



N° d'ordre :

THÈSE
Présentée à
L'UNIVERSITÉ BORDEAUX I
ECOLE DOCTORALE : SCIENCES ET ENVIRONNEMENTS

Par
Caroline Bresson

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR

SPÉCIALITÉ : Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés

Variations altitudinales de traits fonctionnels
foliaires chez les arbres :
déterminismes environnemental et génétique

Soutenue le 24 janvier 2011

Encadrée par: Antoine Kremer (DR INRA Bordeaux) et Sylvain Delzon (CMU Bordeaux)

Rapporteur Philippe Rozenberg, DR INRA Orléans

Rapporteur Daniel Epron, Pr Université de Nancy

Examineur Eric Ceshia, MCU Université de Toulouse

Examineur Eric Gomes, DR INRA Bordeaux

Examineur Jean-François Dhôte, Chef département R&D de l'ONF, Fontainebleau

Variations altitudinales de traits fonctionnels foliaires chez les arbres : déterminismes environnemental et génétique

Le changement climatique rapide auquel nous assistons actuellement est déjà en train de modifier la physiologie et la répartition des espèces. Chez les arbres, la plupart des modèles prévoit un bouleversement des aires de répartition mais ces derniers ne prennent pas en compte les mécanismes évolutifs, ni même les interactions biotiques. Notre objectif a ainsi consisté à caractériser les capacités adaptatives des populations, tout d'abord (i) en quantifiant la variabilité phénotypique de traits fonctionnels avec l'altitude et (ii) en étudiant dans quelle mesure ces variations sont sous contrôle génétique (adaptation) ou sous contrôle environnemental (plasticité phénotypique).

Nous avons travaillé dans les Pyrénées sur deux espèces à large répartition européenne (chêne sessile et hêtre commun) le long d'un gradient altitudinal de 1500 m de dénivelé correspondant en moyenne à 8°C d'amplitude thermique. Ce gradient a été répété dans deux vallées parallèles, distantes de 30 km. Nous avons caractérisé les variations altitudinales de traits morphologiques, physiologiques et phénologiques *in situ* (variabilité phénotypique), en common garden (variabilité génétique) et en expérimentations de transplantations réciproques (plasticité phénotypique).

Les clines altitudinaux observés *in situ* sont significatifs pour tous les traits fonctionnels étudiés et suivent des tendances similaires chez les deux espèces. Les populations de hautes altitudes mettent leurs feuilles en place plus tard au printemps, les perdent plus tôt à l'automne et possèdent des feuilles plus petites mais plus performantes en terme d'assimilation carbonée. La température, mais également la pression partielle des gaz atmosphériques (CO₂, H₂O) semblent jouer un rôle prépondérant dans les clines observés. Les résultats obtenus en test de provenances montrent que le gradient altitudinal a induit une différenciation génétique au niveau de la croissance, de la phénologie, et de certains traits morphologiques et physiologiques. Néanmoins, les clines sont plus faibles en common garden *qu'in situ* pour tous les traits étudiés. La variabilité génétique intrapopulationnelle est supérieure à la différenciation génétique inter-populationnelle. Enfin, l'expérimentation de transplantations réciproques a mis en évidence une forte plasticité phénotypique pour tous les traits étudiés et ceci chez les deux espèces.

Nos résultats démontrent premièrement que la variabilité phénotypique de la plupart des traits fonctionnels est sous déterminisme environnemental et génétique, avec toutefois un contrôle génétique relativement faible comparé à la plasticité phénotypique. Deuxièmement, les forts niveaux de variabilité génétique intra-populationnelle et de plasticité phénotypique suggèrent que les populations peuvent dans une certaine mesure répondre rapidement aux changements environnementaux à venir. Toutefois, la croissance des populations de hêtre à basse altitude (marge chaude) est déjà affectée négativement par le réchauffement climatique.

Mots clés : *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, gradient altitudinal, adaptation, différenciation génétique, plasticité phénotypique.

Altitudinal trends in leaf functional traits of tree populations: environmental vs. genetic determinism

The rapid climate change, which we are currently witnessing, is already modifying the physiology and distribution of species. Predictions of changes in species distributions do not take evolutionary mechanisms and biotic interactions into account. Our main objective was to assess the inherent adaptive capacities of tree populations by i) quantifying the phenotypic variations of functional traits with altitude and ii) studying the extent to which these variations are environmentally driven (phenotypic plasticity) and/or genetically fixed (adaptation).

The study took place in the French Pyrenees along an altitudinal gradient range of 1500 m corresponding on average to 8°C of thermal amplitude. We focused on two broadleaved species with a wide European distribution (sessile oak and common beech). This gradient was repeated in two parallel valleys, distant from 30 km. Altitudinal trends were investigated for several morphological, physiological and phenological traits in natural conditions (in situ), in a common garden experiment and in reciprocal transplant experiments (RTEs).

The phenotypic variability observed in situ showed significant altitudinal trends for all the studied traits and followed similar patterns for both species. We established that together with temperature, it was also necessary to integrate the variations of atmospheric gas partial pressure along the altitudinal gradient. In the common garden experiment, our results showed that the altitudinal gradient induced genetic differentiations for growth, leaf phenology and several morphological and physiological traits. This experiment made it possible to demonstrate, for both species, a weaker effect of genetic variations than in situ observed variations, suggesting a strong effect of the environment on leaf functional traits. A higher intrapopulation than interpopulation genetic variability was also observed for all traits. Finally, the reciprocal transplant experiments highlighted a high magnitude of phenotypic plasticity whatever the trait and the species.

In conclusion, our work demonstrated that the phenotypic variability of most traits were under both a genetic and environmental determinism, with however a larger contribution of phenotypic plasticity compared to genetic control. The high intrapopulation variability together with a high plasticity suggest that, tree populations might be able to rapidly respond to environmental changes. However, the growth of beech trees in low altitude populations (rear edge) is already negatively affected by climate warming.

Key words: *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, altitudinal gradient, adaptation, genetic differentiation, phenotypic plasticity.

SOMMAIRE

Chapitre 1	1
1. État de l'art.....	1
1.1. Le changement climatique et ses impacts sur le fonctionnement et la répartition des espèces végétales.....	1
1.1.1. Le bouleversement climatique	1
1.1.2. Les enseignements du passé.....	3
1.1.3. Les forêts, un enjeu majeur	5
1.1.4. Impact du changement climatique sur le fonctionnement des forêts	7
1.1.5. Impact du changement climatique sur la répartition des espèces forestières.....	14
1.2. Capacités adaptatives des populations.....	18
1.2.1. Le phénotype, résultat de facteurs génétiques et environnementaux	19
1.2.2. Variabilité génétique	19
1.2.3. Plasticité phénotypique	22
Quantification de la plasticité	23
Plasticité adaptative	24
Coût de la plasticité	25
1.2.4. Traits fonctionnels, indicateurs du fonctionnement et de la stratégie des plantes	27
2. Objectifs	29
3. Matériels & Méthodes.....	31
3.1. Espèces.....	31
3.2. Gradient altitudinal.....	32
3.3. Dispositifs Expérimentaux	33
En conditions naturelles (<i>in situ</i>)	
Test de provenances (common garden)	
Expérimentations de Transplantations Réciproques (RTE)	
3.4. Mesures de traits fonctionnels et de croissance	40

Chapitre 2	47
-------------------------	----

Bresson CC, Kowalski AS, Kremer A, Delzon S (2009) Evidence of altitudinal increase in photosynthetic capacity: gas exchange measurements at ambient and constant CO₂ partial pressures. *Annals of Forest Science*. Vol. 66 – issue 5, 505

Chapitre 3	56
-------------------------	----

Caroline C. Bresson, Yann Vitasse, Antoine Kremer, Sylvain Delzon (submitted). To what extent has elevational variability of functional traits been driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Submitted in Tree Physiology*.

Chapitre 478

Y. Vitasse*, C.C. Bresson*, A. Kremer, R. Michalet and S. Delzon (2010) Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species. *Functional Ecology* 24, 1211–1218

* contributed equally to the data extraction, statistical analysis and preparation of the manuscript and are therefore considered to be co-first authors

Chapitre 587

C.C. Bresson, E. Dreyer, and S. Delzon (in prep) Magnitude of phenotypic plasticity for growth and functional leaf traits in two temperate tree species. for submission in *Oecologia*

Chapitre 6 : Synthèse et discussion..... 110

1. Variations phénotypiques en conditions naturelles.....	111
1.1 Clines altitudinaux.....	111
1.2 Corrélation entre traits.....	119
1.3 Tendances générales et synthèse.....	123
2. Déterminisme des variations phénotypiques observées.....	125
2.1 Variabilité génétique.....	125
2.1.1. Différentiations génétiques inter -populationnelles	
2.1.2. Variations génétiques intra -populationnelle	
2.1.3. Conclusion sur la variabilité génétique	
2.1.4. Synthèse des études en tests de provenance	
2.2 Plasticité phénotypique.....	134
Conclusion et perspectives.....	140

Annexe

Vitasse Y, Delzon S, Bresson CC, Michalet R, Kremer A (2009) Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research- Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39:1259-1269

Glossaire

Symbole	Trait fonctionnel	Unité
L_s	Taille de feuille	mm^2
LMA	Masse surfacique : masse sèche de feuille rapportée à sa surface (=1/SLA)	Kg m^{-2}
SD	Densité stomatique	nb. stom mm^{-2}
N_a	Teneur en azote foliaire par unité de surface	g m^{-2}
P_a	Teneur en phosphore foliaire par unité de surface	g m^{-2}
CCI	Index de teneur en chlorophylle	sans unité
$g_{s\max}$	Conductance stomatique maximale	$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
A_{\max}	Taux maximal d'assimilation	$\mu\text{mol m}^2 \text{s}^{-1}$
$\delta^{13}\text{C}$	Composition isotopique du carbone	‰ ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$)
PNUE	Efficiéce d'utilisation de l'azote	$\mu\text{mol g}^{-1} \text{s}^{-1}$
WUE	Efficiéce d'utilisation de l'eau	$\text{g (CO}_2\text{) g}^{-1}\text{(MS)}$
LU	Date de débourrement des feuilles	Jour julien
LS	Date de sénescence des feuilles	Jour julien
GSL	Longueur de saison de végétation	Jour julien

Chapitre I

Introduction générale



“Change is the only constant in Nature”
Heraclitus, V^{ème} siècle avant J-

1. État de l'art

1.1. Le changement climatique et ses impacts sur le fonctionnement et la répartition des espèces végétales

1.1.1. Le bouleversement climatique

Les changements climatiques, encore controversés il y a une vingtaine d'années, sont devenus une réalité nettement perceptible et suscitent un vaste effort de recherche depuis plusieurs années. La variabilité du climat au cours des siècles passés peut être évaluée grâce à des estimateurs (proxy) naturels ayant gardé une trace du passé. Ainsi, l'étude de la régression des glaciers (Grove and Switsur 1994) ou des carottes glacières (Huang et al. 2000) nous permet d'établir des arguments manifestes sur les changements climatiques actuels. L'évaluation du climat à une échelle plus fine (année/saison) se fait grâce à l'étude des cernes d'arbres, de sédiments lacustres ou de coraux (Berger and Loutre 2010; Gray and McCabe 2010; Tingstad and MacDonald 2010; Woodroffe et al. 2010). Ce type d'études a permis de replacer le climat du 20^{ème} siècle dans le long terme (Hughes and Diaz 1994; Mann et al. 1995).

Le GIEC (Groupe Intergouvernemental sur l'Evolution du Climat) indique dans son rapport de 2007 que l'élévation de la température moyenne de la surface terrestre (0.74°C) au cours des 100 dernières années semble sans précédent comparée au dernier millénaire (IPCC, 2007) et les prédictions pour le siècle à venir sont alarmantes quelque soit le scénario envisagé (Figure 1-1).

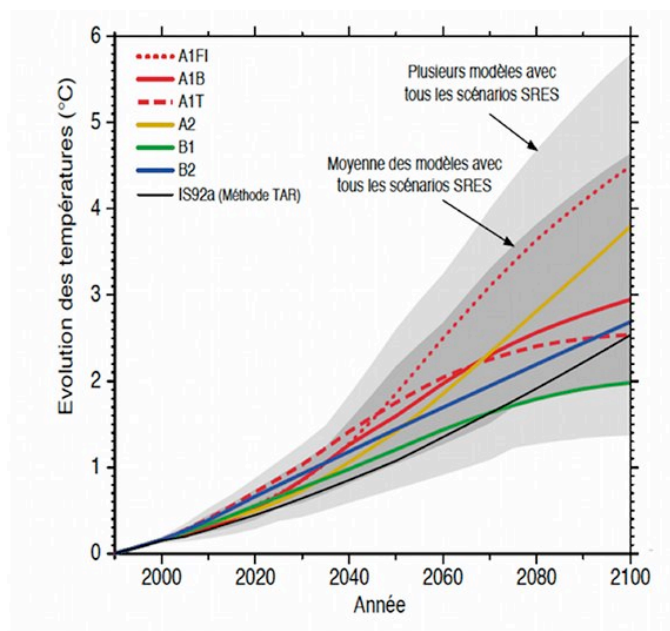
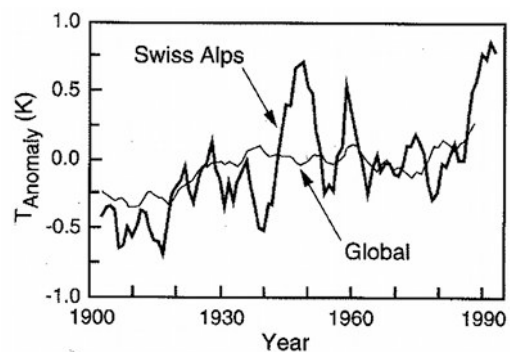


Figure 1-1 Estimation grâce à différents modèles climatiques du réchauffement de la surface de l'air d'ici à 2100.

Les lignes en traits pleins correspondent à des moyennes globales multi-modèles du réchauffement en surface (relatif 1980-1999) pour les différents scénarios testés. Les zones ombrées matérialisent les écarts des moyennes annuelles pour les différents modèles. (GIEC 2001 Rapport 1)

Une étude européenne montre grâce à des reconstructions climatiques que la fin du 20^{ème} et le début du 21^{ème} siècle ont été significativement plus chauds que les 500 dernières années (Luterbacher et al. 2004). Les températures hivernales étaient en moyenne 0.5°C plus basses entre 1500 et 1900, comparativement au 20^{ème} siècle. Les prédictions actuelles suggèrent que les effets des changements climatiques seront minimaux au niveau des tropiques et maximales aux latitudes et altitudes élevées (Körner 1999). Ainsi, la Figure 1-2 met en évidence des anomalies de température d'amplitude beaucoup plus forte dans les Alpes Suisse que la tendance globale.

Figure 1-2 Comparaison des anomalies des températures de surface moyenne au niveau global et dans les Alpes (8 sites de hautes altitudes). D'après (Beniston et al. 1997).



Une modification des régimes de précipitation est également à prévoir. En effet, l'augmentation de la température devrait accroître l'évaporation dans les régions tropicales et les précipitations dans les régions de plus haute latitude. Zaehle et ses collègues (2007) modélisent ces modifications en Europe selon différents scénarios climatiques (**Figure 1-3**). On observe globalement un gradient Sud/Nord avec une diminution des précipitations dans le Sud de l'Europe et une augmentation pour les latitudes plus élevées.

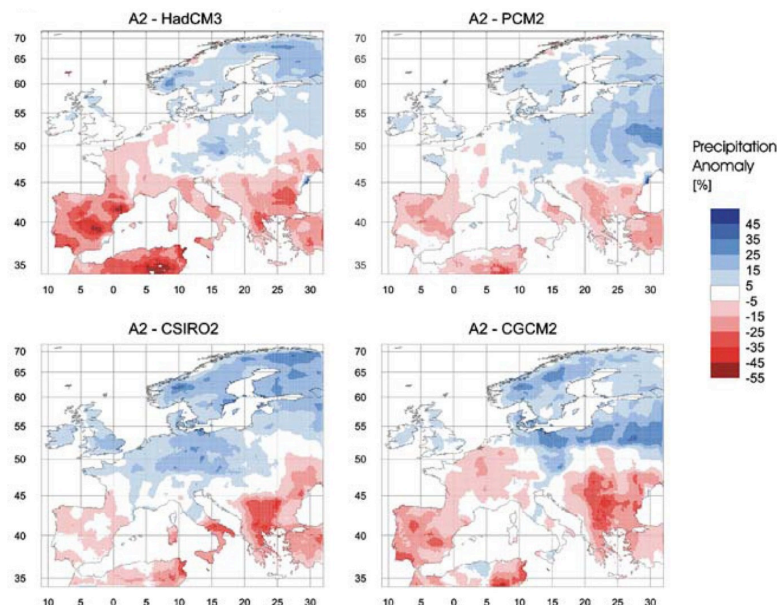


Figure 1-3 Anomalies (2071-2100 vs. 1971-2000) des précipitations annuelles (% changement) pour 4 scénarios d'émission carbonée différents (HadCM3, CSIRO2, CGCM2 and PCM2 GCMs, and the A2-SRES). Adapté de Zaehle et al. 2007.

D'autre part, il est maintenant clair que les événements climatiques extrêmes (ECE) tels que les vagues de chaleur, les fortes précipitations, ou les tempêtes de vent, augmentent en intensité et en fréquence (Easterling et al. 2000; Planton et al. 2008), notamment en Europe (Beniston et al. 2007; McGregor et al. 2005). Les anomalies du climat sont difficiles à mettre en évidence car nécessitent des enregistrements précis de données climatiques sur de très longues périodes, ce qui n'est pas toujours aisé. Néanmoins, depuis quelques années les études modélisant ces ECE (Beniston 2009; Della-Marta and Beniston 2008; Lopez-Moreno and Beniston 2009) ainsi que les expérimentations permettant d'étudier la réponse des écosystèmes à ce type d'évènements climatiques (Breda and Badeau 2008; Milbau et al. 2005; Van Peer et al. 2004) se multiplient.

En conclusion, les changements climatiques actuels sont rapides, perceptibles à différents niveaux (température, pluies, tempêtes...) et à différentes échelles (continus ou extrêmes). Ces bouleversements climatiques ont néanmoins déjà eu lieu par le passé mais sur une échelle de temps beaucoup plus longue. L'étude de ces changements antérieurs peut nous apporter un éclaircissement quant aux réponses possibles des espèces.

1.1.2. Les enseignements du passé

Les géologues ont mis en évidence que la Terre subissait depuis au moins 2.7 millions d'années des alternances de périodes glaciaires et interglaciaires. Les périodes glaciaires étaient plus froides et plus sèches que les périodes interglaciaires (Cheddadi et al. 2005) et la dernière a duré 100 000 ans et a pris fin il y a environ 10 000 ans. La végétation a ainsi subi de nombreuses variations du climat, et il en a résulté des mouvements importants d'aire de répartition des plantes, se réfugiant généralement au Sud pendant les périodes froides, et recolonisant le Nord avec l'amélioration des conditions climatiques. Les analyses rétrospectives basées sur les pollen fossiles (palynologiques) et les données génétiques (phylogéographiques) ont permis de mieux comprendre la recolonisation des espèces, leur adaptation et leur extinction lors du dernier passage de la période glaciaire (-10 000 ans) à la période interglaciaire actuelle. Les principaux genres d'espèces forestières sont généralement vieux de 15 à 60 millions d'années (*Alnus*, *Betula*, *Carpinus*, *Fagus*, *Pinus*, *Quercus*) (Collinson 1992; Denk et al. 2002; Manos et al. 1999) et les espèces actuelles dateraient d'avant le Quaternaire, même si l'âge exact de spéciation des espèces est souvent inconnu. Les variations successives du climat ont opéré comme un filtre pour les espèces incapables de s'adapter suffisamment rapidement (Jansson 2003), notamment au Quaternaire où l'alternance de phases de glaciation (recouvrement de nombreuses étendues terrestres par une calotte de

glace), et de phases interglaciaires (réchauffement accompagné par une montée du niveau des mers) a engendré des taux d'extinction importants (Nogues-Bravo et al. 2010).

Depuis toujours, les plantes ont dû s'adapter aux variations climatiques et de multiples études ont reconstitué les histoires migratoires de différents organismes durant les derniers épisodes de glaciations (Davis and Shaw 2001; Hewitt 2004; Petit et al. 2003). Ainsi, Adams et Faure (Adams and Faure 1997) illustrent l'avancée de la couverture végétale en Afrique, Australie, Europe et Amérique du Nord depuis la fin de la dernière période glaciaire grâce à une synthèse des données palynologiques. Une étude plus récente combine 3 approches (étude du pollen fossile, du charbon de bois et de l'ADN) pour retracer l'histoire migratoire de nombreuses espèces d'arbres en Europe (Leroy and Arpe 2007). Les zones refuges mises en évidence par cette étude se révèlent être d'une grande biodiversité et pourront servir encore une fois de refuge pour ces espèces ultérieurement. Enfin, de telles études ont permis d'estimer la vitesse de migration des essences forestières lors de la dernière recolonisation post glaciaire à un peu moins de 100 m par an (Aitken et al. 2008).

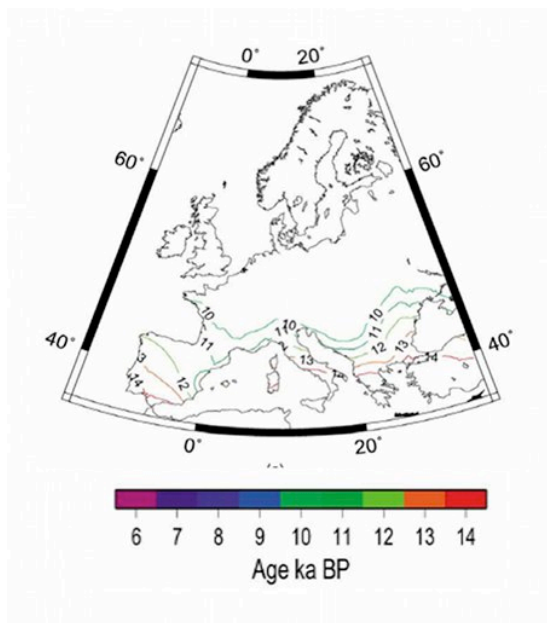
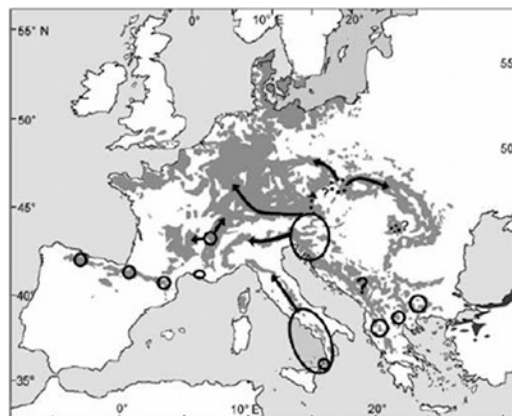


Figure 1-4 Carte de reconstruction de l'expansion de l'aire de répartition des chênes décidus durant la fin de la dernière période glaciaire (10-15 ka BP). Les couleurs différentes des courbes représentent l'âge des pollens fossiles les plus anciens identifiés dans ces localités. La carte montre clairement la migration du Sud au Nord ainsi que la différence de vitesse d'expansion entre l'ouest et l'est. *Adaptée de Brewer et al. 2002.*

Cependant ce taux de migration est très variable selon les époques, la topographie et les espèces considérées. L'histoire de la migration postglaciaire du chêne sessile (*Quercus petraea*) a été reconstituée par (Brewer et al. 2002, Figure 1-4) recolonisant la péninsule ibérique du Sud de l'Espagne au Nord des Pyrénées. La migration du hêtre commun (*Fagus sylvatica*), plus tardive, a été influencée par la compétition avec d'autres espèces arborées depuis des zones refuges situées en versant Sud des Pyrénées (Magri et al. 2006, Figure 1-5). Sur le même gradient que celui étudié dans mes travaux de recherche, des études récentes réalisées par l'UMR BIOGECO (Julie Niort, rapport Master II) ont montré que la

recolonisation du gradient altitudinal s'était produite en 2000 ans pour le chêne et 500 à 1000 ans pour le hêtre selon la topographie (plus rapide à basse altitude).

Figure 1-5 Cartographie des zones refuges (cercles) de *Fagus sylvatica* durant la dernière période glaciaire et ces principales routes de recolonisation (flèches) pendant la période postglaciaire. Adaptées de Magri et al. 2006.



Dans le contexte actuel de changement climatique, l'étude de l'histoire passée des populations (vitesses de migrations, différenciations génétiques) peut être d'une grande aide pour établir des modèles prédictifs de réponse des espèces aux changements actuels. Néanmoins, il faut garder à l'esprit que le réchauffement postglaciaire s'est étalé sur 5000 ans, contre quelques dizaines d'années seulement pour les changements climatiques récents. Les êtres vivants vont devoir s'adapter à ses changements rapides, notamment les plantes organismes sessiles (fixés), qui vont subir plus intensément les variations du climat. Parmi les plantes, les arbres sont les plus longévifs et vont donc endurer ces changements durant une longue période.

1.1.3. Les Forêts, un enjeu majeur

L'intérêt d'étudier les écosystèmes forestiers est évident dans le cadre du changement climatique, au vu d'une part de la vulnérabilité de ces écosystèmes à l'augmentation de température, et d'autre part en raison de l'importance de ces habitats qui constituent un enjeu majeur en terme de conservation du patrimoine biologique mais aussi en terme économique. En effet, les forêts abritent 50% à 80% des espèces terrestres dans le monde et leur importance comme réservoir de biodiversité est aujourd'hui avérée. Les forêts naturelles, qui sont généralement hétérogènes sont intéressantes à plusieurs titres et notamment du point de vue de la conservation de la biodiversité et de la stabilité. En effet, le mélange d'essences favorise l'existence d'une grande variété de niches écologiques favorable au développement d'un grand nombre d'espèces faunistiques et floristiques (Seymour and Hunter, 1999; Scherer-Lorenzen et al. 2007). De plus, ces peuplements forestiers mélangés sont considérés comme plus résistants aux perturbations et plus résilients (Lupke 2009; Schutz 2004).

Les forêts occupent également une place prépondérante dans les écosystèmes naturels, en terme d'occupation des sols (plus d'un tiers de la surface de l'Europe) et de fixation du carbone (90% du carbone organique terrestre et 65 % de la production primaire nette de la biosphère terrestre, Schlesinger 1991). De plus, les zones montagneuses abritent 28% des forêts et sont parmi les écosystèmes les plus vulnérables aux changements climatiques (Körner 2007; Lesica and McCune 2004; Pauli et al. 2007). Le changement climatique affectera particulièrement ces forêts en modifiant l'étagement altitudinal de certaines espèces : migration en altitude et exclusion des espèces sommitales. En effet, ces écosystèmes concentrent sur de courtes distances des milieux de fortes hétérogénéités climatiques et géologiques (Körner 1995). Ainsi, en parcourant un gradient de 3000 m d'altitude, on peut traverser autant de zones climatiques différentes qu'au long de 3000 km de latitude, passant par exemple d'un climat tempéré à un climat subarctique (Figure 1-6).

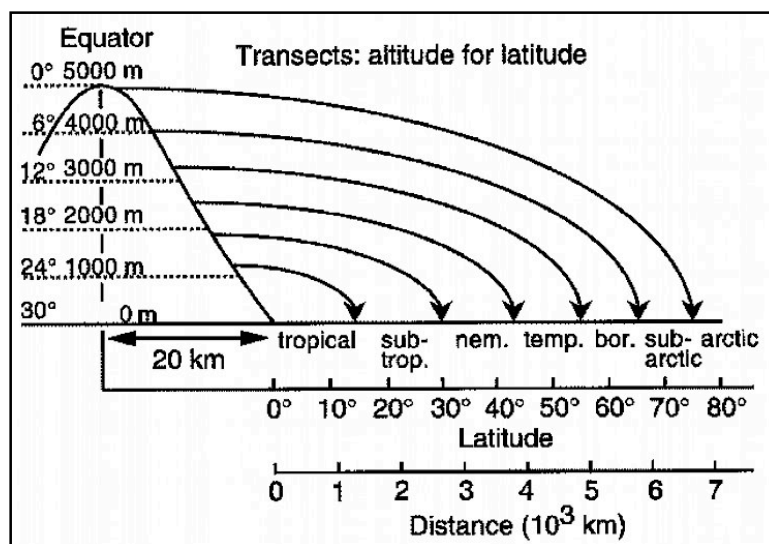


Figure 1-6 Concordance entre la distribution en altitude et en latitude des biomes. D'après *Alpine Plant Life*, Körner 1999.

Ainsi, le réchauffement climatique en cours est susceptible de bouleverser la physionomie de la forêt, notamment en Europe. Nous savons à l'heure actuelle que le changement climatique peut remettre en cause les décisions sylvicoles prises aujourd'hui pour le siècle à venir. Cependant, les gestionnaires manquent encore d'expérience pratique et de repères théoriques quant à la manière de favoriser le développement des forêts mélangées d'altitude. Nous sommes en effet conscients qu'il est nécessaire de mieux connaître les forêts de montagne dans leur diversité et leur richesse, ainsi que dans leur dynamique d'évolution dans les décennies à venir, afin de mieux adapter les interventions du sylviculteur pour anticiper le changement climatique actuel et futur. Il sera alors judicieux d'avoir une approche intégrative de gestion des espèces prenant en compte les relations interspécifiques et les

processus évolutifs. Il s'agit d'identifier les espèces et les stratégies de gestion assurant la pérennité du processus adaptatif des systèmes naturels dans un contexte de modifications environnementales accélérées. Les prédictions obtenues permettront de mettre en place une gestion anticipée des forêts aux changements climatiques en favorisant les essences les mieux « adaptées » aux conditions futures.

1.1.4. Impact du changement climatique sur le fonctionnement des forêts

Le changement climatique rapide auquel nous assistons actuellement est déjà en train de modifier le cycle de vie d'un grand nombre d'organismes (Edwards and Richardson 2004; Parmesan 2006; Parmesan and Yohe 2003). Les données indiquent que le réchauffement climatique des cinq dernières décennies affecte d'ores et déjà la physiologie, la phénologie et la répartition des espèces (Hughes 2000). En effet, les changements climatiques vont avoir de nombreuses répercussions, plus ou moins complexes, sur les forêts des différentes régions bioclimatiques européennes. Ces changements climatiques auront des conséquences importantes associées aux perturbations biotiques (la fréquence et les conséquences de l'apparition de maladies, de nuisibles ou d'espèces invasives) et abiotiques (changements dans l'occurrence des feux, dans la fréquence et l'intensité des tempêtes de vent) avec de fortes implications pour les écosystèmes forestiers. En effet, l'impact du changement climatique sur les productions forestières, agricoles et viticoles a déjà fait l'objet de nombreuses publications (Delecolle et al. 1999; Reddy and Hodges 2000; Rosenzweig and Hillel 1998; Soussana et al. 2002) qui permettent d'avoir une vision plus approfondie des processus mis en jeu dans la réponse des forêts aux changements climatiques, par grandes zones géographiques à l'échelle mondiale. Au niveau de la production française, la publication de Delecolle et ses collègues (1999) a permis de présenter un premier diagnostic : les impacts les plus notables ont été observés sur la phénologie des feuilles (débourrement des arbres forestiers), de la floraison (arbres fruitiers comme le pommier, le cerisier), de la maturation des fruits (l'exemple le plus net étant celui de la vigne).

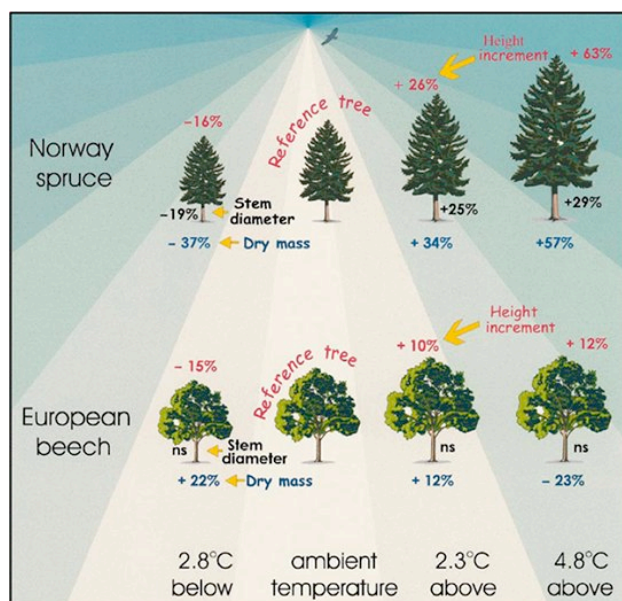
Afin d'avoir une vision globale de ces processus, nous allons maintenant détailler de façon synthétique les connaissances actuelles sur les impacts des changements climatiques sur les plantes à travers des travaux réalisés sur la croissance, la phénologie et les traits fonctionnels de ces dernières.

Croissance et survie

Au niveau de la croissance et de la survie, de nombreuses études en conditions contrôlées ont permis de décrire la réponse des arbres à une augmentation de température. Par exemple, des graines de 5 espèces boréales ayant poussé sous température élevée révèlent que les conifères (*Larix laricina*, *Picea mariana*, *Pinus banksiana*) ont un plus fort taux de croissance relatif (RGR) à température intermédiaire, alors que les feuillus (*Populus tremuloides*, *Betula papyrifera*) atteignent leur RGR maximum à température plus élevée (Tjoelker et al. 1998). Saxe et ses collègues (2001) mettent en évidence une étude danoise dans laquelle une espèce de conifère (Épicéa) a un gain plus élevé sous température élevée qu'une espèce décidue (Hêtre) en terme d'augmentation en hauteur, en diamètre de tige, et en masse sèche total (**Figure 1-7**).

Ainsi, les conifères sembleraient favorisés sous l'effet du réchauffement climatique par rapport aux feuillus. De la même façon, des études ont mis en évidence un fort effet synergique positif de l'augmentation de température et de CO₂, permettant tous deux d'augmenter le gain carboné de l'espèce considérée (Bruhn et al. 2000; Leverenz et al. 1999).

Figure 1-7 Réponse en terme de croissance de jeunes plants (1 an) de *Picea abies* (Norway spruce) et de *Fagus sylvatica* (European beech) à 4 températures différentes (-2.8, ambiante, +2.3 et +4.8°C). Adaptée de Saxe et al. 2001.



A une échelle plus large, plusieurs études ont mis en évidence une augmentation globale de la croissance de la végétation sur l'ensemble de l'hémisphère Nord ces dernières décennies (Keeling et al. 1996; Myneni et al. 1997). Néanmoins, les sécheresses marquées ont un fort impact négatif sur les écosystèmes forestiers. En effet, en augmentant la vulnérabilité des arbres aux stress biotiques et abiotiques, elles peuvent entraîner une chute de la productivité et de la survie des populations (Breda and Badeau 2008). Ainsi, la canicule de

2003 a sensiblement diminué la productivité et le bilan carboné de la forêt d'exploitation des Landes de Gascogne (Ciais et al. 2005). Une autre étude réalisée dans le Sud-Ouest des Etats-Unis a démontré un dépérissement de plus de 90 % de l'espèce dominante de ces forêts (*Pinus edulis*) seulement 15 mois après une sécheresse prononcée (Breshears et al. 2005). L'étude de la croissance radiale (BAI) du Hêtre dans le Nord-Est de la France pointe également un déclin de productivité depuis 1987 avec un fort impact des sécheresses marquées de 1976 et 2003. Une étude récente de modélisation (Ise and Moorcroft 2010) prédit que l'augmentation des températures pourrait avoir un effet positif sur la longueur de saison de végétation mais, à long terme, diminuer la croissance en raison de la présence simultanée d'une aridité trop forte et d'une augmentation de la respiration autotrophique.

Pour conclure, l'analyse de la croissance et la survie des populations face aux changements climatiques nous donne des indications à un niveau global du comportement des individus et mais leur réponse va largement dépendre de la sévérité et de la fréquence des changements et des espèces considérées.

Phénologie

La phénologie est l'étude des variations des phénomènes périodiques de la vie végétale et animale en relation avec le climat. Les événements phénologiques sont des marqueurs du climat mais jouent également un rôle central dans l'adaptation des êtres vivants aux variations climatiques. Ils conditionnent en grande partie les échanges de carbone entre l'atmosphère et la biosphère terrestre et semblent jouer un rôle sur les limites de répartition des espèces (Morin et al. 2010). Dans le contexte actuel de changement climatique, ces caractères adaptatifs revêtent donc une importance croissante dans de nombreux domaines de recherche fondamentale et appliquée. C'est pourquoi de nombreuses études scientifiques, réseaux d'observations, bases de données et programmes de recherches sur la phénologie ont vu le jour ces dernières années.

La phénologie est l'un des caractères les plus sensibles à la température et facilement mesurables (Sparks and Menzel 2002; Walther 2004). Une étude française a mis en évidence une avancée significative (entre une et trois semaines sur trente ans) des dates de floraison des arbres fruitiers dans la vallée du Rhône (Domergue 2001). Ces résultats ont été suivis par ceux de Ganichot (2002), faisant état d'une avancée des dates de vendange de l'ordre de presque un mois en cinquante ans dans cette même région. Une grande majorité des études réalisées sur des arbres montre une avancée des dates de débourrement des feuilles (Ahas et al. 2002; Beaubien and Freeland 2000; Chmielewski and Rotzer 2002; Menzel and Fabian

1999; Menzel et al. 2006; Root et al. 2003; Schwartz and Reiter 2000), et un retard de la sénescence foliaire (Chmielewski and Rotzer 2001; Defila 2001; Menzel and Fabian 1999; Menzel et al. 2006) dans les hautes latitudes de l'hémisphère Nord (Schwartz et al. 2006; Sparks and Menzel 2002). Une étude européenne synthétisant plus de 125 000 observations de 1971 à 2000 sur 542 espèces de plantes dans 21 pays différents (Menzel et al. 2006) montre que 78% des suivis ont mis en évidence un avancement des dates d'apparition des feuilles, des fleurs et des fruits et seulement 3% un retard. En moyenne, le débourrement des feuilles au printemps a avancé de 2.5 jours/décade en Europe, correspondant à 2.5 jours/°C. Des travaux réalisés sur deux gradients (temporel et thermique) a mis en évidence des résultats plus élevés (Vitasse et al. 2009) : le gradient temporel (1976-2006) a permis d'estimer une avancée du débourrement printanier de 4.2 jours/décade pour le chêne alors que le gradient thermique (Pyrénées) évalue l'avancement des mêmes dates à 2.06 jours/°C pour le hêtre et 7.37 jours/°C pour le chêne sessile. Néanmoins, certains auteurs ont soulevé l'hypothèse que l'augmentation des températures pourrait rendre les arbres plus sensibles au gel et ainsi contrebalancer l'effet positif de l'avancement des dates de feuillaison (Hanninen 1991; Hanninen 2006; Saxe et al. 2001). La littérature à ce sujet reste partagée : certaines études corroborent cette hypothèse (Leinonen 1996; Linkosalo et al. 2000), alors que d'autres la réfute (Hanninen 1996; Ogren 2001).

Cependant, nous assistons globalement depuis plusieurs décennies à un allongement de la saison de végétation (GSL : growing season length). Par exemple en Europe, la saison de végétation s'est allongée d'environ 11 jours durant la deuxième moitié du 20^{ème} siècle (Vitasse et al. 2009). Parallèlement à ces études qui utilisent des observations directes *in situ*, des études indirectes exploitant des données satellitaires (par exemple, « NDVI » Normalized Difference Vegetation Index) indiquent également un allongement de la durée de saison de végétation au cours des dernières décennies (Myneni et al. 1997; Tucker et al. 2001; Zhou et al. 2001). Par exemple, Zhou et ses collègues (2001) montrent à l'aide du NDVI une avance printanière et un retard automnal de la végétation en Eurasie, conduisant à une augmentation de GSL de 18 jours sur la période 1981-1999.

Pour conclure, il semble que le réchauffement climatique tende à augmenter la saison de croissance des espèces mais il est nécessaire de garder à l'esprit que la réponse phénologique diffère largement d'une espèce à une autre et que des paramètres tels que les événements extrêmes ou les stress de longue durée pourraient remettre en cause les prédictions actuelles.

Morphologie et physiologie

Le fonctionnement physiologique des arbres est affecté de façon importante par l'augmentation de la pression partielle de CO₂ et des températures, ainsi que par les modifications de régime hydrique. Une synthèse récente (Gerhart and Ward 2010) des études réalisées sur la réponse des plantes au CO₂ fait le point sur les effets du CO₂ sur la photosynthèse depuis les feuilles d'un individu jusqu'au fonctionnement de l'écosystème. Au niveau le plus fin, la courbe de réponse de la photosynthèse au CO₂ intercellulaire (courbe $A-C_i$) nous apporte des renseignements sur les mécanismes sous-jacents : à faible pression partielle de CO₂, l'assimilation augmente rapidement et est limitée par la quantité de CO₂; ensuite ce sont des processus métaboliques (propriétés cinétiques enzymatiques) qui freinent l'activité photosynthétique pour arriver à un plateau de saturation (Collatz et al. 1990). Au niveau de l'écosystème, les expérimentations en conditions naturelles d'augmentation du CO₂ (FACE, free-air CO₂ enrichment) montrent généralement une augmentation de la photosynthèse plus ou moins prononcée selon l'espèce et l'environnement considérés (Ainsworth and Rogers 2007; Springer et al. 2005; Springer and Thomas 2007). En effet, le CO₂ présent en plus grande quantité va réduire la compétition pour le dioxygène (O₂) au niveau de la RubisCO (enzyme clé de la photosynthèse), diminuant ainsi la photorespiration et augmentant la photosynthèse (Urban 2003).

En plus de l'impact sur photosynthèse, les changements de pression partielle de CO₂ ont aussi un impact sur la conductance stomatique (g_s) donc sur transpiration (E) et l'efficacité d'utilisation de l'eau (WUE) (Maherali et al. 2003; Maherali et al. 2002). Cette réponse est observée lors d'une augmentation de CO₂ à court terme (Flexas et al. 2007; Lloyd et al. 1992), aussi bien qu'à long terme (Polley et al. 1993; Tonsor and Scheiner 2007; Ward et al. 1999). Une conductance stomatique plus élevée permet d'augmenter l'apport de CO₂ en réduisant la résistance à la diffusion du CO₂ mais en augmentant la perte d'eau. D'autre part, elle est affectée négativement par un déficit en eau du sol ou une sécheresse de l'air (VPD, Vapor Pressure Deficit) élevée (Damour et al. 2010; McDowell et al. 2010; Sperry et al. 2002). Au niveau de la densité stomatique les résultats sont assez contrastés mais globalement on observe une diminution en réponse à une augmentation de CO₂ (Körner 1981), pouvant ainsi freiner le taux de photosynthèse potentielle.

La réponse d'un individu est donc complexe à déterminer et doit prendre en compte l'interaction des différentes réponses physiologiques entre elles et l'interaction avec les différents facteurs du milieu. Par exemple, une augmentation potentielle de la photosynthèse

sous l'effet d'une augmentation de CO₂ pourra être freinée par un facteur limitant, tel que l'azote ou la lumière (Figure 1-8).

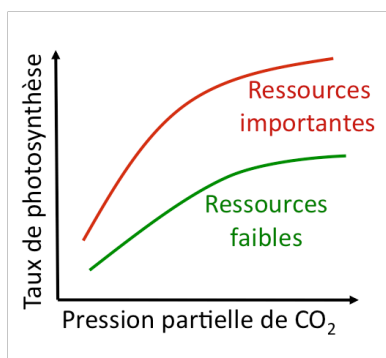


Figure 1-8 Evolution du taux de photosynthèse en fonction de la pression partielle de CO₂ à deux niveaux de ressources (eau, nutriments et lumière). Schéma adapté de Bazzaz 1990.

Au niveau morphologique, on sait depuis longtemps que les caractéristiques du climat et du sol ont une influence sur la taille, forme et structure des feuilles (Cordell et al. 1998; Cunningham et al. 1999; Givnish 1987; Givnish 1988; NunezOlivera et al. 1996; Wright et al. 2005). Ainsi, des articles de synthèse montrent d'une façon générale une augmentation du LMA et de la densité du mésophylle en réponse à des stress tels que de faibles pluviométries, de fortes luminosités, des températures extrêmes ou une pollution à l'ozone (Gutschick 1999; Poorter et al. 2009). Par exemple, une étude réalisée sur un arbre tropical (*Embothrium coccineum*) révèle une augmentation du LMA (feuille plus petite et plus épaisse) en réponse à une augmentation de chaleur et de sécheresse en été (Souto et al. 2009). D'autre part, les informations fournies par l'étude de traits morphologiques peuvent être intégrées dans des modèles afin d'améliorer l'estimation de paramètres tels que la croissance ou la survie des plantes. Ainsi, une étude réalisée sur *Pinus taeda* et *Acer rubrum* utilise l'allocation du carbone dans les différents compartiments des plantes pour modéliser la dynamique forestière, la croissance et la survie de ces deux espèces (modèle « Allometrically Constrained Growth and Carbon Allocation », ACGCA) (Ogle 2009).

Interactions biotiques

Les interactions biotiques, sensibles à la phénologie, la physiologie et l'abondance des espèces (Suttle et al. 2007; Tylianakis et al. 2008), vont également être bouleversées par les changements climatiques (Brooker et al. 2008; Parmesan 2006; Tylianakis et al. 2008). En effet, les réseaux complexes d'interactions biotiques durables telles que la prédation, le parasitisme et la pollinisation jouent un rôle prépondérant dans le maintien de la biodiversité (Bascompte et al. 2006; van der Putten et al. 2004), la médiation de la réponse des écosystèmes aux changements climatiques (Brooker 2006; Brooker et al. 2008; Suttle et al.

2007), ainsi que leur stabilité (résilience et résistance, Ives and Carpenter 2007). Par exemple, l'augmentation de la température du sol accélère la décomposition des matières organiques par les organismes du sol, augmentant ainsi les ressources nutritives et permettant une meilleure productivité des plantes (Ise and Moorcroft 2006; Mack et al. 2004). L'impact des changements climatiques sur la façon dont les prédateurs modifient indirectement la production primaire nette à travers l'altération des cascades trophiques a été largement étudié (Harrington et al. 1999; Schmitz et al. 2003; Walther et al. 2002). Par exemple, une étude sur des loups a révélé que le changement de comportement de chasse de ces derniers en réponse à des hivers plus rigoureux a eu pour conséquence d'augmenter le nombre d'élan tués ces 40 dernières années, augmentant de façon indirecte la régénération du sapin par diminution de la pression d'herbivores (Post et al. 1999). De la même façon, de nombreuses études soulignent l'impact du changement climatique sur les relations de prédation ou de pollinisation insectes/plantes hôtes (Buffo et al. 2007; Pelini et al. 2010). Par exemple, ces relations peuvent être affectées sous l'effet du changement climatique par un changement de composition de la feuille ou une modification de la prédation (Bairstow et al. 2010; Bidart-Bouzat and Imeh-Nathaniel 2008; Lindroth 2010)) ou par un découplage temporel entre l'hôte et l'insecte (Hicks et al. 2007; Klapwijk et al. 2010 et Figure 1-9).

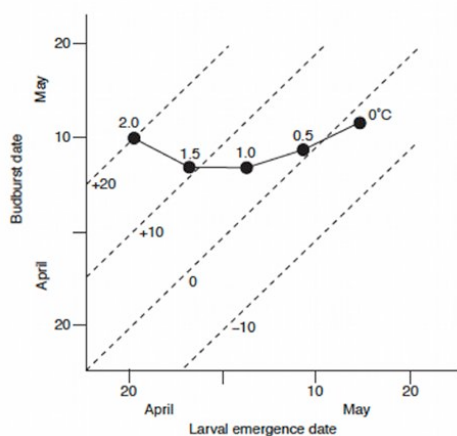


Figure 1-9 Moyennes estimées des dates de débourrement foliaire (budburst) de *Picea sitchensis* et de l'émergence des larves du papillon associées (*Operophtera brumata*) en Ecosse. Les lignes en pointillées représentent l'importance de l'asynchronisation entre ces deux phénomènes. Par exemple pour un réchauffement de 2°C, les larves émergent en moyenne le 20 avril alors que la mise en place des nouvelles aiguilles dont se nourrissent les larves est en moyenne le 10 mai, 20 jours plus tard. Les larves arriveront trop tard pour se nourrir, ne pouvant manger que les très jeunes pousses d'Épicéa. Adaptée de Harrington et al. 1999

Au niveau des interactions diffuses de type facilitation et compétition, il est maintenant admis qu'elles jouent un rôle dans la médiation de l'impact des changements climatiques sur les communautés naturelles (Brooker 2006; Maestre and Cortina 2004; Maestre et al. 2006). Néanmoins, la façon dont elles vont altérer la réponse à un changement environnemental reste peu claire. Plusieurs études ont démontré par exemple, l'importance de la facilitation dans le maintien de la biodiversité dans les habitats alpins (Callaway et al. 2002; Choler et al. 2001). Certains auteurs ont prédit un basculement général d'interactions entre les espèces, passant de fortement positives (facilitation) à plus fortement négatives (compétition)

sous l'effet d'un réchauffement (Klanderud 2005; Klanderud and Totland 2005). De la même façon, des expériences qui ont évalué l'impact de l'augmentation de la disponibilité en azote ont montré une augmentation des interactions de type compétition (Bret-Harte et al. 2004; Chapin 1995; Klanderud and Totland 2005). Inversement, en créant un milieu moins favorable (augmentation des gels en début de saison dans la toundra Nord américaine), on voit apparaître une augmentation de la facilitation au niveau de la survie, croissance et reproduction de certaines plantes (Wipf et al. 2006).

Ce réseau d'interactions (durables et diffuses) est très complexe et diffère selon les espèces et les milieux étudiés. Cette courte synthèse bibliographique montre le défi qu'il y a à vouloir prédire les effets des changements environnementaux sur des écosystèmes réels et illustre la nécessité de réaliser à la fois des manipulations expérimentales dans un contexte approprié et des expérimentations en conditions naturelles. L'amélioration de nos connaissances de ces variations au niveau communautaire aidera ainsi par la suite à déterminer les proportions exactes du rôle joué par les interactions biotiques dans la réponse des communautés aux changements climatiques.

1.1.5. Impact du changement climatique sur la répartition des espèces forestières

La supposition d'un lien entre climat et répartition des espèces fut d'abord suggérée par les observations de gradients de richesse spécifique variant avec la latitude (Dobzhansky 1950). Ce patron a depuis été largement confirmé comme le montre l'importance de la littérature le concernant, pour divers types d'organismes (Currie and Francis 2004; Hillebrand 2004) et notamment pour les arbres (Adams and Woodward 1989; Francis and Currie 2003; Huntley et al. 1989; Qian 1999).

Les conséquences des changements climatiques actuels sur la répartition des espèces ont déjà été mises en évidence au cours de la dernière décennie. Dans ce contexte, Lenoir et ses collègues (2008) ont montré pour 171 espèces forestières du sous bois une remontée dans les massifs montagneux d'Europe de l'Ouest d'environ 29 mètres par décennie au cours du 20^{ème} siècle. Une autre étude a mis en évidence des résultats comparables sur une dizaine d'espèces arborées: une élévation moyenne de 21.6 m/décennie en altitude (Kelly and Goulden 2008). On retrouve également ce changement de répartition le long de gradient latitudinaux. En effet, une étude réalisée sur plus de 30 états dans l'Est américain et couvrant plus de 20° latitudinaux révèle que la migration de certaines espèces atteint 10 km/décennie (Woodall et al. 2009). Néanmoins, ces dernières études réalisées à partir de données de

présence/absence à différentes époques, restent peu nombreuses. Plus fréquemment dans la littérature, on retrouve des études de modèle de niche, développées à partir d'enveloppes bioclimatiques.

Ainsi, Condit et ses collègues (1996) prédisaient une extinction importante d'arbres tropicaux sous l'effet de l'augmentation de la saison sèche dans ces régions. Plus récemment, une étude a mis en évidence que ces extinctions auront également lieu dans les régions de montagnes, particulièrement sensibles aux changements globaux (Dirnbock et al. 2003). Une autre étude de projection d'aire de répartition utilisant des modèles d'enveloppes bioclimatiques donnent une fourchette assez alarmante du taux d'extinction potentielle : 15-37% tous taxons confondus, des invertébrés jusqu'aux mammifères en passant par les plantes (Thomas et al. 2004b).

En France, une étude menée par le groupe CARBOFOR, a mis en évidence un fort recul du hêtre dont l'aire potentielle de répartition pourrait être réduite à l'extrême Nord-Est du territoire national en 2100 (**Figure 1-10**). Une autre étude a également modélisé l'aire de répartition potentielle du Chêne sessile (BIOMOD, **Figure 1-11**) prédisant globalement une extension vers le Nord de l'Europe de son enveloppe bioclimatique.

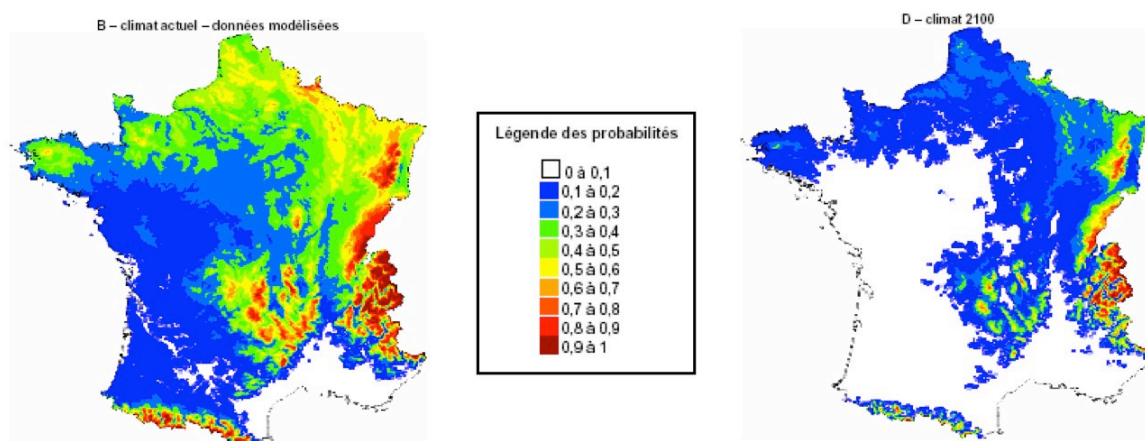


Figure 1-10 Modélisation de l'aire de répartition potentielle du Hêtre en 2100 (d'après Rapport CARBOFOR)

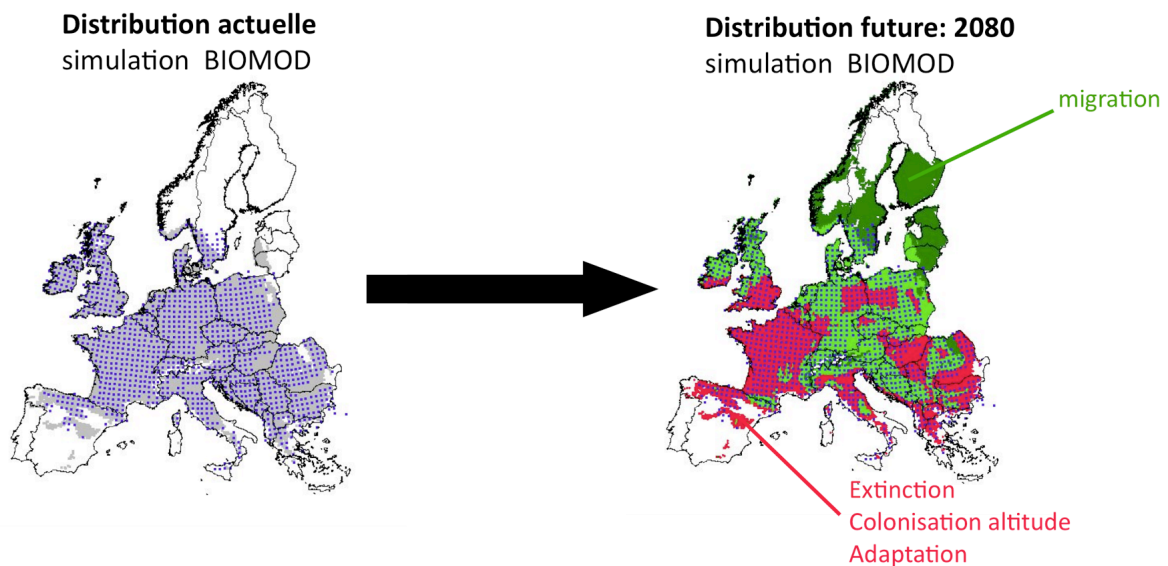


Figure 1-11 Modélisation de l'aire de répartition potentielle du Chêne sessile en 2080 (d'après Thuiller 2003 et 2005)

Néanmoins, il est important de noter que la réponse des espèces au réchauffement sera probablement différente selon la zone de l'aire de répartition considérée. En effet, alors qu'au niveau de la limite « froide (« leading edge », latitude Nord et haute altitude) les modèles prévoient des expansions d'aire de répartition via des processus de migration, en limite chaude » (« rear edge », latitude Sud) les modèles prévoient des extinctions locales de populations (Jump and Penuelas 2005; Morin et al. 2008; Schwartz et al. 2006; Solomon and Kirilenko 1997; Thomas et al. 2004a; Thomas et al. 2006).

Les modèles d'enveloppe bioclimatique permettent d'estimer le comportement des espèces face à des changements dans leur environnement. Toutefois, l'hypothèse clé de ces modèles est que les espèces sont en équilibre avec leur milieu. Or, dans ce contexte instable de changement climatique, l'extrapolation de ces modèles corrélatifs ne tient généralement pas compte (i) de l'adaptation rapide des espèces tant au niveau de la plasticité phénotypique que de la diversité génétique non neutre, et d'autre part (ii) des interactions interspécifiques ou de la dynamique des populations (Elith and Leathwick 2009). Cependant certaines études faisant appel à des modèles mécanistiques de niche (*e.g.* prennent en compte les processus biologiques) sont apparus ces dernières années. Ainsi, la disponibilité en eau et l'effet de la température sur la croissance et la reproduction sont inclus dans des modèles de prédiction de la répartition d'insectes (Crozier and Dwyer 2006; Kearney and Porter 2009; Kearney et al. 2009). En ce qui concerne les plantes, un seul modèle à notre connaissance prend en compte des processus biologiques : Morin et ses collègues (Morin et al. 2008) intègrent les variations

climatiques saisonnières et leur effet sur la survie et le succès reproducteur des arbres dans leur modèle de répartition potentielle.

