Croix-Helléan	<i>Bambrian</i>	communal	G	+	-	-	Porte en bois posée par les ayants-droits	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère		Informers la Mairie
La Croix-Helléan	<i>Bambrian</i>	non identifié	G	+	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	Identifier le propriétaire et l'informer
La Croix-Helléan	<i>Bellon</i>	Mr Launay	G	+	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
La Croix-Helléan	<i>Bourg</i>	Mr Colin	G	+++	-	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
La Gacilly	<i>La Bouère</i>	Mme Sorel	G	+++	-	-	Grillage posé par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
La Gacilly	<i>La Bouère</i>	Mr Perrigues L.	G	+++	-	-	Grille posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
La Gacilly	<i>La Bouère</i>	Mr Perrigues B.	G	++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	Plaquette diffusée	-
La Gacilly	<i>La Vilho</i>	Mr Chenais	S G	400 +++	-	-	Grille posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Glénac	<i>Haut Roussimel</i>	Mr Racouet	G	+++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Glénac	<i>Les Pâris</i>	communal	G	++	-	-	Grille posée par les ayants-droit	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère		Informers la Mairie
Guem	<i>Guermeur</i>	Le Rayet	G	+	-	-	Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Guem	<i>Kermélinaire</i>	non identifié	G	+++	-	-	Planches apposées par le propriétaire	Extension ZNIEFF "Scorff-Forêt de Pont-Calleck"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère		Identifier le propriétaire et l'informer
Guem	<i>Qutillo</i>	Mr Rae	G	+++	-	-	Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Guiscriff	<i>Stang Ladu</i>	non identifié	G	Ind.	-	-	Puits en ruine	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces		Identifier le propriétaire et l'informer
Helléan	<i>Basse-Houssale</i>	non identifié	G	++	-	-	Puits non sécurisés	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	Plaquette diffusée	Identifier le propriétaire
Helléan	<i>Le Rohello</i>	Mr Chaplin	S G	30* +	-	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-

Helléan	<i>Le Rohello</i>	Mme Danet	G	+++	-	-	Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Helléan	<i>Petit Penlan</i>	Mme Piquot	S G	150 ++	-	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Helléan	<i>Petit Penlan</i>	Mr Jeannot	G	++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Lanvenegen	<i>Le Cleuziou</i>	Mr Hubban	S G	6 +++	ZNIEFF II "Bassin Versant de l'Elle" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Elle"	-	Puits non sécurisés	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Lanvenegen	<i>Le Roscoat</i>	Mme Jamet	S G	50 +++	ZNIEFF type II "Bassin versant de l'Elle" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Elle"	-	Grille posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Lanvenegen	<i>Le Roscoat</i>	communal	S	20*	ZNIEFF II "Bassin Versant de l'Elle" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Elle"	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Informers la Mairie
Lignol	<i>Castelgal</i>	Mr Amiot	S G	80 +++	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000 Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Lignol	<i>Quellévec</i>	Mr Bresler	G	+	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Puits non sécurisés	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Loyat	<i>Lesvan</i>	Mr Perruchot	G	++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Loyat	<i>Penhouët</i>	Mr Trehorel	G	+	-	-	Puits fermé par une porte en bois	-	Pose de grille par le propriétaire après travaux de rénovation Aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Melrand	<i>Kerchaarec</i>	Mme Jaffrézo	S G	2 ^A +++	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000 Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Melrand	<i>Kerhoh</i>	Mr Le Diagon	S G	2 ^A +++	ZNIEFF II à proximité "Scorff-Forêt de Pont Calleck" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF II "Scorff, Forêt de Pont Calleck" Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000 Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Melrand	<i>Kermer</i>	Mr Le Corre	G	++	ZNIEFF II à proximité "Scorff-Forêt de Pont Calleck" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Puits fermé par une dalle de béton	Extension de la ZNIEFF "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Peillac	<i>La Nette</i>	Mr Bouget	G	+	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Persquen	<i>Puits du presbytere</i>	Mr Berge	S G	10 +++	ZNIEFF II "Scorff-Forêt de Pont Calleck" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000 Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-

Ploërmel	Bezon	communal	G	+++	-	-	Grille posée par les ayants-droit	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Informers la Mairie
Ploërmel	Bezon	Mr Perrier	G	+	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Ploërmel	Bozac	Mr Poirier	S	30	-	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Ploërmel	Bozac	Mr Cocomnier	G	+++	-	-	Puits fermé par des planches	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Pose de grille par le propriétaire après travaux de rénovation	Propriétaire rencontré	-
Ploërmel	Roc Brien	communal	S	200	-	-	Grille posée par les ayants-droit	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Ploërmel	Ville Roulais	Mr Barbier	G	+++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	-
Pluthélin	Le Fol	Famille Moisan	S	200	-	-	Grille posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Pluméliau	Tabern-Nenez	Mr Labbay	S	2	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grillage posé par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Pose de grille par le propriétaire après travaux de rénovation	Propriétaire rencontré	-
Pluméliau	Tabern-Nenez	Mr Le Guelvoud	S	20*	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Puits fermé par une boîte aux lettres	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Pose de grille par le propriétaire après travaux de rénovation	Plaquette diffusée	-
Pluméliau	Tabern-Nenez	M ^l ls Le Metayer	G	+++	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	-
Ruffiac	Lodineu	Mr Roussel	G	++	-	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envasement par le lierre et les roncees	Plaquette diffusée	-
Ruffiac	La Rivière	non identifié	G	+	-	-	Grillage posé par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Identifier le propriétaire et l'informer
Saint-Barthélemy	Kerhulic	Mr Narduzzi	S	16*	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
Saint-Barthélemy	Lann Vraz	Mr Newby	G	+++	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	-
Saint-Barthélemy	Saint-Fiacre	Mr Guillot	S	50	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	-	Grille conçue par la mairie posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Saint-Gravé	La Begeraie	Mr De la Bouvrie	G	+	Site Natura 2000 "Vallée de l'Arz"	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envasement par le lierre et les roncees	Propriétaire rencontré	-
Saint-Martin	La Burgotais	Mr Trouillet	G	+	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	-	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Saint-Martin	La Burgotais	Mme Renaud	G	+	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	-	Grillage posé par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	Informers la Mairie (la propriétaire est en maison de retraite)

Saint-Martin	<i>La Burgotais</i>	Mr Burbou	G	+	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Martin	<i>La Burgotais</i>	Mr Guillaume	G	+	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Saint-Martin	<i>La Burgotais</i>	Mr Vinouze	G	++	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Saint-Martin	<i>Chantepie</i>	Mr Rouillé	G	+	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Martin	<i>La Croix-Piquet</i>	Mr Rouillé	G	++	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Martin	<i>Lauzanne</i>	Mr Rosez	G	+	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Martin	<i>La Touche</i>	Mr Gacc	G	+++	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Martin	<i>Véret</i>	Mr Maubec	G	++	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Grille posée par le propriétaire	Extension de la ZNIEFF "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Saint-Nicolas-du-Terre	<i>Le Bot</i>	Mr Joly	G	+	-	Grille CBNB livrée	-	Les propriétaires poseront la grille après des travaux de rénovation	Plaquette diffusée	-
Saint-Nicolas-du-Terre	<i>Quévin</i>	Mme Morin	G	+	-	Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère et lutte contre l'envahissement par le lierre et les ronces	Propriétaire rencontré	-
Saint-Nicolas-du-Terre	<i>La Raaudais</i>	Mme Simon	G	+++	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Thuriau	<i>Bod en Bren</i>	Mr Roscouet	S	15*	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Grille CBNB posée	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Contrat Natura 2000	Plaquette diffusée	-
Saint-Thuriau	<i>Kerlebos</i>	Mme Supar	G	+++	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre"	Grille posée par le propriétaire	Extension du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont-Calleck, Rivière Sarre"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Saint-Vincent-sur-Oust	<i>Les Métairies</i>	Mme Métayer	S	100	ZNIEFF II à proximité "Vallée de l'Oust"	Puits non sécurisé	Extension de la ZNIEFF II "Vallée de l'Oust"	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée	-
Taupo	<i>Bodiel</i>	Mr Chabert	S	10	Site Natura 2000 à proximité "Maraix de Villaine"	Puits fermé par des tôles	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Pose de grille par le propriétaire après travaux de rénovation	Plaquette diffusée	-
Taupo	<i>Bodiel</i>	Mr Mouillard	G	++	-	Grille posée par le propriétaire	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Propriétaire rencontré	-
Taupo	<i>Lézillac</i>	Mr Perrin	S	6*	-	Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-
Taupo	<i>Lézillac</i>	Mr Lefort	S	200	-	Grille posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaquette diffusée Propriétaire rencontré	-

Taupont	Loguel	non identifié	S	Inac.		Puits fermé par une planche de contreplaqué apposée sur une grille	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Rouvrir le puits	-	Informar la Mairie
Taupont	La Touche	Mr Buisson	G	+		Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaqueite diffusée Propriétaire rencontré	-
Taupont	La Touche	Mr Renaud	G	+		Ouverture du puits protégée par un hortensia	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaqueite diffusée	-
Taupont	La Touche	non identifié	S G	5 +++		Grille posée par le propriétaire	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	-	Identifier le propriétaire et l'informer
Taupont	La Touche	Mme Bardy	S G	120 +++		Grille CBNB posée	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaqueite diffusée Propriétaire rencontré	-
Taupont	Le Val	Mr Rault	G	+		Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaqueite diffusée Propriétaire rencontré	-
Taupont	Vieille Ville	Mr Blanchard	G	+++		Grille CBNB posée	-	Maintien de l'ouverture du puits, aspersion ponctuelle de la fougère	Plaqueite diffusée Propriétaire rencontré	-

Tableau XLVII : Mesures de protection réglementaire, de gestion conservatoire et de communication proposées ou déjà mises en place au 1^{er} janvier 2005 en fonction des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans des habitats anthropisés autres que des puits. Pour chaque station, la commune, le lieu-dit, le propriétaire, la forme et l'abondance de la fougère sont précisés.

Commune	Lieu dit	Propriétaires	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.		Mesures de protection réglementaire en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de gestion en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de protection réglementaire à envisager	Mesures de gestion à envisager	Mesures de communication effectuées au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de communication effectuées au 1 ^{er} janvier 2005
			Forme	Abondance						
MORBHAN										
Faoût	Chapelle Sainte Barbe	Commune du Faoût	G	++	"Ellé entre Barregan et Sainte-Barbe" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Ellé"	-	-	-	-	Informar la Mairie
Glénac	Haut-Sourdéac	Mr de Caqueray	G	++++	Arrêté Préfectoral de Biotope du 22/06/1992 ZNIEFF I "Confluence Oust-Aff"	Limitation de la fréquentation Interdiction de modifier l'habitat	-	-	Conservateur du site (G.L. Choquene) informé	-
Hennebont	Maison Saint Hervé		G	+++	-	-	Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope	-	Propriétaire rencontré	-
Pontivy	Château des Rohan	Mr De Rohan (président du Conseil Général). Loué à la commune pour un bail de 99 ans	G	++	-	-	-	-	Locataire (Mairie de Pontivy) informé	-

Tableau XLVIII : Mesures de protection réglementaire, de gestion conservatoire et de communication proposées ou déjà mises en place au 1^{er} janvier 2005 en fonction des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans des habitats forestiers. Pour chaque station est précisée la commune, le lieu-dit, le propriétaire, la forme et l'abondance de la fougère.

