

Protocole standardisé pour l'inventaire des tortues d'eau douce à l'aide de l'ADNe au Québec

Mars 2022

MINISTÈRE DES FORÊTS, DE LA FAUNE ET DES PARCS



Photographie de la page couverture :

Tortue mouchetée, © Frédérick Lelièvre, ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP)

Crédit des autres photographies :

Pages 19 et 20, Paquet de filtration ADNe,
figures 8 et 9 : © Anne-Marie Béland, MFFP

Page 21, figure 10 : Préparation de la pompe avec l'ajout d'huile, © Sarah Aubé, MFFP

Page 23, figure 11 : Perche rouge, © Anne-Marie Béland, MFFP

Page 23, figure 11 : Perche jaune, © Sarah Aubé, MFFP

Page 24, figure 12 : Installation – Porte-filtre, © Sarah Aubé, MFFP

Page 24, figure 13 : Installation – Filtration d'un échantillon d'eau, © Anne-Marie Béland, MFFP

La version intégrale de ce document est accessible à l'adresse suivante :

mffp.gouv.qc.ca/documents/faune/PT_standardise_inventaire-tortues-ADNe.pdf

© Gouvernement du Québec

Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs

Dépôt légal - Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2022

ISBN (PDF) : 978-2-550-91311-5

Équipe de réalisation

Rédaction

Patrick Charbonneau, biologiste, M. Sc.	Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP), Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides (SCBMH)
Sarah Aubé, technicienne de la faune	MFFP, Service de la gestion des espèces aquatiques (SGEA)
Anne-Marie Béland, technicienne de la faune	MFFP, SCBMH

Révision

Laurie Bisson Gauthier, biologiste, M. Sc.	MFFP, SCBMH
Guillaume Côté, biologiste, M. Sc. Responsable du laboratoire ADNe	MFFP, SGEA
Yohann Dubois, biologiste, M. Sc. Chef d'équipe, Division du rétablissement	MFFP, SCBMH
Christine Dumouchel, biologiste, M. Env.	MFFP, SCBMH
Anne-Marie Gosselin, biologiste Chef d'équipe, Division de la biodiversité	MFFP, SCBMH

Remerciements

Nous remercions les techniciens de la faune et les biologistes des directions régionales de la gestion de la faune (DGFa) et de la Direction de l'expertise sur la faune terrestre, l'herpétofaune et l'avifaune (DEFTHA) du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP) qui ont lu et commenté ce document.

Référence à citer

MINISTÈRE DES FORÊTS, DE LA FAUNE ET DES PARCS (2022). *Protocole standardisé pour l'inventaire des tortues d'eau douce à l'aide de l'ADNe au Québec*, gouvernement du Québec, Québec. 39 p. + annexes.

Registre du document et des mises à jour

Date	Version	Nature du document/des modifications	Chargé de projet
Mars 2022	01	Première version officielle	Patrick Charbonneau

Avant-propos

Ce document a été élaboré dans le but d'accompagner les biologistes et techniciens de la faune du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP), les consultants et les acteurs du milieu dans la réalisation d'inventaires de tortues à l'aide de l'ADN environnemental (ADNe). Ce protocole vise à répondre aux objectifs et aux besoins du MFFP en matière de conservation et de mise en valeur de la faune.

Les personnes qui réaliseront des inventaires doivent s'assurer d'utiliser une version à jour du présent document, accessible à l'adresse suivante :

mffp.gouv.qc.ca/documents/faune/PT_standardise_inventaire-tortues-ADNe.pdf

Ce protocole standardisé est également destiné à être utilisé lors d'études d'impact ou d'autres projets nécessitant la détection de tortues. Dans ces cas-ci, si des modifications doivent être apportées au protocole, par exemple la distance entre les échantillons d'eau, le plan d'échantillonnage doit être approuvé par la direction de la gestion de la faune (DGFa) de la région concernée (voir Gouvernement du Québec [2022] pour les coordonnées des bureaux régionaux). Tout projet visant l'utilisation de l'ADNe devrait être réalisé en partenariat avec le MFFP, ou tout laboratoire/centre de recherche/université ayant l'expertise pour cette technique d'inventaire.

Ce document vise aussi à harmoniser l'intrant d'information parvenant au Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec (CDPNQ) qui doit compiler les données d'inventaire des régions, des consultants et des divers partenaires.

Table des matières

Introduction.....	1
Permis.....	1
Objectif	1
Notions d'écologie.....	2
Répartition et habitats	2
Tortue à oreilles rouges	2
Répartition.....	2
Habitats.....	2
Tortue des bois	2
Répartition.....	2
Habitats.....	4
Tortue géographique.....	4
Répartition.....	4
Habitats.....	5
Tortue-molle à épines	6
Répartition.....	6
Habitats.....	7
Tortue mouchetée.....	7
Répartition.....	7
Habitats.....	9
Tortue musquée.....	9
Répartition.....	9
Habitats.....	9
Tortue peinte.....	10
Répartition.....	10
Habitats.....	12
Tortue serpentine.....	12
Répartition.....	12
Habitats.....	12
Limites et mises en garde	15
Procédures de stérilisation	15
Probabilité de détection	15
Méthodologie	16
Matériel	16
Périodes d'échantillonnage.....	16
Effort d'échantillonnage et nombre d'échantillons	17
Exemples d'effort d'échantillonnage.....	18
Grille de quadrats de 150 m x 150 m pour les plans d'eau	18
Tronçons de 300 m pour les cours d'eau.....	18
Localisation fine des sites d'échantillonnage.....	18
Quantité d'eau à échantillonner.....	18
Préparation du matériel avant les travaux de terrain	19
Filtration	19
Paquets stériles à usage unique	19

Paquets réutilisables	20
Sacs de transport de filtre individuel	21
Pompe.....	21
Échantillonnage et filtration	22
Notes importantes	22
Note importante n° 1 :	22
Note importante n° 2 :	22
Note importante n° 3 :	22
Procédure d'échantillonnage.....	22
Procédure de filtration	23
Conservation des échantillons filtrés (filtres).....	26
Désinfection du matériel post-échantillonnage	26
Notes importantes	26
Note importante n° 4 :	26
Note importante n° 5 :	26
Note importante n° 6 :	26
Matériel	26
Procédure de désinfection.....	30
Exigences et transfert des données, des échantillons et du matériel utilisé	31
Norme à respecter	31
Formulaire papier.....	31
Formulaire électronique	31
Échantillons pour l'analyse d'ADNe	31
Disposition du matériel en plastique souillé.....	32
Espèces exotiques envahissantes	32
Références	33
Annexe A Procédure abrégée	40
Annexe B Formulaire de prise de données – Échantillonnage de l'ADNe pour les tortues d'eau douce	46

Liste des tableaux

Tableau 1. Effort d'échantillonnage selon les espèces et le milieu aquatique.....	17
--	-----------

Liste des figures

Figure 1.	Aire de répartition québécoise de la tortue des bois	3
Figure 2.	Aire de répartition québécoise de la tortue géographique	5
Figure 3.	Aire de répartition historique québécoise de la tortue-molle à épines.....	6
Figure 4.	Aire de répartition québécoise de la tortue mouchetée.....	8
Figure 5.	Aire de répartition québécoise de la tortue musquée	10
Figure 6.	Aire de répartition québécoise de la tortue peinte	11
Figure 7.	Aire de répartition québécoise de la tortue serpentine.....	13
Figure 8.	Paquet de filtration ADNe stérile à usage unique de marque Smith-Root.....	19
Figure 9.	Paquet de filtration ADNe stérile réutilisable.....	20
Figure 10.	Préparation de la pompe avec l'ajout d'huile.....	21
Figure 11.	Exemples de perche avec porte-bouteille.....	23
Figure 12.	Installation du porte-filtre	24
Figure 13.	Installation lors de la filtration d'un échantillon d'eau.....	24
Figure 14.	Cylindre gradué positionné en contrebas de la pompe	24
Figure 15.	A) Sac Whirl-PAK ^{MC} avec des billes de silice; B) Retrait et pliage du filtre avec une pince; C) Disposition du filtre dans une pochette de nylon, dans le sac Whirl-PAK ^{MC}	25

Introduction

Le Québec constitue la limite nordique de la répartition de plusieurs espèces animales, ce qui est particulièrement le cas pour les reptiles. Il existe sept espèces indigènes de tortues d'eau douce et une seule espèce de tortue marine, la tortue luth (*Dermochelys coriacea*), sur le territoire québécois, la tortue ponctuée n'étant plus considérée comme vivant au Québec. De plus, une espèce exotique, la tortue à oreilles rouges (*Trachemys scripta elegans*), fait maintenant partie de l'herpétofaune du Québec. Les espèces indigènes d'eau douce sont :

- la tortue des bois (*Glyptemys insculpta*);
- la tortue géographique (*Graptemys geographica*);
- la tortue-molle à épines (*Apalone spinifera*);
- la tortue mouchetée (*Emydoidea blandingii*);
- la tortue musquée (*Sternotherus odoratus*);
- la tortue peinte (*Chrysemys picta*);
- la tortue serpentine (*Chelydra serpentina*).

Les cinq premières espèces de la liste possèdent un statut de protection en vertu de la Loi sur les espèces menacées ou vulnérables (RLRQ, c. E-12.01), alors que la tortue peinte et la tortue serpentine ne sont pas considérées actuellement en situation précaire au Québec. La tortue des bois et la tortue géographique ont un statut vulnérable, alors que la tortue-molle à épines, la tortue mouchetée et la tortue musquée sont désignées menacées au Québec.

Le présent document porte sur la détection de ces tortues d'eau douce, y compris la tortue à oreilles rouges, par la technique de l'ADN¹ environnemental (ADNe).

Permis

Aucun permis spécifique à l'inventaire (permis scientifique, éducatif ou de gestion de la faune [SEG]) n'est requis dans le cadre des travaux du présent protocole. D'autres permis peuvent être nécessaires selon le milieu visité.

Objectif

L'objectif du protocole est de détecter et d'identifier les tortues d'eau douce dans les milieux aquatiques.

Les procédures décrites dans le présent document ne s'appliquent pas si l'objectif de l'inventaire est de déterminer les secteurs précis utilisés par une espèce à l'intérieur d'un même milieu hydrique (p. ex., lac ou rivière) ou de calculer l'abondance relative d'une espèce.

¹ Acide désoxyribonucléique.

Notions d'écologie

Le texte qui suit traite principalement de la répartition et des habitats propices à la détection des tortues d'eau douce en milieu aquatique, sans toutefois s'y limiter.

Répartition et habitats

Tortue à oreilles rouges

Répartition

La tortue à oreilles rouges se trouve à la limite septentrionale de sa répartition au Québec. Elle réussit à survivre aux hivers québécois en hibernant. Jusqu'à maintenant, l'espèce ne semblait pas pouvoir se reproduire et élever des jeunes viables. Cependant, en 2010, des observations de ponte ont été rapportées dans la région de Montréal. Des conditions climatiques favorables, avec des printemps plus hâtifs et plus chauds par exemple, pourraient permettre à cette espèce de se reproduire et ainsi de se répandre dans la province. Peu de suivis scientifiques sont encore disponibles sur cette espèce, ce qui ne permet pas de connaître sa répartition réelle dans la province.

Habitats

La tortue à oreilles rouges est un reptile d'eau douce qui fréquente les cours d'eau calmes et lents, les étangs, les lacs et les marais. Puisque la tortue est un animal ectotherme, elle recherche des zones de chaleur et se repose fréquemment au soleil à la surface de l'eau ou sur des perchoirs (roches, billes de bois) afin d'optimiser sa température interne et de faire ses activités quotidiennes. Sa capacité maximale d'activités est atteinte à des températures oscillant autour de 25 à 30 °C, mais la tortue peut tolérer des températures jusqu'à 42 °C et elle a déjà été observée en train de nager sous la glace. La tortue à oreilles rouges peut être active tout au long de l'année dans le sud de son aire de distribution. Au Québec, elle passe toutefois l'hiver en hibernation au fond des étangs (MFFP, 2021a).

Tortue des bois

Répartition

Au Québec, l'aire de répartition connue de la tortue des bois couvre plus de 150 000 km², soit environ 10 % de l'aire totale de l'espèce (figure 1). Elle se trouve principalement dans les zones de forêts décidues et mixtes (Bider et Matte, 1994). Les mentions proviennent surtout du bouclier canadien et des Appalaches avec quelques observations plus rares dans les basses-terres du Saint-Laurent.

Sa répartition est irrégulière et est associée aux rivières sinueuses dont le fond est sablonneux et pierreux. Des inventaires ponctuels récents ont permis de constater la présence de populations de tortues des bois dans une trentaine de bassins versants au Québec, dont la majorité en Outaouais, en Mauricie, au Centre-du-Québec, en Montérégie, en Estrie, dans Lanaudière, dans les Laurentides, en Chaudière-Appalaches et au Bas-Saint-Laurent. Il existe également plusieurs autres mentions isolées dans ces régions et quelques observations dans la Capitale-Nationale, au Saguenay–Lac-Saint-Jean, en Abitibi-Témiscamingue et en Gaspésie (MFFP, 2021b; base de données du Centre de données sur le patrimoine naturel du Québec [CDPNQ]).

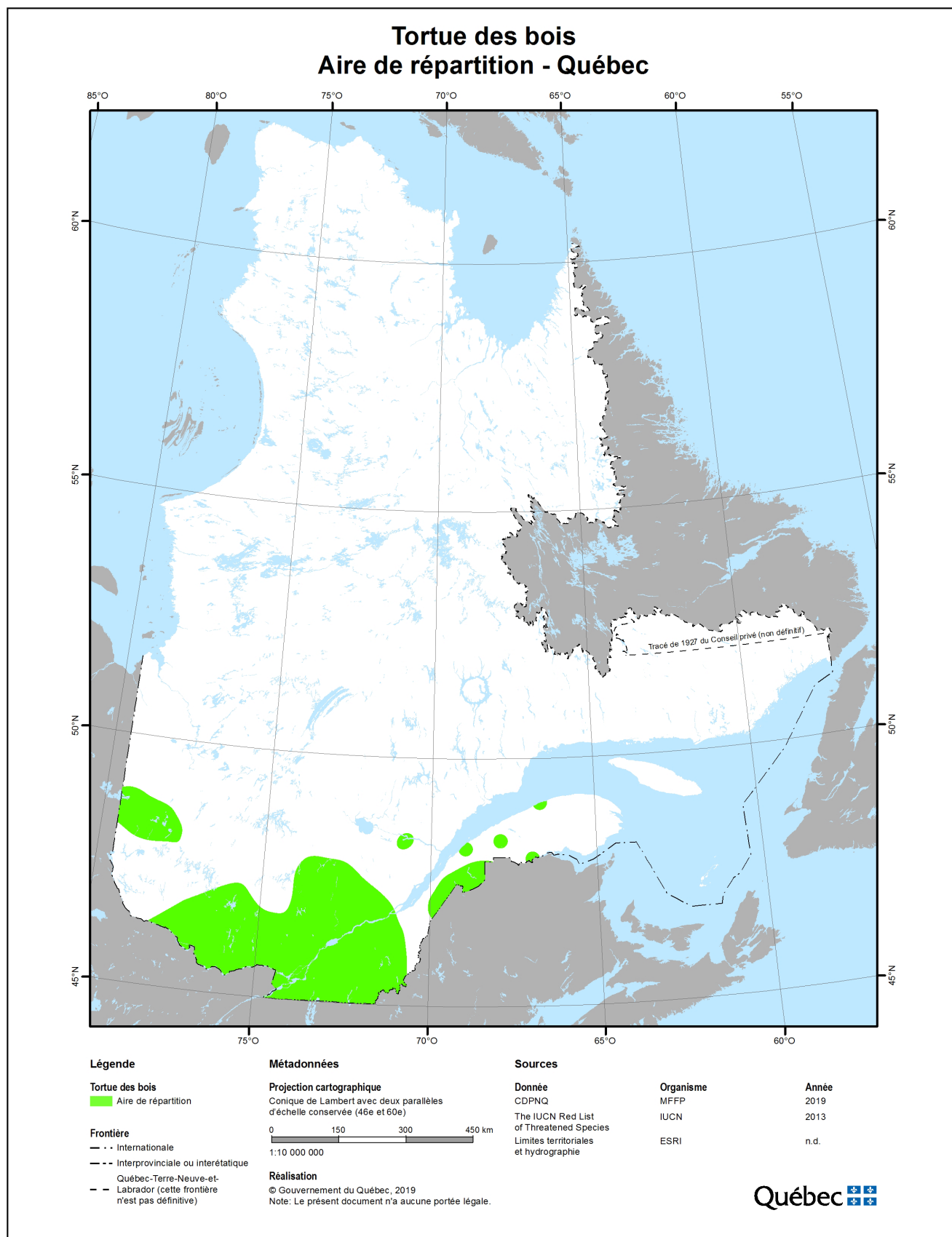


Figure 1. Aire de répartition québécoise de la tortue des bois

Trois unités génétiquement distinctes sont reconnues au Québec : les deux populations de la rive nord et un groupe homogène comprenant toutes les populations de la rive sud du fleuve Saint-Laurent (Tessier et coll., 2005). La fragmentation des différents bassins versants pourrait également avoir une influence sur la structure génétique de ces populations (Bouchard et coll., 2018).