En conclusion, la capacité de réponse des arbres forestiers au changement climatique dépendra très largement de leurs propriétés biologiques et des processus évolutifs sous-jacents. Il est donc important de bien comprendre à la fois le fonctionnement biologique et les mécanismes évolutifs des espèces. L'effet du climat sur la répartition des espèces ne peut être compris qu'en analysant cet effet au niveau des individus et des populations de l'espèce. Il est donc nécessaire d'étudier l'impact du climat sur la valeur sélective des individus, à travers son effet sur la physiologie des organismes.

1.2. Capacités adaptatives des populations

Les forêts sont particulièrement sensibles aux changements climatiques car la longévité des arbres limiterait leurs réponses adaptatives aux changements environnementaux. Ainsi, les mesures de gestion doivent anticiper les changements attendus. En effet, les forêts qui sont aujourd'hui en régénération auront à faire face aux conditions climatiques qui séviront durant plusieurs décennies, voire plus d'un siècle.

Les capacités adaptatives des arbres et des forêts ont deux composantes : (i) les capacités adaptatives inhérentes aux arbres et écosystèmes forestiers et (ii) les facteurs socioéconomiques déterminant la possibilité de mettre en place de telles mesures d'adaptation. Nous détaillerons ici Les capacités adaptatives inhérentes, en présentant comment les mécanismes et processus évolutifs observés à différentes échelles, de l'individu à la communauté, en passant par la population et l'espèce jouent un rôle chez les arbres en augmentant leurs capacités d'adaptation face au changement climatique. Un grand nombre de résultats basés sur des tests de provenances montre que les populations d'arbres se sont génétiquement différenciées durant les évolutions climatiques naturelles qui ont eu lieu à l'Holocène. Des exemples de réponse à l'échelle de l'individu via la plasticité phénotypique ont également été suggérés par l'observation de variations temporelles de traits liés à la fitness¹ (valeur sélective) au cours de la vie des arbres, mais ce phénomène reste très mal connu à l'heure actuelle.

Les données de dispersion de graines obtenues à l'aide des mesures de pollen fossile suggèrent que les vitesses de dispersion naturelle ne permettront pas de suivre les changements prédits d'enveloppes bioclimatiques des espèces (cf. paragraphe 1.1.2). Aussi, le maintien et l'amélioration des capacités adaptatives (diversité génétique, plasticité) des populations et des espèces seront primordiaux sur le long terme. Nous essayerons de montrer ci-après dans quelles conditions ces mécanismes qui ont agi par le passé lors de modifications naturelles du climat seront sollicités dans le futur.

¹ La fitness (ou valeur sélective) peut se définir de façon générale comme le succès reproductif face à l'ensemble des pressions sélectives. Etant donné la difficulté de mesurer la fitness, elle est classiquement estimée par la croissance, la dispersion et/ou la survie des individus.

1.2.1. Le phénotype, résultat de facteurs génétiques et environnementaux

Face à l'hétérogénéité de l'environnement, les plantes peuvent répondre soit grâce à une grande plasticité phénotypique, *i.e.* une capacité à exprimer différents phénotypes en réponse à une variation environnementale (Bradshaw 1965; Valladares et al. 2007; Valladares et al. 2000b), soit en étant adapté génétiquement à cet environnement (adaptation locale) (Kawecki and Ebert 2004; Savolainen et al. 2007), soit les deux. La variabilité des phénotypes observés dans une population naturelle est donc le résultat de facteurs génétiques et environnementaux. L'effet relatif des gènes et de l'environnement sur le phénotype est depuis longtemps un sujet de discussion scientifique, d'autant plus pour les organismes statiques et longévifs tels que les arbres pour lesquels l'environnement joue un rôle fondamental. Le modèle de décomposition de la variabilité phénotypique observée dissocie de manière simplifiée cette variabilité en trois composantes additives (Eq 1) :

$$\text{Equation 1} \quad V_P = V_G + V_E + V_{G*E}$$

La variabilité génétique (V_G) rend compte de l'effet des gènes dans l'expression du phénotype tandis que la réponse du phénotype à l'environnement est représentée par les variabilités environnementales (V_E) et par l'interaction entre la composante génétique et l'environnement (V_{G*E}). Nous allons dans la partie ci-dessous nous attacher à décrire les différents processus sous-jacents à ces notions et à résumer les grandes tendances déjà mises en évidence chez les arbres le long de gradients climatiques.

1.2.2. Variabilité génétique

Sensus stricto le terme « adaptation » fait référence à la composante génétique du phénotype, *e.g.* une caractéristique phénotypique qui a été établie suite à des phénomènes de sélection naturelle passée. L'estimation de ces variations génétiques responsables de changement phénotypiques peut se mesurer à différents niveaux. Les généticiens des populations et les généticiens quantitatifs utilisent des paramètres différents pour estimer la variabilité d'origine génétique au sein d'une population. Dans le premier cas, l'étude se fait au niveau du gène : on mesure les fréquences ou diversité alléliques. La génétique quantitative, quant à elle étudie des caractères directement accessibles à l'observateur (morphologie, couleur, etc) et s'appuie sur les composantes de la variance génétique de caractères quantitatifs (Mendel 1965).

La diversité génétique au niveau d'un individu se mesure au niveau de l'hétérozygotie de ses gènes et a été observé par exemple en réponse à une pollution de l'air (Muller-Starck and Hattemer 1989). Au niveau de la population, l'équilibre entre les phénomènes de sélection naturelle et d'apport de gènes extérieurs (flux de gènes) nous donne une estimation de la différenciation génétique de la population. Or, en l'absence de sélection diversifiante (habitat hétérogène ou faible effectif), la différenciation génétique au niveau d'un trait relié à la fitness est supposée être en partie masquée par les flux de gènes. Par conséquent, si l'on met en évidence une différenciation génétique dans ce cas, on supposera une forte et récente sélection naturelle à la base de cette différenciation. Les tests de provenance permettent d'estimer cette différenciation, en s'affranchissant au mieux des effets de l'environnement. Afin d'évaluer le niveau de différenciation génétique d'une population, on plante des individus issus de différents milieux dans un environnement commun, s'affranchissant ainsi des effets de l'environnement. Ces tests de provenance (aussi appelé « common garden ») fournissent des informations détaillées sur le niveau de différenciation génétique des populations d'arbres et de la répartition géographique de la différenciation (Clausen 1940, Morgenstern, 1996; Matyas, 1995). Sous l'influence de changements continus et dans une même direction du climat, les génotypes pourront devenir mieux adaptés au nouveau climat. Ce phénomène peut prendre plusieurs générations, c'est pourquoi des programmes de plantations de génotypes adaptés à un environnement donné pourraient contribuer à la persistance des populations dans ce nouvel environnement (König 2005). Au niveau de l'espèce, l'adaptation locale peut aussi augmenter grâce à un flux de gènes provenant de populations présentant une meilleure valeur sélective (= fitness) que la population receveuse (Lenormand 2002; Smouse and Sork 2004).

La variabilité génétique au sein d'une population est donc le résultat de plusieurs processus évolutifs. Les pressions de sélection concourent généralement à la diminution de la variabilité du pool génétique, tandis que les flux de gènes tendent à l'augmenter par brassage génétique. Ces variations peuvent être fixées, c'est à dire que le signal environnemental ne sera plus nécessaire à l'expression de certains gènes (Schlichting and Pigliucci 1995). La sélection naturelle participe par exemple à la fixation de gènes ou groupe de gènes en sélectionnant les individus porteurs de certaines caractéristiques. Un autre mécanisme, intervenant dans les populations de faible effectif ou les populations fragmentées (faible flux de gènes inter populationnel), pourra également fixer un gène ou groupe de gènes: la dérive génétique. Dans les deux cas, il est important de noter que ces fixations génétiques n'ont pas forcément un impact positif sur la fitness. Ainsi, la dérive génétique restreint le pool

génétique de façon aléatoire et pourra donc fixer un caractère peu favorable dans un environnement donné. De la même façon, une forte sélection naturelle peut fixer certains caractères avantageux qui pourront devenir un frein à la suite d'un changement brutal des conditions climatiques. On parlera dans ce cas de « maladaptation ». Par contre, si une population a une fitness supérieure dans son milieu d'origine à des populations issues d'autres milieux plantées dans ce même environnement, on parlera d'adaptation locale de cette population (Kawecki and Ebert 2004). La forte fragmentation des habitats (due à la topologie et aux activités humaines) et les pressions de sélection élevées font des écosystèmes de montagne un excellent objet d'étude pour analyser la variabilité génétique et les adaptations des populations au changement climatique. Dans ce travail de recherche, nous avons travaillé sur des populations d'une même espèce, reliées entre elles par des flux de gènes.

D'importantes variations géographiques en ce qui concerne le déterminisme génétique de traits fonctionnels ont récemment été mis en évidence (Ohsawa and Ide 2008), que ce soit le long de gradient altitudinaux (Stocklin et al. 2009), latitudinaux (Jia et al. 2010; Soolanayakanahally et al. 2009), ou de stress environnementaux (Hao et al. 2010). Ces études ont démontré que les différenciations génétiques diffèrent également selon l'espèce et le caractère étudié. A la vue de ces résultats, il apparaît important de considérer les variations génétiques existant entre les populations pour la préconisation de transferts de semences. Une méta-analyse des études sur le sujet s'avèrerait ainsi très utile à cette prise de décision.

Dans cette étude, nous nous intéressons à la variabilité génétique au niveau des populations et décelable au niveau de traits phénotypiques et non aux variations au niveau du génome à proprement parler. Afin de pouvoir évaluer la variabilité génétique d'un caractère quantitatif, ce caractère doit être « adaptatif », c'est-à-dire soumis à la sélection. Plus précisément, le caractère en question doit remplir 3 conditions pour être qualifié d'adaptatif : (i) posséder une variabilité phénotypique en condition naturelle (ii) être héritable (c'est-à-dire pouvant être transmis à la descendance) et (iii) être corrélé à la fitness de l'individu (agissant sur la croissance, la dispersion ou la survie). En conclusion, les études en test de provenance nous renseignent sur la structure génétique (plus ou moins fixée) des populations et nous donnent des indications sur les processus évolutifs sous-jacents.

1.2.3. Plasticité phénotypique

Un patrimoine génétique donné peut également exprimer différentes réponses selon le milieu dans lequel évolue l'individu. Cette capacité d'un organisme à modifier sa morphologie, sa physiologie ou son développement en réponse à des changements dans son environnement est appelée plasticité phénotypique (Callahan et al. 1997). Ce concept a été mis en évidence depuis longtemps : le premier à utiliser le terme « plasticité » est Nilsson-Ehle en 1914 à propos de l'adaptation de plantes alpines aux basses altitudes. Bien avant, le botaniste Gaston Bonnier (1895) a montré qu'une plante de plaine comme *Helianthemum vulgare* pouvait acquérir une morphologie particulière, proche de celle des plantes de montagne, lorsqu'elle était cultivée en altitude : tige courte, petites feuilles, fleurs vivement colorées. La plasticité phénotypique permet à un individu de s'acclimater de façon relativement rapide et réversible à un changement dans son environnement. Par exemple, l'acclimatation d'un individu à l'échelle d'une génération a été observée sur un bouleau : sa densité stomatique a diminué significativement sur les 50 dernières années en réponse à l'augmentation de CO₂ atmosphérique (Wagner et al. 1996). L'action de facteurs environnementaux sur l'expression phénotypique d'un caractère (plasticité phénotypique) se fait par le biais de modification de l'expression des gènes (phénomènes épigénétiques) en réponse au signal environnemental. Des réponses de ce type ont été mises en évidence chez des plants de tabac en réponse à un fort stress biotique et abiotique (Madlung and Comai 2004). D'autre part, il a été montré chez *Picea abies* que les conditions environnementales endurées par l'individu durant son embryogénèse influencent son développement futur (« effet maternel ») (Skroppa et al. 1994). De récentes études indiquent que dans certains cas ces phénomènes épigénétiques peuvent être héritable, *i.e.* transmis à la descendance (Bossdorf et al. 2008).

La plasticité des espèces est devenue une variable essentielle non seulement pour affiner nos connaissances des réponses des espèces face aux changements climatiques, mais aussi dans les études de modélisation permettant de prévoir les réponses et la répartition des espèces face aux changements globaux (Potvin and Tousignant 1996; Rehfeldt et al. 2001) et se traduit dans l'émergence d'idées sur l'importance de la plasticité dans la compréhension des traits jouant un rôle dans l'interaction entre les espèces (Callaway et al. 2003).

Notons que la plasticité peut être étudiée à différents niveaux (individu, population, espèce). Dans cette étude nous l'étudierons exclusivement au niveau populationnel (Rehfeldt 2002,

Williams 2008, Valladares 2007) le long d'un gradient climatique marqué, inférant ainsi par extrapolation les capacités de réponse de l'espèce face aux changements climatiques.

Quantification de la plasticité

Afin d'étudier le comportement d'un individu ou d'une population dans différents environnements, on étudie la représentation graphique des phénotypes possibles produits par un génotype donné le long d'une gamme environnementale (Figure 1-12). Cette courbe est appelée norme de réaction.

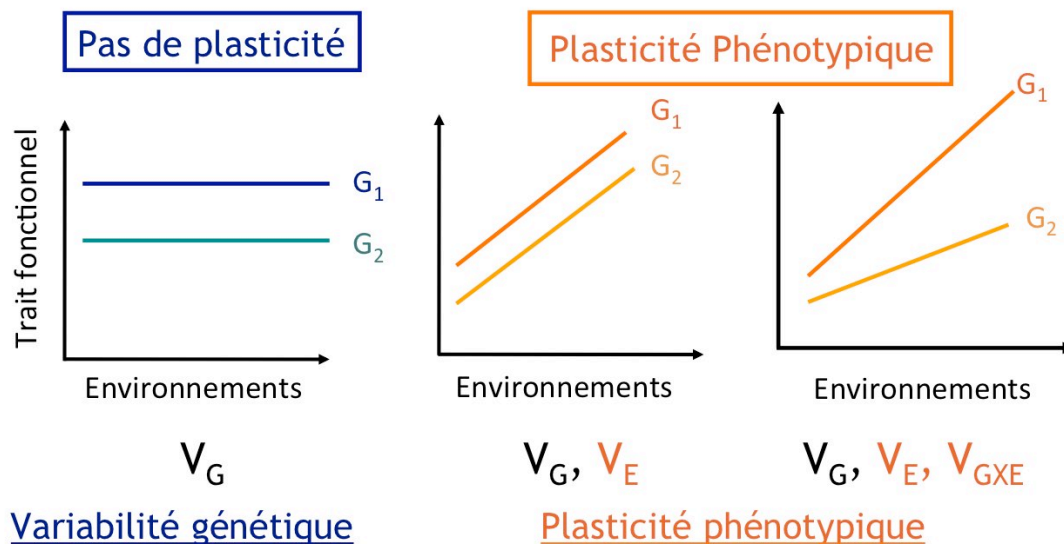


Figure 1-12 Représentation schématique de normes de réactions potentielles pour un génotype (ou une population) donnée (G_1 , G_2). V_G correspond à la variabilité génétique, V_E à la variabilité environnementale et $V_{G \times E}$ à la variabilité résultante de l'interaction gènes-environnement.

Si les deux génotypes (ou population) réagissent de la même façon quelque soit l'environnement, on dira qu'ils ne sont pas « plastiques » pour le caractère étudié (Figure 1-12, partie gauche en bleu). A l'inverse, si les valeurs du trait varient d'un environnement à l'autre, les individus seront qualifiés de « plastiques » pour ce trait. De plus, il existe très souvent une interaction entre les gènes et l'environnement et cette caractéristique est mise en évidence par une réponse différente le long du gradient environnemental testé (droite non parallèle, graphique de droite). Par souci de simplicité nous avons ici représenté des normes de réactions linéaires, mais elles sont souvent non linéaires (Valladares 2007). Cette norme de

réaction permet d'estimer l'amplitude et l'intensité de la réponse plastique (Pigliucci et al. 2006).

Afin de comparer les plasticités de différents traits fonctionnels et de différentes espèces, il apparaît nécessaire de mettre au point des indices standardisés, permettant une comparaison précise et reproductible. Sur ce point, une étude récente (Valladares 2006) recense 17 indices employés pour quantifier la plasticité phénotypique. En dépit de la corrélation générale trouvée dans cette étude entre la plupart des indices calculés, quatre différents classements des espèces ont été obtenus. Ceci souligne la nécessité de choisir avec attention l'indice le plus approprié pour l'estimation quantitative de la plasticité dans les études comparatives. Ainsi, nous avons choisi pour ces travaux d'utiliser un indice statistiquement robuste permettant de comparer plus de deux environnements : le RDPI (Relative Distance Plasticity Index). En distinguant statistiquement les espèces en fonction de leur plasticité, les études utilisant des indices de plasticité apportent des connaissances fondamentales utiles à des recherches plus poussées sur les mécanismes et les implications au niveau de l'évolution de ces différences. La question de savoir pourquoi la plasticité n'est pas universellement répandue parmi les plantes (van Kleunen and Fischer 2005) reste en suspens et des études comparatives qui classent les espèces et populations en fonction de leur plasticité sont essentielles pour permettre de répondre à cette question importante (Bradshaw and Holzapfel 2006; Valladares et al. 2000a).

Plasticité adaptative

En tant que phénomène réversible qui permet aux individus d'ajuster rapidement certains caractères morphologiques, physiologiques ou phénologiques à un changement environnemental, la plasticité phénotypique pourrait jouer un rôle primordial dans la réponse des arbres au changement climatique. Néanmoins, cette plasticité n'est pas toujours favorable à l'individu (Figure 1-13), elle peut également être défavorable ou sans effet (neutre) dans un environnement donné (Alpert and Simms 2002; Stearns 1989). Pour être qualifiée d'adaptative, la plasticité doit augmenter la fitness moyenne dans la gamme d'environnements testés (Figure 1-13.A). Ce type de plasticité est souvent impliqué dans les processus invasifs. Par exemple, les plantes invasives ont des taux de croissance relativement similaires aux plantes natives dans un milieu pauvre en eau et en nutriment, alors que les capacités de

l'espèce invasive dépassent celle des indigènes dans des conditions favorables (Claassen and Marler 1998; Nernberg and Dale 1997).

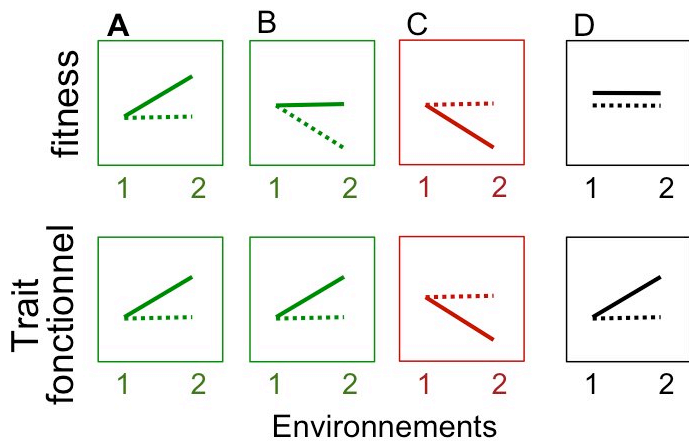


Figure 1-13 Différents types de plasticité phénotypique: A. Plasticité adaptative avec augmentation de la fitness B. Plasticité adaptative avec maintien d'une fitness constante C. plasticité défavorable D. plasticité neutre. La ligne en pointillé représente un individu moins plastique que celui en trait plein. Schéma adapté de Alpert and Simms 2002

D'autre part, l'augmentation de la plasticité d'un trait fonctionnel relié à la fitness pourrait améliorer la fitness dans un environnement dans lequel la fitness était plus faible auparavant que dans d'autres environnements (**Figure 1-13.B**). Par exemple, certaines plantes réagissent à l'ombrage des autres plantes en augmentant la longueur de leurs entrenœuds (Dudley and Schmitt 1996; Schmitt et al. 1995; Schmitt and Wulff 1993). L'augmentation de ce trait fonctionnel permet d'éviter aux plantes une limitation de la photosynthèse due à l'ombrage de ces voisins et ainsi de maintenir leur production de semences dans des conditions de surpeuplement (un environnement où leur aptitude était relativement faible). Dans le troisième cas présenté ici, la plasticité d'un trait fonctionnel amène à une diminution de la fitness et est donc défavorable (**Figure 1-13.C**). Par exemple, des changements de morphologies dues à de fort stress environnementaux peuvent engendrer une plasticité dommageable. Ainsi, la diminution de l'allongement des rhizomes par des plantes cultivées dans un sol très compact conduira à une baisse du taux de croissance et de la reproduction végétative (Schmid and Bazzaz 1990). Enfin, la plasticité peut n'avoir aucun effet sur la fitness, elle est dans ce cas qualifiée de « neutre » (**Figure 1-13. D**).

Coût de la plasticité

Etant donné que les organismes n'expriment pas dans tous les cas la valeur de trait la plus adéquate dans un environnement donné, il existe nécessairement des contraintes à cette plasticité. Dewitt et ses collègues (1998) distinguent les coûts et les limites que peuvent engendrer la plasticité phénotypique. Ainsi, les coûts de « maintenance » englobent l'énergie

dépensée par l'organisme plastique pour le maintien de mécanismes de détection des facteurs environnementaux (qu'un organisme non plastique ne posséderait pas). Par exemple, certaines plantes réagissent à l'éthylène en modifiant leur croissance grâce à un récepteur membranaire d'éthylène. Une plante ne réagissant pas à cette hormone végétale ne dépensera pas d'énergie pour produire ce récepteur. Bien que les mécanismes sous-jacents ne soient pas encore bien connus, il existe également des coûts « génétiques » de la plasticité (Dejong 1990; Gavrilets and Scheiner 1993; Pigliucci 1996; Scheiner 1993; Schlichting and Pigliucci 1995; Via et al. 1995). Ainsi, certains gènes sont liés entre eux (phénomène d'épistasie) et l'individu peut ainsi exprimer une valeur de trait favorable pour un caractère donné mais défavorable pour le caractère lié. Les limites des bénéfices de la plasticité phénotypique peuvent aussi porter sur l'exactitude des informations acquises quant à l'environnement. En effet, si l'information n'est pas fiable, le phénotype exprimé ne correspondra pas à l'optimal. Le temps nécessaire à la mise en place d'un phénotype correspondant à un nouvel environnement peut également être limitant. L'intervalle de temps entre la détection d'un changement environnemental et la réponse de l'organisme peut être plus ou moins long et ainsi constituer une limite.

Un article récent (Chevin et al. 2010) modélise le taux d'extinction des espèces selon le coût de la plasticité associée à l'environnement et la population modélisée (Figure 1-14). La zone orangée dans la figure ci-dessous représente la zone d'extinction des espèces qui pourrait s'ajouter à celle attendue si le coût de la plasticité (\hat{c}) augmente.

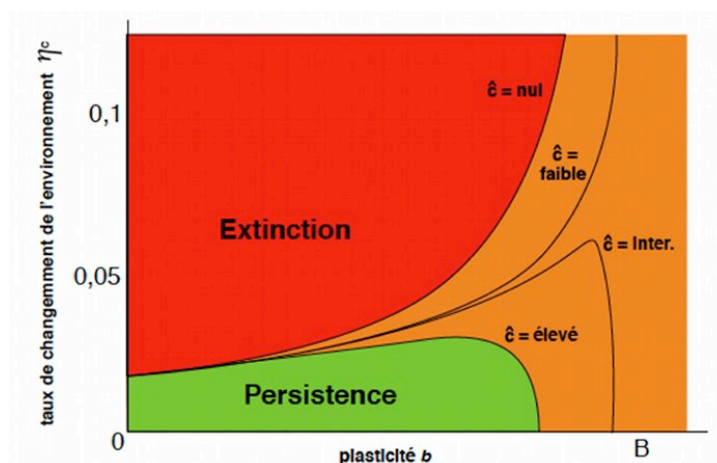


Figure 1-14 Modélisation de la persistance et de l'extinction des populations en fonction du taux de changement de l'environnement, de la plasticité phénotypique de la population. Schéma adapté de Chevin et al 2010. \hat{c} correspond au coût engendré par la plasticité b . Adapté de Chevin et al. 2010

En conclusion, il apparaît donc nécessaire de garder à l'esprit qu'il existe des limites à la plasticité phénotypique et notamment qu'elle diffère selon le trait fonctionnel étudié dont le choix est par conséquent important.

1.2.4. Traits fonctionnels, indicateurs du fonctionnement et de la stratégie des plantes

L'étude des traits fonctionnels permet d'affiner la compréhension de la performance d'une espèce en lien avec son environnement. Le choix du trait fonctionnel étudié est essentiel. En effet, si le caractère étudié n'est pas lié à la valeur sélective (fitness) de l'individu, son étude n'aura pas d'intérêt pour l'étude des capacités adaptatives de l'espèce. Dans sa plus simple définition, un trait est défini comme toutes caractéristiques morphologiques, physiologiques ou phénologiques mesurables à l'échelle de l'individu (Violle et al. 2007). La nécessité de généralisation et de comparaison en écologie a conduit à retenir des traits pertinents et faciles à mesurer (Westoby 1998, Garnier et al. 2004). Le terme fonctionnel, quant à lui, rappelle que le caractère mesuré renseigne plus ou moins directement sur une fonction de la plante. Par exemple, la surface spécifique foliaire (SLA) renseigne sur la capacité à capter la ressource lumineuse d'une plante : plus la surface de la feuille sera grande, plus la quantité de photons captés sera importante. Pareillement, une feuille plus épaisse aura plus de parenchyme photosynthétiquement actif.

Face aux enjeux majeurs que représentent les changements environnementaux actuels (réchauffement climatique, modifications de l'usage des terres), il est important de décrire les êtres vivants en termes de traits fonctionnels afin de prédire les changements dans la distribution de la biodiversité et le fonctionnement des écosystèmes. En effet, les traits fonctionnels, en particulier chez les végétaux, permettent à la fois d'étudier la réponse des espèces aux gradients environnementaux et leurs changements, et *a fortiori* de prédire l'effet de ces mêmes espèces sur la structure des communautés et sur le fonctionnement des écosystèmes (par exemple la production de biomasse ou la décomposition de la litière dans les communautés végétales) (McGill et al. 2006). En effet, l'environnement agit comme un filtre sur les individus selon leur performance dans un milieu donné et il est donc primordial d'étudier ces traits fonctionnels, estimateurs précis des aptitudes d'un individu. Cette approche est utilisée aussi bien pour la classification des organismes (Lavorel et al. 1997; Noble and Gitay 1996; Woodward and Cramer 1996), l'étude de la diversité des communautés (Mason et al. 2005; Petchey and Gaston 2002; Walker et al. 1999) ou l'évaluation des effets des espèces sur les écosystèmes (Eviner and Chapin 2003; Lavorel and Garnier 2002)

Il est depuis longtemps connu qu'il existe des corrélations et compromis (trade-off) entre les différents traits fonctionnels (Reich et al. 2003a). Par exemple, la surface spécifique foliaire (SLA, la surface foliaire par unité de masse de feuille sèche) est fortement corrélée au taux de

croissance relative (RGR), au taux maximum de photosynthèse par unité de surface de feuilles sèches, à la teneur en azote des feuilles, et à la durée de vie des feuilles (Aerts and Van Der Peijl 1993; Grime et al. 1988; Hodgson et al. 1999; Leishman and Westoby 1997; Reich et al. 1998). Par conséquent, en étudiant les variations de teneur en azote des feuilles, on peut estimer par exemple les capacités photosynthétiques au sein d'une canopée (Ellsworth and Reich 1993). A un niveau plus global, une plante qui investit dans le développement de ses racines pour augmenter son prélèvement d'eau développera moins son système aérien (trade-off). Ainsi, l'étude de l'allocation nous renseigne sur la réponse des plantes à la disponibilité en nutriments, lumière et eau de l'environnement étudié (Cannell and Dewar 1994; Gillespie and Chaney 1989). L'allocation du carbone au sein d'un individu peut également être utilisée dans les études modélisant la production primaire nette (NPP) au niveau des écosystèmes (Friedlingstein et al. 1999).

Les traits fonctionnels rendent compte de l'histoire évolutive de l'individu et de son « adéquation » avec le milieu dans lequel il vit (Reich et al. 2003b). En effet, nous avons vu que la valeur d'un trait fonctionnel résulte de la pression de sélection qu'exercent les facteurs environnementaux sur l'individu. Un trait est dit « adaptatif » (*i.e.* soumis à sélection) s'il a une influence directe sur la fitness de l'individu dans son environnement naturel (Ackerly et al. 2000). Dans le cas de pressions sélectives biotiques et abiotiques variables, les être vivants peuvent acquérir de nouveaux caractères génotypiques et/ou phénotypiques leur conférant ou pas un avantage sélectif. Ainsi, l'étude des traits fonctionnels nous permet d'évaluer l'« adaptation » d'un organisme à son milieu.

2. Objectifs

Ce sujet de thèse s'inscrit dans la thématique générale de réponses des espèces végétales aux changements climatiques. Nous avons choisi comme modèle d'étude les arbres, organismes sessiles, clés de la structure des communautés et comme outil d'observation, les gradients altitudinaux, formidables palettes climatiques naturelles. Dans ce contexte, ce travail propose d'étudier les capacités adaptatives des populations de deux espèces co-occurentes (le Hêtre commun (*Fagus sylvatica*) et le Chêne sessile (*Quercus petraea*)) en quantifiant les deux mécanismes évolutifs majeurs, la diversité génétique et la plasticité phénotypique. Ces deux espèces ont été choisies pour leur amplitude écologique et leur importance dans la sylviculture européenne. Le but principal de ce travail est donc d'apporter une contribution à l'appréhension des changements potentiels des écosystèmes forestiers au cours des prochaines décennies via la caractérisation du potentiel de réponse des populations au réchauffement climatique. Nous avons choisi d'articuler ce mémoire de thèse selon l'équation $V_P = V_G + V_E + V_{G^*E}$, afin de discuter du déterminisme génétique et/ou environnemental de chaque trait mesuré le long du gradient altitudinal. Les questions majeures qui sont adressées ici reprennent donc ce formalisme de génétique quantitative :

- (i) Dans quelle mesure les traits fonctionnels des arbres évoluent le long de gradients altitudinaux (direction et amplitude) ? (Variations phénotypiques)?
- (ii) Quel est le degré de diversité génétique de ces traits ? Dans quelles mesures les variations phénotypiques sont-elles fixées génétiquement (Variabilité génétique)?
- (iii) La plasticité phénotypique joue-t-elle un rôle majeur dans la variabilité observée en populations naturelles ? Au sein de chaque espèce, les populations provenant de différentes altitudes présentent-elles des différences de plasticité ?

Ce travail de recherche s'inscrit à l'interface entre des domaines aussi variés que la génétique quantitative, l'écophysiologie et l'écologie évolutive. Pour répondre à ces questions trois types d'approches méthodologiques ont été utilisés. Dans un premier temps, nous avons cherché à caractériser les capacités d'échanges gazeux sur des arbres adultes le long de deux

gradients altitudinaux. Nous avons notamment quantifié la réponse photosynthétique des arbres à différentes pressions partielles de CO₂ en conditions naturelles (**Chapitre 2**). Nous avons également caractérisé six autres traits fonctionnels foliaires (LMA, L_s, N_a, SD, g_{smax} et A_{max}) dans ces mêmes populations naturelles afin de mieux comprendre le fonctionnement de ces espèces en conditions climatiques contrastées (**Chapitre 3**).

La seconde approche a consisté à mesurer ces mêmes traits fonctionnels sur de jeunes plants issus des populations naturelles, plantés dans un même site (test de provenance ou common garden). S'affranchissant ainsi de l'effet de l'environnement, nous avons pu déterminer dans quelles mesures les variations phénotypiques observées *in situ* étaient d'origine génétique (**Chapitre 3**). Ce travail a été également réalisé au niveau de traits phénologiques et de croissance dans un travail préliminaire (**Annexe**).

Enfin, la troisième approche nous a permis d'évaluer la part due à l'environnement dans les variations phénotypiques observées dans les populations naturelles. Ainsi, grâce à des expérimentations de transplantation réciproques (RTEs), nous avons pu comparer le comportement de jeunes plants dans leur environnement d'origine et à des altitudes différentes. (**Chapitre 4 et 5**).

Le dernier chapitre (**Chap 6**) synthétise les principaux résultats obtenus dans les différentes expérimentations. Nous tenterons dans cette dernière partie de répondre aux questions formulées précédemment et soulignerons les conclusions et perspectives de cette étude. Le descriptif des trois différents dispositifs expérimentaux est détaillé dans la partie suivante.

3. Matériels & Méthodes

3.1. Espèces choisies

Nous avons choisi pour ce travail de recherche deux espèces co-occurentes et largement réparties en Europe: le hêtre commun (*Fagus sylvatica* L.) et le chêne sessile (*Quercus petraea* Lieb.). Ils appartiennent tous deux à l'ordre des Fagales, famille des Fagaceae. Le genre *Quercus* comprend approximativement 500 espèces d'arbres distribués dans l'ensemble de l'hémisphère Nord (Manos et al. 1999). Les espèces du genre *Quercus* sont connues pour leur fréquente hybridation, qui pourrait avoir un rôle important pour l'adaptation locale (Petit et al. 2002a; 2002b). Le genre *Fagus* comprend 10 espèces, dont le hêtre américain (*Fagus grandifolia* Ehrh.) et 9 espèces en Eurasie. Les cartes de répartition (Figure 3-1) montrent que l'aire du hêtre est incluse dans celle du chêne. Notre zone d'étude se situe en limite Sud de répartition pour les deux espèces, ce qui en fait un outil intéressant car plus sensible au changement climatique (Hampe and Petit 2005; Thuiller 2003).

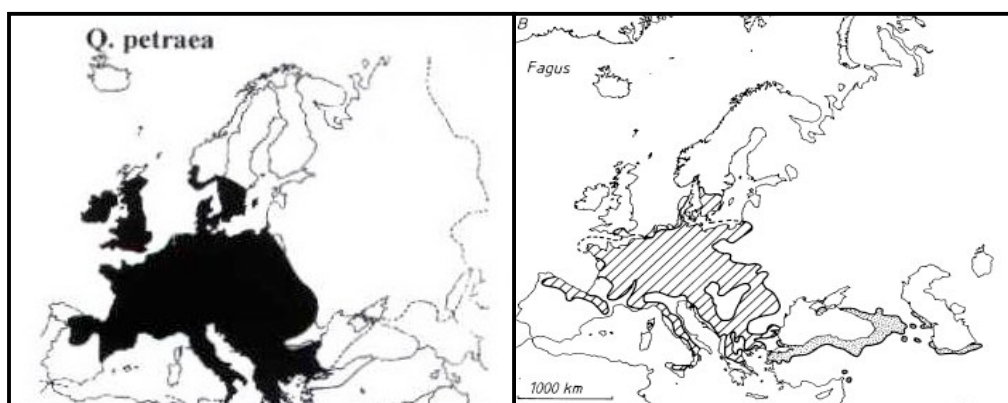


Figure 3-1 Carte de répartition du Chêne sessile (figure de droite, zone noire) et du Hêtre commun (figure de gauche, zone hachurée) en Europe. Cartes issues de Meusel et al 1965 pour le Chêne et de Huntley 1989 pour le Hêtre.

D'un point de vue écologique, il est bien établi que le hêtre a besoin d'une humidité atmosphérique élevée, avec des précipitations annuelles supérieures à 700 mm (rapport CARBOFOR). Il peut tolérer les sols superficiels, mais il est plus répandu sur les sols bien alimentés en eau (Ellenberg, 1986). Le hêtre est considéré comme une espèce de fin de succession, tolérante à l'ombre qui a une forte dynamique de remplacement des arbres pionniers. Le chêne sessile quant-à-lui est assez tolérant à la sécheresse et supporte également les sols temporairement engorgés d'eau (Berges et al. 2005). En revanche, il ne supporte pas

les sols pauvres en minéraux et les faibles capacités en eau du sol surtout quand ces conditions sont exacerbées par la position topographique. Dans le massif d'étude pyrénéen, le chêne sessile est implanté à basse altitude en cohabitation avec différentes espèces de chênes en exposition Sud, alors que le hêtre est plus répandu à hautes altitudes, souvent associé avec le sapin et en exposition Nord.

3.2. Gradient altitudinal

La zone d'étude fait partie du massif montagneux des Pyrénées, qui s'étend, de la mer Méditerranée à l'est jusqu'au golfe de Gascogne à l'ouest. Elle forme une barrière géographique importante où les vallées sont majoritairement parallèles les unes aux autres sur un axe Nord/Sud. Nous avons choisi de travailler le long de deux vallées pyrénéennes : la vallée d'Ossau dans le département des Pyrénées Atlantiques et la vallée des Gaves dans le département des Hautes Pyrénées, parallèles et distantes de 30 km l'une de l'autre (Figure 3-2). La proximité géographique de ces deux vallées leur fait bénéficier d'un climat comparable. Nous considérerons de ce fait les deux transects comme une répétition de mesures, augmentant la robustesse statistique des résultats. Ce design permet avant tout de minimiser les effets stationnels éventuels qui pourraient être à l'origine de différences localisées dans les patterns observés.

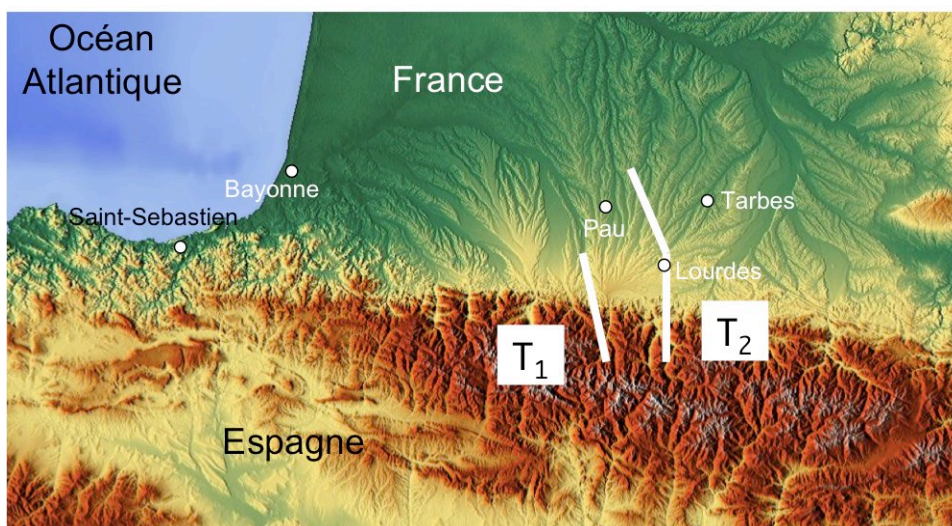


Figure 3-2 Localisation de la zone d'étude dans les Pyrénées françaises.
T₁, transect 1 correspondant à la vallée d'Ossau ; *T₂*, transect 2 correspondant à la vallée des Gaves

Le dénivelé est de 1466 m pour la vallée d'Ossau et de 1499 m pour la vallée des Gaves, augmentant du Nord au Sud. Le premier transect, en vallée d'Ossau (T₁), s'étend sur une latitude très faible, avec une distance maximale de 48 km entre les populations sélectionnées (Figure 3-2). La température moyenne annuelle (Météo France, Larruns-Artouste, 1142 m d'altitude), y est de 9.1°C et la pluviométrie annuelle est de 1480 mm (moyenne de 2005 à 2007). Le deuxième transect, dont la majeure partie se situe dans la vallée des Gaves, est plus étendu, avec une distance maximale de 108 km entre les populations sélectionnées (Figure 3-2). Sur période 2005-07, la température annuelle (Météo France, Cauterets, 917 m d'altitude), y est de 10.0°C et la pluviométrie annuelle est de 1135 mm. La vallée d'Ossau (T₁), plus près de l'océan Atlantique possède néanmoins un régime pluviométrique un peu plus soutenu que la vallée des Gaves (T₂). Enfin, la zone d'étude considérée est particulièrement affectée par le réchauffement climatique : la température moyenne annuelle enregistrée de 1956 à 2007 à Tarbes (360 m d'altitude, données Météo France) est de 12.1°C et a augmenté de plus de 1.6°C au cours des cinq dernières décennies.

3.3. Dispositifs Expérimentaux

En conditions naturelles (*in situ*)

Les populations étudiées *in situ* ont été choisies dans des peuplements naturels. Nous avons sélectionné pour chaque espèce des populations situées à 5 niveaux altitudinaux: 100, 400, 800, 1200 et 1600 m d'altitude ± 50 m dans chacune des deux vallées étudiées. Afin d'augmenter notre échantillonnage chez le Chêne sessile, espèce modèle de notre UMR, quatre populations d'altitudes intermédiaires ont été rajoutées en vallée des Gaves pour cette espèce. Nous avons utilisés un GPS (GPS Pathfinder ProXR, Trimble) et un altimètre pour déterminer l'altitude exacte de chaque population. Le Tableau 3-1 donne une description des sites choisis avec des informations sur les coordonnées géographiques, l'exposition et la température annuelle des stations.

Tableau 3-1: Données géographiques et climatiques des populations naturelles échantillonnées le long des gradients altitudinaux (T_a : température annuelle moyenne calculée en °C entre 2005 et 2007)

	Sites	Valley	Altitude	Latitude	Longitude	Slope aspect	T_a
<i>Fagus sylvatica</i>							
100	Josbaig	Ossau	148	43°15' N	00°44' W	plat	11.5
400	Bager	Ossau	422	43°7' N	00°32' W	Nord	12.3
800	Eaux Bonnes	Ossau	824	42°56' N	00°22' W	Nord	10.3
1200	Fabrèges	Ossau	1260	42°52' N	00°24' W	Nord	6.7
1600	Bious	Ossau	1551	42°51' N	00°27' W	Nord	6.1
100	Laveyron	Gave	131	43°45' N	00°13' W	Nord	12.9
400	Gaves de Pau	Gave	488	43°05' N	00°05' W	Nord	11.4
800	Chèze	Gave	773	42°55' N	00°02' W	Nord	10.2
1200	Haugarou	Gave	1190	43°00' N	00°12' W	Nord	6.6
1600	Barège	Gave	1604	42°53' N	00°06' E	Nord	6.5
<i>Quercus petraea</i>							
100	Josbaig	Ossau	259	43°13' N	00°44' W	Sud	13.2
400	Bager	Ossau	422	43°07' N	00°32' W	Nord	12.3
800	Le Hourcq	Ossau	841	42°54' N	00°26' W	Nord	9
1200	Gabas	Ossau	1194	42°53' N	00°25' W	Sud	9
1600	Artouste	Ossau	1614	42°53' N	00°24' W	Sud	7.2
100	Laveyron	Gave	131	43°45' N	00°13' W	plat	12.9
300	Ibos	Gave	387	43°15' N	00°00' W	Sud	12.4
400	Adé	Gave	427	43°08' N	00°00' W	Sud	12.3
600	Pierrefites	Gave	627	42°56' N	00°03' W	Sud	11.8
800	Chèze	Gave	803	42°55' N	00°02' W	Sud	11
1000	Bourdalats	Gave	1082	42°54' N	00°06' W	Sud	9.8
1200	Gèdre	Gave	1235	42°47' N	00°01' E	Sud	9.7
1300	Gèdre haut	Gave	1349	42°47' N	00°02' E	Sud	8.6
1600	Péguère	Gave	1630	42°52' N	00°07' W	Sud	7.7

Dans chacune des populations échantillonnées, nous avons sélectionné de façon aléatoire une dizaine d'individus matures possédant un houppier qui atteignait le sommet de la canopée. Certaines populations, notamment pour le chêne, ont été échantillonnées plus largement, jusqu'à 30 individus par site afin de réaliser des analyses de génétique quantitative (Alberto et al 2010).

Des mesures de températures et d'humidité relative de l'air ont été effectuées toutes les heures dans l'ensemble des sites sélectionnés du 1^{er} janvier 2005 au 31 décembre 2008 à l'aide de capteurs météorologiques (HOBO Pro RH/ Temp, Onset Computer Corporation, Bourne, MA 02532, USA). Les capteurs ont ensuite été implantés en milieu ouvert (non forestier) à proximité de chaque station et ont été fixés à des tuteurs en bois à une hauteur d'1.50 m au dessus du sol. Les capteurs ont été placés sous un abri de plastique blanc afin de les protéger du rayonnement solaire direct et de la pluie. L'intervalle de confiance des mesures des températures est de $\pm 0.28^\circ\text{C}$ de 0 à 70°C . Avant l'installation des capteurs, un étalonnage en laboratoire a été effectué sur l'ensemble des capteurs durant deux journées de mesures et une variation maximale de 0.2°C entre les différents capteurs a été enregistrée

(données non présentées). Le gradient altitudinal utilisé nous permet ainsi de travailler sur un gradient thermique annuel compris entre 5.2 et 6.4°C, selon l'espèce et la vallée considérées. La diminution de température est de - 0.38°C/100m et - 0.42°C/100m pour la vallée des Gaves et d'Ossau, respectivement.

Test de provenances (common garden)

Afin de mettre en évidence les différenciations génétiques au sein d'une population, nous avons mis en place un test de provenances, également appelé « common garden ». Un test de provenances rassemble plusieurs populations de provenances différentes dans un même environnement ce qui permet d'observer si ces populations expriment des phénotypes différents sous des conditions environnementales identiques. Autrement dit, ce type de dispositif permet de mettre en évidence s'il existe des variations génétiques pour un caractère donné qui pourrait être liées à des adaptations au climat.

Le test de provenances est situé au sein de l'unité expérimentale de l'INRA de Toulence (Domaine des Jarres, 44°34'N, 00°16'O, Gironde). La température moyenne annuelle est de 13.2°C, la pluviométrie annuelle de 836 mm (moyenne 1984-2006, INRA Toulence) et le sol est de type limono-argileux (Tableau 3-2).

Tableau 3-2 : Moyenne des températures et pluviométrie annuelles dans le test de provenance de Toulence. T_a, températures moyennes annuelles. Mesures effectuées par l'INRA de Toulence. A partir de 2005, suivis des températures par capteurs hobos.

Années	1984-2006	2005	2006	2007	2008
T_a	13.2	13.2	14.0	13.2	13.0
Pluviométrie (mm)	836	596	742	819	847

Depuis l'installation du test de provenances en 2005, des relevés de température sont effectués toutes les heures grâce à trois capteurs météorologiques (HOBO Pro RH/ Temp, Onset Computer Corporation, Bourne, MA 02532, USA), identiques à ceux utilisés *in situ*. La pluviométrie journalière a également été enregistrée grâce à un dispositif mis en place par l'unité expérimentale de l'INRA de Toulence à 300 m de la parcelle.

Des graines ont été récoltées à l'automne 2004 pour le hêtre et 2005 pour le chêne dans toutes les populations étudiées *in situ*. Pour chaque espèce, nous avons sélectionné 7 à

10 arbres adultes de façon aléatoire au sein de la population et une centaine de graines ont été récoltées sur chacun des individus-mères sélectionnés. Les graines ont subi un prétraitement en chambre froide variable selon les besoins spécifiques de chaque espèce (antifongique et chambre froide pour le chêne). Ensuite, environ 60 graines de chaque arbre mère ont été semées en pépinière à l'INRA de Cestas Pierroton (Gironde) en prenant soin de garder l'identification de l'arbre mère pour chaque lot de graines semées.

En janvier 2006 pour le hêtre et février 2007 pour le chêne, les jeunes plants d'un an ont été transplantés dans le test de provenances de Toulence. Nous avons, dans la mesure du possible, transplanté au minimum 25 plants par population en choisissant les plants issus d'un maximum d'arbres mère disponibles. L'identification des plants sur la parcelle a été conservée jusqu'au niveau de l'arbre mère. Il faut noter que ce dispositif comprend six espèces arborées au total (Frêne, Chêne sessile, Hêtre, Erable sycomore, Houx et Sapin pectiné). La plantation a été divisée en trois blocs et la position (X, Y) de chaque plant a été déterminée par tirage aléatoire dans chaque bloc. La plantation a été effectuée sur plusieurs rangées de 200 m de longueur avec un espacement de 3 m entre les rangs et de 2 m dans le rang. Soit 16 rangées de 98 plants chacun, pour un total de 1550 plants, dont 425 de chênes et hêtres. Un paillage en fibres de bois de 45x45 cm a été disposé, en 2006, autour de chaque plant afin d'empêcher la compétition par les herbacées et de conserver l'humidité du sol. En 2007, un paillage perméable a été disposé sur chaque rangée toujours dans le but de limiter la compétition herbacée. Un enherbement a été effectué entre les rangées. Un grillage électrique a été mis en place au cours de l'année 2006 afin d'empêcher les attaques par les grands herbivores et un herbicide a été appliqué par pulvérisation au printemps 2006 et 2007 en bordure des plants.

Expérimentations de Transplantations Réciproques (RTE)

Pour quantifier la plasticité phénotypique d'un génotype, d'une population voire d'une espèce, il est nécessaire d'obtenir des normes de réaction via l'utilisation de tests de provenances répétés dans divers environnements. Nous avons donc utilisé une Expérimentation de Transplantations Réciproques (RTE, Reciprocal Transplant Experiment) qui consiste à transplanter chaque population à tester dans tous les environnements dont sont issues ces populations. Ces expérimentations constituent également un outil approprié pour tester l'adaptation locale d'une population, en comparant sa performance dans son environnement d'origine par rapport à la performance des populations issues

d'environnements différents. Elles permettent en outre de savoir si une population est actuellement à son optimum climatique (Rehfeldt et al. 2002).

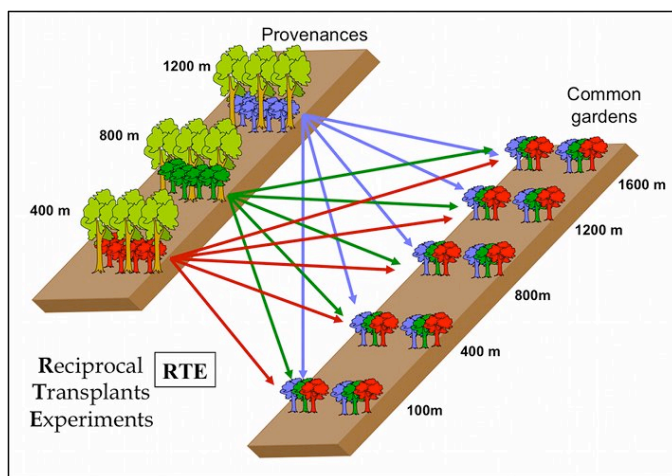


Figure 3-3 Représentation schématique du dispositif de transplantations réciproques.

En novembre 2006, nous avons transplanté de jeunes plants âgés de 2 à 3 ans issus de 3 provenances de hêtre et de chêne sessile de 3 altitudes différentes (400 m, 800 m and 1200 m \pm 50 m) dans 5 RTE implantés en milieu ouvert de 100 à 1600 m et distants de 400 m (Figure 3-3). Les coordonnées exactes (GPS) ainsi que l'exposition et les températures annuelles moyennes des sites de transplantation sont donnés dans le Tableau 3-4. Les trois provenances sont issues de climats contrastés avec une différence de température annuelle moyenne entre les provenances de 400 m et de 1200 m d'environ 3.9°C et 3.1°C pour le hêtre et le chêne, respectivement (Tableau 3-3).

Tableau 3-3. Localisation et climat des trois provenances de hêtre et chêne sélectionnées pour l'expérimentation RTE. T_a est la moyenne des températures annuelles calculées entre 2005 et 2007.

<i>Fagus sylvatica</i>					<i>Quercus petraea</i>				
Altitude (m)	Latitude	Longitude	Versant	T_a (°C)	Altitude (m)	Latitude	Longitude	Versant	T_a (°C)
488	N 43°05'	W 00°05'	nord	11.4	427	N 43°08'	W 00°00'	sud	12.3
773	N 42°55'	W 00°02'	nord	10.3	803	N 42°55'	W 00°02'	sud	11.0
1190	N 43°00'	W 00°12'	nord	7.5	1235	N 42°47'	E 00°02'	sud	9.2

Chaque RTE a été divisé en 4 blocs. Dans chaque bloc, 4 à 6 plants de chaque provenance ont été transplantés de façon systématique, espacés de 50 cm sur et entre les rangs (Figure 3-4). Le nombre total de plants par altitude (common garden) est donc de 96 à 144 plants (2 espèces * 3 provenances * 16 répliqués). Lors de la transplantation, les jeunes plants ont été arrosés et leurs racines ont été couvertes d'un gel nutritif et protectif afin de limiter le choc de transplantation. Par la suite, seule l'humidité de l'air et la pluie alimentaient les plants en eau. Chaque RTE a été traité avec un pesticide (deltaméthrin, Pyrethroid) et un insecticide

(5 % metaldehyde, Metarex, évite les dommages causés par les limaces) aux printemps 2007 et 2008. Une barrière a permis de s'affranchir des dégâts causés par les herbivores et rongeurs. Le taux de survie des jeunes plants est relativement homogène dans les 5 common gardens. Il y avait 81% et 62% de survie après deux saisons de croissance.

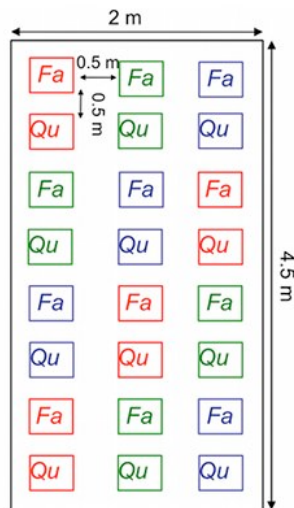


Figure 3-4: Disposition des plants à l'intérieur d'un bloc. Fa=*Fagus*, Qu=*Quercus* Les individus de couleur rouge correspondent à la provenance de 400m, en vert à 800 m et en bleu à 1200 m. il y a 4 répétitions de provenances par enclos et par espèces.

Des mesures de températures et d'humidité relative de l'air ont été effectuées à l'aide des mêmes capteurs météorologiques que ceux utilisés dans les deux expérimentations précédentes. Deux capteurs ont été implantés à 1,50 m au dessus du sol au sein des quatre blocs. Les données sont enregistrées avec un pas de temps horaire depuis le 1^{er} janvier 2007. Les 5 sites de transplantation situés à différentes altitudes ont permis d'obtenir un gradient thermique d'environ 6.5°C, avec une diminution de - 0.44°C/100 m. Les sites de plantation choisis ne présentaient pas de stress hydrique de l'air important durant les étés 2007 et 2008, à l'exception du site de Laveyron à 100 m d'altitude dont le VPD (déficit en vapeur d'eau de l'air) était sensiblement plus fort que dans tous les autres sites. Le rayonnement lumineux incident a été mesuré à 50 cm au dessus des plants avec des sondes de lumière (Sunscan Canopy Analysis System, Delta-T Devices, Cambridge, UK) et apparaît dans le Tableau 3-4 en pourcentage du rayonnement photosynthétique actif (% PAR mesuré en milieu ouvert proche du site de mesure). La pluviométrie annuelle est une estimation (régression linéaire avec l'altitude) obtenue à partir des données fournies par Météo France à différents sites.

Des mesures d'humidité du sol (teneur volumique en eau du sol sur 10 cm de profondeur) ont également été effectuées en juillet 2007 à l'aide d'une sonde de type FDR (Frequency Domain Reflectometry, sonde ThetaProbe ML2x, Delta T, Cambridge, UK) au sein des 20 blocs avec une moyenne de 10 répétitions par bloc. L'humidité du sol des sites de

transplantation est en moyenne relativement élevée et augmente avec l'altitude de $0.1 \text{ mm}^3 \text{ mm}^{-3}$ pour 1000 m.

Tableau 3-4 Description des sites de transplantation réciproques. La température correspond aux moyennes annuelles 2007-2008, VPD_{max} (déficit en vapeur d'eau de l'air, kPa) est une moyenne des 10 plus fort VPD du mois d'août.

Sites	100	400	800	1200	1600
	Laveyron	Lourdes	Sireix	Haugarou	Lienz
Altitude exacte(m)	131	488	833	1190	1533
Latitude	N 43°45'	N43°05'	N 42°58'	N 43°00'	N 42°53'
Longitude	W 00°13'	W 00°05'	W 00°08'	W 00°12'	E 00°04'
Exposition	Flat	North	North	Est-North	North-Est
Lumière (%PAR)	-	43.9	43.9	86.0	52.3
Pluviométrie (mm/an)	866.3	1019.7	1168.0	1321.4	1468.8
Climat					
Température (°C)	12.6	11	9.5	7.5	6.0
VPD_{max} en 2007 (kPa)	4.44	2.07	2.26	3.69	2.73
VPD_{max} en 2008 (kPa)	5.59	1.22	1.36	2.75	2.21
Humidité ($\text{mm}^3 \cdot \text{mm}^{-3}$)	0.30	0.32	0.25	0.40	0.51
Sol					
Densité ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$)	1.37	1.13	0.91	0.73	0.72
N (%)	0.14	0.29	0.55	0.48	0.78
C (%)	2.57	3.40	8.86	5.75	7.65
C/N ratio	17.9	11.6	16.2	11.9	9.76

3.4. Mesures de traits fonctionnels et de croissance

Nous allons ici décrire les différents traits fonctionnels mesurés au cours de ces recherches. Vous trouverez à la fin de ce manuscrit un glossaire récapitulant les différents symboles et abréviations utilisés.

CROISSANCE ET PHENOLOGIE

Date de débourrement des bourgeons (LU)

Dans le test de provenances de l'INRA de Toulence, le suivi des dates de débourrement des bourgeons a été réalisé avec un rythme hebdomadaire, du mois de Mars au milieu du mois de Mai en 2006, 2007 et 2008. Dans l'expérimentation de transplantations réciproques (RTE), le suivi des dates de débourrement des bourgeons a été réalisé avec une fréquence d'intervalle de 10 jours minimum, du mois de Mars au mois de Juin en 2007 et 2008. Les observations phénologiques ont été effectuées visuellement par deux observateurs seulement. Sur ces plants de petites tailles, on estime le stade de développement du bourgeon apical, rendant ainsi compte du comportement phénologique de l'individu entier. On considère le critère de débourrement atteint lorsque le bourgeon apical est au stade où au moins une feuille est sortie et individualisée (Figure 3-5).