Commune	Lieu dit	Propriétaires	Trichomanes speciosum Willd.		Mesures de protection réglementaire en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de gestion en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de protection réglementaire à envisager	Mesures de gestion à envisager	Mesures de communication effectuées au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de communication à envisager
			Forme	Abondance						
COTES D'ARMOR										
Kergist-Modiou	Pontou-Mein	Mr Salhou Centre de découverte à la ferme	G	++	ZNIEFF II "Lande de Locarn"	-		Renforcement de population (émergence de sporophytes)	Propriétaire rencontré	Visite de la station avec le propriétaire
					Site Natura 2000 "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères"					
Perret	Rocher du saut du chevreuil	Mr Du Pontavice	G	++	ZNIEFF I "Eang du Fournéau"	-				Informé le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
					Site Natura 2000 "Forêt de Queneac, Vallée du Poulancre, Lande Liscuis et Gorges de Duaults"					
Ploubezre	Vallée du Léguer	Centre Communal d'Action Sociale	G	++	ZNIEFF II "Vallée du Léguer"	-	Extension du site Natura 2000 "Rivière Léguer, Forêts de Beffou, Coat an Noz et Coat an Hay"			Informé le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
					Site Natura 2000 à proximité "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères"					
Saint-Nicolas-du-Pélem	Kerlenevez	Mme Le Bars	S	80 ^A	ZNIEFF II "Lande de Locarn"	-	Extension du site Natura 2000 "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères"		Propriétaire rencontré	Informé le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	+++	Site Natura 2000 à proximité "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères"					
Saint-Servais	Forêt de Duault (près de Kervizoad)	Non identifié	G	+++	ZNIEFF II "Forêt de Duault"	-	Création d'une Réserve Naturelle Régionale	Renforcement de population (émergence de sporophytes)		Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			S	10 ^A	Site Natura 2000 "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères"					
Saint-Servais	Forêt de Duault (près de Linglay)	Non identifié	G	+++	ZNIEFF II "Forêt de Duault"	-	Création d'une Réserve Naturelle Régionale			Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			S	10 ^A	Site Natura 2000 "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères"					
FINISTERE-										
Bernier	La Mare aux Sangliers	Non identifié	G	+	ZNIEFF II "Forêt du Huelgoat et Saint-Ambroise"	-				Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	++	Site Natura 2000 "Forêt du Huelgoat"					
Briec	Forêt de Kerlez	Mr Béligné	G	++		-				Informé le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	++	ZNIEFF II "Vallée de l'Auline"					
Edern	Park an Oh'Ru	Non identifié	G	++		-				Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	++	Site Natura 2000 "Forêt de l'Auline"					
Ergué-Gaberic	Stangala	Conseil Général	G	++		-		Renforcement de population (émergence de sporophytes)		Informé le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	++	Site Natura 2000 "Forêt de l'Auline"					
Guiclan	Roch toull	Mr Le Got	G	++	ZNIEFF I "Roc'h Toull"	-				Informé le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	++	Site Natura 2000 "Forêt de l'Auline"					
Huelgoat	Grotte d'Arrias	Non identifié	G	+	ZNIEFF II "Forêt du Huelgoat et Saint-Ambroise"	-				Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
			G	+	Site Natura 2000 "Forêt du Huelgoat"					

Huelgoat	<i>Le Gouffre</i>	Non identifié	G	+	ZNIEFF II "Forêt du Huelgoat et Saint-Ambroise" Site Natura 2000 à proximité "Forêt du Huelgoat"	-	Extension du site Natura 2000 "Forêt du Huelgoat"	-	Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Loperec	<i>Bois du Nivot</i>	Lycée Agricole du Nivot	G	++	ZNIEFF II "Bois du Nivot" Site Natura 2000 à proximité "Mont d'Arrée Centre et Est"	-	Extension du site Natura 2000 "Mont d'Arrée Centre et Est"	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Loperhet	<i>Ker Simon</i>	Preneur à Construction Centre Permanent d'Initiatives pour l'Environnement (CPIE) Baillieur à construire: M ^l Boisrad et Mme Le Dreihen	G	+	-	-	-	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Loperhet	<i>Gorrequer</i>	Mme Giral	G	+	-	-	-	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Plogonec	<i>Mai Roc'h Ruisseau de Guernagapré</i>	Mr Boussard	G	++	-	-	-	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Ploudiry	<i>Vallée du Frouit Bilan</i>	Non identifié	G	++	Site Natura 2000 "Rivière Elom"	-	-	-	Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Ploudiry	<i>Valton entre Kerzouillon Izella et Milin Coz</i>	Non identifié	G	++	Site Natura 2000 à proximité "Rivière Elom"	-	Extension du site Natura 2000 "Rivière Elom"	-	Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Plougastel-Danoulas	<i>Kerherault</i>	ONF	G	+	ZNIEFF I "Bois de Kererault et Rocher de l'Impératrice" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Elom"	-	-	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
La Roche-Maurice	<i>Chapelle Ruinée</i>	Mr Abiven	G	++	ZNIEFF I "La Chapelle Ruinée" Site Natura 2000 à proximité "Rivière Elom"	-	Extension du site Natura 2000 "Rivière Elom"	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
Scatër	<i>Cascadec</i>	Usine Bolloré	G	++	-	-	-	Propriétaire rencontré	-
Trenevern	<i>Rive de l'Ellé</i>	Non identifié	G	++	ZNIEFF II "Bassin Versant de l'Ellé"	-	-	-	Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
MANCHE									
Mortain	<i>La Grande Cascade</i>	Non identifié	G	++	ZNIEFF I "Cascades de Mortain" ZNIEFF II "Forêt de la Lande Pourrie et de Mortain"	-	-	-	Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
MORBIHAN									
Sainte-Brigitte	<i>Lanniguel</i>	Mr-Du Pontavice	G	+	ZNIEFF II "Forêt de Quenecan"	-	-	-	Informier le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station
ORNE									
Le Châtelier	<i>La Chapelle des Roches</i>	Non identifié	G	+	ZNIEFF II "Forêt de Halouze"	-	-	-	Identifier, informer le propriétaire et lui indiquer la localisation de la station

Tableau XLIX : Mesures de protection réglementaire, de gestion conservatoire et de communication proposées ou déjà mises en place au 1^{er} janvier 2005 en fonction des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans des grottes des côte maritimes. Pour chaque station, la commune, le lieu-dit, le propriétaire, la forme et l'abondance de la fougère sont précisées.

Commune	Lieu dit	Propriétaires	Trichomanes speciosum Willd.		Mesures de protection réglementaire en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de gestion en place au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de protection réglementaire à envisager	Mesures de gestion à envisager	Mesures de communication effectuées au 1 ^{er} janvier 2005	Mesures de communication à envisager
			Forme	Abondance						
COTES D'ARMOR										
Binic Etables sur Mer	Plage de la Branche	DPM	G	++	ZNIEFF I "Falaises de Plouhat"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
	Pointe de Vau-Burel	DPM	G	++	ZNIEFF I "Pointe de Vau Burel"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
FINISTERE										
Beuzec-Cap Sizun	Pointe du Milier	Conservatoire du Littoral	G	++	ZNIEFF I "Ilots, falaises et landes du Cap Sizun"	Gestionnaire : commune de Beuzec-Cap-Sizun	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					Site Natura 2000 "Cap Sizun, Ile de Sein"					
Cleden-Cap-Sizun	Plage de Theolen	Terrain communal	G	++	ZNIEFF I "Ilots, falaises et landes du Cap Sizun"	-	-	-	Mairie informée	-
					Site Natura 2000 "Cap Sizun, Ile de Sein"					
Clédén-Cap-Sizun	Toull Kermeur	DPM	G	++	ZNIEFF I "Ilots, Falaises et Landes du Cap Sizun"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					Site Natura 2000 Cap Sizun, Ile de Sein"					
Crozon	Anse Saint Nicolas	DPM	G	+++	ZNIEFF I "Cap de la Chèvre"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					Site Natura 2000 "Presqu'île de Crozon"					
Crozon-Morgat	Pointe de Morgat	DPM	G	++	Site Natura 2000 à proximité "Presqu'île de Crozon"	-	Extension du site Natura 2000 "Presqu'île de Crozon"	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					ZNIEFF I "Ile d'Ouessant, partie terrestre"					
Ouessant	Baie de Lampaul – Plage de Prat	DPM	G	+++	Site Natura 2000 "Archipel de Molène et Ile d'Ouessant"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					ZNIEFF I "Ile d'Ouessant, partie terrestre"					
Ouessant	Baie de Lampaul Près de Kerc'héré 1	DPM	G	++	Site Natura 2000 "Archipel de Molène et Ile d'Ouessant"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					ZNIEFF I "Ile d'Ouessant, partie terrestre"					
Ouessant	Près de Kerc'héré 2	DPM	G	++	Site Natura 2000 "Archipel de Molène et Ile d'Ouessant"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					ZNIEFF I "Ile d'Ouessant, partie terrestre"					
Ouessant	Pointe du Cadoran	DPM	G	+++	Site Natura 2000 "Archipel de Molène et Ile d'Ouessant"	-	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					ZNIEFF I "Ilots, Falaises et Landes du Cap Sizun"					
Plogoff	Pointe du Raz (Gobinog)	DPM	G	++++	Site Natura 2000 "Cap Sizun, Ile de Sein"	Réserve SEPNEB Syndicat mixte pour l'aménagement et la protection de la Pointe du Raz et du Cap Sizun	-	-	-	Informmer la Direction des Affaires Maritimes
					Conservatoire du Littoral					

Plogoff	Pointe du Raz (Ti ar chaz'h Kozh)	DPM	G	+++	ZNIEFF I "Ilois, Falaises et Landes du Cap Sizun" Site Natura 2000 "Cap Sizun, Ile de Sein" Conservatoire du Littoral	Réserve SEPNE Syndicat mixte pour l'aménagement et la protection de la Pointe du Raz et du Cap Sizun	-	-	-	Informers la Direction des Affaires Maritimes
Plouarzel	Pointe Corsen Ruscumanoec	DPM	G	++	ZNIEFF I "Pointe de Corsen" Site Natura 2000 "Pointe de Corsen, Le Conquet"	-	-	-	-	Informers la Direction des Affaires Maritimes
MANCHE										
Flamanville	Anse de Queddy	Conservatoire du Littoral	G	+++	ZNIEFF I "Cap de Flamanville" ZNIEFF II "Dunes et Falaises de Flamanville au Rozel" Conservatoire du Littoral	-	-	-	-	-
Gréville-Hague	Point de vue sur le Castel Vendan	DPM	G	+++	ZNIEFF I "Landes et Falaises d'Ecuileville et Gréville-Hague" ZNIEFF II "La Hague" Site Natura 2000 "Côtes et Landes de la Hague"	-	-	-	-	-
MORBIHAN										
Groix	Port Saint Nicolas (grotte)	DPM	G	++	ZNIEFF II "Côte Sud de Groix de Quentrec'h à Pothroed" Site Natura 2000 "Ile de Groix"	-	-	-	-	Informers le Conservatoire du Littoral et la Direction des Affaires Maritimes
Groix	Port Saint Nicolas (rocher de la vache)	DPM	G	+++	ZNIEFF I "Pointe Saint Nicolas" Site Natura 2000 "Ile de Groix"	-	-	-	-	Informers le Conservatoire du Littoral et la Direction des Affaires Maritimes
Houat	Port Navallo	DPM	G	+++	ZNIEFF I "Ile de Houat" Site Natura 2000 "Archipel de Houat-Hoëdic, Pointe du Conguel"	-	-	-	-	Informers le Conservatoire du Littoral et la Direction des Affaires Maritimes
Perros-Guirec	Ile Tomé (côte est)	Conservatoire du Littoral	G	+++	Site Natura 2000 "Côte de Granit Rose de Milliau à Tomé, Archipel des Sept Iles" Conservatoire du Littoral	-	-	-	-	Informers le Conservatoire du Littoral et la Direction des Affaires Maritimes
Perros Guirec	Ile Tomé (côte ouest)	Conservatoire du Littoral	G	+++	Site Natura 2000 "Côte de Granit Rose de Milliau à Tomé, Archipel des Sept Iles" Conservatoire du Littoral	-	-	-	-	Informers le Conservatoire du Littoral et la Direction des Affaires Maritimes
Plœmeur	Kerroc'h	DPM	G	+++	Site Natura 2000 "Rivière Laita, Pointe du talus, Elangs du Loc'h et de Laennec" Conservatoire du Littoral	-	-	-	-	Informers la Direction des Affaires Maritimes
Plougrescant	Ile d'Er	Conservatoire du Littoral	G	++	ZNIEFF I "Ile d'Er : Grande Ile" Site Natura 2000 "Côte de Trestel à la Baie de Paimpol, Estuaires du Jaudy et du Trieux, Archipel de Bréhat" Conservatoire du Littoral	-	-	-	-	Informers le Conservatoire du Littoral et la Direction des Affaires Maritimes
Saint-Gildas-de-Rhuys	Pointe du Grand Mont	DPM	G	+++	ZNIEFF I "Le Grand Mont" Site Natura 2000 "Golfe du Morbihan, Côte Ouest de Rhuys"	-	-	-	-	Informers la Direction des Affaires Maritimes

Une extension de la ZNIEFF de type II "Scorff –Forêt de Pont Calleck" permettrait d'inclure la station de *Kerhoh* à Melrand (Morbihan) dans lequel des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont de nouveau observés depuis 2004, consécutivement à la réouverture du puits. Seuls les gamétophytes de la fougère étaient recensés ces dernières années. L'extension de la ZNIEFF pourrait également concerner le puits de *Kermélinaire* à Guern (Morbihan) dans lequel se développe un important recouvrement de gamétophytes indépendants. De la même façon, la ZNIEFF de type I "Confluence Oust-Aff" pourrait être étendue pour inclure le puits qui abrite des gamétophytes indépendants de *Trichomanes* remarquable de *Port Corbin* à Bains-sur-Oust (Ille-et-Vilaine), ainsi que les 6 autres puits à gamétophytes de la commune.

