

VARIATIONS ALTITUDINALES DES INTERACTIONS BIOTIQUES ET DE LA
PHÉNOLOGIE DE LA FLORAISON CHEZ DEUX PLANTES DE SOUS-ÉTAGE DE
L'EST DE L'AMÉRIQUE DU NORD

par

Sébastien Rivest

mémoire présenté au Département de biologie en vue
de l'obtention du grade de maître ès science (M.Sc.)

FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Sherbrooke, Québec, Canada, juin 2017

Le 12 juin 2017

*le jury a accepté le mémoire de Monsieur Sébastien Rivest
dans sa version finale*

Membres du jury

Professeur Mark Vellend
Directeur de recherche
Département de biologie

Professeur Jessica Forrest
Évaluateur interne
University of Ottawa

Professeur Marco Festa-Bianchet
Président-rapporteur
Département de biologie

SOMMAIRE

Un grand nombre d'espèces ont déjà subi des changements phénologiques ou des déplacements de leurs distributions en réponse aux changements anthropogéniques du climat. Comprendre comment les espèces vont réagir aux changements climatiques représente toutefois une tâche complexe puisqu'il existe une grande variabilité dans ces réponses. Cette variabilité peut être attribuée au fait que plusieurs facteurs influencent les réponses des espèces aux changements climatiques et que ces facteurs varient eux-mêmes spatialement.

Dans ce mémoire, l'intensité d'interactions biotiques, soit la pollinisation et l'herbivorie, ainsi que la phénologie de la floraison sont comparées le long d'un gradient altitudinal menant à la limite de distribution altitudinale pour deux plantes de sous-étage, *Erythronium americanum* et *Trillium erectum*.

Je teste en premier lieu si l'intensité de l'herbivorie et de la limitation pollinique augmentent à la limite de distribution altitudinale des espèces. Si cela est le cas, ces interactions peuvent limiter ces distributions et ainsi, le potentiel des espèces à déplacer leurs distributions face aux changements climatiques. Les résultats démontrent une augmentation de l'herbivorie et de la limitation pollinique à la limite de distribution altitudinale de *T. erectum*. Toutefois, la limitation pollinique devrait avoir un effet minime sur la limite de distribution altitudinale de cette espèce puisque le succès reproducteur des plantes est très peu diminué à cette limite. En se basant sur des études antérieures, la proportion d'herbivorie subie à proximité de la limite de distribution altitudinale devrait avoir des effets démographiques considérables et devrait ainsi affecter cette limite. Concernant *E. americanum*, l'herbivorie et la limitation pollinique sont restés constants et de faible intensité le long du gradient altitudinal.

Ensuite, en disposant de quatre années de données de la phénologie de la floraison le long du gradient altitudinal étudié, je vérifie de façon préliminaire si le potentiel de flux génique est affecté par la date d'initiation du printemps, ce dernier se produisant plus hâtivement en réponse aux changements climatiques. Les résultats démontrent une diminution de l'écart temporel entre les pics de floraison des populations d'altitudes différentes lors d'années aux printemps plus hâtifs, ce qui indique une différence interpopulationnelle dans la réactivité phénologique. Toutefois, cette différence temporelle n'a pas entraîné une diminution du potentiel de flux génique. Je présente également une nouvelle méthode de mesure du potentiel de flux génique qui permet d'estimer plus efficacement ce dernier à partir de la phénologie comparativement aux méthodes actuellement utilisées.

Mots-clés: élévation, flux génique, gradient altitudinal, herbivorie, limitation pollinique, limite de distribution, phénologie

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon directeur de recherche Mark Vellend, pour ses conseils éclairés et sa disponibilité, mais également pour sa confiance qui m'ont permis de mener à terme ce projet dans un maximum d'enthousiasme et un minimum de découragement, tout en me permettant de développer mon esprit scientifique. Je tiens également à remercier Cédric Frenette Dussault, Audrey Bourret et François Rousseau de m'avoir aidé avec les analyses statistiques. Merci aux membres du laboratoire Vellend pour les échanges scientifiques et moins scientifiques. Merci à Madelaine Proulx, Diane Auberson-Lavoie, Mélissa Paquet et Andrés Cruz Zamudio pour leur aide précieuse sur le terrain. Merci aux membres de mon comité de conseillers, Jessica Forrest et Marco Festa-Bianchet. Finalement, je remercie le Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG), pour le soutien financier.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE	iii
REMERCIEMENTS.....	v
TABLE DES MATIÈRES	vi
LISTE DES ABRÉVIATIONS	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	ix
LISTE DES FIGURES	x
CHAPITRE 1 - INTRODUCTION GÉNÉRALE	13
1.1 Rôle des interactions biotiques dans la détermination de la distribution des espèces.....	14
1.2 Potentiel de la limitation pollinique à limiter la distribution des espèces.....	16
1.3 Potentiel de l'herbivorie à limiter la distribution des espèces.	17
1.4 Flux génique dans un contexte de changements climatiques	18
1.5 Études le long de gradients altitudinaux au Mont-Mégantic	21
1.6 Objectifs et hypothèses du projet de recherche	22
CHAPITRE 2 - HERBIVORY AND POLLEN LIMITATION AT THE UPPER ELEVATIONAL RANGE LIMIT OF TWO FOREST UNDERSTORY PLANTS OF EASTERN NORTH AMERICA.....	24
2.1. Mise en contexte et contribution des auteurs	24
2.2 Abstract	25
2.3 Introduction.....	25
2.4 Material and methods	28
2.5 Results.....	33

2.6 Discussion.....	41
2.7 Acknowledgments	46
2.8 Literature cited.....	47
CHAPITRE 3 - EFFET DE LA DATE D'INITIATION DU PRINTEMPS SUR LA PHÉNOLOGIE DE LA FLORAISON ET LE POTENTIEL DE FLUX GÉNIQUE CHEZ DEUX PLANTES DE SOUS-ÉTAGE LE LONG D'UN GRADIENT ALTITUDINAL ..	55
3.1. Mise en contexte et contribution des auteurs	55
3.2 Résumé	56
3.3 Introduction.....	57
3.4 Méthodologie.....	61
3.5 Résultats et discussion	68
3.5 Références	75
CHAPITRE 4 - DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION.....	81
4.1 Interactions biotiques le long d'un gradient altitudinal.....	81
4.2 Phénologie et flux génique	84
4.3 Conclusion	87
ANNEXES.....	88
BIBLIOGRAPHIE	96

LISTE DES ABRÉVIATIONS

Abréviation	Définition	Page
DISF	<i>Date d'initiation de la saison de floraison.....</i>	64
EPF	<i>Écart temporel entre les pics de floraison.....</i>	61
PFG	<i>Potentiel de flux génique.....</i>	58
spp.	<i>Plusieurs espèces.....</i>	45

LISTE DES TABLEAUX

TABLE 1. Generalized linear mixed model results for the effects of elevation on seeds per fruit (absolute seed set, assuming negative binomial distributions) and seeds per ovule (relative seed set, assuming binomial distributions) for <i>Erythronium americanum</i> and <i>Trillium erectum</i> in 2015 and 2016.....	35
TABLE 2. Generalized linear mixed model results for the effects of elevation, pollen supplementation and their interaction on seeds per fruit (absolute seed set) and seeds per ovule (relative seed set) for <i>Erythronium americanum</i> and <i>Trillium erectum</i> in 2016 (assuming negative binomial distributions).....	38
TABLE 3. Generalized linear mixed model results for the effects of elevation on herbivory rate for <i>Erythronium americanum</i> and <i>Trillium erectum</i> in 2016 (assuming Bernoulli distributions).....	41
TABLEAU 4. Valeurs des pentes de la relation de l'EPF, de l'indice de PFG et du chevauchement des distributions de floraison avec la date d'initiation de la floraison comparés aux résultats du modèle nul pour <i>Trillium erectum</i> , <i>Erythronium americanum</i>	71
TABLEAU 5. Valeurs de la variance interannuelle de l'EPF, de l'indice de PFG et du chevauchement des distributions de floraison comparées aux résultats du modèle nul pour <i>Trillium erectum</i> , <i>Erythronium americanum</i>	71

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. Elevational variation in seeds per fruit (absolute seed set, a-d) and seeds per ovule (relative seed set, e-h) for *Erythronium americanum* (a, b, e, f) and *Trillium erectum* (c, d, g, h) in 2015 (a, c, e, g) and 2016 (b, d, f, h). Different letters above bars within a single panel indicate significant differences ($\alpha = 0.05$, Tukey post-hoc tests). Graphs show means and standard errors on raw data..... 34

FIGURE 2. The effect of pollen supplementation on seeds per fruit (absolute seed set, a, c) and seeds per ovule (relative seed set, b, d) along the elevational gradient for *Erythronium americanum* (a, b) and *Trillium erectum* (c, d) in 2016. White bars indicate control flowers while grey bars indicate pollen-supplemented flowers. Asterisks above bars indicate a significantly larger difference between pollination treatments (i.e., greater or lower pollen limitation) compared to the low elevation group (* $0.05 > P \geq 0.01$, ** $0.01 > P \geq 0.001$). Graphs show means and standard errors on raw data. 37

FIGURE 3. Elevational variation in percentage herbivory of *Erythronium americanum* (a) and *Trillium erectum* (b). Different letters above bars indicate statistically significant difference between groups ($\alpha = 0.05$). Graphs show means and standard errors on raw data. 40

FIGURE 4. Mesure du chevauchement de distributions de floraison. La surface grise représente la surface mesurée par le calcul du chevauchement. La surface hachurée représente la surface provenant de la population qui n'est pas tenue en compte dans le calcul pour un temps donné. Dans cet exemple hypothétique, le PFG est plus élevé dans la situation A puisqu'un plus grand nombre de fleurs sont en

synchronisme entre les populations, alors que le chevauchement des distributions de floraisons est identique entre les deux situations. 60