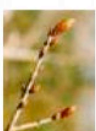



Stade de développement du bourgeon	0	1	2	3	4
<i>Fagus sylvatica</i>	 Dormant	 Gonflement	 Éclosion des 1 ^{ères} feuilles	 Au moins 1 feuille déployée	
<i>Quercus petraea</i>	 Dormant	 Gonflement	 Expansion	 Éclosion des 1 ^{ères} feuilles	 Au moins 1 feuille déployée

Figure 3-5 Illustration des différents stades de développements des bourgeons utilisés pour les notations phénologiques. En rouge, le stade retenu comme critère de débourrement.

Date de sénescence foliaire (LS)

Le suivi des dates de sénescence des feuilles à l'automne a été réalisé dans le test de provenances de Toulence, avec un rythme hebdomadaire, du mois de Septembre à la fin du mois de Décembre en 2006, 2007 et 2008 ; et dans les RTEs, avec un pas de temps de 10 jours maximum, du mois de Septembre au début du mois de Décembre en 2007 et 2008.

A chaque campagne, le pourcentage de feuilles manquantes et le pourcentage de feuilles colorées (*i.e.* non vertes) par rapport à la totalité de feuilles restantes ont été notés visuellement. La date de sénescence est considérée atteinte pour un arbre lorsque 50% de ses feuilles ne sont plus fonctionnelles, *i.e.* soit colorées, soit tombées, comme indiqué dans l'équation suivante :

$$x_t = \frac{\alpha_t \times (100 - \beta_t)}{100} + \beta_t$$
 avec x_t le pourcentage de feuilles non fonctionnelles dans l'arbre sélectionné à la date t , α_t le pourcentage de feuilles colorées à la date t sur le nombre de feuilles restantes sur le houppier et β_t le pourcentage de feuilles manquantes à la date t .

Enfin, pour chaque plant une régression linéaire entre les dates de deux campagnes d'observations consécutives et le trait phénologique mesuré nous donne une estimation de la date exacte de débourrement (LU : leaf unfolding) et de sénescence (LS : leaf senescence). Le suivi phénologique a été effectué sur 5 à 39 et 4 à 15 individus par populations (selon l'espèce et la population) dans le test de provenance de Toulence et les RTEs, respectivement.

Mesures de survie et de croissance

Des relevés de survie ont été effectués dans le test de provenances de Toulence ainsi que dans les RTEs à intervalle régulier depuis la plantation avec 2 passages par an. Afin de caractériser la croissance des jeunes plants dans les deux expérimentations, nous avons mesuré 5 à 39 individus par populations dans le test de provenance et 5 à 22 dans les RTEs. Des mesures de diamètre et de hauteur ont été effectuées en janvier-février 2006, 2007, 2008 et 2009 dans le test de provenances de Toulence et en mars 2007 et 2008 dans les RTEs. Le diamètre a été mesuré à l'aide d'un pied à coulisse au dixième de millimètre et la hauteur avec un régle gradué au millimètre.

TRAITS MORPHOLOGIQUES

La surface moyenne des feuilles (L_s , mm^2) a été déterminée grâce à un planimètre (Light Box model, Gatehouse, Scientific Instruments LTD, Norfolk, UK) sur 2 à 3 feuilles fraîches par plant. Le poids sec a été mesuré après séchage à l'étuve des feuilles pendant 48h à 55°C . En divisant ce poids sec par la surface de feuille, on obtient la masse surfacique (LMA, Kg m^{-2}).

La densité stomatique a été mesurée sur 2 feuilles par plant. Pour cela, la face inférieure de deux feuilles par individu a été recouverte de vernis à ongles, créant ainsi une empreinte des nervures et stomates présents sur la feuille. Grâce à une bande de ruban adhésif (type scotch), l'empreinte ainsi créée est déposée sur une lame de microscope. Le comptage des stomates est ensuite effectué à faible grossissement ($\times 100$) sur 3 zones de 0.23 mm^2 par feuille à l'aide d'un microscope (Leica DM2500, Microsystems, Houston, Texas). Tous les comptages ont été effectués dans la partie centrale de la feuille, en évitant ainsi les variations qui peuvent exister à la base et au sommet de la feuille. Les données obtenues ont ensuite été standardisées par unité de surface pour donner un nombre de stomates par unité de surface (SD, St mm^{-2}).

Les feuilles utilisées pour le LMA ont ensuite été broyées (Broyeur MM 301, Retsch, Haan, Germany) et analysées afin d'obtenir le taux d'azote foliaire par unité de surface (N_a , g m^{-2}). Nous avons utilisé un analyseur colorimétrique (Technicon II, HI System, Tarrytown, NY) avec minéralisation à l'acide sulfurique préalable et un analyseur élémentaire (Na1500 type 2, Carlo Erba, Milan, Italy), pour les populations naturelles et les différents tests de provenance, respectivement.

Le Tableau 3-5 résume les différents caractères mesurés par expérimentation et le nombre d'individus pris en compte pour les analyses.

	Nombre d'individu par population
In situ	
L_s , LMA, SD, N_a	9-21
A_{max} , g_{smax}	7-27
Test de provenance	
L_s , LMA, SD, N_a	5-14
A_{max} , g_{smax}	5-13
Survie, croissance	5-39
LU, LS	5-39
RTE	
L_s , LMA, N_a , $\delta^{13}\text{C}$, CCI	6-21
croissance	5-22
LU, LS	4-15

Tableau 3-5. Tableau récapitulatif du nombre d'individu analysé par population dans une expérimentation donnée.

TRAITS PHYSIOLOGIQUES

Teneur en chlorophylle

Un index de chlorophylle a été déterminé grâce à un « Chlorophyll Mètre » (CCM-200, OptiSciences, Tyngsboro, Massachusetts, USA). Trois mesures consécutives ont été effectuées sur chacune des deux feuilles échantillonnées par individu.

Le « Chlorophyll Mètre » utilise deux longueurs d'ondes (653 et 931 nm) pour mesurer les chlorophylles et fournit un indice de teneur en chlorophylle sans unité : le « Chlorophyll content index » (CCI). La précision de l'appareil est de ± 1 CCI.

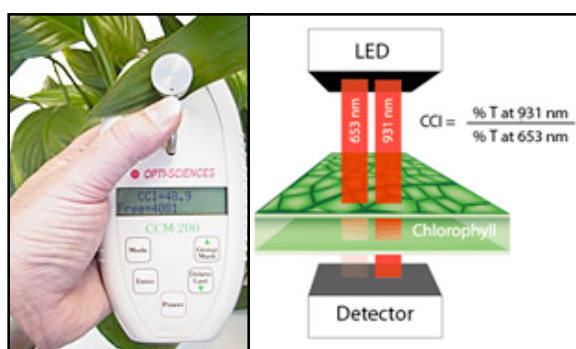


Figure 3-6 Illustration du « chlorophyll meter » (gauche) et principe simplifié de son fonctionnement (droite).

La lumière émise à une longueur d'onde de 653 nm est absorbée par la chlorophylle alors que celle émise à 931 nm (infra-rouge) est essentiellement transmise (une partie est néanmoins absorbée par les parois des cellules et l'eau de la feuille). Ainsi, le rapport entre ces deux longueurs d'onde permet d'estimer la teneur en chlorophylle de l'organe (Dwyer et al. 1995) de manière rapide et non destructive. Ces mesures ont été réalisées dans les RTEs sur 6 à 21 individus par populations.

Capacités photosynthétiques

L'assimilation photosynthétique ainsi que la conductance stomatique maximale ont été mesurées grâce à un analyseur de gaz à infrarouge (IRGA, Ciras-2 PP Systems, Hitchin, UK) (Figure 3-8). La feuille est placée dans une chambre de mesure (Figure 3-7) dans laquelle la température, l'humidité, le CO₂ et la lumière sont contrôlés de façon précise.

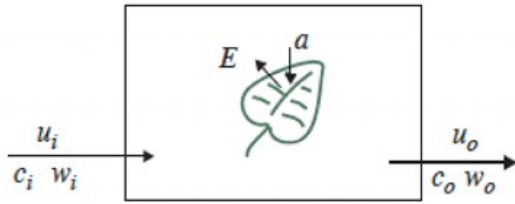


Figure 3-7 Principe simplifié du fonctionnement d'un analyseur de gaz à infra-rouge (IRGA). E et a représente la transpiration et l'assimilation photosynthétique de la feuille, respectivement. u correspond au flux molaire, c la fraction molaire de CO_2 et w celle de la vapeur d'eau. Les indices i et o renvoient aux paramètres avant et après la cuvette de mesure, respectivement.

L'analyseur mesure la différence de concentration en CO_2 et en H_2O entre l'entrée et la sortie de la chambre de mesure (cuvette), et en déduit l'assimilation (A) et la conductance stomatique (g_s) comme suit:

$$A = \frac{u_i}{SF} \times \frac{(1 - w_i)}{(1 - w_{ice})} \times (c_o - c_i) \qquad E = \frac{u_i}{SF} \times (w_o - w_i)$$

$$g_s = E \times \frac{1 - \frac{(w_{int} + w_o)}{2}}{w_{int} - w_o}$$

avec SF la surface foliaire dans la cuvette de mesure, w_{int} la fraction molaire de vapeur d'eau à l'intérieur de la feuille et w_{ice} la fraction molaire d'eau à la température du point de rosée.



Figure 3-8 Illustration d'analyseur de gaz à infra-rouge (IRGA). De gauche à droite: une chambre de mesure (cuvette PLC6) Ciras-2, un ciras-2 et un Licor-6400.

En fixant les paramètres de la chambre de mesure à des valeurs optimales (lumière saturante, CO_2 non limitant, humidité et température optimales), on peut mesurer l'assimilation et la conductance stomatique maximales de la feuille (A_{max} et g_{smax}). Nous avons fixé la lumière à $1500 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la pression partielle de CO_2 à $37.5 \pm 0.3 \text{ Pa}$, la température à $25 \text{ }^\circ\text{C} \pm 0.3$ et l'humidité relative à $70\% \pm 20\%$. Dans un premier temps, les mesures dans les populations naturelles ont été effectuées à différentes pressions partielles de CO_2 (P_{CO_2}). En

effet, travaillant le long d'un gradient d'altitude, nous devons prendre en compte la diminution de pression atmosphérique. Grâce aux équations ci-dessous, nous avons déterminé pour chaque altitude la concentration en CO₂ à fixer dans la chambre de mesure pour obtenir soit une P_{CO2} constante le long du gradient, soit une P_{CO2} ambiante (*i.e.* diminuant avec l'altitude).

$$P_{atm} = \frac{101325}{e^{\left(\frac{z}{29,3 \times T_{as}}\right)}} \quad \text{et} \quad P_i = x_i \times P_{atm} \times 10^6$$

où P_{atm} est la pression atmosphérique (Pa), P_i la pression partielle du gaz i (Pa), x_i la fraction molaire du gaz i (ppm), z , l'altitude (m) au-dessus du niveau de la mer et T_{as} la température moyenne estivale (K).

Nous avons mesuré A_{max} et g_{smax} sur 7 à 27 et 5 à 13 individus par populations dans les populations naturelles et dans le test de provenance de Toulence, respectivement.

Discrimination isotopique du carbone

Le ¹³C est un isotope stable du carbone, il constitue près de 1% du CO₂ atmosphérique. Chez les plantes, la proportion du ¹³C est plus petite que celle de l'air atmosphérique. En effet, la plante va utiliser préférentiellement le ¹²C, plus léger et donc plus rapide lors du transport (diffusion vers les espaces intercellulaires) et de la métabolisation (carboxylation par la RubisCO lors de la photosynthèse) du CO₂. Ainsi, cette discrimination plus ou moins importante nous renseigne sur l'activité stomatique et photosynthétique d'une plante de façon intégrative dans le temps. En effet, un individu qui, de façon répétée ou durant une période (sécheresse par exemple) ferme ses stomates, utilise tout le CO₂ enfermé dans la chambre sous stomatique sans distinction d'isotope. Le taux de ¹³C assimilé sera ainsi supérieur pour une plante ayant subi un stress.

Nous avons mesuré la composition isotopique ($\delta^{13}C$, ‰) des feuilles de chênes et de hêtres dans les Expérimentations de Transplantations Réciproques (RTEs) sur 2 à 3 feuilles par plant:

$$\delta^{13}C = \frac{(R_{éch} - R_{std})}{R_{std}} \times 1000 \quad \text{où } R_{éch} \text{ et } R_{std} \text{ sont les rapports isotopiques de l'échantillon et d'un}$$

standard PDB (Pee Dee Belemnite)², respectivement. Le rapport isotopique $R = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}}$ correspond au rapport de l'isotope « lourd » sur l'isotope « léger ». Les mesures ont été effectuées par l'INRA de Champenoux (Nancy) à l'aide d'un spectromètre de masse de rapport isotopique (SMRI, delta-S, Thermo-Finnigan, Bremen, Germany) couplé à un analyseur élémentaire (Na1500 type 2, Carlo Erba, Milan, Italy). La précision est de 0.1 ‰. Le nombre d'échantillons foliaires analysés est de 6 à 21 individus par population.

² Le PDB est la référence standard de rapports isotopiques du carbone et de l'oxygène et provient de la coquille de *Belemnitella americana* du site fossilifère de Pee Dee en Caroline du Sud (USA).

Chapitre 2

Evidence of altitudinal increase in photosynthetic capacity:
gas exchange measurements at ambient and constant CO₂ partial pressures

Caroline C. Bresson, Andrew S. Kowalski, Antoine Kremer, Sylvain Delzon

Ann. For. Sci. 66 (2009) 505



Evidence of altitudinal increase in photosynthetic capacity: gas exchange measurements at ambient and constant CO₂ partial pressures

Caroline C. BRESSON¹, Andrew S. KOWALSKI^{2,3}, Antoine KREMER¹, Sylvain DELZON^{1*}

¹ UMR BIOGECO, Université Bordeaux 1 – INRA, 33405 Talence, France

² Departamento de Física Aplicada, Universidad de Granada, 18071 Granada, Spain

³ Centro Andaluz del Medio Ambiente (CEAMA), 18006 Granada, Spain

(Received 10 September 2008; accepted 9 February 2009)

Keywords:

adaptation /
altitudinal gradient /
acclimation /
partial pressure /
photosynthetic capacity

Mots-clés :

adaptation /
acclimatation /
gradient altitudinal /
pression partielle /
capacité photosynthétique

Abstract

- Because all microclimatic variables change with elevation, it is difficult to compare plant performance and especially photosynthetic capacity at different elevations. Indeed, most previous studies investigated photosynthetic capacity of low- and high-elevation plants using constant temperature, humidity and light but varying CO₂ partial pressures (P_{CO_2}).
- Using gas exchange measurements, we compared here maximum assimilation rates (A_{max}) at ambient and constant-low-elevation P_{CO_2} for two temperate tree species along an altitudinal gradient (100 to 1600 m) in the Pyrénées mountains.
- Significant differences in A_{max} were observed between the CO₂ partial pressure treatments for elevations above 600 m, the between-treatment differences increasing with elevation up to 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. We found an increase in A_{max} with increasing elevation at constant-low-elevation P_{CO_2} but not at ambient P_{CO_2} for both species. Given a 10% change in P_{CO_2} , a proportionally higher shift in maximum assimilation rate was found for both species.
- Our results showed that high elevation populations had higher photosynthetic capacity and therefore demonstrated that trees coped with extreme environmental conditions by a combination of adaptation (genetic evolution) and of acclimation. Our study also highlighted the importance of using constant CO₂ partial pressure to assess plant adaptation at different elevations.

Résumé – Augmentation de la capacité photosynthétique avec l'altitude : mesures d'échanges gazeux à pressions partielles de CO₂ ambiante et constante.

- Les conditions microclimatiques étant très variables avec l'altitude, il est difficile de comparer les performances d'une espèce végétale à différentes altitudes, particulièrement la capacité photosynthétique. En effet, la plupart des études antérieures ont estimé le taux maximal d'assimilation à basses et hautes altitudes en maintenant la température, l'humidité de l'air et la lumière constantes mais en laissant varier la pression partielle de CO₂ (P_{CO_2}).
- Afin de comparer le taux maximum d'assimilation (A_{max}) à pressions partielles de CO₂ constantes de basse altitude et variables, nous avons effectué des mesures d'échanges gazeux sur deux espèces d'arbres tempérés le long d'un gradient altitudinal de 1600 m de dénivelé dans les Pyrénées françaises.
- La différence entre les deux traitements de P_{CO_2} est significative au-dessus de 600 m d'altitude et atteint un maximum de 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Pour les deux espèces, nous avons mis en évidence une augmentation de A_{max} avec l'altitude à P_{CO_2} constantes mais pas à P_{CO_2} ambiantes. Pour une modification de P_{CO_2} de 10 %, le changement du taux maximum d'assimilation est proportionnellement supérieur chez les deux espèces.
- Nos résultats montrent que les populations de hautes altitudes possèdent une capacité photosynthétique supérieure, démontrant que les arbres font face aux conditions environnementales extrêmes grâce à des adaptations génétiques ou des acclimations. Notre étude souligne ainsi l'importance de fixer la P_{CO_2} pour comparer l'adaptation des plantes à différentes altitudes.

* Corresponding author: sylvain.delzon@u-bordeaux1.fr

1. INTRODUCTION

Trees are commonly well adapted to local conditions, having evolved ecophysiological characteristics (Chabot and Hicks, 1982; Kikuzawa, 1989; Reich et al., 1992), especially in mountain areas where selection pressure is very important. The main geophysical drivers along altitudinal gradients from an ecological point of view are temperature, air pressure, precipitation and radiation (Körner, 2008). Indeed, morphological, phenological and physiological changes allow trees to maintain a relatively high level of growth-related activity despite increasingly constraining environmental conditions towards high elevation (Cordell et al., 1999). The main physiological traits that control the carbon uptake and water loss in plants and generally vary according to elevation are photosynthesis and stomatal conductance.

To our knowledge, about twenty studies have dealt with photosynthetic capacity along altitudinal gradients (Körner, 2003). However, variations in plant performance with altitude are difficult to predict, partly because of the complexity of the geophysical effects of altitude and partly because of biological responses to these changes. Indeed, maximum rates of CO_2 assimilation in plants from different elevations, measured at ambient CO_2 partial pressure, have been found to be equal (Benecke et al., 1981; Cordell et al., 1999; Körner and Diemer, 1987), lower (Kao and Chang, 2001; Slatyer and Morrow, 1977; Zhang et al., 2005), or higher at high elevation (Premoli and Brewer, 2007).

When comparing along an altitudinal gradient, the distinction between pressure and concentration of gases becomes crucial. Unfortunately, many studies have used CO_2 molar fractions instead of CO_2 partial pressure to express CO_2 availability, neglecting the fact that partial pressure decreases dramatically with elevation while molar fraction remains stable. As is the case for respiration in animals (Zhang et al., 2007), reduced partial pressure has a significant impact on gas exchange by plants; CO_2 assimilation closely depends on CO_2 partial pressure (P_{CO_2}) and not CO_2 molar fraction (Farquhar et al., 1980). The decline in P_{CO_2} with elevation has led various authors to contend that the lack of CO_2 may be an important factor in the reduction of photosynthesis at high elevations (Decker, 1947; Tranquillini, 1964). However, more recent modelling studies suggested that air pressure effects on photosynthesis are smaller than predicted based on the decline in ambient P_{CO_2} alone (Gale, 1972; Terashima et al., 1995). They concluded (i) that low pressure has only a small effect on the availability of CO_2 for plants photosynthesis, and (ii) that when suppression of photosynthesis in alpine plants occurs it can mostly be attributed to limited CO_2 diffusion or low temperatures rather than to lowered P_{CO_2} itself.

In order to compare photosynthetic capacity of populations at various elevations, all microclimatic determinants must be kept constant (temperature, humidity, light and CO_2 partial pressure). While many experiments have been carried out at constant temperature and saturating light, few studies have yet compared photosynthetic capacity of low- and high-elevation plants at uniform CO_2 partial pressure. Rather, for gas exchange measurements, researchers tended to impose a constant

molar fraction of CO_2 in the cuvette (Rada et al., 1998; Zhang et al., 2005), and therefore compared CO_2 assimilation at different CO_2 partial pressures. For example, if the molar fraction of CO_2 in air is 375 ppm (equal to $375 \mu\text{mol mol}^{-1}$) and the temperature 20°C , then the partial pressure (P_{CO_2}) is 38 Pa ($380 \mu\text{bar}$) at sea level, but only 32 Pa at 600 m and 27 Pa at 3000 m of elevation. Consequently, these studies have measured photosynthetic capacity under local conditions but did not compare populations in the same air pressure conditions across different elevations. Although such results are useful for studying leaf performance in ambient conditions (instantaneous assimilation) and for quantifying the carbon balance, they do not allow assessment of plant adaptation or acclimation (photosynthetic capacity).

In the present study, we focus on the importance of CO_2 partial pressure when studying plant adaptation/acclimation at different elevations. We compare maximum assimilation rates of two temperate tree species growing naturally along an altitudinal gradient (100 to 1600 m) in the Pyrénées Mountains. Gas exchange measurements were performed at each elevation and at two different CO_2 partial pressure treatments: (i) at ambient CO_2 partial pressure ($P_{\text{CO}_2\text{-A}}$), as is generally employed and (ii) at constant-low-elevation P_{CO_2} ($P_{\text{CO}_2\text{-C}}$). Therefore, we were able to quantify the effect of decreasing CO_2 partial pressure on photosynthetic capacity (A_{max}) for two common European tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.). Three main questions are addressed here: (i) how does maximum assimilation rate vary with increasing elevation? (ii) do maximum assimilation rate and partial pressure vary to the same extent with increasing elevation? and (iii) do measurements made at ambient and constant P_{CO_2} lead to similar results when examining plant adaptation or acclimation?

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Altitudinal gradient and microclimate

The altitudinal study was conducted in the Gavarnie's valley on the west side of the Pyrénées Mountains in France (from $42^\circ 53' \text{N}$, $0^\circ 25' \text{W}$ to $43^\circ 45' \text{N}$, $0^\circ 14' \text{W}$). This region is characterized by an oceanic mountain climate, with a mean annual temperature of 12°C and precipitation of 1079 mm (1946–2001) at low elevation (Tarbes, $43^\circ 11' \text{N}$ $0^\circ 00' \text{W}$, 360 m ASL, Météo France). We selected two common European tree species (*Fagus sylvatica* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) along a 1500 m altitudinal gradient. For each species, natural established populations were sampled at six elevations: 100 m, 400 m, 600 m, 800 m, 1200 m and 1600 m ASL (± 50 m).

For each population, we used a GPS receiver (GPS Pathfinder ProXR, Trimble Navigation, Sunnyvale, USA) to determine the exact elevation of each site (Tab. I). Air temperature was measured using data loggers (HOBO Pro RH/Temp, Onset Computer Corporation, Bourne, USA) located in each population along the altitudinal gradients. Sensors were mounted 1.5 m above the ground on poles located in clearings near the studied populations, and protected by white plastic shelters to prevent exposure to rain and direct sunlight. All sensors were inter-calibrated in the laboratory before installation. Data

Table I. Altitudinal variations in summer air temperature (T_{as}), air pressure (P_{atm}), ambient CO₂ partial pressure (P_{CO_2-A} at 375 ppm of molar fraction), and molar fraction (x_{CO_2-C}) imposed to obtain P_{CO_2-C} for each species.

	Elevation (m)	T_{as} (°C)	P_{atm} (hPa)	P_{CO_2-A} (Pa)	x_{CO_2-C} (ppm)
Beech-sites	131	19.6	997.9	37.4	376
	495	17.7	956.0	35.9	392
	773	16.9	925.1	34.7	405
	1190	13.1	879.1	33.0	427
	1604	13.4	836.9	31.4	448
Oak-sites	131	19.6	997.9	37.4	376
	425	18.9	964.1	36.2	386
	627	18.0	941.4	35.3	389
	803	17.5	922.0	34.6	398
	1235	16.4	875.9	32.8	407
	1608	14.0	836.9	31.4	428

were recorded hourly from January 1st 2006 to December 31st 2007 and mean summer air temperatures (T_{as}) were calculated as the mean daily temperature between May 1st and August 31st 2006 (Tab. I). The altitudinal gradient used here provided mean annual temperature ranges of 6.5 and 5.6 °C for beech and oak, respectively (Tab. I). The average rate of decrease in temperature with increasing elevation (lapse rate) was 0.42 °C per 100 m (Vitasse et al. 2008). Analysis of monthly precipitation data in 2005–2007 indicated no water stress along the altitudinal gradient. Indeed, average values (2005–2007) ranged from 957 to 1376 mm of water per year between low and high elevations. Variations in air pressure (P_{atm} in Pa) according to elevation were estimated according to Jones (1983):

$$P_{atm} = \frac{101325}{e^{\left(\frac{z}{29.3 \times T_{as}}\right)}} \quad (1)$$

where z is elevation above sea level (m) and T_{as} is summer air temperature (K). Values of P_{atm} decreased with increasing elevation by about 10.9 hPa 100 m⁻¹, ranging from 997.9 to 836.9 hPa (16.1% lower at the highest elevation sites; Tab. I). These values were used to calculate the CO₂ partial pressure based on the molar fraction reported in situ by the gas analyser. According to the ideal gas law, the fractional abundance of gas expressed in dimensionless percentage or ppm reflects equivalently a molar fraction ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), a volumetric fraction ($\mu\text{L L}^{-1}$) or a fractional pressure ($\mu\text{bar bar}^{-1}$). Such a measure of CO₂ has no physical dependence on elevation, and infrared gas analyzers (IRGAs) generally allow researchers to fix this value within cuvettes. By contrast, partial gas pressure depends directly on other state variables (temperature and density), with strong altitudinal variation in the atmosphere.

2.2. Gas exchange measurements

Measurements were carried out using a portable steady-state, flow-through chamber (PLC6) connected to an IRGA (CIRAS-2, PP Systems, Hitchin, UK) equipped with temperature, humidity, light and CO₂ control modules. The IRGA measures CO₂ density (ρ_{CO_2}) as a function of infrared absorption via the Beer-Bouguer-Lambert law, in an optical chamber where data on temperature and pressure allow calculation of the molar fraction (X_{CO_2}). Since X_{CO_2} is unaffected during the passage from the cuvette to the optical chamber

(i.e., is conserved when humidity is maintained constant as in the cuvette; Kowalski and Serrano-Ortiz, 2007), the system effectively determines the cuvette's X_{CO_2} , whose changes are due exclusively to leaf CO₂ exchange. In addition, this analyser (CIRAS-2 PP System) automatically corrects measurements for water vapour and changes in air pressure. Before measurement campaigns, the analyser was calibrated in the laboratory using 400 ppm standard gas. Full CO₂ and H₂O zero and differential calibration have been performed in the field at every setting change, or after a set of four measurements.

We sampled adult individuals of comparable height on a North-facing slope for beech and South-facing slope for sessile oak. Five to nineteen mature individuals were randomly selected per population to monitor leaf gas exchange. Measurements were always done in the field between 8:00 and 11:00 solar time on fully expanded leaves during two consecutive weeks in August 2007. Measurements were carried out on two leaves per tree immediately after cutting the branch using a pole tree pruner between 5 and 7 m height in the crown. As defined by Larcher (1969), maximum assimilation rate and stomatal conductance (A_{max} and g_{smax} , respectively) were measured under optimum temperature and relative humidity, saturated light and non-saturated CO₂ partial pressure. To compare maximum rates of assimilation at light saturation (A_{max}) between populations, all gas exchange measurements were made at equal temperature (20.0 °C ± 1.5), VPD (1200 Pa ± 250) and saturating light (1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ of light in the leaf chamber, determined by a light response curve made on five individual per species). At each elevation, measurements were performed at two CO₂ partial pressures (treatments A and C), by imposing different CO₂ molar fractions in the chamber: (A) measurements at ambient CO₂ partial pressure (P_{CO_2-A} ; Tab. I) were done using a constant CO₂ molar fraction ($x_{CO_2} = 375$ ppm) in the leaf chamber along the gradient; (C) measurements at constant-low-elevation CO₂ partial pressure ($P_{CO_2-C} = 37.5$ Pa) along the altitudinal gradient were done by adjusting CO₂ molar fractions (x_{CO_2-C} ; Tab. I) at each elevation. We calculated CO₂ partial pressure as: $P_i = X_i \times P_{atm} \times 10^6$ where P_i is the partial pressure of gas i , X_i the molar fraction (in ppm) and P_{atm} the air pressure. Maximum assimilation rates were performed for both treatments (ambient and constant-low-elevation P_{CO_2}) on the same leaf and data were recorded when steady state of assimilation was reached (within ten minutes). For each tree, measurements were randomly conducted between treatments. In the laboratory, leaf samples were dried at 70 °C, mineralised with hot sulphuric acid and assayed

Table II. Comparison of mean values of maximum assimilation rate (A_{max}) and maximum stomatal conductance (g_{smax}) between CO₂ partial pressure treatments for each elevation and species. Na is the leaf nitrogen content. Values in parenthesis correspond to the standard error and n is the number of replicates per population. Differences between treatments were performed using a paired t -test: ns, non-significant differences between P_{CO_2} treatments.

Species	Elevation (m)	n	A_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			g_{smax} ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			Na (mg m^{-2})
			At ambient		ns	At constant		ns	
			P_{CO_2}	P_{CO_2}		P_{CO_2}	P_{CO_2}		
Beech	131	9	8.9 (0.72)	8.8 (0.74)	ns	131.6 (9.9)	133.0 (12.6)	ns	1.22 (0.1)
	495	11	8.4 (0.24)	8.8 (0.44)	ns	116.4 (6.7)	115.0 (9.4)	ns	1.01 (0.07)
	773	16	8.7 (0.75)	9.9 (0.77)	*	130.7 (14.4)	128.5 (15.6)	ns	1.41 (0.13)
	1190	10	8.8 (0.66)	11.3 (0.64)	**	149.3 (17.4)	153.0 (16.7)	ns	1.62 (0.11)
	1604	15	9.5 (0.42)	12.7 (0.50)	***	183.7 (11.1)	177.7 (8.0)	ns	2.26 (0.14)
Oak	131	19	10.0 (0.80)	9.9 (0.81)	ns	148.2 (15.2)	151.5 (14.7)	ns	1.55 (0.07)
	425	12	11.7 (0.66)	11.9 (0.74)	ns	173.3 (13.3)	177.8 (15.3)	ns	1.87 (0.07)
	627	11	9.6 (0.85)	10.5 (0.87)	**	152.7 (19.8)	141.3 (15.1)	ns	–
	803	12	12.2 (0.69)	13.7 (0.74)	*	91.1 (13.9)	87.8 (13.0)	ns	1.82 (0.13)
	1235	5	9.1 (1.30)	12.8 (0.88)	*	153.2 (32.2)	203.8 (21.1)	ns	1.85 (0.12)
	1608	10	11.9 (0.74)	14.2 (0.84)	***	366.4 (17.0)	331.5 (17.1)	*	2.41 (0.07)

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

colorimetrically for concentrations of nitrogen and phosphorus using the Technicon auto-analyser.

2.3. Data analysis

In order to compare the two treatments (ambient and constant-low-elevation P_{CO_2}), the relative differences in A_{max} (D_{Amax} , %) and P_{CO_2} (D_{PCO_2} , %) were calculated as follows:

$$D_{Amax} = \left| \frac{A_{max-C} - A_{max-A}}{A_{max-C}} \right| \times 100 \quad (2)$$

$$D_{PCO_2} = \left| \frac{P_{CO_2-C} - P_{CO_2-A}}{P_{CO_2-C}} \right| \times 100 \quad (3)$$

where A_{max-C} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) is the maximal rate of assimilation measured at constant-low-elevation P_{CO_2} , A_{max-A} is the maximal rate of assimilation measured at ambient P_{CO_2} , P_{CO_2-C} is the constant-low-elevation partial pressure of CO₂ (37.5 Pa) and P_{CO_2-A} (Pa) is the ambient partial pressure of CO₂ along the elevational gradient.

Within each population (at each elevation), we used a paired t -test to characterize the effects of P_{CO_2} treatments on ecophysiological variables (A_{max} and g_{smax}). Then, to determine whether variations in photosynthetic capacity, stomatal conductance and foliar nitrogen content were related to elevation, the data were analysed by linear regression (for each P_{CO_2} treatment and species). In addition, to compare A_{max} and g_{smax} between elevations, analysis of variances (ANOVA) with the Tukey test at $P < 0.05$ was used for each species. All analyses were performed using the SAS software package (SAS 9.1, SAS Institute Inc., Cary, NC).

3. RESULTS

Overall, values of A_{max} ranged from 8.8 to 12.7 and from 9.1 to 14.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for beech and oak, respectively

(Tab. II). Oak exhibited higher values of A_{max} than beech independent of elevation; mean values for the whole experiment were about 11.5 and 9.6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for oak and beech, respectively. Values of maximum stomatal conductance (g_{smax}) were less variable for beech (115 to 184 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) than for oak (88 to 366 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Tab. II).

At ambient CO₂ partial pressure, A_{max} values did not vary with elevation for either species (Tab. III), whereas A_{max} values measured at constant-low-elevation P_{CO_2} significantly increased with increasing elevation for both species. Indeed, for both species, A_{max} values at the highest elevation were about 4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ higher than those at the lowest elevation (Tab. II). The increase in A_{max} with elevation was gradual for beech and more variable for oak (values at 1200 m were lower than those at 800 m). Whatever the treatment, we observed a slight but non-significant increase in g_{smax} for beech whereas no altitudinal trend was found for oak (Tab. III). However, values of g_{smax} were significantly higher at high elevation sites (1600 m) compared to lower elevations (ANOVA, $P < 0.0001$) for both species. Leaf nitrogen content significantly increased with increasing elevation for beech but this trend was not significant for oak, despite the higher values observed at high elevations (Tabs. II and III).

We found no difference in A_{max} values between P_{CO_2} treatments at low elevation whereas significant differences were observed at high elevations (paired t -test, Tab. II). Values of ΔA_{max} were significantly different of 0 only above 600 m and 800 m for oak and beech, respectively. These differences became more marked with increasing elevation (Fig. 1), reaching high values at the highest elevation, about 2.3 and 3.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ for oak and beech, respectively. Table II shows that there was no difference between g_{smax} values measured at ambient versus constant P_{CO_2} for either species, except for the oak population at 1600 m where g_{smax} values at ambient P_{CO_2} were higher than those at constant-low-elevation

Table III. Statistical coefficients of linear regression for A_{max} , g_{smax} and Na versus elevation for each partial pressure treatments and for both species.

Species		A_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		g_{smax} ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		Na (mg m^{-2})
		At ambient	At constant	At ambient	At constant	
		P_{CO_2}	P_{CO_2}	P_{CO_2}	P_{CO_2}	
Beech	R^2	0.5114	0.9493	0.7434	0.7273	0.8230
	P -values	0.1745	0.0049 **	0.0601	0.0663	0.0335 *
Oak	R^2	0.0403	0.6863	0.4241	0.4982	0.7326
	P -values	0.7028	0.0416 *	0.1612	0.1171	0.0642

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

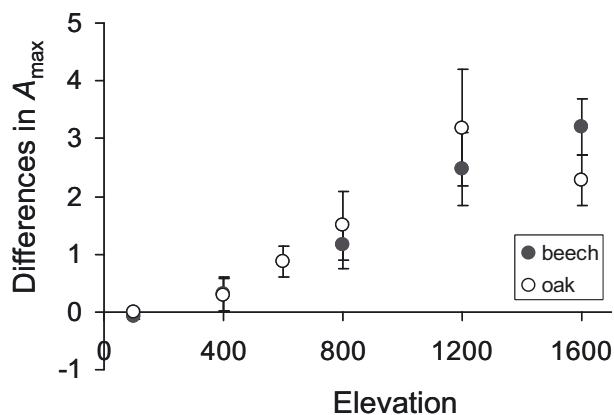


Figure 1. Differences in maximum assimilation rates (ΔA_{max} $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) between CO_2 partial pressure treatments ($\Delta A_{max} = A_{max-C} - A_{max-A}$) in relation to elevation (m) for both species. A_{max-C} : maximal rate of assimilation measured at constant- low-elevation P_{CO_2} (37.5 Pa); A_{max-A} : maximal rate of assimilation measured at ambient P_{CO_2} . Values correspond of the mean of 5 to 19 individuals per site \pm standard errors

P_{CO_2} . The CO_2 partial pressure has no effect on stomatal conductance; therefore the observed differences result from non stomatal effects.

Relative differences in A_{max} (D_{Amax}) reached 25% for both species (Fig. 2). However, for oak, D_{Amax} was lower at 1600 m than 1200 m, due to the very high A_{max} values measured at the highest elevation. Meanwhile, the highest relative differences in P_{CO_2} ($D_{P_{\text{CO}_2}}$) were less than 16% at the highest elevation. Figure 2 shows the steeper increase in CO_2 assimilation rate with elevation than that of CO_2 partial pressure, since a given increase in $D_{P_{\text{CO}_2}}$ resulted in a larger increase in D_{Amax} .

4. DISCUSSION

This study shows that the maximum assimilation rate (A_{max}) increases significantly with increasing elevation, about 2.8 and 2.6 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ per 1000 m of elevation for beech and oak, respectively when measurements were done at constant-low-elevation P_{CO_2} . By contrast, at ambient P_{CO_2} no significant trend was found in A_{max} according to elevation. Along the altitudinal transect, we found that values of A_{max} measured at

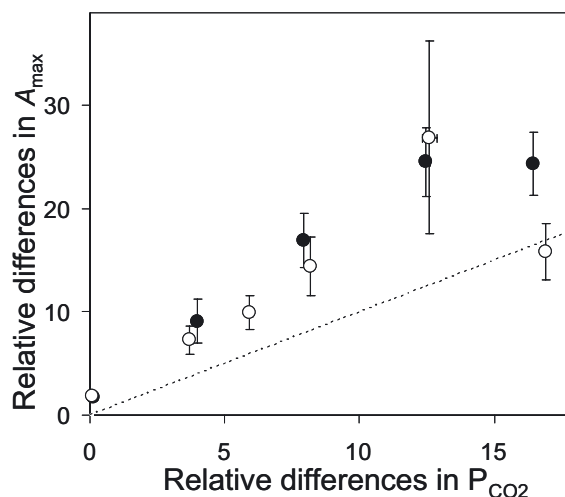


Figure 2. Relative differences in A_{max} (D_{Amax}) versus relative differences in P_{CO_2} ($D_{P_{\text{CO}_2}}$) in percentage (%). Dashed line represents the 1:1 relationship.

ambient P_{CO_2} were significantly lower than those measured at constant-low-elevation P_{CO_2} above 600 m of elevation: these between-treatment differences increase as elevation increases. We found that gas exchange measurements realised along altitudinal gradient at ambient or constant P_{CO_2} lead to different results in terms of photosynthetic capacity and therefore to different conclusions regarding plant adaptation or acclimation.

In the literature, most studies that have examined photosynthetic capacity (A_{max}) over altitudinal gradients have kept temperature, humidity and light level constant in order to compare populations, but either (i) did not mention how they managed the CO_2 variable (Cordell et al., 1998; Rundel et al., 2003), or (ii) used constant CO_2 molar fraction (ppm or $\mu\text{mol mol}^{-1}$ or $\mu\text{bar bar}^{-1}$) instead of constant partial pressure (Gonzalez-Real and Baille, 2000; Yin et al., 2004). These studies found results similar to those of Treatment A in our study: no significant variations of A_{max} along the gradient (Cordell et al., 1999; Körner and Diemer, 1987; Kumar et al., 2006). However, a few studies have showed either slight increases in A_{max} with increasing elevation (Friend et al., 1989; Premoli and Brewer 2007) or a decrease (Kao and Chang, 2001; Zhang et al., 2005). Only a few studies have used CO_2 partial pressure when comparing population adaptation for photosynthesis at

different elevations (Friend et al., 1989), but they carried out measurements at ambient P_{CO_2} . To our knowledge, only one study estimated photosynthetic capacity of low- and high-elevation plants applying constant cuvette CO_2 partial pressure (Körner and Diemer, 1987). They also found an increase in A_{max} over a gradient of 2000 m of elevation; values were 20% higher for high elevation versus low elevation plants, using a constant CO_2 partial pressure of 25.1 Pa. In other words, they found that photosynthesis varied to the same extent as the variation in P_{CO_2} : a 22.5% shift in A_{max} for 20.8% variations in P_{CO_2} along their gradient. In our study, we found an even higher shift in A_{max} (25%) compared to that of P_{CO_2} (16%) for both species.

For beech, the higher values of leaf nitrogen content observed for high-elevation populations partially explained their greater photosynthetic capacity. For oak, we only found a slight but non-significant increase in leaf nitrogen content with increasing elevation. Altitudinal increase in leaf nitrogen content has already been observed for other species (Cordell et al., 1998; Premoli and Brewer, 2007). Photosynthetic capacity tends to be positively related to higher values of foliar nitrogen and phosphorus due to increased levels of Rubisco and other N-containing constituents of the photosynthetic apparatus (Delzon et al., 2005; Field and Mooney, 1986; Marron et al., 2008). Moreover, only for beech, our results also suggest that at least part of the increase in maximum assimilation rate at high elevation may be attributed to a slight increase in stomatal conductance, implying an increase in CO_2 diffusion into the leaf. Stomatal density of beech was greater in high elevation populations (data not shown), as were g_s and A_{max} . The relationship between stomatal conductance (or stomatal density) and elevation is not as clear cut, with various authors reporting increases (Körner and Cochrane, 1986; Körner et al., 1986; Premoli and Brewer, 2007), decreases (Körner et al., 1989) or no clear trend with elevation (Cordell et al., 1998), depending of species.

The increase in photosynthetic capacity with increasing elevation suggested that trees accomplish a relatively high level of photosynthesis to compensate for extreme environmental conditions and short growing seasons at high elevation. This ability to cope with varying environment is likely be achieved by genetic adaptation or by acclimation. In order to discern adaptation and acclimation in the future, we have set up a lowland common garden with the same populations for both species. For other species, previous studies have showed that in a common environment, photosynthetic capacity of plants from high elevation remained higher than those of lowland plants (Hovenden and Brodribb, 2000; Oleksyn et al., 1998). Premoli and Brewer (2007) showed that assimilation rates were 40% higher for high-elevation plants in the field (measurements done at ambient P_{CO_2}), and 18% higher in the common garden, than those for low-elevation plants. Therefore, photosynthetic capacity seems to be under strong selective pressures typically observed at high elevation. Genetic adaptation to high elevation conditions could be a result of maintaining of higher leaf nitrogen, chlorophyll content (Oleksyn et al., 1998), stomatal density (Kouwenberg et al., 2007) and car-

boxylation efficiency (Körner and Diemer, 1987), and would allow trees to adapt to their local conditions.

The low partial pressure of CO_2 prevailing at high elevations has been hypothesized to be responsible for the reduced photosynthesis (Decker, 1947; Tranquillini, 1964). However, this is in contradiction to some theoretical studies (Gale, 1972; Terashima et al., 1995). Indeed, Gale (1972) demonstrated using a simple diffusion model that low pressure has a small effect on photosynthesis for plants with efficient CO_2 -uptake mechanisms. The effect of a reduction in P_{CO_2} could indeed be counterbalanced by an increase in the diffusion coefficient with decreasing air pressure (Terashima et al., 1995). Nevertheless, this compensating effect is only observed in plants with low values of mesophyll resistance (Gale, 1972), which correspond to C_4 and not to C_3 type plants as in our study. In addition, Terashima et al. (1995) only found no effect of partial pressure on photosynthesis at low temperature; this effect reached 23% at higher leaf temperatures (35 °C) for an elevation of 3000 m. Whereas this last study suggested that changes in the photosynthetic capacity of alpine plants can be attributed mostly to low temperature, we suggest that low CO_2 partial pressure at high elevation could also play a role in plant adaptation. Indeed, the decrease in CO_2 partial pressure is expected to increase stomatal density and stomatal conductance (Kouwenberg et al., 2007; Woodward and Bazzaz, 1988) and therefore maximum assimilation rate.

In our study, we were not able to take the decrease in partial pressure of oxygen (O_2) into account with a decrease in air pressure. Rubisco catalyzes both the carboxylation of RuBP and its oxygenation. The ratio of carboxylation to the oxygenation reaction (initiating photorespiration) strongly depends on the relative concentrations of CO_2 and O_2 , and on leaf temperature (Lambers et al., 1998). Because of competition between CO_2 and O_2 for Rubisco, the decreased partial pressure of O_2 at high elevations combined with the constant CO_2 partial pressure treatment likely reduces photorespiration, and could partly explain the large increase in A_{max} observed with elevation here (Cornic, 1980; Sun, 1999; Ramonell, 2001).

Our study demonstrates the importance of using constant CO_2 partial pressure to assess plant adaptation/acclimation at different elevations; i.e. to accurately quantify photosynthetic capacity. Measurements done at ambient and constant P_{CO_2} lead to different results, with different patterns according to elevation. Had we conducted experiments only at ambient CO_2 partial pressure, we might have concluded that high-elevation populations did not evolve to be more efficient, and therefore that adaptation/acclimation does not occur along altitudinal gradient. In this case (ambient CO_2 partial pressure), a finding that photosynthetic capacity stays constant with increasing elevation suggests the conclusion that high elevation populations did adapt to constraining environmental conditions. However, it is worth knowing that a decrease in photosynthetic capacity at ambient P_{CO_2} did not allow conclusions to be drawn regarding plant adaptation as the effect of decreasing CO_2 partial pressure cannot be removed. Therefore, to assess plant adaptation or acclimation to elevation, we recommend carrying out gas exchange measurements at constant partial pressure.

Acknowledgements: We wish to thank staff of the Experimental Unit of Pierroton for field assistance, Catherine Lambrot for leaf nutrient content analysis, Jean-Marc Louvet for his enthusiasm and information about the Pyrénées forests, and Christian Körner for insightful comments on early drafts of the manuscript. This research was supported by a grant from the Aquitaine and Midi-pyrénées Régions and a bilateral collaboration funded in coordination between the French government PHC PICASSO programme 19187UC, and an Acción Integrada HF2008-0057 from the Spanish Research Ministry. Caroline Bresson was supported by an ONF-Region Aquitaine Doctoral Fellowship.

REFERENCES

- Benecke U., Schulze E.D., Matyssek R., and Havranek W.M., 1981. Environmental control of CO₂ assimilation and leaf conductance in *Larix decidua* Mill. I. A comparison of contrasting natural environments. *Oecologia* 50: 54–61.
- Chabot B.F. and Hicks D.J., 1982. The ecology of leaf life spans. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13: 229–259.
- Cordell S., Goldstein G., Meinzer F.C., and Handley L.L., 1999. Allocation of nitrogen and carbon in leaves of *Metrosideros polymorpha* regulates carboxylation capacity and delta 13C along an altitudinal gradient. *Funct. Ecol.* 13: 811–818.
- Cordell S., Goldstein G., Mueller-Dombois D., Webb D., and Vitousek P.M., 1998. Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient: the role of phenotypic plasticity. *Oecologia* 113: 188–196.
- Cornic G. and Louason G., 1980. The effects of O₂ on net photosynthesis at low-temperature (5 degree-C). *Plant Cell Environ.* 3:149-157.
- Decker J.P., 1947. The effect of air supply on apparent photosynthesis. *Plant Physiol.* 22: 561–571.
- Delzon S., Bosc A., Cantet L., and Loustau D., 2005. Variation of the photosynthetic capacity across a chronosequence of maritime pine correlates with needle phosphorus concentration. *Ann. For. Sci.* 62: 537–543.
- Farquhar G.D., von Caemmerer S., and Berry J.A., 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149: 78–90.
- Field C. and Mooney H.A., 1986. The photosynthesis-nitrogen relationships in wild plants. In: Givnish T.J. (Ed.), *On the economy of plant form and function*, Cambridge University Press, Cambridge, pp. 25–55.
- Friend A.D., Woodward F.I., and Switsur V.R., 1989. Field measurements of photosynthesis, stomatal conductance, leaf nitrogen and delta 13C along altitudinal gradients in Scotland. *Funct. Ecol.* 3: 117–122.
- Gale J., 1972. Availability of carbon dioxide for photosynthesis at high altitudes: theoretical considerations. *Ecology* 53: 494–497.
- Gonzalez-Real M.M. and Baille A., 2000. Changes in leaf photosynthetic parameters with leaf position and nitrogen content within a rose plant canopy (*Rosa hybrida*). *Plant Cell Environ.* 23: 351–363.
- Hovenden M.J. and Brodribb T., 2000. Altitude of origin influences stomatal conductance and therefore maximum assimilation rate in Southern Beech, *Nothofagus cunninghamii*. *Aust. J. Plant Physiol.* 27: 451–456.
- Jones H.G., 1983. *Plants and microclimate. A quantitative approach to environmental plant physiology*, Cambridge University Press, Cambridge, 428 p.
- Kao W. and Chang K., 2001. Altitudinal trends in photosynthetic rate and leaf characteristics of *Miscanthus* populations from central Taiwan. *Aust. J. Bot.* 49: 509–514.
- Kikuzawa K., 1989. Ecology and evolution of phenological pattern, leaf longevity and leaf habit. *Evol. Trends Plants* 3: 105–110.
- Körner C., 2003. *Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystem*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, 337 p.
- Körner C., 2008. The use of “altitude” in ecological research. *Trends Ecol. Evol.* 22: 569–574.
- Körner C., Bannister P., and Mark A.F., 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant lifeforms in New Zealand. *Oecologia* 69: 577–588.
- Körner C. and Cochrane P.M., 1986. Stomatal responses and water relations of *Eucalyptus pauciflora* in summer along an elevational gradient. *Oecologia* 66: 443–455.
- Körner C. and Diemer M., 1987. In situ photosynthetic responses to light, temperature and carbon dioxide in herbaceous plants from low and high altitude. *Funct. Ecol.* 1: 179–194.
- Körner C., Neumayer M., Pelaez Menendez-Riedl S., and Smeets-Scheel A., 1989. Functional morphology of mountain plants. *Flora* 182: 353–383.
- Kouwenberg L.L.R., Kürschner W.M., and McElwain J.C., 2007. Stomatal frequency change over altitudinal gradients: prospects for paleoaltimetry. *Rev. Mineral. Geochem.* 66: 215–241.
- Kowalski A.S. and Serrano-Ortiz P., 2007. On the relationship between the eddy covariance, the turbulent flux, and surface exchange for a trace gas such as CO₂. *Bound.-Lay. Meteorol.* 124: 129–141.
- Lambers H., Chapin F.S., and Pons T.L., 1998. *Plant physiological ecology*. Springer-verlag, New York, 540 p.
- Larcher W., 1969. *Physiological plant ecology*, Springer-Verlag, 506 p.
- Marron N., Brignolas F., Delmotte F.M., and Dreyer E., 2008. Modulation of leaf physiology by age and in response to abiotic constraints in young cuttings of two *Populus deltoides* × *P. nigra* genotypes. *Ann. For. Sci.* 65: 404.
- Kumar N., Kumar S., Vats S.K., and Ahuja P.S., 2006. Effect of altitude on the primary products of photosynthesis and the associated enzymes in barley and wheat. *Photosynth. Res.* 88: 63–71.
- Oleksyn J., Modrzyński J., Tjoelker M.G., Zytkowski R., Reich P.B., and Karolewski P., 1998. Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Funct. Ecol.* 12: 573–590.
- Premoli A.C. and Brewer C.A., 2007. Environmental v. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Austr. J. Bot.* 55: 585–591.
- Rada F., Azocar A., Gonzalez J., and Briceno B., 1998. Leaf gas exchange in *Espeletia schultzii* Wedd, a giant caulescent rosette species, along an altitudinal gradient in the Venezuelan Andes. *Acta Oecol.* 19: 73–79.
- Ramonell K.M., Kuang A., Porterfield D.M., Crispi M.L., Xiao Y., McClure G., and Musgrave M.E., 2001. Influence of atmospheric oxygen on leaf structure and starch deposition in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.* 24:419-428.
- Reich P.B., Walters M.B., and Ellsworth D.S., 1992. Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecol. Monogr.* 62: 365–392.
- Rundel P.W., Gibson A.C., Midgley G.S., Wand S.J.E., Palma B., Kleier C., and Lambrinos J., 2003. Ecological and ecophysiological patterns in a pre-altiplano shrubland of the Andean Cordillera in northern Chile. *Plant Ecol.* 169: 179–193.

- Slatyer R.O. and Morrow P.A., 1977. Altitudinal variation in the photosynthetic characteristics of snow gum, *Eucalyptus pauciflora* Sieb. ex Spreng. I. Seasonal changes under field conditions in the Snowy mountains area of south-eastern Australia. *Austr. J. Bot.* 25: 1–20.
- Sun J.D., Edwards G.E., and Okita T.W., 1999. Feedback inhibition of photosynthesis in rice measured by O₂ dependent transients. *Photosynth. Res.* 59:187–200.
- Terashima I., Masuzawa T., Ohba H., and Yokoi Y., 1995. Is photosynthesis suppressed at higher elevations due to low CO₂ pressure? *Ecology* 76: 2663–2668.
- Tranquillini W., 1964. The physiology of plants at high altitudes. *Plant Physiol.* 15: 345–362.
- Vitasse Y., Delzon S., Dufréne E., Pontailler J.Y., Louvet J.M., Kremer A., and Michalet R., in press. Leaf phenology sensitivity to temperature in European trees: do within-species populations exhibit similar responses? *Agr. For. Meteorol.* (in Press) DOI:10.1016/j.agrformet.2008.10.019.
- Weng J.H. and Hsu F.H., 2001. Gas exchange and epidermal characteristics of *Miscanthus* populations in Taiwan varying with habitats and nitrogen application. *Photosynthetica* 39: 35–41.
- Woodward F.I. and Bazzaz F.A., 1988. The response of stomatal density to CO₂ partial pressure. *J. Exp. Bot.* 39: 1771–1781.
- Yin C., Duan B., Wang X., and Li C., 2004. Morphological and physiological responses of two contrasting Poplar species to drought stress and exogenous abscisic acid application. *Plant Sci.* 167: 1091–1097.
- Zhang H., Wu C.X., Chamba Y., and Ling Y., 2007. Blood characteristics for high altitude adaptation in Tibetan chickens. *Poultry Sci.* 86: 1384–1389.
- Zhang S., Zhou Z., Hu H., Xu K., Yan N., and Li S., 2005. Photosynthetic performances of *Quercus pannosa* vary with altitude in the Hengduan mountains, southwest China. *For. Ecol. Manage.* 212: 291–301.

Chapitre 3

To what extent has elevational variability of functional traits been driven by genetic adaptation in European oak and beech?

Caroline C. Bresson, Yann Vitasse, Antoine Kremer, Sylvain Delzon

Submitted in Tree Physiology



Summary

The phenotypic responses of functional traits in natural populations are driven by genetic diversity and phenotypic plasticity. These two mechanisms enable trees to cope with rapid climate change. We studied two European temperate tree species (sessile oak and European beech), focusing on (i) in situ variations of leaf functional traits (morphological and physiological) along two altitudinal gradients and (ii) the extent to which these variations were under environmental and/or genetic control in a common garden experiment.

For all traits, altitudinal trends tended to be highly consistent between species and transects. Both leaf mass per area (LMA) and stomatal density (SD) displayed a positive linear correlation with altitude, whereas leaf size (L_s) was negatively correlated with altitude. We also observed a significant increase in leaf physiological performance with increasing altitude: populations at high altitudes had higher maximum rates of assimilation (A_{\max}), maximum stomatal conductance ($g_{s\max}$) and leaf nitrogen content (N_a) than those at low altitudes. In a common garden experiment, we showed that genetic differentiation between populations accounted for 3.3 to 27% of total phenotypic variation. The combination of in situ and common garden experiments used here made it possible to demonstrate, for both species, a weaker effect of genetic variation than of variations in natural conditions, suggesting a strong effect of the environment on leaf functional traits. Finally, we showed that intrapopulation variability was systematically higher than interpopulation variability, whatever the functional trait considered, indicating a high potential capacity to adapt to climate change.

Key words: adaptation, altitude, common garden, genetic variation, phenotypic variations, functional traits.

INTRODUCTION

Over the last few decades, attention has increasingly focused on evolutionary responses to rapid climate change (reviews by Parmesan 2006, Bradshaw and Holzapfel 2006). One major concern in this context relates to the ability of long-lived species to cope with rapid climate change (Saxe et al. 2001, Kremer 2007; Lindner et al. 2009). Stressful environments, such as high mountain ecosystems, provide an ideal experimental setting for investigating adaptation in such species, as selection pressures along ecological gradients are increased by climate change (Pauli et al. 2007, Lesica and McCune 2004). Habitat fragmentation may limit range shifts (Davis and Shaw 2001), but an upward shift has been reported for many species in Europe (Lenoir et al. 2008). In mountainous regions, sharp changes in abiotic factors occur over short distances leading to major changes in the selection pressures acting on plant life-history traits; the responses to these selection pressures may differ between species (Vitasse et al. 2009a). Thus, altitudinal gradients provide an ideal experimental opportunity for studying the variation of functional traits in plants in response to environmental factors and the implications of this variation for the capacity of populations to respond to changing environmental conditions

(Körner 2007).

Three basic scenarios for the expected responses of tree populations to ongoing environmental changes have been outlined: migration, adaptation or extirpation (Aitken et al. 2008). In this study, we focused on the persistence of tree species in a changing environment. Two mechanisms may allow species to remain in the context of changing climatic conditions: genetic variability within and between populations and phenotypic plasticity based on variability purely due to the environment and the interaction between genes and environment (Sultan 2000). The response to natural selection depends on the level of genetic diversity in natural populations (Bürger and Krall, 2004). However, genetic adaptation is mediated by natural selection and would therefore be expected to take much longer than flexible adjustments mediated by phenotypic plasticity (Jump and Penuelas 2005; Kremer 2007).

Along an altitudinal gradient, the divergence between populations may be influenced by differences in the selective pressures imposed by different ecological environments, neutral evolutionary processes, or both (Still et al. 2005). Elucidation of the causes of intraspecific genetic differentiation is a central theme in evolutionary biology (e.g. Reed and Frankham 2001; Latta 2003).