Le mauvais état de conservation de la population de gamétophytes indépendants de *Kermer* à Melrand (Morbihan) qui présente une très faible densité de filaments suite à la fermeture du puits, n'incite pas à proposer une extension de la ZNIEFF "Scorff-Forêt de Pont Calleck" à cette station, qui semble condamnée.

3 PROPOSITIONS DE MESURES DE PREVENTION ET DE SENSIBILISATION

3.1 EN HABITATS ANTHROPISES

Le **tableau XLVI** (cf. p. 199 à 209) montre que 29 propriétaires de puits dans lesquels se développent des sporophytes sont personnellement rencontrés tandis que 3 sont informés par courrier. Il demeure encore 3 propriétaires de puits abritant des sporophytes dont l'identité n'est pas encore déterminée (*Le Loguel* et *La Touche* à Taupont, Morbihan ; *Lestrou* à Glomel, Côtes d'Armor). Pour les puits abritant des gamétophytes indépendants, 35 propriétaires de puits sont personnellement contactés, 25 propriétaires absents lors des visites ou demeurant dans des localités éloignées sont informés par courrier. 15 puits communaux n'ont pas encore fait l'objet d'information et un contact avec les Mairies reste à organiser. La Mairie de Bubry (Morbihan) alertée au sujet de la présence du *Trichomanes* remarquable dans 3 puits de la municipalité a souhaité, de sa propre initiative, informer la population et l'encourager à rechercher la fougère dans les autres puits de la commune, par une annonce dans le Bulletin Municipal.

Le Trichomanès remarquable est recensé dans 4 autres habitats anthropisés dans le Massif Armoricaïn. Concernant la carrière du *Haut-Sourdéac* à Glénac (Morbihan), l'Etat, en charge du contrôle de l'Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope mis en place sur ce site, est informé de la présence des gamétophytes indépendants de la fougère. Pour le *Tunnel du Château des Rohan* à Pontivy (Morbihan), la présence des gamétophytes indépendants sur les parois internes est signalée à la Mairie. Suite au constat de la présence de nombreux détritux aux abords du tunnel, l'attention du technicien chargé de l'entretien du tunnel est attirée sur la présence des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. afin qu'il ne soit pas porter atteinte à l'espèce protégée à l'occasion de futurs déblaiements. Cette information a donné lieu à une publication dans un compte-rendu de réunion du Conseil Municipal. Pour le caveau localisé à la *Maison Saint-Hervé* à Hennebont, la station de la fougère composée d'un recouvrement de gamétophytes indépendants est visitée en compagnie du directeur des lieux. Enfin, pour la population de gamétophytes indépendants présente dans un édifice religieux de *La Chapelle Sainte-Barbe* au Faouët, l'information de la commune, responsable de l'entretien des lieux, est programmée.

3.2 EN HABITATS NATURELS

Pour les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées en habitat naturel, 16 propriétaires de stations forestières sont identifiés tandis que 11 restent encore à déterminer (cf. tableau XLVIII p. 206 et 207). Il est programmé de contacter les propriétaires des parcelles où se localisent les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. de façon à les informer de la présence de la plante, à les sensibiliser sur sa rareté et leur présenter les exigences écologiques de la fougère. Il est envisagé de présenter *in situ* le Trichomanès remarquable à chacun des propriétaires de façon à ce qu'il puisse bien identifier la fougère et connaître précisément la localisation de celle-ci dans leur propriété.

Pour les stations littorales, 18 sont situées sur le Domaine Public Maritime. Une information de la Direction des Affaires Maritimes est prévue pour ces stations. Cinq d'entre elles sont localisées sur des territoires acquis par le Conservatoire de l'Espace Littoral et des Rivages Lacustres. La station de la *Plage de Theolens* est propriété de la commune de Cléden-Cap Sizun car la grotte est incluse dans le parking communal. Là aussi, une information des propriétaires est envisagée (cf. tableau XLIX p. 208 et 209).

4 MESURES DE PROTECTION REGLEMENTAIRE ET DE CLASSEMENT DES STATIONS

4.1 PAR ARRETES PREFECTORAUX DE PROTECTION DE BIOTOPE

La mise en place des Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope est proposée pour les puits qui ne sont ni inclus ni en limite d'un Natura 2000, et qui abritent des populations de Trichomanès remarquable où se développent conjointement des sporophytes et des gamétophytes. Ces mesures, simples à mettre en place, conviennent en effet aux petites surfaces des stations et à leur caractère anthropisé. Des Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope permettraient de garantir l'ouverture des puits, indispensable au maintien de *Trichomanes speciosum* Willd. notamment sous forme de sporophytes. Ces mesures de protection sont proposées pour 16 puits (**tableau L**).

Tableau L : Puits abritant *Trichomanes speciosum* Willd., non inclus dans un site Natura 2000, ni en limite, pour lesquels est proposée la mise en place d'un Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope

Commune	Lieu-Dit
La Croix-Helléan	Bambruan
La Gacilly	La Villio
Helléan	Le Rohello Petit Penlan (puits de Mme Piquot)
Lanvenegen	Le Roscoat (puits de Mme Jamet) Le Roscoat (puits communal) Le Cleuziou
Ploërmel	Boyac (puits de Mr Poirier) Boyac (puits de Mr Coconnier) Roc Brien
Pluherlin	Le Fol
Taupont	Bodiel Lezillac (puits de Mr Perrin) Lezillac (puits de Mr Lefort) La Touche La Touche (puits de Mme Bardy)

Pour les puits qui abritent des gamétophytes indépendants du Trichomanès remarquable, une étude des Bryophytes associées à la fougère est envisagée. Elle permettrait de cibler les puits dans lesquels les conditions environnementales sont proches de celles qui permettent la croissance de sporophytes, tel que cela a été réalisé en milieu forestier. Ainsi, les puits où une potentialité de voir émerger des sporophytes est décelée seront privilégiés pour la mise en place d'Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope. Dès à présent, en raison de l'abondance des gamétophytes et de la grande humidité et fraîcheur régnant dans les édifices, la mise en

place d'Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope est préconisée pour les puits morbihannais du *Bourg* à La Croix-Héllean, de *La Bouère* (Mr Perrigue L.) à la Gacilly, de *Bezon* à Ploërmel, ainsi que la station de *Saint-Marcellin* à Bains-sur-Oust en Ille-et-Vilaine et celle de *La Mercerais* à Avessac en Loire-Atlantique.

Pour les 4 stations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans d'autres types d'habitats anthropisés, l'une d'entre elles, la carrière du *Haut-Sourdéac* (Glénac, Morbihan) bénéficie d'ores et déjà de la mise en place d'un Arrêté Préfectoral de Protection de Biotope. Elle est motivée par la présence de chauve-souris, mais le *Trichomanès* remarquable en bénéficie. Cet arrêté de juin 1992 interdit toute action susceptible de porter atteinte à l'équilibre du milieu et à la survie des espèces animales protégées. Il semble incontournable de mener à bien les démarches permettant de prendre en compte la présence des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. et que soient également interdites les modifications du milieu pouvant nuire à la fougère, comme un déboisement par exemple.

Enfin, la mise en place d'un Arrêté Préfectoral de Protection Biotope est préconisé pour assurer le maintien de l'important recouvrement de gamétophytes localisé dans le caveau de la *Maison Saint-Hervé* à Hennebont (Morbihan). Cette mesure ne s'avère pas nécessaire pour la station localisée dans le tunnel du *Château des Rohan* à Pontivy puisque, sensibilisée, la Mairie a fait suivre l'information à travers une publication dans le compte rendu du Conseil Municipal. Il en va de même pour la station de *La Chapelle Sainte-Barbe* au Faouët (Morbihan) qui figure dès à présent dans la ZNIEFF de type I "Ellé entre Barregan et Sainte-Barbe", et pour laquelle il est prévu d'informer la Mairie.

Il ne semble pas opportun de recommander la mise en place d'Arrêtés Préfectoraux de Protection de Biotope pour des stations de *Trichomanes speciosum* Willd. en milieu naturel. En effet, elles bénéficient d'autres mesures de protection (Natura 2000, ZNIEFF) à l'exception de la station finistérienne de gamétophytes indépendants de *Stangala* à Ergué-Gabéric, qui présente des caractéristiques environnementales très proches de celles où des sporophytes se développent. La parcelle concernée appartenant au Conseil Général du Finistère, la sensibilisation à la présence de la fougère et aux enjeux entourant sa conservation devrait suffire à assurer son maintien. De même, pour le *Bois de Kerlez* à Briec (Finistère),

l'information du propriétaire devrait assurer le maintien de l'intégrité de l'habitat du *Trichomanes* remarquable et d'une autre fougère rare, menacée et protégée sur le territoire national, *Dryopteris aemula* (Aiton.) O.Kuntze.

4.2 PAR PRISE EN COMPTE DANS LE RESEAU NATURA 2000

4.2.1 En habitat littoral

Dix-neuf stations armoricaines de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans des grottes des côtes maritimes sur les 24 recensées sont incluses dans les limites d'un site Natura 2000 (**tableau LI**).

Tableau LI : Stations de *Trichomanes speciosum* Willd. en habitat littoral incluses dans un site Natura 2000

Site Natura 2000	Commune	Lieu-dit
Côte de Granit Rose de Milliau à Tomé, Archipel des Sept Iles	Perros-Guirrec	<i>Ile Tomé (côte est)</i>
		<i>Ile Tomé (côte ouest)</i>
Cap Sizun, Ile de Sein	Plogoff	<i>Golvinog</i>
		<i>Ti ar chaz'h Kozh</i>
	Cléden-Cap Sizun	<i>Toull Kermeur</i>
		<i>Plage de Theolen</i>
Beuzec-Cap Sizun	<i>Pointe du Milier</i>	
Rivière Laïta, Pointe du Talus, Etangs du Loc'h et de Laennec	Ploëmeur	<i>Kerroc'h</i>
Ile de Groix	Groix	<i>Port Saint-Nicolas</i>
		<i>Rocher de la vache</i>
Archipel de Houat, Hoëdic, Pointe du Conquet	Houat	<i>Port Navallo</i>
Golfe du Morbihan, Côte Ouest de Rhuys	Saint-Gyldas-de-Rhuys	<i>Pointe du Grand Mont</i>
Pointe de Corsen	Plouarzel	<i>Ruscumunoc</i>
Côte de Trestel à la Baie de Paimpol, Estuaires du Jaudy et du Trieux, Archipel de Bréhat	Plougrescant	<i>Ile d'Er</i>
Archipel de Molène et Ile d'Ouessant	Ouessant	<i>Plage de Prat</i>
		<i>Près de Kerc'héré 1</i>
		<i>Près de Kerc'héré 2</i>
		<i>Pointe de Kadoran</i>
Presqu'île de Crozon	Crozon	<i>Anse Saint-Nicolas</i>
Côtes et Landes de la Hague	Gréville-Hague	<i>Point de vue sur le Castel Vendon</i>

Le site Natura 2000 "Presqu'île de Crozon" pourrait être étendu pour inclure la station de la *Pointe de Morgat* à Crozon-Morgat (Finistère), station qui comprend un recouvrement important de gamétophytes indépendants. Pour les stations costarmoricaines de l'*Ile Tomé* (Perros-Guirrec) et de l'*Ile d'Er* (Plougrescant), la station morbihannaise de *Kerroc'h* (Ploëmeur), et les stations finistériennes de l'*Anse Saint-Nicolas* (Crozon) et de *Ruscumunoc* (Plouarzel), la présence des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. est signalée dans

les documents d'objectifs Natura 2000. Pour les stations localisées dans les sites Natura 2000 "Cap Sizun, Ile de Sein", "Archipel de Houat, Hoëdic, Pointe du Conquet", "Archipel de Molène et Ile d'Ouessant", " Golfe du Morbihan, Côte Ouest de Rhuys", il s'agira de veiller à ce que la présence du Trichomanès remarquable soit prise en compte dans les futurs documents d'objectifs. Enfin, pour le site Natura 2000 "Ile de Groix", les stations de la fougère n'étaient pas connues au moment des inventaires. Elles ne figurent pas dans les documents d'objectifs. Les démarches nécessaires vont être effectuées pour que soit prise en compte la présence de la fougère.