Habitats

L'habitat propice à la tortue des bois comprend un cours d'eau méandreux avec un substrat de sable ou de gravier et un courant lent ou moyen (Ernst et Lovich, 2009). L'habitat terrestre est généralement composé de forêts, d'arbustales et de milieux ouverts dans des proportions variables. Diverses études démontrent que les tortues des bois choisissent les habitats et ne les fréquentent pas au hasard (Brewster et Brewster, 1991; Kaufmann, 1992; Ernst et Lovich, 2009). Elles utilisent différents types de milieux selon la période de l'année. De façon générale, la tortue des bois est considérée comme une des espèces les plus terrestres de la famille des Emydidae. Dubois et coll. (2009) ont évalué que 30 % des localisations de juin à août se trouvaient en rivière, alors que la majorité (70 %) se trouvaient en milieu terrestre. Sur terre, cette tortue utilise les milieux forestiers, mais préfère les aires riveraines avec une couverture arborescente ouverte (Ernst et Lovich, 2009). Dubois et coll. (2009) ont également établi la préférence de l'espèce pour les milieux ouverts contrairement aux milieux fermés. Diverses études à travers l'aire de répartition montrent une grande variabilité dans les habitats utilisés (Harding et Bloomer, 1979; Farrell et Graham, 1991; Ross et coll., 1991; Kaufmann, 1992; Masse, 1996; Saumure, 1997; Arvisais et coll., 2004). En plus des ruisseaux et des rivières, la tortue des bois peut utiliser d'autres habitats comme les lacs, les marais, les tourbières, les prairies humides, les étangs à castor, les zones de coupe forestière, les pâturages, les champs cultivés et les habitats adjacents (Harding et Bloomer, 1979; Farrell et Graham, 1991; Quinn et Tate, 1987; Ross et coll., 1991; Masse, 1996; Daigle, 1997; Saumure, 1997; Arvisais et coll., 2004).

Les sites d'exposition au soleil comprennent les rives herbeuses, sablonneuses ou dénudées, les boisés ouverts et les champs avec une végétation courte, les racines émergées des aulnes et quelquefois les troncs émergeant dans les ruisseaux (Litzgus et Brooks, 1996; Ernst et Lovich, 2009).

Les tortues des bois hibernent dans l'eau, à des profondeurs variant de 0,3 m à 1,8 m (Bishop et Schoonmacher, 1921; Bloomer, 1978; Gilhen, 1984; Graham et Forsberg, 1991). En Mauricie, la profondeur moyenne des sites d'hibernation est de 1 m (Galois et Bonin, 1999). Elles peuvent se trouver au fond des cours d'eau, au pied des barrages de castor, dans les terriers de rat musqué, sous les souches immergées et dans des fossés (Bishop et Schoonmacher, 1921; Bloomer, 1978; Harding et Bloomer, 1979; Gilhen, 1984; Ernst, 1986; Brooks et Brown, 1991 dans Galois et Bonin, 1999; Graham et Forsberg, 1991). Les contraintes associées à l'hibernation sont le gel et le manque d'oxygène prolongé. La tortue des bois est classée dans les espèces intolérantes à l'anoxie. C'est probablement ce qui explique sa présence le long des rivières plutôt que dans les étangs de façon à avoir suffisamment d'oxygène (Ultsch, 2006).

Tortue géographique

Répartition

Au Québec, la tortue géographique se trouve principalement dans la rivière des Outaouais, de Rapides-des-Joachims jusqu'à son embouchure, et dans le lac des Deux Montagnes (figure 2). Une population

se trouve au lac Champlain et fréquente la partie sud de la baie Missisquoi (Bonin, 1998). Elle est observée localement et en petit nombre dans les rivières des Mille Îles et des Prairies, dans le fleuve Saint-Laurent et dans la rivière Richelieu (base de données du CDPNQ).

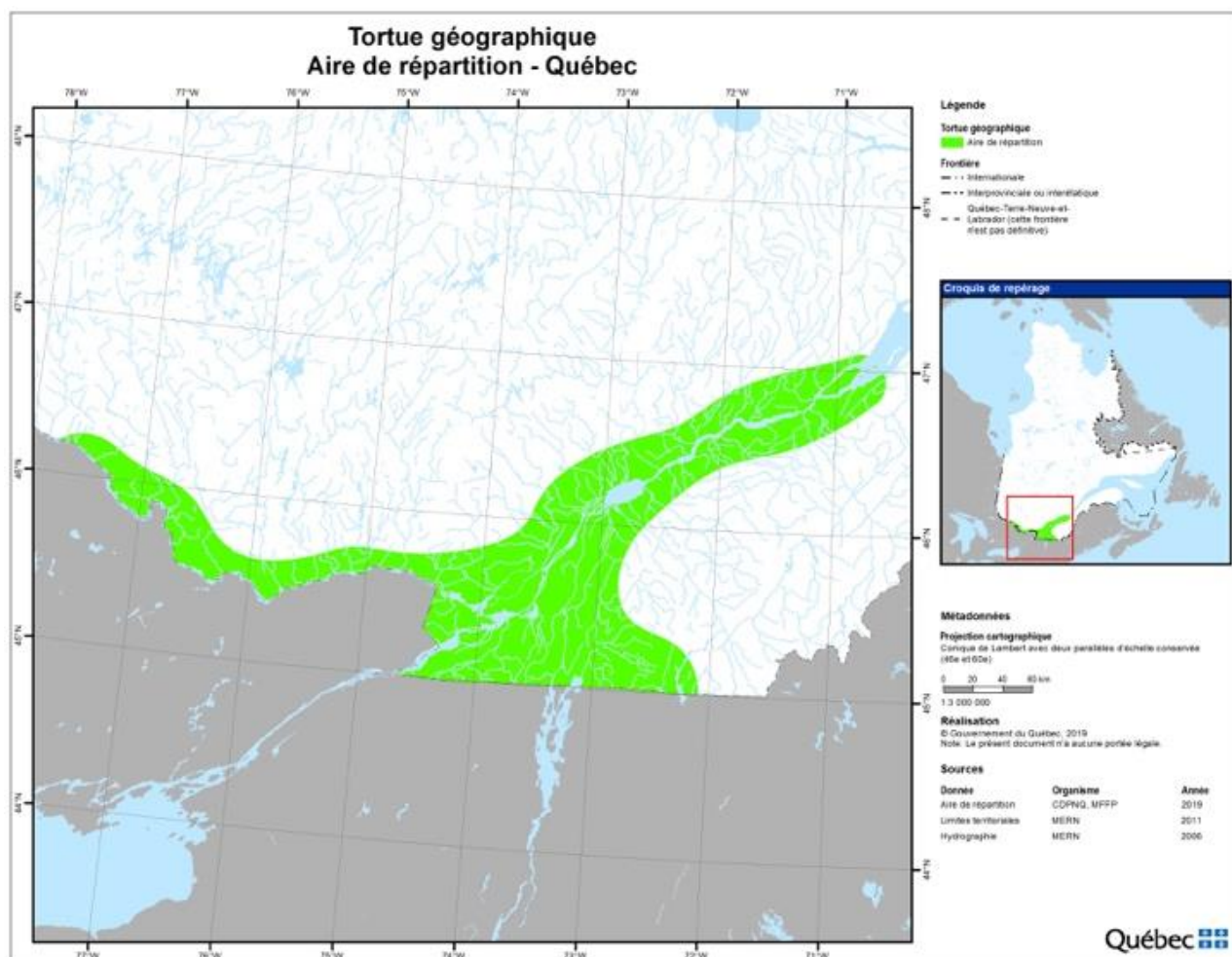


Figure 2. Aire de répartition québécoise de la tortue géographique

Habitats

La tortue géographique occupe des ruisseaux, des rivières, des fleuves et des lacs qui sont bien oxygénés et où il y a la présence de supports émergents tels que des troncs d'arbres, des souches ou des îlots rocheux (Lamond, 1994; Harding, 1997; Bonin, 1998; Ernst et Lovich, 2009; Comité sur la situation des espèces en péril au Canada [COSEPAC], 2012; Rodrigue et Desroches, 2018). Ces supports constituent des sites d'exposition au soleil qui se trouvent à l'abri de prédateurs terrestres. De nature grégaire, la tortue géographique utilise ces sites de façon importante et il arrive qu'on y trouve plusieurs tortues empilées les unes sur les autres (Bonin, 1998; Chabot et coll., 1993). L'exposition au soleil est une activité très importante pour le métabolisme (digestion, maturation des œufs, etc.) de ces tortues (Bulté et Blouin-Demers, 2010).

Les tortues géographiques se regroupent pour l'hibernation au fond des lacs et des rivières, dans un substrat sableux ou graveleux, dans des eaux riches en oxygène (Ernst et Lovich, 2009; Rodrigue et

Desroches, 2018). L'espèce hiberne à des profondeurs entre 0,3 et 11,3 m (Bernier et Rouleau, 2010; Rouleau et Bernier, 2011; Environnement Canada, 2016a).

Tortue-molle à épines

Répartition

La répartition de la tortue-molle à épines au Québec est discontinue (figure 3). Elle se trouve principalement dans la baie Missisquoi, dans le lac Champlain, et dans la rivière aux Brochets au sud de la province (Bonin, 1997). Une bonne partie des individus de ce secteur hiberne dans l'État du Vermont, aux États-Unis, près de la frontière québécoise. La tortue-molle à épines est également présente dans la rivière Richelieu. Quelques observations ont été confirmées entre 2006 et 2018 dans les chenaux qui se connectent avec la rivière l'Acadie à la hauteur de la ville de Carignan, et le bassin de Chambly, dans la région de la Montérégie (Rioux et Desroches, 2007; Bernier et coll., 2008a, 2008b; Patrick Paré, Zoo de Granby, communication personnelle, 24 février 2021). Autrefois, il aurait existé au Québec d'autres populations de tortues-molles à épines, soit deux dans la rivière des Outaouais, une à l'ouest de Gatineau et une dans le secteur de Sheenboro au Québec, une population dans la rivière Richelieu et une autre dans les eaux entourant l'île Perrot et l'extrémité ouest de l'île de Montréal (base de données du CDPNQ).

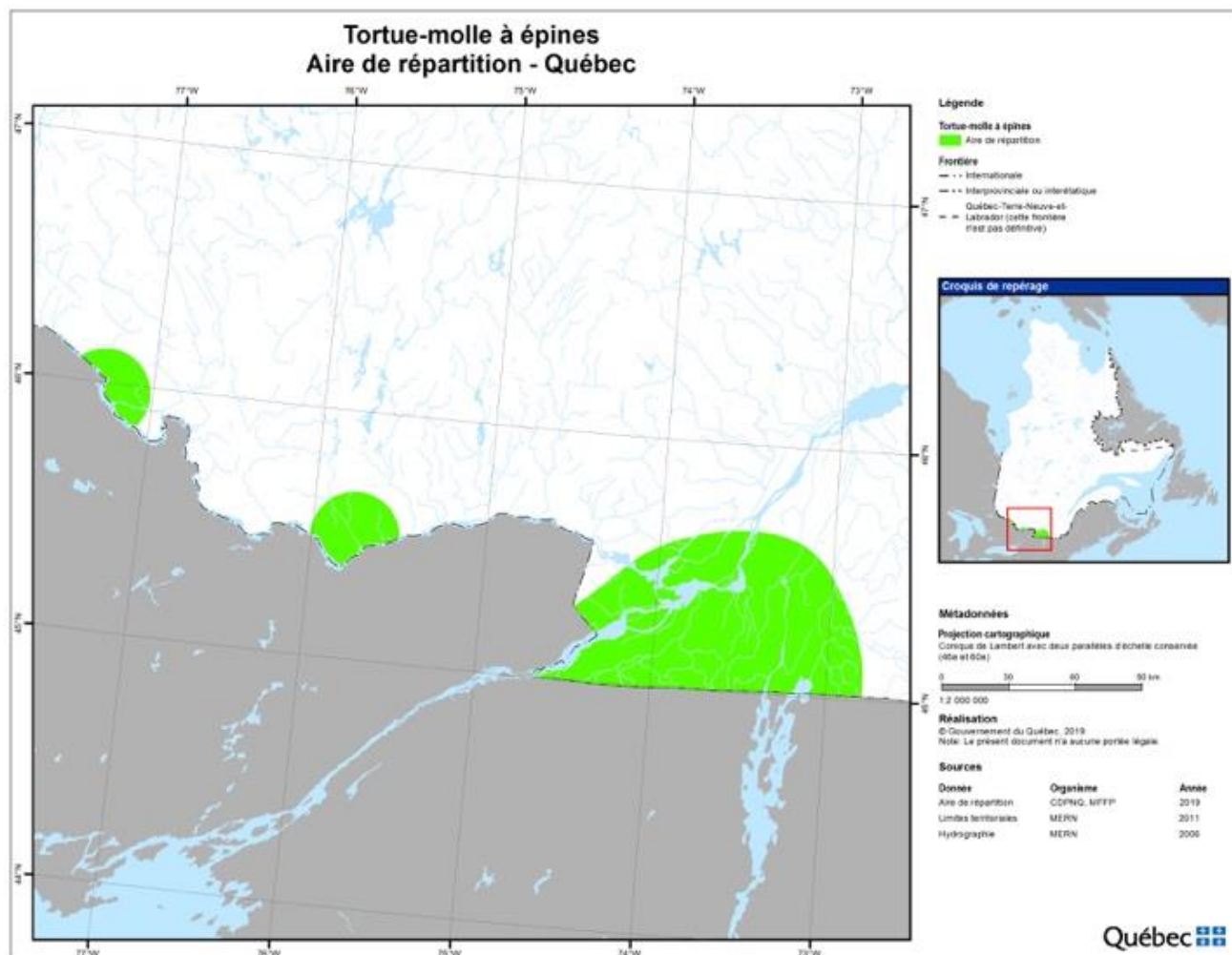


Figure 3. Aire de répartition historique québécoise de la tortue-molle à épines

Habitats

Ernst et Lovich (2009) mentionnent que les déplacements longitudinaux de la tortue-molle à épines sont relativement restreints. La taille du domaine vital de cette tortue est directement tributaire de la distance séparant les habitats importants, à savoir la zone d'estivage et le site d'hibernation. Les habitats les plus importants sont le site d'hibernation, le site de ponte, les sites d'exposition au soleil et les sites de préhibernation (Galois et coll., 2002). Plusieurs milieux humides au Québec seraient utilisés par l'espèce (Galois et coll., 2002).

La tortue-molle à épines est une espèce essentiellement aquatique, associée davantage aux plans d'eau qu'aux milieux humides isolés (Bodie et coll., 2000). Elle peut fréquenter les larges rivières, les petits ruisseaux lents, les lacs, les étangs temporaires ou permanents, les baies marécageuses et les milieux humides riverains (Bonin, 1997; Fletcher, 2002; Galois et coll., 2002). Les principales caractéristiques recherchées dans ces habitats sont des fonds mous, une végétation aquatique clairsemée et la présence de barres de sable ou de vasières (Fletcher, 2002).

L'espèce est souvent observée près de buissons submergés, d'arbres tombés ou d'autres débris pouvant lui servir d'abri et où elle peut s'alimenter (Bonin, 1997). Les secteurs peu profonds permettent aux tortues de respirer à la surface de l'eau en étirant leur cou tout en demeurant cachées dans le substrat.

Des rassemblements de plusieurs tortues peuvent être observés aux sites d'exposition au soleil et à proximité d'aires favorables à la ponte (Bonin, 1997). Les déplacements de la tortue-molle à épines peuvent être importants selon la configuration du milieu. L'animal doit parfois effectuer une migration de plusieurs kilomètres pour rejoindre ses habitats d'hibernation, de ponte et d'alimentation (Galois et coll., 2002).