FIGURE 5. Schématisation des différentes mesures d'estimation du PFG entre la population "a" (ligne pleine) et la population "b" (ligne pointillée). L'EPF consiste au nombre de jours séparant le mode de la population "a" (mode "a") et le mode de la population "b" (mode "b"). L'indice PFG_{a,b} consiste à calculer, pour chaque jour "i", la proportion de fleurs des populations «a» et «b» combinées provenant de la population donneuse «a» ($a_{ia} + b_i$). Cette proportion est pondérée par la proportion de fleurs présentes dans la population réceptrice «b» lors du jour "i" par rapport au nombre total de fleurs présentes lors de l'ensemble de la période de floraison (zone grise) ($b_{ii} = 1/n_{bi}$). La mesure du chevauchement des distributions de floraison consiste à la somme des valeurs minimale au temps "i" entre (a_i et b_i) (voir aussi Fig. 4). 65

FIGURE 6. Représentation visuelle de la standardisation des différentes années de prise de données pour deux années (ligne grise et ligne noire) et trois populations hypothétiques. Les données brutes sont représentées en A et les données après la standardisation en B. 67

FIGURE 7. Moyennes annuelles de l'écart entre les pics de floraison (A, D), du potentiel de flux génique (B, E) et du chevauchement (C, F) selon la date d'initiation de la saison de floraison pour *Trillium erectum* (A-C) et *Erythronium americanum* (D-F). 70

FIGURE 8. Nombre de fleurs ouvertes durant la période de floraison à 5 parcelles d'altitudes différentes sur un des transects (les résultats sont similaires pour les deux transects), pour *Trillium erectum*, durant une année où l'initiation de la floraison a été hâtive (A, 2013) et une année où la date d'initiation de la floraison a été tardive (B, 2014). 74

FIGURE 9. Nombre de fleurs ouvertes durant la période de floraison à 5 parcelles d'altitudes différentes sur un des transects (les résultats sont similaires pour les deux transects), pour *Erythronium americanum*, durant une année où l'initiation de la floraison a été hâtive (A, 2013) et une année où la date d'initiation de la floraison a été tardive (B, 2014). 75

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Comprendre les conséquences des changements anthropogéniques du climat constitue un sujet de grand intérêt en écologie. La température globale de la terre a augmenté de 0.6 C° au cours des 100 dernières années et une augmentation supplémentaire d'au minimum 2 C° est prévue d'ici 2100 (Meehl *et al.*, 2007). Ces changements ont déjà affecté de nombreux organismes dans un large éventail d'écosystèmes, les principales réponses observées étant un avancement des événements phénologiques et un déplacement des distributions des espèces vers des altitudes et latitudes plus élevées (Walther *et al.*, 2002 ; Parmesan et Yohe, 2003 ; Menzel *et al.*, 2006 ; Parmesan, 2006). Toutefois, il existe une grande variabilité concernant la magnitude et parfois même la direction de ces réponses (Harsch *et al.*, 2009 ; Chen *et al.*, 2011a ; Pau *et al.*, 2011 ; Zhu *et al.*, 2012). Cette variabilité peut être attribuée au fait que plusieurs facteurs influencent les réponses des espèces aux changements climatiques et que ces facteurs varient eux-mêmes dans l'espace et le temps (HilleRisLambers *et al.*, 2013).

La variation spatiale du climat est un déterminant majeur de nombreux facteurs influencés par les changements climatiques, tels que la distribution des plantes, leur phénologie et leur fitness (Sundqvist *et al.*, 2013). Il est donc important de comprendre comment ces facteurs varient selon le climat, ainsi que les autres facteurs lui étant corrélés, afin de permettre une prédiction adéquate du futur. Dans ce mémoire, je traiterai de la réponse des espèces végétales aux variations spatiales du climat, ainsi qu'aux facteurs lui étant corrélés, le long d'un gradient climatique putatif. Initialement, le thème de cette recherche était plus restreint, ciblant précisément l'étude des facteurs liés à la reproduction sexuelle des plantes le long d'un gradient climatique, soit la pollinisation et la phénologie de la floraison. Toutefois, des observations qualitatives au site d'étude ont amené à hypothétiser également que l'herbivorie

varie selon le gradient climatique étudié. Ainsi, ce mémoire est divisé en deux parties distinctes, l'une traitant de l'étude des interactions interspécifiques, soit la pollinisation et l'herbivorie et l'autre de la phénologie de la floraison.

1.1 Rôle des interactions biotiques dans la détermination de la distribution des espèces

Chaque espèce est définie par une distribution géographique unique (Pidwirny, 2016), émergeant de la correspondance entre les caractères intrinsèques à l'organisme et les facteurs extrinsèques de son environnement. Les limites de ces distributions surviennent généralement lorsque les conditions du milieu deviennent trop divergentes par rapport à celles auxquelles l'espèce peut être adaptée (Holt, 2003). Étant donné la nature dynamique de ces conditions, les distributions des espèces ne sont pas statiques (Gaston, 2003 ; Gaston, 2009 ; Sexton *et al.*, 2009 ; Pidwirny, 2014). Il en va de la température, qui avec les récentes altérations anthropiques du climat, a eu un impact considérable sur la distribution de nombreuses espèces (Walther *et al.*, 2002 ; Parmesan et Yohe, 2003 ; Parmesan, 2006 ; Chen *et al.*, 2011b). Puisqu'une augmentation supplémentaire importante de la température est prédite dans le futur, les modifications anthropiques de l'environnement ont amené au cours des dernières décennies à une urgence face à l'étude des facteurs influençant la distribution des espèces dans un but de prédiction et de conservation (Sexton *et al.*, 2009 ; Hargreaves *et al.*, 2015).

Une grande variété de facteurs abiotiques et biotiques sont considérés comme pouvant définir, ou du moins influencer la distribution des espèces (Gaston, 2003). Premièrement, la plupart des espèces semblent limitées, du moins pour une partie de leur distribution, par les facteurs abiotiques tels que les conditions climatiques et la composition du sol (Pidwirny, 2016). Les facteurs climatiques sont depuis longtemps considérés comme étant les déterminants les plus importants de la limite distributionnelle nordique et altitudinale des espèces (Vankat, 1979 ; Hampe et Petit, 2005 ; Walther *et al.*, 2005 ; Louthan *et al.*, 2015). Cette limitation provient généralement de la capacité physiologique spécifique à une espèce

à tolérer des conditions de température ou de précipitation extrêmes (Walther *et al.*, 2002 ; HilleRisLambers *et al.*, 2013). Ainsi, les facteurs abiotiques délimitent ce qui est appelé la niche fondamentale d'une espèce, décrite par l'ensemble du territoire où elle peut s'établir et survivre en tenant compte de ses tolérances physiologiques (Boulangeat *et al.*, 2012). Compte tenu de leur importance, la plupart des recherches empiriques menées jusqu'à présent sur les distributions des espèces ont concerné les facteurs abiotiques, particulièrement le climat, comparativement aux facteurs biotiques qui demeurent peu étudiés (Samis et Eckert, 2009 ; Sexton *et al.*, 2009).

Toutefois, les facteurs biotiques peuvent également limiter les distributions des espèces (Araújo et Luoto, 2007). En effet, de nombreuses espèces n'occupent pas l'ensemble du territoire déterminé par leur niche fondamentale, phénomène attribuable à l'effet des interactions biotiques ou de la limitation par la dispersion (Boulangeat *et al.*, 2012 ; Sexton *et al.*, 2015). Les interactions biotiques peuvent avoir un impact important sur le fitness individuel et la croissance des populations (Maron *et al.*, 2014). Effectivement, même si un individu est présent dans un environnement abiotique favorable à sa survie, ce dernier doit aussi être en mesure de résister aux effets négatifs des interactions antagonistes avec ses compétiteurs, prédateurs et parasites, tout en profitant des effets bénéfiques des interactions mutualistes avec les pollinisateurs, disséminateurs de graines et champignons mycorrhiziens. En raison du manque d'études empiriques concernant ces facteurs dans le contexte des limites des distributions, notre capacité à prédire la réaction des espèces aux changements climatiques est actuellement limitée par notre incompréhension quant à l'importance des facteurs biotiques dans la limitation de la distribution des espèces, ainsi que les contextes influençant cette importance.

La compétition interspécifique est considérée comme le facteur biotique le plus important dans la limitation des distributions des espèces et a fait l'objet de la majorité des études théoriques et empiriques (Sexton *et al.*, 2009). Toutefois, les autres interactions biotiques peuvent aussi potentiellement limiter les distributions des espèces. Par exemple, la présence

d'un prédateur ou l'absence d'un mutualiste sur une partie de la distribution peut y limiter la survie des populations (Peterson *et al.*, 2011).

1.2 Potentiel de la limitation pollinique à limiter la distribution des espèces.

Bien que parmi les facteurs biotiques, la compétition soit depuis longtemps considérée comme pouvant théoriquement affecter les limites de distribution des espèces (Case et Taper, 2000 ; Case *et al.*, 2005 ; Holt et Barfield, 2009 ; Moeller *et al.*, 2012), chez les plantes à fleurs, en raison de leur forte dépendance envers leurs mutualistes, les interactions mutualistes peuvent également être de grande importance (Hargreaves *et al.*, 2015). En particulier, puisqu'elles sont sessiles, la plupart des plantes à fleurs dépendent de leurs pollinisateurs pour assurer leur reproduction (Ollerton *et al.*, 2011). Si la pollinisation n'est pas suffisamment efficace, la quantité de graines produites peut être diminuée, réduisant conséquemment le succès reproducteur, phénomène appelé limitation pollinique (Ashman *et al.*, 2004 ; Knight *et al.*, 2005 ; Maron *et al.*, 2014). Burd (1994) a démontré que 62% des espèces étudiées souffraient, à certains moments ou localisations, de limitation pollinique, suggérant que ce phénomène est fréquent. Puisque la limitation pollinique diminue la quantité de graines produites, elle peut réduire la taille des populations si le recrutement d'individus dans la population est limité par la quantité de graines (Ashman *et al.*, 2004 ; Knight *et al.*, 2005). Ultiment, la limitation pollinique présente de façon chronique peut entraîner l'extinction de populations ou l'évolution vers une stratégie reproductive qui en diminue l'importance, telle que l'autocompatibilité, ou l'augmentation de l'attractivité pour les pollinisateurs (Ashman *et al.*, 2004). Les populations en croissance démographique rapide sont particulièrement sensibles à la limitation pollinique puisque la quantité de graines produites a généralement un impact important sur leur taux d'accroissement démographique (Ashman *et al.*, 2004).