4.2.2 En habitat forestier

Sur le territoire couvert par les sites Natura 2000 figurent également des stations forestières de Trichomanès remarquable (**tableau LII**). La présence de la fougère doit être mentionnée dans les documents d'objectifs des sites Natura 2000. Ceci est particulièrement important pour la station de *La Forêt de Duault* à Saint-Servais (Côtes d'Armor), une des deux seules stations forestières du Massif Armoricaïn dans lesquelles la fougère développe conjointement des sporophytes et des gamétophytes. Le document d'objectifs du site "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères" dans lequel est incluse cette station est actuellement en cours de rédaction, ce qui permettra d'y mentionner également la station de gamétophytes indépendants de *Pontou-Mein* à Kergrist-Moëlou (Côtes d'Armor).

Pour la station du *Saut du Chevreuil* (Perret, Côtes d'Armor), la réalisation du document d'objectifs du site Natura 2000 "Forêt de Quenecan, Vallée du Poulancre, Lande de Liscuis et Gorges du Daoulas", n'a pas encore débuté. Il s'agira donc de veiller à ce que soit prise en compte la présence des gamétophytes indépendants. Enfin, les stations de gamétophytes de la *Grotte d'Arthus* (Huelgoat, Finistère) et de *La Mare aux Sangliers* (Berrien, Finistère) sont incluses dans ses limites du site Natura 2000 "Forêt de Huelgoat" et elles figurent dans le document d'objectif relatif à ce site. Le document d'objectif cite aussi la station de gamétophytes indépendants du *Gouffre* (Huelgoat, Finistère) qui est localisée en limite du site Natura 2000 mais dont le périmètre, actuellement en cours de révision, devrait inclure la station.

Tableau LII : Stations forestières de *Trichomanes speciosum* Willd. incluses dans un site Natura 2000

Site Natura 2000	Commune	Lieu-dit
Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères	Kergrist-Moëlou	<i>Pontou-Mein</i>
	Saint-Servais	<i>Forêt de Duault 1</i>
		<i>Forêt de Duault 2</i>
Forêt de Quenecan, Vallée du Poulancré, Lande de Liscuis et Gorges du Daoulas	Perret	<i>Saut du Chevreuil</i>
Forêt du Huelgoat	Huelgoat	<i>Grotte d'Arthus</i>
	Berrien	<i>La Mare aux Sangliers</i>

Sept stations de gamétophytes indépendants se situent par ailleurs à proximité de sites Natura 2000 (**tableau LIII**). L'extension du périmètre du site "Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères" en vue d'y intégrer la station de la Forêt de *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor) est proposée. Cette station constitue l'une des deux seules localités du Massif Armoricaïn où le Trichomanès remarquable est présent sous la forme de gamétophytes et de sporophytes. Les autres stations en limite de sites Natura 2000 sont composées de gamétophytes indépendants. Ceux-ci sont particulièrement abondants à Ploudiry (*Vallon entre Kerraoullon Izella et les ruines de Milin Coz*, Finistère) et à Plougastel-Daoulas (*Kererault*) dans le Finistère, ce qui motive l'intégration de ces deux stations dans le site Natura 2000 "Rivière Elorn".

Par ailleurs, les études écologiques et physiologiques mises en œuvre montrent que les conditions environnementales qui caractérisent la station du *Gouffre* à Huelgoat (Finistère) sont analogues à celles qui permettent le développement de sporophytes. Il s'agit d'un argument supplémentaire pour l'intégration de cette station dans le site Natura 2000 "Forêt de Huelgoat". A Ploubezre (Côtes d'Armor) et Lopérec (Finistère), les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont peu abondants, mais le caractère prioritaire donné à la protection de la fougère par la Directive Habitats motive l'extension des sites Natura 2000 pour inclure ses stations. De plus, la station de Ploubezre est la station forestière la plus septentrionale de Bretagne. A Lopérec, les conditions écologiques sont caractéristiques des habitats des gamétophytes indépendants du Trichomanès remarquable, un couvert de chênaie-hêtraie à strate herbacée formant un recouvrement de 90%, dominée par *Luzula sylvatica* (Huds.) Gaud.

Tableau LIII : Stations forestières de *Trichomanes speciosum* Willd. présentes en limite de site Natura 2000.

Site Natura 2000	Commune	Lieu-dit
Rivière Elorn	Ploudiry	<i>Vallon entre Kerraoullon Izella et les ruines de Milin Coz</i>
	La Roche-Maurice	<i>La Chapelle Ruinée</i>
	Plougastel-Daoulas	<i>Kererault</i>
Mont d'Arrée Centre et Est	Lopérec	<i>Bois du Nivot</i>
Rivière Léguer, Forêts de Beffou, Coat an Noz et Coat an Hay	Ploubezre	<i>Vallée du Léguer</i>
Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères	Saint-Nicolas-du-Pélem	<i>Kerlenevez</i>
Forêt du Huelgoat	Huelgoat	<i>Le Gouffre</i>

4.2.3 En habitat anthropisé

L'actualisation des données chorologiques et des données concernant la protection réglementaire de stations constituées par des habitats anthropisés montre que 4 puits abritant le *Trichomanes* remarquable sont inclus chacun dans un site Natura 2000 (**tableau LIV**). Ces puits sont donc à prendre en compte dans les objectifs de conservation imposés par la Directive Habitats. Les démarches pour la prise en compte de la station de *Quilio* (Guern, Morbihan) dans le document d'objectifs du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre" sont en cours. Pour les sites "Vallée d'Arz" et "Rivière Ellé", la rédaction des documents d'objectifs n'a pas débutée mais il conviendra de mentionner la présence d'un puits abritant les gamétophytes indépendants de la fougère dans chacun de ces deux sites.

Tableau LIV : Stations de *Trichomanes speciosum* Willd. en habitat anthropisé présentes dans un site Natura 2000

site Natura 2000	Commune	Lieu-dit
Vallée d'Arz	Saint-Gravé	<i>La Bogeraie</i>
Rivière Ellé	Guiscriff	<i>Stang Ludu</i>
Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre	Guern	<i>Quilio</i>

Par ailleurs, 22 puits morbihannais dans lesquels se développent *Trichomanes speciosum* Willd. sous forme de sporophytes ou de gamétophytes sont recensés en limite du site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre" (**tableau LV**). Il est proposé d'étendre le site Natura 2000 "Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre" de façon à intégrer ces puits dont 10 abritent conjointement sporophytes et gamétophytes du *Trichomanes* remarquable. Quant à la station du *Manoir du Rusquec* à Loqueffret, où se

développe la seule population finistérienne à sporophytes, elle est en limite du site Natura 2000 "Mont d'Arrée Centre et Est" et il est prévu que le périmètre du site soit adapté courant 2005, notamment pour intégrer cette station. D'ores et déjà, la présence de *Trichomanes speciosum* Willd. est citée dans l'état des lieux rédigé dans le cadre du document d'objectif. Il n'est pas proposé en revanche d'intégrer au réseau Natura 2000 les puits de *Quelféneq* à Lignol et de *Kermer* à Melrand (Morbihan) en raison du mauvais état des populations dans ces deux stations qui abritent un faible recouvrement de gamétophytes.

Tableau LV : Habitats anthropisés abritant *Trichomanes speciosum* Willd. situés en limite d'un site Natura 2000. S / G : puits à gamétophytes et sporophytes; G : puits à gamétophytes indépendants.

Site Natura 2000	Commune	Lieu-Dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.
Rivière Scorff, Forêt de Pont Calleck, Rivière Sarre	Berne	<i>Guernalgout</i>	S / G
	Bieuzy	<i>Bourg (Mr Sergent)</i>	S / G
		<i>Bourg (Mr Perez)</i>	G
		<i>Castennec</i>	S / G
	Bubry	<i>Saint Armel (Mr Le Pen)</i>	G
		<i>Saint Armel (Mr Chapelain)</i>	G
		<i>Saint Armel (Mr Poulain)</i>	G
		<i>Botcalper</i>	G
	Guern	<i>Kermélinaire</i>	G
		<i>Guermeur</i>	G
	Lignol	<i>Castelgal</i>	S / G
		<i>Quelféneq</i>	G
	Loqueffret	<i>Manoir du Ruscquec</i>	S / G
	Melrand	<i>Kerhoh</i>	G
		<i>Kermer</i>	G
		<i>Kercloarec</i>	G
	Persquen	<i>Presbytère</i>	S / G
	Pluméliaou	<i>Talvern-Nenez (M^{elle} Le Métayer)</i>	G
		<i>Talvern-Nenez (Mr Le Guelvoud)</i>	S / G
		<i>Talvern-Nenez (Mr Labbay)</i>	G
Saint-Barthélémy	<i>Saint-Fiacre</i>	S / G	
	<i>Kerhuilic</i>	S / G	
	<i>Lann Vraz</i>	G	
Saint-Thuriau	<i>Bod en Bren</i>	S / G	
	<i>Kerlebost</i>	S / G	
Rivière Ellé	Glomel	<i>Lan Bern</i>	S / G
		<i>Lestrou</i>	S / G
	Lanvenegen	<i>Le Roscoat (Mme Jamet)</i>	S / G
		<i>Le Roscoat (puits communal)</i>	S / G
		<i>Le Cleuziou (Mr Huiban)</i>	S / G
	Le Faouët	<i>La Chapelle Sainte-Barbe</i>	G

L'intégration au site "Rivière Ellé" (**tableau LV**) des 2 seuls puits des Côtes d'Armor qui abritent des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd., celui de *Lan Bern* et celui de *Lestrou*, tous deux à Glomel, est à envisager. Il est proposé également que les deux puits à sporophytes et gamétophytes du *Roscoat* et du *Cleuziou* (Lanvenegen, Morbihan) et la station de

gamétophytes indépendants de la *Chapelle Sainte-Barbe* (Le Faouët, Morbihan) soient intégrés dans le site Natura 2000 "Rivière Ellé" duquel ces 3 stations se trouvent en limite. Le document d'objectif n'ayant pas encore été rédigé pour ce site, il conviendra d'y faire mentionner la présence des stations.

4.3 PAR CREATION D'UNE RESERVE NATURELLE REGIONALE

La création d'une Réserve Naturelle Régionale dans les Côtes d'Armor, réunissant la *Forêt de Duault* à Saint-Servais et le bois de *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem, est proposée. Ces deux sites abritent en effet les deux seules populations armoricaines de *Trichomanes speciosum* Willd. en habitat naturel où se développent conjointement des gamétophytes et des sporophytes. Par ailleurs, le site de Saint-Servais abrite, en plus du Trichomanès remarquable, une espèce protégée au niveau national, *Dryopteris aemula* (Ait.) O. Kuntze et celui de Saint-Nicolas-du-Pélem, *Osmunda regalis* L., une espèce qui s'est raréfiée en France mais encore bien représentée en Bretagne (Prelli, 2002). Les motivations invoquées sont recevables pour ce type de classement comme l'indique le Code de l'Environnement, puisqu'il s'agit de "la préservation d'espèces végétales en voie de disparition sur tout ou partie du territoire national" et de la "préservation de biotope".

Les critères écologiques et physiologiques établis pour le Trichomanès remarquable, notamment sous sa forme de sporophytes, prouvent que la fougère réclame pour son maintien des conditions environnementales très spécifiques. En particulier, l'humidité atmosphérique élevée est un facteur majeur. Dans les deux stations citées ci-dessus, les frondes de la fougère se développent à quelques centimètres au-dessus du cours d'eau, dans la zone de brumisation permanente. Le statut de Réserve Naturelle Régionale permettrait de prendre en compte tout autant la protection du couvert forestier que celle des cours d'eau, de façon à garantir qu'aucun aménagement en amont ne vienne perturber ni la quantité, ni la qualité des eaux circulant dans les stations de *Trichomanes speciosum* Willd. La caractérisation fine des habitats de la fougère montre bien l'homologie des conditions environnementales régnant dans ces deux stations. Les enjeux et les menaces potentielles étant similaires dans les deux stations, la création d'une seule Réserve Naturelle Régionale éclatée sur les deux sites est donc proposée. De plus, les deux sites étant proches géographiquement (20 km), les mêmes acteurs de la conservation pourront sans doute être mobilisés.