Morphological and physiological adjustments allow individuals to persist in the stressful environment associated with high altitudes. For instance, plants growing at high altitudes usually have distinctive morphological features, including dwarfness, compact habit and small, densely pubescent leaves. The leaf mass per area (LMA) generally tends to increase with increasing altitude (Hultine and Marshall 2000, Kao and Chang 2001, Zhang and Marshall 1995), resulting in thicker leaves at high altitude. Leaf nutrient content per unit area has been shown to be higher at high altitude than at low altitude for several species, including *Picea abies* (Oleksyn et al. 1998), *Nothofagus menziesii* (Körner et al. 1986) and *Betula pubescens* spp. (Weih and Karlsson 2001). Several studies of physiological traits have shown that the maximum assimilation rate (A_{\max}) increases along altitudinal gradients for deciduous and evergreen tree species (Bresson et al. 2009, Körner 1999, Kohout and Read 2006, Zhang et al. 2005). Leaf phenology has also been widely studied along altitudinal gradients (Migliavacca et al. 2008, Moser et al. 2010, Vitasse et al. 2009b) and the phenological trends observed in natural conditions are known to be partly under genetic control (Jensen and Hansen 2008, Vitasse et al. 2009a). Abiotic factors and evolutionary processes

affecting bud phenology have been identified, but little is known about the factors affecting morphological or physiological leaf traits (but see Premoli and Brewer 2007).

The main objectives of this study were (i) to investigate changes in leaf morphological and physiological traits with altitude and (ii) to assess the extent to which these variations are under genetic control. We therefore measured six functional traits of leaves on European beech (*Fagus sylvatica*) and sessile oak (*Quercus petraea*), two European species co-occurring along two altitudinal transects in the Pyrenees Mountains. We then used a common garden experiment to investigate the degree of genetic determinism of these trait variations.

MATERIALS AND METHODS

Species and population sampling

In situ assessment of functional traits was conducted along altitudinal gradients in the Gave and Ossau valleys of the central and western part of the Pyrenees Mountains in France (Table 1). These valleys run parallel to each other, but are separated by 30 km. Their altitude increases from north to south. This region is characterized by an oceanic mountain climate, with a mean annual temperature of 11.8°C and precipitation of 1102 mm

(1971-2000) at low altitude (Tarbes, 43°11'N 00° 00'W, 360 m ASL, Météo France). We focused on two common European tree species (*Fagus sylvatica* and *Quercus petraea*) widely distributed in Pyrenees. Oaks are common at low altitude, in mixed oak stands and on south-facing slopes, whereas beech is present at higher altitude and is usually associated with fir (*Abies alba*) on north-facing slopes.

We sampled 10 natural established populations of beech and 14 of oak at

various altitudes in each valley (Table 1). Temperature ranges of 6 °C and 6.4°C along the altitudinal gradient were recorded for the Gave and Ossau valleys, respectively (Table 1). Seven to 27 adult trees of similar height were randomly selected from each of these 24 populations, for leaf trait measurements. We used a GPS receiver (GPS Pathfinder ProXR, Trimble Navigation, Sunnyvale, USA) to determine the exact altitude of each population.

Table 1: Geographic and climatic data (T_a , mean annual temperature, °C, in 2005-2007) for populations sampled along the altitudinal gradients. Populations in bold typeface were assessed only in the common garden experiment.

	Sites	Valley	Altitude	Latitude	Longitude	Slope aspect	T_a
<i>Fagus sylvatica</i>							
100	Josbaig	Ossau	148	43°15' N	00°44' W	flat	11.5
400	Bager	Ossau	422	43°07' N	00°32' W	north	12.3
800	Eaux Bonnes	Ossau	824	42°56' N	00°22' W	north	10.3
1200	Fabréges	Ossau	1260	42°52' N	00°24' W	north	6.7
1600	Bioux	Ossau	1551	42°51' N	00°27' W	north	6.1
100	Laveyron	Gave	131	43°45' N	00°13' W	north	12.9
400	Gaves de Pau	Gave	488	43°05' N	00°05' W	north	11.4
800	Chèze	Gave	773	42°55' N	00°02' W	north	10.2
1200	Haugarou	Gave	1190	43°00' N	00°12' W	north	6.6
1600	Barège	Gave	1604	42°53' N	00°06' E	north	6.5
<i>Quercus petraea</i>							
100	Josbaig	Ossau	259	43°13' N	00°44' W	south	13.2
400	Bager	Ossau	422	43°07' N	00°32' W	north	12.3
800	Le Hourcq	Ossau	841	42°54' N	00°26' W	north	9.0
1200	Gabas	Ossau	1194	42°53' N	00°25' W	south	9.1
1600	Artouste	Ossau	1614	42°53' N	00°24' W	south	7.2
100	Laveyron	Gave	131	43°45' N	00°13' W	flat	12.9
300	Ibos	Gave	387	43°15' N	00°00' W	south	12.4
400	Adé	Gave	427	43°08' N	00°00' W	south	12.3
600	Pierrefites	Gave	627	42°56' N	00°03' W	south	11.8
800	Chèze	Gave	803	42°55' N	00°02' W	south	11
1000	Bourdalats	Gave	1082	42°54' N	00°06' W	south	9.8
1200	Gèdre	Gave	1235	42°47' N	00°01' E	south	9.7
1300	Gèdre haut	Gave	1349	42°47' N	00°02' E	south	8.6
1600	Péguère	Gave	1630	42°52' N	00°07' W	south	7.7

Common garden experiment

Seeds from the sampled trees and populations were collected in the fall of 2004 and 2005, for both species. For oak, we sampled several altitudes in addition to those sampled in the in situ study (300, 1000 and 1300 m (± 50 m) above sea level (a.s.l.); Table 1). After one growing season in the nursery, seedlings were transplanted to the lowland common garden experiment south of Bordeaux (44°34'N, 00°16'W, 23 m a.s.l., 1 ha). The design of the experiment included three completely randomized and continuous blocks. Seedlings were transplanted at a spacing of 3 m x 2 m. An electric deer fence was installed and one pesticide (pyrethroid) was sprayed in spring 2006, 2007 and 2008, to prevent damage due to phytophagous insects. The mean annual temperature in the common garden was about 13.2°C, and mean annual rainfall was about 836 mm (1984-2006). Planting procedures and the features of the common garden have been described in more detail elsewhere (Vitasse et al. 2009a). The common garden included 425 individuals of beech and oak in total, and the sample size of populations varied between 5 and 15 individuals. Some of the populations from the Ossau valley (400 and 1200 m for beech and from 1600 m for oak) were

excluded from the common garden analysis, because they contained too few living individuals.

Gas exchanges

Leaf gas exchange measurements were carried out with a portable steady-state flow-through chamber (PLC6) connected to an IRGA (CIRAS-2, PP Systems, Hitchin, UK) equipped with temperature, humidity, light and CO₂ control modules. Net gas exchange was measured within a sealed 2.5 cm² cuvette, with an initial CO₂ concentration of 37.5 Pa \pm 0.3 Pa, temperature of 25 °C \pm 0.3, and relative humidity of 70% \pm 20 %, controlled by regulating the flow diverted through the desiccant. For measurements of photosynthetic photon flux density (PPFD) in saturated light conditions, leaves were illuminated with a red–blue light source attached to the gas-exchange system maintained at 1500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Maximum assimilation rate (A_{max} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and maximum stomatal conductance (g_{smax} , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) are expressed on a one-sided leaf area basis and calculated according to Farquhar's equations (Farquhar et al. 1980). Before measurement campaigns, the analyzer was calibrated in the laboratory with 400 ppm standard gas. Full CO₂ and H₂O zero

(differential calibration) measurements were performed in the field after each set of four measurements.

All measurements were taken between 8:00 and 11:00 (UT), on fully expanded unshaded leaves. Leaf gas exchanges were measured for the leaves of adult beech and oak trees (from 7 to 27 individuals according to the population considered) along the two altitudinal gradients, on five consecutive days at the end of July, in 2006 and in 2007. Measurements were carried out on two leaves per tree, immediately after the branch carrying the leaves was removed from the crown with a pole tree pruner, at a height of 5 to 7 m. In the common garden experiments, measurements were performed on two leaves per plant, on 5 to 13 individuals per provenance (3 or 4 years old) sampled on 12 consecutive days at the end of July, in 2008 and 2009.

Biochemical analyses

We carried out laboratory determinations of leaf nitrogen content on the samples used for gas exchange measurements from both the in situ altitudinal gradient and the common garden experiment. For the in situ analysis, between 9 and 21 leaf samples per population were dried at 70°C, mineralized with hot sulfuric acid and analyzed

colorimetrically with a Technicon auto-analyzer (Technicon II, HI System, Tarrytown, NY). In the common garden experiment, between 5 and 12 dried samples were crushed to a fine powder in a grinder (MM200, Retsch GmbH, Haan, Germany) and analyzed by isotope ratio mass spectrometry (IRMS).

Leaf morphological traits

For both experiments (in situ and common garden), leaf samples were collected from the same individuals as for previous measurements, from between 9 and 21 trees per population for in situ experiments and for between 5 and 13 trees per population for common garden experiments, respectively. Two fully expanded unshaded leaves were harvested and impressions of the underside of the leaf were obtained with transparent enamel nail polish (Brewer and Smith 1997). Stomata were counted under a microscope (Leica DM2500, Microsystems, Houston, Texas), for three areas per leaf (1 area = 0.230 mm²) at ×100 magnification. All the areas used for stomatal counts were in the middle of the leaf, to avoid possible variation at the base and tip. These data were standardized by dividing by surface area, to obtain the number of stomata per mm² (SD, St mm²).

The leaf surface area was measured with a planimeter (Light Box model, Gatehouse, Scientific Instruments LTD, Norfolk, UK), on the same leaf samples subsequently used for nitrogen determination. We sampled five leaves per tree for 9 to 20 trees per population in the in situ altitudinal gradient study and 6 to 14 trees per population for the common garden experiment. Samples were then dried at 65°C and weighed on an electronic balance (Explorer Pro, EP114 model, Ohaus Corporation, Pine Brook, NJ, USA), for the calculation of leaf mass per area (LMA, kg m⁻²).

Statistical and data analysis

For both experiments (in situ and common garden), relationships between functional traits and altitude were assessed with a linear regression model. Analysis of variance (ANOVA) revealed that there was no valley effect. We therefore pooled the data for both valleys for subsequent analyses and graphs, for both experiments.

The coefficient of variation is a standardized measure of the variability of a trait. For each trait, the intrapopulation variability (CV_{intra}) was calculated for each population and then averaged by species. The interpopulation variability (CV_{inter}) was calculated from the between-

population standard deviation and the overall mean value (Table 2).

In the common garden experiment, we used ANOVA to assess the significance of differentiation between populations. We used PROC GLM with the RANDOM statement (version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA). We checked the assumptions of homogeneous variance and normal distribution for physiological and morphological data before carrying out the analyses. The ratio of the between-population variance component to total variance was estimated with PROC VARCOMP, using the restricted maximum likelihood (REML) method. These analyses used the following statistical model: [1] $Y_{ijk} = \mu + P_i + b_j + (Pb)_{ij} + \epsilon_{ijk}$ where Y_{ijk} is the observation of individual seedling k for one of the analyzed characters from provenance i and block j , μ is the overall mean of the analyzed characters, P_i is the random effect of provenance i , b_j is the fixed effect of block j , $(Pb)_{ij}$ is the interaction between provenance i and block j , and ϵ_{ijk} is the residual variation, including the effect of tree k belonging to combination ijk . Variances of the random effects (population σ_p^2 , interaction σ_{bp}^2 , residual σ_ϵ^2) were also calculated. The overall differentiation (\mathcal{D}) between populations was calculated as $\mathcal{D} = \sigma_p^2 / (\sigma_p^2 + \sigma_{bp}^2 + \sigma_\epsilon^2)$.

\mathcal{D} is an analog of Q_{st} (Spitze 1993), the genetic differentiation of quantitative traits $Q_{st} = \sigma_p^2 / (\sigma_p^2 + 2\sigma_A^2)$, where σ_A^2 is the within-population additive variance. In our study, σ_A^2 could not be estimated, so the denominator of \mathcal{D} is the overall phenotypic variance rather than the overall genetic variance as for Q_{st} .

RESULTS

Phenotypic variation along the altitudinal gradient (in situ experiment)

Oak trees generally displayed higher values than beech trees for morphological and physiological traits. The mean LMA along the altitudinal gradient was 0.08 kg m^{-2} for oak and only 0.06 kg m^{-2} for beech. Maximum photosynthetic rates were 25% higher for oak than for beech, on average (mean $A_{\max} = 12.5$ and $9.3 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ for oak and beech, respectively), whereas maximum stomatal conductance values were more similar between the two species (mean $g_{\text{smax}} = 180$ and $123 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ for oak and beech, respectively). Conversely, nitrogen content was higher in oak leaves than in beech leaves ($N_a = 1.8$ and 1.3 g m^{-2} for oak and beech, respectively).

Overall, we found significant linear trends along the altitudinal gradient for all functional traits, acting in the same direction for both species (Fig. 1). L_s

decreased with increasing altitude, by $1.1 \text{ cm}^2 100 \text{ m}^{-1}$ for beech and $0.9 \text{ cm}^2 100 \text{ m}^{-1}$ for oak, whereas LMA and SD increased with increasing altitude, by $3.1 \times 10^{-2} \text{ kg m}^{-2} 100 \text{ m}^{-1}$ and $2.3 \text{ stom mm}^2 100 \text{ m}^{-1}$, respectively, for beech, and by $1.6 \times 10^{-2} \text{ kg m}^{-2}$ and $2.9 \text{ stom mm}^2 100 \text{ m}^{-1}$, respectively, for oak (Fig. 1). All the physiological traits (g_{smax} , A_{\max} and N_a) increased linearly with increasing altitude. A_{\max} increased to the same extent for both species ($0.3 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} 100 \text{ m}^{-1}$ increase in altitude) whereas N_a increased by $7.8 \times 10^{-2} \text{ g m}^{-2} 100 \text{ m}^{-1}$ for beech and only $4.7 \times 10^{-2} \text{ g m}^{-2} 100 \text{ m}^{-1}$ for oak. Likewise, g_{smax} increased with increasing altitude, by $0.04 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} 100 \text{ m}^{-1}$ for beech and $0.08 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} 100 \text{ m}^{-1}$ for oak.

The interpopulation coefficient of variation (CV_{inter}) was lower than the intrapopulation coefficient of variation (CV_{intra}) for LMA and photosynthetic capacity (g_{smax} and A_{\max}) for beech and for L_s and LMA for oak (Table 2). For the other traits, CV_{inter} was higher than CV_{intra} .

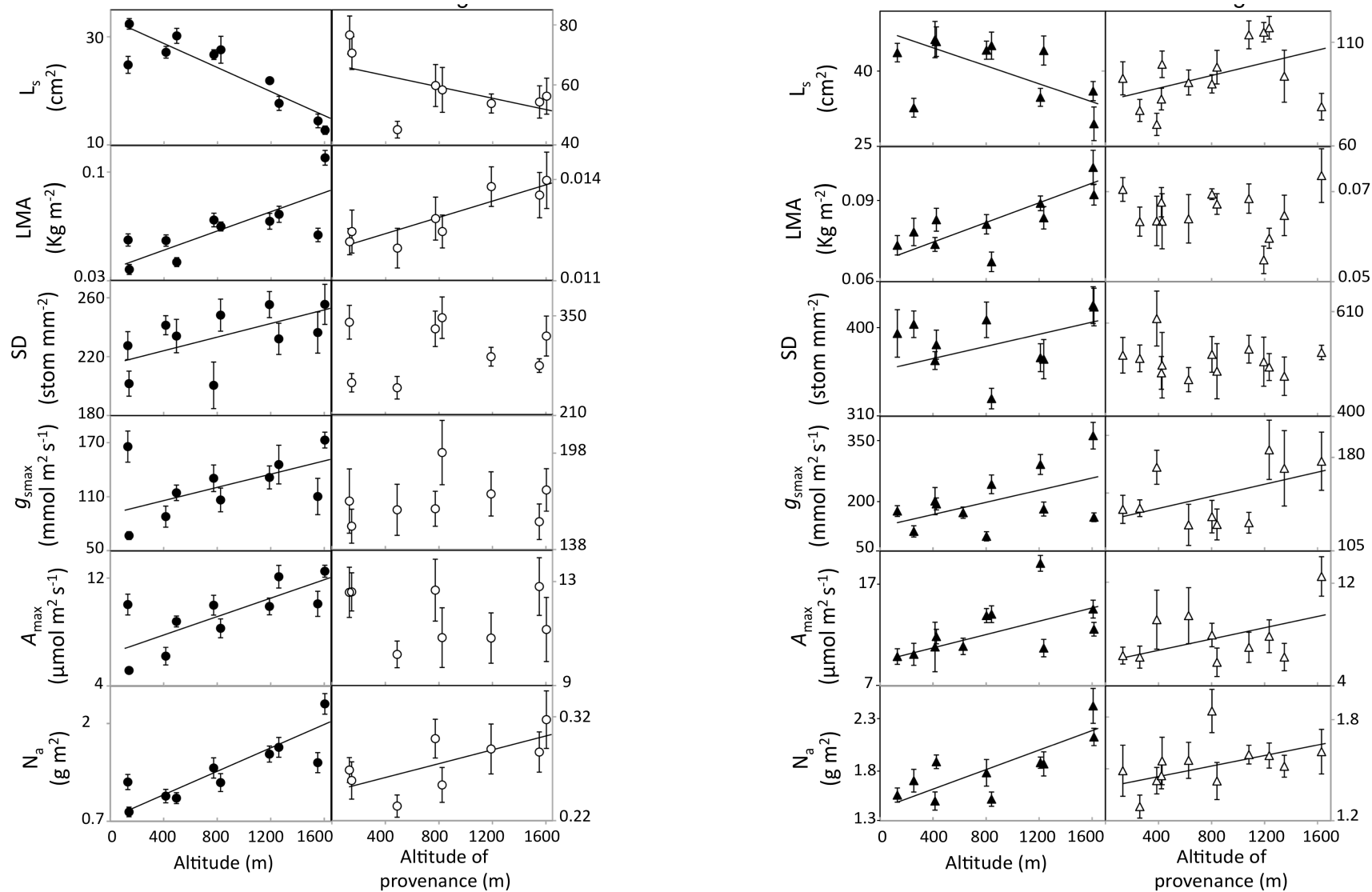


Figure 1: Functional leaf traits according to altitude (m) or altitude of provenance on the left for beech and on the right for oak, in situ (left) and in the common garden experiment (right). L_s : leaf size (cm^2), LMA: leaf mass per area (kg m^{-2}) and SD: stomatal density (St mm^{-2}), g_{smax} : maximum stomatal conductance ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), A_{max} : maximum assimilation rate ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and N_a : nitrogen leaf content (g m^{-2}). Only slopes significantly different from zero ($P < 0.05$) are shown on the graph. Circles and triangles indicate measurements for beech and oak, respectively. Closed and open symbols indicate measurements carried out in situ and in the common garden, respectively.

Table 2: Intra- and inter-population variability (CV_{intra} and CV_{inter} , respectively) of functional leaf traits in the common garden experiment and along altitudinal gradients (in situ). L_s : leaf size (cm^2), LMA: leaf mass per area ($kg\ m^{-2}$) and SD: stomatal density ($St\ mm^{-2}$), g_{smax} : maximum stomatal conductance ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$), A_{max} : maximum assimilation rate ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) and N_a : nitrogen leaf content ($g\ m^{-2}$).

	<i>Fagus sylvatica</i>				<i>Quercus petraea</i>			
	Common garden		In situ		Common garden		In situ	
	CV_{intra}	CV_{inter}	CV_{intra}	CV_{inter}	CV_{intra}	CV_{inter}	CV_{intra}	CV_{inter}
L_s	0.30	0.17	0.18	0.28	0.20	0.16	0.20	0.18
LMA	0.16	0.06	0.61	0.33	0.15	0.08	0.62	0.13
SD	0.21	0.13	0.02	0.09	0.19	0.07	0.01	0.08
g_{smax}	0.26	0.09	0.29	0.28	0.27	0.16	0.30	0.45
A_{max}	0.26	0.09	0.33	0.25	0.42	0.39	0.21	0.26
N_a	0.22	0.1	0.01	0.34	0.18	0.1	0.01	0.16

Genetic differentiation in the common garden experiment

Overall, as in the in situ experiment, oak trees displayed higher values of morphological and physiological traits. Mean LMA along the altitudinal gradient was $0.06\ kg\ m^{-2}$ for oak and $0.013\ kg\ m^{-2}$ for beech. Leaf nitrogen content was much higher in oak leaves than in beech leaves (mean $N_a=1.5$ and $0.3\ g\ m^{-2}$ for oak and beech, respectively). The two species had similar mean maximal stomatal conductance values ($g_{smax} = 150$ and $169\ mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$ for oak and beech, respectively). Mean assimilation rate was higher for beech than for oak ($A_{max} = 8$ and $11.7\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$ for oak and beech, respectively).

Surprisingly, we found opposite linear trends for L_s between the two species: L_s decreased with altitude of

origin for beech ($-9.4 \times 10^{-3}\ cm^2 \cdot 100\ m^{-1}$), but increased for oak ($1.5 \times 10^{-2}\ cm^2 \cdot 100\ m^{-1}$). We found a significant positive linear correlation between LMA and altitude for beech ($1.2 \times 10^{-6}\ Kg\ m^{-2}\ 100\ m^{-1}$) whereas no trend was detected for oak. No differentiation in terms of SD was observed for either species. Photosynthetic capacities increased significantly with altitude for oak, with a slight slope of $2.2 \times 10^{-3}\ \mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}\ 100\ m^{-1}$ and $2.4 \times 10^{-2}\ mmol\ m^{-2}\ s^{-1}\ 100\ m^{-1}$ for A_{max} and g_{smax} , respectively. For both species, leaf nitrogen content (N_a) increased with increasing altitude, by $3 \times 10^{-5}\ g\ m^{-2}$ per $100\ m$ for beech, and $2 \times 10^{-4}\ g\ m^{-2}$ per $100\ m$ for oak. The values obtained in the common garden experiment were lower than those measured in situ, except for L_s and SD.

In the common garden experiment, CV_{intra} was higher than CV_{inter} (from 38 to 68% for beech and from 8 to 65% for oak), for all traits and both species (Table 2). Significant genetic differentiation between populations was observed for L_s in beech and for L_s , SD , g_{smax} and A_{max} in oak (Table 3). Overall, significant

differentiation (\mathcal{D}) between populations of different provenances was found for L_s in both species: 13.4% and 27.6% for beech and oak, respectively. Significant differentiation was also observed for g_{smax} and A_{max} in oak ($\mathcal{D} = 15\%$ and 20% , respectively, see Table 3).

Table 3: Genetic differentiation (\mathcal{D}) between populations from different altitudes, for beech and oak, for six functional leaf traits measured in the common garden experiment. L_s : leaf size (cm^2), LMA: leaf mass per area ($kg\ m^{-2}$) and SD : stomatal density ($St\ mm^{-2}$), g_{smax} : maximum stomatal conductance ($mmol\ m^{-2}\ s^{-1}$), A_{max} : maximum assimilation rate ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$) and N_a : nitrogen leaf content ($g\ m^{-2}$).

Note: \mathcal{D} is the ratio (%) of the variance component of provenance to total variance estimated by analysis of variance ($\sigma_p^2 / (\sigma_p^2 + \sigma_{bP}^2 + \sigma_e^2)$); F , Fisher's test value (significance levels of the population effect: * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; ns, not significant).

	<i>Fagus sylvatica</i>			<i>Quercus petraea</i>		
	<i>F</i>	<i>P</i>	\mathcal{D}	<i>F</i>	<i>P</i>	\mathcal{D}
Morphological traits						
L_s	8.69	0.0019**	13.4	7.73	<0.001***	27.6
LMA	2.17	0.1440 ^{ns}	4.4	1.93	0.1069 ^{ns}	0
SD	2.86	0.0866 ^{ns}	5.6	5.87	0.0218*	0
Physiological traits						
g_{smax}	0.42	0.7910 ^{ns}	0	2.60	0.0451*	15
A_{max}	0.88	0.5172 ^{ns}	0	2.93	0.0238*	20.1
N_a	3.53	0.0565 ^{ns}	8.3	0.54	0.8129	3.3

DISCUSSION

Our study highlighted high levels of phenotypic variability for six major leaf functional traits along altitudinal gradients. Overall, populations growing at high altitude had substantially higher LMA, N_a and photosynthetic capacities (g_{smax} and A_{max}) and smaller leaf size (L_s) than those at low altitude. In the common garden experiment, few traits displayed significant differentiation between provenances originating from different altitudes. Furthermore, we observed less between-population variation in the common garden experiment than in the in situ experiment, suggesting strong environmental determinism due to altitude and/or a population-altitude interaction. Nevertheless, the high intrapopulation variability of functional traits (three times higher, on average, than the interpopulation variability for all traits and both species) indicates substantial genetic diversity within populations, which could potentially facilitate rapid adaptation.

Leaf size (L_s) decreased significantly with increasing altitude, for both species. This trend is consistent with the findings of previous studies (Zhang and Marshall 1995). However, for beech, the significant trend for L_s observed in the common garden experiment was weaker

than that observed in situ, suggesting that phenotypic variability along the gradient results not only from genetic differentiation between populations, but also from environmental effects. For oak, the opposite trend was found in the common garden experiment: L_s increased with increasing altitude of provenance, potentially counteracting and limiting the natural trend. Genetic variability between populations from contrasting environments has already been reported for leaf size in *Populus deltoides* (Rowland 2001) and *Alchemilla alpina* (Morecroft and Woodward 1996), suggesting that diversifying selection with altitude may be responsible for leaf size differentiation. We also found that leaf mass per unit area (LMA) significantly increased with increasing altitude for both species: at high altitude leaves were thicker and smaller than at low altitude. This result is also consistent with previous findings (Zhang and Marshall 1995, Cordell et al. 1998, Li et al. 2004, De Lillis et al. 2004, Hultine and Marshall 2000, Scheepens et al. 2010), whereas the study by Schoettle and Rochelle (2000) highlighted a decrease in LMA with increasing altitude in *Pinus flexilis*. The higher LMA probably results from the lower temperatures at higher altitudes (Meinzer et al. 1985, Friend et al. 1989, Kao and Chang 2001). It has been pointed out that leaves with high LMA

generally contain more photosynthetic machinery per area unit (Vitousek et al. 1990), increasing water use efficiency and photosynthetic capacity at high altitude (Hultine and Marshall 2000). For beech, LMA increased significantly with altitude of provenance, reflecting genetic adaptation to native habitats. Several studies have shown that the in situ phenotypic variability of LMA may result partly from the local genetic adaptations of populations over the altitudinal gradient (Martin et al. 2007, Schulze et al. 2006, Agrawal et al. 2008, Scheepens et al. 2010). In our study, in situ between-population variation was always greater than that observed in the common garden experiment, demonstrating the importance of environmental factors.

Our results also showed an increase in leaf nitrogen content per unit area (N_a) with increasing altitude, consistent with the findings of several previous studies (Cordell et al. 1999, Oleksyn et al. 1998, Sparks and Ehleringer 1997, De Lillis et al. 2004). However, several studies have highlighted a decrease in N_a (Zhang et al. 2005) or the absence of a significant trend with increasing altitude (Premoli and Brewer 2007). High leaf nitrogen content at high altitude may be a response to low temperature rather than nutrient concentration in smaller leaves (i.e. high LMA) (Weih and Karlsoon,

2001). Leaf nitrogen content is less diluted under cold conditions than under warm conditions (Körner 1999), particularly if low temperatures and short growing seasons restrict shoot growth more than N uptake by roots, resulting in a higher concentration of nitrogen in leaves. Alternatively, plants growing at high altitude may adopt a strategy of adaptation to lower resource availability (Chapin et al. 1990) and higher abiotic stress levels (cold hardiness). In the common garden experiment, N_a followed a trend similar to that in natural conditions, although the absolute values were lower and the range was narrower. The trends observed were generally similar (Reich et al. 1996, Schulze et al. 2006) indicating roles for both genetic and environmental effects in driving in situ between-population variation in leaf nitrogen content.

Maximum assimilation rate (A_{max}) also increased with increasing altitude for both species. This positive trend has been widely documented in various other species: *Nothofagus pumilio* (Premoli and Brewer 2007), *Nothofagus sp.* (Kohout and Read 2006), *Quercus pannosa* (Zhang et al. 2005) and *Pinus merkusii* (Koskela 2001). The increase in A_{max} with increasing altitude may result from the higher leaf nitrogen content at high altitude (Friend et al. 1989) due to the greater thickness of the leaves (lower LMA). Photosynthetic

capacity generally increases with leaf nitrogen content per unit area, because photosynthetic enzymes, such as RuBP carboxylase, contain large quantities of nitrogen (Evans 1989, Field and Mooney 1986). Nitrogen content therefore has a positive impact on the rates of carboxylation (Cheng and Fuchigami 2000, Manter et al. 2005) and assimilation (Peterson et al. 1999, Cheng and Fuchigami 2000, Warren et al. 2000). A higher A_{\max} value at high altitude may enable trees to compensate for a short growing season (Körner 2003). In the common garden experiment, A_{\max} significantly increased with altitude of provenance for oak but the slope of the regression line was weaker than in natural conditions. This result is consistent with the findings of Premoli and Brewer (2007), who also highlighted lower levels of between-population variation in common garden experiments than in situ. This physiological trait is thus under both genetic and environmental control, but with the environment making a larger contribution than genetics.

Stomatal density (SD) increased significantly with increasing altitude for both species. No consensus concerning SD has yet been reached: some authors have reported a decrease in SD with increasing altitude (Schoettle and Rochelle 2000, Hultine and Marshall 2000), whereas

others have reported an increase (Körner and Mayr 1981; Hovenden and Brodribb 2000, Premoli and Brewer 2007; Kouwenberg et al. 2007), and no clear trends for the change in stomatal density with altitude were identified in any of the four species examined by Holland and Richardson (2009). A decrease in SD might reflect a decrease in the relative humidity of the air with increasing altitude (Schoettle and Rochelle 2000), whereas an increase in SD might reflect acclimation, counteracting the limited photosynthetic potential due to the decreased in CO_2 partial pressure (McElwain 2004; Körner and Mayr 1981). Körner (1999) also proposed an alternative hypothesis, attributing the altitudinal cline in SD to changes in foliar light interception. Moreover, temperature has been shown to have no significant influence on stomatal density in growth chamber experiments (Kouwenberg et al. 2007). Maximum stomatal conductance (g_{smax}) increased significantly with altitude in our study. Maximum stomatal conductance to water vapor diffusion has been examined as a function of altitude and has generally been reported to increase with altitude (Körner et al. 1986, but see Richardson and Berlyn 2002). Plants with high g_{smax} values may be able to assimilate carbon more rapidly than those with a lower conductance. In the common garden experiment, for both

species, no between-population variation of stomatal density (SD) was observed, implying strong environmental determinism for this trait, whereas g_{smax} in oak followed the same cline as in natural conditions and to a similar extent, suggesting genetic control. Common garden studies have generally reported a lack of population differentiation for both SD and g_s , suggesting environmental control (Premoli and Brewer 2007; Hovenden and Vander Schoor 2006), but exceptions have been found (Hovenden and Brodribb 2000).

The extent to which tree populations are able to adapt to environmental changes will depend on the level and distribution of genetic variation within and between tree populations and phenotypic plasticity. Our results show that, despite gene flow between populations due to their proximity (Alberto et al. 2010), tree populations may nonetheless display genetic differentiation for functional traits due to diversifying selection along the steep environmental gradient. As large within-population differentiation has been reported for all traits, due to selection occurring during past natural warming (Kremer et al. 2010), we suspect that substantial adaptive evolutionary changes are likely to occur in response to current climate change. The upward altitudinal migration of

mountainous species already recorded (Lenoir et al. 2008) will be facilitated by the extensive genetic diversity within populations and phenotypic plasticity (Chuine and Cour 1999, Kramer 1995, Vitasse et al. 2010). However, the lack of systematic, long-term monitoring of species distribution, morphology, physiology and other critical responses of mountain species is seriously hampering our ability to predict the impact of climate change on mountain biodiversity. Moreover, studies at local scales are required to provide insight into the specific factors determining the patterns of species distribution associated with steep altitudinal gradients. We observed similar trends for two geographically distant transects, indicating that local drivers of functional leaf traits may be consistent at the regional scale. For further inference and large-scale generalization, investigations will be required over several climatic and geographic regions (latitudinal gradients).

Acknowledgments

We wish to thank Jean-Marc Louvet for assistance in the field and for his enthusiasm and information about the Pyrenees forests. This study was supported by a grant from *Region Aquitaine and Région Midi-pyrénées* for a project entitled “*Evolution de la biodiversité des forêts sous l’effet des changements globaux*”. Caroline Bresson was supported by an ONF doctoral fellowship.

References

- Agrawal, A.A., A.C. Erwin and S.C. Cook. 2008. Natural selection on and predicted responses of ecophysiological traits of swamp milkweed (*Asclepias incarnata*). *J. Ecol.* 96:536-542.
- Aitken, S.N., S. Yeaman, J.A. Holliday, T.L. Wang and S. Curtis-McLane. 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evol Appl.* 1:95-111.
- Alberto, F., J. Niort, J. Derory, O. Lepais, R. Vitalis, D. Galop and A. Kremer. 2010. Population differentiation of sessile oak at the altitudinal front of migration in the French Pyrenees. *Mol Ecol.* 19:2626-2639.
- Bradshaw, W.E. and C.M. Holzapfel. 2006. Climate change - Evolutionary response to rapid climate change. *Science.* 312:1477-1478.
- Brewer, C.A. and W.K. Smith. 1997. Patterns of leaf surface wetness for montane and subalpine plants. *Plant Cell Environ.* 20:1-11.
- Bresson, C.C., A.S. Kowalski, A. Kremer and S. Delzon. 2009. Evidence of altitudinal increase in photosynthetic capacity: gas exchange measurements at ambient and constant CO₂ partial pressures. *Anna For Sci.* 66:505-505.
- Bürger, R. and C. Krall. 2004. Quantitative-genetic models and changing environments. In: *Evolutionary Conservation Biology*. Eds. R. Ferriere, U. Dieckmann and D. Couvet. University Press, Cambridge, pp 171-187.
- Chapin, F.S., E.D. Schulze and H.A. Mooney. 1990. The ecology and economics of storage in plants. *Annu Rev Ecol Syst.* 21:423-447.
- Cheng, L.L. and L.H. Fuchigami. 2000. RubisCo activation state decreases with increasing nitrogen content in apple leaves. *J Exp Bot.* 51:1687-1694.
- Chuine, I. and P. Cour. 1999. Climatic determinants of budburst seasonality in four temperate-zone tree species. *New Phytol.* 143:339-349.
- Cordell, S., G. Goldstein, F.C. Meinzer and L.L. Handley. 1999. Allocation of nitrogen and carbon in leaves of *Metrosideros polymorpha* regulates carboxylation capacity and delta 13C along an altitudinal gradient. *Funct Ecol.* 13:811-818.
- Cordell, S., G. Goldstein, D. Mueller-Dombois, D. Webb and P.M. Vitousek. 1998. Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient: the role of phenotypic plasticity. *Oecologia.* 113:188-196.
- Davis, M.B. and R.G. Shaw. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science.* 292:673-679.
- De Lillis, M., G. Matteucci and R. Valentini. 2004. Carbon assimilation, nitrogen, and photochemical efficiency of different Himalayan tree species along an altitudinal gradient. *Photosynthetica.* 42:597-605.
- Evans, J.R. 1989. Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C₃ plants. *Oecologia.* 78:9-19.
- Farquhar, G.D., S.V. Caemmerer and J.A. Berry. 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C₃ species. *Planta.* 149:78-90.
- Field C, H.A. Mooney. 1986. The photosynthesis-nitrogen relationship in wild plants. In: *On the economy of plant form and function*. Eds. G.T. Givnich.

- University Press, Cambridge, pp 22-55.
- Friend, A.D., F.I. Woodward and V.R. Switsur. 1989. Field measurements of photosynthesis, stomatal conductance, leaf nitrogen and $\delta^{13}\text{C}$ along altitudinal gradients in Scotland. *Funct Ecol.* 3:117-122.
- Granier, A. and D. Loustau. 1994. Measuring and modelling the transpiration of a maritime pine canopy from sap-flow data. *Agr Forest Meteorol.* 71:61-81.
- Holland, N. and A.D. Richardson. 2009. Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *J Sust Forest.* 28: 63-73.
- Hovenden, M.J. and T. Brodribb. 2000. Altitude of origin influences stomatal conductance and therefore maximum assimilation rate in Southern Beech, *Nothofagus cunninghamii*. *Aust J Plant Physiol.* 27:451-456.
- Hovenden, M.J. and J.K. Vander Schoor. 2006. The response of leaf morphology to irradiance depends upon altitude of origin in *Nothofagus cunninghamii*. *New Phytologist.* 169:291-297.
- Hultine, K.R. and J.D. Marshall. 2000. Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. *Oecologia.* 123:32-40.
- Jensen, J.S. and J.K. Hansen. 2008. Geographical variation in phenology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl and *Quercus robur* L. oak grown in a greenhouse. *Scand J For Res.* 23:179-188.
- Jump, A.S. and J. Penuelas. 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecol Lett.* 8:1010-1020.
- Kao, W. and K. Chang. 2001. Altitudinal trends in photosynthetic rate and leaf characteristics of *Miscanthus* populations from central Taiwan. *Aust J Bot.* 49:509-514.
- Kohout, M. and J. Read. 2006. Instantaneous photosynthetic responses to temperature of deciduous and evergreen *Nothofagus* species. *Aust J Bot.* 54:249-259.
- Körner, C., and R. Mayr. 1981. Stomatal behaviour in alpine plant communities between 600 and 2600 metres above sea level. In *plants and their atmospheric environment*. Eds. J. Grace, E.D. Ford and PG Jarvis, pp 205-218.
- Körner, C., P. Bannister and A.F. Mark. 1986. Altitudinal variation in stomatal conductance, nitrogen content and leaf anatomy in different plant life forms in New Zealand. *Oecologia.* 69:577-588.
- Körner, C. 1999. *Alpine plant life*. Eds. Springer-Verlag Berlin. 338 p.
- Körner, C. 2003. Carbon limitation in trees. *J Ecol.* 91:4-17.
- Körner, C. 2007. The use of 'altitude' in ecological research. *Trends Ecol Evol.* 22:569-574.
- Koskela, J. 2001. Responses of gas exchange and growth in Merkus pine seedlings to expected climatic changes in Thailand. *Glob Change Biol.* 7:641-656.
- Kouwenberg, L.L.R., W.M. Kürschner and J.C. McElwain. 2007. Stomatal frequency change over altitudinal gradients: prospects for paleoaltimetry. *Rev Min Geo.* 66:215-241.
- Kramer, K. 1995. Phenotypic plasticity of the phenology of seven European tree species in relation to climatic warming. *Plant Cell Environ.* 18:93-104.
- Kremer, A. 2007. How well can existing forests withstand climate change? In *Climate change and forest genetic diversity. Implications for sustainable forest management in Europe*. J. Koskela, A. Buck and E.

- Teissier du Cros. Eds. *Biodiversity International*, Rome, pp 3-17.
- Kremer, A., V. Le Corre, R.J. Petit and A. Ducouso. 2010. Historical and contemporary dynamics of adaptive differentiation in European oaks. In: A. DeWoody, J. Bickham, C. Michler, K. Nichols, G. Rhodes and K. Woeste. Eds. *Molecular approaches in natural resource conservation*. University Press, Cambridge, in press
- Latta, R.G. 2003. Gene flow, adaptive population divergence and comparative population structure across loci. *New Phytol.*, 161, 51–58.
- Lenoir, J., J.C. Gegout, P.A. Marquet, P. de Ruffray and H. Brisse. 2008. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science*. 320:1768-1771.
- Lesica, P. and B. McCune. 2004. Decline of arctic-alpine plants at the southern margin of their range following a decade of climatic warming. *J Veg Sci*. 15:679-690.
- Li, C.Y., S.R. Liu and F. Berninger. 2004. *Picea* seedlings show apparent acclimation to drought with increasing altitude in the eastern Himalaya. *Trees-Struct Funct*. 18:277-283.
- Lindner, M., M. Maroschek, S. Netherer, A. Kremer, A. Barbati, J. Garcia-Gonzalo, R. Seidl, S. Delzon, P. Corona, M. Kolstrom, M.J. Lexer and M. Marchetti. 2009. Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. *Forest Ecol Manag*. 259:698-709.
- Manter, D.K., K.L. Kavanagh and C.L. Rose. 2005. Growth response of Douglas-fir seedlings to nitrogen fertilization: importance of RubisCo activation state and respiration rates. *Tree Physiol*. 25:1015-1021.
- Martin, R.E., G.P. Asner and L. Sack. 2007. Genetic variation in leaf pigment, optical and photosynthetic function among diverse phenotypes of *Metrosideros polymorpha* grown in a common garden. *Oecologia*. 151:387-400.
- McElwain, J. C. 2004. Climate-independent paleoaltimetry using stomatal density in fossil leaves as a proxy for CO₂ partial pressure. *Geology*. 32:1017–1020.
- Meinzer, F.C., G.H. Goldstein and P.W. Rundel. 1985. Morphological changes along an altitudinal gradient and their consequences for an Andean giant rosette plant. *Oecologia*. 65:278-283.
- Migliavacca, M., E. Cremonese, R. Colombo, L. Busetto, M. Galvagno, L. Ganis, M. Meroni, E. Pari, M. Rossini, C. Siniscalco and U.M. di Cella. 2008. European larch phenology in the Alps: can we grasp the role of ecological factors by combining field observations and inverse modelling? *Int J Biometeorol*. 52:587-605.
- Morecroft, M.D. and F.I. Woodward. 1996. Experiments on the causes of altitudinal differences in the leaf nutrient contents, size and $\delta^{13}\text{C}$ of *Alchemilla alpina*. *New Phytol*. 134:471-479.
- Moser, L., P. Fonti, U. Buntgen, J. Esper, J. Luterbacher, J. Franzen and D. Frank. 2010. Timing and duration of European larch growing season along altitudinal gradients in the Swiss Alps. *Tree Physiol*. 30:225-233.
- Oleksyn, J., J. Modrzyński, M.G. Tjoelker, R. Zytkowski, P.B. Reich and P. Karolewski. 1998. Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Funct Ecol*. 12:573-590.

- Oren, R., J.S. Sperry, G.G. Katul, D.E. Pataki, B.E. Ewers, N. Phillips and K.V.R. Schafer. 1999. Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant Cell Environ.* 22:1515-1526.
- Parmesan, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annu Rev Ecol Syst.* 37:637-669.
- Pauli, H., M. Gottfried, K. Reier, C. Klettner and G. Grabherr. 2007. Signals of range expansions and contractions of vascular plants in the high Alps: observations (1994-2004) at the GLORIA*master site Schrankogel, Tyrol, Austria. *Glob Change Biol.* 13:147-156.
- Peterson, A.G., J.T. Ball, Y. Luo, C.B. Field, P.S. Curtis, K.L. Griffin, C.A. Gunderson, R.J. Norby, D.T. Tissue, M. Forstreuter, A. Rey and C.S. Vogel. 1999. Quantifying the response of photosynthesis to changes in leaf nitrogen content and leaf mass per area in plants grown under atmospheric CO₂ enrichment. *Plant Cell Environ.* 22:1109-1119.
- Premoli, A.C. and C.A. Brewer. 2007. Environmental v. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Aust J Bot.* 55:585-591.
- Qiang, W.Y., X.L. Wang, T. Chen, H.Y. Feng, L.Z. An, Y.Q. He and G. Wang. 2003. Variations of stomatal density and carbon isotope values of *Picea crassifolia* at different altitudes in the Qilian Mountains. *Trees-Struct Funct.* 17:258-262.
- Reed, D.H. and R. Frankham. 2001. How closely correlated are molecular and quantitative measures of genetic variation? A meta-analysis. *Evolution*, 55, 1095–1103.
- Reich, P.B., J. Oleksyn and M.G. Tjoelker. 1996. Needle respiration and nitrogen concentration in Scots Pine populations from a broad latitudinal range: A common garden test with field-grown trees. *Funct Ecol.* 10:768-776.
- Richardson, A. D. and G.P. Berlyn. 2002. Spectral reflectance and photosynthetic properties of *Betula papyrifera* (Betulaceae) leaves along an elevational gradient on Mt. Mansfield, Vermont, USA. *Am J Bot.* 89, 88–94.
- Rice, K.J. and N.C. Emery. 2003. Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Front Ecol Env.* 1:469-478.
- Rowland, D.L. 2001. Diversity in physiological and morphological characteristics of four cottonwood (*Populus deltoides* var. *wislizenii*) populations in New Mexico: evidence for a genetic component of variation. *Can J Forest Res.* 31:845-853.
- Saxe, H., M.G.R. Cannell, B. Johnsen, M.G. Ryan and G. Vourlitis. 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytol.* 149:369-399.
- Scheepens, J., E. Frei and J. Stöcklin. 2010. Genotypic and environmental variation in specific leaf area in a widespread Alpine plant after transplantation to different altitudes. *Oecologia.* 164:141-150.
- Schoettle, A.W. and S.G. Rochelle. 2000. Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *Am J Bot.* 87:1797-1806.
- Schulze, E.D., N.C. Turner, D. Nicolle and J. Schumacher. 2006. Species differences in carbon isotope ratios, specific leaf area and nitrogen concentrations in leaves of *Eucalyptus* growing in a common garden compared with along an aridity gradient. *Physiol Plantarum.* 127:434-444.

- Sparks, J.P. and J.R. Ehleringer. 1997. Leaf carbon isotope discrimination and nitrogen content for riparian trees along elevational transects. *Oecologia*. 109:362-367.
- Still, D.W., N. Aoyama and D.H. Kim. 2005. Genetic variation in *Echinacea angustifolia* along a climatic gradient. *Ann Bot.* 96, 467-477.
- Sultan, S.E. 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci.* 5:537-542.
- Vitasse, Y., C.C. Bresson, A. Kremer, R. Michalet and S. Delzon. 2010. Quantifying plasticity of leaf phenology in response to temperature for two temperate tree species using transplant experiments. *Funct Ecol.* doi: 10.1111/j.1365-2435.2010.01748.x.
- Vitasse, Y., S. Delzon, C.C. Bresson, R. Michalet and A. Kremer. 2009a. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Can J Forest Res.* 39:1259-1269.
- Vitasse, Y., A.J. Porte, A. Kremer, R. Michalet and S. Delzon. 2009b. Responses of canopy duration to temperature changes in four temperate tree species: relative contributions of spring and autumn leaf phenology. *Oecologia*. 161:187-198.
- Vitousek, P.M., C.B. Field and P.A. Matson. 1990. Variation in foliar $\delta^{13}\text{C}$ in Hawaiian *metrosideros polymorpha*-A case of internal resistance. *Oecologia*. 84:362-370.
- Warren, C.R., M.A. Adams and Z.L. Chen. 2000. Is photosynthesis related to concentrations of nitrogen and RubisCo in leaves of Australian native plants? *Australian Journal of Plant Physiol.* 27:407-416.
- Weih, M. and P.S. Karlsson. 2001. Growth response of mountain birch to air and soil temperature: is increasing leaf-nitrogen content an acclimation to lower air temperature? *New Phytol.* 150:147-155.
- Zhang, J.W. and J.D. Marshall. 1995. Variation in carbon isotope discrimination and photosynthetic gas exchange among populations of *Pseudotsuga menziesii* and *Pinus ponderosa* in different environments. *Funct Ecol.* 9:402-412.
- Zhang, S., Z. Zhou, H. Hu, K. Xu, N. Yan and S. Li. 2005. Photosynthetic performances of *Quercus pannosa* vary with altitude in the Hengduan Mountains, southwest China. *Forest Ecol Manag.* 212:291-301.

Chapitre 4

Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species

Y. Vitasse^{*}, C.C. Bresson^{*}, A. Kremer, R. Michalet and S. Delzon

^{*} contributed equally to the data extraction, statistical analysis and preparation of the manuscript and are therefore considered to be co-first authors

Functional Ecology (2010) 24, 1211–1218



Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species

Yann Vitasse^{1,†}, Caroline C. Bresson^{1,†}, Antoine Kremer², Richard Michalet¹ and Sylvain Delzon^{*,1}

¹Department of Biology, University of Bordeaux, UMR BIOGECO, Avenue des Facultés, 33405 Talence, France; and

²INRA, UMR 1202 BIOGECO, 69 route d'Arcachon, 33612 Cestas, France

Summary

1. Phenotypic plasticity allows large shifts in the timing of phenology within one single generation and drives phenotypic variability under environmental changes, thus it will enhance the inherent adaptive capacities of plants against future changes of climate.

2. Using five common gardens set along an altitudinal gradient (100–1600 m asl.), we experimentally examined the phenotypic plasticity of leaf phenology in response to temperature increase for two temperate tree species (*Fagus sylvatica* and *Quercus petraea*). We used seedlings from three populations of each species inhabiting different altitudes (400, 800 and 1200 m asl.). Leaf unfolding in spring and leaf senescence in autumn were monitored on seedlings for 2 years.

3. Overall, a high phenological plasticity was found for both species. The reaction norms of leaf unfolding date to temperature linearly accelerated for both species with an average shift of -5.7 days per degree increase. Timing of leaf senescence exhibited hyperbolic trends for beech due to earlier senescence at the lowest elevation garden and no or slight trends for oak. There was no difference in the magnitude of phenological plasticity among populations from different elevations. For both species, the growing season length increased to reach maximum values at about 10–13 °C of annual temperature according to the population.

4. Since the magnitude of phenological plasticity is high for all the tested populations, they are likely to respond immediately to temperature variations in terms of leaf phenology. Consequently the mid- to high-elevation populations are likely to experience a longer growing season with climate warming. The results suggest that climate warming could lengthen the growing season of all populations over the altitudinal gradient, although the low-elevation populations, especially of beech, may experience accelerated senescence and shorter growing season due to drought and other climate changes associated with warming.

Key-words: altitudinal gradient, common garden, *Fagus sylvatica*, phenology, phenotypic plasticity, *Quercus petraea*, reaction norm

Introduction

During the postglacial period, species populations responded to global warming by migrating toward higher latitudes or altitudes, resulting in local extinctions and modifications in species distributions (Davis & Shaw 2001; Petit *et al.* 2003). Indeed, pollen records, chloroplast DNA analyses (Brewer *et al.* 2002; Petit *et al.* 2002; Magri *et al.* 2006)

and field observations (Walther *et al.* 2002) demonstrate that species migration is highly correlated with global climatic cycles. Although species migrations have been reported over the last few decades (Parmesan & Yohe 2003; Bertin 2008), in many cases the current rate of global warming might be too rapid for natural migration to successfully deliver species to suitable habitats (Rice & Emery 2003; Aitken *et al.* 2008). Some recently observed population extinctions seem to have been driven by current climate warming (Penuelas & Boada 2003; Lavergne *et al.* 2005; Lavergne, Molina & Debussche 2006).

However, populations could persist in their current location and withstand environmental changes if they have

*Correspondence author. E-mail: sylvain.delzon@u-bordeaux1.fr
†Y. Vitasse and C.C. Bresson contributed equally to the data extraction, statistical analysis and preparation of the manuscript and are therefore considered to be co-first authors.

adaptive capacities (Lindner *et al.* 2009). Non-neutral genetic diversity and phenotypic plasticity are the two key processes that allow plant survival and development in different environments (Pigliucci, Murren & Schlichting 2006). First, a high genetic diversity among and within populations would improve opportunities of rapid adaptation to a new environment (Hamrick 2004). Common garden experiments have shown clinal variation in adaptive traits according to the climate of the tree populations (Morgenstern 1996; Howe *et al.* 2003; Premoli, Raffaele & Mathiasen 2007; Vitasse *et al.* 2009a; Viveros-Viveros *et al.* 2009). Secondly, short-term phenotypic plasticity is one of the most significant ways in which plants can react and cope with rapid environmental change (Sultan 2004; Pigliucci, Murren & Schlichting 2006; Valladares, Sanchez-Gomez & Zavala 2006; Ghalambor *et al.* 2007). Hence, under rapid climate change phenotypic plasticity rather than genetic diversity will likely play a crucial role in allowing plants to persist in their environment. At the population scale, low phenotypic plasticity in crucial characters for fitness might result in a high probability of extinction (Rehfeldt, Wykoff & Ying 2001). However, little is known about the phenotypic plasticity of many plants, particularly those with a long lifespan such as trees which may experience large changes in climate conditions during their life times (Rehfeldt, Wykoff & Ying 2001; Valladares *et al.* 2005). Therefore, to assess population responses to climate change, it is crucial to quantify both the magnitude of phenotypic plasticity and the rate of genetic evolution.

Phenotypic plasticity driven by temperature significantly influences species distributions. Traits that are highly significant for tree fitness, such as phenology, growth and frost resistance, seem to be widely implicated in these distributional patterns (Chuine & Beaubien 2001). To assess phenotypic plasticity of these functional traits along environmental gradients, we need to obtain reaction norms. Here, we conducted a reciprocal transplants experiment with multiple common gardens, in which individuals were planted in their native environment and the environments of other populations. This experimental design allows us to characterize local adaptation and to estimate the optimum conditions for the population by comparing traits in native and non-native climates (Rehfeldt *et al.* 2002; Kawecki & Ebert 2004; Savolainen, Pyhäjärvi & Knurr 2007). 'Home vs. away' comparisons are particularly interesting in the context of current global warming (Savolainen, Pyhäjärvi & Knurr 2007).

Altitudinal gradients are particularly relevant in order to study plants phenological responses to temperature because they provide a wide temperature range over a very short distance. Phenological plasticity should be of special importance for species located in mountain habitats since it is much more likely that the offspring will experience a very different climate than the parents, if seed dispersal occurs at relatively short distances up or down the mountain. This current study complements two previous studies that focused on phenological variations of temperate tree species along the same altitudinal gradient (Vitasse *et al.* 2009c) and on genetic differentiation among these tree populations (Vitasse *et al.*

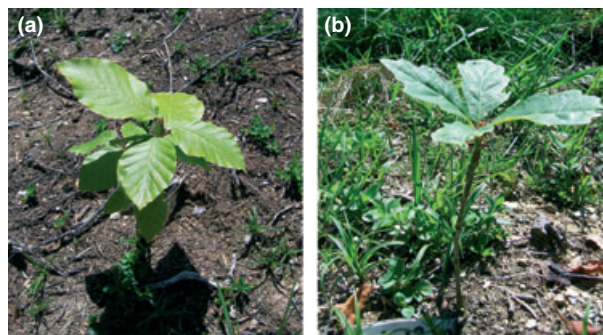


Fig. 1. Two-year-old seedlings of European beech (*Fagus sylvatica* L.) (a) and sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) (b) after transplantation at the high elevation site.

2009a). In this latter study, the authors pointed out genetic differentiation in leaf phenology among populations from different elevations. This present paper aims to focus on phenological plasticity, highlighting another aspect of the adaptive capacities of trees.

Here, through reciprocal transplant experiments along an altitudinal gradient in Pyrénées mountains, we assessed plasticity of leaf phenology of two dominant European tree species also largely used for timber industry, sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) (Fig. 1). The objectives of this study were (i) to characterize reaction norms for leaf phenology to temperature in populations originating from different elevations, (ii) to test if these populations exhibit different patterns or magnitude of plasticity and (iii) to examine if these populations were currently located in their optimum climate according to their growing season length.

Materials and methods

STUDY SPECIES

Based on their large distribution in Europe, we selected two broadleaf species occurring over a large altitude range in the Pyrénées mountains: sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.). These two species have contrasting phenological patterns over altitudinal gradients; beech exhibits a low variation in leaf unfolding dates over the gradient and a high variation in leaf senescence dates whereas oak has a high sensitivity for both phenological events (Vitasse *et al.* 2009c).

PLANTING SITES

We set up five common gardens at different elevations: 131, 488, 833, 1190 and 1533 m in the Gave valley in Pyrénées Mountains (south-western France). This region is characterized by a temperate oceanic climate, with mean annual temperature of 12 °C and mean annual precipitation of 1079 mm at low elevation (for 1946–2001 in Tarbes, 43°11'N, 00°00'W, 360 m ASL, Météo France). The planting all occurred on north-facing slopes in open areas close to a beech forest. Locations and environmental conditions of planting sites are described in Table 1. At all sites, soils are deep and well-drained with a silty surface texture. In each planting site, the soil was tilled in

Table 1. Location and climate of the common gardens in the Pyrénées Mountains

Site	Altitude	Latitude	Longitude	Slope aspect	2007				2008			
					T_a	T_{3-5}	T_{9-11}	VPD _{max}	T_a	T_{3-5}	T_{9-11}	VPD _{max}
Laveyron	131	43°45'N	00°13'W	Flat	12.6	13.0	11.4	4.44	12.7	12.2	12.1	5.59
Lourdes	488	43°05'N	00°05'W	North	11.0	10.8	10.3	2.07	11.0	10.3	10.6	1.22
Arras-Sireix	833	42°58'N	00°08'W	North	9.6	9.3	8.5	2.26	9.5	8.5	8.8	1.36
Haugarou	1190	43°00'N	00°12'W	North	7.6	7.1	7.0	3.69	7.4	6.2	6.9	2.75
Lienz	1533	42°53'N	00°04'E	North	6.1	5.3	5.6	2.73	5.8	4.5	5.4	2.21

Altitude corresponds to the exact elevation above sea level (m); T_a is the mean annual temperature (°C); T_{3-5} is the mean temperature from 1 March to 31 May; T_{9-12} is the mean temperature from 1 September to 30 November. VPD_{max} is the average of the 10 maximum daily values of air vapour pressure deficit of August (kPa).

Table 2. Location and climate of beech and oak populations used for transplant experiments

Altitude	Fagus sylvatica				Quercus petraea					
	Exact altitude	Latitude	Longitude	Slope aspect	T_a	Exact altitude	Latitude	Longitude	Slope aspect	T_a
400	488	43°05'N	00°05'W	North	11.4	427	43°08'N	00°00'W	South	12.3
800	773	42°55'N	00°02'W	North	10.3	803	42°55'N	00°02'W	South	11.0
1200	1190	43°00'N	00°12'W	North	7.8	1235	42°47'N	00°02'E	South	9.7

Altitude corresponds to the exact elevation above sea level (m); T_a is the mean annual temperature (°C) averaged over 3 years (2005–2006–2007).

September 2006 prior to planting. Herbicide was applied to remove existing weeds 2 weeks before tilling in each common garden.