La limitation pollinique peut survenir d'une limitation quantitative ou qualitative. Premièrement, la quantité de grains de pollen déposés sur le stigma peut être insuffisante en

raison d'une trop faible quantité de pollinisateurs, ou de pollinisateurs peu efficaces (Ashman *et al.*, 2004). Ensuite, un manque de partenaires sexuels potentiels ou un transport de pollen sur de courtes distances peut augmenter les transferts de pollen entre individus apparentés, apportant du pollen de mauvaise qualité, ce qui empêche le développement des graines par consanguinité (Aizen et Harder, 2007).

De nombreux facteurs biotiques et abiotiques, lesquels varient le long de gradients climatiques ont été démontrés comme affectant l'intensité de la limitation pollinique, suggérant une augmentation potentielle de ce processus aux limites de distribution (Maron *et al.*, 2014). En premier lieu, dû à une diminution de la qualité de l'environnement, les populations à proximité des limites de distribution sont généralement de plus petite taille et densité comparativement aux populations centrales (Kawecki, 2008 ; Hardie et Hutchings, 2010). Néanmoins, la taille et la densité des populations ont été démontrées comme affectant l'efficacité de la pollinisation, les populations moins grandes et moins denses attirant généralement moins de pollinisateurs (Karron *et al.*, 1995 ; Dafni *et al.*, 1997 ; Pettersson et Sjodin, 2000 ; Grindeland *et al.*, 2005 ; Brys *et al.*, 2007 ; Elliott et Irwin, 2009). Une plus faible taille populationnelle peut aussi réduire la disponibilité de reproducteurs potentiels et augmenter la consanguinité (Pflugshaupt *et al.*, 2002 ; Sun et Cheptou, 2012). Ensuite, puisque le climat peut limiter la présence des pollinisateurs, la quantité de pollinisateurs peut elle aussi diminuer selon le même gradient qui limite la distribution des plantes, réduisant conséquemment la quantité de visites par les pollinisateurs (Moeller *et al.*, 2012 ; HilleRisLambers *et al.*, 2013).

1.3 Potentiel de l'herbivorie à limiter la distribution des espèces.

Contrairement à la pollinisation, qui affecte seulement la reproduction, l'herbivorie peut affecter tous les stades de vie d'une plante et par conséquent, peut avoir des impacts variés. Par exemple, la consommation de feuilles et autres tissus végétaux réduit généralement la croissance, la taille et le succès reproducteur des plantes, alors que la consommation des

fleurs, graines et jeunes pousses limite l'apport en nouveaux individus dans une population (Crawley, 2009). Plusieurs études ont également démontré que l'herbivorie peut avoir un effet défavorable sur la croissance des populations (Knight, 2003 ; Knight, 2004 ; Knight *et al.*, 2009). Ainsi, une intensité d'herbivorie trop élevée peut empêcher le maintien d'une stabilité démographique et provoquer l'extinction locale de populations.

L'intensité de l'herbivorie et de ses impacts varie dans l'espace. Des variations ont été observées le long de gradients altitudinaux, de luminosité et de perturbation (Maron et Crone, 2006). De plus, la densité en individus peut affecter l'intensité de l'herbivorie de diverses façons. Par exemple, une plus faible densité en individus pour une espèce de plante spécifique ou une communauté végétale peut diminuer l'attractivité pour les herbivores (Root, 1973). Plusieurs modèles et hypothèses suggèrent également un potentiel bénéfique ou défavorable d'une faible densité en individus quant à l'intensité de l'herbivorie (Janzen, 1970 ; Connell, 1971 ; Otway *et al.*, 2005), alors que certaines études ont observé une augmentation (Fagan *et al.*, 2005 ; Gunton et Kunin, 2007) ou une diminution (Edwards, 1985 ; Kéry *et al.*, 2001) de l'herbivorie avec une diminution de la densité en individus.

1.4 Flux génique dans un contexte de changements climatiques

Étant elles-mêmes affectées par les changements climatiques, les interactions biotiques et la phénologie, par leurs changements, risquent de modifier de façon considérable la capacité des espèces à se déplacer et s'adapter dans le futur. Par exemple, les altérations des interactions biotiques risquent de modifier la capacité des espèces à déplacer leurs distributions (Gilman *et al.*, 2010 ; HilleRisLambers *et al.*, 2013). Aussi, les interactions mutualistes et la phénologie de la floraison influencent certains processus agissant sur l'adaptation des espèces tels que le flux génique. Puisque la capacité des espèces à résister aux changements climatiques dépendra de leur capacité à déplacer leurs distributions et s'adapter dans une période restreinte (Jump et Penuelas, 2005), les processus agissant sur la

migration et l'adaptation des espèces et l'impact des changements climatiques sur ces derniers sont le sujet de préoccupations croissantes.

Par exemple, le flux génique a récemment été grandement étudié, allant jusqu'à être provoqué artificiellement afin d'améliorer la viabilité de certaines populations (Aitken et Whitlock, 2013). Cette attention provient de l'importance du flux génique dans la propagation d'adaptations locales vers l'ensemble de la distribution d'une espèce (Slatkin, 1985 ; Slatkin, 1987 ; Morjan et Rieseberg, 2004 ; Aitken et Whitlock, 2013) et l'augmentation de la diversité génétique des populations de faible démographie (Ellstrand, 1992 ; Kremer *et al.*, 2012 ; Ellstrand, 2014). Puisque les populations aux limites de distribution possèdent généralement une faible diversité génétique (Eckert *et al.*, 2008), le flux génique est considéré comme pouvant apporter la diversité génétique nécessaire afin de permettre leur adaptation aux changements climatiques (Kremer *et al.*, 2012 ; Aguilée *et al.*, 2016). De plus, des allèles facilitant la résistance aux changements climatiques tels que la résistance aux températures élevées peuvent être propagés de cette manière (Aitken et Whitlock, 2013). Toutefois, les allèles apportés peuvent également être défavorables à la persistance des populations en interférant avec l'adaptation aux conditions locales (Lenormand, 2002 ; Garant *et al.*, 2007).

Chez les plantes, le flux génique peut être produit par la dispersion de graines ou le transport de pollen. Le flux génique interpopulationnel dépend de la distance séparant les populations. La dispersion de pollen et de graines assume une distribution leptokurtique avec la majorité des échanges produite sur de très courtes distances, alors que les transports sur de longues distances sont rares (Levin, 1981). De plus, d'autres facteurs comme les interactions mutualistes et la phénologie reproductive peuvent également influencer la quantité de flux génique. Par exemple, le flux génique interpopulationnel dépend de l'efficacité des pollinisateurs à transporter le pollen (Schmitt, 1980 ; Levin, 1981). Ensuite, une différence temporelle entre les périodes de floraison de populations soumises à des conditions environnementales différentes restreint le flux génique entre celles-ci (Rathcke et Lacey,

1985 ; Fox, 2003 ; Heard *et al.*, 2012). Plusieurs études empiriques ont effectivement démontré un effet de l'isolement temporel sur le flux génique (Stanton *et al.*, 1997 ; Gerber *et al.*, 2004 ; Hirao et Kudo, 2008 ; Matter *et al.*, 2013 ; Ison *et al.*, 2014). Puisque les plantes utilisent des facteurs environnementaux, en particulier la température, afin de déterminer la période adéquate pour leurs événements biologiques (Menzel, 2000 ; Elzinga *et al.*, 2007 ; Inouye, 2008 ; Heard *et al.*, 2012), la floraison est généralement plus hâtive dans les environnements plus chauds de basses latitudes et altitudes (Ziello *et al.*, 2009 ; Toftegaard *et al.*, 2015), ce qui peut restreindre le flux génique le long de gradients climatiques.

Dans les dernières années, la possibilité que la quantité de flux génique soit altérée dans le futur a été évoquée à plusieurs reprises (Fox, 2003 ; Heard *et al.*, 2012 ; Matter *et al.*, 2013 ; Bjorkman *et al.*, 2015). Cela est dû au fait que la phénologie reproductive est affectée par les changements climatiques. En effet, selon une méta-analyse de Parmesan et Yohe (2003), 70% des espèces de plantes étudiées ont subi un avancement de leur phénologie au cours des dernières décennies. Récemment, quelques études ont fait part d'une variabilité le long de gradients climatiques dans la sensibilité de la phénologie des plantes au réchauffement climatique (Menzel *et al.*, 2006 ; Bjorkman *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2015 ; Prevéy *et al.*, 2017). Une telle variabilité peut potentiellement affecter le chevauchement de la floraison de populations distinctes et par conséquent, réduire ou augmenter la quantité de flux génique (Franks et Weis, 2009 ; Heard *et al.*, 2012).

Par contre, les études menées jusqu'à présent ne permettent pas de vérifier une telle possibilité puisqu'elles sont basées sur la date de première floraison d'une population (date à laquelle la première fleur est observée dans un espace donné). En effet, décrire la phénologie à partir d'une observation temporelle unique ne permet pas de faire d'assomption rigoureuse quant à l'ensemble de la période de floraison. Cela est dû au fait que différentes composantes de la période de floraison peuvent ne pas réagir de façon identique face aux variations de l'environnement. Par exemple, CaraDonna *et al.* (2014) ont démontré une faible corrélation entre la première date de floraison, le pic de floraison et la dernière date de floraison quant à

leurs changements interannuels. Ainsi, vérifier comment le chevauchement de la floraison réagit aux changements climatiques nécessite de connaître l'ensemble de la distribution de la floraison. Jusqu'à présent, aucune étude n'a vérifié l'effet des changements climatiques sur le chevauchement de la floraison entre différentes populations (Matter *et al.*, 2013).