5 MESURES DE GESTION ET DE SUIVI DES STATIONS

5.1 GESTION DES STATIONS ANTHROPISEES

5.1.1 Gestion d'entretien

L'usage de la carrière du *Haut-Sourdéac* à Glomel (Morbihan) est réglementée par une convention de gestion tripartite entre le propriétaire du site et deux associations (Bretagne Vivante et le Groupe Mammalogique Breton). Elle abrite le plus important recouvrement de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricain. La convention de gestion est au départ mise en place pour préserver une colonie de chauve-souris qui niche dans le site. Le Trichomanès remarquable bénéficie indirectement des mesures prises en faveur des chiroptères qui consistent à limiter la fréquentation du site.

Le principe d'une convention de gestion tripartite entre le CBNB, le Centre d'Aide par le Travail et une association naturaliste locale, l'Association de Mise en Valeur de Lan Bern et Magoar est envisagé afin d'assurer la conservation de la population de *Trichomanes speciosum* Willd. du puits de *Lan Bern* à Glomel (Côtes d'Armor). En effet, le Trichomanès remarquable y a subi des modifications majeures d'habitat : le puits a été quasi entièrement dévégétalisé. Les frondes de *Trichomanes speciosum* Willd. qui ont été maintenues, ne bénéficient plus de l'ombrage indispensable procuré par des ronces et d'autres Ptéridophytes (*Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn et *Dryopteris dilatata* (Hoffm.) A Gray). L'éclaircissement trop intense entraîne le brunissement des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd., espèce qui se développe en condition de lumière diffuse. Une convention de gestion devrait permettre d'éviter que se renouvèlent de telles atteintes liées à la méconnaissance des exigences du Trichomanès remarquable.

Pour les puits localisés dans les sites Natura 2000, la mise en œuvre de Contrats Natura 2000 permettraient de définir les modalités de la gestion à préconiser par les propriétaires des puits. Le Contrat Natura 2000 comprend la liste des actions à effectuer, les parcelles concernées, le montant des aides de l'Etat, les justificatifs permettant le contrôle et le cahier des charges des actions contractualisées. L'établissement de tels contrats avec les propriétaires de puits est préconisé afin de garantir en particulier que les puits seront maintenus ouverts. Par ailleurs, le contrat pourrait préconiser l'arrosage régulier des frondes de *Trichomanes speciosum* Willd.

de façon à maintenir un degré d'humidité élevé en mimant le geste d'antan, consistant à relever l'eau au seau, puisque cela contribuait à asperger la fougère. Pour les puits qui abritent uniquement des gamétophytes, dont l'atmosphère interne est sèche toute l'année ou bien ponctuellement, des aspersion ponctuelles sont conseillées. De plus, il est demandé aux propriétaires de lutter contre l'envahissement des puits par le lierre et les ronces comme c'est le cas dans les puits laissés à l'abandon. Ces mesures sont préconisées auprès de chaque propriétaire de puits rencontrés personnellement et les mêmes recommandations figurent dans la plaquette d'information (Magnanon *et al.*, 2003) que chacun des propriétaires reçoit.

5.1.2 Gestion active

Afin de concilier objectifs de conservation et sécurité, en permettant la réouverture ou la non-fermeture de puits, des modèles de grilles adaptés aux différentes ouvertures des puits à protéger sont élaborés à l'initiative du Conservatoire Botanique National de Brest. Des grilles en métal sont conçues sur mesure pour les puits à ouverture horizontale abritant le *Trichomanès* remarquable (principalement observés dans la région de Pontivy) et des grilles en bois pour les puits à ouverture verticale (dans les environs de Ploërmel). Les grilles en métal sont réalisées par le Lycée Professionnel de Lanroze de Brest (Finistère) et celles en bois par le Centre d'Aide par le Travail de Scaër (Finistère). Il est fait appel à la collaboration des Services Techniques des communes concernées pour la pose à proprement parler des grilles. Des loquets et des cadenas sont distribués aux propriétaires de puits de façon à assurer tout à la fois la sécurité autour du puits et l'accès libre à l'eau. Un double de la clé du cadenas est déposé dans les mairies respectives. La signature d'un document officiel expliquant le contexte de la pose de la grille et les implications de chacun des 3 partenaires (le Conservatoire Botanique National de Brest, le propriétaire du puits et la Mairie de la commune concernée) est proposée.

Ainsi, 13 puits dont la fermeture était constatée en 2001 ont pu être réouverts. 9 grilles en métal et 4 grilles en bois sont d'ores et déjà posées (**tableau LVI, figure 104**).

Tableau LVI : Puits fermés ayant bénéficié de la mise en place d'une grille conçue par le Conservatoire Botanique National de Brest et posée par les agents des Services Techniques des communes concernées. S/G : puits à sporophytes et à gamétophytes ; G : puits à gamétophytes indépendants

Commune	Lieu-Dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	Type de grille
Berné	<i>Guernalgout</i>	S / G	métal
Bieuzy	<i>Bourg</i>	S / G	métal
Bubry	<i>Saint-Armel (Mr Chapelain)</i>	G	métal
Bubry	<i>Saint-Armel (Mr Poulain)</i>	G	métal
La Croix-Helléan	<i>Bourg</i>	G	métal
Guern	<i>Guermeur</i>	G	métal
Helléan	<i>Le Rohello (Mr Colin)</i>	S /G	bois
Helléan	<i>Le Rohello (Mme Danet)</i>	G	bois
Helléan	<i>Petit Penlan</i>	S / G	bois
Lanvenegen	<i>Le Roscoat (communal)</i>	S	métal
Pluméliau	<i>Talvern-Nenez (M^{elle} le Métayer)</i>	G	métal
Saint-Barthélémy	<i>Kerhuilic</i>	S / G	métal
Taupont	<i>Vieille Ville</i>	G	bois



Figure 104: Grille en bois posée sur un puits à ouverture verticale, précédemment fermé, *Petit Penlan* à Helléan (Morbihan) (à gauche). Etat sublétal des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. avant la réouverture (à droite)

Par ailleurs, 13 grilles sont posées par anticipation, sur des puits ouverts, mais dont les propriétaires nous ont confié souhaiter les fermer prochainement pour plus de sécurité, et sur des puits dont le système de sécurisation est apparu peu fiable à moyen terme (grillage usagé, planches de bois en état de pourrissement, etc.). 9 grilles en bois et 4 en métal sont ainsi mises en place (**tableau LVII**). Précisons que pour le puits de *La Margandais* à Carentoir (Morbihan), en préalable à la mise en place d'une grille en bois pour sécuriser l'ouverture, la

coupe de l'if qui se développait dans l'édifice est préconisée auprès du propriétaire. La coupe est effectuée durant le printemps 2004. Seuls deux propriétaires de puits ont accepté de signer le document établissant officiellement le contexte de la pose des grilles et les droits et devoirs des partenaires.

Tableau LVII : Puits ayant bénéficié, par principe de précaution, de la mise en place d'une grille conçue par le Conservatoire Botanique National de Brest et posée par les agents des Services Techniques des communes concernées

Commune	Lieu-Dit	<i>Trichomanes speciosum</i> Willd.	Type de grille
Carentoir	<i>La Margandais</i>	G	bois
La Croix-Hélléan	<i>Bambruan (Mr Piou)</i>	G	bois
La Croix-Hélléan	<i>Bambruan (Mme Carbillet)</i>	S / G	bois
Guern	<i>Quilio</i>	G	metal
Ploërmel	<i>Boyac (Mr Poirier)</i>	S / G	métal
Saint-Barthélémy	<i>Lan Vraz</i>	G	bois
Saint-Nicolas-du-Tertre	<i>Le Bot</i>	G	métal
Saint-Nicolas-du-Tertre	<i>Quilvin</i>	G	bois
Ploërmel	<i>Lézillac</i>	S / G	bois
Saint-Thuriau	<i>Bod en Bren</i>	G	métal
Taupont	<i>La Touche (Mr Buisson)</i>	G	bois
Taupont	<i>La Touche (Mme Bardy)</i>	S / G	bois
Taupont	<i>Le Val</i>	G	bois

Au 1^{er} juin 2005, un bilan général indique que les puits du Massif Armoricaïn abritant conjointement les sporophytes et les gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. sont maintenant ouverts ou réouverts, à l'exception de deux d'entre eux. Ainsi, le puits du *Loguel* à Ploërmel (Morbihan) est bien équipé d'une grille, mais elle est recouverte d'une plaque de contreplaqué. Les démarches sont en cours pour identifier l'héritier de la propriété et laisser en place la grille uniquement. Le second puits, bouché par une palissade en bois, est celui du site classé du *Manoir du Rusquec* à Loqueffret (Finistère). Une rencontre est programmée en 2006 pour tenter de concilier sécurité et maintien du *Trichomanès* remarquable dans cette station, la seule dans le département où se développent des frondes de la fougère. De même, l'ensemble des puits abritant des gamétophytes indépendants sont désormais ouverts à l'exception du puits de *Kermer* à Melrand (Morbihan) pour lequel la faible abondance des gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. et le mauvais état de l'édifice ne motivaient pas la pose d'une grille lors de la campagne organisée par le Conservatoire Botanique National de Brest.

5.2 GESTION DES STATIONS EN MILIEUX NATURELS

5.2.1 Gestion d'entretien

Une proposition de gestion par établissement de Contrat Natura 2000, pourrait-être envisagée pour la station de *Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem (Côtes d'Armor) qui abrite une des deux stations forestières armoricaines où se développent des sporophytes. Une convention établie entre le propriétaire du site, la Mairie de Saint-Nicolas-du-Pélem, et le Conservatoire Botanique National de Brest permettrait ainsi de poser les bases d'une gestion compatible avec le maintien durable de l'espèce, en évitant toute modification majeure du milieu. En effet, les études écologiques et physiologiques réalisées prouvent qu'il convient de veiller à ce que l'atmosphère fraîche et humide qui caractérise la station soit entretenue, de même que la présence du couvert végétal procurant l'ombrage nécessaire tout en permettant, par quelques trouées, le passage de lumière exigée pour le développement des frondes de la fougère. L'envahissement de la station par d'autres espèces végétales sera contrecarré le cas échéant par débroussaillage. Le régime du cours d'eau présent dans la station et la qualité des eaux devront être maintenus, par interdiction du captage des eaux en amont, et de façon à assurer la brumisation des frondes de la fougère.

Dans la station de la *Forêt de Duault* à Saint-Servais où se développent des sporophytes et des gamétophytes du *Trichomanès* remarquable, les enjeux de conservation et les objectifs de gestion sont similaires. Située dans le site Natura 2000 " Têtes de Bassin du Blavet et de l'Hyères", la gestion de cette station pourra être mise en place à travers l'établissement d'un contrat Natura 2000 entre le propriétaire de la parcelle concernée et l'organisme en charge du suivi de la mise en œuvre du réseau Natura 2000 dans le secteur.

Dans les 25 autres stations forestières de la fougère qui abritent des gamétophytes indépendants, l'intégrité des habitats devra être entretenue par l'interdiction de toute modification du couvert végétal sans consultation préalable des acteurs de la conservation (Conservatoire Botanique National de Brest, DIREN, PNR...). Des débroussaillages sont préconisés en cas d'envahissement des placettes à gamétophytes par d'autres espèces végétales (ronces, lierre, autres Ptéridophytes). Lorsqu'un cours d'eau est présent, l'intégrité de celui-ci devra être assurée là aussi. Des contrats de gestion seront proposés en direction des

propriétaires de parcelles et le cas échant, l'Office National des Forêts ou le Centre Régional de la Propriété Forestière.

5.2.2 Gestion active

Pour les stations de gamétophytes indépendants dans lesquelles les conditions environnementales sont très proches de celles où des sporophytes ont pu croître en milieu naturel, des interventions raisonnées pour favoriser le retour de la fougère à un cycle de vie complet pourront être entreprises. La pénétration de lumière, facteur environnemental limitant la croissance des frondes, sera favorisée jusque dans les strates basses des forêts. Des coupes légères pourraient être pratiquées.

Il est proposé que puisse être testée une réouverture modérée du couvert végétal dans la forêt de *Kerlenevez* (Saint-Nicolas-du-Pélem) en aval des 3 placettes où des sporophytes se développent, à la faveur de la chute d'arbre ayant généré une trouée dans le couvert. Ceci permettrait de tester les possibilités de renforcement de populations par le biais de mesures consistant à faire évoluer, de façon contrôlée, les paramètres environnementaux. De telles mesures de gestion pourraient aussi être mises en œuvre dans la station du *Stangala* à Ergué-Gaberic dans le Finistère, où les gamétophytes se développent sur le plafond d'un petit bloc rocheux. Dans les sites de *Pontou-Mein* à Kergrist-Moëlou (Côtes d'Armor) et de la *Forêt de Duault* à Saint-Servais (Côtes d'Armor), un bloc portant des gamétophytes pourrait être légèrement déplacé de façon à ce que la fougère bénéficie d'un éclaircissement légèrement supérieur.