POPULATION ORIGINS AND DESIGN

To set up the reciprocal transplant experiments, we used three populations of beech and oak originating from 400, 800 and 1200 m (± 50 m) of elevation in the Gave valley (Table 2). In November 2006, 2- or 3-year-old seedlings of each population were transplanted within 4 days in the five planting sites. Each common garden was divided into four separate blocks, with four seedlings from each population assigned to each block, for a total of 96 seedlings per garden (2 species \times 3 populations \times 16 replicates). Seedlings were transplanted in each block with a systematic design at spacing of 50 cm within and between rows. To minimize the impact of transplant shock, the seedling roots were covered with nutritional and protective gel. Seedlings were watered on planting date, and then received only ambient rainfall. Each common garden was treated with pesticide (deltamethrin, Pyrethroid) and molluscicide (5% metaldehyde, Metarex, to prevent slug damage) in spring 2007 and 2008. A fence was installed to prevent herbivore attack.

Survival rate was homogeneous across the five common gardens, with 62% and 81% surviving after the second growing season for oak and beech respectively. Phenological observations were therefore monitored on 149 and 194 seedlings of oak and beech respectively.

METEOROLOGICAL MEASUREMENTS

Air temperature and relative humidity were recorded every hour in each common garden (2006–2008) and sites of population origin (2005–2008), using data loggers (HOBO Pro RH/Temp; Onset Computer Corporation, Bourne, MA 02532, USA). Sensors were situated 1.5 m-high above the ground on a pole in one of the four replicate blocks. Sensors were protected by a white plastic shelter to prevent

any exposure to rain or to direct sunlight. Meteorological data of planting and population sites are summarized in Tables 1 and 2 respectively. Average annual temperatures decreased linearly with increasing elevation: temperature lapse rate was about 0.42 °C for every 100 m increase in elevation (average from 2007 to 2008). Therefore, the altitudinal gradient results in sharply contrasting climatic conditions among planting sites (amplitude of 6.3 and 7.7 °C between the lowest and the highest common gardens in autumn and spring respectively). Furthermore, we calculated the maximum air vapour pressure deficit (VPD_{max}, kPa) as the mean of the ten highest daily VPD values recorded in August (Table 1). At low elevation, values of VPD were particularly high in comparison to the other planting sites (more than 4.4 kPa), and values were overall higher in 2008 than in 2007 (3.18 and 1.71 kPa respectively).

PHENOLOGICAL OBSERVATIONS

The timing of leaf unfolding and leaf senescence were monitored from spring 2007 to autumn 2008 (2 years) by two observers. We examined each seedling every 10 days in spring from March to May and in autumn from September to December. Observations were standardized between observers throughout the first year of measurements. In spring, we recorded the stage of the apical buds from dormant winter-bud to leaf unfolding, using a 3 or 4 intermediate grading scale for beech and oak respectively (see Vitasse *et al.* 2009b). We considered that leaf unfolding date was reached for each seedling when at least one leaf was fully unfolded on the apical bud. Some buds were damaged in spring 2007 and 2008 by phytophagous insects. These damaged seedlings were removed before analyses. In autumn, we combined observations of coloration and leaf fall to more accurately estimate the end of growing season length. Percentage of missing or coloured leaves was assessed visually on each seedling. We considered that senescence date was reached for each seedling when 50% of its leaves were not functional, i.e. either coloured or fallen, following the

method provided in Vitasse *et al.* (2009c). Then, for each seedling, the dates of senescence were estimated by linear regression between two measurement campaigns.

Averages of leaf unfolding and senescence dates were calculated for each population per block and common garden as the average of the dates for all the individuals of the same population. Finally, average dates of leaf unfolding and senescence for each population at each common garden were calculated as the average date estimated for the four blocks. Growing season length was obtained by computing the difference between the senescence and the leaf unfolding date of each individual and the mean was calculated for each population per block and common garden.

STATISTICAL AND DATA ANALYSIS

An analysis of variance was made using the GLM procedure with the RANDOM statement considering the five common gardens together. The statistical model treats blocks as the fixed effect and common gardens and populations as random effects. In this paper, we are considering plasticity at the population level, as an average across individuals from each population (Richards *et al.* 2006; Valladares, Sanchez-Gomez & Zavala 2006) rather than in strict sense, at the genotype level. Since each common garden represented a different environment (different altitude), a significant main effect of altitude indicates environmentally induced phenotypic plasticity for the studied trait. A significant interaction between altitude and population indicates that the magnitude of the plastic response is dependent on the altitude of the population of origin which is the result of genetically induced phenotypic plasticity.

The relationship between phenological traits and altitude or climate of the planting sites was assessed with linear regressions and quadratic functions. Linear regressions were rejected if the probability of statistical significance (P) was >0.05 , whereas quadratic functions were rejected if P was >0.25 (according to Rehfeldt *et al.* 2002). Several temperature variables were tested to explain phenological variations: mean annual temperature, mean spring temperature and degree-days >5 °C calculated from 1 March to 31 May, mean autumn temperature and degree-days <0 °C calculated from 1 September to 30 November. In agreement with Vitasse *et al.* (2009c), we found that mean annual temperature was the most effective variable for explaining the growing season length and mean spring and mean autumn temperature for explaining the date of leaf unfolding and leaf senescence respectively. We therefore used these three variables

throughout the paper. A covariance analysis was used to compare slopes of the linear regression between leaf unfolding date and spring temperature.

We calculated the discrepancy between the inhabited (T_{pop}) and optimal (T_{opt}) temperature as the difference between these two values (ΔT), with T_{pop} corresponding to the mean annual temperature (2005–2007) of the origin sites of populations, T_{opt} refers to the optimal temperature at which growing season length is maximized within the environmental range examined. All the analyses were performed using SAS 9.1 software (SAS, version 9.2; SAS Institute, Cary, NC, USA).

Results

LEAF UNFOLDING

We found a strong significant effect of altitude on leaf unfolding date in 2007 and 2008 for both species, amounting to more than 76% of the total variance (Table 3). Timing of leaf unfolding differed among populations for beech both in 2007 and 2008, occurring earlier for the high elevation population (originating from 1200 m) whatever the elevation of the common garden (Fig. 2). In contrast, no population effect was found for oak. For beech, a weakly significant interaction between population and altitude was found only in 2007, amounting to 2.5% of the total variance (Table 3).

Mean leaf unfolding timing occurred around day 125 (5 May) and day 130 (10 May) for beech and oak respectively. According to temperature, reaction norms were linear ($R^2 > 0.80$, $P < 0.001$) but the magnitude of phenological plasticity was slightly higher for oak populations (ranging from -5.7 ± 0.8 SD to -6.3 ± 0.5 days degree $^{-1}$) compared to beech populations (ranging from 4.9 ± 0.6 to 5.8 ± 0.6 days degree $^{-1}$; Fig. 2). At low elevation (100 m), leaves of the two species unfolded at the same date, around day 110 (20 April), whereas at high elevation (1600 m), seedlings flushed about days 148 (28 May) and 155 (4 June) for beech and oak respectively (Fig. 2). For both species, no difference in slopes between leaf unfolding and spring temperatures was found among the three populations when the phenological measurements of the 2 years were pooled (Fig. 2, P -value from 0.80 to 0.92).

Table 3. Analysis of variance of leaf unfolding (LU) and leaf senescence dates (LS) for oak and beech seedlings, to examine the effects of altitude of common gardens, population origin and blocks within gardens

	Fagus sylvatica								Quercus petraea							
	LU ₂₀₀₇		LU ₂₀₀₈		LS ₂₀₀₇		LS ₂₀₀₈		LU ₂₀₀₇		LU ₂₀₀₈		LS ₂₀₀₇		LS ₂₀₀₈	
	VC	F	VC	F	VC	F	VC	F	VC	F	VC	F	VC	F	VC	F
Altitude	77.5	70***	85	285***	19.6	5.7*	11.7	2.1 ^{ns}	81.1	133***	76.3	47***	5.2	1.8 ^{ns}	8.5	9.7**
Population	2.4	5.6*	3.5	23.9***	0	0.5 ^{ns}	0	0.7 ^{ns}	0	0.02 ^{ns}	0.2	0.8 ^{ns}	3.6	2.8 ^{ns}	0	3.6 ^{ns}
Block	–	3.7***	–	5.3***	–	1.5 ^{ns}	–	0.3 ^{ns}	–	2.4**	–	1.7 ^{ns}	–	2.3*	–	8.5***
Population × Altitude	1.1	2.5*	0.03	0.9 ^{ns}	3.3	1.6 ^{ns}	0.05	0.3 ^{ns}	0	1.3 ^{ns}	2.3	2.1 ^{ns}	6.3	1.6 ^{ns}	0	0.4 ^{ns}

VC, ratio (in %) of variance component of each random effect to total variance estimated; F, Fisher value; ns, non-significant.

* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$.

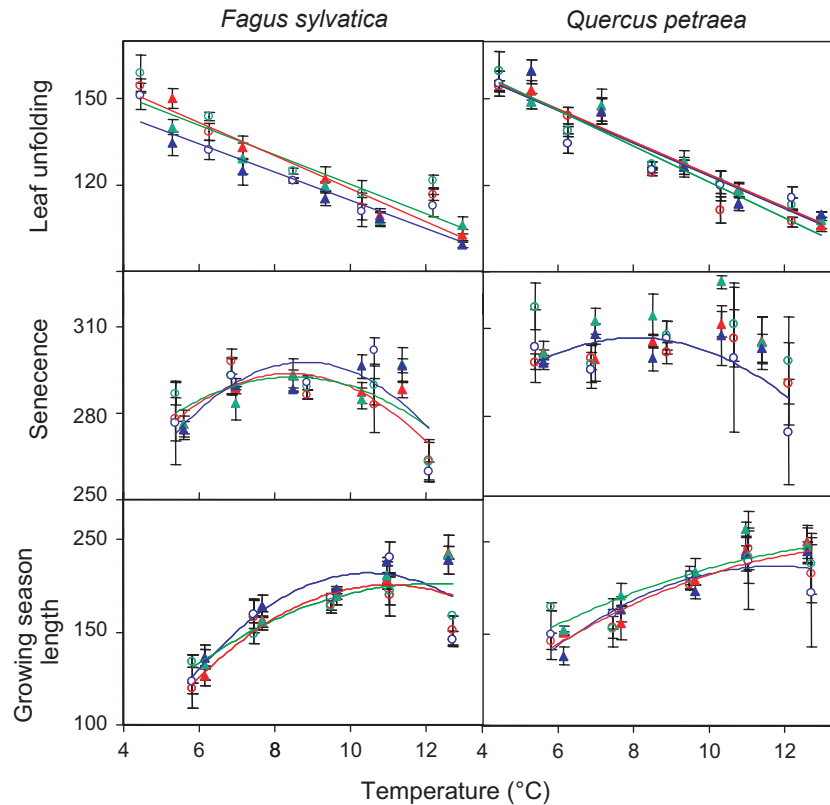


Fig. 2. Dates of leaf unfolding, leaf senescence (DOY, Day of the Year) and growing season length (number of day) according to temperature variables of common gardens for the three studied populations of each species. Mean spring, autumn and annual temperature were used for leaf unfolding, senescence and growing season, respectively. Colours correspond to the selected populations: red, population from 400 m, green, 800 m and blue, 1200 m. Full triangles and open circles represent the phenological observations in 2007 and 2008 respectively. Values correspond to the mean of all individuals per common garden and per population and bars to the standard errors. Linear and quadratic regressions have been done per population for each species.

LEAF SENESCENCE

For beech, we found a significant effect of altitude on leaf senescence timing only in 2007 (explaining 20% of total variance), whereas only a slight effect was detected for oak in 2008 (8.5%, Table 3). Finally, for both species, timing of leaf senescence did not vary among populations and no significant interaction between population and altitude was found (Table 3).

Mean senescence timing occurred later for oak than for beech, around day 303 (30 October) and day 285 (12 October) respectively. For the three beech populations, senescence follows hyperbolic trends: in 2008 and to a lesser extent in 2007, leaf senescence occurred the earliest both in the coldest common garden (at 1600 m of elevation) and the warmest one (at 100 m of elevation). For oak, a similar hyperbolic response was found for the population originating from the highest elevation (1200 m) but no significant trend was observed for the two other populations.

GROWING SEASON LENGTH

We found a significant effect of altitude on growing season length in 2007 explaining 78% and 63% of total variance for

beech and oak respectively (Table 4). In 2008, this altitude effect was also significant but explained less variability than in 2007 (48% and 27% of total variance for beech and oak respectively). For both species, growing season length did not differ among populations and no significant interaction between population and altitude has been found (Table 4). The length of the growing season increased with increasing temperature for both species but was lower for beech than for oak whatever the elevation (Fig. 2): at high elevation, growing season length was about 129 and 150 days for beech and oak, respectively, whereas at low elevation the season length increased to 172 and 192 days respectively (average of the 2 years at 100 and 1600 m asl. respectively).

For both species, optimal values of growing season length were found between 10 and 13 °C of annual temperature (Fig. 2). These optimal temperature values were quite different among beech populations (from 10.5 to 12.2 °C) but quite similar among oak populations (from 11.8 to 12.7 °C). For both species the difference between current temperature at the origin of population site and their optimal values were strongly negative for populations from 800 and 1200 m ($\Delta_T < -1$ °C) whereas these differences were close to zero for low elevation populations and even positive for beech (Fig. 3).

Table 4. Analysis of variance of growing season length (GSL) for oak and beech

	Fagus sylvatica				Quercus petraea			
	GSL ₂₀₀₇		GSL ₂₀₀₈		GSL ₂₀₀₇		GSL ₂₀₀₈	
	VC	F	VC	F	VC	F	VC	F
Altitude	77.8	156***	47.5	20***	63.1	58***	27.2	32***
Population	1.5	1.1 ^{ns}	1.2	1.7 ^{ns}	1.2	3.3 ^{ns}	0	1.9 ^{ns}
Block	–	1.8*	–	2.0*	–	2.1*	–	8.2***
Population × Altitude	0	0.3 ^{ns}	0.9	0.8 ^{ns}	0	0.7 ^{ns}	0	0.5 ^{ns}

VC, ratio (in %) of variance component of each random effect to total variance estimated; F, Fisher value; ns, non-significant.

* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$.

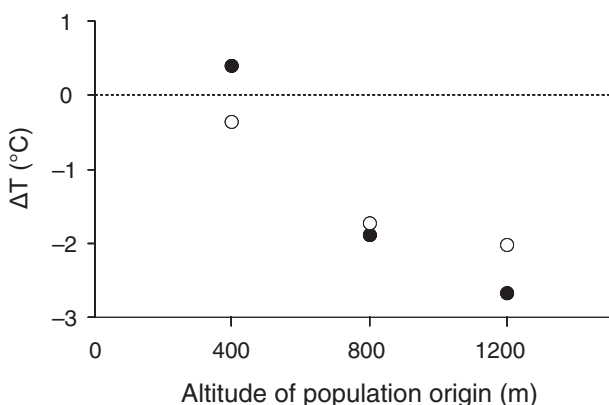


Fig. 3. Relationships of population altitude with the difference between optimal climate and inhabited climate for the growing season length (ΔT , °C) for each species. Annual mean temperature was used for assessing inhabited temperature and minimum derivative of the curve on Fig. 2 for each transplanted populations for assessing optimal temperature. Dark circles correspond to beech populations and open circles to oak populations.

Discussion

The altitudinal gradient was valuable for assessing the populations' response to climate change. Reaction norms of phenological traits in response to temperature revealed high magnitudes of phenological plasticity for both species. These magnitudes were not significantly different among populations within species. Ultimately, when considering growing season length, populations at mid to high elevations appeared to inhabit climates colder than their optimums, whereas low elevations populations of beech already endure climates warmer than their optimum.

SHAPE AND MAGNITUDE OF REACTION NORMS

The magnitude of plasticity for leaf unfolding timing was high for both species following linear clinal trends with an advance of more than 5 days degree⁻¹ of increase. Few studies have quantified phenological plasticity along altitudinal gradients, Worrall (1983) found, with a similar experiment, a linear reaction norm of leaf unfolding timing for populations of *Abies amabilis* and *Abies lasiocarpa* of about 8.3 days degree⁻¹.

Vitasse *et al.* (2009b) also reported a high phenotypic plasticity of leaf unfolding for adult sessile oak monitored over 22 years in Northern France (-6.5 days degree⁻¹). To our knowledge, it appears that leaf unfolding plasticity in response to temperature is high in temperate trees (Kramer 1995). However, for beech, a lower plasticity has been found in previous studies: between -2.0 and -2.5 days degree⁻¹ (Kramer 1995; Menzel, Estrella & Fabian 2001). The magnitude of plasticity found here is twice as high compared to these values, and to the phenotypic variability (phenological shifts) recorded in adult trees along the same altitudinal gradient (-1.9 days degree⁻¹; Vitasse *et al.* 2009b). This discrepancy could be due to the age difference, as the present study was conducted on 3-year-old seedlings. For oak, the phenological plasticity to temperature (6.0 days degree⁻¹) was comparable to the phenotypic variability monitored *in situ* (-6.5 days degree⁻¹; Vitasse *et al.* 2009b).

For leaf senescence, our results suggest that reaction norms may be hyperbolic across the temperature range due to early senescence at both low and high elevations, in particular for beech. This result contrasts to other studies in which timing of leaf senescence exhibited linear clinal variation in response to temperature: an increase in temperature lead to delayed leaf senescence (Matsumoto *et al.* 2003; Migliavacca *et al.* 2008; Vitasse *et al.* 2009c). At low elevation, this early senescence in 2008 may have been caused by the high temperature and low air humidity measured (see VPD_{max} in Table 1). Indeed, air water stress could prematurely trigger leaf discoloration and leaf fall (Breda *et al.* 2006), and in particular for VPD-sensitive species at seedling stage such as beech (Lendzion & Leuschner 2008). Oak seedlings were less affected by dry atmosphere than beech, although the high variability of senescence timing observed in 2008 at low elevations could indicate an abnormal early senescence in some individuals. Thus, the earlier senescence observed in this study could be explained by the greater vulnerability of seedlings to withstand water stress than mature tree, due to their shallow roots.

As a consequence for both species, the growing season lengthened with increasing temperature up to a certain low-to mid-elevation. The amplitude of growing season length variation along the elevation was consistently lower than the observations in other studies using adult trees *in situ* (Matsumoto *et al.* 2003; Migliavacca *et al.* 2008; Vitasse *et al.*

2009c). The lower amplitude found here is mainly the result of an earlier senescence due to a drought effect at low elevation, especially for beech.

One current interest in ecology is to distinguish for a given species whether the phenotypic variation along an environmental gradient is the result of genetic differentiation between populations or a purely environmental effect. Here, we found a high phenological variation across the common gardens (plasticity) compared to the weak but significant genetic differentiation reported in a previous study among these populations (around -0.5 days $^{\circ}$ degree $^{-1}$ for leaf unfolding; Vitasse *et al.* 2009a). Our results suggest therefore that environmental induced phenotypic plasticity rather than genetic variation explains the main part of phenotypic variations of leaf phenology observed *in situ*.

COMPARISON OF PLASTICITY MAGNITUDE AMONG POPULATIONS

Within species, we did not detect significant difference in phenological plasticity among populations of origin both for leaf unfolding and senescence events. As populations were markedly invariant in their response to environmental variation along the altitudinal gradient, we suggest that the phenological response to temperature might be similar among populations within species. Our results are in agreement with Berg, Becker & Matthies (2005) who found no evidence that central or marginal populations of *Carlina vulgaris* differed in overall plasticity. Therefore, climate change might affect the phenology of populations growing in different climates to the same extent, as suggested by other studies (Chuine, Belmonte & Mignot 2000; Berg, Becker & Matthies 2005; Vitasse *et al.* 2009b). These results are in conflict with the hypothesis that plasticity may differ among populations from different climates due to local adaptation (Sultan 1995; Baliuckas & Pliura 2003). However, more data collected along environmental gradients are needed to draw a firm conclusion. It was possible that differences in phenotypic plasticity among populations could not be detected with the small number of populations and the low frequency of phenological measurements in the current study.

POSSIBLE IMPACT OF CLIMATE CHANGE ON POPULATION FITNESS

Leaf phenology is particularly important in the assessment of fitness, due to its strong relationship with growth rate (Churkina *et al.* 2005). Indeed, an early flush has been related to a longer carbon uptake period and to an increased net annual carbon flux (Delpierre *et al.* 2009). Conversely, senescence timing is assumed to modulate to a lesser extent carbon assimilation due to both weaker photosynthesis capacity and shorter day length during the autumn season. However, senescence timing may affect growth because it is associated with nutrient remobilization, especially of nitrogen and storage of photosynthates (Norby, Hartz-Rubin & Verbrugge 2003; Keskitalo *et al.* 2005). Thus, our study highlights that

tree species have a high level of plasticity for phenological traits that could allow populations to immediately respond to new environmental conditions and cope with climatic warming (Matyas 1993; Pigliucci, Murren & Schlichting 2006; Ghalambor *et al.* 2007).

In addition, our results demonstrated that mid- and high-elevation populations should experience a longer growing season with climate warming. For beech, we found that climate change could reduce population fitness at low elevation by shortening the period of growing season mainly due to earlier leaf senescence, whereas it could increase population fitness at high elevation by increasing the growing season length and consequently growth. For oak, all populations tend to inhabit climates colder than the one corresponding to the optimum in their growing season length even though the population observed at the lowest elevation is currently close to its optimum. This study is therefore in line with previous studies showing that at high elevation, current changes in climate could drive conditions towards the optimal range for population growth (Persson 1998; Rweyongeza *et al.* 2007) while negatively affecting fitness in the southern part of the species range and at low elevation (Rehfeldt *et al.* 1999, 2002).

Author contribution

YV and CCB equally contributed to data extraction, statistical analysis and preparation of manuscript, therefore are considered as co-first authors.

Acknowledgements

We are grateful to the ONF (Office National des Forêts) officers of the Gave valley in the Pyrénées Mountains. We also thank J.-M. Louvet, H. Bignalet and the INRA experimental unit of Cestas-Pierroton for their assistance in the field. We acknowledge helpful comments and English correction from Matthew Larcombe and the associate editor. This study was supported by a grant of the Aquitaine and Midi-Pyrénées regions and the BACCARA project which received funding from the European Community's Seventh Framework Programme (FP7/2007–2013) under the grant agreement no. 226299'. CCB was supported by an ONF-Region Aquitaine Doctoral Fellowship.

References

- Aitken, S.N., Yeaman, S., Holliday, J.A., Wang, T. & Curtis-McLane, S. (2008) Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications*, **1**, 95–111.
- Baliuckas, V. & Pliura, A. (2003) Genetic variation and phenotypic plasticity of *Quercus robur* populations and open-pollinated families in Lithuania. *Scandinavian Journal of Forest Research*, **18**, 305–319.
- Berg, H., Becker, U. & Matthies, D. (2005) Phenotypic plasticity in *Carlina vulgaris*: effects of geographical origin, population size, and population isolation. *Oecologia*, **143**, 220–231.
- Bertin, R.I. (2008) Plant phenology and distribution in relation to recent climate change. *Journal of the Torrey Botanical Society*, **135**, 126–146.
- Breda, N., Huc, R., Granier, A. & Dreyer, E. (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science*, **63**, 625–644.
- Brewer, S., Cheddadi, R., de Beaulieu, J.L. & Reille, M. (2002) The spread of deciduous *Quercus* throughout Europe since the last glacial period. *Forest Ecology and Management*, **156**, 27–48.
- Chuine, I. & Beaubien, E.G. (2001) Phenology is a major determinant of tree species range. *Ecology Letters*, **4**, 500–510.
- Chuine, I., Belmonte, J. & Mignot, A. (2000) A modelling analysis of the genetic variation of phenology between tree populations. *Journal of Ecology*, **88**, 561–570.

- Churkina, G., Schimel, D., Braswell, B.H. & Xiao, X.M. (2005) Spatial analysis of growing season length control over net ecosystem exchange. *Global Change Biology*, **11**, 1777–1787.
- Davis, M.B. & Shaw, R.G. (2001) Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science*, **292**, 673–679.
- Delpierre, N., Soudani, K., Francois, C., Kostner, B., Pontailleur, J.Y., Nikinmaa, E., Misson, L., Aubinet, M., Bernhofer, C., Granier, A., Grunwald, T., Heinesch, B., Longdoz, B., Ourcival, J.M., Rambal, S., Vesala, T. & Dufrene, E. (2009) Exceptional carbon uptake in European forests during the warm spring of 2007: a data-model analysis. *Global Change Biology*, **15**, 1455–1474.
- Ghalambor, C.K., McKay, J.K., Carroll, S.P. & Reznick, D.N. (2007) Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, **21**, 394–407.
- Hamrick, J.L. (2004) Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management*, **197**, 323–335.
- Howe, G.T., Aitken, S.N., Neale, D.B., Jermstad, K.D., Wheeler, N.C. & Chen, T.H.H. (2003) From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, **81**, 1247–1266.
- Kawecki, T.J. & Ebert, D. (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, **7**, 1225–1241.
- Keskitalo, J., Bergquist, G., Gardestrom, P. & Jansson, S. (2005) A cellular timetable of autumn senescence. *Plant Physiology*, **139**, 1635–1648.
- Kramer, K. (1995) Phenotypic plasticity of the phenology of seven European tree species in relation to climatic warming. *Plant, Cell and Environment*, **18**, 93–104.
- Lavergne, S., Molina, J. & Debussche, M. (2006) Fingerprints of environmental change on the rare Mediterranean flora: a 115-year study. *Global Change Biology*, **12**, 1466–1478.
- Lavergne, S., Thuiller, W., Molina, J. & Debussche, M. (2005) Environmental and human factors influencing rare plant local occurrence, extinction and persistence: a 115-year study in the Mediterranean region. *Journal of Biogeography*, **32**, 799–811.
- Lendzion, J. & Leuschner, C. (2008) Growth of European beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings is limited by elevated atmospheric vapour pressure deficits. *Forest Ecology and Management*, **256**, 648–655.
- Lindner, M., Maroschek, M., Netherer, S., Kremer, A., Barbat, A., J., G.-G., Seidl, R., Delzon, S., Corona, P., Kolstrom, M., Lexer, M.J. & Marchetti, M. (2009) Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. *Forest Ecology and Management*, **259**, 698–709.
- Magri, D., Vendramin, G.G., Comps, B., Dupanloup, I., Geburek, T., Gormory, D., Latalowa, M., Litt, T., Paule, L., Roure, J.M., Tantau, I., van der Knaap, W.O., Petit, R.J. & de Beaulieu, J.L. (2006) A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytologist*, **171**, 199–221.
- Matsumoto, K., Ohta, T., Irasawa, M. & Nakamura, T. (2003) Climate change and extension of the Ginkgo biloba L. growing season in Japan. *Global Change Biology*, **9**, 1634–1642.
- Matyas, C. (1994) Modeling climate-change effects with provenance test data. *Tree Physiology*, **14**, 797–804.
- Menzel, A., Estrella, N. & Fabian, P. (2001) Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951 to 1996. *Global Change Biology*, **7**, 657–666.
- Migliavacca, M., Cremonese, E., Colombo, R., Busetto, L., Galvagno, M., Ganis, L., Meroni, M., Pari, E., Rossini, M., Siniscalco, C. & di Cella, U.M. (2008) European larch phenology in the Alps: can we grasp the role of ecological factors by combining field observations and inverse modelling? *International Journal of Biometeorology*, **52**, 587–605.
- Morgenstern, E.K. (1996) *Geographic Variation in Forest Trees: Genetic Basis and Application of Knowledge in Silviculture*. UBC Press, Vancouver.
- Norby, R.J., Hartz-Rubin, J.S. & Verbrugge, M.J. (2003) Phenological responses in maple to experimental atmospheric warming and CO₂ enrichment. *Global Change Biology*, **9**, 1792–1801.
- Parnesan, C. & Yohe, G. (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, **421**, 37–42.
- Penuelas, J. & Boada, M. (2003) A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology*, **9**, 131–140.
- Persson, B. (1998) Will climate change affect the optimal choice of *Pinus sylvestris* provenances? *Silva Fennica*, **32**, 121–128.
- Petit, R.J., Brewer, S., Bordacs, S., Burg, K., Cheddadi, R., Coart, E., Cottrell, J., Csaikl, U.M., Van Dam, B., Deans, J.D., Espinel, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., Konig, A.O., Lowe, A.J., Madsen, S.F., Matyas, G., Munro, R.C., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., De Vries, S.G.M., Ziegenhagen, B., De Beaulieu, J.L. & Kremer, A. (2002) Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management*, **156**, 49–74.
- Petit, R.J., Aguinalde, I., de Beaulieu, J.L., Bittkau, C., Brewer, S., Cheddadi, R., Ennos, R., Fineschi, S., Grivet, D., Lascoux, M., Mohanty, A., Muller-Starck, G.M., Demesure-Musch, B., Palme, A., Martin, J.P., Rendell, S. & Vendramin, G.G. (2003) Glacial refugia: hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science*, **300**, 1563–1565.
- Pigliucci, M., Murren, C.J. & Schlichting, C.D. (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 2362–2367.
- Premoli, A.C., Raffaele, E. & Mathiasen, P. (2007) Morphological and phenological differences in *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations: evidence from a common garden. *Austral Ecology*, **32**, 515–523.
- Rehfeldt, G.E., Wykoff, W.R. & Ying, C.C. (2001) Physiologic plasticity, evolution, and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*. *Climatic Change*, **50**, 355–376.
- Rehfeldt, G.E., Ying, C.C., Spittlehouse, D.L. & Hamilton, D.A. (1999) Genetic responses to climate in *Pinus contorta*: niche breadth, climate change, and reforestation. *Ecological Monographs*, **69**, 375–407.
- Rehfeldt, G.E., Tchebakova, N.M., Parfenova, Y.I., Wykoff, W.R., Kuzmina, N.A. & Milyutin, L.I. (2002) Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology*, **8**, 912–929.
- Rice, K.J. & Emery, N.C. (2003) Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **1**, 469–478.
- Richards, C.L., Bossdorf, O., Muth, N.Z., Gurevitch, J. & Pigliucci, M. (2006) Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecology Letters*, **9**, 981–993.
- Rweyongeza, D.M., Yang, R.C., Dhir, N.K., Barnhardt, L.K. & Hansen, C. (2007) Genetic variation and climatic impacts on survival and growth of white spruce in Alberta, Canada. *Silvae Genetica*, **56**, 117–127.
- Savolainen, O., Pyhajarvi, T. & Knurr, T. (2007) Gene flow and local adaptation in trees. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*, **38**, 595–619.
- Sultan, S.E. (1995) Phenotypic plasticity and plant adaptation. *Acta Botanica Neerlandica*, **44**, 363–383.
- Sultan, S.E. (2004) Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, **6**, 227–233.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M.A. (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, **94**, 1103–1116.
- Valladares, F., Arrieta, S., Aranda, I., Lorenzo, D., Sanchez-Gomez, D., Tena, D., Suarez, F. & Pardos, J.A. (2005) Shade tolerance, photoinhibition sensitivity and phenotypic plasticity of *Ilex aquifolium* in continental Mediterranean sites. *Tree Physiology*, **25**, 1041–1052.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C.C., Michalet, R. & Kremer, A. (2009a) Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne de Recherche Forestière*, **39**, 1259–1269.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Dufrene, E., Pontailleur, J.Y., Louvet, J.M., Kremer, A. & Michalet, R. (2009b) Leaf phenology sensitivity to temperature in European trees: do within-species populations exhibit similar responses? *Agricultural and Forest Meteorology*, **149**, 735–744.
- Vitasse, Y., Porte, A.J., Kremer, A., Michalet, R. & Delzon, S. (2009c) Responses of canopy duration to temperature changes in four temperate tree species: relative contributions of spring and autumn leaf phenology. *Oecologia*, **161**, 187–198.
- Viveros-Viveros, H., Saenz-Romero, C., Vargas-Hernandez, J.J., Lopez-Upton, J., Ramirez-Valverde, G. & Santacruz-Varela, A. (2009) Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl. f: height growth, shoot phenology, and frost damage in seedlings. *Forest Ecology and Management*, **257**, 836–842.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O. & Bairlein, F. (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature (London)*, **416**, 389–395.
- Worrall, J. (1983) Temperature–bud-burst relationships in *amabilis* and subalpine fir provenance tests replicated at different elevations. *Silvae Genetica*, **32**, 203–209.

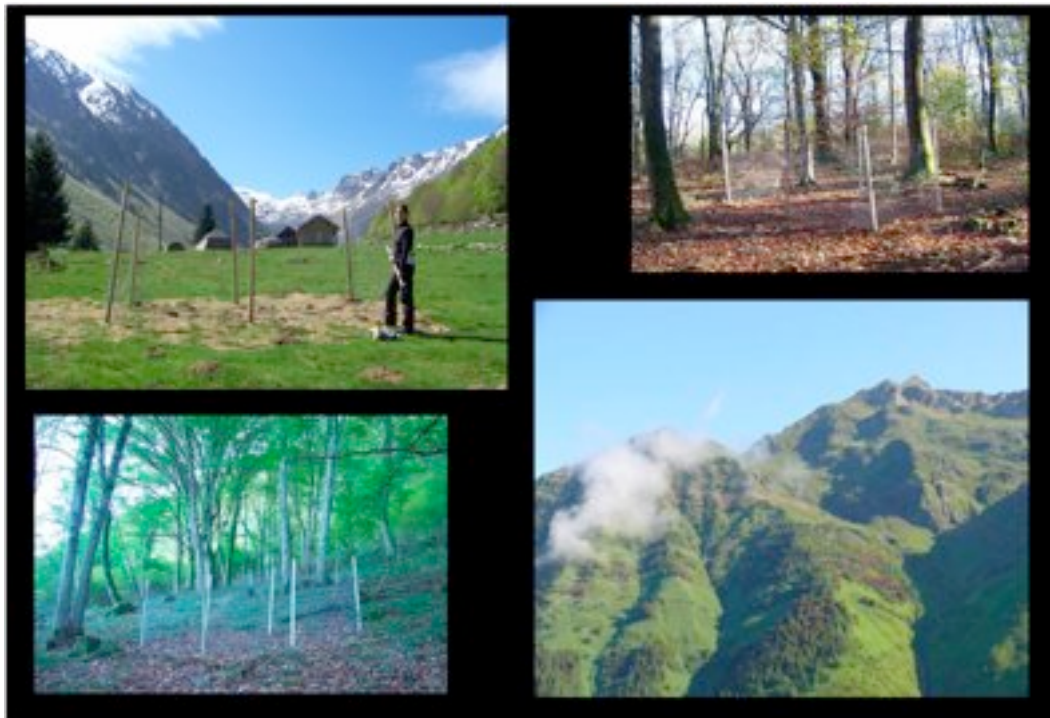
Received 1 March 2010; accepted 10 June 2010
 Handling Editor: Kaoru Kitajima

Chapitre 5

Magnitude of phenotypic plasticity for growth and functional leaf traits in two temperate tree species

C.C. Bresson, E. Dreyer, and S. Delzon

In prep for submission in *Oecologia*



Summary

Population-specific responses to altitude were assessed in two temperate tree species (*Fagus sylvatica* and *Quercus petraea*) to infer whether functional trait variation is environmentally driven and/or genetically fixed. For each species, populations from three different elevations (400, 800 and 1200 m asl) were transplanted to five common gardens along an altitudinal gradient (from 100 to 1600 m asl). Seedlings were monitored for growth every year and morphological and physiological traits of leaves were recorded.

A growth optimum was observed around 800 m for beech (9,5°C mean annual temperature) whereas for oak no trend was found in growth with altitude. Overall, all traits displayed significant altitudinal trends, except chlorophyll content. Most of the traits exhibited a quadratic response with a maximum or a minimum at intermediate altitude, whereas $\delta^{13}\text{C}$ linearly increased with altitude. Population differentiations for leaf traits were only observed in beech, while for both species populations displayed similar magnitude of plasticity. Using a relative distances plasticity index (RDPI), we quantified and compared phenotypic plasticity among traits and species. For both species, leaf functional traits were significantly less plastic than growth, RDPI varying between 0.20 to 0.05 for leaf size and C/N ratio respectively.

These results show that tree populations are highly phenotypically plastic and therefore able to react rapidly to changing environment, such as a temperature increase. In addition, we showed that two beech populations from lowest altitude already endure a warmer climate than their optimum climate, inducing potential negative effect of increase in temperature.

Key words: *Fagus sylvatica*, *Quercus petraea*, functional traits, height increment, altitudinal gradient, common gardens, phenotypic plasticity, RDPI.

Introduction

Understanding how tree species will respond to abrupt environmental changes is crucial for the assessment of future distribution of species. A large number of studies, many based on habitat modelling, have suggested that species distributions may shift in response to climate change (mainly towards higher latitudes and altitudes) (Guisan and Thuiller 2005; Thuiller et al. 2008). Indeed, changes in plant distribution have already been reported over the last decades (Bertin 2008; Parmesan and Yohe 2003) and migrations are particularly perceptible in mountain areas where plant populations are shifting to higher elevations (Grabherr et al. 1994; Kullman 2002; Lenoir et al. 2008; Penuelas and Boada 2003; Shiyatov et al. 2007; Wardle and Coleman 1992). However, such models generally ignore the processes explaining species' adaptive capacity and interspecific interactions, and this may severely limit the reliability of their predictions (Thuiller et al. 2008).

Because of habitat fragmentation and of the rapidity of expected climate change, many species will not be able to track their preferred environment, and must therefore adapt *in situ* to avoid extinction. There is a growing body of evidence from different sources (Quaternary evolutionary history (Birks

1989; Brewer et al. 2002; Petit et al.) - observations from population and species transfers that tree populations may have resources and mechanisms to respond to climate change. Indeed, trees have elaborated during their history mechanisms acting at different levels (from single trees to communities via populations) that contribute to evolutionary changes tracking environmental change (Lindner et al. 2009) and could have therefore resources to adapt to climate change and so, persist in current sites.

Two adaptive processes play a key role in maintaining and improving species fitness under changing environment: a large genetic diversity allowing rapid adaptation (Eriksson et al. 2006; Hamrick 2004) and/or a phenotypic plasticity that allows an immediate response to environmental changes (Palmroth et al. 1999; Pigliucci et al. 2006). Phenotypic plasticity, i.e., ability of genotypes to produce distinct phenotypes when exposed to different environments (Bradshaw 1965; Pigliucci et al. 2006; Schlichting et al. 1998), enables a more rapid and flexible adjustment to environmental change than genetically fixed adaptations (Sultan 2000). Long-lived and sessile organisms such as trees are expected to respond primarily by phenotypic plasticity to the environmental changes experienced throughout their lifespan (Sultan 1987).

Phenotypic plasticity can be assessed at different spatial and temporal scales. At population level, phenotypic plasticity enables species to tolerate wide-ranging environmental conditions without genetic changes (Via 1994). At a temporal scale, plastic responses to environmental change facilitate survival and subsequent adaptive specialization (Ackerly 2003). Therefore the magnitude of plasticity of key functional traits may have important implications for the survival probability of populations under changing environmental conditions.

The quantitative estimation of phenotypic plasticity is of particular relevance in comparative studies among species and populations (Balaguer et al. 2001; Valladares et al. 2005; Valladares et al. 2000). We know that plastic responses to environment are generally non linear (Valladares et al. 2006). Phenotypic plasticity could indeed differ in magnitude in response to varying environment, resulting in a “hierarchy of plasticity” among traits (White 1979), at the plant level. If such a gradual scale exists, some traits would be more important than others for a plant to respond to changing environment and persist in current sites (Navas and Garnier 2002). And yet, hierarchy between plastic responses of whole plant and functional traits has not been clearly established (Robinson and

Rorison 1988). Studies on plasticity of traits have generally been performed by comparing the responses of different species to variation in a single resource (Bradshaw 1965; Robinson and Rorison 1988; Ryser and Eek 2000; Valladares et al. 2000).

The magnitude of plasticity is classically assessed in common garden or greenhouse experiments. Phenotypic plasticity can be quantified via a reaction norm, i.e., a graph describing trait values of a genotype across a range of environments (Bradshaw 1965; Sultan 1987). Stressful environments such as high mountain ecosystems are particularly relevant in this respect. The range of test environments might include extreme or unrealistic conditions to investigate the limits of potential phenotypic expression, or might be based on environmental conditions encountered by the organism in nature to provide ecologically and evolutionarily relevant information (Sultan 2000). Here, an altitudinal gradient was used to establish reaction norms. Ecophysiologicalists have widely studied the variations of traits along altitudinal gradients (see (Körner 1999) for review), showing altitudinal clines for several traits such as leaf mass per area, leaf nutrient contents and photosynthesis. However, the determinism of these trait variations (environmentally driven versus genetically

fixed) has been poorly studied (but see (Premoli and Brewer 2007; Ramirez-Valiente et al. 2010), except for leaf phenological events (Vitasse et al. 2010). Therefore, to what extent inter-populations variation in functional traits is due to strict genetic control or environmentally induced (phenotypic plasticity) or a combination of both remains an open question.

In the present study, through reaction norms assessed across five common garden experiments set up along an altitudinal gradient, we analysed environmental (plastic short-term) vs. genetic (long-term) responses of functional traits in populations of two temperate tree species (Sessile oak and European beech).

Materials and Methods

Study species and planting sites

Sessile oak (*Quercus petraea* (Matt.) Liebl.) and European beech (*Fagus sylvatica* L.) display a large distribution and occur over a large altitude range in the Pyrénées mountains (south-western France). The study area is characterized by a temperate oceanic climate (mean annual

Populations and experimental design

To set up the reciprocal transplant experiment (RTEs), we used three populations per species originating from 400, 800 and 1200 m (± 50) elevation in the Gave valley (Table 2). During

The main objectives were (i) to quantify the magnitude of phenotypic plasticity and population differentiation for six functional traits, (ii) to quantify whether within-species populations exhibited different degree of plasticity and (iii) to determine if the studied species are composed of populations with different climatic optimal (in other words, if populations inhabit their optimal climate). In addition to growth, we focused on ecophysiological traits that are critical to total carbon budget (leaf size and leaf mass per area, water use efficiency as recorded from its surrogate ($\delta^{13}\text{C}$), and nutrient resources (foliar nitrogen and chlorophyll contents).

temperature and precipitation: 12°C and 1079 mm at low elevation (for 1946-2001 in Tarbes, 43°11'N, 00°00'W, 360 m asl, Météo France). We set up five common gardens at 5 elevations: 131, 488, 833, 1190 and 1533 m in the Gave valley. All planting sites were in open areas close to a beech stand. For location and environment of gardens see Table 1

November 2006, three year-old seedlings of each population were transplanted into the five planting sites. Soil was tilled in September 2006 prior to planting. Each garden was divided into four blocks, with four to six seedlings from each population assigned to each block, for a total of 96 to

144 seedlings per garden (2 species x 3 populations x 16-24 replicates). Seedlings were planted in each block at 50 cm spacing within and between rows in a systematic design. Seedlings were watered at planting and received only ambient rainfall later on. Each common garden was treated with Deltamethrin, (Pyrethroid, Aventis Cropscience Inc.) and molluscicide (5 % metaldehyde, Metarex

RG TDS, DeSangosse) in spring 2007 and 2008. A fence was installed around each block to prevent herbivore attack. Survival rates were homogeneous across the five common gardens, with 81% and 62% individuals surviving after the second growing season in beech and oak, respectively. Growth and functional traits were recorded on 194 and 149 seedlings of beech and oak, respectively.

Table 1. Location and climate of the common gardens in the Pyrénées Mountains.

Altitude above sea level (m); T_a: mean annual temperature (2005-2007); N and C: nitrogen and carbon content in soil. Values correspond to means and standard errors (n=X).

	Level (m)	100	400	800	1200	1600
	Altitude (m)	131	488	833	1190	1533
	Latitude	N 43°45'	N43°05'	N 42°58'	N 43°00'	N 42°53'
	Longitude	W 00°13'	W 00°05'	W 00°08'	W 00°12'	E 00°04'
	Exposure	Flat	North	North	Est-North	North-Est
Climate	Rainfall (mm/an)	866.3	1019.7	1168.0	1321.4	1468.8
	T_a (°C)	12.6	11	9.5	7.5	6.0
Soil features	Humidity (mm³.mm⁻³)	0.30 (0.02)	0.32 (0.04)	0.25 (0.08)	0.40 (0.04)	0.51 (0.06)
	Density (g.cm⁻³)	1.37 (0.06)	1.13 (0.11)	0.91 (0.03)	0.73 (0.05)	0.72 (0.07)
	N (%)	0.14 (0.02)	0.29 (0.01)	0.55 (0.03)	0.48 (0.03)	0.78 (0.03)
	C (%)	2.57 (0.46)	3.40 (0.27)	8.86 (0.58)	5.75 (0.47)	7.65 (0.49)
	C/N	17.9 (0.43)	11.6 (0.35)	16.2 (0.30)	11.9 (0.40)	9.76 (0.83)

Table 2. Location and climate of beech and oak populations used for transplant experiments.

Altitude, in meter above sea level. T_a: mean annual temperature in 2005-2006.

Altitude	<i>Fagus sylvatica</i>				<i>Quercus petraea</i>			
	Exact altitude	Latitude	Longitude	T _a	Exact altitude	Latitude	Longitude	T _a
400	488	43°05'N	00°05'W	11.4	427	43°08'N	00°00'W	12.3
800	773	42°55'N	00°02'	10.3	803	42°55'N	00°02'W	11.0
1200	1190	43°00'N	00°12'W	7.8	1235	42°47'N	00°02'E	9.7

Microclimate and soil measurements

Air temperature and relative humidity were recorded every hour in each common garden (2006-2008) and sites of population origin (2005-2008) using automated sensors and data loggers (HOBO Pro RH/Temp, Onset Computer Corporation, Bourne, MA 02532). Sensors were placed 1.5 m above ground on a pole in one of the four replicate blocks. A white plastic shelter protected sensors from rain and direct sunlight. Meteorological data of planting and population sites are summarized in Table 1 and Table 2, respectively. Average annual temperatures decreased linearly with increasing elevation: temperature lapse rate was about 0.42°C for every 100 m elevation (average from 2007 to 2008). Therefore, the elevational gradient resulted in contrasting climatic conditions (amplitude of 6.3°C and 7.7°C between the lowest and the highest common gardens in autumn and spring, respectively).

Measurements of soil features in planting sites were made at the beginning of September 2008. We first assessed soil density with a 3.5 cm diameter soil borer to a depth of 10 cm in each block of each garden in May 2009 with 2 replicates per block. We also measured soil humidity at 10 cm with a humidity probe (ML2X,

Delta-T, Cambridge, UK) at the same date (10 replicates per block). Soil nitrogen and carbon were quantified in a CN-Analyser (Flash EA 1112, ThermoElectron, Waltham, MA, USA) from five bulk soil samples (at 10 cm) in each block of each garden.

Growth

Height and diameter were measured yearly during winter from 2006 to 2009. Height was measured with a graduated pole at ± 1 cm and diameter at the base of the stem with an electronic calliper at ± 0.5 mm. As both variables and their relative growth rate indexes showed the same tendency, thereafter we only retained the height increment between 2007 and 2009. Measurements in the first year were excluded from the analysis to avoid bias due to transplanting shock.

Leaf traits

Two to three fully expanded sun leaves were collected per seedling and used to measure leaf size (L_s , cm²) using a planimeter (Light Box model, Gatehouse, Scientific Instruments LTD, Norfolk, UK). The samples were dried at 65°C and weighted with a balance (Explorer Pro, EP114 model, Ohaus Corporation, Pine

Brook, NJ, USA) to compute leaf mass per area ratio (LMA, g m⁻²). Subsequently, the leaves were ground to a fine powder in a matrix mill (MM 301, Retsch, Haan, Germany). These samples were analysed for nitrogen and carbon per unit mass (N_m, g g⁻¹ and C/N ratio) with an elemental analyser (Na1500 type 2, Carlo Erba, Milan, Italy). We calculated nitrogen per area unit (N_a, g m⁻²) by multiplication with LMA. Stable isotope ratio (δ¹³C, ‰) was recorded on the same powder with an isotope ratio mass spectrometry (IRMS) with an elemental analyser (Na1500 type 2, Carlo Erba, Milan, Italy) coupled to a stable-isotope mass spectrometer (Delta-S, Thermo-Finnigan, Bremen, Germany) at the isotopic facility of the Plateau Technique d'Ecologie Fonctionnelle (INRA Nancy). Overall accuracy of the δ¹³C analysis was 0.1 ‰, as tested against a standard with known isotopic composition. Stable isotope ratio of carbon (¹³C/¹²C) is conventionally expressed as (‰) as follow:

$$\delta^{13}C = \frac{(R_{sample} - R_{ref})}{R_{ref}} \quad \text{where } R_{sample}$$

is the ¹³C/¹²C ratio in the sample of plant tissue and R_{ref} is the isotope ratio of the reference expressed relative to the VPDB (Vienna PeeDee Belemnite) standard (Craig 1957).

Chlorophyll content index (CCI) was recorded with a CCM-200

(OptiSciences, Tyngsboro, Massachusetts, USA) as the ratio between leaf transmittance at 931 and 653 nm (<http://www.apogeeinstruments.com/chlorophyllmeter/ccm.html>). The claimed accuracy of the CCM-200 is ±1.0 CCI units. Three measurements were made per leaf on two leaves per plant. The CCM sensor was randomly placed on the leaf mesophyll, avoiding the mid-vein. The measurements were averaged to provide a single chlorophyll content index (CCI) per plant.

Data analysis

We computed plasticity at population level, as the changes of population means along elevations (Richards et al. 2006; Valladares et al. 2006). The statistical model (GLM procedure) treats blocks as a fixed effect and common gardens and populations as random effects. Prior to ANOVA analysis, data were checked for normality and homogeneity of variances. Since each common garden represented a different environment (different altitude), a significant main effect of altitude indicates environmentally induced phenotypic plasticity for the studied trait. A significant interaction between altitude and population indicates that the magnitude of the plastic response is dependent on the altitude of the population of origin, which is the result of

genetically induced phenotypic plasticity. The fraction of total variance explained by altitude, populations or interaction between altitude and population (ratio of variance component, VC) was estimated using PROC VARCOMP with the method of restricted maximum likelihood (REML).

Regressions between functional traits and altitude (or mean annual temperature) were considered linear unless non-linear equations resulted of improvements in homoscedasticity or fit. Linear and non-linear regressions were rejected if the probability of statistical significance (p) was > 0.05 . A covariance analysis was used to compare the populations responses according to elevation.

For growth measurements, we calculated the discrepancy between the inhabited (T_{pop}) and optimal (T_{opt}) temperatures as the difference between these two values ($\Delta T = T_{pop} - T_{opt}$), with T_{pop} corresponding to the mean annual temperature (2005-2007) of the sites of population origin and T_{opt} to the optimal temperature for height (minimum derivative of the curve for each population).

We then quantified the magnitude of phenotypic plasticity of each trait and species using the Relative Distances Plasticity Index (RDPI) based on pairwise comparisons across individuals of each

species grown under different environments (Valladares et al. 2006):

$$RDPI = \frac{\sum \left(\frac{d_{ij \rightarrow i'j'}}{x_{ij} + x_{i'j'}} \right)}{n}$$

where x_{ij} , is the value of the trait for individual i in environment j , $d_{ij \rightarrow i'j'} = |x_{i'j'} - x_{ij}|$ is the absolute distance among trait values for all pairs of individuals growing under different environments (altitudes) and n is the total number of distance. Specifically, we define the distance among trait values $d_{ij \rightarrow i'j'}$ for all pairs of individuals for which i is different from i' (the two individuals were grown under different altitudes) as the absolute value of the difference $|x_{i'j'} - x_{ij}|$ when $i \neq i'$, and obtain relative distances by dividing this difference by the sum $x_{i'j'} + x_{ij}$.

As the number of replicates, species and environments excessively complicated the calculations, the index was simplified by calculating the phenotypic distances between mean of individuals growing in the same garden for each species and populations (Valladares et al. 2006). RDPI for $\delta^{13}C$ cannot be estimated as for the other traits since it is estimated relatively to a standard (Brendel et al. 2008) and it is independent of change of scale but not of origin. Therefore, for $\delta^{13}C$, RPDI was

estimated by dividing by the variation range of this trait (from -26 to -33‰), instead of the sum of absolute values. RDPI ranges from 0 (no plasticity) to 1 (maximal plasticity). All the analyses were performed using SAS 9.2 software (SAS, version 9.2, SAS Institute, Cary, N.C.).

Results

Reaction norms and genetic effects

We found a significant effect of altitude on height increment (21.4 % and 15.3 % of total variance for beech and oak, respectively (Tab. 3). For beech, the reaction norms followed a quadratic pattern with low- and high-elevation populations displaying smaller height increment than mid-elevation ones (Fig. 1). By contrast, no altitude-related pattern was found for oaks. Population-altitude interactions were very small, and a significant one was found only for oak ($P=0.0430$, 5.1% of total variance). In beech, we estimated the optimal altitude for growth to be 780-810 m (i.e., 9.5 to 9.6 °C mean annual temperature). For none of the species we did detect any difference of optimum among populations ($P=0.1616$ and $P=0.1016$ for beech and oak, respectively).

Significant effects of altitude were detected in all traits for the two species, except for chlorophyll content and C/N

ratio in oak (Tab. 3). The percentage of variance explained (VC) by altitude varied between 8.3 and 54.9% among species and traits. L_s and LMA displayed quadratic regressions with altitude (Fig. 2). Both species had smaller and thicker leaves at low and high altitudes and thinner ones at mid-altitude. A quadratic response was also found for nitrogen and chlorophyll content in beech. Nitrogen content increased with altitude after a slight decrease up to 500 m for both species, whereas no significant trend was found for nitrogen content per mass unit (data not shown). The ratio between leaf carbon and nitrogen decreased significantly for beech ($R^2=0.2314$ for all populations pooled). Carbon isotope ratio ($\delta^{13}C$, ‰) linearly increased with altitude for beech and oak. Assuming that air carbon composition does not change according to altitude (Korner et al. 1991; Morecroft and Woodward 1990), carbon isotope discrimination followed the same trend (data not shown). It is interesting to note that oak displayed higher values for all traits than beech, excluding Chlorophyll content (higher for beech).

Population was significant for four out of seven functional traits in beech whereas no highly significant effect was found in oak (Table 3). Genetic differentiation between populations was observed for LMA, N_a and CCI in beech and for L_s in both

species. Variance component of populations (*VC*) ranged from 0 to 23.9 % for beech and from 0 to 9.5 % for oak. Overall, no or little interaction effects (altitude x population) were found for all traits and both species, demonstrating that

population did little differ in the reaction norms to altitude. Variance component explained by the altitude x population interaction were very low, ranging from 0 to 6 %. For both species, populations displayed the same magnitude of plasticity.

Table 3. Analysis of variance for leaf functional traits and height increment measured on oak and beech seedlings.

L_s : leaf size (cm^2), LMA: leaf mass per area (kg m^{-2}) and C/N: leaf carbon-nitrogen ratio; N_a : nitrogen leaf content (g m^{-2}), CCI: chlorophyll content index, $\delta^{13}\text{C}$: carbon isotope ratio and height increment: differences between height in winter 2007 and height in winter 2009 (cm).

VC, Ratio (in %) of variance component of each random effect to total variance estimated; *F*, Fisher value; *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; ***, $P < 0.001$; ns, non significant.

		<i>Fagus</i>			<i>Quercus</i>		
		<i>VC</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>VC</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
L_s	Altitude	14.9	5.6	0.0169*	28.2	15.4	0.0007***
	Population	15.9	10.6	0.0051**	9.5	7.1	0.0155*
	Altitude x Population	3.2	1.6	0.1220	1.0	1.5	0.1666
LMA	Altitude	34.2	50.9	<.0001***	54.9	36.5	<.0001***
	Population	23.9	67.4	<.0001***	2.5	3.4	0.0831
	Altitude x Population	0	0.6	0.8044	0.4	1.1	0.3559
C/N	Altitude	26.3	16.1	0.0003***	14.2	3.5	0.0607
	Population	0.6	2.8	0.1158	0	0.9	0.4445
	Altitude x Population	0	0.6	0.8182	6.0	2.6	0.0114*
N_a	Altitude	36.6	33.7	<.0001***	44.5	11.7	0.0020**
	Population	14.5	31.1	<.0001***	0.2	1.7	0.2418
	Altitude x Population	0	0.8	0.6464	4.7	2.4	0.0166*
CCI	Altitude	22.8	26.6	<.0001***	8.3	4.4	0.0312
	Population	8.2	17.9	<.0001***	0	1.32	0.3149
	Altitude x Population	0	0.6	0.8172	1.6	1.16	0.3253
$\delta^{13}\text{C}$	Altitude	49	20.2	0.0002***	29.7	11.7	0.0018**
	Population	0	1.1	0.3909	0.1	1.51	0.2745
	Altitude x Population	1.5	2.0	0.0485	0	1.25	0.2738
Height increment	Altitude	21.4	17.3	0.0005***	15.3	5.6	0.0174*
	Population	1.2	2.3	0.1616	5.1	3.1	0.1016
	Altitude x Population	0	0.8	0.6186	5.1	2.1	0.0430*

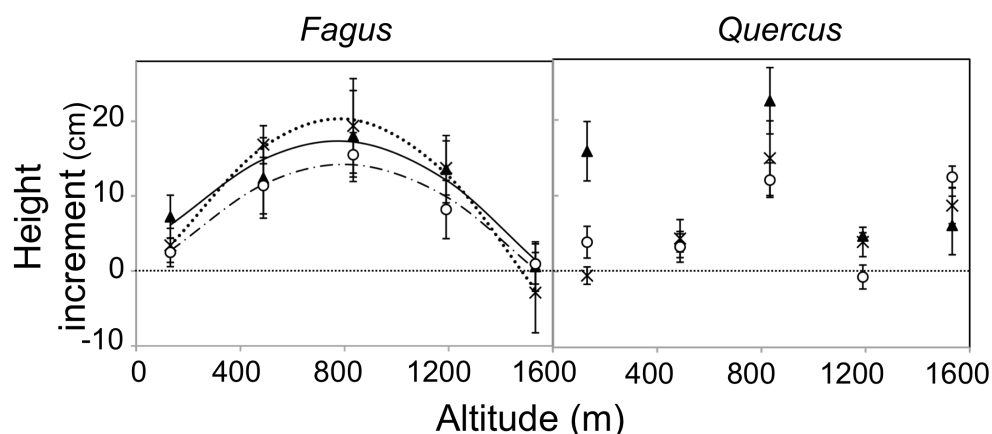
Hierarchy of traits

We evidenced a large variability of RDPI between traits. Values of RDPI ranged from 0.054 to 0.57 for beech and from 0.052 to 0.61 for oak (Figure 3). In average, phenotypic plasticity of growth was 5.2 and 6.1 times higher than average plasticity of leaf functional traits for beech and oak, respectively. Notwithstanding, isotopic composition ($\delta^{13}\text{C}$) could not be

compared with other functional traits because of different reckoning in RDPI. Among leaf functional traits, L_s exhibited the highest level of plasticity whereas C/N and LMA had the lowest one. Whatever the studied trait, no significant difference of plasticity was found between species (P values ranging between 0.0664 and 0.8560), except for CCI ($P = 0.0038$). Within species, populations displayed similar RDPI values.