Les sites d'hibernation sont habituellement situés entre 5 et 10 cm sous un substrat meuble à une profondeur d'eau de 40 à 50 cm, où l'eau est très bien oxygénée (Ernst et Lovich, 2009). Rodrigue et Desroches (2018) font mention de sites d'hibernation occupés en groupe, à des profondeurs d'eau de 2,5 à 5 m. À partir de la fin d'août, les tortues retournent à leur secteur d'hibernation. La période d'hibernation débute en octobre et se termine en mai (Ernst et Lovich, 2009). Les femelles semblent commencer à hiberner plus tôt (mi-octobre) que les mâles (fin novembre) (Dobbyn et Smith, 2005, dans Environnement Canada, 2016b). La tortue-molle à épines est réputée être fidèle à ses sites d'hibernation (Vermont Fish and Wildlife [VFW], 2009 dans Environnement Canada, 2016b). Il a aussi été observé qu'elle hiberne en groupe (Dobbyn et Smith, 2005 dans Environnement Canada, 2016b).

Tortue mouchetée

Répartition

Au Québec, la répartition de la tortue mouchetée est restreinte principalement à la vallée de l'Outaouais en amont de Gatineau (figure 4; base de données du CDPNQ). Quelques individus auraient été vus dans l'extrême sud-ouest de la province et sur l'île de Montréal. D'autres spécimens ont été observés, notamment près de Neuville dans la région de la Capitale-Nationale et, fait inusité, près de Lebel-sur-Quévillon, dans la région du Nord-du-Québec (MFFP, 2021c). Il est possible que ces individus proviennent de populations locales isolées ou qu'il s'agisse de tortues relâchées à la suite d'une garde en captivité illégale (MFFP, 2021c).

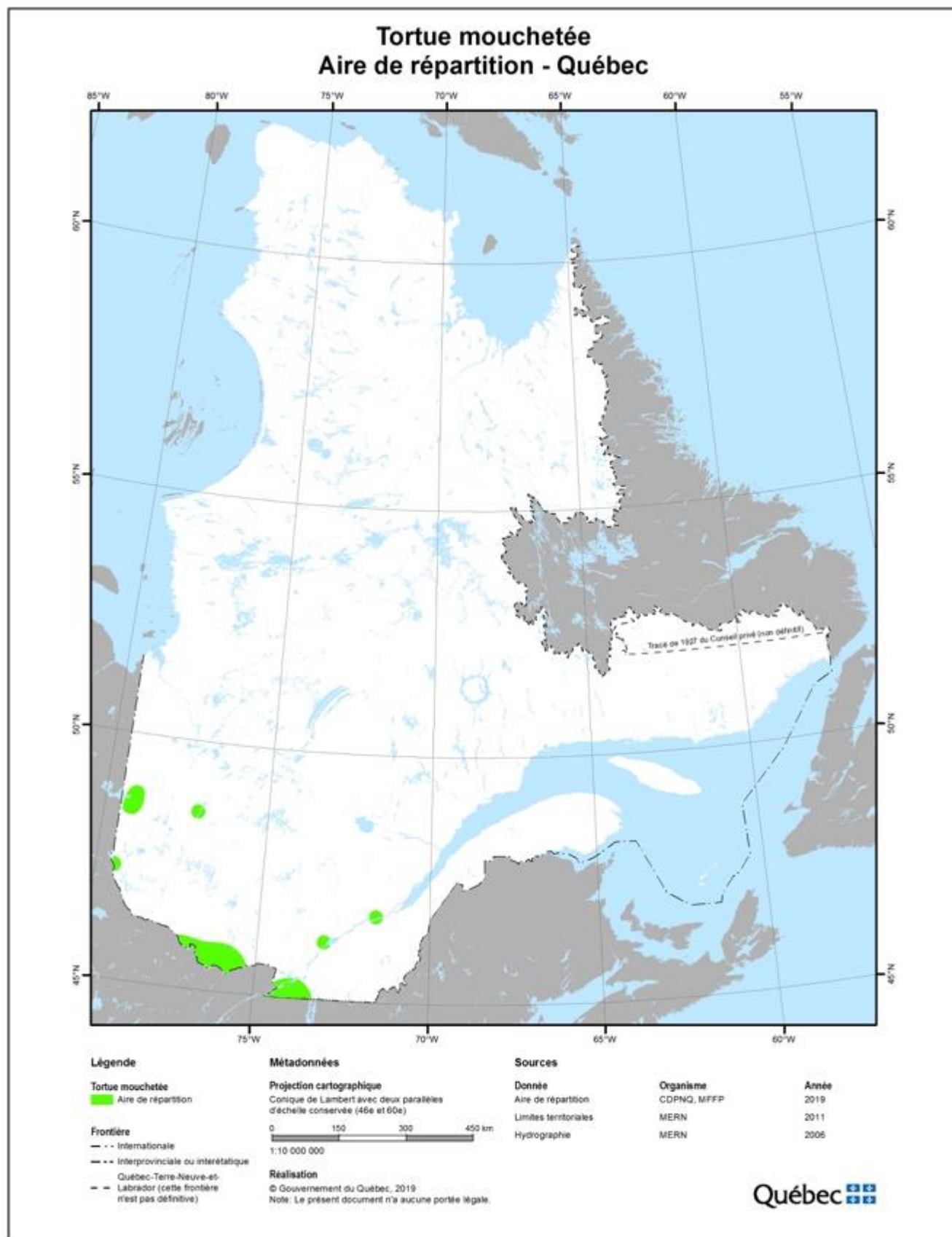


Figure 4. Aire de répartition québécoise de la tortue mouchetée

Habitats

Cette espèce est très aquatique et choisit plusieurs milieux comme habitat tels que des marécages, des marais, des tourbières, des lacs, des étangs, des terrains marécageux, des ruisseaux au débit lent et les côtes des baies ou des lacs (Herman et coll., 1995; Harding, 1997; Rodrigue et Desroches, 2018; Ernst et Lovich, 2009; COSEPAC, 2016).

La tortue mouchetée hiberne, à une profondeur entre 0 et 100 cm, dans des plans d'eau temporaires ou permanents comme dans des marécages, des tourbières, des marais, des ruisseaux, des rives de lacs ou d'étangs et des fosses inondées (Ernst et Lovich, 2009; Edge et coll., 2010; Seburn, 2010; COSEPAC, 2016). Ces sites d'hibernation sont d'ailleurs situés dans les mêmes secteurs que ceux utilisés pour les activités estivales (Joyal et coll., 2001; Seburn, 2010; COSEPAC, 2016).

Tortue musquée

Répartition

La découverte de la tortue musquée au Québec est relativement récente puisque la première mention, localisée à l'est de Gatineau dans la région de l'Outaouais, date de 1989. Récemment, l'espèce a été observée à trois autres endroits le long de la rivière des Outaouais en amont de Gatineau, plus spécifiquement dans le secteur de Bristol et du lac Deschênes (élargissement de la rivière des Outaouais à Gatineau) (figure 5; base de données du CDPNQ).

Habitats

La tortue musquée est une espèce majoritairement aquatique qui choisit des milieux humides peu profonds avec des eaux stagnantes ou lentes reliés à de grands plans d'eau permanents ou à des baies peu profondes de lacs et de cours d'eau (Edmonds, 2002; Environnement Canada, 2016c). Elle se trouve dans des lacs, des étangs, des marais, des rivières et des ruisseaux (Harding, 1997; Edmonds, 2002; Environnement Canada, 2016c; Rodrigue et Desroches, 2018). Cette tortue choisit des eaux avec de la végétation aquatique émergente, flottante et submergée abondante formant un couvert à la surface de l'eau puisque cela lui procure des sites d'alimentation, des refuges et des sites pour sa thermorégulation (Edmonds, 2002; Belleau, 2008; Rowe et coll., 2009; Picard et coll., 2011). Elle se trouve principalement dans la zone littorale, dans des milieux à substrat meuble comme du sable ou de la boue, sous des roches et des morceaux de bois submergés ainsi que dans des huttes de rats musqués ou de castors (Harding, 1997; Belleau, 2008; Ernst et Lovich, 2009; COSEPAC, 2012; Environnement Canada, 2016c). Il est rare de trouver une tortue musquée se chauffant hors de l'eau (Edmonds, 2002).

La tortue musquée hiberne généralement dans des eaux peu profondes, allant jusqu'à environ 3 m de profondeur, et s'enfouit d'environ 30 cm dans la boue (Edmonds, 2002; Ernst et Lovich, 2009). L'espèce peut aussi hiberner dans des terriers, des huttes de castors ou de rats musqués et dans des souches ou des amas de roches près de l'eau (Ernst et Lovich, 2009).

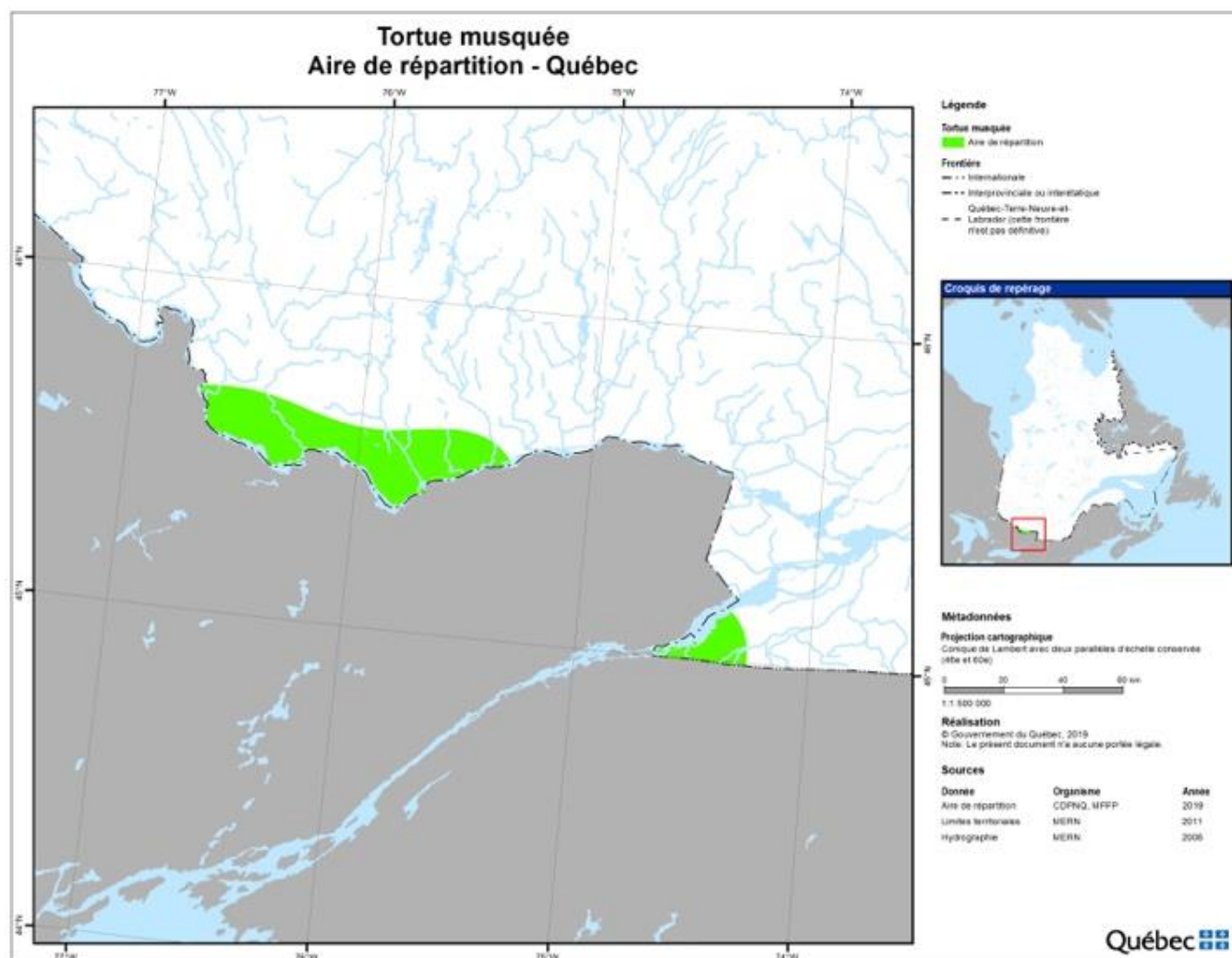


Figure 5. Aire de répartition québécoise de la tortue musquée

Tortue peinte

Répartition

Selon Rodrigue et Desroches (2018), la tortue peinte est commune dans le sud du Québec (figure 6). Les conditions climatiques clémentes de la vallée de la rivière Gatineau ont permis à l'espèce d'y étendre son aire de répartition à plus de 100 km plus au nord (Bleakney, 1958 dans COSEPAC, 2018). On note également une montée de sa répartition au nord du lac Saint-Jean (base de données du CDPNQ).

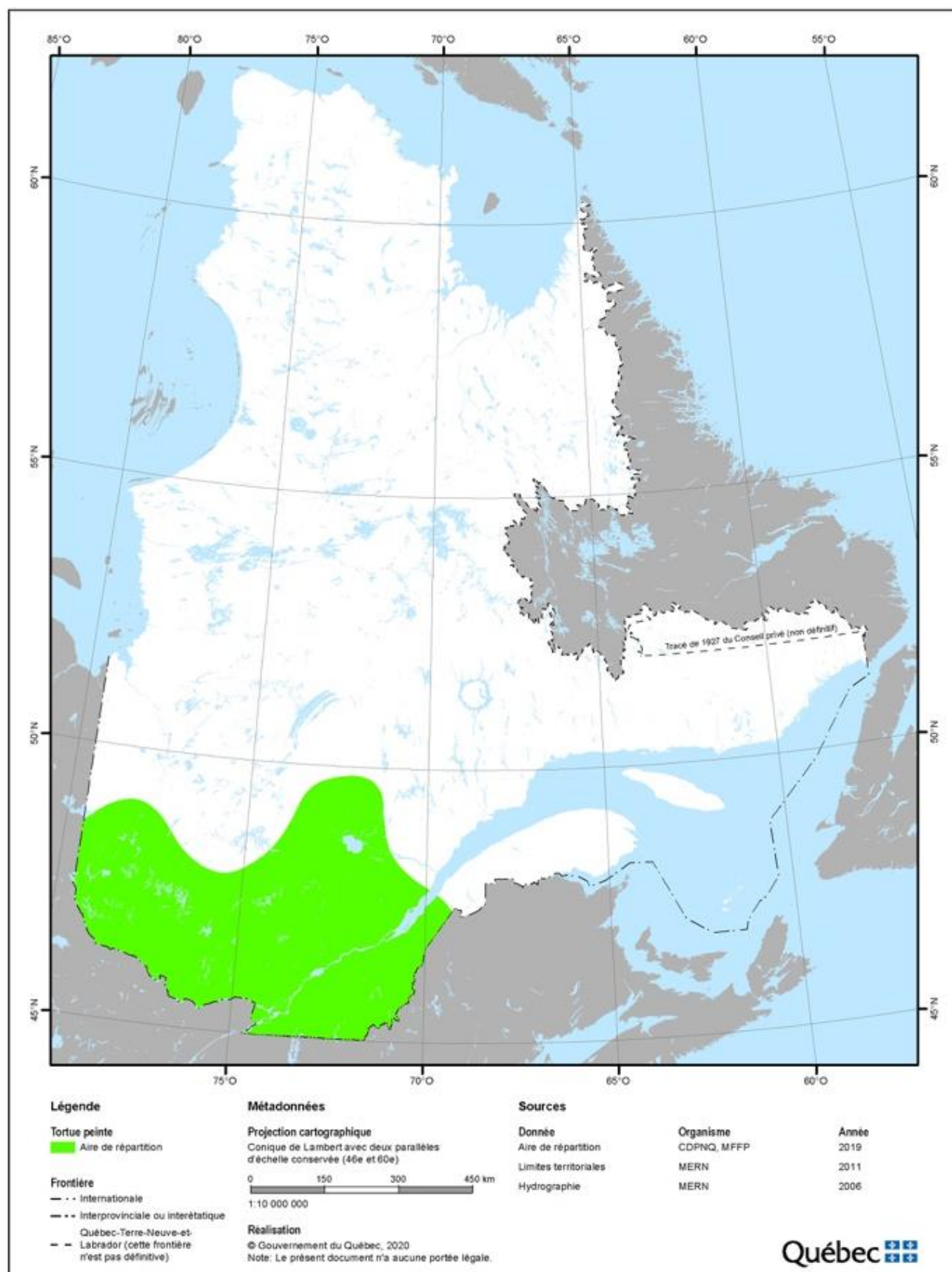


Figure 6. Aire de répartition québécoise de la tortue peinte

Habitats

Les tortues peintes fréquentent les milieux humides (p. ex., marais, marécages, étangs, tourbières minérotrophes et ombrotrophes, anciens méandres), les lacs et les cours d'eau relativement peu profonds où le courant est faible et où il y a abondance de végétaux, de sites d'exposition au soleil et de substrat organique (COSEPAC, 2018). Ces tortues se trouvent en association avec des plantes aquatiques submergées, qui servent à la fois de nourriture et d'abri. L'espèce est semi-tolérante aux paysages modifiés par l'activité humaine et peut à l'occasion habiter des étangs en milieu urbain et des terres soumises à des perturbations d'origine humaine (p. ex., étangs agricoles, bassins de retenue, installations d'épuration de l'eau) (COSEPAC, 2018). Les milieux propices à sa nidification comprennent les espaces ouverts, souvent orientés vers le sud et inclinés, à substrat sableux-limoneux ou graveleux, généralement situés à 1 200 m ou moins des milieux aquatiques où l'espèce passe sa saison active. Les tortues peintes hibernent dans les eaux peu profondes présentant une épaisse couche de sédiments (COSEPAC, 2018).