1.5 Études le long de gradients altitudinaux au Mont-Mégantic

L'utilisation de gradients climatiques permet de comprendre comment les processus biologiques tels que les interactions biotiques et la phénologie varient dans l'espace et sont affectés par les facteurs abiotiques comme la température. Des changements de température observables à l'échelle de centaines de kilomètres le long de gradients latitudinaux peuvent être observés sur des gradients altitudinaux de moins d'un kilomètre (Körner, 2003). Par conséquent, les gradients altitudinaux constituent un outil de grande utilité en écologie. Dans le cadre des prochains chapitres, j'utiliserai le gradient altitudinal du parc national du Mont-Mégantic comme gradient climatique putatif. Ce dernier consiste en une aire protégée située au sud du Québec, possédant un gradient altitudinal d'environ 600 m, passant d'une forêt tempérée de feuillus à basse élévation à une forêt boréale à haute élévation (Lajoie et Vellend, 2015 ; Savage et Vellend, 2015).

Quelques études ont permis la quantification d'interactions biotiques et d'évènements phénologiques le long du gradient altitudinal du parc national du Mont-Mégantic. L'intensité de l'herbivorie de graines et de semis a été quantifiée selon l'altitude chez l'érable à sucre (*Acer saccharum*). Brown et Vellend (2014) ont démontré que chez cette espèce, la proportion de graines consommées augmente considérablement au-delà de la limite de distribution de l'espèce. Comparativement, Urli *et al.* (2016) ont observé une diminution de l'herbivorie des semis par les insectes à la limite de distribution et au-delà comparativement à l'intérieur de la distribution. La phénologie de la floraison a également été mesurée pour plusieurs espèces de plantes de sous-étage selon le même gradient par Lajoie et Vellend (2015). Cette étude a démontré que, en accord avec la tendance généralement observée, la

phénologie est plus hâtive à basse élévation comparativement à haute élévation, bien que certaines espèces présentent une réponse phénologique très faible à l'élévation (Lajoie et Vellend, 2015).

1.6 Objectifs et hypothèses du projet de recherche

Concernant le deuxième chapitre de ce mémoire, l'objectif consiste à vérifier, pour deux plantes de sous-étage : *Erythronium americanum* et *Trillium erectum*, si les interactions biotiques, plus précisément la pollinisation et l'herbivorie varient selon un gradient altitudinal, ce qui pourrait contribuer à limiter leurs distributions altitudinales. Afin de répondre à cette question, le succès reproducteur, la limitation pollinique et le taux d'herbivorie ont été comparés entre trois niveaux d'altitude, dont l'altitude la plus élevée correspond à la limite de distribution, le long d'un flanc de montagne situé au parc national du Mont-Mégantic. Dans ce chapitre, les hypothèses suivantes ont été testées :

- i) Le succès reproducteur diminue selon le gradient de proximité à la limite de distribution altitudinale.
- ii) La limitation pollinique augmente selon le même gradient
- iii) Le taux d'herbivorie varie en fonction de la proximité à la limite de distribution

Un projet de suivi à long terme de la phénologie de la floraison le long du gradient altitudinal du Mont-Mégantic a débuté en 2013 afin de tester la présence d'un lien entre les changements climatiques et le potentiel de flux génique. Dans le troisième chapitre de ce mémoire, j'utilise les 4 années de données disponibles afin de vérifier de façon préliminaire 1) si la date d'initiation de la saison phénologique affecte le potentiel de flux génique interpopulationnel et 2) si la mesure phénologique utilisée affecte les conclusions de

l'analyse. Je compare la mesure du pic de floraison à une mesure du potentiel de flux génique qui tient compte de l'ensemble de la distribution phénologique. Pour ce faire, j'ai mesuré le temps séparant les pics de floraison de différentes populations réparties sur le gradient altitudinal du Mont-Mégantic, ainsi que le potentiel de flux génique entre ces populations. Actuellement, les études phénologiques à long terme sont basées sur des estimations de la phénologie des populations qui ne tiennent pas compte de l'ensemble de la distribution de la floraison telles que la première date de floraison ou le pic de floraison. Ainsi, ce chapitre aide à déterminer si de telles études sont fiables afin de prédire comment le flux génique sera affecté par les changements climatiques. Dans ce chapitre, je présente également une nouvelle méthode d'estimation du potentiel de flux génique basée sur les processus. Cette mesure a été comparée à celle du chevauchement entre deux distributions de floraison, qui est actuellement une méthode régulièrement utilisée pour estimer le potentiel de flux génique, mais qui ne tient pas compte de l'ensemble des paramètres déterminant le potentiel de flux génique.

CHAPITRE 2

HERBIVORY AND POLLEN LIMITATION AT THE UPPER ELEVATIONAL RANGE LIMIT OF TWO FOREST UNDERSTORY PLANTS OF EASTERN NORTH AMERICA

Par

Sébastien Rivest et Mark Vellend

2.1. Mise en contexte et contribution des auteurs

Dans cette étude, nous vérifions si la limitation pollinique et l'herbivorie augmentent aux limites de distribution altitudinales pour deux plantes de sous-étage. Comparativement aux facteurs abiotiques, peu d'études ont examiné le potentiel des facteurs biotiques à limiter les distributions des espèces. Par conséquent, notre capacité à prédire comment les espèces vont déplacer leurs distributions en réponse aux changements climatiques est limitée par le manque de connaissances empiriques quant à l'impact des facteurs biotiques sur les distributions des espèces. Cette étude apporte une meilleure compréhension de cet impact sur les limites de distribution altitudinales, typiquement considérées comme étant limitées par les conditions climatiques.

Ma contribution à cet article est majeure, j'ai participé à l'élaboration du projet et à la conception des méthodes d'échantillonnage conjointement avec mon superviseur, Mark Vellend. J'ai organisé et effectué la collecte des données à l'aide de plusieurs assistants de terrain. J'ai également produit les analyses statistiques et le brouillon de ce manuscrit, auquel Mark Vellend a apporté des modifications. Jessica Forrest a également offert des suggestions

qui m'ont permis d'apporter des modifications au manuscrit. Cet article a été soumis à la revue *Ecology and Evolution* le 10 avril 2017.

2.2 Abstract

Studies of species' range limits focus most often on abiotic factors, although the strength of biotic interactions might also vary along environmental gradients and have strong demographic effects. For example, pollinator abundance might decrease at range limits due to harsh environmental conditions, and reduced plant density can reduce attractiveness to pollinators and increase or decrease herbivory. We tested for variation in the strength of pollen limitation and herbivory by ungulates along a gradient leading to the upper elevational range limits of *Trillium erectum* (Melanthiaceae) and *Erythronium americanum* (Liliaceae) in Mont-Mégantic National Park, Québec, Canada. In *T. erectum*, pollen limitation was higher at the range limit, but seed set decreased only slightly with elevation and only in one of two years. In contrast, herbivory of *T. erectum* increased from <10% at low elevations to >60% at the upper elevational range limit. In *E. americanum*, we found no evidence of pollen limitation despite a significant decrease in seed set with elevation, and herbivory was low across the entire gradient. Overall, our results demonstrate the potential for relatively strong negative interactions (herbivory) and weak positive interactions (pollination) at plant range edges, although this was clearly species-specific. To the extent that these interactions have important demographic consequences – highly likely for herbivory on *Trillium*, based on previous studies – such interactions might play a role in determining plant species' range limits along putatively climatic gradients.

2.3 Introduction

Understanding the factors limiting species distributions is a goal of increasing importance in ecology, as anthropogenic climate change is expected to induce widespread range shifts (Parmesan, 2006). Abiotic factors, particularly climate, have been extensively studied in this

context (Sexton et al., 2009). However, although theory suggests that biotic factors can also contribute to determining range limits (Hochberg and Ives, 1999; Case and Taper, 2000; Holt and Barfield, 2009), few empirical studies have addressed this possibility (Sexton et al., 2009).

Plants are influenced by other species both negatively, via antagonistic interactions with competitors, herbivores, or pathogens, and positively, via mutualistic interactions with pollinators, seed dispersers, or mycorrhizal fungi. Plant-animal interactions such as pollination and herbivory have been repeatedly demonstrated to affect individual plant fitness and population growth (Maron et al., 2014), but rarely in the context of range limits. Herbivores can have strong negative effects on plant growth, reproduction and sometimes survival (Maron and Crone, 2006). A majority of flowering plants rely on animal pollination vectors for reproduction (Ollerton et al., 2011) and insufficient pollen quantity or quality can reduce seed production and therefore the fitness of individual plants, a phenomenon known as pollen limitation (Ashman et al., 2004; Knight et al., 2005; Maron et al., 2014). Pollen limitation appears to be quite common: based on an analysis of 482 studies, Knight et al. (2005) demonstrated that 63 % of studied plant species suffered pollen limitation at certain times or localities. If population growth is sensitive to seed production, pollen limitation can negatively affect population growth rate, potentially leading to local extinction (Ashman et al., 2004). Some studies have found a negative impact of pollen limitation on population growth rate, although there are few such studies (Parker, 1997; Kelly et al., 2007; Price et al., 2008). A key first step in determining whether pollination limitation or herbivory can contribute to defining species' range limits by preventing positive population growth is to ask whether their strength increases as one approaches the range limit.