Figure 1: Reaction norms of height increment between 2007 and 2009 according to altitude (m) for beech and oak populations.

Open circles, full triangles and crosses represent populations from 400, 800 and 1200 m asl, respectively. Solid, dash-dot and dotted curves represent populations from 400, 800 and 1200 m, respectively. Only tendency significantly different to zero appear on the graph.



Optimum temperature

For beech only, optimum values of temperature estimated thanks to the Figure 1 allowed us to calculate the differences (ΔT , $^{\circ}\text{C}$) between current temperature at the origin of population site (T_{cur}) and their optimal temperature (T_{opt}). The differences (ΔT , $^{\circ}\text{C}$) between current temperature at the origin of population site (T_{cur}) and their

optimal temperature (T_{opt}) were positive (e.g. $T_{\text{cur}} > T_{\text{opt}}$) for populations from 400 and 800 m, whereas this difference was negative ($T_{\text{cur}} < T_{\text{opt}}$) for population from 1200 m (Figure 5). For the two low-altitude populations, the inhabited climate is warmer than the optimum by 0.8 to 1.8 $^{\circ}\text{C}$, whereas the high-altitude population inhabited a climate colder than the optimum by almost 2 $^{\circ}\text{C}$.

Discussion

Phenotypic plasticity (*magnitude, hierarchy among traits, correlation among traits*)

In both species, populations exhibited a substantial phenotypic plasticity for almost all of the studied traits, as indicated by the significant changes in functional traits with increasing altitude across the five altitude sites. Although altitudinal trends were generally weaker for oak, similar responses (shape) were observed for both species for a given trait. Overall, reaction norms followed a quadratic pattern with increasing altitude for most of the functional traits, except for C/N ratio and $\delta^{13}\text{C}$ which had a linear altitudinal trend. Although some studies used linear reaction norm, most of them highlighted non-linear pattern of plasticity (Matos et al. 2009; Mazer and Schick 1991; Valladares et al. 2006). We found no evidence that reaction norms varied among populations within species, highlighting that populations had the same magnitude of plasticity. Overall, we found a significant plasticity for most of the tested traits across the common gardens compared to the weak but significant genetic differentiation reported for four functional traits in beech.

For both species, leaf morphology varied significantly with increasing altitude. Change in LMA according to

altitude can be realized through increases in leaf density and leaf thickness (Körner 1999). Higher LMA contributes to long leaf survival, nutrient retention, and protection from desiccation (Mooney and Dunn 1970) and lower leaf size lead to a reduction in boundary layer resistance (Gates 1965). As leaf size and LMA usually change in parallel, it has been suggested that these traits represent two facets of a functional strategy associated with low water and/or nutrient availability (Mooney and Dunn 1970). However, we found no correlation between these two traits within each species. Fonseca and his colleagues (Fonseca et al. 2000) examined shifts in LMA and leaf size along independent gradients of precipitation and nutrient availability and observed parallel changes in both traits at the community level, but found that they were only weakly correlated across species. Generally, a strong plastic response of transplanted seedlings to their respective altitude has been interpreted as an adjustment to temperature (Körner 2003; Körner 1999). In addition, low nutrient at high altitude could also lead to a higher LMA (Navas and Garnier 2002). Leaves produced under low resource availability are composed of proportionally more total non-structural carbohydrates than control leaves (Lutze and Gifford 1998) and thicker cell walls (Meziane and Shipley 1999), two factors which tend to increase LMA. Nevertheless,

along our altitudinal gradient, soil nutrient content did not decline at high elevation, suggesting that temperature is likely to be the main driver. At low altitude, air and soil drought were substantially higher (Vitasse et al. 2010) and could lead to increase LMA allowing limiting evapotranspiration (Niinemets 2001; Scheepens et al. 2010). The pattern observed for N_a is clearly related to LMA. As variations in nitrogen per unit of mass (N_m) did not show significant pattern, nitrogen content per unit of area (N_a) decreased with decreasing altitude rather by dilution effect (higher leaf area) than by strong decrease in nitrogen content (Meziane and Shipley 1999). Our results also showed a significant increase in leaf C/N ratio increased with increasing altitude possibly explained by the decrease of soil C/N ratio. No significant trend of chlorophyll index (CCI) has been observed along the altitudinal gradient, except for beech from 400 m. Nevertheless, we can observe a slight hyperbolic pattern with lowest values of CCI at extreme altitudes. Plant from high altitudes, suffered cold winters, showed generally lower Chlorophyll contents than plants from warmer sites (Michelsen et al. 1996; Nunezolivera et al. 1994; Ormrod et al. 1999). Moreover, increase in CO_2 could entail a decrease in chlorophyll content (Ormrod et al. 1999). Although altitude gradient was also confounded by latitude, a

study showed a significant increase of CCI with increasing altitude (Soolanayakanahally et al. 2009).

Fig. 2 : *Fagus*

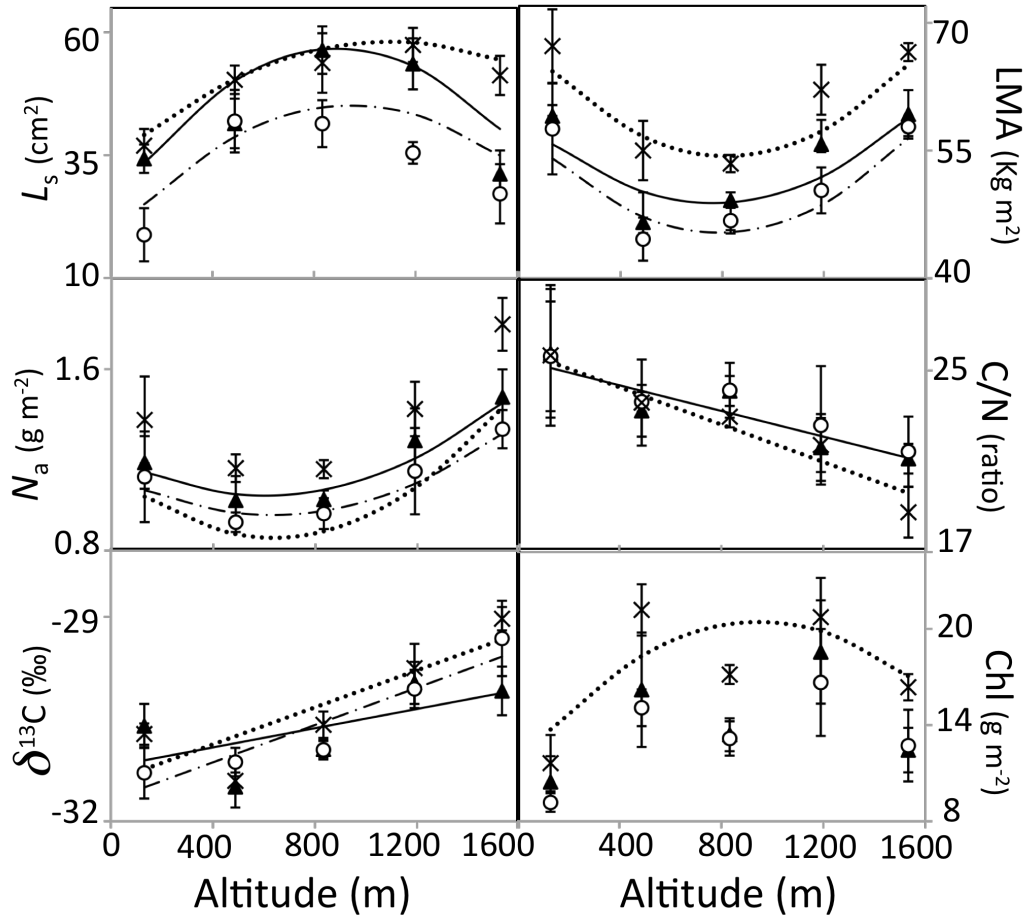


Fig. 3 : *Quercus*

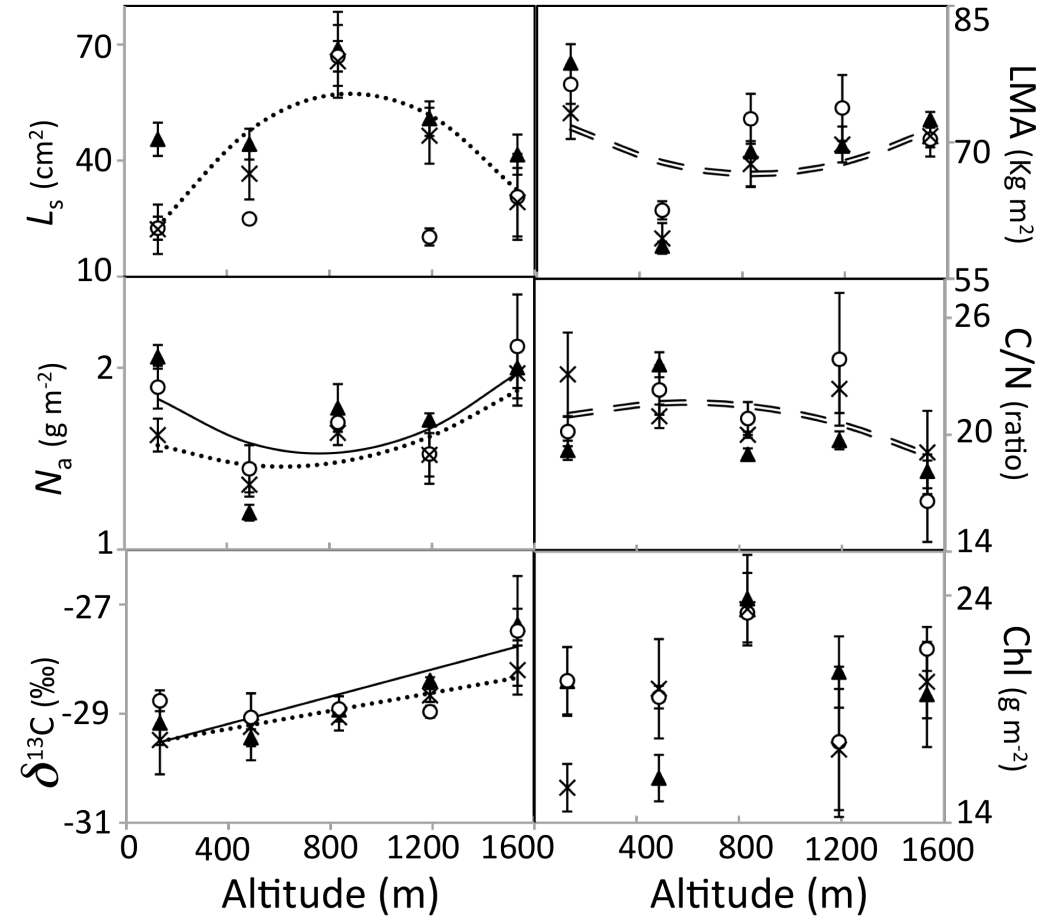


Figure 2 (left, *Fagus*) et 3 (right, *Quercus*): Reaction norms of leaf functional traits in response to altitude (m) for beech populations. L_s : leaf size (cm^2), LMA: leaf mass per area (kg m^{-2}), C/N: carbon-nitrogen ratio in leaves, N_a : area-based nitrogen content (g m^{-2}), $\delta^{13}\text{C}$: natural abundance of ^{13}C in leaves (‰) and CCI: chlorophyll content index.

Open circles, full triangles and crosses represent populations from 400, 800 and 1200 m asl, respectively. Only relationships significantly different from zero appear on the graph. Solid, dash-dot and dotted curves represent populations from 400, 800 and 1200 m, respectively. Finally, double-dashed curves correspond to the three populations taken together and is represented when populations were not significantly different.

The leaf carbon isotope composition ($\delta^{13}\text{C}$), a surrogate of intrinsic water-use efficiency, linearly increased with increasing elevation, meaning that seedlings of both species growing at the high elevation site are more water use efficient. Although it is generally assumed that functional traits are plastic, our study showed that leaf $\delta^{13}\text{C}$ is highly phenotypically plastic over an altitudinal gradient. The higher carbon isotope composition of high-elevation seedlings reflect a lower ratio of internal leaf CO_2 partial pressure to atmospheric CO_2 partial pressure, which can be caused by decreased stomatal conductance or increased carboxylation capacity (Farquhar et al. 1989). The higher leaf nitrogen concentration detected at high elevation at least for beech is indicative of increase photosynthetic capacity and could partially explain the $\delta^{13}\text{C}$ pattern found here. High leaf nitrogen concentrations, whatever their cause, make increased investment in leaf chlorophyll and RubisCo possible (Evans 1989), and this in turn might cause high carboxylation efficiencies and high $\delta^{13}\text{C}$ values. Shifts towards increasing $\delta^{13}\text{C}$ with increasing altitude have been observed consistently in humid regions (Korner et

al. 1988; Marshall and Zhang 1994). However, several exceptions to the general pattern of increasing $\delta^{13}\text{C}$ with increasing altitude have been reported in studies conducted in arid or semi-arid regions (Lajtha and Getz 1993; Water et al. 2002). In humid region as in our study, water availability may play a secondary role and change in $\delta^{13}\text{C}$ with altitude is mainly related to temperature (Wang et al. 2010).

Using the RDPI index, we quantified the plasticity and highlighted a hierarchy of traits. For a given trait, both species displayed similar magnitude of plasticity. Various studies on trees calculated RDPI index to assess plasticity to light, nutrient and water availability and found RDPI of the same order of magnitude ranging from 0.05 to 0.3 for leaf functional traits (Matos et al. 2009; Quero et al. 2008; Sanchez-Gomez et al. 2008; Sugiyama and Gotoh 2010). The highest RDPI was found for height increment, a trait more directly related to fitness than functional leaf traits. This is in agreement with results on vines showing that relative growth rate (RGR) exhibited a higher plasticity to light than leaf mass per area (LMA) (Osunkoya et al. 2010).

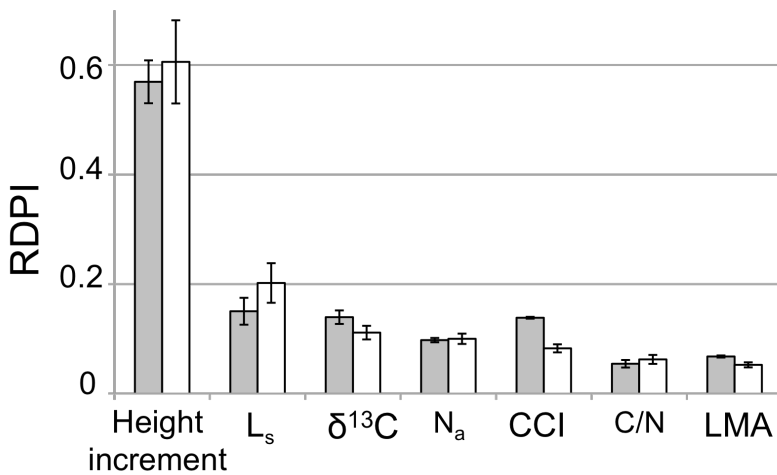


Figure 4: Magnitude of phenotypic plasticity (RDPI) for each trait and species (Fagus in grey and oak in white) monitored along the elevational gradient. RDPIs range from 0 (no plasticity) to 1 (high plasticity). Values correspond to the mean of the three studied population per species and bars represent standard errors.

Genetic determinism

It is generally assumed that functional traits are plastic but the extent to which phenotypic variability in functional traits is due to environmentally induced plasticity, strict genetic control, or a combination of both remain open questions. Half of the traits studied here were significantly different between beech populations whereas for oak only leaf size showed population differentiation. Overall, the total variance explained by between-population variations is rather low, with a maximum value found for LMA (24 %). LMA has already been reported to be partly constrained by genetic effect (Scheepens et al. 2010). In previous studies carried out in low-land common garden with 9-14 populations per species (Vitasse et al. 2009, Bresson et al. submitted), we also did not find strong evidence of genetic variations in morphological and

physiological traits (except leaf size) whereas phenological traits (leaf unfolding) were under high genetic control. Even for locally adapted traits, the total variance explained by population differentiation never exceeded 27 and 36 % for leaf size and leaf unfolding, respectively. In the present study, the focus being made on investigating plasticity along an altitudinal gradient, the lack of strong genetic variations could be due to the low number of studied populations (three per species).

Climate change

For beech only, growth follows a hyperbolic trend along the altitudinal gradient. This trend is consistent with the finding of (Rehfeldt et al. 2002; Rehfeldt et al. 2001) in *Pinus sylvestris* and *P. contorta*. The optimal annual temperature for growth is on average of 9.54°C across all populations, corresponding to an

altitude of 789 m. Along the same altitudinal gradient, a dendroecology study carried out on adult beech reported an optimum altitude for growth around 500 m of elevation (Paillette et al. 2010 unpublished) while the optimum altitude for the growing season length estimated on seedlings ranged around 700 m (Vitasse et al. 2010).

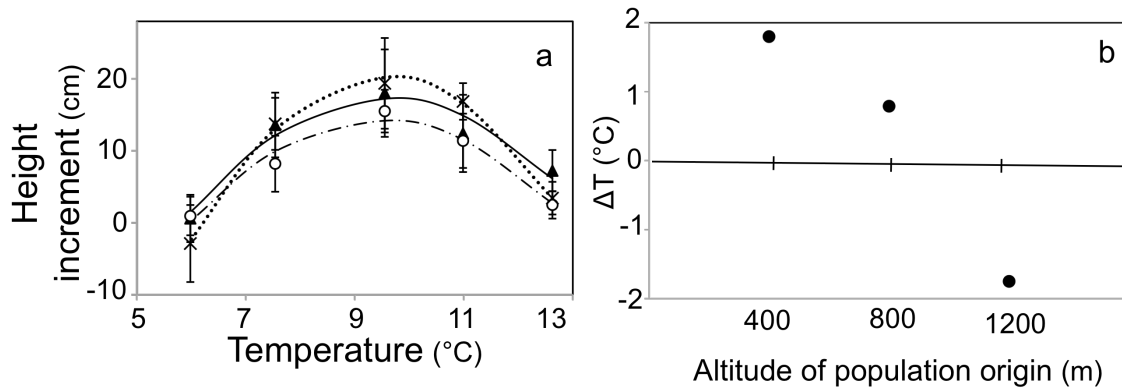
The response functions showed similar growth potentials for the different populations, which displayed no difference in temperature optimum. The discrepancy between current and optimal climate indicated that populations from an elevation above 800 m are likely to respond negatively to temperature increase. Indeed, these populations already endure a warmer climate than their optimal climate. Conversely, beech population from 1200 m occupy environment that are colder than its optimal climate, inducing potential positive effect of increase in temperature. This optimal temperature, corresponding to a temperature of 9.54 °C is higher than the optimal temperature highlighted by (Rehfeldt et al. 1999) on *Pinus contorta*. Nevertheless, this last study underlined a huge variability of optimal temperature testing on 96 *Pinus* populations. Even though evolutionary

processes undoubtedly tend to optimize population fitness in their environment, most populations nonetheless occupy climates that are sub-optimal (Rehfeldt et al. 2001).

Taken all together, the results suggest that the phenotypic variability monitored in natural populations along altitudinal gradient is rather due to environmental plasticity than genetic determinism. In a realistic field situation, most of the leaf traits showed indeed a high phenotypic plasticity to cope with contrasting environments, particularly some physiological/biochemical traits associated with carbon uptake, water use efficiency or more directly related to fitness as growth. Morphological and physiological plasticity play an important role in resource acquisition of plants (Bradshaw 1965; Crick and Grime 1987) and variations in trait are of major importance for plant adjustment to resource availability (Bazzaz and Harper 1977; Crick and Grime 1987; Dong et al. 1996). These results lead to the conclusion that populations are phenotypically plastic and therefore are capable to react rapidly to changing environment conditions, such as temperature increase.

Figure 5: Relationships between height increment and temperature of planting site for each beech population (a). Relationship of provenance altitude with the difference between optimal and inhabited climate for height increment (ΔT , °C) for beech.

Annual mean temperature was used for assessing inhabited temperature and minimum derivative of the curve on Fig. 1 for each transplanted populations for assessing optimal temperature



References

- Ackerly DD (2003) Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences* 164:165-S184
- Balaguer L et al. (2001) Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* 15:124-135
- Bazzaz FA, Harper JL (1977) Demographic analysis of growth of *Linum usitatissimum*. *New Phytologist* 78:193-208
- Bertin RI (2008) Plant phenology and distribution in relation to recent climate change. *Journal of the Torrey Botanical Society* 135:126-146
- Birks HJB (1989) Holocene isochrone maps and patterns of tree spreading in the british isles. *Journal of Biogeography* 16:503-540
- Bradshaw AD (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13:115-155
- Brendel O, Le Thiec D, Scotti-Saintagne C, Bodenes C, Kremer A, Guehl JM (2008) Quantitative trait loci controlling water use efficiency and related traits in *Quercus robur* L. *Tree Genetics & Genomes* 4:263-278
- Brewer S, Cheddadi R, de Beaulieu JL, Reille M, Data c (2002) The spread of deciduous *Quercus* throughout Europe since the last glacial period. *Forest Ecology and Management* 156:27-48
- Craig H (1957) Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for mass-spectrometric analysis of carbon dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 12:133-149
- Crick JC, Grime JP (1987) Morphological plasticity and mineral nutrient capture in two herbaceous species of contrasted ecology. *The New Phytologist* 107:403-414
- Dong M, During HJ, Werger MJA (1996) Morphological responses to nutrient availability in four clonal herbs. *Vegetatio* 123:183-192
- Eriksson E, Ekberg I, D. C (2006) An introduction to Forest Genetics, Uppsala, Sweden

- Evans JR (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia* 78:9-19
- Farquhar GD, Ehleringer JR, Hubick KT (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40:503-537
- Fonseca CR, Overton JM, Collins B, Westoby M (2000) Shifts in trait-combinations along rainfall and phosphorus gradients. *Journal of Ecology* 88:964-977
- Gates DM (1965) Energy, plants, and ecology. *Ecology* 46:1-13
- Grabherr G, Gottfried M, Pauli H (1994) Climate effects on mountain plants. *Nature* 369:448-448
- Guisan A, Thuiller W (2005) Predicting species distribution: offering more than simple habitat models. *Ecology Letters* 8:993-1009
- Hamrick JL (2004) Response of forest trees to global environmental changes. *Forest Ecology and Management* 197:323-335
- Korner C (2003) Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology* 91:4-17
- Körner C (1999) *Alpine plant life*. Springer-Verlag Berlin
- Korner C, Farquhar GD, Roksandic Z (1988) A global survey of carbon isotope discrimination in plants from high altitude. *Oecologia* 74:623-632
- Korner C, Farquhar GD, Wong SC (1991) Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal and altitudinal trends. *Oecologia* 88:30-40
- Kullman L (2002) Rapid recent range-margin rise of tree and shrub species in the Swedish Scandes. *Journal of Ecology* 90:68-77
- Lajtha K, Getz J (1993) Photosynthesis and water-use efficiency in Pinyon-Juniper communities along an elevation gradient in Northern New-Mexico. *Oecologia* 94:95-101
- Lenoir J, Gegout JC, Marquet PA, de Ruffray P, Brisse H (2008) A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320:1768-1771
- Lindner M et al. (2009) Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. Submitted
- Lutze JL, Gifford RM (1998) Acquisition and allocation of carbon and nitrogen by *Danthonia richardsonii* in response to restricted nitrogen supply and CO₂ enrichment. *Plant Cell and Environment* 21:1133-1141
- Marshall JD, Zhang JW (1994) Carbon isotope discrimination and water-use efficiency in native plants of the North-Central Rockies. *Ecology* 75:1887-1895
- Matos FS, Wolfgramm R, Goncalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and Experimental Botany* 67:421-427
- Mazer SJ, Schick CT (1991) Constancy of population parameters for life-history and floral traits in *Raphanus sativus* L. I. Norms of reaction and the nature of genotype by environment interactions. *Heredity* 67:143-156
- Meziane D, Shipley B (1999) Interacting determinants of specific leaf area in 22 herbaceous species: effects of irradiance and nutrient availability. *Plant Cell and Environment* 22:447-459
- Michelsen A, Jonasson S, Sleep D, Havstrom M, Callaghan TV (1996) Shoot biomass, delta 13C, nitrogen and chlorophyll responses of two arctic dwarf shrubs to in situ shading, nutrient application and warming simulating climatic change. *Oecologia* 105:1-12

- Mooney HA and Dunn EL (1970) Convergent Evolution of Mediterranean-Climate Evergreen Sclerophyll Shrubs. *Evolution* 24:292-303
- Morecroft MD, Woodward FI (1990) Experimental investigations on the environmental determination of $\delta^{13}\text{C}$ at different altitudes. *Journal of Experimental Botany* 41:1303-1308
- Navas ML, Garnier E (2002) Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* 23:375-383
- Niinemets U (2001) Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82:453-469
- Nunezoliveira E, Martinezzabaigar J, Escudero JC (1994) Chlorophyll content of a mediterranean shrub (*Cistus ladanifer* L.) over a latitude and altitude gradient in the Iberian peninsula. *Photosynthetica* 30:133-142
- Ormrod DP, Lesser VM, Olszyk DM, Tingey DT (1999) Elevated temperature and carbon dioxide affect chlorophylls and carotenoids in douglas-fir seedlings. *International Journal of Plant Sciences* 160:529-534
- Osunkoya OO, Bayliss D, Panetta FD, Vivian-Smith G (2010) Variation in ecophysiology and carbon economy of invasive and native woody vines of riparian zones in south-eastern Queensland. *Austral Ecology* 35:636-649
- Palmroth S, Berninger F, Nikinmaa E, Lloyd J, Pulkkinen P, Hari P (1999) Structural adaptation rather than water conservation was observed in Scots pine over a range of wet to dry climates. *Oecologia* 121:302-309
- Parmesan C, Yohe G (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421:37-42
- Penuelas J, Boada M (2003) A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology* 9:131-140
- Petit RJ, Bialozyt R, Brewer R, Cheddadi R, Comps B From spatial patterns of genetic diversity to postglacial migration processes in forest trees. chapitre 14
- Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology* 209:2362-2367
- Premoli AC, Brewer CA (2007) Environmental v. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Australian Journal of Botany* 55:585-591
- Quero JL, Villar R, Maranon T, Murillo ANA, Zamora R (2008) Plastic response to light and water in four Mediterranean *Quercus* species (Fagaceae). *Revista Chilena de Historia Natural* 81:373-385
- Ramirez-Valiente JA, Sanchez-Gomez D, Aranda I, Valladares F (2010) Phenotypic plasticity and local adaptation in leaf ecophysiological traits of 13 contrasting cork oak populations under different water availabilities. *Tree Physiology* 30:618-627
- Rehfeldt GE, Tchebakova NM, Parfenova YI, Wykoff WR, Kuzmina NAM, L.I. (2002) Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8:912-929
- Rehfeldt GE, Wykoff WR, Ying CC (2001) Physiologic plasticity, evolution, and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*. *Climatic Change* 50:355-376
- Rehfeldt GE, Ying CC, Spittlehouse DL, Hamilton DA (1999) Genetic

- responses to climate in *Pinus contorta*: Niche breadth, climate change, and reforestation. *Ecological Monographs* 69:375-407
- Richards CL, Bossdorf O, Muth NZ, Gurevitch J, Pigliucci M (2006) Jack of all trades, master of some? On the role of phenotypic plasticity in plant invasions. *Ecology Letters* 9:981-993
- Robinson D, Rorison IH (1988) PLASTICITY IN GRASS SPECIES IN RELATION TO NITROGEN SUPPLY. *Functional Ecology* 2:249-258
- Ryser P, Eek L (2000) Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. *American Journal of Botany* 87:402-411
- Sanchez-Gomez D, Zavala MA, Valladares F (2008) Functional traits and plasticity linked to seedlings' performance under shade and drought in Mediterranean woody species. *Annals of Forest Science* 65:311p311-311p310
- Scheepens JF, Frei ES, Stocklin J (2010) Genotypic and environmental variation in specific leaf area in a widespread Alpine plant after transplantation to different altitudes. *Oecologia* 164:141-150
- Schlichting CD, Pigliucci M, Schlichting CD, Pigliucci M (1998) Phenotypic evolution: A reaction norm perspective. *Phenotypic evolution: A reaction norm perspective*:xii+387p
- Shiyatov SG, Terent'ev MM, Fomin VV, Zimmermann NE (2007) Altitudinal and horizontal shifts of the upper boundaries of open and closed forests in the Polar Urals in the 20th century. *Russian Journal of Ecology* 38:223-227
- Soolanayakanahally RY, Guy RD, Silim SN, Drewes EC, Schroeder WR (2009) Enhanced assimilation rate and water use efficiency with latitude through increased photosynthetic capacity and internal conductance in balsam poplar (*Populus balsamifera* L.). *Plant, Cell and Environment* 32:1821-1832
- Sugiyama S, Gotoh M (2010) How meristem plasticity in response to soil nutrients and light affects plant growth in four *Festuca* grass species. *New Phytologist* 185:747-758
- Sultan SE (1987) Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. *Evolutionary Biology* 21:127-178
- Sultan SE (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5:537-542
- Thuiller W et al. (2008) Predicting global change impacts on plant species' distributions: Future challenges. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 9:137-152
- Valladares F et al. (2005) Shade tolerance, photoinhibition sensitivity and phenotypic plasticity of *Ilex aquifolium* in continental Mediterranean sites. *Tree Physiology* 25:1041-1052
- Valladares F, Martinez-Ferri E, Balaguer L, Perez-Corona E, Manrique E (2000) Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist* 148:79-91
- Valladares F, Sanchez-Gomez D, Zavala MA (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94:1103-1116

- Via S (1994) The evolution of phenotypic plasticity: what do we really know? In: Ecological genetics, Real L. edn. Princeton University Press, pp 35-85
- Vitasse Y, Bresson CC, Kremer A, Michalet R, Delzon S (2010) Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species. *Functional Ecology*:no-no
- Vitasse Y, Delzon S, Bresson CC, Michalet R, Kremer A (2009) Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39:1259-1269
- Wang GA et al. (2010) Altitudinal trends of leaf $\delta^{13}\text{C}$ follow different patterns across a mountainous terrain in north China characterized by a temperate semi-humid climate. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 24:1557-1564
- Wardle P, Coleman MC (1992) evidence for rising upper limits of 4 native new-zealand forest trees. *New Zealand Journal of Botany* 30:303-314
- Water PKvd, Leavitt SW, Betancourt JL (2002) Leaf $\delta^{13}\text{C}$ variability with elevation, slope aspect, and precipitation in the southwest United States. *Oecologia* 132:332-343
- White J (1979) The plant as a metapopulation. *An. Rev. Ecol. Sys.* 10:109-145

Chapitre 6

Synthèse et discussion



J'ai cueilli ce brin de bruyère
L'automne est morte souviens-t'en
Nous ne nous verrons plus sur terre
Odeur du temps brin de bruyère
Et souviens-toi que je t'attends.

Pour mon papa qui nous manque tant...
Guillaume Apollinaire, « L'adieu », *Alcools*, 1913.

1. Variations phénotypiques en conditions naturelles

1.1. Clines altitudinaux

1.1.1 Capacités photosynthétiques

Gaston Bonnier (1890, 1895) fût probablement le premier à étudier l'évolution des performances des plantes avec l'altitude. Il nota que les plantes d'altitude semblaient avoir de meilleures capacités photosynthétiques que celles de basses altitudes (travaux dans les Alpes et les Pyrénées). Les premières analyses détaillées sur la photosynthèse des plantes d'altitude (Henrici 1920 et Cartelieri 1940, d'après Körner 1999) montrent un meilleur taux de photosynthèse à haute altitude, résultat confirmé quelques décennies plus tard par les méthodes de mesures par infrarouge (Billings et al. 1961, Friend et al. 1989). En effet, la chambre de mesure couplée à l'analyseur de gaz à infrarouge a permis de contrôler avec précision la température, la lumière et les flux entrant et sortant (CO_2 , H_2O). La majorité des études réalisées sur le sujet ont été menées sur des herbacées (voir Körner 1999) et peu de connaissances sont actuellement disponibles chez les arbres. Dans la présente thèse, nous avons mis en évidence chez deux espèces d'arbres, que les populations de hautes altitudes possèdent des capacités photosynthétiques supérieures à celles de basses altitudes (Chapitre 2). La température et la P_{CO_2} sont les principales variables environnementales qui jouent sur l'assimilation. En effet, les faibles températures vont induire une augmentation du LMA et par conséquent une concentration des machineries photosynthétiques. Dans le même temps, les faibles pressions partielles amènent à une diminution de la résistance au CO_2 et facilitent ainsi les échanges gazeux. Dans la littérature, le taux maximal d'assimilation de CO_2 (A_{max}) augmente de façon significative le long du gradient altitudinal étudié chez plusieurs espèces : *Nothofagus pumilio* (Premoli and Brewer 2007), *Nothofagus sp.* (Kohout and Read 2006) et *Pinus merkusii* (Koskela 2001). Toutefois, Piper (Piper et al. 2006) ne met en évidence aucune tendance significative pour A_{max} avec l'altitude chez l'Olivier du Chili (*Kageneckia angustifolia*) mais cette étude a été réalisée sur deux sites espacés de seulement 200 m de dénivelé au niveau de la limite supérieure des arbres (treeline). Une étude récente (Zhang et al. 2005) a également mis en évidence une diminution de cette variable entre 3240 et 4270 m qui s'expliquerait par la hauteur très élevée de ce gradient.

Nous avons également soulevé un facteur important à prendre en compte lors de la comparaison de ce type de mesures à différentes altitudes (Bresson et al. 2009, Chapitre 2): la variation de pression partielle des gaz (P_i) avec l'altitude. En effet, P_i diminue d'environ 10% tous les 1000 m (Jones 1983) et les processus de diffusion et de réactions biochimiques en sont nécessairement affectés. La plupart des études fixe dans la chambre de mesure un ratio de CO_2 (Rada et al. 1998; Zhang et al. 2005) et non une pression partielle de CO_2 (P_{CO_2}). Or, quand on compare des mesures réalisées à différentes altitudes, la différence entre pression et concentration devient cruciale. Par exemple, si on considère une quantité de CO_2 de 360 ppm (constante quelque soit l'altitude considérée), cela correspond à 360 μbar ou 36 Pa au niveau de la mer, 34 Pa à 600 m et 27 Pa à 2600 m d'altitude. Dans la littérature, la seule étude ayant pris en compte la diminution de P_{CO_2} ambiante/constante le long d'un gradient altitudinal (Körner 1987) montre que A_{max} se maintient en altitude malgré une diminution de 20.8% de P_{CO_2} quand les mesures sont réalisées à P_{CO_2} ambiante et augmente de 19% si P_{CO_2} est fixée à une valeur constante (251 μbar) correspondant à une altitude élevée (2600 m asl). D'autre part, cette même étude met en évidence une meilleure efficacité d'utilisation du carbone (ECU) à haute altitude (pente de la courbe) et de ce fait un gain carboné potentiel plus élevé dans l'hypothèse d'une augmentation de CO_2 de 100 ppm (Figure 1-1) correspondant à l'augmentation réalisée ce dernier siècle.

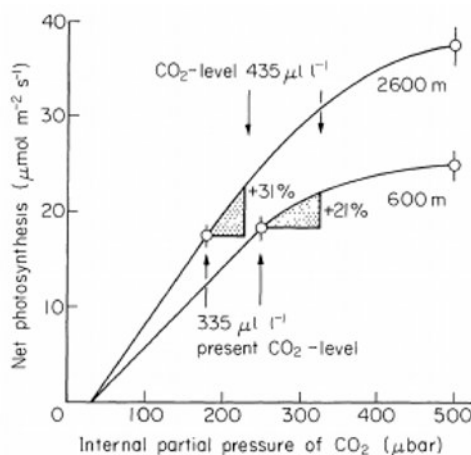


Figure 1-1. Courbe moyenne de réponse de la photosynthèse en fonction de la pression partielle de CO_2 interne à deux altitudes (600 et 2600 m). La partie grisée correspond à l'estimation du gain de photosynthèse réalisée pour une augmentation de $100 \mu\text{l l}^{-1}$. Ce gain est plus important pour la population de 2600 m. D'après Körner 1987.

Nos résultats montrent qu'en fixant cette P_{CO_2} à un niveau de basse altitude (37.5 Pa), les capacités photosynthétiques mesurées à haute altitude (1600 m asl) sont plus élevées qu'en condition ambiante et ce de façon non négligeable ($4 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Figure 1-2 ; Bresson et al. 2009).

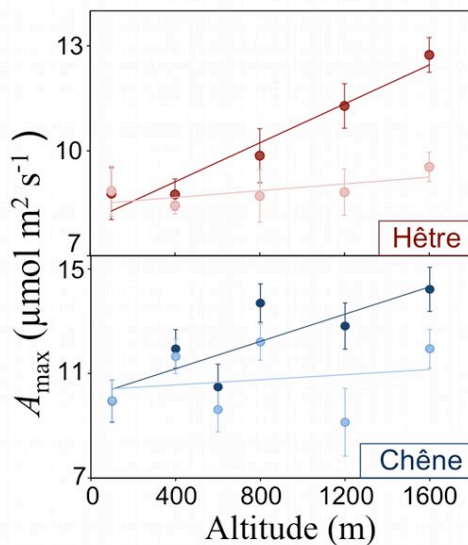


Figure 1-2 Evolution de l'assimilation photosynthétique maximale avec l'altitude pour deux espèces (Hêtre en rouge, Chêne sessile en bleu). Les couleurs claires correspondent aux mesures effectuées à P_{CO_2} ambiante, les couleurs foncées à celles effectuées à 37.5 Pa tout le long du gradient.

L'effet négatif de la diminution en altitude de P_{CO_2} sur l'assimilation est intuitif et connu depuis longtemps (Billings et al. 1961; Decker 1947). Cependant, cette diminution s'accompagne également d'autres changements environnementaux : (i) diminution de la pression partielle de dioxygène (P_{O_2}) et par conséquent diminution de la photorespiration (ii) un air « plus dilué » à haute altitude permet une meilleure diffusion des molécules de CO_2 (Körner et al. 1991; Körner 1987) (iii) une diminution de la température de l'air et donc de la température de surface des feuilles, ce qui diminue d'autant plus la photorespiration et freine la diffusion des molécules de CO_2 . Le résultat de toutes ces interactions interdépendantes est donc difficile à prévoir. Néanmoins, Terashima (Terashima et al. 1995) a modélisé cette relation photosynthèse/altitude et conclu que la diminution de P_{CO_2} n'a qu'un effet modéré sur la disponibilité du CO_2 pour la photosynthèse. Pourtant, nos résultats montrent une augmentation plus importante de A_{max} (25%) par rapport à la diminution de P_{CO_2} correspondante (16 %).

D'autre part, il est important de noter que les mesures d'échanges gazeux ont été réalisées en conditions contrôlées, dans une cuvette de mesure dans laquelle la pression partielle de CO_2 , la température, le rayonnement lumineux et l'humidité relative étaient maintenus constants. Ces mesures pourraient donc être comparées à des mesures réalisées dans un environnement commun. Le patron observé est donc le résultat d'une acclimatation (réponse plastique) ou d'une adaptation (évolution génétique). Or, nous savons grâce à des mesures d'échanges gazeux réalisées ultérieurement en test de provenance que les capacités photosynthétiques sont largement déterminées par l'environnement (voir chapitre 3). Par

conséquent, cette augmentation de photosynthèse le long du gradient altitudinal résulte plus d'une acclimatation que d'une adaptation génétiquement fixée.

Au niveau de la conductance stomatique (g_{smax}), une augmentation significative avec l'altitude a été mise en évidence dans notre étude. Aucun consensus n'a été établi à travers la littérature et très peu d'études se sont attachées à décrire l'évolution de ce paramètre sur des arbres le long de gradients altitudinaux. L'ouverture stomatique est plus importante à haute altitude ce qui permet une plus grande entrée de dioxyde de carbone (CO_2) et donc une photosynthèse plus élevée. Néanmoins, il faut noter que la conductance stomatique (phénomène de fermeture/ouverture des stomates) fluctue très rapidement au cours de la journée sous l'influence du VPD (déficit en vapeur d'eau de l'air), de la vitesse du vent, du rayonnement ou encore de la concentration interne en CO_2 (Granier and Loustau 1994; Oren et al. 1999). Ces paramètres varient très fréquemment et rapidement à l'échelle d'une journée, nous devons donc interpréter nos résultats avec précaution. En effet, il est très difficile de mesurer la conductance stomatique dans des conditions comparables lorsque l'on travaille le long de gradients environnementaux.

1.1.2 Traits morphologiques

Nous avons observé des variations phénotypiques significatives avec l'altitude pour 6 traits morphologiques chez le chêne sessile et le hêtre commun (Bresson et al. soumis à Tree Physiology, Chapitre 3). Les variations observées suivent la même tendance le long du gradient altitudinal pour les deux espèces étudiées, avec néanmoins des valeurs plus élevées pour le chêne. La taille des feuilles (L_s) diminue avec l'altitude pendant que la masse surfacique foliaire augmente (LMA). Les feuilles récoltées à haute altitude sont donc plus petites et plus épaisses qu'à basse altitude. Ces résultats sont en accord avec de nombreux travaux dont ceux de Tang et Ohsawa (1999) qui ont mis en évidence une tendance similaire sur 88 espèces de feuillus sempervirents et le long d'un gradient altitudinal marqué (2500m). A l'inverse, l'étude de Schoettle (2000) met en évidence une diminution du LMA avec l'altitude sur *Pinus flexibilis*. Cette augmentation généralement observée en épaisseur des feuilles pourrait être causée par les faibles températures à haute altitude qui freinerait l'extension cellulaire (Friend et al. 1989; Kao and Chang 2001; Meinzer et al. 1985). Selon Ren et al. (Ren et al. 2007), l'épaisseur prononcée des feuilles est également une réponse des arbres à l'augmentation des UV-B à haute altitude, réduisant ainsi la proportion de tissus intérieurs exposés aux rayons nocifs. Plusieurs auteurs ont également mis en évidence que les

feuilles avec des LMA plus élevées contiennent plus de machineries photosynthétiques et d'azote par unité de surface (Vitousek et al. 1990), augmentant ainsi les performances photosynthétiques et l'efficacité d'utilisation de l'eau des arbres à haute altitude (Hultine and Marshall 2000).

Les résultats obtenus pour les teneurs foliaires en azote par unité de surface (N_a) indiquent une augmentation le long des gradients altitudinaux ce qui conforte les travaux de (Cordell et al. 1998; De Lillis et al. 2004; Oleksyn et al. 1998; Sparks and Ehleringer 1997). Toutefois, d'autres travaux ont révélés une diminution de N_a (Zhang et al. 2005) ou aucune tendance significative (Premoli and Brewer 2007) avec l'altitude, mais les gradients utilisés étaient de faible dénivelé (400 m environ). Larcher (1995) démontre que la disponibilité des sols en nutriments diminue avec l'altitude en raison de la pluviométrie élevée qui lessive les sols et de la plus lente minéralisation de la litière. Les populations d'arbres vivants dans ces milieux développent des stratégies efficaces, comme une allocation préférentielle vers les parties racinaires (Magnani et al. 2000), ou un plus faible taux de croissance permettant une meilleure utilisation des réserves en nutriments disponibles (Körner 1989; Larcher 1995). Le long de notre gradient d'étude la pluviométrie augmente avec l'altitude (de 866 à 1469 mm/an entre les deux extrémités). Toutefois cela ne semble pas entraîner de lessivage important car le taux d'azote du sol augmente de 0.14 à 0.78 % le long du gradient. Plusieurs hypothèses expliquant l'augmentation de l'azote foliaire avec l'altitude ont été proposées. Tout d'abord passivement, l'azote pourrait être plus concentré dans des feuilles plus petites et plus épaisses (LMA élevé) à haute altitude. Une seconde explication serait un stockage plus important de l'azote à haute altitude afin d'optimiser la croissance dans des conditions difficiles (Chapin et al. 1990). Néanmoins, on sait que les faibles températures tendent à diminuer la disponibilité en azote du sol (faible minéralisation) (Bonan and Vancleve 1992; Chapin 1983) et le prélèvement racinaire d'azote (Karlsson and Nordell 1996; Kummerow and Ellis 1984). En fait, il apparaît que les faibles températures agissent de façon plus importante sur le taux de croissance que sur l'acquisition de l'azote par les plantes à haute altitude (Weih and Karlsson 2001). Ainsi, la forte teneur en azote des feuilles à haute altitude résulterait à la fois d'une dilution moins élevée (taux croissance faible, LMA élevé) et du maintien d'un prélèvement azoté important malgré les faibles températures (Weih and Karlsson 1999).

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation significative de la densité stomatique (SD) le long du gradient altitudinal pour les deux espèces. Dans la littérature, aucun consensus sur les variations de SD le long de gradients altitudinaux n'apparaît clairement : certains auteurs ont mis en évidence une diminution de la densité stomatique le

long du gradient (Hultine and Marshall 2000; Schoettle and Rochelle 2000), d'autres une augmentation (Hovenden and Brodribb 2000; Premoli and Brewer 2007), d'autres encore une inversion de tendance à partir d'une altitude seuil (Gou et al. 2005; Qiang et al. 2003). Trois théories principales ont été avancées pour expliquer les variations de densité stomatique avec l'altitude. La première serait une réponse directe au CO₂ : SD augmenterait le long du gradient altitudinal pour compenser la faible disponibilité du CO₂ à haute altitude (Körner 1988; McElwain 2004). Néanmoins, cette théorie ne prend pas en compte la taille des stomates (également importante pour la détermination de la conductance stomatique) et l'augmentation du coefficient de diffusion du CO₂ qui augmente également avec l'altitude. Une autre hypothèse concerne la réponse des stomates au stress hydrique. Par exemple, Schoettle et Rochelle (2000) proposent que la diminution SD chez *Pinus flexilis* le long de leur gradient altitudinal soit une adaptation permettant de minimiser les pertes d'eau dans un milieu sec à haute altitude. Au contraire, nos résultats ne confortent pas cette hypothèse. En effet, la pluviométrie est deux fois plus élevée en haut de notre gradient qu'en bas. La troisième théorie, avancée par Körner (Körner 1988; Körner 1999), propose que les variations de densité stomatique le long des gradients d'altitude soient liées à la quantité de lumière interceptée. En effet, le rayonnement lumineux est parfois plus élevé à haute altitude (résultat d'une absorption atmosphérique diminuée sur une distance plus courte) et plusieurs études ont mis en évidence des stomates plus nombreux et plus petits sur des feuilles exposées plus intensément à la lumière (Ashton and Berlyn 1994; Hanson 1917). Cette théorie pourrait peut-être en partie expliquer l'augmentation de SD détectée chez le chêne et le hêtre dans nos travaux. Néanmoins, nous n'avons pas à ce jour quantifié le rayonnement lumineux de façon précise le long de notre gradient. Pour conclure, l'augmentation de SD mise en évidence le long de notre gradient pourrait être une réponse combinée à la diminution de CO₂ ainsi qu'à l'augmentation du rayonnement incident.

En conclusion, l'augmentation du taux de photosynthèse à haute altitude pourrait permettre de compenser la courte saison de végétation dans ces environnements (Körner 2003). Une des raisons expliquant cette assimilation élevée est la plus grande épaisseur du mésophylle à haute altitude (démonstré chez de nombreuses espèces par Wagner 1892), ce qui leur confèrent une machinerie photosynthétique plus importante (Körner and Cochrane 1985; Morecroft et al. 1992; Woodward 1986). En effet, le LMA élevé dû aux faibles températures et à l'augmentation des UV-B à haute altitude permet de concentrer l'azote dans des feuilles

plus petites et plus épaisses. De plus, la faible pression partielle de CO₂ facilite la diffusion des molécules de CO₂ jusqu'à la chambre sous-stomatique.

1.1.3 Traits phénologiques

Débourrement foliaire printanier (LU, Leaf Unfolding)

Une étude réalisée en parallèle de la nôtre a mis en évidence sur le même gradient un retard progressif de la date de débourrement de *Fagus sylvatica* et *Quercus petraea* au fur et mesure que l'altitude augmente, avec des tendances allant de 11 jours à 35 jours pour 1000 m de dénivelé, respectivement chez les populations de hêtre et de chêne (Vitasse et al. 2009c). Ces résultats révèlent ainsi que ces deux espèces ont des sensibilités phénologiques très différentes vis-à-vis de l'altitude. Vis-à-vis de la température printanière, cette étude révèle une sensibilité faible chez le hêtre avec une avance du débourrement de 1.9 jours par degré d'augmentation de la température, et beaucoup plus forte chez le chêne avec -6.5 jours / °C. D'autre part, des modèles simulant les dates de débourrement de ces mêmes espèces au cours du XXI^{ème} siècle (Vitasse submitted) confortent ces résultats : ils prédisent une avance du débourrement plus forte chez le chêne (- 2.5 jours / décennie jusqu'en 2100) et quasiment nulle pour le hêtre (-0.6 jours / décennie). Des observations conduites dans la forêt de Fontainebleau depuis 1976, concordent également avec ces simulations. En effet, les données montrent que le chêne est une espèce dont le débourrement a été le plus avancé au cours des dernières décennies alors que le débourrement du hêtre n'a pas été significativement avancé (Vitasse submitted). D'autres études analysant les variations phénologiques interannuelles confirment que le hêtre est une des espèces dont les dates de débourrement ont été les moins avancées au cours des dernières décennies (Bertin 2008; Menzel et al. 2001; Studer et al. 2005). Toutes espèces confondues, la littérature rapporte généralement une avance du débourrement de 3 à 8 jours / °C (voir synthèse Bertin 2008), ce qui est comparable aux valeurs trouvées le long de notre gradient (1.9 à 6.5 jours /°C pour le hêtre et le chêne respectivement, (Vitasse et al. 2009c).

Sénescence foliaire (LS Leaf Senescence)

Très peu de données sont disponibles concernant les dates de sénescence des arbres caducifoliés, probablement en raison de la difficulté à mesurer cet événement phénologique (Estrella and Menzel 2006). Toutefois, une étude parallèle à la nôtre et réalisée le long du même gradient altitudinal met en évidence une avance progressive de la date de sénescence du hêtre et du chêne sessile au fur et mesure que l'altitude augmente, respectivement 30 jours et 20 jours pour 1000 m de dénivelé. Exprimés en fonction de la température, ces tendances correspondent à un retard de la sénescence de - 5.6 et 5.1 jours / °C pour le hêtre et le chêne, respectivement. Encore une fois il est difficile de comparer ces tendances étant donné le peu de données disponibles dans la littérature. Les données phénologiques du réseau RENECOFOR montrent cependant un retard plus faible chez le chêne sessile et le hêtre, respectivement - 2.4 et 2.2 jours / °C (Lebourgeois et al. 2008). Bien que cette tendance ne soit pas significative, une autre étude montre que la coloration des feuilles de hêtre semble être de plus en plus précoce au fur et à mesure que l'altitude augmente, en moyenne de -14.2 jours / 1000 m (Dittmar and Elling 2006). Toutes espèces confondues, les données de la littérature basées le long d'un gradient altitudinal, montrent globalement un retard de la sénescence avec l'augmentation des températures compris entre 0 et 5 jours / °C (Dittmar and Elling 2006; Matsumoto et al. 2003; Migliavacca et al. 2008; Richardson et al. 2006). Néanmoins, concernant les dates de sénescence des arbres, il est difficile d'établir des comparaisons entre les différents types de gradients environnementaux utilisés, en raison d'une multitude de facteurs environnementaux influant sur cet événement phénologique (photopériode, stress hydrique, etc), en particulier sur une échelle géographique importante.

Longueur de saison de végétation (GSL Growing season length)

Pour conclure, la synergie entre un débourrement plus tardif et une sénescence plus précoce à haute altitude, concoure à une diminution de la durée de saison de végétation. L'étude réalisée dans nos sites d'études montre ainsi une diminution de 8 et 13 jours/°C pour le hêtre et le chêne, respectivement. Entre le haut et le bas du gradient altitudinal étudié. L'allongement différentiel de la saison de croissance entre les espèces d'une même communauté en réponse à une augmentation de la température devrait avoir un impact important sur l'équilibre compétitif des espèces. Dans notre zone d'étude, le chêne et le hêtre coexistent souvent dans les mêmes peuplements (en particulier sur les versants sud, sud-ouest et ouest). Les patrons phénologiques mettent en évidence qu'au dessus d'une altitude

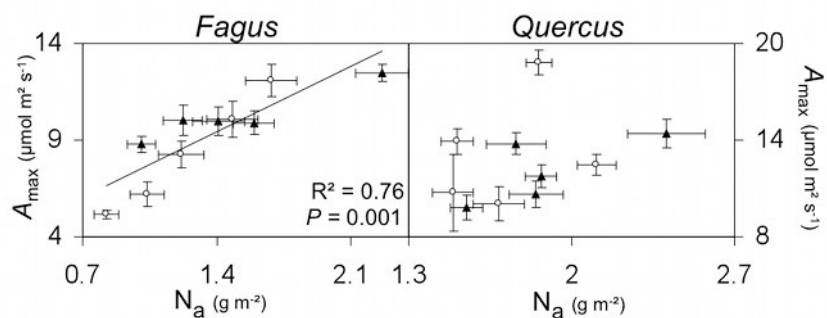
d'environ 750 m, le hêtre possède une GSL plus importante que le chêne et inversement en dessous de cette altitude. Comme le chêne a la propriété d'allonger sa saison de croissance de manière plus importante que le hêtre, l'équilibre compétitif de ces deux espèces est susceptible d'évoluer en faveur du chêne qui pourrait alors devenir de plus en plus compétitif à haute altitude sous l'influence du réchauffement climatique.

1.2 Corrélation entre traits

Nous venons de mettre en évidence des variations de traits fonctionnels foliaires, permettant d'estimer des tendances générales du fonctionnement de ces deux espèces le long d'un gradient climatique. Afin d'aller plus loin dans l'hypothèse des mécanismes sous-jacents du fonctionnement des espèces, nous avons regardé quels étaient les traits fonctionnels corrélés entre eux.

Tout d'abord nous avons regardé la corrélation de l'assimilation carbonée avec la teneur en azote foliaire. La corrélation entre ces deux variables (A_{\max} et N_a) est significative seulement pour le hêtre et nous laisse supposer que l'augmentation des performances photosynthétiques le long du gradient est directement due à la concentration plus importante en azote foliaire pour cette espèce (Figure 1-3). Chez le chêne, cette relation n'est pas significative et l'augmentation de A_{\max} ne peut donc pas être expliquée par la teneur en azote foliaire (Figure 1-3). Néanmoins, ceci peut s'expliquer en partie par une humidité relative trop faible lors des journées de mesures à haute altitude pour le chêne, entraînant une fermeture stomatique à l'origine de valeurs de A_{\max} anormalement faibles.

Figure 1-3 Taux maximal d'assimilation du CO_2 (A_{\max}) en fonction de l'azote foliaire par unité de surface (N_a). Vallée d'Ossau, en blanc. Vallée des Gaves, en noir.



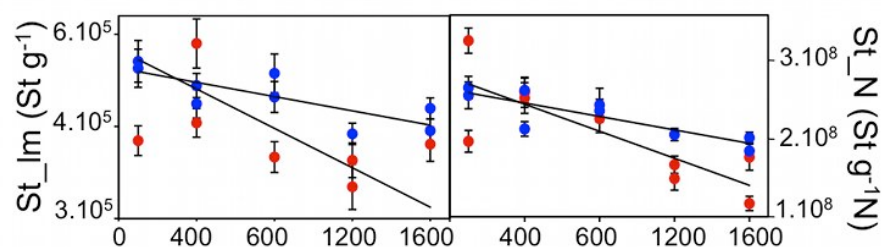
La relation positive entre A_{\max} et N_a est largement reconnue à l'échelle intra- et interspécifique (Evans 1989; Field 1986; Reich and Walters 1994; Reich et al. 1992). En effet, nous savons que l'azote intervient dans la synthèse de la RubisCo (Lusk and Reich 2000; Nakaji et al. 2001), et affecte de façon importante la vitesse de carboxylation (Cheng and Fuchigami 2000; Manter et al. 2005), et donc le taux maximal d'assimilation (Murchie et al. 2002; Peterson et al. 1999; Warren et al. 2000). Néanmoins, l'absence de relation A_{\max}/N_a entre les populations a déjà été montré dans quelques cas (Schoettle 1994; Sheriff et al. 1986) sur trois espèces de Pins (*P. radiata*, *P. contorta* et *P. aristata*).

Afin d'étudier la balance entre l'offre et la demande en CO_2 au niveau de la feuille, nous avons calculé des traits structuraux dérivés (St_{lm} et St_N). Ces traits dérivés sont calculés à partir de trois traits foliaires, la densité stomatique (SD), la masse surfacique (LMA) et la teneur en azote foliaire par unité de surface (N_a) (Hultine and Marshall 2000):

$$St_{lm} = \frac{SD}{LMA} \quad \text{et} \quad St_N = \frac{SD}{N_a}$$

Ils représentent un compromis (trade-off) du fonctionnement de la plante, permettant en effet de décrire de façon relative, d'une part la disponibilité en CO_2 au niveau stomatique, et d'autre part la demande au niveau du mésophylle. La densité de stomates représente la **disponibilité** potentielle en CO_2 , alors que N_a et LMA représentent la **capacité** potentielle à utiliser ce CO_2 entrant. Nos travaux montrent que ces deux traits diminuent significativement le long du gradient altitudinal chez les deux espèces ($P = 0,0086$ pour le hêtre et $P = 0,0033$ pour le chêne (Figure 1-4), confirmant les résultats de Hultine et Marshall (Hultine and Marshall 2000) obtenus chez quatre espèces de conifères d'Amérique du Nord.

Figure 1-4 Evolution des traits St_{lm} et St_N en fonction de l'altitude. En rouge, le hêtre et en bleu, le chêne sessile.