Tortue serpentine

Répartition

Au Québec, la tortue serpentine occupe les bassins hydrographiques de presque toutes les rivières situées au sud du 49^e parallèle (figure 7; base de données du CDPNQ), et son abondance décroît avec l'augmentation de la latitude (Environnement et Changement climatique Canada [ECCC], 2016).

Habitats

La tortue serpentine utilise une grande variété d'habitats, mais elle fréquente les milieux aquatiques caractérisés par un faible courant, un fond vaseux et mou ainsi qu'une végétation aquatique dense. L'espèce fréquente les étangs, les marais, les marécages, les tourbières, les baies peu profondes, les berges des rivières et des lacs ainsi que les cours d'eau lents (Harding, 1997; Ernst et Lovich, 2009; Paterson et coll., 2012). Des individus peuvent survivre dans des zones aménagées (p. ex., étangs de terrain de golf, canaux d'irrigation en milieu agricole) ou des milieux où l'eau est très polluée, comme les zones portuaires en eaux douces (Bishop et coll., 1998; de Solla et coll., 1998; COSEPAC, 2008; Rowe, 2008).

Afin de ne pas geler durant la période hivernale, la tortue serpentine a besoin d'un site d'hibernation en milieu aquatique. Celui-ci peut se situer dans un cours d'eau, en milieu lacustre ou en milieu vaseux (Brown et Brooks, 1994; Paterson et coll., 2012). Au sein de ces milieux, les caractéristiques suivantes semblent être recherchées pour le site d'hibernation (Meeks et Ultsch, 1990) :

- une profondeur d'eau assez faible pour permettre à la tortue d'atteindre facilement la surface pour respirer, mais assez importante pour éviter le gel en profondeur;
- un endroit dont la surface gèlera tardivement et dont la glace fondra rapidement au printemps;
- une épaisseur de boue suffisante pour permettre l'ensevelissement;
- des sources supplémentaires d'abris submergés, comme un tapis de végétation flottante, des racines, des souches, des branches ou des troncs, une hutte de rat musqué ou une berge en saillie.

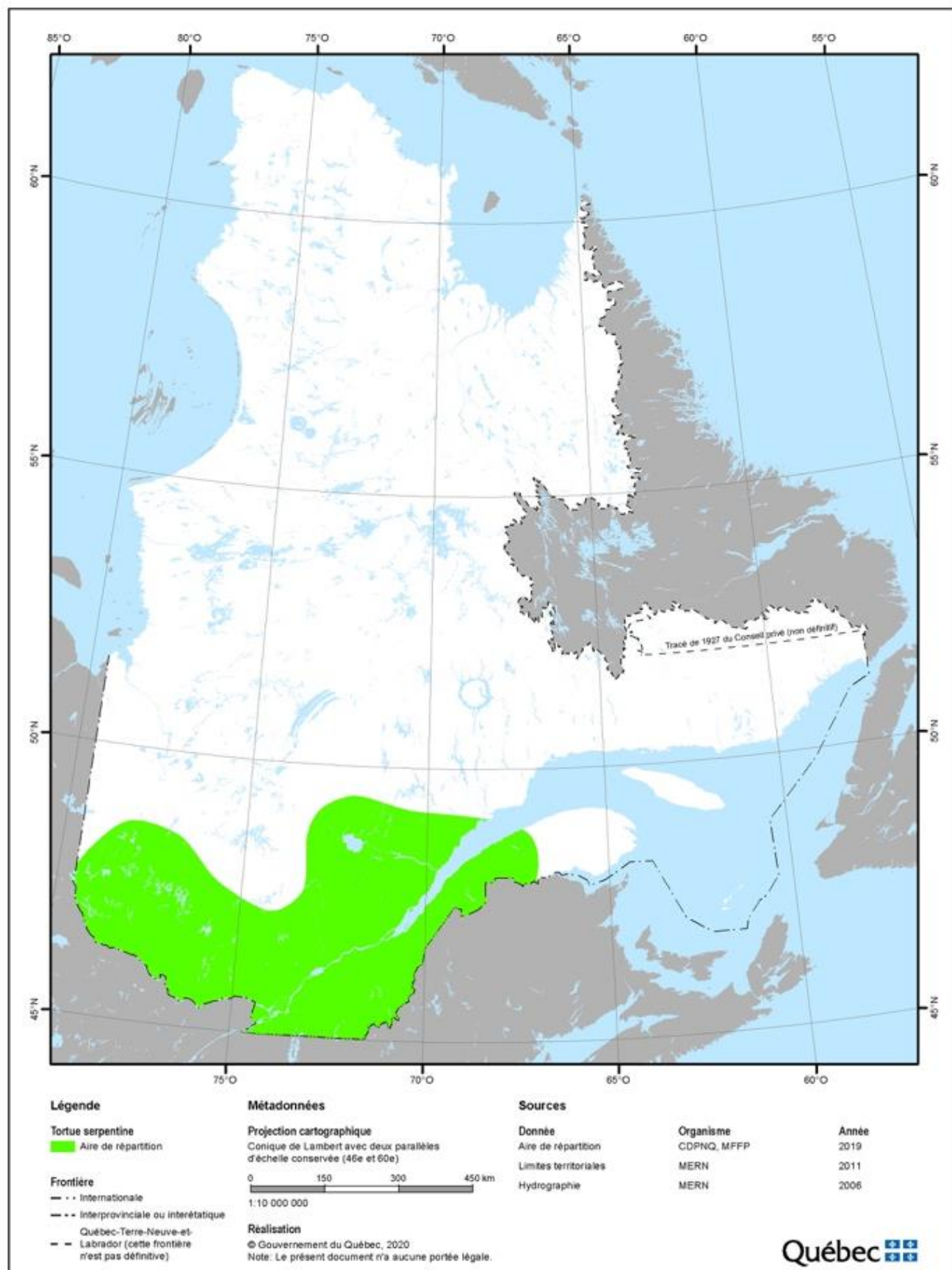


Figure 7. Aire de répartition québécoise de la tortue serpentine

Les tortues serpentes sont tolérantes à l'anoxie (Reese et coll., 2002) et les sites d'hibernation peuvent présenter des concentrations d'oxygène dissous très variées (Paterson et coll., 2012). Les tortues serpentes choisiraient cependant des sites dont la température de l'eau est inférieure à celle du milieu environnant (Paterson et coll., 2012). Les tortues serpentes demeurent généralement en hibernation d'octobre jusqu'en avril (Harding, 1997; Brown et Brooks, 1994). Elles peuvent hiberner en groupe (Meeks et Ultsch, 1990) et des tortues d'autres espèces peuvent être présentes au même site (Ernst et Lovich, 2009). Il semble y avoir une certaine fidélité des tortues serpentes à leur site d'hibernation d'une année à l'autre et plusieurs adultes effectuent une migration annuelle pouvant atteindre 3,9 km pour retourner au site (Brown et Brooks, 1994).

Limites et mises en garde

Procédures de stérilisation

Avant de commencer un échantillonnage d'eau pour en extraire l'ADNe, il est recommandé de consulter le *Protocole standardisé des procédures de stérilisation et d'échantillonnage d'eau afin de déterminer la présence d'espèces fauniques dans les milieux hydriques par analyses d'ADNe au Québec* (MFFP, 2021d). Ce document traite, entre autres, des sources de contamination possibles et des procédures de terrain à respecter pour assurer la validité des résultats et diminuer les cas d'erreurs de faux positifs.

Les procédures de stérilisation sont élaborées uniquement pour des campagnes d'échantillonnage ayant comme objectif de déterminer la présence d'une espèce dans des milieux hydriques.

Probabilité de détection

La probabilité de détection est un enjeu important, en particulier dans les cas où les espèces recherchées sont présentes en très faible abondance dans l'environnement (Bailey et coll., 2004). Le risque d'une fausse donnée d'absence peut nuire aux efforts de conservation de ces espèces rares (Boakes et coll., 2016).

Les méthodologies d'inventaire des tortues sont souvent basées sur le dénombrement des animaux en lézardage, tués sur la route, capturés par des pièges spécialisés ou sur la recherche active la nuit à l'aide d'une lampe (Gordon et MacCulloch, 1980; Lindeman, 1999; Steen et coll., 2006; Summer et Mansfield-Jones, 2008). À moins qu'elles ne soient en train de creuser un nid, les tortues semi-aquatiques, comme les tortues peintes, les tortues géographiques et les tortues serpentes, restent généralement dans l'eau ou à proximité des cours d'eau (Gamble et Simons, 2004; Carrière et Blouin-Demers, 2010; Paterson et coll., 2012; Steen et coll., 2012).

Selon Lindeman (1999), il y a une forte corrélation entre les densités de tortues du genre *Graptemys* et les densités de bois mort à la surface de l'eau, offrant des structures pour le comportement de lézardage. Il faut donc rechercher ce type d'habitat pour augmenter la probabilité de détection de la tortue géographique. Toutefois, il faut garder à l'esprit que l'absence de détection dans un habitat n'indique pas que cet habitat n'est pas utilisé par la tortue géographique à un certain moment de son cycle vital.

Selon Adams et coll. (2019), les études sur l'ADNe des reptiles, notamment des tortues et des serpents, ont montré des résultats mitigés dans la détection de ces animaux en conditions de terrain. Toutefois, cette technique a été utilisée avec succès pour détecter la tortue à oreilles rouges (Davy et coll., 2015), la tortue des bois et la tortue serpentine (Lacoursière-Roussel et coll., 2016; Akre et coll., 2019). Par contre, la méthode proposée par Adams et coll. (2019) s'est avérée inefficace pour la détection de la tortue peinte en milieu naturel.

Pour la tortue des bois, selon Akre et coll. (2019), les probabilités de détection sont plus élevées si la densité de tortues est élevée, si le nombre de jours depuis la dernière pluie est grand, si la température de l'eau est basse et si le débit de l'eau est faible. La probabilité de détection est également influencée par les activités saisonnières des animaux (de Souza et coll., 2016). Ainsi, plus les animaux sont actifs, plus la probabilité de détection est grande.

Méthodologie

Matériel

Le matériel requis pour l'échantillonnage d'eau est le suivant :

- Boîtier antichoc pour protéger et transporter la pompe pour la filtration;
- Pompe utilitaire portative (p. ex., ECOFLO, 350 gal/h, 12 V CC [Modèle n° PUP61DC]);
- Batterie 12 V rechargeable;
- Cylindre gradué de 2 L ou contenant gradué;
- Paquets de filtration ADNe stériles. Les sachets contiennent un porte-filtre avec filtre de 1 micron, un bout de tubulure pour échantillonner avec un préfiltre de 200 microns installé au bout avec un élastique (préalablement décontaminé) et une pince stérile :
 - Paquets à usage unique (p. ex., de marque Smith-Root),
 - Paquets réutilisables (c'est-à-dire porte-filtre désinfecté avec filtre, préfiltre installé au bout de la tubulure avec élastique et pince stérile);
- Tubulure d'échantillonnage de diamètre extérieur de 1/2" et de diamètre intérieur de 3/8" (1,23 x 1,9 cm) (p. ex., Waterra – LDPE – HDPE);
- Glacière pour conserver les échantillons (glacière électrique ou glacière avec blocs réfrigérants de type Ice Packs^{MC});
- Gants en nitrile à usage unique;
- Bouteilles de 2 L;
- Eau distillée;
- Eau de Javel² (solutions de 10 % et 20 %);
- Virkon^{MC} Aquatic (facultatif; solution de 2 %);
- Sacs Whirl-Pak^{MC} (4 oz);
- Billes de silice;
- Filtre de nylon (160 microns; Dulytek^{MC}; 200 po x 2 po) (environ 5 cm de long) préalablement coupé;
- Contenant hermétique (p. ex., Tupperware^{MC}) pour y déposer les sacs Whirl-Pak^{MC};
- Sacs de poubelle;
- Thermomètre (°C);
- Procédure abrégée;
- Formulaire de terrain et le nécessaire pour prendre des notes;
- GPS avec stations d'échantillonnage préalablement téléchargées;
- Veste de flottaison individuelle (VFI) et équipement personnel (si échantillonnage en embarcation);
- Bottes-salopettes (*waders*; si échantillonnage à pied).

Périodes d'échantillonnage

Il est recommandé d'éviter les périodes hâtives du printemps et tardives de l'automne. En effet, trop tôt en saison, quand l'eau est froide et que les tortues sont moins actives, on s'attend à ce qu'il y ait moins d'ADN de tortues dans l'eau. De plus, il faut éviter les crues printanières et les fortes pluies qui diluent

² Concentration d'hypochlorite de sodium variant entre 3 et 6 %, en vente libre dans les commerces.

l'ADNe dans le milieu aquatique. Il faut attendre jusqu'à 24 h après une forte pluie pour commencer les prélèvements d'eau. Tard en automne, les tortues sont moins actives, ce qui laisse présager une moins grande quantité d'ADNe dans le milieu.

La période idéale pour l'échantillonnage de l'ADNe pour la tortue des bois, ainsi que les autres espèces en rivière, est juin et juillet, puisqu'en mai les rivières sont en crue et qu'en août l'étiage est trop important pour le prélèvement efficace des échantillons d'eau nécessaires.

Pour les autres espèces de tortues en lacs et en milieux humides, l'échantillonnage de l'ADNe peut se faire pendant toute leur période active, incluant le printemps, à la sortie de l'hibernation, et l'automne, jusqu'au retour en hibernation (mai à octobre).

Effort d'échantillonnage et nombre d'échantillons

Pour les environnements lotiques, le milieu aquatique est divisé en tronçons de 300 m de long et, pour les plans d'eau et les milieux humides, en carrés de 150 m de côté (22 500 m²) selon une grille d'échantillonnage. L'effort d'échantillonnage est présenté au tableau 1. Comme les habitats à échantillonner peuvent être de différentes tailles, il est difficile d'établir un nombre minimal d'échantillons à prélever. Ce nombre sera établi lors de la préparation du plan d'échantillonnage spécifique au projet et aux espèces ciblées. Ce plan devra être soumis à la DGFA pour qu'elle puisse le valider.

Tableau 1. Effort d'échantillonnage selon les espèces et le milieu aquatique

Espèce	Habitats	Type de station	Effort d'échantillonnage minimal*
Tortue à oreilles rouges	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	25 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	25 % des stations
Tortue des bois	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue-molle à épines	Lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue mouchetée	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
Tortue géographique	Lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue musquée	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
Tortue peinte	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue serpentine	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	25 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	25 % des stations

* L'idéal est d'échantillonner 100 % des stations lorsque cela est possible (plans d'eau : totalité des stations d'une grille d'échantillonnage; cours d'eau : totalité des tronçons). Lorsque le nombre de stations composant un site est plus élevé, il est possible d'échantillonner seulement un pourcentage des stations, en respectant le minimum indiqué dans la colonne « Effort d'échantillonnage minimal ».

Exemples d'effort d'échantillonnage

Grille de quadrats de 150 m x 150 m pour les plans d'eau

Pour un plan d'eau dont la superficie comprendrait une grille de 20 quadrats de 22 500 m², il faudrait qu'au minimum 10 stations (50 %; 1 échantillon/quadrat) soient échantillonnées pour la tortue-molle à épines, la tortue mouchetée, la tortue géographique, la tortue musquée et la tortue peinte. Dans le cas de la tortue à oreilles rouges et de la tortue serpentine, un minimum de 5 stations seraient échantillonnées (25 %; 1 échantillon/quadrat). Idéalement, les 20 quadrats feraient l'objet d'un prélèvement d'eau pour maximiser la probabilité de détection de l'espèce ciblée.

Tronçons de 300 m pour les cours d'eau

Pour un cours d'eau de 10 km de long, il y aurait 33 tronçons de 300 m. Ainsi, il faudrait un minimum de 17 stations (50 %; 1 échantillon/tronçon) échantillonnées pour la tortue des bois, la tortue-molle à épines, la tortue géographique et la tortue peinte, alors que le minimum serait de 8 stations (25 %; 1 échantillon/tronçon) pour la tortue à oreilles rouges et la tortue serpentine. Idéalement, les 33 segments de 300 m de longueur feraient l'objet d'un prélèvement d'eau pour maximiser la probabilité de détection de l'espèce ciblée.