Plant-animal interactions are affected by environmental context, such that we might expect the strength of interactions to vary along environmental gradients (Totland, 2001; Hillyer and Silman, 2010; Louthan et al., 2015; Straka and Starzomski, 2015). For example, pollinator abundance and activity can be limited by the same stressful abiotic conditions that

limit plant populations, such as cold, drought or nutrient scarcity. Thus, pollinator visitation may be reduced at range edges determined by abiotic stress (Moeller et al., 2012; HilleRisLambers et al., 2013). Reduced pollination might also occur via an indirect effect of the abiotic environment. If reduced environmental quality near the range edge reduces plant population size and density (Kawecki, 2008; Hardie and Hutchings, 2010), pollinators might be less attracted to forage in such plant populations (Karron et al., 1995; Dafni et al., 1997; Pettersson and Sjodin, 2000; Grindeland et al., 2005). In either case, if population growth is sensitive to seed set, exacerbated pollen limitation might contribute to defining a plant species' range limit (Ashman et al., 2004). Of the few empirical studies conducted on this question to date, two found an increase in pollen limitation along aridity gradients (Chalcoff et al., 2012; Moeller et al., 2012), one found an increase along an elevational gradient (Theobald et al., 2016), and three studies found no geographical trend (Busch, 2005; Stone and Jenkins, 2008; Hargreaves et al., 2015).

Low plant density might also result in either decreased (Fagan et al., 2005; Gunton and Kunin, 2007) or increased herbivory (Edwards, 1985; Kéry et al., 2001). The Janzen-Connell hypothesis predicts that plants in low-density patches benefit from release from enemy pressure (Janzen, 1970; Connell, 1971), while Root (1973) proposed that plants in denser or bigger patches might be more attractive to herbivores. Other models predict the opposite: a resource dilution effect at high densities, leading to greater herbivory per plant in smaller or less-dense patches of plants (Otway et al., 2005). Many studies have also reported spatial variation in the magnitude of herbivory along gradients of elevation, sunlight and disturbance (Maron and Crone, 2006). Among the few studies conducted to date on range limits specifically, some have found increases (Galen, 1990; Bruelheide and Scheidel, 1999) while others have found decreases (Alexander et al., 2007; Urli et al., 2016) in herbivory towards plant species' range limits.

New studies are clearly needed to permit generalizations and analyses of the contexts under which the strength of plant-animal interactions might vary along gradients leading up to

species' range limits. Here we present observational and experimental data examining pollen limitation and herbivory on an elevational gradient in southern Québec, Canada, extending to the upper range limits of our two focal forest understory plants, *Erythronium americanum* Ker Gawl. (Liliaceae) and *Trillium erectum* L. (Melanthiaceae). First, we measured reproductive success in plants of both species along the elevational gradient, either with experimental pollen supplementation or not, to test the predictions that (1) plant reproductive success is lower and (2) pollen limitation is stronger at the upper elevational range limit than in populations at lower elevations. Second, by monitoring individual plants of both species, we tested whether herbivore damage by ungulates (white-tailed deer: *Odocoileus virginianus* and/or moose: *Alces alces*) varied along the elevational gradient.

2.4 Material and methods

Study species and site

Erythronium americanum (Liliaceae) and *Trillium erectum* (Melanthiaceae) are perennial herbs native to the understory of the deciduous forests of Eastern North America. Sexually reproductive individuals of *E. americanum* consist of a corm producing two basal leaves and a single nodding flower. For *T. erectum*, they are composed of one or occasionally 2-3 stems bearing a whorl of three leaves and a terminal flower originating from a tuber-like rhizome. Individuals of both species flower early in the spring, producing one flower per stalk. Therefore, the number of seeds per fruit generally corresponds to the number of seeds per plant in a given year. *E. americanum* flowers are pollinated primarily by Hymenoptera and Coleoptera (Bernhardt, 1977), while those of *T. erectum* produce a fetid odour that principally attracts dipterans (Irwin, 2000). The two species are considered partially self-incompatible (Harder et al. 1985, Irwin 2000, Sage et al. 2001), based on an observed seed set reduction for self-pollinated vs. open pollinated plants of 75% for *E. americanum* (Harder et al., 1985) and 95% for *T. erectum* (Sage et al. 2001). However, for *T. erectum*, the study

by Sage et al. (2001) also reported an outcrossing rate of only 53%, while another study found a selfing rate of 43% (Broyles et al., 1997).

Population growth of long-lived perennials such as *E. americanum* and *T. erectum* is generally most sensitive to demographic transitions involving survival or growth of adults (Franco and Silvertown, 2004). For *T. grandiflorum*, a relative of *T. erectum* with near identical life history, herbivory by ungulates, involving removal of all leaf and reproductive tissue, has a strong impact on population growth by increasing the probability of regressing in size over time and decreasing the probability of future flowering (Knight, 2004).

Data were collected during the summers of 2015 and 2016 at Mont-Mégantic National Park, located in southern Québec, Canada (45°26'51''N, 71°06'52''W), on the northern edge of the Appalachian mountain range. This protected area covers 55 km², with an elevational gradient extending from ~500 m a.s.l. to 1105 m. Both focal species are abundant at lower elevations, becoming less frequent at higher elevations, with few individuals found >860 m (occasional plants can be found up to ~920 m) (Appendix S1, see Supplemental Data with the online version of this article). The vegetation varies from temperate deciduous forest, dominated by sugar maple, at low elevations (below ~860 m) to boreal forest, dominated by balsam fir (*Abies balsamea*) and red spruce (*Picea rubens*), at higher elevations (Lajoie and Vellend, 2015; Savage and Vellend, 2015). Along the gradient, mean annual temperature shifts from 3.6°C to 0.4°C, reducing the length of the growing season from approximately 100 to 80 days (Parc National du Mont-Mégantic, 2016).

We established two elevational transects on the east-facing slope of Mont-Saint-Joseph, on the eastern edge of the park. Transects were separated by approximately 1 km, each consisting of one site each at low (700 m elevation), mid (800 m), and high elevations (860 m, near the range limit) (Appendix S2). The three sites were located in deciduous, mixed, and boreal forest respectively. Given the low abundance of *E. americanum* and *T. erectum* at high elevation, high elevation sites had to be larger (~100 x 40 m) than those at mid and low

elevation (80 x 20 m) to obtain a sufficient sample size. Low elevation sites do not represent the lower elevational range limits; both species are found at lower elevations, beyond the plateau (400-500 m elevation) that surrounds the park, but abundance of both species is as high at the low-elevation sites at Mont-Mégantic as it is anywhere else in the broader region.

Reproduction along the elevational gradient

To quantify natural patterns of seed set in 2015, we harvested 29-34 ripe fruits per site, per species. In 2016, we used fruits collected from the control plants in the pollen limitation experiment (see below). In 2015, at low and mid elevations, we randomly selected subplots of 2 x 2m in which fruits were collected from all sexually reproductive plants; subplots were added until a total of ~30 fruits had been collected. At high elevation, the entire site was searched, and fruits were collected until a sample of ~30 had been reached. For each individual, leaf lengths and widths were measured to provide an estimate of plant size (leaf area), for use as a covariate in statistical analyses. For *E. americanum* these measurements were taken on the two leaves, which typically differ in size. For *T. erectum*, leaf size is strongly correlated across leaves within a plant ($r = 0.99$), so measurements were taken on only one haphazardly selected leaf per plant. For each fruit we counted the number of fully developed seeds and aborted ovules under a bifocal microscope. Fruits that never developed were recorded as having zero seeds and zero ovules.

Pollen limitation experiment

In 2016, we performed a pollen supplementation experiment to test whether seed set was limited by access to outcross pollen and if the magnitude of pollen limitation was greatest at the range limit. For each species at each site, between 75 and 92 plants were selected in a stratified random way (see below) before flower opening. Plant damage (largely due to herbivory) reduced final sample sizes per site to 30-90 (mean = 58) for *T. erectum* and 62-87 (mean = 75) for *E. americanum*. Pairs of plants were identified based on physical proximity

as well as similarity in size and phenology. In each pair, each individual was randomly assigned to the open pollination or pollen supplementation treatments. At low and mid elevation sites, plant pairs were evenly distributed across randomly selected subplots of 5 x 5m with a maximum of 10 individuals (5 pairs) per subplot. Given the low density of flowering individuals at high elevation sites, all plants in these sites were included in the experiment, with subplots defined as an area of approximately 5 x 5m containing at least one individual. Plants in the pollen supplementation group were manually pollinated once, using paintbrushes, soon after the onset of stigma receptivity. Pollen was applied to the stigma until completely covered. On a given day, we collected recently dehisced anthers from at least five donor plants located at least 20 m outside the plots, and used the mixed pollen for the supplementation treatment. We measured leaf length and width on each plant as in 2015, and harvested all fruits when mature for counting seeds and aborted ovules.

Herbivory across the elevational gradient

In 2015, we qualitatively observed an increase in deer or moose herbivory (both species are present at the site) with elevation for *T. erectum*. Ungulates remove all leaf and reproductive tissue in *Trillium*, leaving behind a straight cut on the remaining stem as evidence of herbivory (Knight, 2004), while for *Erythronium* ungulate herbivory is identified by a cut on the flower stalk and the loss of the upper part of each leaf. In 2016, we quantified the presence or absence of ungulate herbivory on each plant of both species in the pollen experiment by monitoring plants every 2-3 days during the flowering period and every week during fruit development (following Knight, 2004). We also monitored evidence of insect damage on plants, but the proportion of plants affected was negligible (< 4% at all elevations); these data were not included in our analyses.

Statistical analyses

For both species, we calculated an index of leaf area from their leaf length and width (Appendix S3), for use as a covariate in the following analyses. To analyse natural variation in the number of seeds per fruit (absolute seed set) and seeds per ovule (relative seed set, number of seeds divided by number of ovules) along the elevational gradient, we used generalized linear mixed models (GLMMs) with subplot as a random effect. Elevation was treated as a categorical variable (low, mid, high) in all analyses. Separate analyses were conducted for each species and year. Seeds per fruit models assumed a negative binomial distribution of residuals, given the high dispersion parameter values in each model; models for seeds per ovule assumed a binomial distribution. Transects were modeled as a fixed effect, given the low number of categories (2). We used leaf area as a covariate for *T. erectum*, but not for *E. americanum*, given a large number of missing values in 2015 (leaves had often withered before fruit collection). We also tested for variation in leaf area across elevations, using plants observed in both 2015 and 2016 in general linear mixed models including subplot as random effect and transect as a fixed effect. When there was a significant effect of elevation ($P < 0.05$), we tested for pairwise differences among elevations using Tukey post hoc tests.