Cette évolution est expliquée par une augmentation plus importante de la teneur en azote par rapport à celle de la densité stomatique avec l'altitude. En fait, à haute altitude, les arbres semblent limités par la disponibilité en CO_2 plutôt que par les capacités à utiliser ce CO_2 lors

de la photosynthèse. Au contraire, les populations de basses altitudes ont des St_N et St_lm élevés et sont donc plus limitées au niveau photosynthétique par l'azote foliaire que par la disponibilité en CO_2 au niveau de la chambre sous stomatique.

Pour le chêne, seule la corrélation entre A_{max} et St_lm est significative ($P = 0.0998$), laissant encore une fois suggérer que les capacités photosynthétiques du chêne ne semble pas (ou peu) être gouvernées par la teneur foliaire en azote (N_a). Pour le hêtre, A_{max} est significativement corrélé aux deux traits dérivés et à N_a appuyant l'hypothèse d'une forte relation entre concentration d'azote foliaire et capacité photosynthétique chez cette espèce.

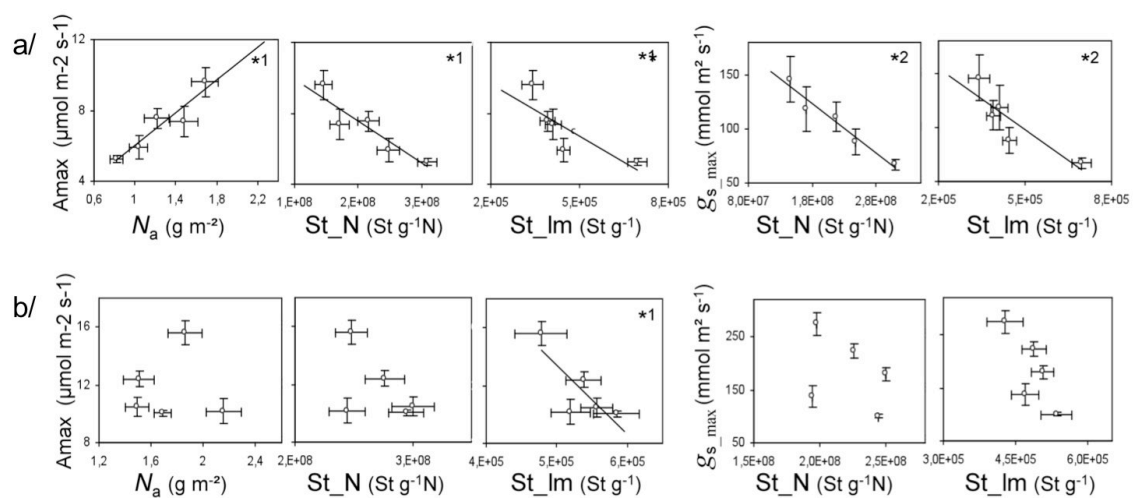


Figure 1-5 Relations entre deux traits physiologiques (A_{max} et g_{s_max}) et des traits morphologiques dérivés (N_a , St_N et St_lm) chez a) *Fagus sylvatica* ; b) *Quercus petraea*. Chaque point représente la valeur moyenne d'une population mesurée dans la vallée d'Ossau ($n=10$). Les courbes de tendance dans les graphiques indiquent que la pente de la régression linéaire est significativement différente de zéro. *¹ $P < 0.1$; *² $P < 0.01$; *³ $P < 0.001$; *⁴ $P < 0.0001$

Le tableau ci-dessous présente les corrélations entre tous les traits fonctionnels mesurés sur les arbres adultes le long du gradient altitudinal (*in situ*). Globalement, nous constatons que le hêtre présente plus de corrélations significatives (en gras étoilées dans le tableau) que le chêne. La surface spécifique foliaire (LMA) est corrélée positivement à la teneur surfacique en azote (N_a) pour les deux espèces, traduisant l'effet de concentration de l'azote dans des feuilles plus petite set plus épaisses à hautes altitudes. Un autre exemple, plus évident, est la corrélation positive entre A_{max} et g_{s_max} retrouvée chez les deux espèces. En effet, plus la conductance stomatique est élevée (haute altitude), plus l'assimilation carbonée sera potentiellement élevée.

Tableau 1-1 Corrélations entre traits fonctionnels. Les valeurs indiquées dans le tableau correspondent aux coefficients de Pearson, en rouge pour *Fagus*, en bleu pour *Quercus*. Les corrélations significatives apparaissent en gras.

*P < 0.05; ** P < 0.01; *** P < 0.001; rien, non significatif.

	L _s	LMA	SD	N _a	St_lm	St_N	g _s	A _{max}	WUE	PNUE
L _s		-0.7378*	-0.5611	-0.8534**	0.8171**	0.9065***	-0.6143	-0.7934**	-0.3481	0.4145
LMA	-0.6910*		-0.5526	0.9577***	-0.9004***	-0.8475***	0.6889*	0.7329*	-0.0374	-0.5434
SD	-0.6271	0.7449*		0.5565	-0.8002**	-0.6874*	0.4023	0.4002	-0.1311	-0.5489
N _a	-0.6499*	0.9726***	0.7655**		-0.8701**	-0.9308***	0.7439*	0.8365**	0.0615	-0.4933
St_lm	0.3705	-0.7041	0.0505	-0.6637		0.9209***	-0.8765	-0.8117	0.3847	0.5321
St_N	0.4822	-0.8471	-0.2876	-0.8762**	0.9056***		-0.9759**	-0.9177*	0.3518	0.6783
g _s	-0.2220	0.4835	-0.0968	0.4229	-0.7771	-0.3819		0.9038***	-0.2937	0.0326
A _{max}	-0.3128	0.4323	0.0677	0.4300	-0.8057	-0.4936	0.6459*		0.1225	0.0131
WUE	-0.0247	-0.0047	0.4553	0.0911	0.5670	0.1922	-0.5855	0.1045		0.0152
PNUE	0.0882	-0.1309	-0.3880	-0.1242	-0.3682	0.0775	0.4517	0.8337	0.0811	

1.3 Tendances générales et synthèse

Nous avons cherché à synthétiser les résultats existant sur les variations de traits fonctionnels foliaires chez les arbres et le long de gradients altitudinaux (Tableau 1-2) afin de faire ressortir des tendances générales. Il est clairement établi que le taux de croissance (G) des plantes est moins élevé à haute altitude qu'à basse altitude et ceci principalement sous l'effet de plus fortes contraintes climatiques en altitude (vent, froid, neige) (voir Körner 1999). Par contre les clines altitudinaux de traits fonctionnels n'ont à ce jour pas été synthétisés.

Les dates printanières de débourrement foliaire (LU) sont toujours plus précoces à basses altitudes qu'à hautes altitudes (Tableau 1-2) mais la magnitude de la réponse diffère significativement entre espèces. Pour la phénologie automnale, le pattern altitudinal est moins clair avec néanmoins une tendance globale à une sénescence foliaire plus précoce à haute altitude (Tableau 1-2). En effet, contrairement à LU, d'autres variables climatiques que la température (photopériode, stress hydrique) semblent influencer significativement la sénescence des feuilles, mais ce phénomène reste encore mal connu (voir débat récent Chuine et al. 2010; Körner and Basler 2010).

De façon générale, la masse surfacique (LMA) augmentent avec l'altitude, exceptée pour *Pinus flexibilis* dans les Montagnes Rocheuses (Schoettle and Rochelle 2000). Néanmoins, cette espèce dominante des forêts subalpines du Colorado est une espèce très tolérante au stress de haute altitude (froid, rayonnement, vent) expliquant peut être en partie ce pattern inverse. Concernant la teneur foliaire en nutriment, on observe pour les milieux tempérés une augmentation de cette teneur par unité de surface foliaire avec l'altitude (Tableau 1-2). Au contraire, en milieu tropical, où le lessivage des nutriments du sol est très important, notamment en altitude, les nutriments foliaires diminuent à hautes altitudes (van de Weg et al. 2009; Zhang et al. 2005). Au niveau de l'évolution de la densité stomatique (SD) le long d'un gradient altitudinal, les résultats sont très divers et aucun consensus ne semble émerger pour le moment. Certains auteurs ont mis en évidence une diminution de la densité stomatique le long du gradient (Hultine and Marshall 2000; Schoettle and Rochelle 2000), d'autres une augmentation (Hovenden and Brodribb 2000; Premoli and Brewer 2007), d'autres encore une inversion de tendance à partir d'une altitude seuil (Gou et al. 2005; Qiang et al. 2003). En ce qui concerne les échanges gazeux (A_{max} et $g_{s_{max}}$), les résultats semblent assez contrastés avec néanmoins une augmentation de A_{max} assez fréquente avec l'altitude. Pour ces deux caractères, il faut noter qu'il est assez difficile de réaliser ce type de mesures le long de gradients climatiques de manière standardisée (forte variabilité des facteurs environnementaux) et les études comparant les capacités photosynthétiques à différentes altitudes restent peu nombreuses (mais voir Tableau 1-2). L'utilisation d'une mesure intégrée, comme la composition isotopique en carbone, montre que l'efficacité d'utilisation de l'eau augmente de façon générale avec l'altitude (Tableau 1-2).

Tableau 1-2 Ensemble des études recensées par le logiciel ISI Web of Science portant sur les variations de traits fonctionnels des arbres le long de gradients altitudinaux. Le signe + correspond à une augmentation du trait mesuré avec l'altitude, le signe - à une diminution ; ns : non significatif ; arc de cercle : tendance hyperbolique. Pour les traits phénologiques, le signe + correspond à une date plus tardive à haute altitude qu'à basse altitude (et inversement pour le signe -).

Espèces	Denivelé (m)	Growth rate G	Leaf unfolding LU	Leaf senescence LS	Leaf mass per area LMA	Azote content [N]	Stomatal density SD	Stomatal conductance g_s	Assimilation nette A_{max}	Composition isotopique $\delta^{13}C$	Publications
<i>Q. pannosa</i>	930				+	-		ns	-		Zhang 2005
<i>Pinus</i>					+	+	-			+	Hutline 2000
<i>Abies, Picea, Pseud.</i>	1800										
<i>M. polyphorma</i>	2300				+	+					Cordell 1998
<i>P. flexibilis</i>	1670				-		-				Schoettle et Rochelle 2000
<i>P. likiangensis, P. asperata</i>	300				+					+	Li et al. 2004
<i>P. abies</i>	860	-				+			+		Oleksyn et al 1998
<i>N. pumilio</i>	440					ns	+	+	+		Premoli et Brewer 2007
<i>P. fremontii, S. exigua</i>	1220					+					Sparks 1997
10 sp.	1300					+				+	De Lillis et al 2004
<i>P. gregii</i>	140	-								+	Garcia et al 2004
<i>P. crassifolia</i>	900	-					⤿				Gou et al 2005
<i>N. cunninghamii</i>	750							-	-		Koskela 2001
<i>P. oocarpa</i>	400										Saenz-Romero et al 2006
<i>N. pumilio</i>	420	-									Barrera et al 2000
<i>K. angustifolia</i>	200								ns		Piper et al 2006
<i>Nothofagus sp.</i>	200								+		Kohout et Read 2006
<i>Esp. tropicales</i>	3380				+	-					Van de Weg et al 2009
<i>Sp. tropicales (5) et tempérées (5)</i>	2000							-	-		Dhyani et al 1991
88 sp. feuillus sempervirents	2500				+						Tang et Ohsawa 1999
2sp. betula	560					+					Kudo 1995
<i>Betula p. Sorbus a.</i>	600								ns		Holland and Richardson 2009
<i>Q. liaotungensis</i>	750				+	+					Qi et al 2009
<i>Fagus, Quercus</i>	1500		+	-							Vitasse et al 2009
<i>Fraxinus, Acer</i>			+	ns							
6 conifères, 4 feuillus			+								Lebourgeois 2008
<i>Ribes, Betula</i>			+	-							Rotzer et Chmielevski 2001
<i>Fagus sylvatica</i>	700		+	ns							Dittmar et Elling 2006
<i>Larix decidua</i>	840		+	-							Migliavacca et al 2008
<i>Acer, Fagus, Betula</i>	600		+								Richardson 2006

2. Déterminisme des variations phénotypiques observées

2.1 Variabilité génétique

La mise en place d'un common garden ou test de provenance, comprenant les populations de chêne et de hêtre étudiées en conditions naturelles, nous a permis d'étudier le rôle du déterminisme génétique dans les variations phénotypiques observées *in situ* en quantifiant les variations génétiques intra- et inter-populationnelles (chapitre 3 et annexe).

2.1.1 Différenciations génétiques inter-populationnelles

Dans un premier temps, nous avons étudié la phénologie et la croissance du hêtre et du chêne (*Fagus sylvatica* et *Quercus petraea*) dans le test de provenance (common garden) de Toulonne. Chez les deux espèces, des différenciations génétiques significatives ont été observées pour ces deux traits (Vitasse et al. 2009a, annexe). Celles-ci sont par ailleurs stables d'une année sur l'autre. Ces différenciations sont très largement corrélées aux températures annuelles des sites d'où proviennent les populations. La croissance diminue de 52% et 35% entre les populations récoltées à basse altitude et celle récoltées à haute altitude pour le hêtre et le chêne, respectivement. Au niveau de la phénologie printanière, seul le hêtre montre une tendance significative : les populations de haute altitude (basse température) débourrent plus tôt que celles de faible altitude (pente = 0.6 jour/°C). La phénologie est en effet l'un des processus biologique les plus sensibles aux variations thermiques (Sparks and Menzel 2002; Walther 2004) et les différents travaux réalisés en tests de provenance montrent une forte héritabilité des caractères phénologiques (Alberto et al. 2010; Howe et al. 2003). L'originalité des résultats obtenus ici réside dans les clines opposés obtenus entre le hêtre et le chêne. Ainsi, les populations de hêtre récoltées à hautes altitudes présentent une feuillaison plus précoce que celles issues des basses altitudes, alors que le chêne montre des clines identiques à ceux observés *in situ* (feuillaison plus précoce à basse altitude, **Figure 2-1**).

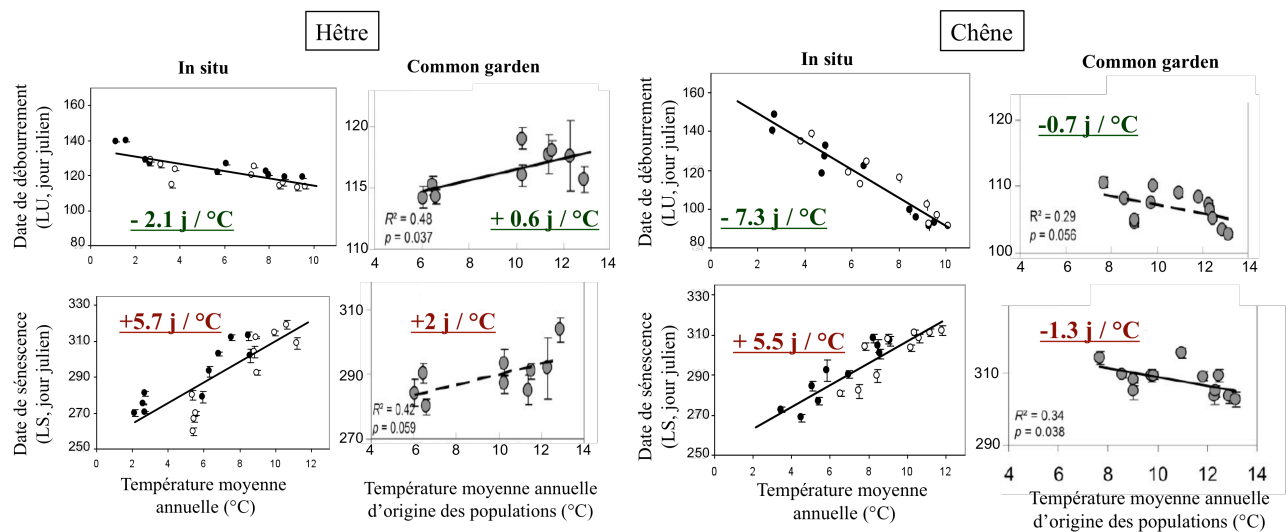


Figure 2-1 Phénologie printanière et automnale en conditions naturelles (*in situ*) et en test de provenance (common garden) chez le hêtre (à gauche) et le chêne (à droite). Les jours juliens correspondent au jour de l'année, le 1^{er} étant le 1^{er} janvier et les températures moyennes sont les températures printanière pour le débournement et automnales pour la sénescence. Les régressions montrent des clines significatifs entre la phénologie et la température des sites (*in situ*) ou la température des sites d'origine des populations (CG).

Ces tendances opposées pourraient s'expliquer par des pressions de sélection différentes pour ces deux espèces alors même qu'elles ont été échantillonnées le long du même gradient altitudinal. Ainsi, le hêtre semble favoriser une saison de végétation plus longue via une adaptation génétique induisant un débournement foliaire plus précoce pour les populations récoltées aux hautes altitudes. Ceci pourrait être le fruit d'une sélection optimisant les individus nécessitant moins de besoin en chaleur (plus faible cumul de forcing température). Au contraire, chez le chêne, à haute altitude, les individus sélectionnés débourrent plus tardivement, sans doute afin d'éviter les gels tardifs peut être plus fréquent à cette altitude.

Pour la sénescence foliaire, seules les populations de chêne montrent des différences significatives (déterminisme génétique): les populations provenant de hautes altitudes (faible température) perdent leur feuilles plus tard que celles de basses altitudes (pente de 1.3 jours/°C). Les études portant sur la sénescence sont assez rares car cet évènement phénologique est difficile à observer (Deans and Harvey 1996), en particulier le long de gradient altitudinaux (Chmura 2006). De plus, certaines études supposent que ce trait réagit principalement aux variations de la durée du jour (photopériode), laquelle diminue à l'automne et le long de gradient latitudinaux (Hanninen 1996; Jensen and Hansen 2008). Par

conséquent, bien que certaines études aient mis en évidence une différenciation génétique pour la sénescence foliaire (Chmura and Rozkowski 2002; Skroppa and Magnussen 1993; Vitasse et al. 2009a), ce caractère reste peu différencié génétiquement et principalement influencé par d'autres facteurs environnementaux que la température.

Les différenciations génétiques d'un grand nombre de traits fonctionnels foliaires ont été quantifiées chez ces deux espèces (Bresson et al. submitted, Chapitre 3). Uniquement certains traits varient significativement avec l'altitude d'origine de la population : par exemple la taille des feuilles (L_s) varie selon la population de façon significative pour les deux espèces. Pour le hêtre, L_s diminue avec l'altitude d'origine de la population de la même façon qu'en conditions naturelles mais avec une moindre amplitude, démontrant que les variations génétiques ne sont pas seules responsables du pattern exprimé *in situ*. Hovenden et ses collègues (2003) ont également montré chez *Nothofagus pumilio* (espèce anciennement apparentée à la famille des Fagacées) que L_s diminuent avec l'altitude d'origine des plants. Par contre, chez le chêne, la tendance est opposée à celle observée *in situ* ; les populations provenant de hautes altitudes présentant des feuilles de plus grande taille en common garden. Le LMA du hêtre augmente également de façon significative et cette tendance est retrouvée dans la littérature sur de nombreuses espèces (Cordell et al. 1998; Luo et al. 2006; Zhang and Marshall 1995). D'autres différenciations génétiques entre populations ont également été mises en évidence : N_a augmentent pour les deux espèces avec l'altitude d'origine de la population. Nous avons également mis en évidence des différenciations génétiques entre les 3 populations transplantées en common gardens réciproques (RTEs, Chap. 5). En effet, bien que le dispositif de transplantation réciproque ne soit pas vraiment adapté (notamment en terme d'effectif et de nombre de populations) pour tester les différenciations génétiques, nous avons observé des différences significatives entre les populations pour L_s chez les deux espèces et pour LMA et N_a entre les populations de hêtres.

Le taux maximal d'assimilation et la conductance stomatique maximale (g_{smax} et A_{max}) augmentent avec l'altitude d'origine des populations chez le chêne mais aucun cline n'a été observé chez le hêtre. Le déterminisme de ces deux traits ne paraît donc pas évident mais nous pouvons dire que les tendances observées *in situ* sont en grandes parties dues à une réponse plastique (acclimatation). D'autre part, l'analyse de la densité stomatique (SD) ne met en évidence aucune tendance claire (non significative). Il semble donc que la densité stomatique soit également sous fort contrôle environnemental. Néanmoins, nos résultats

devront être confirmés par des mesures de surface stomatique afin de compléter nos mesures de densité stomatique.

2.1.2 Variations intra-populationnelles

Même si les expérimentations mises en place dans le cadre de ma thèse n'était pas destinées à quantifier la diversité génétique intra-populationnelle (inter-famille), nous avons montré que la variabilité intra-populationnelle était plus grande que la variabilité inter-populationnelle pour tous les traits étudiés, et ce, chez les deux espèces (Tableau 2-1). Cette forte variabilité génétique intra-populationnelle indique que les populations possèdent un large potentiel adaptatif. En effet, plus la variabilité génétique au sein d'une population est grande, plus la probabilité de produire des génotypes adaptés à un nouvel environnement est élevée. Ce résultat est en accord avec ceux de Alberto et ses collègues (2010) qui montrent également une variabilité intra-populationnelle importante dans des populations de chêne le long du même gradient altitudinal.

Tableau 2-1 Coefficient de variation inter (CV_{inter}) et intra (CV_{intra}) populations pour le chêne et le hêtre calculés dans le test de provenance de Toulence.

	Hêtre		Chêne	
	CV_{intra}	CV_{inter}	CV_{intra}	CV_{inter}
L_s	0.30	0.17	0.20	0.16
LMA	0.16	0.06	0.15	0.08
SD	0.21	0.13	0.19	0.07
g_{smax}	0.26	0.09	0.27	0.16
A_{max}	0.26	0.09	0.42	0.39
N_a	0.22	0.1	0.18	0.1

2.1.3 Conclusion sur la variabilité génétique

Nos travaux le long de gradients altitudinaux dans les Pyrénées ont permis de quantifier les variations intra- et inter-populationnelles de la phénologie, morphologie et physiologie foliaire du chêne et du hêtre. Ainsi, nous avons mis en évidence d'une part (i) des différenciations génétiques (adaptations locales) le long d'un gradient de température (Vitasse et al. 2009a; Bresson et al. submitted) et d'autre part (ii) un maintien d'une forte variabilité génétique intra-populationnelle (Vitasse et al. 2009a, Alberto et al 2011, Bresson et al. submitted).

Au niveau de la phénologie, plusieurs hypothèses peuvent être émises pour expliquer cet apparent paradoxe. La différenciation des populations le long du gradient suggère qu'elles sont l'objet de pression de sélection. Néanmoins, la diversité intra-populationnelle reste élevée, notamment à basse altitude (Alberto et al. 2010). Ceci pourrait être expliqué par une sélection disruptive à basse altitude, due à la fois à des facteurs climatiques (notamment le gel) qui sélectionneraient les individus dont la feuillaison est tardive et à la fois à la pression exercée par les agents pathogènes (notamment l'oïdium pour le chêne) qui sélectionnerait les individus plus précoce. Ces sélections opposées (disruptive) permettraient de conserver une forte diversité génétique au sein des populations malgré de fortes pressions de sélection (Desprez-Loustau et al 2010). A haute altitude, la diversité intrapopulationnelle est plus faible qu'à basse altitude, suggérant une sélection directionnelle. En effet, la pression de sélection des agents pathogènes étant plus faible à haute altitude, seule la pression de sélection des facteurs climatiques tels que le froid (d'autant plus forte à haute altitude, Alberto et al in press) agirait sur les individus (Desprez-Loustau et al 2010).

Afin de conforter ces hypothèses, il sera primordial de quantifier (i) l'influence des températures hivernales sur la phénologie et en particulier sur les dates de levée de dormance des bourgeons (ii) l'évolution des pressions de sélection liées au froid et aux agents pathogènes le long de gradients altitudinaux. Ainsi, l'adaptation locale pour la résistance au froid, trait fortement lié à la fitness des individus qui n'a pas pu être étudié dans le cadre de cette thèse, devra faire l'objet d'une étude approfondie.

2.1.4. Synthèse des études en test de provenance

Bien que la littérature étudiant les différenciations génétiques entre populations issues de gradients altitudinaux reste peu développée (mais voir Tableau 2-2), les articles sur la phénologie montrent généralement que les populations provenant de haute altitude débourrent plus tôt que celles de basses altitudes. Cette tendance peut s'expliquer par un seuil de cumul de température plus faible pour les populations vivants à haute altitude (vonWuehlisch et al. 1995; Worrall 1983). Seulement deux études rapportent un patron inverse identique à celui du hêtre dans notre étude (Tableau 2-2) pour *Fraxinus excelsior*, *Q. petraea* et *Prunus serotina*: les populations issues de hautes altitudes débourrent plus tardivement (sans doute pour limiter le risque de gel tardif). Il existe très peu d'études sur la sénescence foliaire en test de provenance et les patrons mis en évidence sont contrastés : chute des feuilles plus tardive pour

les populations issues des hautes altitudes chez *Q.petraea* et *P.abies* et plus précoce chez *F.sylvatica* (Tableau 2-2).

Tableau 2-2 Ensemble des études recensées par le logiciel ISI Web of Science portant sur les l'étude des la croissance et de la phénologie en test de provenance sur des arbres issus de gradients altitudinaux. Le signe + correspond à une augmentation du trait mesuré avec l'altitude, le signe - à une diminution ; ns : non significatif ; Pour les traits phénologiques une date plus élevée correspond à un jour de l'année plus tardif.

Traits		Tendances altitudinales	Espèces	Publications
Croissance		-	<i>Juglans regia</i>	Hemery et al. 2005
			<i>Picea abies</i>	Oleksyn et al. 1998
			<i>Pinus oocarpa</i>	Saenz-Romero et al. 2006
			<i>Picea glauca</i>	Rweyongeya et al. 2007
			<i>Pinus cembra</i>	Blada et Popescu 2007
			<i>Pinus sp. (3)</i>	Viveros-Viveros et al. 2007
			<i>Populus trichocarpa</i> <i>F. sylvatica, Q. petraea, Fr. Excelsior, I. aquifolium</i>	Gornall et Guy 2007 Vitasse et al. 2009
Phénologie	Date de débournement	-	<i>Quercus petraea</i>	Ducousso et al. 1996
			<i>Abies lasiocarpa, A. amabilis</i>	Worrall 1983
			<i>Fagus sylvatica</i>	Chmura and Rozkowski 2002, Won Wuehlisch et al. 1995, Vitasse et al. 2009
			<i>Pseudotsuga sp.</i>	Acevedo-Rodriguez et al. 2006
		ns	<i>Picea abies</i>	Skroppa and Magnussen 1993
		+	<i>Fr. excelsior et Q. petraea</i>	Vitasse et al. 2009
		+	<i>Prunus serotina</i>	Barnett and Farmer 1980
	Date de sénescence	-	<i>Fagus sylvatica</i>	Chmura and Rozkowski 2002
		+	<i>Picea abies</i>	Skroppa and Magnussen 1993
		+	<i>Quercus petraea</i>	Vitasse et al. 2009

Nous avons relevé à travers la littérature une diminution universelle de la croissance avec l'altitude de provenance chez un grand panel d'espèces (Tableau 2-2). En effet, la sélection favorise à basses altitudes la croissance et la compétitivité des espèces, alors qu'à haute altitude, où le milieu est plus stressant, la sélection favorisera plutôt une meilleure résistance au froid au détriment du taux de croissance (Körner 2003; Rehfeldt 1993; Rehfeldt 1994).

Pour les traits de morphologie foliaire comme le LMA, on retrouve globalement le même pattern (*i.e.* un LMA plus élevé pour les populations provenant des hautes altitudes) chez de nombreuses espèces issues de différents massifs montagneux (Tableau 2-3). Toutefois, quelques exceptions sont à souligner : par exemple, l'étude de *Metrosideros*

polyphorm provenant d'un gradient d'altitude important révèle une inversion des tendances observées à partir d'une altitude seuil (Luo et al. 2006).

Tableau 2-3 Ensemble des études recensées par le logiciel ISI Web of Science portant sur les l'étude de traits fonctionnels mesurés en test de provenance sur des arbres issus de gradients altitudinaux. Le signe + correspond à une augmentation du trait mesuré avec l'altitude de provenance, le signe - à une diminution ; ns : non significatif.

Espèces	Nb. provenances	Dénivelé (m)	Leaf mass per area	Azote content	Stomatal density	Stomatal conductance	Assimilation nette	Composition isotopique	Publications
			LMA	[N]	SD	g_s	A_{max}	$\delta^{13}C$	
<i>Alnus s. et Betula p.</i>	26 et 18	1064 et 1180					+		Benowitz et al 2000
<i>Picea abies</i>	54	900		+			+		Oleksyn et al. 1998
<i>Nothofagus pumilio</i>	6 sur 3 transects	moy. 440			ns	ns	+		Premoli et Brewer 2007
<i>Metrosideros polyphorm</i>	5	2362	+	ns		+	+	ns	Cordell 1998
<i>Metrosideros polyphorm</i>	7 (890 m dénivelé)	avant 2950 m	-	-	+			-	Luo et al. 2006
		Après 2950 m	+	+	-			+	
<i>Nothofagus cunninghamii</i>	4	1000	+		-				Hovenden 2003
<i>Pseudotsuga menziesii</i>	25	2604	+			+	+	-	Zhang et Marshall 1995
<i>Pinus ponderosa</i>	26		+						
<i>Pinus concerta</i>	11							-	Guy et Holowachuk 2001
<i>Nothofagus cunninghamii</i>	3	750			+	+	+		Hovenden et Brodribb 2000
<i>Betula pubescens</i>	2	200		+					Weih et Karlsson 1999

Mis à part pour *Metrosideros polyphorm*, la teneur en azote foliaire semble globalement augmenter avec l'altitude d'origine des populations (Tableau 2-3), suivant ainsi le même pattern qu'en conditions naturelles. Ceci est en partie dû au LMA plus élevé évoqué précédemment, qui permet de concentrer l'azote dans des feuilles plus épaisses. Au niveau des capacités photosynthétiques, il apparaît clairement dans les études retenues ici (Tableau 2-3) que l'on observe une augmentation de g_{smax} et A_{max} avec l'altitude d'origine. Au

contraire pour la discrimination isotopique, on observe une diminution avec l'altitude d'origine des populations quelle que soit l'étude concernée, excepté encore une fois pour *Metrosideros polyporma*. De la même façon qu'en conditions naturelles, il ne semble pas y avoir de tendances clairement établies au niveau de la densité stomatique (SD). Certains résultats ne montrent aucune différenciation génétique pour les variations de SD en fonction de l'altitude de provenance. Ceci peut être dû à une trop faible amplitude du gradient testé (Premoli and Brewer 2007) ou à un trop faible échantillonnage des populations.

En conclusion, les différenciations génétiques mises en évidence dans les tests de provenance ne sont qu'en partie responsables de la variabilité phénotypique observées en conditions naturelles ; le contrôle génétique est généralement plus faible que le déterminisme environnemental.

Les analyses présentées dans les Tableau 2-2 et Tableau 2-3 sont volontairement limitées à des traits qui ont été compilées à partir d'études à grande échelle, le long de gradients altitudinaux et chez des arbres. Nous observons également des différenciations génétiques le long de gradients latitudinaux et longitudinaux chez de nombreux arbres (Gornall and Guy 2007; Jensen and Hansen 2008; Oleksyn et al. 1998). Les variations mises en évidence dans ces tests de provenances sont le résultat de la sélection naturelle induite par le changement progressif de variables environnementales comme la température ou la durée du jour le long des gradients climatiques étudiés. Pour conclure, les tests de provenances permettent d'homogénéiser les variables environnementales pour toutes les provenances mais il ne faut pas oublier que l'interaction génotype/environnement peut modifier les conclusions selon le climat du test de provenances. Williams et ses collègues (Williams et al. 2008) ont d'ailleurs mis en évidence chez une espèce invasive que les conclusions sur l'évolution génétique dépendaient du common garden étudié (résultats opposés selon le climat). Ainsi, une population adaptée à un environnement donné ne le sera pas forcément dans un autre. Une expérimentation comprenant plusieurs tests de provenances situés dans des climats différents est donc nécessaire pour comprendre l'origine des clines observés (Morgenstern 1996). Néanmoins, notre dispositif de transplantation réciproque (RTE) n'est pas suffisant car il convient de disposer d'un nombre d'individus et de populations importants pour préciser et quantifier l'origine de cette variabilité. Un dispositif de plus grande ampleur a été installé en 2010 à cet effet, et les premiers résultats confirment ces tendances (Florian Alberto, communication personnelle).

En conclusion, les résultats de ces deux études sur la variabilité génétique (article 3 et annexe) montrent que malgré un flux de gènes intense (dû à la proximité géographique des populations étudiées, (Alberto et al. 2010), le gradient altitudinal a induit des différenciations génétiques au niveau de plusieurs traits fonctionnels et de croissance (L_s et N_a pour les deux espèces, LMA et LU pour le hêtre, et LS et A_{max} et g_{smax} pour le chêne). Néanmoins, les différenciations génétiques mises en évidence dans cet article restent beaucoup plus faibles que les variations phénotypiques observées *in situ* (**Tableau 2-4**), suggérant que le déterminisme génétique est faible pour ces traits fonctionnels et par conséquent que l'environnement joue un rôle prépondérant dans l'expression des traits fonctionnels en conditions naturelles, même pour la phénologie foliaire qui est un trait fortement héritable (Alberto et al. 2010). Le Tableau 2-5 résume pour chaque trait fonctionnel la part de la variance expliquée par les différences inter-populationnelles (D , %). Force est de constater que celle-ci reste relativement faible, à l'exception de la taille des feuilles et du débournement chez le chêne (valeur proche de 30 %). Pour la photosynthèse, cela confirme que les patterns observés *in situ* sont principalement une réponse directe à l'environnement.

Tableau 2-4 Pente des tendances mises en évidence en conditions naturelles (*in situ*) et dans le test de provenance (common garden).

	Hêtre		Chêne	
	<i>In situ</i>	Common garden	<i>In situ</i>	Common garden
L_s ($\text{cm}^2 \text{ 100 m}^{-1}$)	- 1.1	- $9.4 \cdot 10^{-3}$	- 0.9	+ $1.5 \cdot 10^{-2}$
LMA ($\text{Kg m}^{-2} \text{ 100 m}^{-1}$)	+ $3.1 \cdot 10^{-2}$	+ $1.2 \cdot 10^{-6}$	+ $1.6 \cdot 10^{-2}$	Ns
SD (Stom. $\text{mm}^2 \text{ 100 m}^{-1}$)	+ 2.3	ns	+ 2.9	Ns
g_{smax} ($\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ 100 m}^{-1}$)	+ 0.04	ns	+ 0.08	+ $2.4 \cdot 10^{-2}$
A_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1} \text{ 100 m}^{-1}$)	+ 0.3	ns	+ 0.3	+ $2.2 \cdot 10^{-3}$
N_a ($\text{g m}^{-2} \text{ 100 m}^{-1}$)	+ $7.8 \cdot 10^{-2}$	+ $3 \cdot 10^{-3}$	+ $4.7 \cdot 10^{-2}$	+ $2 \cdot 10^{-4}$
LU (jour degré ⁻¹)	- 2.1	+ 0.6	- 7.3	Ns
LS (jour degré ⁻¹)	+ 5.7	ns	+ 5.5	- 1.3

Tableau 2-5 Coefficient de différenciation génétique (\mathcal{D} , %) (analogue de Q_{ST} en génétique quantitative) calculé dans le test de provenance de Toulence (common garden) et dans les RTEs. Il représente le pourcentage de variance expliquée par la différenciation entre les provenances par rapport à la variance phénotypique totale (altitude d'origine, variance résiduelle).

	Hêtre		Chêne	
	Common garden	RTEs	Common garden	RTEs
L_s	13.4	15.9	27.6	9.5
LMA	Ns	23.9	ns	ns
SD	Ns	ns	0	ns
g_{smax}	Ns	ns	15	ns
A_{max}	Ns	ns	20.1	ns
N_a	Ns	14.5	ns	ns
Croissance	20	ns	14	ns
LU	10	2.95	36	ns
LS	8	ns	11	ns

2.2 Plasticité phénotypique

Dans la très grande majorité des études, les changements phénotypiques (plasticité) sont observés entre des environnements constants et simples, c'est-à-dire caractérisés par un seul facteur (e.g. température, CO₂ ou sécheresse) (Navas and Garnier 2002; Sanchez-Gomez et al. 2008). Pourtant le peu d'études considérant un environnement complexe et variable (mettant en jeu plusieurs facteurs abiotiques en interaction) démontrent l'importance de cette hétérogénéité et les gradients climatiques complexes *in situ* (altitude / latitude) paraissent particulièrement pertinents. Nous avons choisi ici de travailler le long d'un large gradient climatique, nous permettant d'étudier la réponse des espèces en marge de leur aire de répartition. Le rôle de l'environnement dans le déterminisme de traits fonctionnels (plasticité phénotypique) a été appréhendé via la mise en place de cinq common gardens le long du gradient altitudinal (RTEs, reciprocal transplant experiment).

La plasticité phénotypique constitue une importante caractéristique des essences en raison de la longévité des arbres. Les arbres survivent à des phénomènes climatiques extrêmes grâce à diverses stratégies dues à leur plasticité phénotypique. Le degré actuel de plasticité phénotypique détermine en grande partie la capacité de la population actuelle à survivre dans des conditions changeantes. La migration et l'adaptation prennent du temps; mais la plasticité

phénotypique prolonge la période dont disposent les gènes d'une population pour s'acclimater par adaptation ou migration. La plasticité phénotypique peut varier considérablement d'une essence à l'autre et d'un trait fonctionnel à l'autre, et il est nécessaire de la quantifier en conditions naturelles le long de gradient complexe et variable afin d'en déterminer ses limites.

Globalement, nous avons mis en évidence lors de ces travaux de recherche une forte plasticité phénotypique pour l'ensemble des traits étudiés (Chap. 4 et 5). Pour les deux espèces, la phénologie printanière (débourrement des bourgeons) advient 5.7 jours plus tôt par degré d'augmentation de température (Chap. 4). Worrall (1983) a trouvé une norme de réaction similaire (- 8.3 jours/°C) chez deux espèces de sapins. Par contre chez le hêtre commun, plusieurs auteurs ont mis en évidence un plus faible degré de plasticité (- 2 à - 2.5 jours/°C) (Kramer 1995; Menzel et al. 2001). Pour cette même espèce, les variations phénotypiques observées *in situ* dans les mêmes populations sont deux fois plus faibles (- 1.9 jours/°C ; (Vitasse et al. 2009b). Cette différence peut s'expliquer par la neige qui a recouvert les jeunes plants durant les deux années d'expérimentation (jusqu'à environ mi-avril) à haute altitude. Nos capteurs météorologiques étant situés à 1,50 m du sol, la température enregistrée ne correspond pas réellement à la température subie par les bourgeons. Il est ainsi possible que les plants juvéniles de hêtre aient retardé leur débourrement à haute altitude en réponse à ces conditions d'enneigement. Cependant, contrairement au hêtre, les plantules de chêne ont eu une réponse similaire à celle observée sur les adultes (- 6.5 jours/°C, Vitasse et al. 2009b). Les réponses contraires de ces deux espèces pourraient être la conséquence de leurs exigences différentes en températures froides (chilling) et chaude (forcing), ainsi que des sensibilités à ces températures qui n'opèrent pas durant la même période. Des mesures de besoins en froid seront nécessaires pour lever cette ambiguïté.

Pour la sénescence foliaire, la norme de réaction de forme quadratique indique que la chute des feuilles est plus précoce aux extrémités du gradient et ceci pour les deux espèces (Chap. 4). Ceci s'explique à basses altitudes par un très fort déficit de pression de vapeur de l'air (sécheresse atmosphérique, notamment en 2008). En effet une sécheresse élevée de l'air peut engendrer une coloration et une chute de feuilles prématurées (Breda et al. 2006), notamment chez le hêtre (Lendzion and Leuschner 2008). A haute altitude, les faibles températures entraînent une chute des feuilles plus précoce qu'à basse altitude (Matsumoto et al. 2003; Migliavacca et al. 2008). Par conséquent, la longueur de saison de végétation varie fortement et atteint un optimal entre 10 et 13°C selon la provenance et l'espèce considérées. Son amplitude reste toutefois plus faible que celle observée en conditions naturelles sur des

arbres adultes (variabilité phénotypique) (Matsumoto et al. 2003, Migliavacca et al. 2008, Vitasse et al. 2009b).

On observe également une forte plasticité des traits fonctionnels foliaires pour les deux espèces, à l'exception de la teneur en chlorophylle pour le chêne. Les réponses sont similaires (normes de réaction de forme semblables) pour un trait donné chez les deux espèces (Chap. 5). Les normes de réaction sont de type quadratique (de degré 2) pour tous les traits, exceptés pour C/N et $\delta^{13}\text{C}$ pour lesquelles la relation linéaire était fortement significative. Bien que les normes de réaction sur un large gradient soient généralement non linéaire (Matos et al. 2009; Quero et al. 2008; Valladares et al. 2006), ceci implique que nous ne pouvons pas comparer les différentes normes grâce à leur pente. C'est pourquoi nous avons utilisé un indice de plasticité relative (RDPI) afin de comparer cette plasticité entre les différents traits et espèces. Plusieurs études évaluant la plasticité vis à vis d'une variable environnementale (lumière, éléments nutritifs ou disponibilité en eau) ont trouvé des RDPI d'ordre de grandeur comparable allant de 0.05 à 0.3 pour traits fonctionnels foliaires (Matos et al 2009; Quero et al 2008, Sanchez-Gomez et al 2008; Sugiyama and Gotoh 2010). Pour chacun des traits, les deux espèces ont montré une plasticité d'amplitude similaire vis à vis de l'altitude, excepté pour la teneur en chlorophylle (CCI) où RDPI est plus grand pour le hêtre que pour le chêne. La croissance en hauteur, qui est fortement lié à la fitness des individus, possède une plasticité bien plus importante que les traits fonctionnels foliaires (RDPI le plus fort). Ceci est en accord avec une étude sur la vigne qui montre que le taux de croissance relative (RGR) est plus plastique à la lumière que la surface massique (LMA) (Osunkoya et al. 2010).

Au niveau de la croissance, le hêtre montre une tendance hyperbolique le long du gradient altitudinal avec des accroissements en hauteur plus faibles aux extrémités du gradient. L'optimum de croissance estimé sur cette courbe se situe en moyenne à 789 m, correspondant ici à une température annuelle de 9,54 °C. Cette tendance hyperbolique est similaire à celle publiée dans les travaux de Rehfeldt sur *Pinus sylvestris* et *P. contorta* (Rehfeldt et al. 2002; Rehfeldt et al. 2001). Dans le même dispositif expérimental, nous avons estimé une température optimale plus élevée pour la saison de végétation: entre 10 et 13 ° C (Vitasse, Bresson et al. 2010, Chap. 4), correspondant à des altitudes moyennes de 750 m pour le hêtre et plus variables pour les populations de chênes, comprises entre 350 et 800 m (Figure 2-1). Les optimums altitudinaux estimés pour la saison de végétation et la croissance sont donc semblables, suggérant que la phénologie et la longueur de saison de végétation sont de bon indicateur de la croissance et de la fitness des individus et des populations.

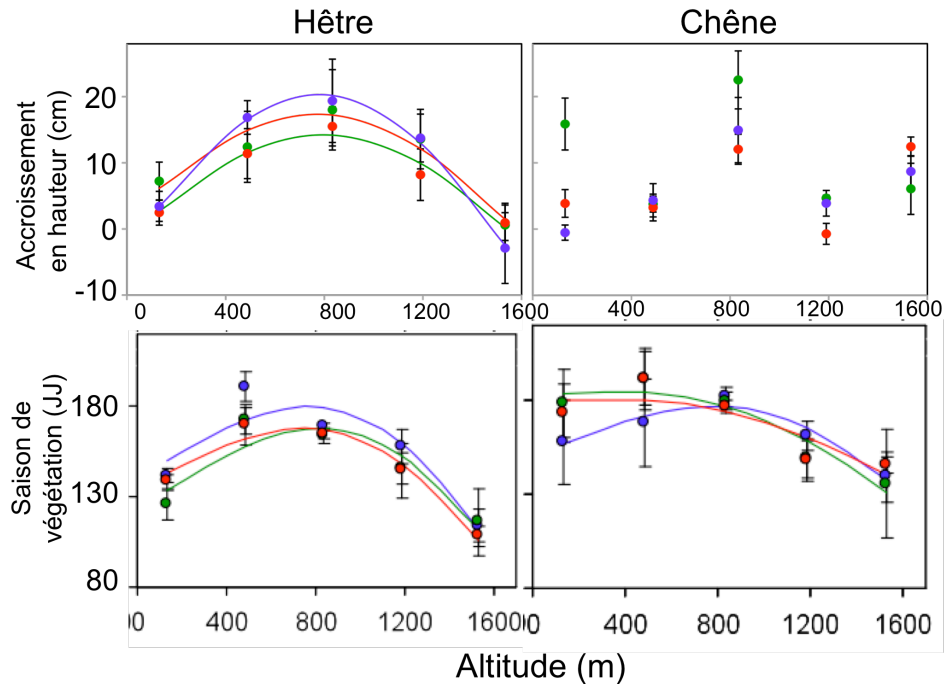


Figure 2-1 Accroissement en hauteur et longueur de saison de végétation en fonction de l'altitude. Les valeurs correspondent aux moyennes par population mesurées dans les RTEs. En rouge, les populations de chêne ou de hêtre provenant de 400 m, en vert, celles de 800m et en bleu, celles de 1200 m.

Les optimums de croissance et de saison de végétation sont similaires entre les trois différentes populations de hêtre. Par conséquent, la suboptimalité des populations de hêtre provenant de différentes altitudes diffère substantiellement (Figure 2-2). Les populations de haute altitude vivent au sein d'un climat plus froid que leur optimum et pourraient ainsi bénéficier positivement du réchauffement. Au contraire, les populations de basse altitude vivent déjà dans une zone où le climat est plus chaud que leur optimum ce qui pourraient engendrer un déclin de croissance lors d'un réchauffement. Ces résultats confortent l'idée que les populations naturelles ont tendance à vivre dans un climat suboptimal (Rehfeldt et al. 2002). L'écart à l'optimum (*i.e.* la « maladaptation ») des populations peut être engendré par de la compétition intra- et inter-spécifiques (Rehfeldt, Chevin and Lande 2010). Le réchauffement sera donc bénéfique pour les populations de haute altitude et affectera négativement celles à basse altitude, inférieures à une altitude seuil (500 m en terme de saison de végétation et 900 m en terme de croissance) (Figure 2-2). Ainsi, l'optimum de croissance et de présence/absence de cette espèce devrait remonter en altitude au cours des prochaines décennies et nous pourrions même observer une extirpation à basse altitude dans un futur très proche. Ce type de déclin aux marges chaudes de la répartition a d'ailleurs déjà été constaté

au sein de population de hêtre à basse altitude en Catalogne (Jump et al. 2006, Penuelas et Boada 2003). Cette dernière étude a mis en évidence un déclin de 49% de la croissance du hêtre entre 1975 et 2003, en grande partie dû à l'augmentation des températures dans cette région durant cette période.

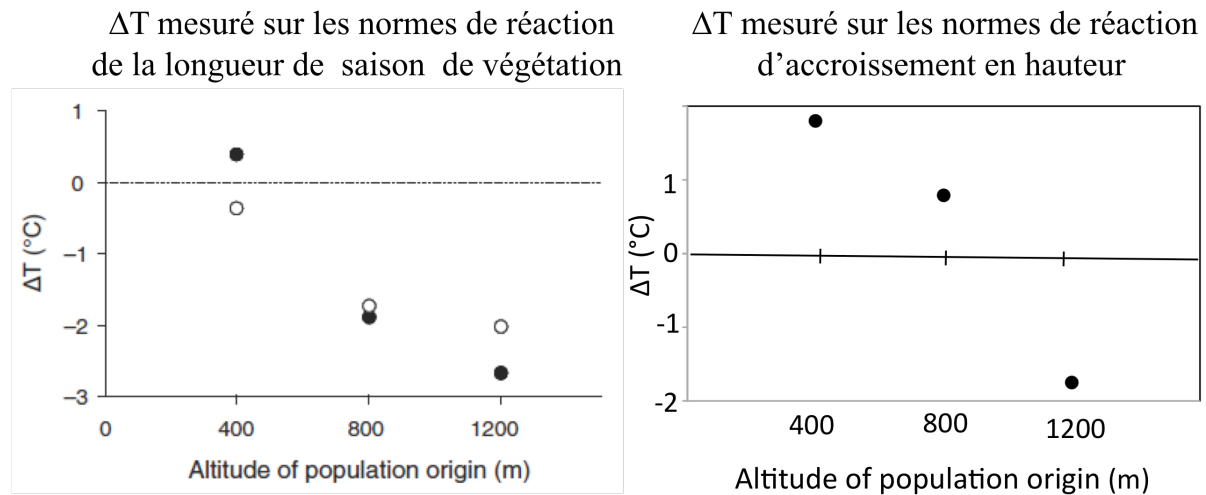


Figure 2-2 Différence entre la température optimale (obtenue grâce aux normes de réaction) et la température d'origine des (ΔT) de 3 populations altitude différentes. La couleur noire représente le hêtre, le blanc représente le chêne.

Une étude dendrochronologique réalisée dans la même vallée pyrénéenne sur des hêtres adultes a mis en évidence un optimum de croissance plus faible, se situant autour de $500 \text{ m} \pm 50 \text{ m}$ d'altitude (Figure 2-3). Ce travail a permis de mettre en évidence une remontée altitudinale significative de cet optimum entre 1970 et 2009 (Figure 2-4). Le long du gradient étudié, l'optimum de croissance s'est déplacé à la vitesse de 34 m par décennie passant de moins de 450 m d'altitude au début de la période à 550 m d'altitude quatre décennies plus tard. Ce déplacement de l'optimum s'explique d'une part par un déclin de croissance à basse altitude (en-dessous de 600 m) et d'autre part par un gain de croissance au-dessus de 600 m au cours des quarante dernières années, confirmant ainsi nos résultats issus des RTEs. En conclusion, le changement climatique a d'ores et déjà affecté la croissance des populations de hêtre dans les Pyrénées et les populations de cette espèce à basse altitude pourraient être défavorisées au profit d'espèces plus thermophiles ou plus résistantes à la sécheresse.

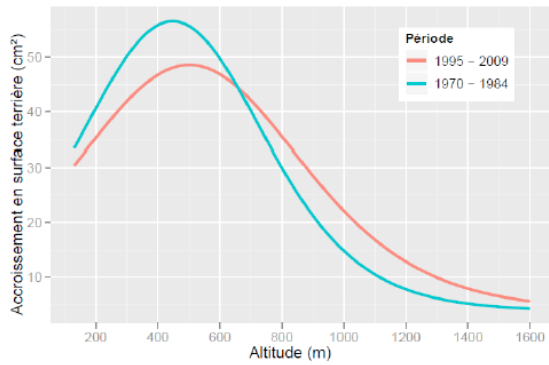


Figure 2-3 Patron de croissance le long du gradient altitudinal au cours de deux périodes 1995-2009 et 1970-1984. L'optimum altitudinal lors de la période récente est plus faible et plus élevé en altitude (courbe rouge). *D'après rapport de stage V. Paillette 2010.*

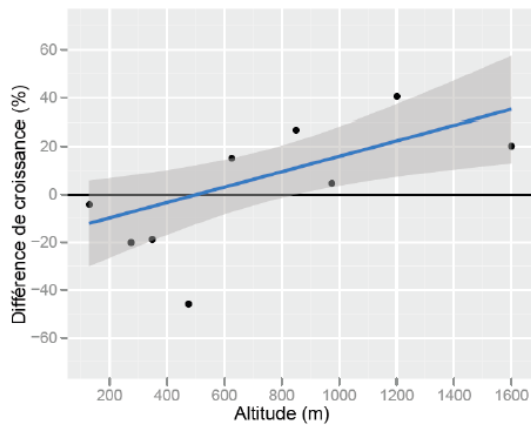


Figure 2-4 Différences de croissance moyenne entre les deux périodes (1970-1984 et 1995-2009) en % selon l'altitude. Régression linéaire en bleue ($P = 0.046$), erreurs standards en grisées. *D'après rapport de stage V. Paillette 2010.*

Conclusion et perspectives

Notre étude a permis d'estimer en quelle proportion le déterminisme de traits fonctionnels était d'origine génétique et/ou environnemental. Pour les traits fonctionnels foliaires, nous avons mis en évidence à travers nos différentes expérimentations que les variations phénotypiques observées *in situ* étaient pour une grande partie une réponse à l'environnement plutôt qu'un déterminisme génétique. En effet, les différenciations génétiques mesurées dans le test de provenances entre les populations sont faibles ou inexistantes selon les traits fonctionnels étudiés. Néanmoins, la forte diversité intra-populationnelle laisse penser que le pool génétique pour ces traits est assez conséquent pour répondre à une nouvelle sélection dans le cas d'un changement d'environnement. Pour les traits phénologiques et de croissance, l'expérimentation a révélé de fortes différenciations génétiques à la base des patterns observés *in situ*. Néanmoins, ici aussi, le déterminisme environnemental reste très important (Vitasse et al. 2010 Chap. 4). Il semble que les traits morphologiques et physiologiques répondent principalement à l'environnement sur une échelle de temps plus courte alors que des traits tels que la croissance (plus intégrateur) ou la phénologie (directement lié à la valeur sélective) possèdent une composante génétique dans leur déterminisme.

Ce travail a mis en évidence que les capacités adaptatives inhérentes des populations des espèces sont importantes. Les trois processus : (i) la diversité inter-populationnelle, (ii) la diversité intra-populationnelle, et (iii) la plasticité phénotypique, pourraient permettre de faire face, dans une certaine mesure, au réchauffement climatique annoncé.

- (i) Nous avons vu qu'une adaptation rapide (microévolution) de la diversité génétique des populations en réponse au réchauffement climatique reste possible (Davis and Shaw 2001, Jump and Penuelas 2005). En effet, nos résultats ont montré que les populations étudiées se sont différenciées au niveau de leur phénologie, de leur croissance et de certains traits morphologiques et physiologiques, malgré leur proximité géographique et leur apparition relativement récente dans les Pyrénées. Cependant, étant donnée la vitesse actuelle du changement climatique, les capacités d'adaptation génétique (microévolution) seront probablement insuffisantes, en particulier chez les arbres qui ont des temps de génération long ralentissant le processus de sélection naturelle (Billington and Pelham 1991, Rehfeldt et al. 2002, Aitken et al. 2008).

(ii) La forte variabilité intra-populationnelle des traits morphologiques, physiologiques et phénologiques, observée à la fois *in situ* et en test de provenance, pourrait permettre dans un premier temps aux populations de perdurer au travers des individus les mieux adaptés à un climat plus chaud (Lindner et al. 2009). Cependant, sur le long terme, la sélection de cette minorité d'individus pourrait s'accompagner d'une réduction de la diversité génétique et d'une diminution de la taille et de la densité des peuplements, ce qui augmenterait à terme la vulnérabilité de ces populations (Hampe and Petit 2005).

(iii) Enfin, la forte plasticité phénotypique observée pour la plupart des traits étudiés permettra, par une réponse immédiate des individus, de faire face aux changements des conditions environnementales, et d'augmenter les chances de maintenir les populations en place. Cependant, une étude sur la phénologie de 22 espèces d'arbres américains avance l'hypothèse que la plasticité phénotypique des arbres pourrait ne pas être suffisante pour garantir l'ajustement des traits phénologiques aux changements climatiques (Morin et al. 2009).

Ainsi, les espèces les plus vulnérables seront celles dont les capacités adaptatives inhérentes sont actuellement faibles, *i.e.* celles qui présentent une diversité génétique pauvre ne permettant pas une adaptation rapide à un changement environnemental et/ou une plasticité faible.

Au travers de ces résultats, il apparaît aujourd'hui très probable que les populations d'arbres des zones de montagne devraient progressivement monter en altitude en réponse au changement climatique dans les prochaines décennies comme cela est déjà en train de se produire en Europe (Grabherr et al. 1994, Kullman 2002, Lenoir et al. 2008). Cette migration sera facilitée d'une part par la plasticité phénotypique des espèces et d'autre part par une forte diversité génétique. De plus, une extirpation via des dépérissements ou une exclusion compétitive pourrait se produire pour les populations en limite sud de répartition (ou à basse altitude). Au niveau de la limite altitudinale des arbres, les changements altitudinaux attendus seront aussi modulés par la dynamique de recolonisation (capacités de dispersions, survie des semis) des espèces et les interactions biotiques (Brooker 2006). La capacité de survie et de croissance des arbres au stade juvénile sera intéressante à caractériser dans les recherches à

venir, car les espèces coloniseront des nouveaux milieux ouverts ou de nouvelles communautés forestières.

La question des capacités adaptatives (diversité génétique et plasticité phénotypique) des espèces est de plus en plus au centre des discussions scientifiques en biologie évolutive et cette thèse ouvre de nombreuses pistes qu'il sera nécessaire d'explorer pour mieux appréhender les conséquences des changements futurs :

- i) quel facteurs écophysiologiques, génétiques et démographiques, probablement en interaction entre eux nuisent à la viabilité à long terme des populations d'arbres (Savolainen et al., 2007)?
- ii) Quelles sont les variables environnementales qui jouent de façon plus ou moins importante sur ce potentiel adaptatif et dans quel cas ?
- iii)) A quelles échelles spatio-temporelles ces processus et facteurs sont les plus importants pour le maintien du potentiel adaptatif dans les populations d'arbres forestiers (Hedrick 2006) ?