En revanche, dans la station du *Gouffre* à Huelgoat, pour laquelle nos études écophysiologicals montrent que des sporophytes peuvent potentiellement être produits par les gamétophytes présents, une transposition des blocs trop volumineux n'est pas envisageable. Une coupe légère pourrait être testée, mais il n'est pas évident que cette mesure puisse permettre le développement de frondes adultes car les gamétophytes se développent dans un abri sous roche profond.

5.3 PROTOCOLE DE SUIVI DE STATIONS

Dans les stations anthropisées, la mise en place d'un suivi des populations de *Trichomanes speciosum* Willd. localisées dans des puits s'avère incontournable, eu égard à la pression anthropique qui pèse sur ce type d'habitat. En raison du faible nombre de stations résiduelles, une visite annuelle des stations à sporophytes et une visite tous les deux ans des puits à gamétophytes indépendants sont préconisées. Pour les puits réouverts suite à la pose d'une grille du Conservatoire Botanique National de Brest, un suivi annuel est recommandé de façon à suivre l'évolution du Trichomanès remarquable et de ses espèces compagnes. La reprise d'émergence de nouvelles frondes dans les populations à sporophytes, dont le brunissement était constaté en corrélation avec la fermeture des puits, devra être suivie. Par ailleurs, les bénéfices de l'aspersion régulière de la fougère préconisée auprès des propriétaires de puits pourront également être estimés. Enfin, la formation de frondes à partir des gamétophytes "indépendants" sera évaluée.

Un suivi photographique permettrait de s'assurer de la vigueur des populations localisées dans des puits. Il permettra de valider les modalités de gestion mises en place ou de les ajuster si nécessaire. Le suivi des populations armoricaines de *Trichomanes speciosum* Willd. se développant dans les puits pourrait être confié aux botanistes du réseau des collaborateurs du Conservatoire Botanique National de Brest, ou aux membres d'associations locales de protection de la nature. Pour les 4 stations de Trichomanès remarquable présentes dans d'autres types d'habitats anthropisés, un suivi bisannuel doit suffire pour surveiller qu'aucune menace ne vienne peser sur les populations de gamétophytes indépendants et que les mesures de conservation mises en place sont adéquates.

Pour les stations forestières de *Trichomanes speciosum* Willd., un suivi annuel des deux seules stations à sporophytes du Massif Armoricain (*Kerlenevez* à Saint-Nicolas-du-Pélem et *Forêt de Duault* à Saint-Servais, Côtes d'Armor) est préconisé de façon à suivre leur évolution, les protéger de toute atteinte et menaces potentielles. Dans les 25 stations forestières de gamétophytes indépendants, un suivi annuel ou bisannuel est recommandé. Affines des ambiances fraîches et humides, les gamétophytes, sensibles aux changements de conditions environnementales, voient en conséquence leur abondance fluctuer. Lorsqu'une ouverture modérée du couvert végétal est préconisée pour tenter de stimuler le développement de frondes à partir des gamétophytes déjà en place, les visites de suivi se doivent d'être

fréquentes pour étudier finement l'évolution de la population et valider ou non le mode de gestion mis en place. Il est proposé que ces stations soient visitées annuellement et que ce suivi soit poursuivi à la même fréquence si des frondes sont produites par les gamétophytes. Le suivi plus délicat de telles stations pourrait revenir à des agents du Conservatoire Botanique National de Brest, de l'Office National de Forêts ou de l'Office National de la Chasse et de la Faune Sauvage.

Pour les 24 stations localisées dans les grottes des côtes maritimes armoricaines, un suivi bisannuel semble suffisant pour enregistrer la vigueur des populations de la fougère, uniquement composées de gamétophytes indépendants. En effet, ce type d'habitat apparaît comme peu soumis à la pression des activités humaines. La gestion des stations pourraient être assurée par le Conservatoire du Littoral et des Rivages Lacustres ou par le Parc Naturel Régional d'Armorique.

6 PRINCIPALES CONCLUSIONS DU CHAPITRE

- Des mesures de protection réglementaire sont proposées pour l'ensemble des stations armoricaines où se développent des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd.
- Des mesures de protection réglementaire sont également prévues pour une sélection représentative des stations de gamétophytes indépendants.
- L'ensemble des puits du Massif armoricain abritant les sporophytes sont ouverts notamment grâce à pose de grille organisée par le Conservatoire Botanique National de Brest. Il en va de même pour les puits dans lesquels sont présents d'importants recouvrements de gamétophytes indépendants.
- Des mesures de gestion, en collaboration avec les propriétaires, sont prévues pour que la fougère bénéficie d'une aspersion d'eau régulière, ce qui fait défaut depuis que l'eau n'est plus puisée au seau.

- Des mesures de gestion sont également envisagées en milieu naturel pour garantir le maintien des conditions environnementales favorables à la présence de *Trichomanes speciosum* Willd., sous forme de gamétophytes et / ou de sporophytes.
- Des mesures de renforcement de populations par modification modérée des habitats sont envisagées pour favoriser le retour à un cycle de vie complet de la fougère en milieu naturel armoricain, conduisant à l'émergence de frondes.

CONCLUSION
ET PERSPECTIVES

Voulue dans le cadre des missions du Conservatoire Botanique National de Brest, appuyée par le Conseil Régional de Bretagne, le Conseil Général du Finistère et la DIREN Bretagne, la finalité de notre travail consiste à élaborer et à mettre en place un plan de conservation de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn, construit sur la convergence des résultats multidisciplinaires acquis.

1/ Tout d'abord, les critères chimiotaxonomiques dégagés ont permis de montrer que les frondes, observées récemment en milieu naturel, sont bien celles du Trichomanès remarquable malgré une morphologie atypique, qui est en réalité juvénile. C'est la preuve que la fougère est capable de produire des frondes en milieu naturel armoricaïn et non pas uniquement en habitat anthropisé. La taxonomie moléculaire le confirme. Elle atteste de plus que les échantillons de gamétophytes indépendants appartiennent à l'espèce *Trichomanes speciosum* Willd. Sur la base de l'homologie morphologique, mais aussi de l'homogénéité des caractères écophysologiques, ce résultat est extrapolable à l'ensemble des populations de gamétophytes indépendants de la région, corroborant ainsi l'absence d'autre représentant du genre *Trichomanes* en Europe.

2/ L'actualisation et l'analyse de l'ensemble des données chorologiques de la fougère dans le Massif Armoricaïn met clairement en évidence que la distribution de la forme gamétophytique du Trichomanès remarquable est plus large que celle de la forme sporophytique. Le résultat est renforcé par les données les plus récentes, transmises depuis le 1^{er} janvier 2005, par les botanistes du réseau des collaborateurs du Conservatoire Botanique National de Brest : 14 nouvelles stations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. sont signalées pour deux stations de sporophytes. Il faut signaler que les frondes de la fougère sont ainsi observées pour la première fois dans le département de la Loire-Atlantique.

3/ La comparaison du biotope des gamétophytes indépendants et du biotope des sporophytes montre que les gamétophytes peuvent se développer dans une plus grande diversité d'habitats, qu'ils soient naturels ou anthropisés. La diagnose écologique des stations met en évidence que le phénomène est significativement lié à la capacité des gamétophytes à se maintenir dans des conditions environnementales extrêmes que ne peuvent tolérer les sporophytes. D'une part, le développement des frondes du Trichomanès remarquable semble corrélé à la présence d'une brumisation générée par un cours d'eau et un taux d'humidité atmosphérique proche de la

saturation. Au contraire, dans les stations de gamétophytes indépendants, ce sont les seuls pluvio-lessivats, transitoires, qui entretiennent le taux d'humidité, par là-même aléatoire. D'autre part et surtout, la différence entre les exigences des gamétophytes et des sporophytes vis à vis des conditions lumineuses est manifeste. Le développement des frondes est lié à un éclaircissement minimum, facteur limitant, de l'ordre de 10 fois supérieur à celui qui est enregistré dans les stations de gamétophytes indépendants. En milieu naturel, les gamétophytes, en situation pionnière sont présents à même la roche, occupent les fonds de fissures ou des parois rocheuses sous abris, au niveau desquels règne un éclaircissement extrêmement faible ($0,5 \mu\text{mol.m}^2.\text{sec}^{-1}$) ce qui constitue un record dans le monde végétal. De telles conditions environnementales sont de toute évidence limitantes dans la plupart des stations naturelles armoricaines. Il faut y voir l'explication du fait que, dans le Massif Armoricain, ce n'est essentiellement qu'au sein des puits que la fougère trouve dans le Massif Armoricain l'ensemble des conditions environnementales requises pour l'accomplissement de son cycle de vie complet.

4/ La convergence des résultats émanant de l'écologie, des caractéristiques morphofonctionnelles et de l'écophysiologie implique que les conditions environnementales limitent la croissance des très jeunes frondes ou micro-sporophytes (de longueur le plus souvent inférieure à 1 cm) et non pas leur production par les gamétophytes. En effet, les gamétophytes indépendants forment les structures de la reproduction sexuée, bien qu'elles soient peu fréquemment observées. Ces structures sont fonctionnelles comme le prouve la présence des micro-sporophytes, parmi les coussins de gamétophytes indépendants. Mais ces micro-sporophytes se nécrosent bien avant le stade adulte, probablement du fait de leur déficience physiologique : l'éclaircissement trop faible et les périodes aléatoires de sécheresse qui règnent dans les stations de gamétophytes indépendants ne sont pas compatibles avec le métabolisme des frondes en croissance, comme tendent à le vérifier les expériences de culture *in vitro*.

Ainsi, c'est une stratégie d'investigations multidisciplinaires qui permet de s'appuyer sur l'ensemble de nos résultats pour proposer des mesures raisonnées de protection réglementaire et de gestion conservatoire aux acteurs locaux de la conservation. Elles concernent d'une part l'ensemble des stations armoricaines où se développent des sporophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. et d'autre part, une sélection représentative des stations de gamétophytes indépendants. Certes, de nouvelles analyses génétiques permettraient d'améliorer la sélection

des stations de gamétophytes indépendants à privilégier dans le cadre du plan de conservation de la fougère dans le Massif Armoricaïn.

Dès à présent, un effort particulier est engagé pour que les puits abritant des populations à sporophytes soient maintenus ouverts, pour permettre l'éclaircissement requis, notamment grâce à la pose de grilles organisée dans le cadre des missions du Conservatoire Botanique National de Brest. Des puits à gamétophytes indépendants sont également réouverts pour stimuler, par une arrivée plus importante de lumière, le développement de frondes jusqu'au stade adulte. Il est demandé aux propriétaires, notamment par le biais d'une plaquette d'information présentant les exigences du *Trichomanes* remarquable, de pratiquer des aspersion régulières pour maintenir un taux d'humidité atmosphérique élevé au niveau de la fougère dans les puits, le plus souvent inutilisés.

En milieu naturel, des mesures de gestion sont recommandées, passant en particulier par le maintien du couvert végétal, qui protège de l'insolation excessive est recommandé de même que celui du régime des cours d'eau qui entretient le taux d'humidité atmosphérique. Des mesures de renforcement des populations par modification modérée des habitats sont aussi proposées, pour favoriser le retour à un cycle de vie complet de la fougère en milieu naturel armoricaïn.

L'effort de suivi des populations est également préconisé de façon à garantir que les mesures mises en place sont adéquates et respectées. D'ores et déjà, l'efficacité des premières mesures conservatoires est contrôlable sur le terrain ce qui est tout à la fois encourageant et ouvre une perspective réelle à la conservation de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn.

BIBLIOGRAPHIE

AH-PENG C., BARDAT J., STRASBERG D. (2004) Proceedings of a workshop on biodiversity dynamics on La Réunion Island, 72 p.

ALBACH D.C., GRAYER R.J., RODENSAL S., OZGOKCE F., VEITCH N.C. (2003) Acylated flavone glycosides from *Veronica*. *Phytochemistry*, 64 : 1295 – 1301.

ANNEZO N., MAGNANON S., MALENGREAU D. (1996) Bilan régional de la flore bretonne. Rapport adressé au Conseil Régional de Bretagne, DIREN Bretagne, 103 p.