We used GLMMs to analyse, for both species independently, the effect of pollen supplementation and its interaction with elevation on seeds per fruit, assuming a negative binomial distribution. For seeds per ovule, we assumed a binomial distribution. We used pairs nested within subplots as random effects, the leaf area estimate as a covariate, and transect as a fixed effect.

To test if herbivory varied with elevation, we used GLMMs with a Bernoulli distribution, pairs nested in subplots as random effects, and transects as a fixed effect. For *E. americanum*, complete separation of the data, owing to the absence of herbivory at high elevation sites, required the addition of informative priors to the fixed-effects (a prior variance of 9 for each fixed effect parameter) (Abrahamtes and Aerts, 2012). When there was

a significant effect of elevation ($P < 0.05$), we tested for differences among elevations using Tukey post hoc tests.

Analyses were conducted in R version 3.1.3 (R Development Core Team, 2015). We used the lme4 package for fitting mixed effects models (Bates et al., 2015), the MASS package for negative binomial models (Venables and Ripley, 2002), the blme package for mixed effects models with informative priors of the fixed-effect parameters (Chung et al., 2013) and the lsmean package for post hoc tests (Lenth, 2016).

2.5 Results

Natural patterns of seed set

Elevational patterns in reproductive success differed between species and years (Fig. 1). In general, *Erythronium americanum* reproductive success was lower at higher elevations. In 2015, both the number of seeds per fruit (absolute seed set) and the number of seeds per ovule (relative seed set) were lower at high and mid elevations compared to low elevations (Fig. 1a, b; Table 1). In 2016, there was a significant effect of elevation on seeds per fruit only, although the qualitative trend was for seeds per ovule to be lowest at the highest elevation (Fig. 1f; Table 1). For *Trillium erectum*, there was no effect of elevation on seeds per fruit or seeds per ovule in 2015, but in 2016 high elevation plants showed significantly lower seeds per ovule than lower elevations plants (Fig. 1h; Table 1). For both species, leaf area was a strong predictor of seeds per fruit (larger plants producing more seeds; for all tests: $P \leq 0.0007$, Tables 1,2), but not of seeds per ovule (for all tests: $P > 0.05$, Tables 1,2). Average plant size varied significantly among elevations for *E. americanum* in both years and for *T. erectum* in 2016, but in two of these three cases (both species in 2016), the largest plants were actually found at the highest elevation (Appendix S4).

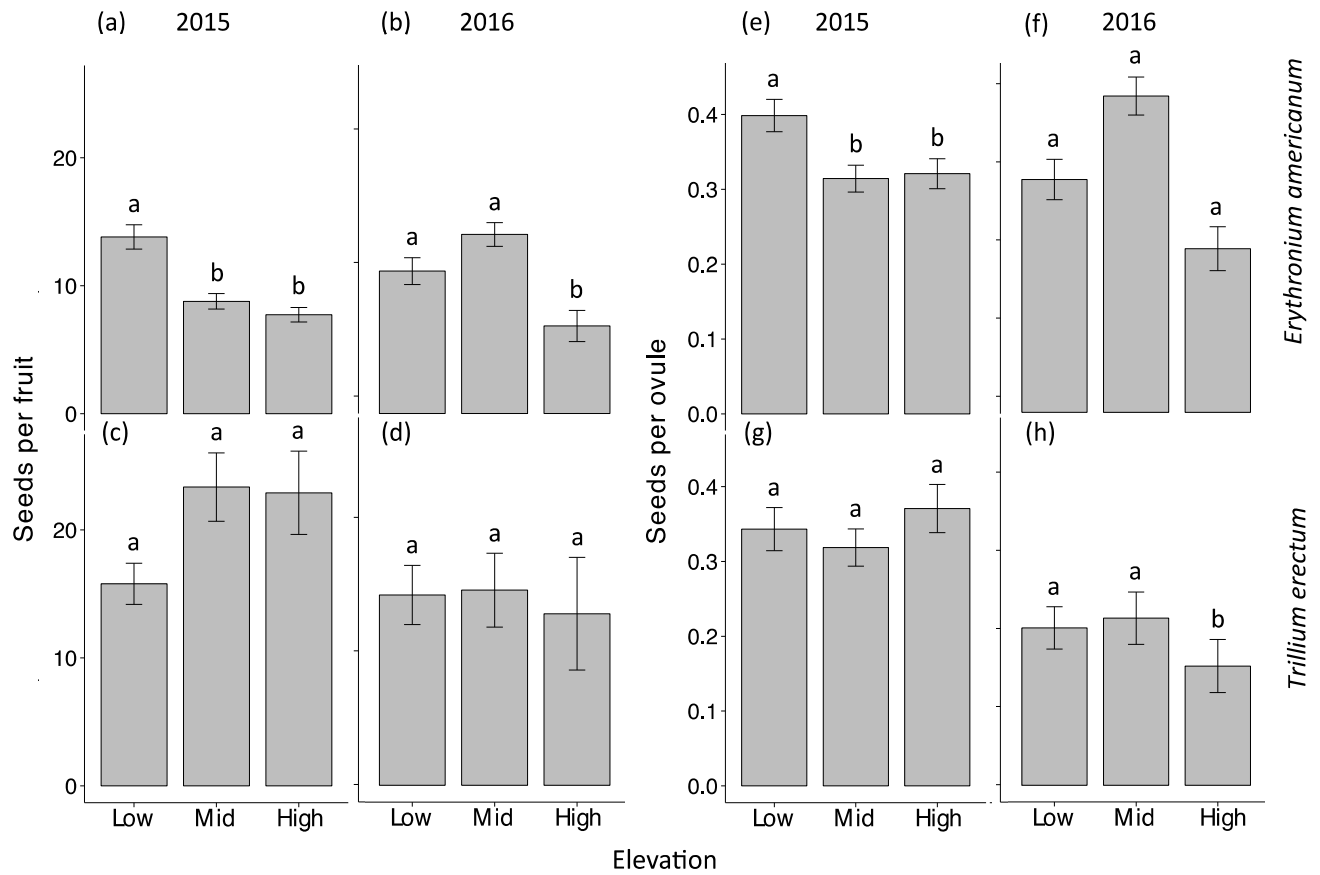


FIGURE 1. Elevational variation in seeds per fruit (absolute seed set, a-d) and seeds per ovule (relative seed set, e-h) for *Erythronium americanum* (a, b, e, f) and *Trillium erectum* (c, d, g, h) in 2015 (a, c, e, g) and 2016 (b, d, f, h). Different letters above bars within a single panel indicate significant differences ($\alpha = 0.05$, Tukey post-hoc tests). Graphs show means and standard errors on raw data.

TABLE 1. Generalized linear mixed model results for the effects of elevation on seeds per fruit (absolute seed set, assuming negative binomial distributions) and seeds per ovule (relative seed set, assuming binomial distributions) for *Erythronium americanum* and *Trillium erectum* in 2015 and 2016.

Model (residual df)	Effect ¹	Estimate	Standard error	t	P	
Seeds per fruit,						
<i>E. americanum</i> 2015 (185)	Intercept	2.62	0.10	26.21	< 0.0001	
	Elevation	Mid	-0.45	0.12	-3.68	< 0.0001
		High	-0.58	0.13	-4.53	< 0.0001
<i>E. americanum</i> 2016 (233)	Transect	0.022	0.10	0.22	0.83	
	Intercept		2.32	0.13	18.06	< 0.0001
		Elevation	Mid	0.21	0.16	1.31
	High		-0.56	0.17	-3.28	0.001
<i>T. erectum</i> 2015 (172)	Transect	0.002	0.14	0.014	0.99	
	Intercept		2.63	0.13	19.78	< 0.0001
		Elevation	Mid	0.23	0.16	1.48
	High		0.27	0.18	1.50	0.13
<i>T. erectum</i> 2016 (168)	Leaf area	0.38	0.0081	46.66	< 0.0001	
	Transect	0.034	0.14	0.24	0.81	
	Intercept		0.77	0.46	1.67	0.094
		Elevation	Mid	-0.79	0.53	-1.47
	High		-1.08	0.58	-1.84	0.065
	Leaf area	0.86	0.055	15.76	< 0.0001	
	Transect	2.15	0.48	4.4	< 0.0001	
Seeds per ovule,						
<i>E. americanum</i> 2015 (186)	Intercept	-0.93	0.064	-14.42	< 0.0001	
	Elevation	Mid	-0.26	0.081	-3.15	0.0016
		High	-0.25	0.09	-2.75	0.0061
<i>E. americanum</i> 2016 (234)	Transect	0.086	0.07	1.22	0.22	
	Intercept		-0.86	0.07	-11.73	< 0.0001
		Elevation	Mid	0.11	0.09	1.18
	High		-0.10	0.10	-0.98	0.33
<i>T. erectum</i> 2015 (173)	Transect	0.044	0.081	0.542	0.59	
	Intercept		-1.19	0.16	-7.58	< 0.0001
		Elevation	Mid	0.025	0.16	0.16
	High		-0.015	0.19	-0.08	-0.94
<i>T. erectum</i> 2016 (169)	Leaf area	-0.014	0.029	-0.49	0.62	
	Transect	-0.056	0.14	-0.41	0.68	
	Intercept		-0.78	0.13	-6.04	< 0.0001
		Elevation	Mid	-0.20	0.15	-1.33
	High		-0.66	0.17	-3.81	0.0001
	Leaf area	0.058	0.034	1.68	0.093	
	Transect	0.060	0.14	0.44	0.66	

Note: ¹For elevation, differences are shown for mid and high elevation compared to low elevation.