Localisation fine des sites d'échantillonnage

Une localisation fine des sites d'échantillonnage est importante pour augmenter la probabilité de récolter l'eau à proximité d'une tortue non visible. L'hypothèse est que plus l'échantillonnage est réalisé près d'une tortue, plus les chances de capter une molécule d'ADN de l'animal sont élevées. La localisation des sites où sont prélevés les échantillons d'eau doit donc tenir compte des préférences d'habitats selon les saisons et l'espèce visée.

Ainsi, en milieux lacustres ou humides, pour une station (quadrat) ayant une bande riveraine, cette dernière sera privilégiée au détriment des eaux profondes sans végétation et sans structures émergentes.

Pour les espèces en milieux lotiques, notamment la tortue des bois, les aulnaies d'un tronçon de 300 m seront privilégiées au détriment du centre du cours d'eau. L'échantillonnage devrait être fait directement dans les habitats ou microhabitats suspectés d'abriter des individus, ou immédiatement en aval de ceux-ci. De plus, les zones de courant rapide ne devraient pas faire l'objet de prélèvements d'eau; on privilégiera les zones où le débit est lent.

Plus spécifiquement, pour l'ADNe de la tortue des bois, l'échantillon d'eau devrait être prélevé dans des abris potentiels, tels que :

- des amas de débris dans la rivière (troncs, branches, etc.), sur les berges ou parfois au milieu du cours d'eau (petit îlot);
- des racines et des branches d'aulnes submergés sur les berges de la rivière.

Quantité d'eau à échantillonner

La quantité minimale d'eau à échantillonner à chacune des stations est de **2 L**.

Préparation du matériel avant les travaux de terrain

Filtration

Paquets stériles à usage unique

Avant d'aller sur le terrain, préparer autant de paquets à usage unique que de stations d'échantillonnage prévues. Pour une filtration à l'aide d'un paquet à usage unique, les éléments suivants doivent être préparés :

- 1- Préparer les paquets stériles à usage unique (p. ex., Smith-Root).
- 2- Pour chaque porte-filtre, un filtre doit y être inséré. Cette manipulation doit être effectuée avec des gants à usage unique.
- 3- Couper une longueur d'environ 3 à 4 pouces (7,6 à 10,1 cm) d'une tubulure d'échantillonnage 1/2" x 3/8" (1,23 x 0,95 cm) pour chaque station d'échantillonnage. Les outils de découpe doivent être stérilisés.
- 4- Une fois les morceaux de tubulure coupés et stérilisés, insérer un bout de tubulure dans chacun des paquets. Le bout de tubulure peut être mis directement dans le paquet (figure 8).

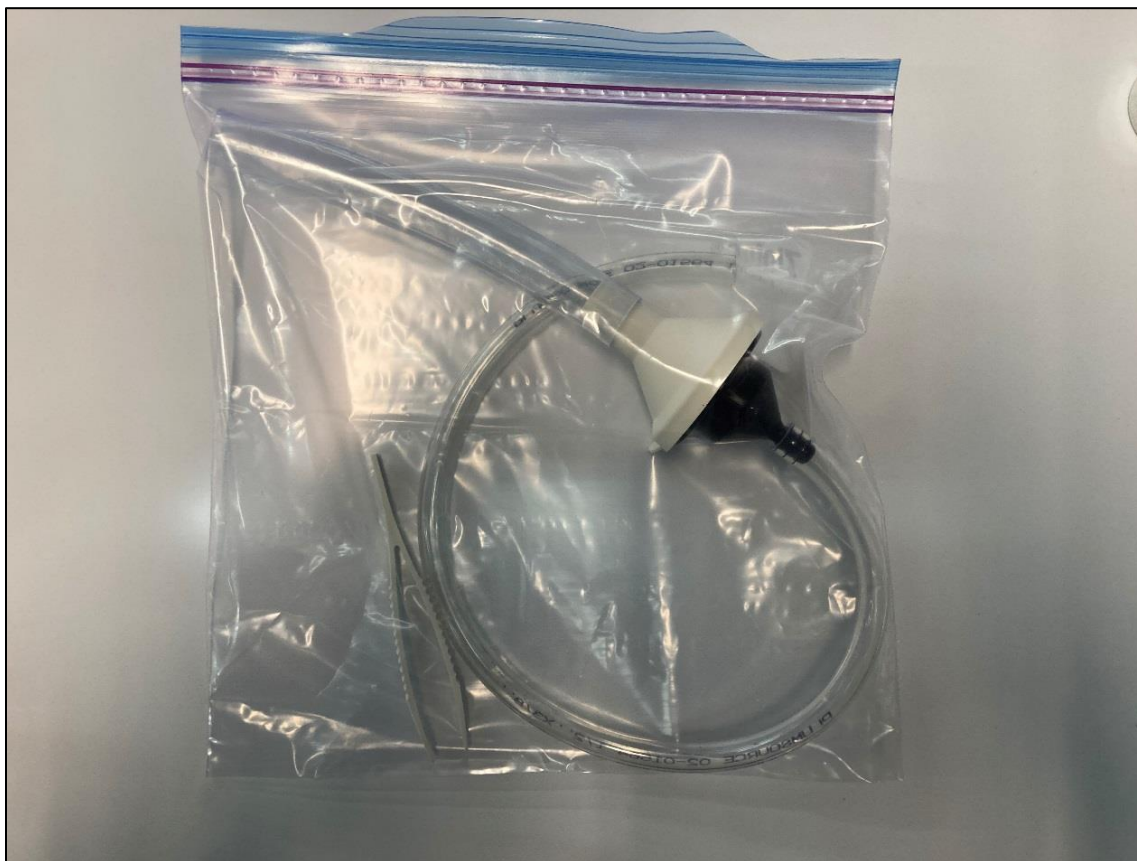


Figure 8. Paquet de filtration ADNe stérile à usage unique de marque Smith-Root

Paquets réutilisables

Avant d'aller sur le terrain, préparer autant de paquets réutilisables que de stations d'échantillonnage prévues. Pour une filtration à l'aide d'un paquet réutilisable, les éléments suivants doivent être préparés :

- 1- Préparer les paquets avec les porte-filtres réutilisables.
- 2- Pour chaque porte-filtre réutilisable, un filtre doit y être inséré. Cette manipulation doit être effectuée avec des gants à usage unique.
- 3- Couper une longueur d'environ 3 à 4 pouces (7,6 à 10,1 cm) d'une tubulure 1/2" x 3/8" (1,23 x 0,95 cm) pour chaque station d'échantillonnage.
- 4- Couper un bout d'environ 12 pouces (30,5 cm) de tubulure de polyéthylène blanc ¼ pouce (0,6 cm) pour chaque station d'échantillonnage. Ce bout de tubulure doit être courbé dans l'eau chaude afin de faciliter l'utilisation sur le terrain. Le bout de tubulure sera fixé sur un embout qui se visse au porte-filtre de ¼ pouce (0,6 cm).
- 5- Stériliser tous les morceaux du paquet : 15 minutes aux rayons ultra-violets (UV) ou avec une solution d'eau de Javel à 10 %. Les bouts de tubulure doivent être désinfectés à l'eau de Javel (10 %). Une fois tous les éléments stérilisés, le filtre peut être placé dans le porte-filtre, en y ajoutant une pince stérile et des gants à usage unique. Le paquet peut être préparé avec les deux bouts de tubulure, un porte-filtre, une pince stérile, le tout déposé dans un sac à fermeture glissière de type Ziploc^{MC} (figure 9). Chaque station d'échantillonnage doit avoir son propre paquet.

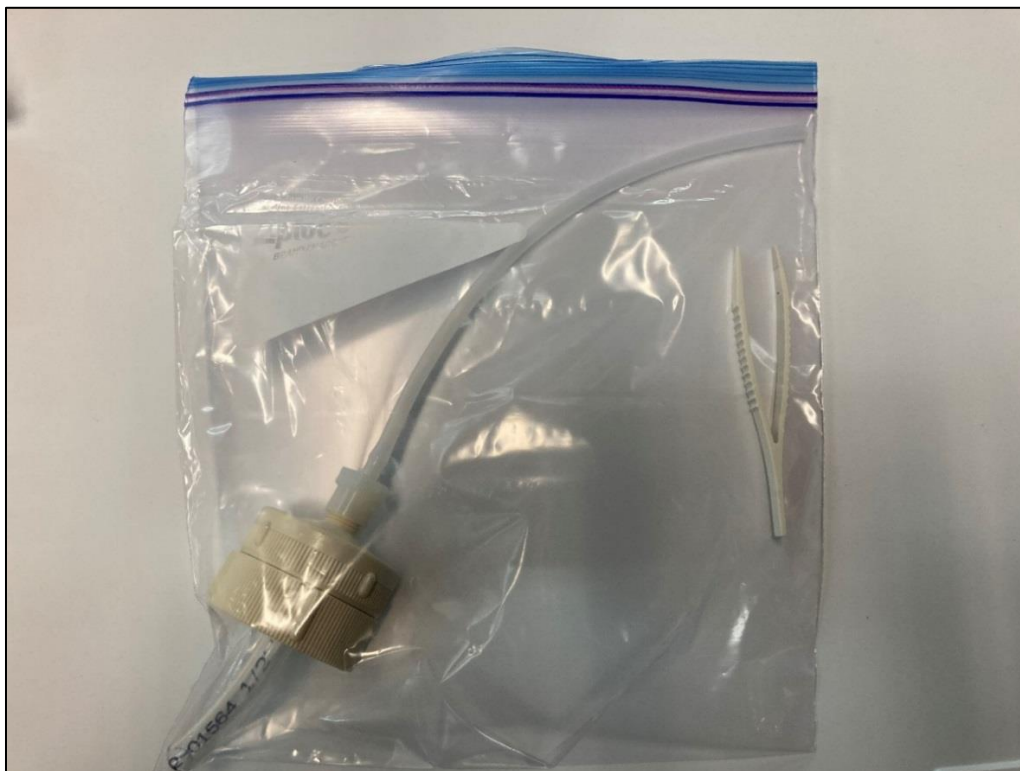


Figure 9. Paquet de filtration ADNe stérile réutilisable

Sacs de transport de filtre individuel

Avant d'aller sur le terrain, préparer autant de sacs de transport de filtre individuel que de stations d'échantillonnage prévues. Il s'agit de sacs Whirl-Pak^{MC} (4 oz) avec un fond de billes de silice contenant un filtre de nylon d'environ 5 cm de long préalablement coupé (160 microns; Dulytek^{MC}; 200 po x 2 po).

Pompe

Au début de chaque journée, un peu d'huile doit être ajoutée dans l'entrée de la pompe (figure 10). La personne responsable de l'échantillonnage doit mettre la tubulure dans un contenant d'eau et faire fonctionner la pompe pendant **30 secondes** pour faire passer l'huile dans celle-ci.



Figure 10. Préparation de la pompe avec l'ajout d'huile

Échantillonnage et filtration

La procédure abrégée de l'échantillonnage d'eau pour l'extraction de l'ADNe est disponible à l'annexe A.

Notes importantes

Note importante n° 1 :

Lorsqu'il y a eu de fortes précipitations dans les 48 h avant l'échantillonnage (plus de 40 mm en 24 h), il faut déterminer si la sortie aura lieu. Les précipitations « diluent » la couche d'eau de surface, ce qui peut engendrer un biais dans les résultats. La probabilité de détection est meilleure si le nombre de jours sans précipitation est grand (Akre et coll., 2019).

Note importante n° 2 :

Il faut éviter d'échantillonner près ou en aval d'un lieu de regroupement d'oiseaux. Les oiseaux peuvent être des vecteurs de différentes sources d'ADNe.

Note importante n° 3 :

Pour éviter la contamination, l'équipement utilisé (VFI, imperméables, etc.) doit, idéalement, servir uniquement aux projets d'ADNe.

Procédure d'échantillonnage

Pour s'assurer d'un échantillonnage réussi, les étapes suivantes doivent être respectées :

1. L'équipe de terrain devra être composée d'au moins deux personnes si l'échantillonnage se fait à pied ou en canot et trois personnes si cela se fait en embarcation à moteur (un opérateur, un échantillonneur et un assistant à l'échantillonnage).
2. L'échantillonnage devrait toujours être exécuté de l'aval vers l'amont, pour éviter la contamination des stations d'échantillonnage. De plus, l'échantillonnage ne devrait pas se faire à des endroits où l'embarcation a remis en suspension des sédiments, donc augmenté la turbidité de l'eau (MFFP, 2020). L'ADNe peut être conservé dans les sédiments pendant une très longue période (Buxton et coll., 2018), donc le signal pourrait en être affecté et créer un faux positif.
3. Pour une filtration sur le terrain, il faut préparer la pompe. Une fois sur le site, l'échantillonneur doit ouvrir le boîtier de la pompe et s'assurer qu'elle est bien préparée. Au début de chaque journée, avant de fixer la tubulure, un peu d'huile devra être ajoutée dans l'entrée de la pompe (figure 9). Il faut alors fixer la tubulure et activer la pompe pendant **30 secondes** pour que l'huile circule à l'intérieur (figure 9). Pendant cette manipulation, l'échantillonneur devra mettre la tubulure dans un contenant d'eau pour éviter que la pompe aspire de l'air, ce qui pourrait endommager son moteur.
4. Avant de commencer l'échantillonnage, il faut faire tourner le moteur de la pompe avec de l'eau distillée ou l'eau du milieu à échantillonner. Il s'agit de prendre l'eau sans aucun porte-filtre avec la tubulure qui se trouve en amont du porte-filtre.
5. L'échantillonneur doit mettre des gants à usage unique et pourra ensuite fixer la bouteille stérile (neuve ou stérilisée) de 2 L au porte-bouteille (perche d'au moins 2 m de longueur; figure 11), sans toucher au manche (manche manipulé par l'assistant-échantillonneur).
6. La bouteille peut maintenant être plongée dans l'eau à l'aide de la perche manipulée par l'assistant-échantillonneur. L'eau doit être récoltée à une profondeur maximale de 1 m. Si le fond

se trouve à moins de 1 m, il faut faire attention de ne pas le toucher avec le système d'échantillonnage (perche et bouteille). Cela met en suspension les sédiments et pourrait fausser le résultat.

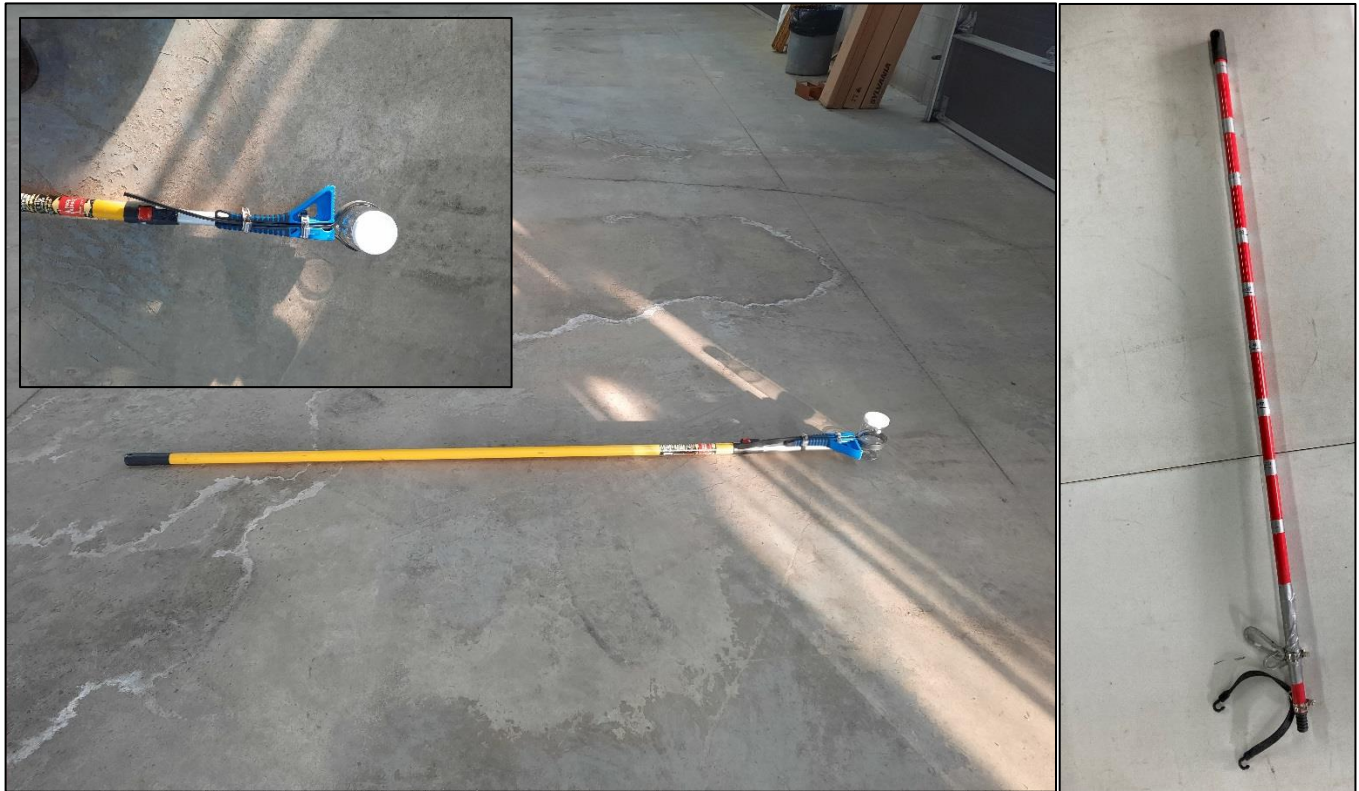


Figure 11. Exemples de perche avec porte-bouteille

LES GANTS À USAGE UNIQUE DOIVENT ÊTRE CHANGÉS ENTRE CHAQUE STATION D'ÉCHANTILLONNAGE ET S'ILS ONT ÉTÉ EN CONTACT AVEC LA POMPE OU TOUT AUTRE MATÉRIEL QUI EST UTILISÉ D'UN SITE À UN AUTRE SANS POUVOIR ÊTRE DÉSINFECTÉ « TOTALEMENT » (P. EX., EMBARCATION).