ASHTON P.M.S., BERLYN G.P. (1992) Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytologist*, 121 : 587-596.

BARBAULT R. (1995) *Ecologie générale : structure et fonctionnement de la Biosphère*, Ed. Masson. Paris, 275 p.

BARDAT J., HUGONNOT V. (2002) Conspectus of the flora and vegetation of bryophytes of Narces d'Issanlas (Ardèche, France), unique evidence of a humid zone of mid-elevation vegetation. *Cryptogamie – Bryologie* 23: 51 – 72.

BIORET F., KERBIRIOU C. (1994) Catalogue des espèces et des habitats de la Directive Habitats présents en Bretagne. Directive 92/43 CEE du conseil du 21 mai 1992. Brest, 232 p.

BISSARDON M., GUIBAL L. (1997) CORINE Biotopes. Version originale, types d'habitats français. Sous la direction de J. Rameau. Ed. ENGREF. MNHN, Paris, 219 p.

BIZOT A. (2000) *Trichomanes speciosum* Willd. Découvert sur le versant méridional des Vosges (Haute-Saône). *Le Monde des Plantes*, 469 : 7.

BIZOT A. (2004) Note chorologique complémentaire concernant l'aire vosgienne des gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. *Le Monde des Plantes*, 484 : 13.

BLANCHARD F., LAMOTHE T., LORIOT S. (2003) Contribution à la répartition du gamétophyte indépendant de *Trichomanes speciosum* Willd. (*Hymenophyllaceae* : *Pteridophyta*) dans le Pays Basque (Pyrénées – Atlantiques). *Le Monde des Plantes*, 481 : 15 – 17.

BLANCHET H. (1891) Catalogue des plantes vasculaires du Sud-Ouest de la France comprenant le département des Landes et celui des Basses-Pyrénées. Ed. Lasserre, Bayonne, 172 p.

BOODLE L.A. (1900) Comparative anatomy of the *Hymenophyllaceae*, *Schizaeaceae* and *Gleicheniaceae*. I. On the anatomy of *Hymenophyllaceae*. *Annals of Botany*, London, 14 : 455 - 496.

BOUDRIE M. (2001) Première découverte de gamétophytes de *Trichomanes speciosum* Willd. (*Hymenophyllaceae*, *Pteridophyta*) dans le Massif Central français. *Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest*, nouvelle série, Tome 32.

BRADSHAW A.D. (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics*, 13 : 115-165.

BRESLAUER K.J., FRANK R., BLOCKER H., MARKY L.A. (1986) Predicting DNA duplex stability from the base sequence. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 83 : 3746 – 3750.

CAPONETTI J.D., WHITTEN M., BECK M.J. (1982) Axenic culture and induction of callus and sporophytes of the Appalachian *Vittaria* gametophytes. *American Fern Journal*, 72 : 34 - 40.

CARNAT A.P., CARNAT A., FRAISSE D., LAMAISON J.L. (1998) Violarvensin, a new flavone di-C-glycoside from *Viola arvensis*. *Journal of Natural Products*, 61 : 272 - 274.

CHOI Y.E., HARADA E., WADA M., TSUBOI H., MORITA Y., KUSANO T., SANO H. (2001) Detoxification of cadmium in tobacco plants : formation and active excretion of crystals containing cadmium and calcium through trichomes. *Planta*, 213 : 45-50.

- COPELAND E.B. (1933) Trichomanes. *Philippine Journal of Science*, 51: 119 - 280.
- COUSENS M.I., HORNER H.T. Jr (1970) Gametophyte ontogeny and sex expression in *Dryopteris ludoviciana*. *American Fern Journal*, 60 : 13 - 27.
- CUSSET G.(1997) Botanique. Embryophytes. Ed. Masson. Paris, 512 p.
- DES ABBAYES H., CLAUSTRE G., CORILLION P., DUPONT P. (1971) Flore et végétation du Massif Armoricain. Tome 1 : Flore vasculaire. Presses Universitaires de Bretagne, Rennes, 1226 p.
- DICKSON R.E. (1979) Analytical procedures for the sequential extraction of 14 C-labeled constituents from leaves, bark and wood of cottonwood plants. *Physiologia Plantarum*, 45 : 480 - 488.
- DIERSSEN K. (2001) Distribution, ecological amplitude and phytosociological characterization of European bryophytes. *Bryophytorum Bibliotheca*, 56. Berlin-Stuttgart. 289p.
- DYER A.F. (1979) The culture of fern gametophytes for experimental investigation. *In* : A.F. Dyer ed. *The Experimental Biology of Ferns*. Academic Press, London, pp 254 – 291.
- ELLENBERG H., WEBER H. E., DULL R., WIRTH V., WERNER W., PAULISSEN D. (1991) Zeigerwerte von Pflanzen in Mitteleuropa. *Scripta Geobotanica.*, 18. 248 p.
- EUROPEAN COMMUNITY (1992) Council Directive 92 / 43 / EEC of 21 May 1992 on the conservation of natural habitats and of wild fauna and flora. Brussels.
- FARRAR D.R. (1967) Gametophytes of four tropical fern genera reproducing independently of their sporophytes in the Southern Appalachian. *Science*, 455 : 1266 - 1267.
- FARRAR D.R. (1971) The biology of ferns with asexually reproducing gametophytes in the Eastern United States. Ph.D. Thesis. 239 p. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan.

FARRAR D.R. (1992) *Trichomanes intricatum* Farrar: the independent *Trichomanes* gametophyte in the Eastern United States. *American Fern Journal*, 82 : 68 - 78.

FERDY J.B., LORIOT S., SANDMEIR M., LEFRANC M., RAQUIN C. (2001) Inbreeding depression in a rare and deceptive orchid. *Canadian Journal of Botany*, 79 : 1181 – 1188.

FLORES E.M. (1975) Various aspects of comparative leaf anatomy of 2 Bromeliaceae (*Aechmea mexicana* Baker and *Hechtia glomerata* Zucc.) *Revista de Biología Tropical*, 23 : 29 – 52.

FORD M.V., FAY M.F. (1990) Growth of ferns from spores in axenic culture *In* : *Methods in Molecular Biology*, Vol. 6, *Plant Cell and Tissue Culture*. Ed. Humana Press, pp. 172 - 180.

GABE M. (1968) *Techniques histologiques*. Masson, Paris, 1113 p.

GASTONY J.G. (1986) Electrophoretic evidence for the origin of fern species by unreduced spores. *American Journal of Botany*, 73 : 1563 - 1569.

GUILLAUMIN D. (1979) *Microscopie électronique à balayage, méthode d'exploration biologique*. Librairie Arnett. Paris, 146 p. 1.

HARBONE J.B., BAXTER H. (1999) *The Handbook of the Natural Flavonoids*. Vol. 1 and 2. John Wiley & Sons, New York, 1770 p.

HEBANT-MAURI R. (1972) Le genre *Trichomanes* (fougères leptosporangiées). *Adansonia*, 12 : 469-495.

HELLER R., ESNAULT R., LANCE A. (1986) *Physiologie Végétale*. Tome I, Nutrition. Abrégé Masson, Paris, 110 p.

HOURLMANT A., FERAY A., RAPT F., SULEIMAN S., CAROFF J. (1994) Participation des polyamines et de la dopamine au processus de tubérisation. *Société Botanique de France ; Journées d'étude sur la tubérisation*. Paris.

HUTCHISON G.E. (1957) Concluding remarks. Cold Spring Harbor Symposium. Quantitative Biology, 22 : 415 - 427.

INTERNATIONAL SEED TESTING ASSOCIATION, ISTA (1985) International rules for seed testing. Seed Sciences and Technology, 13: 299 - 355.

IWATSUKI K. (1990) Hymenophyllaceae In :Kubitzki K. ed. The families and genera of vascular Plants. Vol 1: Pteridophytes and Gymnosperms. Springer, Berlin.

JERMY C., CAMUS J. (1991) The Illustrated Field Guide to Ferns and Allies Plants of the British Isles. Natural History Museum Publication, London, 194 p.

JEROME C., BIZOT A. (2001) La réserve de Biosphère des Vosges du Nord: un paradis pour les gamétophytes de la fougère *Trichomanes speciosum* Willd. Annales Scientifiques de la Réserve Transfrontalière de la Biosphère Vosges du Nord – Pfalzerwald, 9 : 63 - 72.

JEROME C., RASBACH H., RASBACH K. (1994) Découverte de la fougère *Trichomanes speciosum* (Hymenophyllaceae) dans le massif vosgien. Le Monde des Plantes, 450 : 25 -27.

JOHNSON E.L., SCHMIDT W.F., NORMAN H.A. (1998) Flavonoids as markers for *Erythroxylum* taxa : *E. coca* var. *ipadu* and *E. novogranatense* var. *truxillense*. Biochemical Systematics and Ecology, 26 : 743 – 759.

JOHNSON E.L., SCHMIDT W.F., COOPER D. (2002) Flavonoids as chemotaxonomic markers for cultivated Amazonian coca. Plant Physiology and Biochemistry, 40 : 89 – 95.

JOHNSON G.N., RUMSEY F.J., HEADLEY A.D., SHEFFIELD E. (2000) Adaptations to extreme low light in the fern *Trichomanes speciosum*. New Phytologist, 148 : 423 - 431.

JOVET P. (1933) Le *Trichomanes radicans* (Sw.) et l'*Hymenophyllum tunbridgense* (Sm.) en Pays Basque français. Bulletin de la Société Botanique de France, 80 : 797 – 809.

KERGUELEN M. (1993) Index synonymique de la flore de France. Muséum National d'Histoire Naturelle, Secrétariat Faune-Flore, Paris. 196 p.

- KIMURA M. (1980) A simple model for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16 : 111 – 120.
- KLEKOWSKI E.J. (1976) Genetics of recessive lethality in the fern *Osmunda regalis*. *The Journal of Heredity*, 67 : 146 - 148.
- KRENN L., MIRON A., PEMP E., PETR U., KOPP B. (2003) Flavonoids from *Achillea nobilis* L. *Zeitschrift für Naturforschung*, 58 : 11 – 16.
- KRONBERG L., FRANZEN R. (1993) Determination of chlorinated furanones, hydroxyfuranones, and butenedioic acids in chlorine-treated water and in pulp bleaching liquor. *Environmental Science and Technology*, 27 : 1811 – 1818.
- KRUKOWSKI M., SWIERKOSZ K. (2002) Discovery of the gametophytes of *Trichomanes speciosum* Willd. (*Hymenophyllaceae* : *Pteridophyta*) in Poland and their biogeographical importance. *Fern Gazette*, 17 : 79 - 5.
- KUKLIN A., CONGER B. (1995) Catecholamines in plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, 14 : 91 – 97.
- KUMAR S., TAMURA K., JAKOBSEN I.B., Nei M. (2001) MEGA 2 : Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. *Bioinformatics*, 17 : 1244 – 124
- LAI A., CIANCIDO V., CHIAVARINI S., SONNINNO A. (2000) Effects of glandular trichomes on the development of *Phytophthora infestans* infection in potato (*S. tuberosum*). *Euphytica*, 114 : 165 – 174.
- LANGERON M. (1945) *Précis de Mycologie*. Masson, Paris, 675 p.
- LAVAL-MARTIN D., MAZLIAK P. (1995) *Physiologie végétale, I. Nutrition*. Collection méthodes Hermann. Paris, 320 p.

LE CORRE M., MOREAU C., PAYEN J.P. (1997) Chimie Organique. Editions Belin. Paris. 479 p.

LEES F.A. (1888) The flora of West Yorkshire: with a sketch of the climatology and lithology in connection therewith. Lovell, Reeve and Co. London, 843 p.

LORIOT S (2004) Les puits de Bretagne, un patrimoine à sauvegarder. Mémoire. ED SMIS 0373. Université de Bretagne Occidentale, Brest. 33p.

LORIOT S., MAGNANON S. (sous presse) The task of the Conservatoire Botanique National of Brest in the knowledge and conservation of the Armorican flora as illustrated by *Trichomanes speciosum* Willd. *Watsonia*.

LORIOT S., JEROME C., COTTIGNIES A. (2003) Nouvelles découvertes de sporophytes juvéniles dans les populations de gamétophytes indépendants de *Trichomanes speciosum* Willd. *Le Monde des Plantes*, 478 : 31 - 32.