Pollen limitation

Patterns of pollen limitation were different between the two species. Overall, seed set in *E. americanum* was not pollen limited, regardless of elevation (Fig. 2a, b; Table 2). In *T. erectum*, there was no significant pollen limitation overall, but there was a significant elevation \times treatment interaction for both seeds per fruit and seeds per ovule, with pollen limitation greater at high than low elevation (Fig. 2c, d; Table 2). At high elevation (i.e., the range edge), pollen supplementation increased seeds per fruit by 30% (mean + SE = 14.17 ± 4.62 for the control group and 20.06 ± 5.06 for the pollen supplementation group) and seeds per ovule by 38% (mean + SE = 0.27 ± 0.05 for the control group and 0.17 ± 0.04 for the pollen supplementation group).

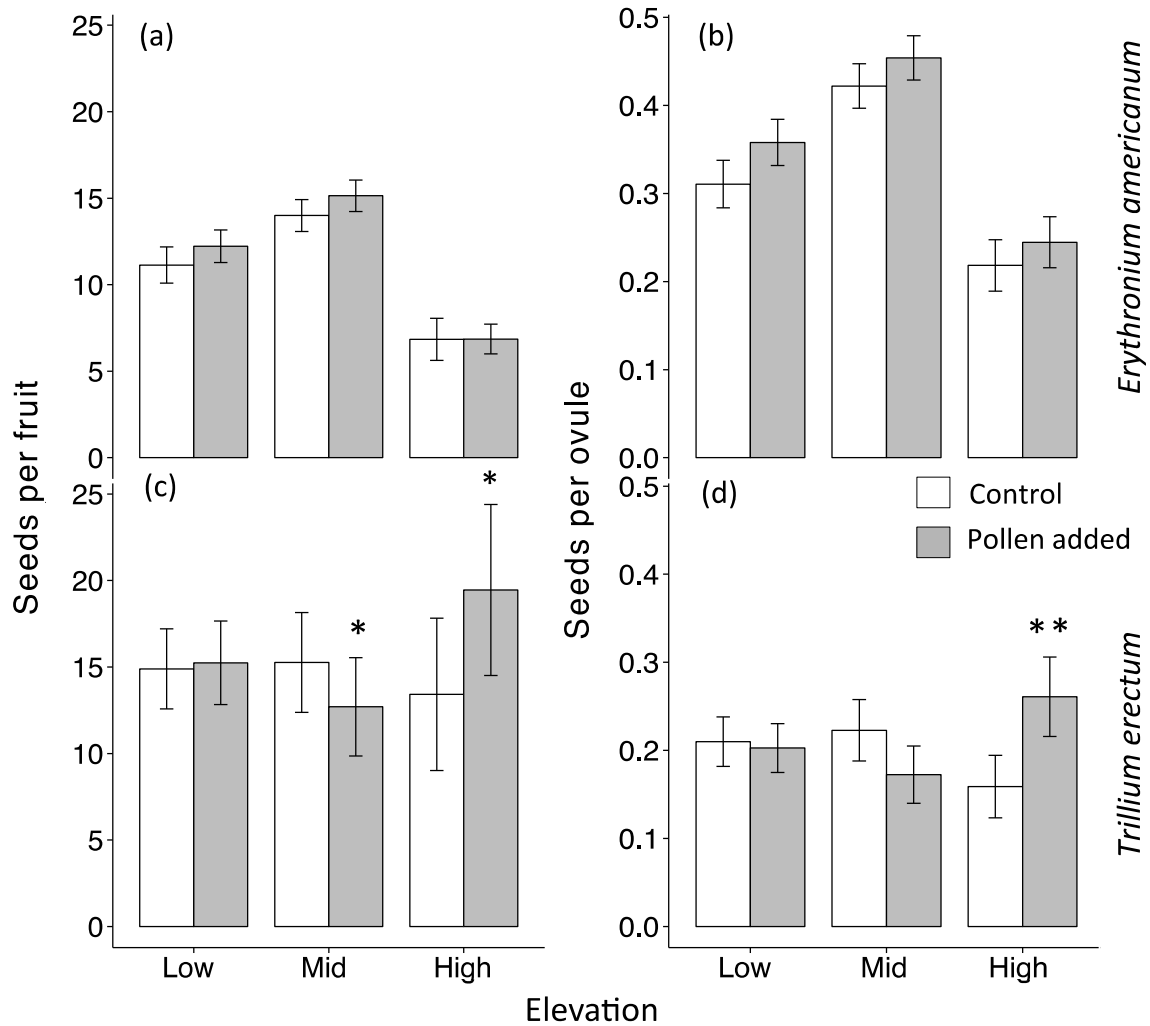


FIGURE 2. The effect of pollen supplementation on seeds per fruit (absolute seed set, a, c) and seeds per ovule (relative seed set, b, d) along the elevational gradient for *Erythronium americanum* (a, b) and *Trillium erectum* (c, d) in 2016. White bars indicate control flowers while grey bars indicate pollen-supplemented flowers. Asterisks above bars indicate a significantly larger difference between pollination treatments (i.e., greater or lower pollen limitation) compared to the low elevation group (* $0.05 > P \geq 0.01$, ** $0.01 > P \geq 0.001$). Graphs show means and standard errors on raw data.

TABLE 2. Generalized linear mixed model results for the effects of elevation, pollen supplementation and their interaction on seeds per fruit (absolute seed set) and seeds per ovule (relative seed set) for *Erythronium americanum* and *Trillium erectum* in 2016 (assuming negative binomial distributions).

Model (residual df)	Effect ¹		Estimate	Standard error	t	P	
Seeds per fruit, <i>E. americanum</i> (440)	Intercept		2.16	0.15	13.97	< 0.0001	
	Elevation	Mid	0.35	0.19	1.81	0.071	
		High	-0.85	0.21	-4.01	< 0.0001	
	Leaf area		0.20	0.06	3.39	0.0007	
	Transect		0.037	0.15	0.25	0.81	
	Pollen supplementation		0.16	0.11	1.46	0.14	
	Interaction	Mid	-0.14	0.16	-0.87	0.39	
		High	-0.06	0.18	-0.37	0.71	
	<i>T. erectum</i> (336)	Intercept		0.33	0.50	0.65	0.51
		Elevation	Mid	-0.59	0.59	-1.00	0.32
High			-1	0.69	-1.78	0.075	
Leaf area			1.20	0.089	13.56	< 0.0001	
Transect			1.70	0.52	3.26	0.0011	
Pollen supplementation			-0.16	0.11	-1.46	0.14	
Interaction		Mid	-0.40	0.19	-2.05	0.04	
		High	0.48	0.23	2.15	0.032	
Seeds per ovule, <i>E. americanum</i> (441)	Intercept		-0.90	0.066	-13.62	< 0.0001	
	Elevation	Mid	0.11	0.08	1.28	0.20	
		High	-0.10	0.10	-1.05	0.29	
	Leaf area		0.023	0.027	0.82	0.41	
	Transect		0.077	0.064	1.97	0.23	
	Pollen supplementation		0.015	0.057	0.26	0.80	
	Interaction	Mid	0.037	0.079	0.47	0.64	
		High	0.09	0.10	0.92	0.36	
	<i>T. erectum</i> (337)	Intercept		-0.87	0.13	-6.80	< 0.0001
		Elevation	Mid	-0.12	0.11	-1.10	0.27
High			-0.52	0.12	-4.19	< 0.0001	
Leaf area			0.0005	0.0005	0.98	0.33	
Transect			-0.02	0.088	-0.22	0.82	
Pollen supplementation			-0.025	0.067	-0.37	0.71	
Interaction		Mid	0.094	0.11	0.85	0.40	
		High	0.28	0.11	2.61	0.009	

Note: ¹For elevation and its interaction with pollen supplementation, differences are shown for mid and high elevation compared to low elevation.

Herbivory

For both species, herbivory was <10% at low elevation (Fig. 3). Herbivory of *E. americanum* remained low at mid and high elevations as well, with no significant effect of elevation (Fig. 3a). For *T. erectum*, herbivory showed a significant and marked increase towards the range limit, from <10% at low elevation to >60% at high elevation (mean + SE, Fig. 3b; Table 3), consistent with our qualitative observations in 2015.

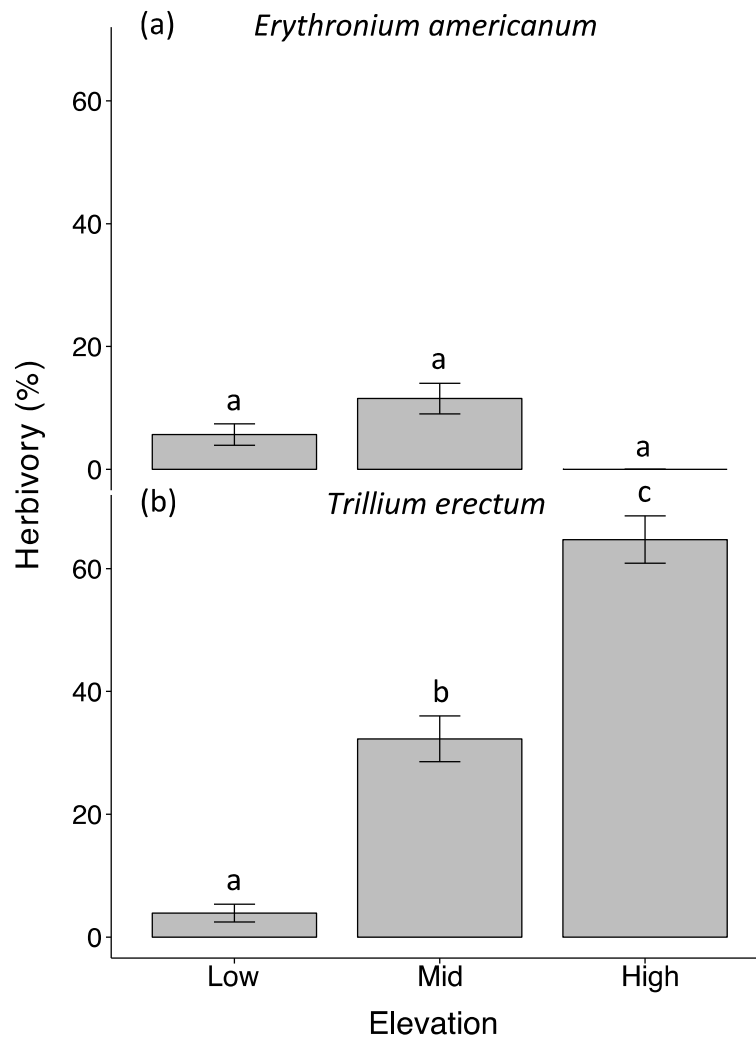


FIGURE 3. Elevational variation in percentage herbivory of *Erythronium americanum* (a) and *Trillium erectum* (b). Different letters above bars indicate statistically significant difference between groups ($\alpha = 0.05$). Graphs show means and standard errors on raw data.