Bibliographie

- Ackerly DD et al. (2000) The evolution of plant ecophysiological traits: recent advances and future directions. *Bioscience* 50
- Adams JM, Faure H (1997) Preliminary vegetation maps of the world since the last glacial maximum: An aid to archaeological understanding. *Journal of Archaeological Science* 24:623-647
- Adams JM, Woodward FI (1989) Patterns in tree species richness as a test of the glacial extinction hypothesis. *Nature* 339:699-701
- Aerts R, Van Der Peijl MJ (1993) A simple model to explain the dominance of low-productive perennials in nutrient-poor habitats. *Oikos* 66:144-147
- Ahas R, Aasa A, Menzel A, Fedotova VG, Scheifinger H (2002) Changes in European spring phenology. *International Journal of Climatology* 22:1727-1738
- Ainsworth EA, Rogers A (2007) The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising CO₂ : mechanisms and environmental interactions. *Plant Cell and Environment* 30:258-270
- Aitken SN, Yeaman S, Holliday JA, Wang T, Curtis-McLane S (2008) Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications* 1:95-111
- Alberto F et al. (2010) Population differentiation of sessile oak at the altitudinal front of migration in the French Pyrenees. *Molecular Ecology* 19:2626-2639
- Alberto F, Bouffier L, Louvet JM, Lamy JB, Delzon S, and A Kremer (in press) Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along an altitudinal gradient. *Journal of Evolutionary Biology*
- Alpert P, Simms EL (2002) The relative advantages of plasticity and fixity in different environments: when is it good for a plant to adjust? *Evolutionary Ecology* 16:285-297
- Ashton PMS, Berlyn GP (1994) A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (section *Erythrobalanus-Fagaceae*) species in different light environments. *American Journal of Botany* 81:589-597
- Bairstow KA, Clarke KL, McGeoch MA, Andrew NR (2010) Leaf miner and plant galler species richness on Acacia: relative importance of plant traits and climate. *Oecologia* 163:437-448
- Bascompte J, Jordano P, Olesen JM (2006) Asymmetric coevolutionary networks facilitate biodiversity maintenance. *Science* 312:431-433
- Bazzaz FA (1990) The response of natural ecosystems to the rising global CO₂ levels. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:167-196
- Beaubien EG, Freeland HJ (2000) Spring phenology trends in Alberta, Canada: links to ocean temperature. *International Journal of Biometeorology* 44:53-59
- Beniston M (2009) Decadal-scale changes in the tails of probability distribution functions of climate variables in Switzerland. *International Journal of Climatology* 29:1362-1368
- Beniston M et al. (2007) Future extreme events in European climate: an exploration of regional climate model projections. *Climatic Change* 81:71-95
- Beniston M, Diaz HF, Bradley RS (1997) Climatic change at high elevation sites: an overview. *Climatic Change* 36:233-251
- Berger A, Loutre MF (2010) Modeling the 100-kyr glacial-interglacial cycles. *Global and Planetary Change* 72:275-281
- Berges L, Chevalier R, Dumas Y, Franc A, Gilbert JM (2005) Sessile oak (*Quercus petraea* Liebl.) site index variations in relation to climate, topography and soil in even-aged high-forest stands in northern France. *Annals of Forest Science* 62:391-402

- Bertin RI (2008) Plant phenology and distribution in relation to recent climate change. *Journal of the Torrey Botanical Society* 135:126-146
- Bidart-Bouzat MG, Imeh-Nathaniel A (2008) Global Change Effects on Plant Chemical Defenses against Insect Herbivores. *Journal of Integrative Plant Biology* 50:1339-1354
- Billings WD, Clebsch EEC, Mooney HA (1961) Effect of low concentrations of carbon dioxide on photosynthesis rates of 2 races of *Oxyria*. *Science* 133:1834-&
- Billington HL, Pelham J (1991) Genetic variation in the date of budburst in scottish birch populations – Implications for climate change. *Functional Ecology* 5:403-409
- Bonan GB, Vancleve K (1992) Soil-Temperature, nitrogen mineralization, and carbon source sink relationships in boreal forests. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 22:629-639
- Bonnier G (1890) "Cultures expérimentales dans les Alpes et les Pyrénées." *Rev. Gén. Bot.* 2: 513-546.
- Bonnier G (1895) Recherches expérimentales sur l'adaptation des plantes au climat alpin. *Ann. Sci. Naturelles botaniques.* 7(20): 217-360.
- Bossdorf O, Richards CL, Pigliucci M (2008) Epigenetics for ecologists. *Ecology Letters* 11:106-115
- Bradshaw AD (1965) Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *Advances in Genetics* 13:115-155
- Bradshaw WE, Holzapfel CM (2006) Climate change - Evolutionary response to rapid climate change. *Science* 312:1477-1478
- Breda N, Badeau V (2008) Forest tree responses to extreme drought and some biotic events: Towards a selection according to hazard tolerance? *Comptes Rendus Geoscience* 340:651-662
- Breda N, Huc R, Granier A, Dreyer E (2006) Temperate forest trees and stands under severe drought: a review of ecophysiological responses, adaptation processes and long-term consequences. *Annals of Forest Science* 63:625-644
- Breshears DD et al. (2005) Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:15144-15148
- Bresson CC, Kowalski AS, Kremer A, Delzon S (2009) Evidence of altitudinal increase in photosynthetic capacity: gas exchange measurements at ambient and constant CO₂ partial pressures. *Annals of Forest Science* 66
- Bresson CC, Dreyer E, Delzon S (submitted) To what extent has elevational variability of functional traits been driven by genetic adaptation in European oak and beech? Submitted in *Tree Physiology*.
- Bret-Harte MS et al. (2004) Plant and soil responses to neighbour removal and fertilization in Alaskan tussock tundra. *Journal of Ecology* 92:635-647
- Brewer S, Cheddadi R, de Beaulieu JL, Reille M, Data c (2002) The spread of deciduous *Quercus* throughout Europe since the last glacial period. *Forest Ecology and Management* 156:27-48
- Brooker RW (2006) Plant-plant interactions and environmental change. *New Phytologist* 171:271-284
- Brooker RW et al. (2008) Facilitation in plant communities: the past, the present, and the future. *Journal of Ecology* 96:18-34
- Bruhn D, Leverenz JW, Saxe H (2000) Effects of tree size and temperature on relative growth rate and its components of *Fagus sylvatica* seedlings exposed to two partial pressures of atmospheric CO₂. *New Phytologist* 146:415-425

- Buffo E, Battisti A, Stastny M, Larsson S (2007) Temperature as a predictor of survival of the pine processionary moth in the Italian Alps. *Agricultural and Forest Entomology* 9:65-72
- Callahan HS, Pigliucci M, Schlichting CD (1997) Developmental phenotypic plasticity: Where ecology and evolution meet molecular biology. *Bioessays* 19:519-525
- Callaway RM et al. (2002) Positive interactions among alpine plants increase with stress. *Nature* 417:844-848
- Callaway RM, Pennings SC, Richards CL (2003) Phenotypic plasticity and interactions among plants. *Ecology* 84:1115-1128
- Cannell MGR, Dewar RC (1994) Carbon allocation in trees – A review of concepts for modeling. *Advances in Ecological Research*, Vol 25 25:59-104
- CARBOFOR : Forests, carbon cycle and climate change (2010) edited by Denis Loustau. - Versailles: Éd. Quae, 2010 (54-Nancy : Impr. Bialec). - 1 vol. (311 p. -32 p. de pl.)- Collection Update Sciences & Technologies, ISSN 1773-7923.
- Chapin FS (1995) Responses of arctic tundra to experimental and observed changes in climate. *Ecology* 76(3):694-711
- Chapin FS, Schulze ED, Mooney HA (1990) The ecology and economics of storage in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 21:423-447
- Chapin FS (1983) Direct and indirect effects of temperature on arctic plants. *Polar Biol.* 2:17-52
- Cheddadi R et al. (2005) Similarity of vegetation dynamics during interglacial periods. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102:13939-13943
- Cheng LL, Fuchigami LH (2000) Rubisco activation state decreases with increasing nitrogen content in apple leaves. *Journal of Experimental Botany* 51:1687-1694
- Chevin LM, Lande R, Mace GM (2010) Adaptation, Plasticity, and Extinction in a Changing Environment: Towards a Predictive Theory. *Plos Biology* 8
- Chevin LM, Lande R (2010) When do adaptive plasticity and genetic evolution prevent extinction of a density-regulated population? *Evolution* 64:1143-1150
- Chmielewski FM, Rotzer T (2001) Response of tree phenology to climate change across Europe. *Agricultural and Forest Meteorology* 108:101-112
- Chmielewski FM, Rotzer T (2002) Annual and spatial variability of the beginning of growing season in Europe in relation to air temperature changes. *Climate Research* 19:257-264
- Chmura DJ (2006) Phenology differs among Norway spruce populations in relation to local variation in altitude of maternal stands in the Beskidy Mountains. *New Forests* 32:21-31
- Chmura DJ, Rozkowski R (2002) Variability of beech provenances in spring and autumn phenology. *Silvae Genetica* 51:123-127
- Choler P, Michalet R, Callaway RM (2001) Facilitation and competition on gradients in alpine plant communities. *Ecology* 82:3295-3308
- Chuine I, Morin X, Bugmann H (2010) Warming, Photoperiods, and Tree Phenology. *Science* 329:277-278
- Ciais P et al. (2005) Europe-wide reduction in primary productivity caused by the heat and drought in 2003. *Nature (London)* 437:529-533
- Claassen VP, Marler M (1998) Annual and perennial grass growth on nitrogen-depleted decomposed granite. *Restoration Ecology* 6:175-180
- Clausen J., Hiesey WM, Keck DD (1940) Experimental studies on the nature of species. I. Effect of varied environments on western North American plants. Washington, DC, USA: Carnegie Institution of Washington Publication.

- Collatz GJ, Berry JA, Farquhar GD, Pierce J (1990) The relationship between the RubisCO reaction-mecanism and models of photosynthesis. *Plant Cell and Environment* 13:219-225
- Collinson ME (1992) The early fossil history of saliceae – A brief review. *Proceedings of the Royal Society of Edinburgh Section B-Biological Sciences* 98:155-167
- Condit R, Hubell S, Foster RB (1996) Assessing the response of plant functional types to climate change in tropical forests. *Journal of Vegetation Science* 7:405-416
- Cordell S, Goldstein G, Mueller-Dombois D, Webb D, Vitousek PM (1998) Physiological and morphological variation in *Metrosideros polymorpha*, a dominant Hawaiian tree species, along an altitudinal gradient: the role of phenotypic plasticity. *Oecologia* 113:188-196
- Crozier L, Dwyer G (2006) Combining population-dynamic and ecophysiological models to predict climate-induced insect range shifts. *American Naturalist* 167:853-866
- Cunningham SA, Summerhayes B, Westoby M (1999) Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients. *Ecological Monographs* 69:569-588
- Currie DJ, Francis AP (2004) Taxon richness and climate in angiosperms: Is there a globally consistent relationship that precludes region effects? Reply. *American Naturalist* 163:780-785
- Damour G, Simonneau T, Cochard H, Urban L (2010) An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. *Plant Cell and Environment* 33:1419-1438
- Davis MB, Shaw RG (2001) Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science* 292:673-679
- De Lillis M, Matteucci G, Valentini R (2004) Carbon assimilation, nitrogen, and photochemical efficiency of different Himalayan tree species along an altitudinal gradient. *Photosynthetica* 42:597-605
- Deans JD, Harvey FJ (1996) Frost hardiness of 16 European provenances of sessile oak growing in Scotland. *Forestry* 69:5-11
- Decker JP (1947) The effect of air supply on apparent photosynthesis. *Plant Physiology* 22:561-571
- Defila C (2001) Change in growing periods in Switzerland? *Obst- und Weinbau* 137:553-555
- Dejong G (1990) Quantitative genetics of reaction norms. *Journal of Evolutionary Biology* 3:447-468
- Delecolle R, Soussana JF, Legros JP (1999) Impacts attendus des changements climatiques sur l'agriculture française, C.R.Acad.Agric.Fr., 85 45-51.
- Della-Marta PM, Beniston M (2008) Summer heat waves in western Europe, their past change and future projections. *Climate Variability and Extremes during the Past 100 Years* 33:235-250
- Denk T, Grimm G, Stogerer K, Langer M, Hemleben V (2002) The evolutionary history of *Fagus* in western Eurasia: Evidence from genes, morphology and the fossil record. *Plant Systematics and Evolution* 232:213-236
- Desprez-Loustau ML, Vitasse Y, Delzon S, Capdevielle X, Marcais B, Kremer A (2010) Are plant pathogen populations adapted for encounter with their host? A case study of phenological synchrony between oak and an obligate fungal parasite along an altitudinal gradient. *Journal of Evolutionary Biology* 23:87-97
- DeWitt TJ, Sih A, Wilson DS (1998) Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution* 13:77-81
- Dirnbock T, Dullinger S, Grabherr G (2003) A regional impact assessment of climate and land-use change on alpine vegetation. *Journal of Biogeography* 30:401-417

- Dittmar C, Elling W (2006) Phenological phases of common beech (*Fagus sylvatica* L.) and their dependence on region and altitude in Southern Germany. *European Journal of Forest Research* 125:181-188
- Dobzhansky T (1950) Human diversity and adaptation. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology* 15:385-400
- Domergue, M. (2001) Impact du réchauffement climatique sur le parcours phénologique d'espèces/variétés dans la vallée du Rhône. Mémoire ESITPA, travail effectué à l'unité CSE de l'INRA d'Avignon. 72 pages.
- Dudley SA, Schmitt J (1996) Testing the adaptive plasticity hypothesis: Density-dependent selection on manipulated stem length in *Impatiens capensis*. *American Naturalist* 147:445-465
- Dwyer LM, Anderson AM, Ma BL, Stewart DW, Tollenaar M and Gregorich E (1995) Quantifying the nonlinearity in chlorophyll meter response to corn leaf nitrogen concentration. *Canadian Journal of Plant Science* 75: 179-182.
- Easterling DR, Meehl GA, Parmesan C, Changnon SA, Karl TR, Mearns LO (2000) Climate extremes: Observations, modeling, and impacts. *Science* 289:2068-2074
- Edwards M, Richardson AJ (2004) Impact of climate change on marine pelagic phenology and trophic mismatch. *Nature* 430:881-884
- Elith J, Leathwick JR (2009) Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 40:677-697
- Ellenberg H., 1986. *Vegetation Mitteleuropas mit den Alpen in ökologischer Sicht*. Ed. 4. Eugen Ulmer. Stuttgart.
- Ellsworth DS, Reich PB (1993) Canopy structure and vertical patterns of photosynthesis and related leaf traits in a deciduous forest. *Oecologia* 96:169-178
- Estrella N, Menzel A (2006) Responses of leaf colouring in four deciduous tree species to climate and weather in Germany. *Climate Research* 32:253-267
- Evans (1989) Photosynthesis and nitrogen relationships in leaves of C3 plants. *Oecologia*:9-19
- Eviner VT, Chapin FS (2003) Functional matrix: A conceptual framework for predicting multiple plant effects on ecosystem processes. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 34:455-485
- Farquhar GD, Von C, S., Berry JA (1980) A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149:341-347
- Field C MH (1986) The photosynthesis-nitrogen relationships in wild plants. In: *On the economy of plant form and function.*, Givnish TJ edn. Cambridge University Press, pp 22-55
- Flexas J, Ortuno MF, Ribas-Carbo M, Diaz-Espejo A, Florez-Sarasa ID, Medrano H (2007) Mesophyll conductance to CO₂ in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist* 175:501-511
- Ford EB (1940) Polymorphism and taxonomy. In Huxley J. *The new systematics*. Oxford.
- Francis AP, Currie DJ (2003) A globally consistent richness-climate relationship for angiosperms. *American Naturalist* 161:523-536
- Friedlingstein P, Joel G, Field CB, Fung IY (1999) Toward an allocation scheme for global terrestrial carbon models. *Global Change Biology* 5:755-770
- Friend AD, Woodward FI, Switsur VR (1989) Field measurements of photosynthesis, stomatal conductance, leaf nitrogen and delta 13C along altitudinal gradients in Scotland. *Functional Ecology* 3 117-122
- Ganichot B (2002) Évolution de la date des vendanges dans les Côtes du Rhône méridionales, in *Actes des 6e Rencontres rhodaniennes*, Institut rhodanien, Orange, pp. 38-41.

- Garnier E et al. (2004) Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85:2630-2637
- Gavrilets S, Scheiner SM (1993) The genetics of phenotypic plasticity. 6. Theoretical predictions for directional selection. *Journal of Evolutionary Biology* 6:49-68
- Gerhart LM, Ward JK (2010) Plant responses to low CO₂ of the past. *New Phytologist* 188:674-695
- Gillespie AR, Chaney WR (1989) Process modeling of nitrogen effects on carbon assimilation and allocation – A review. *Tree Physiology* 5:99-112
- Givnish TJ (1987) Comparative studies of leaf form – Assessing the relative roles of selective pressures and phylogenetic constraints. *New Phytologist* 106:131-160
- Givnish TJ (1988) Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Australian Journal of Plant Physiology* 15:63-92
- Gornall JL, Guy RD (2007) Geographic variation in ecophysiological traits of black cottonwood (*Populus trichocarpa*). *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 85:1202-1213
- Gou X, Chen F, Yang M, Li J, Peng J, Jin L (2005) Climatic response of thick leaf spruce (*Picea crassifolia*) tree-ring width at different elevations over Qilian Mountains, northwestern China. *Journal of Arid Environments* 61:513-524
- Grabherr G, Gottfried M, Pauli H (1994) Climate effects on mountain plants. *Nature* 369:448
- Granier A, Loustau D (1994) Measuring and modeling the transpiration of a maritime pine canopy from sap flow data. *Agricultural and Forest Meteorology* 71:61-81
- Gray ST, McCabe GJ (2010) A combined water balance and tree ring approach to understanding the potential hydrologic effects of climate change in the central Rocky Mountain region. *Water Resources Research* 46:W05513
- Grime JP, Hodgson JG, Hunt R (1988) Comparative plant ecology: a functional approach to common British species. Unwin Hyman, London
- Grove JM, Switsur R (1994) Glacial geological evidence for the medieval warm period. *Climatic Change* 26:143-169
- Gutschick VP (1999) Biotic and abiotic consequences of differences in leaf structure. *New Phytologist* 143:3-18
- Hampe A, Petit RJ (2005) Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters* 8:461-467
- Hanninen H (1991) Does climatic warming increase the risk of frost damage in Northern trees? *Plant Cell and Environment* 14:449-454
- Hanninen H (1996) Effects of climatic warming on northern trees: Testing the frost damage hypothesis with meteorological data from provenance transfer experiments. *Scandinavian Journal of Forest Research* 11:17-25
- Hanninen H (1996) Effects of climatic warming on northern trees: Testing the frost damage hypothesis with meteorological data from provenance transfer experiments. *Scandinavian Journal of Forest Research* 11:17-25
- Hanninen H (2006) Climate warming and the risk of frost damage to boreal forest trees: identification of critical ecophysiological traits. *Tree Physiology* 26:889-898
- Hanson H (1917) Leaf-structure as related environment. *American Journal of Botany* 4:533-560
- Hao GY, Sack L, Wang AY, Cao KF, Goldstein G (2010) Differentiation of leaf water flux and drought tolerance traits in hemiepiphytic and non-hemiepiphytic *Ficus* tree species. *Functional Ecology* 24:731-740
- Harrington R, Woiwod I, Sparks T (1999) Climate change and trophic interactions. *TREE* 14:146-150

- Hedrick PW (2006) Genetic polymorphism in heterogeneous environments: The age of genomics. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37:67-93
- Hewitt GM (2004) A climate for colonization. *Heredity* 92:1-2
- Hicks BJ, Aegerter JN, Leather SR, Watt AD (2007) Asynchrony in larval development of the pine beauty moth, *Panolis flammea*, on an introduced host plant may affect parasitoid efficacy. *Arthropod-Plant Interactions* 1:213-220
- Hillebrand H (2004) On the generality of the latitudinal diversity gradient. *American Naturalist* 163:192-211
- Hodgson JG, Wilson PJ, Hunt R, Grime JP, Thompson K (1999) Allocating C-S-R plant functional types: a soft approach to a hard problem. *Oikos* 85:282-294
- Hovenden MJ, Brodribb T (2000) Altitude of origin influences stomatal conductance and therefore maximum assimilation rate in Southern Beech, *Nothofagus cunninghamii*. *Australian Journal of Plant Physiology* 27:451-456
- Hovenden MJ, Vander Schoor JK (2004) Nature vs nurture in the leaf morphology of Southern beech, *Nothofagus cunninghamii* (*Nothofagaceae*). *New Phytologist* 161:585-594
- Howe GT, Aitken SN, Neale DB, Jermstad KD, Wheeler NC, Chen THH (2003) From genotype to phenotype: unraveling the complexities of cold adaptation in forest trees. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 81:1247-1266
- Huang SP, Pollack HN, Shen PY (2000) Temperature trends over the past five centuries reconstructed from borehole temperatures. *Nature* 403:756-758
- Hughes L (2000) Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution* 15:56-61
- Hughes MK, Diaz HF (1994) Was there a « medieval warm period », and if so, where and when ? *Climatic Change* 26:109-142
- Hultine KR, Marshall JD (2000) Altitude trends in conifer leaf morphology and stable carbon isotope composition. *Oecologia* 123:32-40
- Huntley B, Bartlein PJ, Prentice IC (1989) Climatic control of the distribution and abundance of beech (*Fagus* L.) in Europe and North America. *Journal of Biogeography* 16:551-560
- IPCC (2007) *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability*. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA., Cambridge.
- Ise T, Moorcroft PR (2006) The global-scale temperature and moisture dependencies of soil organic carbon decomposition: an analysis using a mechanistic decomposition model. *Biogeochemistry* 80:217-231
- Ise T, Moorcroft PR (2010) Simulating boreal forest dynamics from perspectives of ecophysiology, resource availability, and climate change. *Ecological Research* 25:501-511
- Ives AR, Carpenter SR (2007) Stability and diversity of ecosystems. *Science* 317:58-62
- Jacobs DF, Salifu KF, Davis AS (2009) Drought susceptibility and recovery of transplanted *Quercus rubra* seedlings in relation to root system morphology. *Annals of Forest Science* 66:504p501-504p512
- Jansson R (2003) Global patterns in endemism explained by past climatic change. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 270:583-590
- Jensen JS, Hansen JK (2008) Geographical variation in phenology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl and *Quercus robur* L. oak grown in a greenhouse. *Scandinavian Journal of Forest Research* 23:179-188

- Jia X, Pan XY, Sosa A, Li B, Chen JK (2010) Differentiation in growth and biomass allocation among three native *Alternanthera philoxeroides* varieties from Argentina. *Plant Species Biology* 25:85-92
- Jones HG (1983) *Plants and microclimate. A qualitative approach to environmental plant physiology.* Cambridge University Press
- Jr. (Editeurs). *Maintaining Biodiversity in Forest Ecosystems.* Cambridge University Press, Cambridge, UK. pp. 22-61.
- Jump AS, Hunt JM, Penuelas J (2006) Rapid climate change-related growth decline at the southern range edge of *Fagus sylvatica*. *Global Change Biology* 12:2163-2174
- Jump AS, Penuelas J (2005) Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters* 8:1010-1020
- Kao WY, Chang KW (2001) Altitudinal trends in photosynthetic rate and leaf characteristics of *Miscanthus* populations from central Taiwan. *Australian Journal of Botany* 49:509-514
- Karlsson PS, Nordell KO (1996) Effects of soil temperature on the nitrogen economy and growth of mountain birch seedlings near its presumed low temperature distribution limit. *Ecoscience* 3:183-189
- Kawecki TJ, Ebert D (2004) Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters* 7:1225-1241
- Kearney M, Porter W (2009) Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. *Ecology Letters* 12:334-350
- Kearney M, Porter WP, Williams C, Ritchie S, Hoffmann AA (2009) Integrating biophysical models and evolutionary theory to predict climatic impacts on species' ranges: the dengue mosquito *Aedes aegypti* in Australia. *Functional Ecology* 23:528-538
- Keeling CD, Chin JFS, Whorf TP (1996) Increased activity of northern vegetation inferred from atmospheric CO₂ measurements. *Nature* 382:146-149
- Kelly AE, Goulden ML (2008) Rapid shifts in plant distribution with recent climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105:11823-11826
- Klanderud K (2005) Climate change effects on species interactions in an alpine plant community. *Journal of Ecology* 93:127-137
- Klanderud K, Totland O (2005) The relative importance of neighbours and abiotic environmental conditions for population dynamic parameters of two alpine plant species. *Journal of Ecology* 93:493-501
- Klapwijk MJ, Grobler BC, Ward K, Wheeler D, Lewis OT (2010) Influence of experimental warming and shading on host-parasitoid synchrony. *Global Change Biology* 16:102-112
- Kohout M, Read J (2006) Instantaneous photosynthetic responses to temperature of deciduous and evergreen *Nothofagus* species. *Australian Journal of Botany* 54:249-259
- König AO (2005) Provenance research: evaluating the spatial pattern of genetic variation. In: Geburek, T. & Turok, J. (eds.). *Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe*, pp. 275-333. Arbor Publishers, Zvolen, Slovakia.
- Körner C (1988) Does global increase of CO₂ alter stomatal density? *Flora* 181:253-257
- Körner C (1989) The nutritional status of plants from high altitudes. *Oecologia* 81:623-632
- Körner C (1995) Impact of atmospheric changes on alpine vegetation : the ecophysiological perspective. In : GUISAN et al. 1995:113-120
- Körner C (1999) *Alpine plant life.* Springer-Verlag Berlin
- Körner C (2003) Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology* 91:4-17
- Körner C (2007) The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution* 22:569-574

- Körner C, Basler D (2010) Phenology under global warming. *Science (Washington)*:1461-1462
- Körner C, Cochrane PM (1985) Stomatal responses and water relations of *Eucalyptus pauciflora* in summer along an elevational gradient. *Oecologia* 66:443-455
- Körner C, Farquhar GD, Wong SC (1991) Carbon isotope discrimination by plants follows latitudinal trends. *Oecologia* 88:30-40
- Körner C. MR (1981) Stomatal behaviour in alpine plant communities between 600 and 2600 metres above sea level. In: plants and their atmospheric environment, Oxford: Blackwell. edn. Grace J, Ford ED, Jarvis PG, pp 205-218
- Körner CD, M. (1987) In situ photosynthetic responses to light, temperature and carbon dioxide in herbaceous plants from low and high altitude. *Functional Ecology* 1 179-194
- Koskela J (2001) Responses of gas exchange and growth in Merkus pine seedlings to expected climatic changes in Thailand. *Global Change Biology* 7:641-656
- Kramer K (1995) Phenotypic plasticity of the phenology of seven European tree species in relation to climatic warming. *Plant, Cell and Environment* 18:93-104
- Kullman L (2002) Rapid recent range-margin rise of tree and shrub species in the Swedish Scandes. *Journal of Ecology* 90:68-77
- Kummerow J, Ellis B (1984) Temperature effect on biomass production and root/shoot biomass ratios in two arctic sedges under controlled environmental conditions. *Canadian Journal of Botany* 62:256-265
- Larcher W (1995) *Physiological Plant Ecology*. Third edition, Springer-Verlag Berlin, 506pp:506
- Lavorel S, Garnier E (2002) Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16:545-556
- Lavorel S, McIntyre S, Landsberg J, Forbes TDA (1997) Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. *Trends in Ecology & Evolution* 12:474-478
- Lebourgeois F, Pierrat JC, Perez V, Piedallu C, Cecchini S, Ulrich E (2008) Déterminisme de la phénologie des forêts tempérées françaises. Etude sur les peuplements du RENECOFOR. *Revue Forestière Française*, 60, 3, 323-343.
- Leinonen I (1996) A simulation model for the annual frost hardiness and freeze damage of Scots pine. *Annals of Botany* 78:687-693
- Leishman RM, Westoby M (1997) Classifying plants into groups on the basis of associations of individual traits - evidence from Australian semi-arid woodlands. *Journal of Ecology* 80:417-424
- Lenzion J, Leuschner C (2008) Growth of European beech (*Fagus sylvatica* L.) saplings is limited by elevated atmospheric vapour pressure deficits. *Forest Ecology and Management* 256:648-655
- Lenoir J, Gegout JC, Marquet PA, de Ruffray P, Brisse H (2008) A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. *Science* 320:1768-1771
- Lenormand T (2002) Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution* 17:183-189
- Leroy SAG, Arpe K (2007) Glacial refugia for summer-green trees in Europe and south-west Asia as proposed by ECHAM3 time-slice atmospheric model simulations. *Journal of Biogeography* 34:2115-2128
- Lesica P, McCune B (2004) Decline of arctic-alpine plants at the southern margin of their range following a decade of climatic warming. *Journal of Vegetation Science* 15:679-690

- Leverenz JW, Bruhn D, Saxe H (1999) Responses of two provenances of *Fagus sylvatica* seedlings to a combination of four temperature and two CO₂ treatments during their first growing season: gas exchange of leaves and roots. *New Phytologist* 144:437-454
- Lindroth RL (2010) Impacts of Elevated Atmospheric CO₂ and O₃ on Forests: Phytochemistry, Trophic Interactions, and Ecosystem Dynamics. *Journal of Chemical Ecology* 36:2-21
- Linkosalo T, Carter TR, Hakkinen R, Hari P (2000) Predicting spring phenology and frost damage risk of *Betula* spp. under climatic warming: a comparison of two models. *Tree Physiology* 20:1175-1182
- Lloyd J, Syvertsen JP, Kriedemann PE, Farquhar GD (1992) Low conductances for CO₂ diffusion from stomata to the sites of carboxylation in leaves of woody species. *Plant Cell and Environment* 15:873-899
- Lopez-Moreno JI, Beniston M (2009) Daily precipitation intensity projected for the 21st century: seasonal changes over the Pyrenees. *Theoretical and Applied Climatology* 95:375-384
- Luo JX, Zang RG, Li CY (2006) Physiological and morphological variations of *Picea asperata* populations originating from different altitudes in the mountains of southwestern China. *Forest Ecology and Management* 221:285-290
- Lupke Bv (2009) Considerations about tree species choice and regeneration methods under advancing climate change in Germany. *Forstarchiv* 80:67-75
- Lusk CH, Reich PB (2000) Relationships of leaf dark respiration with light environment and tissue nitrogen content in juveniles of 11 cold-temperate tree species. *Oecologia* 123:318-329
- Luterbacher J, Dietrich D, Xoplaki E, Grosjean M, Wanner H (2004) European seasonal and annual temperature variability, trends, and extremes since 1500. *Science* 303:1499-1503
- Mack MC, Schuur EAG, Bret-Harte MS, Shaver GR, Chapin FS (2004) Ecosystem carbon storage in arctic tundra reduced by long-term nutrient fertilization. *Nature* 431:440-443
- Madlung A, Comai L (2004) The effect of stress on genome regulation and structure. *Annals of Botany* 94:481-495
- Maestre FT, Cortina J (2004) Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. *Pro. Royal Society Land.* 271:S331-S333
- Maestre FT, Valladares F, Reynolds JF (2006) The stress-gradient hypothesis does not fit all relationships between plant-plant interactions and abiotic stress: further insights from arid environments. *Journal of Ecology* 94:17-22
- Magnani F, Mencuccini M, Grace J (2000) Age-related decline in stand productivity: the role of structural acclimation under hydraulic constraints. *Plant Cell and Environment* 23:251-263
- Magri D et al. (2006) A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytologist* 171:199-221
- Maherali H, Johnson HB, Jackson RB (2003) Stomatal sensitivity to vapour pressure difference over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C₃/C₄ grassland. *Plant Cell and Environment* 26:1297-1306
- Maherali H, Reid CD, Polley HW, Johnson HB, Jackson RB (2002) Stomatal acclimation over a subambient to elevated CO₂ gradient in a C₃/C₄ grassland. *Plant Cell and Environment* 25:557-566
- Mann ME, Park J, Bradley RS (1995) Global interdecadal and century-scale climate oscillations during the past 5 centuries. *Nature* 378:266-270

- Manos PS, Doyle JJ, Nixon KC (1999) Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12:333-349
- Manter DK, Kavanagh KL, Rose CL (2005) Growth response of Douglas-fir seedlings to nitrogen fertilization: importance of Rubisco activation state and respiration rates. *Tree Physiology* 25:1015-1021
- Mason NWH, Mouillot D, Lee WG, Wilson JB (2005) Functional richness, functional evenness and functional divergence: the primary components of functional diversity. *Oikos* 111:112-118
- Matos FS, Wolfgramm R, Goncalves FV, Cavatte PC, Ventrella MC, DaMatta FM (2009) Phenotypic plasticity in response to light in the coffee tree. *Environmental and Experimental Botany* 67:421-427
- Matsumoto K, Ohta T, Irasawa M, Nakamura T (2003) Climate change and extension of the *Ginkgo biloba* L. growing season in Japan. *Global Change Biology* 9:1634-1642
- McDowell NG, Allen CD, Marshall L (2010) Growth, carbon-isotope discrimination, and drought-associated mortality across a *Pinus ponderosa* elevational transect. *Global Change Biology* 16:399-415
- McElwain JC (2004) Climate-independent paleoaltimetry using stomatal density in fossil leaves as a proxy for CO₂ partial pressure. *Geology* 32:1017-1020
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E, Westoby M (2006) Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* 21:178-185
- McGregor GR, Ferro CAT, Stephenson DB (2005) Projected changes in extreme weather and climate events in Europe. *Extreme Weather Events and Public Health Responses*:13-23
- Meinzer FC, Goldstein GH, Rundel PW (1985) Morphological changes along an altitude gradient and their consequences for an andean giant rosette plant. *Oecologia* 65:278-283
- Mendel G (1965) *Experiments in Plant Hybridisation*. Oliver and Boyd, London, 41 p.
- Menzel A et al. (2006) European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology* 12:1969-1976
- Menzel A, Estrella N, Fabian P (2001) Spatial and temporal variability of the phenological seasons in Germany from 1951 to 1996. *Global Change Biology* 7:657-666
- Menzel A, Fabian P (1999) Growing season extended in Europe. *Nature (London)* 397:659
- Meusel, H. 1965 *Vergleichende Chorologie der zentraleuropäischen Flora*. Bd. 1. Fischer, Jena, Germany, 258 pp. (maps). 583 p. (text) (in German).
- Migliavacca M et al. (2008) European larch phenology in the Alps: can we grasp the role of ecological factors by combining field observations and inverse modelling? *International Journal of Biometeorology* 52:587-605
- Milbau A, Scheerlinck L, Reheul D, De Cauwer B, Nijs I (2005) Ecophysiological and morphological parameters related to survival in grass species exposed to an extreme climatic event. *Physiologia Plantarum* 125:500-512
- Morecroft MD, Woodward FI, Marrs RH (1992) Altitudinal trends in leaf nutrient contents, leaf size and C13delta of *Alchemilla alpina*. *Functional Ecology* 6:730-740
- Morgenstern EK (1996) Geographic variation in forest trees: genetic basis and application of knowledge in silviculture. *Geographic variation in forest trees: genetic basis and application of knowledge in silviculture*.:xiv + 209 pp.
- Morin X, Roy J, Sonie L, Chuine I (2010) Changes in leaf phenology of three European oak species in response to experimental climate change. *New Phytologist* 186:900-910

- Morin X, Lechowicz MJ, Augspurger C, O' Keefe J, Viner D, Chuine I (2009) Leaf phenology in 22 North American tree species during the 21st century. *Global Change Biology* 15:961-975
- Morin X, Viner D, Chuine I (2008) Tree species range shifts at a continental scale: new predictive insights from a process-based model. *Journal of Ecology* 96:784-794
- Muller-Starck G, Hattmer HH (1989) Genetic effects of environmental stress on old stands and young growth of beech (*Fagus sylvatica*). *Forstarchiv* 60:17-22
- Murchie EH, Hubbart S, Chen YZ, Peng SB, Horton P (2002) Acclimation of rice photosynthesis to irradiance under field conditions. *Plant Physiology* 130:1999-2010
- Myneni RB, Keeling CD, Tucker CJ, Asrar G, Nemani RR (1997) Increased plant growth in the northern high latitudes from 1981 to 1991. *Nature (London)* 386:698-702
- Nakaji T, Fukami M, Dokiya Y, Izuta T (2001) Effects of high nitrogen load on growth, photosynthesis and nutrient status of *Cryptomeria japonica* and *Pinus densiflora* seedlings. *Trees-Structure and Function* 15:453-461
- Navas ML, Garnier E (2002) Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* 23:375-383
- Nernberg D, Dale MRT (1997) Competition of five native prairie grasses with *Bromus inermis* under three moisture regimes. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 75:2140-2145
- Nilsson-Ehle H (1914) 'Vilka erfarenheter hava hittills vunnits rörande möjligheten av växters aklimatisering?' *Kunglig Landbruksakademiens Handlingar och Tidskrift* 53, 537-572.
- Niort Julie (2007) Reconstitution de l'histoire de la recolonisation du chêne et du hêtre dans les Pyrénées. rapport Master II, Bordeaux.
- Noble IR, Gitay H (1996) A functional classification for predicting the dynamics of landscapes. *Journal Vegetation Science* 7:329-336
- Nogues-Bravo D, Ohlemuller R, Batra P, Araujo MB (2010) Climate predictors of late quaternary extinctions. *Evolution* 64:2442-2449
- NunezOlivera E, MartinezAbaigar J, Escudero JC (1996) Adaptability of leaves of *Cistus ladanifer* to widely varying environmental conditions. *Functional Ecology* 10:636-646
- Ogle K and Pacala SW (2009) A modeling framework for inferring tree growth and allocation from physiological, morphological and allometric traits. *Tree Physiology* 29 : 587-605
- Ogren E (2001) Effects of climatic warming on cold hardiness of some northern woody plants assessed from simulation experiments. *Physiologia Plantarum* 112:71-77
- Ohsawa T, Ide Y (2008) Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. *Global Ecology and Biogeography* 17:152-163
- Oleksyn J, Modrzyński J, Tjoelker MG, Zytkowski R, Reich PB, Karolewski P (1998) Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Functional Ecology* 12:573-590
- Oren R et al. (1999) Survey and synthesis of intra- and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant Cell and Environment* 22:1515-1526
- Osunkoya OO, Bayliss D, Panetta FD, Vivian-Smith G (2010) Variation in ecophysiology and carbon economy of invasive and native woody vines of riparian zones in south-eastern Queensland. *Austral Ecology* 35:636-649
- Paillette V (2009) Déplacement altitudinal de l'optimum de croissance du hêtre dans les pyrénées.
- Parmesan C (2006) Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 37:637-669

- Parmesan C, Yohe G (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421:37-42
- Pauli H, Gottfried M, Reiter K, Klettner C, Grabherr G (2007) Signals of range expansions and contractions of vascular plants in the high Alps: observations (1994-2004) at the GLORIA*master site Schrankogel, Tyrol, Austria. *Global Change Biology* 13:147-156
- Pelini SL, Keppel JA, Kelley AE, Hellmann JJ (2010) Adaptation to host plants may prevent rapid insect responses to climate change. *Global Change Biology* 16:2923-2929
- Penuelas J, Boada M (2003) A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology* 9:131-140
- Petchey OL, Gaston KJ (2002) Functional diversity (FD), species richness and community composition. *Ecology Letters* 5:402-411
- Peterson AG et al. (1999) Quantifying the response of photosynthesis to changes in leaf nitrogen content and leaf mass per area in plants grown under atmospheric CO₂ enrichment. *Plant Cell and Environment* 22:1109-1119
- Petit RJ et al. (2002a) Identification of refugia and post-glacial colonisation routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *Forest Ecology and Management* 156:49-74
- Petit RJ, Latouche-Halle C, Pemonge MH, Kremer A (2002b) Chloroplast DNA variation of oaks in France and the influence of forest fragmentation on genetic diversity. *Forest Ecology and Management* 156:115-129
- Petit RJ et al. (2003) Glacial refugia: Hotspots but not melting pots of genetic diversity. *Science* 300:1563-1565
- Pigliucci M (1996) How organisms respond to environmental changes: From phenotypes to molecules (and vice versa). *Trends in Ecology & Evolution* 11:168-173
- Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology* 209:2362-2367
- Piper FI, Cavieres LA, Reyes-Diaz M, Corcuera LJ (2006) Carbon sink limitation and frost tolerance control performance of the tree *Kageneckia angustifolia* D. Don (Rosaceae) at the treeline in central Chile. *Plant Ecology* 185:29-39
- Planton S, Deque M, Chauvin F, Terray L (2008) Expected impacts of climate change on extreme climate events. *Comptes Rendus Geoscience* 340:564-574
- Polley HW, Johnson HB, Mayeux HS, Malone SR (1993) Physiology and growth of wheat across a subambient carbon-dioxide gradient. *Annals of Botany* 71:347-356
- Poorter H, Niinemets U, Poorter L, Wright IJ, Villar R (2009) Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): a meta-analysis. *New Phytologist* 182:565-588
- Post E, Peterson RO, Stenseth NC, McLaren BE (1999) Ecosystem consequences of wolf behavioural response to climate. *Nature* 401:905-907
- Potvin C, Tousignant D (1996) Evolutionary consequences of simulated global change: Genetic adaptation or adaptive phenotypic plasticity. *Oecologia* 108:683-693
- Premoli AC, Brewer CA (2007) Environmental v. genetically driven variation in ecophysiological traits of *Nothofagus pumilio* from contrasting elevations. *Australian Journal of Botany* 55:585-591
- Qian H (1999) Floristic analysis of vascular plant genera of North America north of Mexico: characteristics of phytogeography. *Journal of Biogeography* 26:1307-1321
- Qiang WY et al. (2003) Variations of stomatal density and carbon isotope values of *Picea crassifolia* at different altitudes in the Qilian Mountains. *Trees-Structure and Function* 17:258-262

- Quero JL, Villar R, Maranon T, Murillo ANA, Zamora R (2008) Plastic response to light and water in four Mediterranean *Quercus* species (Fagaceae). *Revista Chilena de Historia Natural* 81:373-385
- Rada F, Azocar A, Gonzalez J, Briceno B (1998) Leaf gas exchange in *Espeletia schultzei* Wedd, a giant caulescent rosette species, along an altitudinal gradient in the Venezuelan Andes. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* 19:73-79
- Reddy KR, Hodges HF (2000) Climate change and global crop productivity: an overview. *Climate Change and Global Crop Productivity*:1-5
- Rehfeldt GE (1993) Genetic variation in the *Ponderosae* of the southwest. *American Journal of Botany* 80:330-343
- Rehfeldt GE (1994) Adaptation of *Picea engelmannii* populations to the heterogeneous environments of the intermountain west. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique* 72:1197-1208
- Rehfeldt GE, Tchebakova NM, Parfenova YI, Wykoff WR, Kuzmina NA, Milyutin LI (2002) Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8:912-929
- Rehfeldt GE, Tchebakova NM, Parfenova YI, Wykoff WR, Kuzmina NAM, L.I. (2002) Intraspecific responses to climate in *Pinus sylvestris*. *Global Change Biology* 8:912-929
- Rehfeldt GE, Wykoff WR, Ying CC (2001) Physiologic plasticity, evolution, and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*. *Climatic Change* 50:355-376
- Reich PB et al. (2003a) The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *Int. J. Plant Sci.* 3 Suppl. by the university of Chicago:S143-S164
- Reich PB, Tjoelker MG, Walker MB, Vanderklein DW, Buschena CCC (1998) Close association of RGR, leaf and root morphology, seed mass and shade tolerance in seedling of nine boreal tree species grown in high and low light. *Functional Ecology* 12:327-338
- Reich PB, Walters MB (1994) Photosynthesis nitrogen relations in amazonian tree species. 2. Variation in nitrogen vis-a-vis specific leaf area influences mass based and area based expressions. *Oecologia* 97:73-81
- Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS (1992) Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monograph* 62:365-392
- Ren J, Dai WR, Xuan ZY, Yao YN, Korpelainen H, Li CY (2007) The effect of drought and enhanced UV-B radiation on the growth and physiological traits of two contrasting poplar species. *Forest Ecology and Management* 239:112-119
- Richardson AD, Bailey AS, Denny EG, Martin CW, O'Keefe J (2006) Phenology of a northern hardwood forest canopy. *Global Change Biology* 12:1174-1188
- Root TL, Price JF, Hall KR, Schneider SH, Rosenzweig C, Pounds JA (2003) Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* 421:57-60
- Rosenzweig C, Hillel D (1998) Climate change and the global harvest: potential impacts of the greenhouse effect on agriculture. *Climate change and the global harvest: potential impacts of the greenhouse effect on agriculture*:324 pp.
- Sanchez-Gomez D, Zavala MA, Valladares F (2008) Functional traits and plasticity linked to seedlings' performance under shade and drought in Mediterranean woody species. *Annals of Forest Science* 65:311p311-311p310
- Savolainen O, Pyhajarvi T, Knurr T (2007) Gene flow and local adaptation in trees. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 38:595-619
- Saxe H, Cannell MGR, Johnsen B, Ryan MG, Vourlitis G (2001) Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist* 149:369-399

- Scheiner SM (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24:35-68
- Scherer-Lorenzen M, Schulze ED, Don A, Schumacher J, Weller E (2007) Exploring the functional significance of forest diversity: A new long-term experiment with temperate tree species (BIOTREE). *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 9:53-70
- Schlesinger WH (1991) Biogeochemistry: an analysis of global change. *Biogeochemistry: an analysis of global change*.:xi + 443 pp.
- Schlichting CD, Pigliucci M (1995) Gene-regulation, quantitative genetics and the evolution of reaction norms *Evolutionary Ecology* 9:154-168
- Schmid B, Bazzaz FA (1990) Plasticity in plant size and architecture in rhizome derived vs. seed derived *Solidago* and *Aster*. *Ecology* 71:523-535
- Schmitt J, McCormac AC, Smith H (1995) A test of the adaptive plasticity hypothesis using transgenic and mutant plants disabled in phytochrome-mediated elongation responses to neighbors. *American Naturalist* 146:937-953
- Schmitt J, Wulff RD (1993) Light spectral quality, phytochrome and plant competition. *Trends in Ecology & Evolution* 8:47-51
- Schmitz OJ, Post E, Burns CE, Johnston KM (2003) Ecosystem responses to global climate change: Moving beyond color mapping. *BioScience* 53:1199-1205
- Schoettle AW (1994) Influence of tree size on shoot structure and physiology of *Pinus contorta* and *Pinus aristata*. *Tree Physiology* 14:1055-1068
- Schoettle AW, Rochelle SG (2000) Morphological variation of *Pinus flexilis* (Pinaceae), a bird-dispersed pine, across a range of elevations. *American Journal of Botany* 87:1797-1806
- Schutz JP (2004) Opportunistic methods of controlling vegetation, inspired by natural plant succession dynamics with special reference to natural outmixing tendencies in a gap regeneration. *Annals of Forest Science* 61:149-156
- Schwartz MD, Reiter BE (2000) Changes in North American spring. *International Journal of Climatology* 20:929-932
- Schwartz MW, Iverson LR, Prasad AM, Matthews SN, O'Connor RJ (2006) Predicting extinctions as a result of climate change. *Ecology* 87:1611-1615
- Seymour, R. S., et Hunter, M. L. 1999. Principles of ecological forestry. Dans Hunter, M.L.
- Sheriff DW, Nambiar EKS, Fife DN (1986) Relationships between nutrient status, carbon assimilation and water use efficiency in *Pinus radiata* (D. Don) needles. *Tree Physiology* 2:73-88
- Skroppa T, Magnussen S (1993) Provenance variation in shoot growth components of Norway spruce. *Silvae Genetica* 42:111-120
- Skroppa T, Nikkanen T, Ruotsalainen S, Johnsen O (1994) Effects of sexual reproduction at different latitudes on performance of the progeny of *Picea abies*. *Silvae Genetica* 43:298-304
- Smouse PE, Sork VL (2004) Measuring pollen flow in forest trees: an exposition of alternative approaches. *Forest Ecology and Management* 197:21-38
- Solomon AM, Kirilenko AP (1997) Climate change and terrestrial biomass: what if trees do not migrate! *Global Ecology and Biogeography Letters* 6:139-148
- Soolanayakanahally RY, Guy RD, Silim SN, Drewes EC, Schroeder WR (2009) Enhanced assimilation rate and water use efficiency with latitude through increased photosynthetic capacity and internal conductance in balsam poplar (*Populus balsamifera* L.). *Plant, Cell and Environment* 32:1821-1832
- Soussana J-F et al. (2002) Impacts des changements climatiques et atmosphériques sur la prairie et sa production. *Fourrages* 169:3-24

- Soussana JF (2001) Changement climatique. Impacts possibles sur l'agriculture et adaptations possibles, in : Demeter, Armand Colin, Paris, , 195-222.
- Souto CP, Premoli AC, Reich PB (2009) Complex bioclimatic and soil gradients shape leaf trait variation in *Embothrium coccineum* (Proteaceae) among austral forests in Patagonia. *Revista Chilena de Historia Natural* 82:209-222
- Sparks JP, Ehleringer JR (1997) Leaf carbon isotope discrimination and nitrogen content for riparian trees along elevational transects. *Oecologia* 109:362-367
- Sparks TH, Menzel A (2002) Observed changes in seasons: an overview. *International Journal of Climatology* 22:1715-1725
- Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock JP (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant Cell and Environment* 25:251-263
- Springer CJ, DeLucia EH, Thomas RB (2005) Relationships between net photosynthesis and foliar nitrogen concentrations in a loblolly pine forest ecosystem grown in elevated atmospheric carbon dioxide. *Tree Physiology* 25:385-394
- Springer CJ, Thomas RB (2007) Photosynthetic responses of forest understory tree species to long-term exposure to elevated carbon dioxide concentration at the Duke Forest FACE experiment. *Tree Physiology* 27:25-32
- Stearns SC (1989) The evolutionary significance of phenotypic plasticity – Phenotypic sources of variation among organisms can be described by developmental switches and reaction norms. *BioScience* 39:436-445
- Stocklin J, Kuss P, Pluess AR (2009) Genetic diversity, phenotypic variation and local adaptation in the alpine landscape: case studies with alpine plant species. *Botanica Helvetica* 119:125-133
- Studer S, Appenzeller C, Defila C (2005) Inter-annual variability and decadal trends in alpine spring phenology: A multivariate analysis approach. *Climatic Change* 73:395-414
- Sugiyama S, Gotoh M (2010) How meristem plasticity in response to soil nutrients and light affects plant growth in four *Festuca* grass species. *New Phytologist* 185:747-758
- Suttle KB, Thomsen MA, Power ME (2007) Species interactions reverse grassland responses to changing climate. *Science* 315:640-642
- Tang CQ, Ohsawa M (1999) Altitudinal distribution of evergreen broad-leaved trees and their leaf-size pattern on a humid subtropical mountain, Mt. Emei, Sichuan, China. *Plant Ecology* 145:221-233
- Terashima I, MasuZAWA T, Ohba H, Yokoi Y (1995) Is photosynthesis suppressed at higher elevations due to low CO₂ pressure? *Ecology* 76:2663-2668
- Thomas CD et al. (2004a) Extinction risk from climate change. *Nature* 427:145-148
- Thomas CD et al. (2004b) Biodiversity conservation - Uncertainty in predictions of extinction risk - Effects of changes in climate and land use - Climate change and extinction risk - Reply. *Nature* 430
- Thomas CD, Franco AMA, Hill JK (2006) Range retractions and extinction in the face of climate warming. *Trends in Ecology & Evolution* 21:415-416
- Thuiller W (2003) BIOMOD - optimizing predictions of species distributions and projecting potential future shifts under global change. *Global Change Biology* 9:1353-1362
- Thuiller W, Richardson DM, Pysek P, Midgley GF, Hughes GO, Rouget M (2005) Niche-based modelling as a tool for predicting the risk of alien plant invasions at a global scale. *Global Change Biology* 11:2234-2250
- Tingstad AH, MacDonald GM (2010) Long-term relationships between ocean variability and water resources in Northeastern Utah. *Journal of the American Water Resources Association* 46:987-1002

- Tjoelker MG, Oleksyn J, Reich PB (1998) Seedlings of five boreal tree species differ in acclimation of net photosynthesis to elevated CO₂ and temperature. *Tree Physiology* 18:715-726
- Tonsor SJ, Scheiner SM (2007) Plastic trait integration across a CO₂ gradient in *Arabidopsis thaliana*. *American Naturalist* 169:E119-E140
- Tucker CJ, Slayback DA, Pinzon JE, Los SO, Myneni RB, Taylor MG (2001) Higher northern latitude normalized difference vegetation index and growing season trends from 1982 to 1999. *International Journal of Biometeorology* 45:184-190
- Tylianakis JM, Didham RK, Bascompte J, Wardle DA (2008) Global change and species interactions in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters* 11:1351-1363
- Urban O (2003) Physiological impacts of elevated CO₂ concentration ranging from molecular to whole plant responses. *Photosynthetica* 41:9-20
- Valladares F, Martinez-Ferri E, Balaguer L, Perez-Corona E, Manrique E (2000a) Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist* 148:79-91
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW (2000b) Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81:1925-1936
- Valladares F, Sanchez-Gomez D, Zavala MA (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94:1103-1116
- Valladares F, Gianoli E, Gomez JM (2007) Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 176:749-763
- Van de Weg MJ, Meir P, Grace J, Atkin OK (2009) Altitudinal variation in leaf mass per unit area, leaf tissue density and foliar nitrogen and phosphorus content along an Amazon-Andes gradient in Peru. *Plant Ecology & Diversity* 2:243-U247
- Van der Putten WH, de Ruiter PC, Bezemer TM, Harvey JA, Wassen M, Wolters V (2004) Trophic interactions in a changing world. *Basic and Applied Ecology* 5:487-494
- Van Kleunen M, Fischer M (2005) Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166:49-60
- Van Peer L, Nijs I, Reheul D, De Cauwer B (2004) Species richness and susceptibility to heat and drought extremes in synthesized grassland ecosystems: compositional vs physiological effects. *Functional Ecology* 18:769-778
- Via S, Gomulkiewicz R, Dejong G, Scheiner SM, Schlichting CD, Vantienderen PH (1995) Adaptive phenotypic plasticity – Consensus and controversy. *Trends in Ecology & Evolution* 10:212-217
- Violle C et al. (2007) Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116:882-892
- Vitasse Y, Delzon S, Bresson CC, Michalet R, Kremer A (2009a) Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39:1259-1269
- Vitasse Y et al. (2009b) Leaf phenology sensitivity to temperature in European trees: Do within-species populations exhibit similar responses? *Agricultural and Forest Meteorology* 149:735-744
- Vitasse Y, Porte AJ, Kremer A, Michalet R, Delzon S (2009c) Responses of canopy duration to temperature changes in four temperate tree species: relative contributions of spring and autumn leaf phenology. *Oecologia* 161:187-198
- Vitasse Y, Bresson CC, Kremer A, Michalet R, Delzon S (2010) Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species. *Functional Ecology* 24:1211-1218

- Vitasse Y, François C, Delpierre N, Dufrêne E, Kremer A, Chuine I and Delzon S (submitted). Assessing the effects of climate change on the phenology of European temperate trees. *Agricultural Forest and Management*
- Vitousek PM, Field CB, Matson PA (1990) Variation in foliar $\delta^{13}C$ in Hawaiian *Metrosideros polymorpha* – A case of internal resistance. *Oecologia* 84:362-370
- VonWuehlisch G, Krusche D, Muhs HJ (1995) Variation in temperature sum requirement for flushing of beech provenances. *Silvae Genetica* 44:343-346
- Wagner A (1892) Zur Kenntnis des Blattbaues der Alpenpflanzen und dessen biologische Bedeutung. *Sitzungsber Math Naturwiss Kl Kais Acad Wiss Wien*. 101:487-547.
- Wagner F et al. (1996) A natural experiment on plant acclimation: Lifetime stomatal frequency response of an individual tree to annual atmospheric CO_2 increase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93:11705-11708
- Walker B, Kinzig A, Langridge J (1999) Plant attribute diversity, resilience, and ecosystem function: The nature and significance of dominant and minor species. *Ecosystems* 2:95-113
- Walther G-R et al. (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416:389-365
- Walther GR (2004) Plants in a warmer world. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 6:169-185
- Ward JK, Tissue DT, Thomas RB, Strain BR (1999) Comparative responses of model C3 and C4 plants to drought in low and elevated CO_2 . *Global Change Biology* 5:857-867
- Warren CR, Adams MA, Chen ZL (2000) Is photosynthesis related to concentrations of nitrogen and Rubisco in leaves of Australian native plants? *Australian Journal of Plant Physiology* 27:407-416
- Weih M, Karlsson PS (1999) Growth response of altitudinal ecotypes of mountain birch to temperature and fertilisation. *Oecologia* 119:16-23
- Weih M, Karlsson PS (2001) Growth response of Mountain birch to air and soil temperature: is increasing leaf-nitrogen content an acclimation to lower air temperature? *New Phytologist* 150:147-155
- Westoby M (1998) A leaf-height-seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil* 199:213-227
- Williams JL, Auge H, Maron JL (2008) Different gardens, different results: native and introduced populations exhibit contrasting phenotypes across common gardens. *Oecologia* 157:239-248
- Wipf S, Rixen C, Mulder CPH (2006) Advanced snowmelt causes shift towards positive neighbour interactions in a subarctic tundra community. *Global Change Biology* 12:1496-1506
- Woodall CW, Oswalt CM, Westfall JA, Perry CH, Nelson MD, Finley AO (2009) An indicator of tree migration in forests of the eastern United States. *Forest Ecology and Management* 257:1434-1444
- Woodroffe CD et al. (2010) Response of coral reefs to climate change: expansion and demise of the southernmost Pacific coral reef. *Geophysical Research Letters* 37:L15602
- Woodward FI (1986) Ecophysiological studies on the shrub *Vaccinium myrtillus* taken from a wide altitudinal range. *Oecologia* 70:580-586
- Woodward FI, Cramer W (1996) Plant functional types and climatic changes: Introduction. *Journal of Vegetation Science* 7:306-308
- Worrall J (1983) Temperature bud burst relationships in amabilis and subalpine fir provenance tests replicated at different elevations. *Silvae Genetica* 32:203-209

- Wright IJ et al. (2005) Modulation of leaf economic traits and trait relationships by climate. *Global Ecology and Biogeography* 14:411-421
- Zaehle S et al. (2007) Projected changes in terrestrial carbon storage in Europe under climate and land-use change, 1990-2100. *Ecosystems* 10:380-401
- Zhang JW, Marshall JD (1995) Variation in carbon isotope discrimination and photosynthetic gas-exchange among populations of *Pseudotsuga menziesii* and *Pinus ponderosa* in different environments. *Functional Ecology* 9:402-412
- Zhang SB, Zhou ZK, Hu H, Xu K, Yan N, Li SY (2005) Photosynthetic performances of *Quercus pannosa* vary with altitude in the Hengduan Mountains, southwest China. *Forest Ecology and Management* 212:291-301
- Zhou LM, Tucker CJ, Kaufmann RK, Slayback D, Shabanov NV, Myneni RB (2001) Variations in northern vegetation activity inferred from satellite data of vegetation index during 1981 to 1999. *Journal of Geophysical Research-Atmospheres* 106:20069-20083