Procédure de filtration

La procédure de filtration qui suit peut être exécutée sur le terrain ou au laboratoire. Pour une filtration au laboratoire, il faut que les échantillons soient transportés dans des glacières permettant de les garder au froid. Dans ce cas, des blancs de procédure (blancs de transport ou blancs de glacière) doivent être inclus à la procédure d'échantillonnage (voir MFFP, 2021d).

1. L'échantillonneur doit ouvrir un paquet Smith-Root pour sortir le porte-filtre et les deux tubulures. La tubulure 1/2"x 3/8" doit être fixée sur le bout du porte-filtre qui se connecte à la pompe (figures 12 et 13).
2. La plus grande tubulure est insérée dans la bouteille d'eau récoltée. Ensuite, la tubulure de sortie de la pompe doit être mise dans un cylindre gradué (ou contenant gradué). Ce dernier doit se trouver plus bas que la pompe (figure 14). La pompe peut maintenant être démarrée par l'assistant-échantillonneur.



Figure 12.
Installation du
porte-filtre

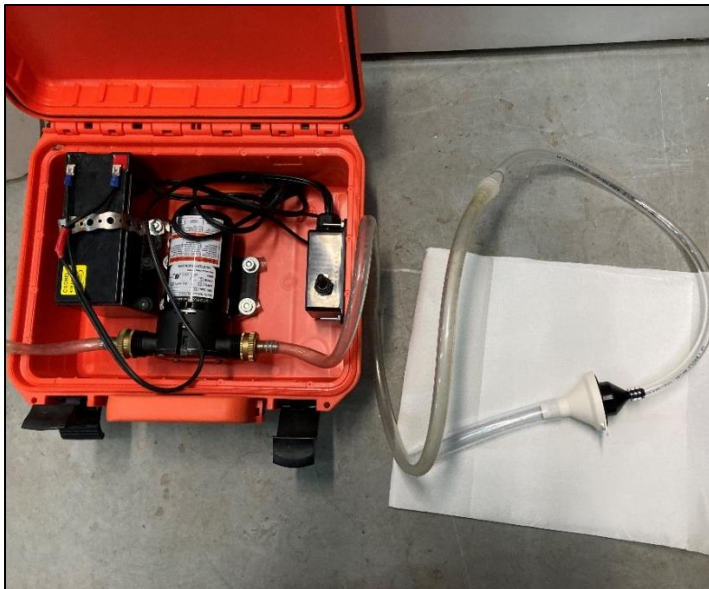


Figure 13. Installation lors de la filtration d'un
échantillon d'eau



Figure 14. Cylindre
graduée positionné
en contrebas de la
pompe

3. L'échantillonneur doit filtrer un maximum de 2 L d'eau. Lorsque la pompe présente une résistance au pompage, souvent dans les eaux troubles où les filtres peuvent se saturer plus vite, il est important d'arrêter la filtration avant que le filtre ne se brise (entre 1 L et 1,5 L). Il est aussi important de noter la quantité exacte d'eau filtrée dans le cylindre gradué (figure 14).
4. Ensuite, l'échantillonneur doit :
 - Sortir un sac Whirl-PAK^{MC} contenant des billes de silice et inscrire le numéro de la station avec un crayon permanent;
 - Prendre la pince dans le sachet stérile (en s'assurant de ne pas toucher les bouts de la pince) (figure 15A);
 - Ouvrir le porte-filtre;
 - Enlever délicatement le filtre du porte-filtre avec la pince;
 - Plier le filtre avec la pince, idéalement deux fois (en s'assurant que les particules filtrées sont à l'intérieur) (figure 15B);
 - Mettre le filtre plié dans la pochette de nylon Dulytek^{MC} (préalablement mis dans un sac Whirl-PAK^{MC}) avec un fond de billes de silice (figure 15C);
 - Toujours avec la pince, pousser la pochette de nylon (contenant le filtre) au fond du sac de silice;
 - Enlever le plus d'air possible du sac, replier le rebord sur lui-même et fermer le sac à l'aide des languettes jaunes.

NE PAS TOUCHER LE FILTRE NI L'INTÉRIEUR DE LA POCHETTE DE NYLON

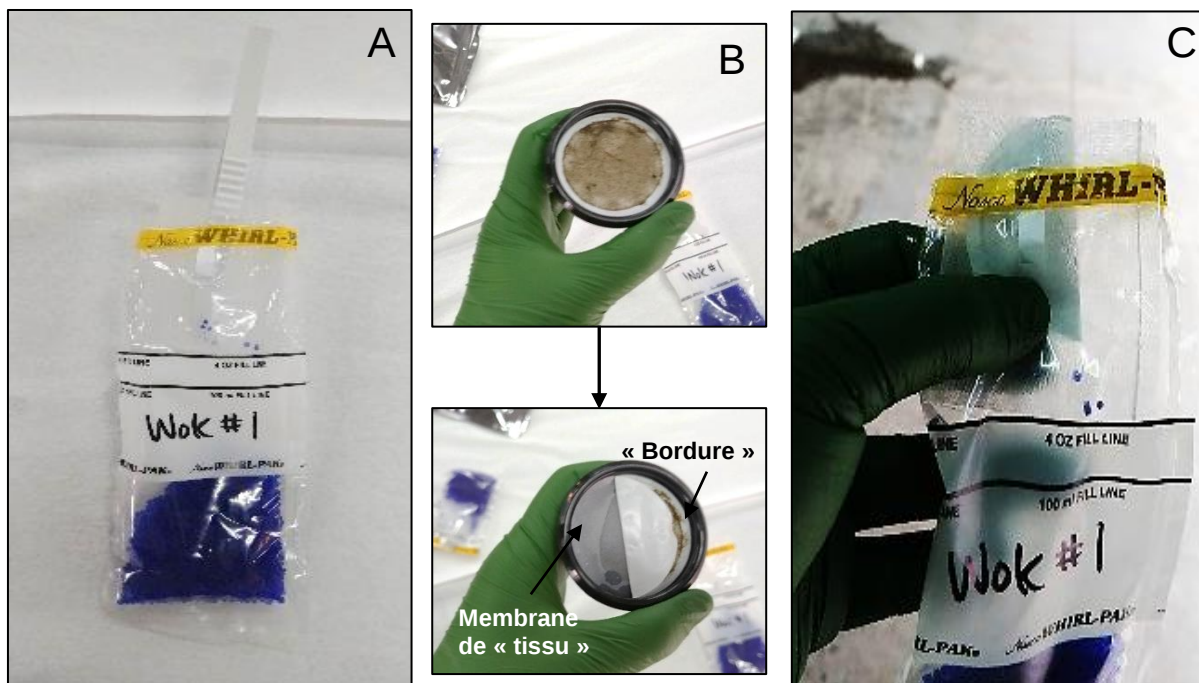


Figure 15. A) Sac Whirl-PAK^{MC} avec des billes de silice; B) Retrait et pliage du filtre avec une pince; C) Disposition du filtre dans une pochette de nylon, dans le sac Whirl-PAK^{MC}

5. Mettre le sac Whirl-PAK^{MC} dans un contenant hermétique et déposer ce dernier dans la glacière.
6. Répéter les étapes 4 à 11 pour toutes les stations à échantillonner.
7. Pour chaque plan d'eau ou cours d'eau échantillonné, un blanc de procédure (blanc d'échantillonnage) doit être fait.
 - a. Pour le blanc d'échantillonnage, de l'eau distillée est versée dans une bouteille de 2 L neuve (comme celle ayant servi à la récolte des autres échantillons) et cette eau doit être filtrée avec la même méthode et la même séquence que celles utilisées pour la récolte des échantillons au site.

LES SACS WHIRL-PAK^{MC} AVEC LES FILTRES DOIVENT TOUJOURS ÊTRE CONSERVÉS AU FROID (4 °C) SUR LE TERRAIN.

8. L'assistant de l'échantillonneur effectue les tâches suivantes :
 - a. Prendre les notes de terrain;
 - b. Prendre la température de l'eau avec le thermomètre;
 - c. Décrire la végétation (couvert forestier dominant sur les rives, présence d'algues et de plantes aquatiques).
9. Si l'échantillonnage doit être effectué par voie terrestre, les étapes sont les mêmes que celles qui ont été énumérées précédemment. Par contre, il est très important d'approcher la station de l'aval vers l'amont en essayant de ne pas remuer les sédiments.

Conservation des échantillons filtrés (filtres)

Au laboratoire, les filtres doivent être conservés au congélateur à -20 °C pour une période maximale de 12 mois.

Désinfection du matériel post-échantillonnage

La désinfection du matériel doit se faire entre chaque plan d'eau ou cours d'eau échantillonné.

Notes importantes

Note importante n° 4 :

Si vous utilisez le Virkon^{MC} Aquatic, la solution de 2 % peut être conservée pour une semaine (la coloration rose diminue avec le temps; si la solution n'est plus rose, vous devez en refaire). L'eau de Javel³ est une option valable pour remplacer le Virkon^{MC} Aquatic.

Note importante n° 5 :

Si aucune de ces techniques de rinçage n'est disponible, rincer abondamment le matériel avec de l'eau du robinet à la plus haute pression possible. Désinfecter le matériel dès que possible.

Note importante n° 6 :

En vue d'éviter la propagation des maladies et des espèces exotiques envahissantes, les précautions particulières décrites dans le *Protocole standardisé des procédures de stérilisation et d'échantillonnage d'eau afin de déterminer la présence d'espèces fauniques dans les milieux hydriques par analyses d'ADNe au Québec* (MFFP, 2021c) doivent être prises avant d'appliquer la procédure de désinfection pour l'ADNe.

Matériel

Les éléments requis pour désinfecter le matériel d'échantillonnage après les travaux de terrain sont les suivants :

- Virkon^{MC} Aquatic (en poudre; solution de 2 % : 20 g/L) ou une solution d'eau de Javel⁴ à 20 % (une partie d'eau de Javel dans quatre parties d'eau; p. ex., 200 ml d'eau de Javel dans 800 ml d'eau);
- Masque antipoussières;
- Eau du robinet;
- Eau distillée;
- Pulvérisateur;
- Bacs avec couvercles (pour conserver les vêtements stériles).

³ Concentration d'hypochlorite de sodium variant entre 3 et 6 %, en vente libre dans les commerces.

⁴ Concentration d'hypochlorite de sodium variant entre 3 et 6 %, en vente libre dans les commerces.

Procédure de désinfection

Entre chaque cours d'eau ou plan d'eau, lorsque l'embarcation est retirée de l'eau, il faut procéder à la désinfection de tout le matériel. Le rinçage du matériel n'a pas besoin d'être fait à l'eau distillée, on peut utiliser l'eau du robinet. Par contre, l'équipement qui entre directement en contact avec l'ADNe doit être rincé à l'eau distillée.

Voici la procédure :

1. L'embarcation est rincée avec une machine à pression (en prenant soin de retirer le GPS et tout autre matériel de l'embarcation). Au besoin, l'embarcation est frottée pour retirer tout débris. Si la machine à pression est indisponible, l'embarcation est rincée avec un pulvérisateur rempli d'eau et elle est brossée.
2. Préparer une solution de 2 % de Virkon^{MC} Aquatic ou une solution d'eau de Javel de 20 % et la verser dans un pulvérisateur. Pour peser et préparer la solution de Virkon^{MC} Aquatic, un masque antipoussières doit être porté.
 - a. Les imperméables et les bottes doivent être vaporisés.
 - i. Le temps d'attente est de 20 minutes pour le Virkon^{MC} Aquatic.
 - ii. Le temps d'attente est de 10 minutes pour la solution d'eau de Javel.
 - iii. Par la suite, le tout est rincé à l'eau.
 - b. L'extérieur et l'intérieur du bateau sont vaporisés à saturation.
 - i. Le temps d'attente est de 20 minutes pour le Virkon^{MC} Aquatic.
 - ii. Le temps d'attente est de 10 minutes pour la solution d'eau de Javel.
3. L'embarcation doit être rincée avec une machine à pression (si disponible) ou un pulvérisateur rempli d'eau.

Exigences et transfert des données, des échantillons et du matériel utilisé

Norme à respecter

Tous les documents produits doivent répondre à la norme nationale du Canada CSA W214:21 (Groupe CSA, 2021).

Formulaire papier

Toutes les données relatives aux échantillons d'eau prélevés doivent être consignées sur le formulaire suivant (annexe B) :

- *Formulaire de prise de données – Échantillonnage de l'ADNe pour les tortues d'eau douce.*

Il est important d'apporter ce formulaire sur le terrain et d'y inscrire directement les données de manière à s'assurer que toutes les informations sont notées.

Remplir toutes les sections du formulaire et, si possible, y joindre des photos. Inscrire « ND » ou faire un trait lorsque l'information est non disponible.

Il est recommandé de faire une copie du formulaire papier ou de le prendre en photo par précaution après chaque journée de terrain.

Dans la mesure du possible, le MFFP demande la collaboration des consultants et de ses partenaires pour obtenir les résultats de détection par ADNe une fois les analyses de laboratoire effectuées (pour les coordonnées des différentes directions, consulter Gouvernement du Québec, 2022).

Formulaire électronique

Un formulaire électronique est disponible sur demande auprès du MFFP pour les personnes détenant un compte ArcGIS Online. Cette option est encouragée puisqu'elle accélère le traitement et la diffusion de l'information.

Échantillons pour l'analyse d'ADNe

Dans le cas des analyses effectuées par le MFFP et ses partenaires, les filtres contenus dans les sacs Whirl-Pak^{MC} doivent être acheminés à l'adresse suivante :

Anne-Marie-Béland, responsable des analyses d'ADNe pour l'herpétofaune
Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides
Division de la biodiversité
Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs
880, chemin Sainte-Foy, 2.00
Québec (Québec) G1S 4X4

Pour les consultants, les échantillons d'eau doivent être acheminés à un laboratoire privé ou universitaire spécialisé dans les analyses d'ADNe. Il est important de suivre les indications et procédures des différents laboratoires pour s'assurer de la validité des résultats.

Disposition du matériel en plastique souillé

Pour les travaux du MFFP seulement, le matériel requis pour le prélèvement et la filtration des échantillons d'eau (p. ex., gants à usage unique, bouteilles, porte-filtres, filtres, etc.) est fourni par le Service de la conservation de la biodiversité et des milieux humides (SCBMH). Veuillez contacter la responsable des analyses d'ADNe pour l'herpétofaune pour de plus amples détails.

Dans une optique de développement durable, le bureau de Québec du MFFP offre également le service de disposition du matériel plastique souillé. Cette gestion se fait par l'entremise d'un service de recyclage offert par une entreprise privée spécialisée dans le domaine. Pour en bénéficier, il suffit de retourner tout le matériel souillé, y compris les gants à usage unique, à l'attention de la responsable des analyses d'ADNe pour l'herpétofaune.

Pour les consultants et autres partenaires, il faut se renseigner auprès des fournisseurs d'équipement d'échantillonnage d'ADNe pour connaître les modalités de disposition offertes.

Espèces exotiques envahissantes

Si des EEE sont répertoriées lors de l'échantillonnage, il est fortement recommandé de signaler ces observations via l'outil de détection du ministère de l'Environnement et de la Lutte contre les changements climatiques (MELCC, 2020) : Sentinelle.