LORIOT S., BLANCHARD F., LAMOTHE T., COTTIGNIES A. (2002) Présence du gamétophyte indépendant de *Trichomanes speciosum* Willd. (*Hymenophyllaceae*) dans les vallées du Pays Basque. Premières données concernant sa distribution dans les Pyrénées Atlantiques. *Le Monde des Plantes*, 477 : 23.

LOUIS-ARSENE, Fr. (1953) *Trichomanes speciosum* Willd. en Bretagne. *Bulletin de la Société Botanique Française*, 100 : 6.

MAC KINNEY G. (1941) Absorption of light by chlorophyll solutions. *Journal of Biological Chemistry*, 140 : 315 - 322.

MAGNANON S. (1997) Vers une stratégie régionale de protection de la flore menacée de Bretagne. ERICA ed. Conservatoire Botanique National de Brest, 9 : 43 – 44.

MAGNANON S., LORIOT S. (2001) Stratégie d'actions prioritaires pour la préservation de 5 espèces végétales à très forte valeur patrimoniale / *Trichomanes speciosum*. Rapport Conservatoire Botanique National de Brest.

MAGNANON S., GOUSSEAU G., LORIOT S (2003) Le Trichomanès remarquable, une plante rare à sauvegarder. Plaquette d'information. Ed. Conservatoire Botanique National de Brest.

MAKGOMOL K., SHEFFIELD E. (2001) Gametophyte morphology and ultrastructure of the extremely deep shade fern, *Trichomanes speciosum*. *New Phytologist*, 151: 243 - 255.

MANTON I. (1950) Problems of cytology and evolution in the Pteridophyta. Cambridge University Press. Cambridge. 316 p.

MARKHAM K.R., TERNAI B., STANLEY R., GEIGER H., MABRY T.J. (1978) Carbon-13 NMR studies of flavonoids III; Naturally occurring flavonoid glycosides and their acylated derivatives. *Tetrahedron*, 34 : 1389 – 1397.

MURASHIGE T., SKOOG F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiological Plantarum*, 15 : 473-497.;

MUELLER D.D., MORGAN T.D., WASSENBERG J.D., HOPKINS T.L., KRAMER K.J. (1993) ¹H and ¹³C NMR of 3-O and 4-O conjugates of dopamine and other catecholamines. *Bioconjugate Chemistry*, 4 : 47 – 53.

MURAKAMI N., NOGAMI S., WATANABE M., IWATSUKI K. (1999) Phylogeny of Aspleniaceae inferred from *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal*, 89 : 232 – 243.)

OLIVEIRA R.R., MORAES M.C.C., CASTILHO R.O., VALENTE A.P., CARAUTA J.P.P, LOPES D., KAPLAN M.A.C. (2003) High-speed countercurrent chromatography as a valuable tool to isolate C-glycosylflavones from *Cecropia lyratiloba* Miquel. *Phytochemical Analysis*, 14 : 96 – 99.

OLIVIER L., GALLAND J.P., MAURIN H., ROUX J.P. (1995) Livre Rouge de la Flore Menacée de France. Tome I : espèces prioritaires. Collection Patrimoines Naturels, Volume 20. CBN de Porquerolles, MNHN, Ministère de l'Environnement, Paris, 486 p.

ONYILAGHA J., BALA A., HALLETT R., GRUBER M., SOROKA J., WESTCOTT N. (2003) Leaf flavonoids of the cruciferous species, *Camelina sativa*, *Crambe* spp., *Thlaspi arvense* and several other genera of the family Brassicaceae. *Biochemical Systematics and Ecology*, 31 : 1309 - 1322.

PAGE C.N. (1997) *The ferns of Britain and Ireland*. Cambridge University Press, Cambridge, 540 p.

POUX L., PHILIPPON D., PRELLI R. (2003) Bilan des découvertes intéressantes de l'année 2002 dans les Côtes d'Armor. Erica, Ed. Conservatoire Botanique National de Brest, 17 : 81.

PRELLI R., BOUDRIE M. (1992) *Atlas écologique des Fougères et plantes alliées. Illustration et répartition des Ptéridophytes de France*. Ed. Lechevalier, 272 p.

PRELLI R. (2002) *Les fougères et plantes alliées de France et d'Europe occidentale*. Ed. Belin. Paris, 431 p.

PROVOST M. (2002) *Flore vasculaire de Basse-Normandie, Tomes 1 et 2*. Presses Universitaires de Caen. Caen, 910 p.

RAGHAVAN V. (1989) *Development Biology of Fern Gametophytes* 361 p. Cambridge. UK, 361 p.

RAINE C.A. (1994) *The reproductive biology of fern gametophytes*. Cambridge University Press. Cambridge, UK, 361 p.

RATCLIFFE D.A., BIRKS H.J.B., BIRKS H.H. (1993) The ecology and conservation of the Killarney fern *Trichomanes speciosum* Willd. in Britain and Ireland. *Biological Conservation*, 66 : 231 - 247.

RATCLIFFE D.A., BIRKS H.J.B., BIRKS H.H. (1999) *Trichomanes speciosum* Willd. In: M.J. Wigginton (ed.), *British Red Data Books 1. Vascular Plants*. Peterborough, UK. 374 p.

RICH T.C.G., RICHARDSON S.J., ROSE F. (1995) Tunbridge filmy-fern *Hymenophyllum tunbrigense* (Hymenophyllaceae : Pteridophyta) in South East England in 1994/1995. Fern Gazette, 15 : 51 - 63.

RIVIERE G. (1999) Les Ptéridophytes du Morbihan. Le Monde des Plantes, 465 : 22 - 23.

RUMSEY F.J., SHEFFIELD E. (1996) Inter-generational ecological niche separation and the “independent gametophyte” phenomenon. In: Camus J.M., Gibby M. and Johns R.J. (editors). Pteridology in perspective, Royal Botanic Gardens, Kew, pp.563-570.

RUMSEY F.J., SHEFFIELD E., FARRAR D.R. (1990) British filmy fern gametophytes. Pteridologist, 2 : 40 - 42.

RUMSEY F.J., RAINE C.A., SHEFFIELD E. (1992) The reproductive capability of independent *Trichomanes* gametophytes. In : Ide J.M., Jermy A.C., Paul A.M., eds. Fern horticulture: past, present and future perspectives. Intercept, Andover. pp 299 – 304.

RUMSEY F.J., RAINE C.A., SHEFFIELD E. (1993) *Trichomanes venosum* R. Br. (Hymenophyllaceae : Pteridophyta) in a Cornish garden – with a key to the filmy-ferns established in Britain and Ireland. Fern gazette, 14 : 155 - 160.

RUMSEY F.J., JERMY A.C., SHEFFIELD E. (1998) The independent gametophyte stage of *Trichomanes speciosum* Willd (Hymenophyllaceae) the Killarney Fern and its distribution in the British Isles. Watsonia, 22 : 1 - 19.

SCHERRER B. (1984) Biostatistique. Gaëtan Morin Editeur. Boucherville, 850 p.

SOLTIS D.E., HAUFLER H., DARROW D., GASTONY J. (1983) Starch gel electrophoresis of ferns : a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers, and staining schedules. American Fern Journal, 73 : 9 –27.

STACE C. (1997) New flora of the British Isles. 2nd edn. Cambridge University Press, Cambridge. XXVII + 1130 p.

STARK C. (2002) *Trichomanes speciosum* Willd. (Hymenophyllaceae, Pteridophyta) ein tropischer Hautfarn als neue Pflanzenart für den Pfälzerwald und die Sickinger Höhe. Mitt. Pollichia, 89 : 197 – 249.

TABERLET P., GIELLY L., PAUTOU G., BOUVET J. (1991) Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Ecology, 17 : 1105 -1991.

UNDERWOOD A.J. (1997) Experiments in Ecology. Cambridge University Press, Cambridge. UK, 503 p.

VANGEROW S., TEERKON T., KNOOP V. (1999) Phylogenetic information in the mitochondrial nad5 gene of pteridophytes : RNA editing and intron sequences. Plant Biology, 1 : 235 – 243.

WAGNER W.H. Jr, EVERS R.A. (1963) Sterile prothallial clones (*Trichomanes*) locally abundant on Illinois sandstones. American Journal of Botany, 50: 623.

WALLACE Jr. J.W. (1996) Chemotaxonomy of the Hymenophyllaceae. II. C-glycosylflavones and flavone-O-glycosides of *Trichomanes* S.L. American Journal of Botany, 83 : 1304 – 1308.

WHITE T.J., BRUNS T.D., LEE S.B., TAYLOR J.W. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In : Innis M.A., Gelfand D.H., Sninsky J.J., White T.J. (ed.), PCR protocols. A guide to methods and applications. Academic Press, San Diego, California, pp. 315 – 322.

WILLIAMS C.A., ONYILAGHA J.C., HARBONE J.B. (1995) Flavonoid profiles in leaves, flowers and stems of forty-nine members of the Phaseolinae. Biochemical Systematics and Ecology, 23 : 655 – 667.

LORIOT Sandrine, 2005. Pour une stratégie de conservation de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn.

Mots-clés : *Trichomanes speciosum* Willd., Massif Armoricaïn, conservation, chimiotaxonomie, taxonomie moléculaire, chorologie, écologie, biologie, écophysologie.

Trichomanes speciosum Willd., une des Ptéridophytes les plus rares d'Europe, est particulièrement menacée dans le Massif Armoricaïn (NO de la France). Les frondes se développent en très grande majorité dans des puits et sont soumises à de fortes pressions anthropiques. Cependant, des gamétophytes peuvent se maintenir, indépendamment, en milieu naturel. Par une étude multidisciplinaire, des réponses sont apportées aux acteurs de la conservation, parmi lesquels le Conservatoire Botanique National de Brest, sur l'écologie, la biologie et la physiologie particulières de la fougère. Il est prouvé, par des analyses de chimiotaxonomie et de taxonomie moléculaire, que les gamétophytes indépendants sont véritablement le *Trichomanès* remarquable, de même que des frondes de morphologie atypique récemment découvertes dans deux stations forestières. La confrontation des données chorologiques, écologiques, biologiques et écophysologiques montre et explique que les gamétophytes présentent une aire de répartition plus large que les sporophytes, du fait de leur capacité à coloniser une plus grande diversité d'habitats caractérisés par des conditions environnementales extrêmes. La rareté des sporophytes du *Trichomanès* remarquable en milieu naturel armoricaïn ne résulte pas d'un défaut de reproduction sexuée. Les sporophytes produits se nécrosent par déficience physiologique avant de parvenir au stade adulte. En effet, les exigences des sporophytes ne semblent pas compatibles avec le très faible éclaircissement (jusqu'à seulement $0,5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$) et les périodes transitoires de sécheresse caractéristiques des stations de gamétophytes indépendants. Sur la base de ces résultats convergents, un ensemble de mesures est proposé pour la conservation de *Trichomanes speciosum* Willd. dans le Massif Armoricaïn, sensibilisation du public et des gestionnaires, protection réglementaire, gestion conservatoire et suivi des populations.

LORIOT Sandrine, 2005. For a conservation strategy concerning *Trichomanes speciosum* Willd. in the Massif Armoricaïn.

Keywords : *Trichomanes speciosum* Willd., Massif Armoricaïn, conservation, chemotaxonomy, molecular taxonomy, chorology, ecology, biology, ecophysiology.

Trichomanes speciosum Willd., one of the most endangered European Pteridophytes, is particularly threatened in the Massif Armoricaïn (NW France). The fronds of the fern are for the most part recorded in wells and are submitted to intense human pressure. However, some gametophytes are able to maintain, independently, in natural habitat. Through a pluridisciplinary study, responses are brought to the actors of conservation, among which the Conservatoire Botanique National de Brest, about the peculiar ecology, biology and physiology of the fern. It is proved, thanks to chemotaxonomic and molecular analyses, that the independent gametophytes are really belonging to the Killarney fern as well as the fronds with non typical morphology recently discovered in two forested sites. The confrontation of chorological, ecological, biological and ecophysiological data shows and explains that the larger distribution area of the gametophytes is related to their capacity to colonize a great diversity of habitats characterized by extreme environmental conditions. The scarcity of the sporophytes in natural habitat of the region is not related to a default of the sexual reproduction. The produced sporophytes undergo necrosis because of a physiological deficiency before reaching the mature stage. The sporophytes requirements do not seem to be compatible with the very low light availability (until only $0,5 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{sec}^{-1}$) and the transient period of drought characterizing the independent gametophyte sites. On the basis of these results, measures are proposed for the conservation of *Trichomanes speciosum* Willd. in the Massif Armoricaïn., public and environment manager awareness, official protection, conservative management and monitoring of the fern populations.