Sentinelle est un outil de détection des EEE composé d'une application mobile et d'un système cartographique accessible sur le Web. Cet outil de détection permet de faire et de consulter les signalements des plantes et des animaux exotiques envahissants les plus préoccupants. Le signalement se fait directement en ligne ou via l'application mobile (MELCC, 2020).

Références

- ADAMS, C. I. M., L. A. HOEKSTRA, M. R. MUELL et F. J. JANZEN (2019). "A brief review of non-avian reptile environmental DNA (eDNA), with a case study of painted turtle (*Chrysemys picta*) eDNA under field conditions", *Diversity*, 11: 50.
- AKRE, T. S., L. D. PARKER, E. RUTHER, J. E. MALDONADO, L. LEMMON et N. R. McINERNEY (2019). "Concurrent visual encounter sampling validates eDNA selectivity and sensitivity for the endangered wood turtle (*Glyptemys insculpta*)", *PLoS ONE*, 14 (4): e0215586.
- ARVISAIS, M., E. LÉVESQUE, J.-C. BOURGEOIS, C. DAIGLE, D. MASSE et J. JUTRAS (2004). "Habitat selection by the wood turtle (*Clemmys insculpta*) population at the northern limit of its range", *Canadian Journal of Zoology*, 82 (3): 391-398.
- BAILEY, L. L., T. R. SIMONS et K. H. POLLOCK (2004). "Estimating detection probability parameters for plethodon salamanders using the robust capture-recapture design", *Journal of Wildlife Management*, 68 (1): 1-13.
- BELLEAU, P. (2008). *Habitat selection, movement patterns, and demography of common musk turtles (Sternotherus odoratus) in Southwestern Québec*. Mémoire de maîtrise ès sciences, Université McGill, Montréal, Québec. 71 p.
- BERNIER, P.-A. et S. ROULEAU (2010). *Acquisition de connaissances sur les habitats essentiels, la démographie, les déplacements et les menaces affectant la tortue géographique (Graptemys geographica) en vue de protéger la population du lac des Deux-Montagnes*. Société d'histoire naturelle de la vallée du Saint-Laurent, Sainte-Anne-de-Bellevue, Québec. 96 p.
- BERNIER, P.-A., S. RIOUX, L. BOUTHILLIER et I. PICARD (2008a). *Répartition et abondance des populations de tortues du bassin versant de la rivière l'Acadie : inventaire 2007*. Club Consersol Vert Cher et ministère des Ressources naturelles et de la Faune du Québec. 36 p.
- BERNIER, P.-A., S. RIOUX et J.-P. LANDRY (2008b). *Répartition et utilisation de l'habitat par les tortues du bassin versant de la rivière l'Acadie - Inventaire 2008*. 75 p. + 6 annexes.
- BIDER, J. R. et S. MATTE (1994). *Atlas des amphibiens et des reptiles du Québec*. Société d'histoire naturelle de la vallée du Saint-Laurent et ministère de l'Environnement et de la Faune, Direction de la faune et des habitats, Québec, Québec. 106 p.
- BISHOP, S. C. et W. J. SCHOONMACHER (1921). "Turtle hunting in midwinter", *Copeia*, 96:37-38.
- BISHOP, C. A., P. NG, K. E. PETTIT, S. W. KENNEDY, J. J. STEGEMAN, R. J. NORSTROM et R. J. BROOKS (1998). "Environmental contamination and developmental abnormalities in eggs and hatchlings of the common Snapping Turtle (*Chelydra serpentina serpentina*) from the Great Lakes-St. Lawrence River basin (1989-91)", *Environmental Pollution*, 101: 143-156.
- BLEAKNEY, J. S. (1958). "A zoogeographical study of the amphibians and reptiles of eastern Canada", *National Museum of Canada Bulletin*, 155: 1-119.

- BLOOMER, T. J. (1978). "Hibernacula congregating in the *Clemmys* genus", *Journal of Northern Ohio Association of Herpetologists*, 4: 37-42.
- BOAKES, E. H., R. A. FULLER, P. J. K. MCGOWAN et G. M. MACE (2016). "Uncertainty in identifying local extinctions: the distribution of missing data and its effects on biodiversity measures", *Biological Letters*, 12 (3): 20150824.
- BODIE, J. R., R. D. SEMLITSCH et R. B. RENKEN (2000). "Diversity and structure of turtle assemblages: associations with wetland characters across a floodplain landscape", *Ecography*, 23: 444-456.
- BONIN, J. (1997). *Rapport sur la situation de la tortue-molle à épines (Apalone spinifera) au Québec*. Ministère de l'Environnement et de la Faune, Direction de la faune et des habitats. 62 p.
- BONIN, J. (1998). *Rapport sur la situation de la tortue géographique (Graptemys geographica) au Québec*. Ministère de l'Environnement et de la Faune, Direction de la faune et des habitats. 35 p.
- BOUCHARD, C., N. TESSIER et F.-J. LAPOINTE (2018). "Paternity analysis of wood turtles (*Glyptemys insculpta*) reveals complex mating patterns", *Journal of Heredity*, 109 (4): 405-415.
- BREWSTER, K. N. et C. M. BREWSTER (1991). "Movement and microhabitat use by juvenile wood turtles introduced in a riparian habitat", *Journal of Herpetology*, 25: 379-382.
- BROWN, G. P. et R. J. BROOKS (1994). "Characteristics of and fidelity to hibernacula in a northern population of Snapping Turtles *Chelydra serpentina*", *Copeia*, 1994 (1): 222-226.
- BULTÉ, G. et G. BLOUIN-DEMERS (2010). "Estimating the energetic significance of basking behaviour in a temperate-zone turtle", *Écoscience*, 17 (4): 387-393.
- BUXTON, A. S., J. J. GROOMBRIDGE et R. A. GRIFFITHS (2018). "Seasonal variation in environmental DNA detection in sediment and water samples", *PLoS ONE*, 13 (1): e0191737.
- CARRIÈRE, M.-A. et G. BLOUIN-DEMERS (2010). "Habitat selection at multiple spatial scales in northern Map Turtles (*Graptemys geographica*)", *Canadian Journal of Zoology*, 88: 846-854.
- CHABOT J., GAGNÉ, B. et D. ST-HILAIRE (1993). *Étude des populations de tortues du secteur de la baie Norway, de la rivière des Outaouais, comté de Pontiac, Québec*. Gouvernement du Québec, ministère du Loisir, de la Chasse et de la Pêche, Direction régionale de l'Outaouais, Service de l'aménagement et de l'exploitation de la faune, Hull (Québec). 42 p.
- COSEPAC (2008). *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue serpentine (Chelydra serpentina) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, Ottawa. 51 p.
- COSEPAC (2012). *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue géographique (Graptemys geographica) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, Ottawa. 73 p.

- COSEPAC (2016). *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue mouchetée (Emydoidea blandingii), population de la Nouvelle-Écosse et population des Grands Lacs et du Saint-Laurent au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa. 124 p.
- COSEPAC (2018). *Évaluation et Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue peinte du Centre (Chrysemys picta marginata) et la tortue peinte de l'Est (Chrysemys picta picta) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada, Ottawa. 123 p.
- DAIGLE, C. (1997). "Size and characteristics of a wood turtle, *Clemmys insculpta*, population in southern Québec", *The Canadian Field-Naturalist*, 111: 440-444.
- DAVY, C. M., A. G. KIDD et C. C. WILSON (2015). "Development and validation of environmental DNA (eDNA) markers for detection of freshwater turtles", *PLoS ONE*, 10: e0130965.
- De SOLLA, S. R., C. A. BISHOP, G. VAN DER KRAAK et R.J. BROOKS (1998). "Impact of organochlorine contamination on levels of sex hormones and external morphology of common Snapping Turtles (*Chelydra serpentina serpentina*) in Ontario, Canada", *Environmental Health Perspectives*, 106 (5): 253-260.
- De SOUZA, L. S., J. C. GODWIN, M. A. RENSHAW et E. LARSON (2016) "Environmental DNA (eDNA) detection probability is influenced by seasonal activity of organisms", *PloS ONE*, 11 (10): e0165273.
- DUBOIS, Y., G. BLOUIN-DEMERS, B. SHIPLEY et D. THOMAS (2009). "Thermoregulation and habitat selection in wood turtles *Glyptemys insculpta*: chasing the sun slowly", *Journal of Animal Ecology*, 78: 1023-1032.
- EDGE, C. B., B. D. STEINBERG, R. J. BROOKS et J. D. LITZGUS (2010). "Habitat selection by Blanding's Turtles (*Emydoidea blandingii*) in a relatively pristine landscape", *Écoscience*, 17: 90-99.
- EDMONDS, J. H. (2002). *Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue musquée (Sternotherus odoratus) au Canada* (p. 1-19). Dans : *Évaluation et rapport de situation du COSEPAC sur la tortue musquée (Sternotherus odoratus) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa, Ontario.
- ENVIRONNEMENT CANADA (2016a). *Plan de gestion de la tortue géographique (Graptemys geographica) au Canada [Proposition]*. Série de Plans de gestion de la Loi sur les espèces en péril. Environnement Canada, Ottawa. 49 p.
- ENVIRONNEMENT CANADA (2016b). *Programme de rétablissement de la tortue-molle à épines (Apalone spinifera) au Canada [Proposition]*. Série de programmes de rétablissement de la Loi sur les espèces en péril, Environnement Canada, Ottawa. 67 p.
- ENVIRONNEMENT CANADA (2016c). *Programme de rétablissement de la tortue musquée (Sternotherus odoratus) au Canada [Proposition]*. Série de Programmes de rétablissement de la Loi sur les espèces en péril. Environnement Canada, Ottawa. 65 p.

- ECCC (2016). *Plan de gestion de la tortue serpentine (Chelydra serpentina) au Canada [Proposition]*. Série de Plans de gestion de la Loi sur les espèces en péril. Environnement et Changement climatique Canada, Ottawa. 39 p.
- ERNST, C. H. (1986). "Environmental temperatures and activities in the wood turtle, *Clemmys insculpta*", *Journal of Herpetology*, 20: 222-229.
- ERNST, C. H. et J. E. LOVICH (2009). *Turtles of the United States and Canada*. 2^e édition. The Johns Hopkins University Press, Baltimore. 827 p.
- FARRELL, R. F. et T. E. GRAHAM (1991). "Ecological notes on the turtle *Clemmys insculpta* in northwestern New Jersey", *Journal of Herpetology*, 25: 1-9.
- FLETCHER, M. (2002). *Rapport de situation du COSEPAC sur la tortue-molle à épines (Apalone spinifera) au Canada – Mise à jour (p. 1-18)*. Dans : *Évaluation et Rapport de situation sur la tortue-molle à épines (Apalone spinifera) au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada. Ottawa.
- GALOIS, P. et J. BONIN (1999). *Rapport sur la situation de la tortue des bois (Clemmys insculpta) au Québec*. Faune et Parcs Québec, Direction de la faune et des habitats, Québec. 45 p.
- GALOIS, P., M. LÉVEILLÉ, L. BOUTHILLIER, C. DAIGLE et S. PARREN (2002). "Movement patterns, activity, and home range of the eastern spiny softshell turtle (*Apalone spinifera*) in Northern Lake Champlain, Québec, Vermont", *Journal of Herpetology*, 36 (3): 402-411.
- GAMBLE, T. et A. SIMONS (2004). "Comparison of harvested and nonharvested painted turtle populations", *Wildlife Society Bulletin*, 32: 1269-1277.
- GILHEN, J. (1984). *Amphibians and reptiles of Nova Scotia*. Nova Scotia Museum, Halifax, Nouvelle-Écosse. 162 p.
- GORDON, D. et R. MacCULLOCH (1980). "An investigation of the ecology of the map turtle, *Glyptemys geographica*, in the northern part of its range", *Canadian Journal of Zoology*, 58: 2210-2219.
- GOUVERNEMENT DU QUÉBEC (2022). *Directions de la gestion de la faune* [En ligne] [<https://www.quebec.ca/gouv/ministere/forets-faune-parcs/coordonnees-du-ministere/reseau-regional/#c13507>] (Consulté le 1^{er} avril 2021).
- GRAHAM, T. E. et J. E. FORSBERG (1991). "Aquatic oxygen uptake by naturally wintering wood turtles, *Clemmys insculpta*", *Copeia*, 1991: 836-838.
- GROUPE CSA (2021). *CSA W 214 :21 – Exigences en matière de terminologie et de production de rapports sur l'ADN environnemental (ADNe)*. Norme nationale du Canada – Conseil canadien des normes, Association canadienne de normalisation. 27 p.
- HARDING, J. H. (1997). *Amphibians and reptiles of the Great Lakes Region*. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan. 378 p.

- HARDING, J. H. et T. J. BLOOMER (1979). "The wood turtle, *Clemmys insculpta*... a natural history", *Herpetological Bulletin of the New York Herpetological Society*, 15: 9-26.
- HERMAN, T. B., POWER, T. D. et B. R. EATON (1995). "Status of Blanding's turtles, *Emydoidea blandingii*, in Nova Scotia, Canada", *Canadian Field-Naturalist*, 109: 182-191.
- JOYAL, L. A., M. MCCOLLOUGH et M. L. HUNTER (2001). "Landscape ecology approaches to wetland species conservation: a case study of two turtle species in southern Maine", *Conservation Biology*, 15: 1755-1762.
- KAUFMANN, J. H. (1992). "Habitat use by wood turtles in central Pennsylvania", *Journal of Herpetology*, 26: 315-321.
- LACOURSIÈRE-ROUSSEL, A., Y. DUBOIS, E. NORMANDEAU, L. BERNATCHEZ et S. ADAMOWICZ (2016). "Improving herpetological surveys in eastern North America using the environmental DNA method", *Genome*, 59: 991-1007.
- LAMOND, W. G. (1994). *The reptiles and amphibians of the Hamilton Area: An historical summary and the results of the Hamilton Herpetofaunal Atlas*. Hamilton, Ontario. Hamilton Naturalists' Club. 174 p.
- LINDEMAN, P. (1999). "Survey of basking map turtles, *Grytemys* spp. in three river drainages and the importance of deadwood abundance", *Biological Conservation*, 88: 33-42.
- LITZGUS, J. D. et R. J. BROOKS (1996). *Status report on the wood turtle, Clemmys insculpta, in Canada*. Committee on the Status of Endangered Wildlife in Canada (COSEWIC) status report. Ottawa, Ontario. 76 p.
- MEEKS, R. L. et G. R. ULTSCH (1990). "Overwintering behavior of snapping turtles", *Copeia*, 1990: 880-884.
- MELCC (2020). *Sentinelle* [En ligne] [<https://www.pub.enviroweb.gouv.qc.ca/scc/#no-back-button>] (Consulté le 1^{er} avril 2021).
- MFFP (2020). *Liste des espèces menacées ou vulnérables au Québec - Tortue mouchetée* [En ligne] [<https://www3.mffp.gouv.qc.ca/faune/especes/menacees/fiche.asp?noEsp=74>] (Consulté le 1^{er} avril 2021).
- MFFP (2021a). *Tortue à oreilles rouges (Trachemys scripta elegans)* [En ligne] [<https://mffp.gouv.qc.ca/la-faune/especes/envahissantes/tortue-oreille-rouge/>] (Consulté le 1^{er} avril 2021).
- MFFP (2021b). *Liste des espèces fauniques menacées ou vulnérables au Québec – Tortue des bois* [En ligne] [<http://www3.mffp.gouv.qc.ca/faune/especes/menacees/fiche.asp?noEsp=71>] (Consulté le 1^{er} avril 2021).

- MFFP (2021c). *Liste des espèces fauniques menacées ou vulnérables au Québec – Tortue mouchetée* [En ligne] [<https://www3.mffp.gouv.qc.ca/faune/especes/menacees/fiche.asp?noEsp=74>] (Consulté le 13 août 2021).
- MFFP (2021d). *Protocole standardisé des procédures de stérilisation et d'échantillonnage d'eau afin de déterminer la présence d'espèces fauniques dans les milieux hydriques par analyses d'ADNe au Québec*. Gouvernement du Québec, Québec. 13 p.
- PATERSON, J. E., B. D. STEINBERG et J. D. LITZGUS (2012). "Generally specialized or especially general? Habitat selection by Snapping Turtles (*Chelydra serpentina*) in central Ontario", *Canadian Journal of Zoology*, 90:139-149.
- PICARD, G., M. A. CARRIÈRE et G. BLOUIN-DEMERS (2011). "Common Musk Turtles (*Sternotherus odoratus*) select habitats of high thermal quality at the northern extreme of their range", *Amphibia-Reptilia*, 32 (2011): 83-92.
- QUINN, N. et D. TATE (1987). *Ecology of the wood turtle (Clemmys insculpta) in Algonquin Park*. Progress report. Ontario Ministry of Natural Resources, Whitney, Ontario. 17 p.
- REESE, S. A., D. C. JACKSON et G. R. ULTSCH (2002). "The physiology of overwintering in a turtle that occupies multiple habitats, the common snapping turtle (*Chelydra serpentina*)", *Physiological and Biochemical Zoology*, 75(5): 432-438.
- RIOUX, S. et J.-F. DESROCHES (2007). « Découverte d'une tortue-molle à épines (*Apalone spinifera*) dans la rivière l'Acadie », *Le Naturaliste Canadien*, 131(2) : 51-53.
- RODRIGUE, D. et J.-F. DESROCHES (2018). *Amphibiens et reptiles du Québec et des Maritimes*. Éditions Michel Quintin, Montréal, Québec. 375 p.
- ROSS, D. A., R. K. ANDERSON, C. M. BREWSTER, K. N. BREWSTER et N. RATNER (1991). "Aspects of the ecology of wood turtles (*Clemmys insculpta*) in Wisconsin", *The Canadian Field-Naturalist*, 105: 363-367.
- ROULEAU, S. et P.-A. BERNIER (2011). *Habitats, structure de la population, mouvements et menaces affectant la tortue géographique (Graptemys geographica) dans l'ouest du lac des Deux-Montagnes*. Société d'histoire naturelle de la vallée du Saint-Laurent, Sainte-Anne-de-Bellevue, Québec. 73 p.
- ROWE, C. L. 2008. "The calamity of so long life": Life histories, contaminants, and potential emerging threats to long-lived vertebrates. *BioScience* 58: 623-631.
- ROWE, J. W., LEHR, G. C., MCCARTHY, P. M. et P. M. CONVERSE (2009). "Activity, movements and activity area size in stinkpot turtles (*Sternotherus odoratus*) in a Southwestern Michigan Lake", *The American Midland Naturalist*, 162 (2): 266-275.

- SAUMURE, R. A. (1997). *Growth, mutilation, and age structure of two populations of wood turtles (Clemmys insculpta) in southern Québec*. Mémoire de maîtrise, Université McGill, Montréal. 70 p.
- SEBURN, D. (2010). "Blanding's turtle, *Emydoidea blandingii*, habitat use during hibernation in Eastern Ontario", *Canadian Field-Naturalist*, 24: 263-265.
- STEEN, D. A., M. J. ARESO, S. G. BEILKE, B. W. COMPTON, E. P. CONDON, C. K. DODD JR., H. FORRESTER, J. W. GIBBONS, J. L. GREENE, G. JOHNSON, T. A. LANGEN, M. J. OLDHAM, D. N. OXIER, R. A. SAUMURE, F. W. SHUELER, J. M. SLEEMAN, L. L. SMITH, J. K. TUCKER et J. P. GIBBS (2006). "Relative vulnerability of female turtles to road mortality", *Animal Conservation*, 9: 269-273.
- STEEN, D., J. GIBBS, K. BUHLMANN, J. CARR, B. COMPTON, J. CONGDON, J. DOODY, J. GODWIN, K. HOLCOMB, D. JACKSON, F. JANZEN, G. JOHNSON, M. JONES, J. LAMER, T. LANGEN, M. PLUMMER, J. ROWE, R. SAUMURE, J. YUCKER et D. WILSON (2012). "Terrestrial habitat requirements of nesting freshwater turtles", *Biological Conservation*, 150: 121-128.
- SUMMER, A. et J. MANSFIELD-JONES (2008). "Role of trapping in detection of a small bog turtle (*Glyptemys muhlenbergii*) population", *Chelonian Conservation and Biology*, 7: 149-155.
- TESSIER, N., S. RIOUX PAQUETTE et F.-J. LAPOINTE (2005). "Conservation genetics of the wood turtle (*Glyptemys insculpta*) in Quebec, Canada", *Canadian Journal of Zoology*, 83: 765-772.
- ULTSCH, G. R. (2006). "The ecology of overwintering among turtles: Where turtles overwinter and its consequences", *Biological Review*, 81: 339-367.

Annexe A Procédure abrégée

Protocole standardisé **Inventaire des tortues d'eau douce** **à l'aide de l'ADNe au Québec**

Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs

Procédure abrégée

Objectif

Détecter et identifier les tortues d'eau douce dans les milieux aquatiques.

Matériel

- Boîtier antichoc pour protéger et transporter la pompe pour la filtration;
- Pompe utilitaire portable (p. ex., ECOFLO, 350 gal/h, 12 V CC [Modèle n° PUP61DC]);
- Batterie 12 V rechargeable;
- Cylindre gradué de 2 L ou contenant gradué;
- Paquets de filtration ADNe stériles. Les sachets contiennent un porte-filtre avec filtre de 1 micron, un bout de tubulure pour échantillonner avec un préfiltre de 200 microns installé au bout avec un élastique (préalablement décontaminé) et une pince stérile :
 - Paquets à usage unique (p. ex., de marque Smith-Root),
 - Paquets réutilisables (c'est-à-dire porte-filtre désinfecté avec filtre, préfiltre installé au bout de la tubulure avec élastique et pince stérile);
- Tubulure d'échantillonnage de diamètre extérieur de 1/2" et de diamètre intérieur de 3/8" (1,23 x 1,9 cm) (p. ex., Waterra – LDPE – HDPE);
- Glacière pour conserver les échantillons (glacière électrique ou glacière avec blocs réfrigérants de type Ice Packs^{MC});
- Gants en nitrile à usage unique;
- Bouteilles de 2 L;
- Eau distillée;
- Eau de Javel (solutions de 10 % et 20 %);
- Virkon^{MC} Aquatic (facultatif; solution de 2 %);
- Sacs Whirl-Pak^{MC} (4 oz);
- Billes de silice;
- Filtre de nylon (160 microns; Dulytek^{MC}; 200 po x 2 po) (environ 5 cm de long) préalablement coupé;
- Contenant hermétique (p. ex., Tupperware^{MC}) pour y déposer les sacs Whirl-Pak^{MC};
- Sacs de poubelle;
- Thermomètre (°C);
- Procédure abrégée;
- Formulaire de terrain et le nécessaire pour prendre des notes;
- GPS avec stations d'échantillonnage préalablement téléchargées;
- Veste de flottaison individuelle (VFI) et équipement personnel (si échantillonnage en embarcation);
- Bottes-salopettes (*waders*; si échantillonnage à pied).

Protocole standardisé Inventaire des tortues d'eau douce à l'aide de l'ADNe au Québec

Procédure abrégée (suite)

Méthode

Périodes d'échantillonnage

Tortues en rivière : juin et juillet.

Tortues en lac et en milieux humides : mai à octobre.

Effort d'échantillonnage et nombre d'échantillons

Pour les environnements lotiques, le milieu aquatique est divisé en tronçons de 300 m de long et, pour les plans d'eau et les milieux humides, en carrés de 150 m de côté (22 500 m²) selon une grille d'échantillonnage. Comme les habitats à échantillonner peuvent être de différentes tailles, il est difficile d'établir un nombre minimal d'échantillons à prélever. Ce nombre sera établi lors de la préparation du plan d'échantillonnage spécifique au projet et aux espèces ciblées.

Effort d'échantillonnage selon les espèces et le milieu aquatique

Espèce	Habitats	Type de station	Effort d'échantillonnage minimal*
Tortue à oreilles rouges	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	25 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	25 % des stations
Tortue des bois	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue-molle à épines	Lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue mouchetée	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
Tortue géographique	Lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue musquée	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
Tortue peinte	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	50 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	50 % des stations
Tortue serpentine	Milieux humides/lacs	Quadrat 150 m x 150 m	25 % des stations
	Rivières	Tronçon 300 m	25 % des stations

Exemples pour la tortue géographique (effort d'échantillonnage minimal de 50 %) :

- Plan d'eau divisé avec une grille de 20 quadrats : minimum 10 stations, maximum 20 stations (1 échantillon/quadrat).
- Cours d'eau de 10 km divisé en 33 tronçons de 300 m : minimum 17 stations, maximum 33 stations (1 échantillon/tronçon).

Protocole standardisé Inventaire des tortues d'eau douce à l'aide de l'ADNe au Québec

Procédure abrégée (suite)

Localisation fine des sites d'échantillonnage

La localisation des sites où sont prélevés les échantillons d'eau doit tenir compte des préférences d'habitats selon les saisons et l'espèce visée. Ainsi, en milieux lacustres, pour une station ayant une bande riveraine, cette dernière sera privilégiée au détriment des eaux profondes sans végétation et sans structures émergentes. Pour les espèces de cours d'eau, notamment la tortue des bois, les aulnaies seront privilégiées au détriment du centre du cours d'eau.

Quantité d'eau à échantillonner

La quantité minimale d'eau à échantillonner à chacune des stations est de **2 L**.

Échantillonnage

Blancs de procédure : ne pas oublier d'effectuer des blancs de transport et d'échantillonnage.

Suivre les étapes suivantes :

1. L'équipe de terrain devra être composée d'au moins deux personnes si l'échantillonnage se fait à pied ou en canot et trois personnes si cela se fait en embarcation à moteur (un opérateur, un échantillonneur et un assistant à l'échantillonnage).
2. L'échantillonnage devrait toujours être exécuté de l'aval vers l'amont, pour éviter la contamination des stations d'échantillonnage. De plus, l'échantillonnage ne devrait pas se faire à des endroits où l'embarcation a remis en suspension des sédiments, donc augmenté la turbidité de l'eau. L'ADNe peut être conservé dans les sédiments pendant une très longue période, donc le signal pourrait en être affecté et créer un faux positif.
3. Une fois sur le site, l'échantillonneur doit ouvrir le boîtier de la pompe et s'assurer qu'elle est bien préparée.
4. Avant de commencer l'échantillonnage, il faut faire tourner le moteur de la pompe avec de l'eau distillée ou l'eau de la rivière. Il s'agit de prendre l'eau sans aucun porte-filtre avec la tubulure qui se trouve normalement en amont du porte-filtre.
5. L'échantillonneur doit mettre des gants à usage unique et pourra ensuite fixer la bouteille stérile (neuve ou stérilisée) de 2 L au porte-bouteille (perche d'au moins 2 m de longueur), sans toucher au manche (manche manipulé par l'assistant-échantillonneur).

LES GANTS À USAGE UNIQUE DOIVENT ÊTRE CHANGÉS ENTRE CHAQUE STATION D'ÉCHANTILLONNAGE ET S'ILS ONT ÉTÉ EN CONTACT AVEC LA POMPE OU TOUT AUTRE MATÉRIEL QUI EST UTILISÉ D'UN SITE À UN AUTRE SANS POUVOIR ÊTRE DÉSINFECTÉ « TOTALEMENT » (P. EX., EMBARCATION).

Protocole standardisé Inventaire des tortues d'eau douce à l'aide de l'ADNe au Québec

Procédure abrégée (suite)

6. La bouteille peut maintenant être plongée dans l'eau à l'aide de la perche manipulée par l'assistant-échantillonneur. L'eau doit être récoltée à une profondeur maximale de 1 m. Si le fond se trouve à moins de 1 m, il faut faire attention de ne pas le toucher avec le système d'échantillonnage (perche et bouteille). Cela remet en suspension les sédiments et pourrait fausser le signal.
7. L'échantillonneur doit ouvrir un sachet Smith-Root pour sortir le porte-filtre et les deux tubulures. La tubulure 1/2" x 3/8" doit être fixée sur le bout du porte-filtre qui se connecte à la pompe.
8. La plus grande tubulure est insérée dans la bouteille d'eau récoltée. Ensuite, la tubulure de sortie de la pompe doit être mise dans un cylindre gradué (ou contenant gradué). La pompe peut maintenant être démarrée.
9. L'échantillonneur doit filtrer un maximum de 2 L d'eau. Lorsque la pompe présente une résistance au pompage, souvent dans les eaux troubles où les filtres se saturent plus vite, il est important d'arrêter la filtration avant que le filtre ne se brise (entre 1 L et 1,5 L). Il est aussi important de noter la quantité exacte d'eau filtrée.
10. Ensuite, l'échantillonneur doit :
 - Sortir un sac Whirl-PAK^{MC} contenant des billes de silice et inscrire le numéro de la station avec un crayon permanent;
 - Prendre la pince dans le sachet stérile (en s'assurant de ne pas toucher les bouts de la pince);
 - Ouvrir le porte-filtre;
 - Enlever délicatement le filtre du porte-filtre avec la pince;
 - Plier le filtre avec la pince, idéalement à deux reprises (en s'assurant que les particules filtrées sont à l'intérieur);
 - Mettre le filtre plié dans la pochette de nylon Dulytek^{MC} (préalablement mis dans un sac Whirl-PAK^{MC}) avec un fond de billes de silice;
 - Toujours avec la pince, pousser la pochette de nylon (contenant le filtre) au fond du sac de silice;
 - Enlever le plus d'air possible du sac, replier le rebord sur lui-même et fermer le sac à l'aide des languettes jaunes.

NE PAS TOUCHER LE FILTRE NI L'INTÉRIEUR DE LA POCHETTE DE NYLON

11. Mettre le sac Whirl-PAK^{MC} dans un contenant hermétique et déposer ce dernier dans la glacière.
12. Répéter les étapes 4 à 11 pour toutes les stations à échantillonner.

Protocole standardisé Inventaire des tortues d'eau douce à l'aide de l'ADNe au Québec

Procédure abrégée (suite)

13. Pour chaque plan d'eau ou cours d'eau échantillonné, un blanc de procédure (blanc d'échantillonnage) devra être fait.
- Pour le blanc d'échantillonnage, de l'eau distillée est versée dans une bouteille de 2 L neuve (comme celle ayant servi à la récolte des autres échantillons) et cette eau devra être filtrée avec la même méthode et la même séquence que celles utilisées pour la récolte des échantillons au site.

LES SACS WHIRL-PAK^{MC} AVEC LES FILTRES DOIVENT TOUJOURS ÊTRE CONSERVÉS AU FROID (4 °C) SUR LE TERRAIN.

14. L'assistant de l'échantillonneur effectue les tâches suivantes :
- Prendre les notes de terrain;
 - Prendre la température de l'eau avec le thermomètre;
 - Décrire la végétation (présence d'algues et de plantes aquatiques).
15. Si l'échantillonnage doit être effectué par voie terrestre, les étapes sont les mêmes que celles qui ont été énumérées précédemment. Par contre, il est très important d'approcher la station de l'aval vers l'amont en essayant de ne pas remuer les sédiments.

UNE FOIS DE RETOUR AU LABORATOIRE, LES SACS WHIRL-PAK^{MC} AVEC LES FILTRES DOIVENT ÊTRE CONSERVÉS AU CONGÉLATEUR À -20 °C POUR UNE DURÉE MAXIMALE DE 12 MOIS.

Annexe B Formulaire de prise de données – Échantillonnage de l'ADNe pour les tortues d'eau douce

FORMULAIRE DE PRISE DE DONNÉES — ÉCHANTILLONNAGE DE L'ADNe POUR LES TORTUES D'EAU DOUCE

Nom du plan/cours d'eau : _____ Date de l'échantillonnage (aaaa/mm/jj) : _____

Nom de l'échantillonneur: _____ Espèce(s) visée(s) : _____

Nom de l'assistant-échantillonneur : _____

N° de l'échantillon	Coordonnées GPS (degrés décimaux)	Heure de collecte de l'échantillon (hh:mm, système 24 h)	Prof. (m)	Temp. de surface (°C)	Volume d'eau filtré par filtre (L)	Filtre déchiré (oui/non)	Type de porte-filtre (usage unique [U] ou réutilisable [R])	Type de déplacement (cocher)		
								Embarcation	Terrestre	Marche dans l'eau
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									

FORMULAIRE DE PRISE DE DONNÉES — ÉCHANTILLONNAGE DE L'ADNe POUR LES TORTUES D'EAU DOUCE (SUITE)

Nom du plan/cours d'eau : _____ Date de l'échantillonnage (aaaa/mm/jj) : _____

Nom de l'échantillonneur : _____ Espèce(s) visée(s) : _____

Nom de l'assistant-échantillonneur : _____

N° de l'échantillon	Coordonnées GPS (degrés décimaux)	Heure de collecte de l'échantillon (hh:mm, système 24 h)	Prof. (m)	Temp. de surface (°C)	Volume d'eau filtré par filtre (L)	Filtre déchiré (oui/non)	Type de porte-filtre (usage unique [U] ou réutilisable [R])	Type de déplacement (cocher)		
								Embarcation	Terrestre	Marche dans l'eau
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									
	Lat. : Long. :									



**Forêts, Faune
et Parcs**

Québec 