TABLE 3. Generalized linear mixed model results for the effects of elevation on herbivory rate for *Erythronium americanum* and *Trillium erectum* in 2016 (assuming Bernoulli distributions).

Model (residual df)	Effect ¹		Estimate	Standard error	z	P
<i>E. americanum</i> (496)	Intercept		-9.81	7.96	-1.23	0.22
	Elevation	Mid	-0.95	8.49	-0.11	0.91
		High	-1.63	31.10	-0.052	0.96
	Transect		-1.13	8.28	-0.14	0.89
<i>T. erectum</i> (488)	Intercept		-3.76	0.57	-6.66	< 0.0001
	Elevation	Mid	2.85	0.55	5.16	< 0.0001
		High	4.73	0.68	6.98	< 0.0001
	Transect		-0.36	0.36	-0.99	0.33

Note: ¹For elevation, differences are shown for mid and high elevation compared to low elevation.

Comparison of transects

Results on the two transects were largely consistent for seed set, pollen limitation, and herbivory (see Appendix S5). One exception was for seeds-per-fruit in *Trillium*, which appeared to increase with elevation on one transect and to decrease with elevation on the other (Appendix S5), although this has no effect on our conclusions described in the Discussion.

2.6 Discussion

Our study suggests that strength of biotic interactions can differ significantly between plant populations at the edge of a species' range and populations in the core of the species' range, albeit in a species-specific way. While both herbivory and pollen limitation were strongest at the upper elevational range limit of *Trillium erectum*, no trends with elevation were observed for *Erythronium americanum*. Although the potential importance of biotic interactions in defining range limits has been noted in the literature (Soberon, 2007; HilleRisLambers et al., 2013), to date few empirical studies have directly quantified the importance of multiple interactions along gradients leading up to range edges.

Our most striking result was the marked increase in herbivory towards the upper elevational range limit of *T. erectum*, from less than 10% at low elevation to more than 60% at the range limit (Fig. 3b). The herbivory we observed was characteristic of ungulate browsing (jagged and torn straight cut on the remaining stem opposed to a clean 45° cut for snowshoe hares: *Lepus americanus*) (Williams et al., 2000) and was most likely due to white-tailed deer, which occur in both deciduous and boreal forests at Mont-Mégantic. The creation of anthropogenic landscapes (a mix of fields and forests at different successional stages) has resulted in high densities of white-tailed deer throughout eastern North America, with major impacts on plant communities (Russell et al., 2001). Many studies have shown *Trillium* to be a preferred food plant of white-tailed deer (Anderson, 1994; Augustine, 1997; Rouleau et al., 2002). Moose are also present in boreal forests at Mont-Mégantic and elsewhere (Martin et al., 1961; Pastor et al., 1988), but to our knowledge there are no reports of moose consumption of *Trillium*.

Previous studies indicate that high deer herbivory, which we found to be greatest at the range edge, likely has an impact on *Trillium* population dynamics. First, browsing on *Trillium* plants causes 100% defoliation and a near-complete loss of annual seed production (a few seeds might survive gut passage and be dispersed by deer, Vellend et al., 2003). In addition, *Trillium* species do not reproduce clonally (rhizomes are only a few cm long) and there is no aboveground regrowth within the growing season (Augustine and Frelich, 1998; Knight, 2003). Deer herbivory therefore limits the storage of carbohydrate in the rhizome, typically resulting in smaller plants the following year (Lubbers and Lechowicz, 1989; Knight, 2003). Kalisz et al. (2014) demonstrated that exclusion of overabundant deer resulted in a significant increase in *T. erectum* population growth rate and size. Also, For a closely related species with a very similar life history, *T. grandiflorum*, Knight et al. (2009) demonstrated that deer browsing of reproductive plants at a rate of greater than 15% led to population decline, with population growth especially sensitive to demographic transitions involving the largest plants (i.e., those targeted by deer). In our study, range-edge populations of *T.*

erectum suffered browsing of more than 60% in 2016, with similarly high herbivory observed qualitatively in 2015. This level of herbivory almost certainly has a strong negative impact on population growth via an increased probability of size regression or mortality, and might limit upward range expansion, thus helping to define the range limit. However, in the absence of detailed demographic data we cannot infer whether these populations are currently declining. White-tailed deer densities have increased in recent decades throughout much of their range (Côté et al., 2004), so it is possible that this level of herbivory at the range limit is a recent phenomenon, which would explain why peripheral populations still have many reproductive individuals. These issues are clearly in need of further study.

Interestingly, in other studies in which increased herbivory was observed at a range limit, for example by slugs (Bruehlheide and Scheidel, 1999) as well as ungulates and aphids (Galen, 1990), it was at the lower elevational limit, where less stressful conditions are thought to promote a greater abundance of herbivores (Menge and Sutherland, 1987). In our study, it is possible that deer are more abundant at higher elevations, but this seems unlikely given that boreal forest is not typically the preferred habitat for deer (Hewitt, 2011). We hypothesize instead that deer are showing increased selectivity for *Trillium* plants in the boreal forest. *T. erectum* frequency and local abundance are reduced close to the upper elevational range limit at our study site (Appendix S1) and there is some evidence of increased proportional herbivory by white-tailed deer with decreasing density in *Trillium* populations (Augustine and Frelich, 1998). Studies are underway to test these alternative hypotheses.

We also found greater pollen limitation near the range limit, again only for *T. erectum*. For this species, pollen supplementation did not affect reproductive success at lower elevations, while at the range limit it increased seed production by more than 30% (Fig. 2c, d). On the surface, this result suggests that pollen limitation might contribute to determining the upper elevational range limit of *T. erectum*. However, compared to low elevation populations, reproductive success in unmanipulated plants was only slightly reduced at the range limit in 2016 (the year we assessed pollen limitation) and was not significantly different in 2015.

Moreover, the 30% increase in reproductive success due to pollen supplementation at the range limit actually increased reproductive success beyond that observed in plants in either treatment at lower elevations (Fig. 2c, d). In addition, the pollen limitation observed in 2016 might not be representative of other years, such as 2015, during which reproductive success was not decreased at the range limit. Several other studies have found pollen limitation only in some years for a given population (Stone and Jenkins, 2008; Kameyama et al., 2015; Theobald et al., 2016), possibly owing to interannual variation in pollinator activity or abundance, or to variation in resource availability. Finally, in a study of *T. grandiflorum*, Knight (2004) demonstrated that a level of pollen limitation similar to that observed in our study had a minimal impact on population growth, particularly compared to herbivory.

In short, our results for *T. erectum* do not indicate that pollen limitation is likely to be a major factor in determining the upper elevational range limit. That said, pollen limitation often has its strongest effects on population growth in establishing populations (Knight et al., 2005), such that it might influence the rate of range expansion, even if the effect on current population growth at the range edge is minimal. The increase in pollen limitation we observed at the range limit could be due to a decrease in pollinator abundance (Moeller et al., 2012; HilleRisLambers et al., 2013), or decreased attraction of pollinators resulting from reduced plant size or density (Grindeland et al., 2005; Elliott and Irwin, 2009). We did not find reduced plant size closer to the range limit (Appendix S4C, D), but *T. erectum* density does decrease with increasing elevation at our study site (see Appendix S1). High herbivory at the range limit might also contribute to reduced flower density.

In *E. americanum*, we observed no trends with elevation for pollen limitation or herbivory, although reproductive success was reduced at the range limit. Givnish (1990) and La Rocca et al. (2014) have proposed that the leaf mottling of *E. americanum* and other *Erythronium* species might serve as camouflage from herbivory, particularly by dichromats (species with only two types of color receptor in their eyes) such as deer. Thus, *E. americanum* might largely avoid herbivory by deer, particularly when present at low density. *Erythronium*

leaves are also present over a shorter period of time in the spring than *Trillium* leaves (Lapointe, 2001), allowing less time for browsing. Consistent with this interpretation, Rouleau et al. (2002) observed 3.8 times greater abundance of *Trillium* than *E. americanum* in the rumen of white-tailed deer, despite both species being of comparable abundance at their study site.

Differences in reproductive strategy are not likely the cause of the difference in pollen limitation we observed between *E. americanum* and *T. erectum* since both species are partially self-incompatible (Harder et al. 1985, Irwin 2000, Sage et al., 2001). However, the two species are visited by different sets of pollinators. *E. americanum* flowers are visited principally by Hymenoptera and Coleoptera (Bernhardt, 1977) while *T. erectum* flowers are visited by Diptera (Irwin, 2000). At our study site, bumblebees (*Bombus* spp.) are often seen visiting *E. americanum*. Bumblebees have been demonstrated to be effective pollinators of *E. americanum* and other *Erythronium* species with similar morphology (Thomson, 1986; Thomson and Thomson, 1989; Theobald et al., 2016), even in cold environments (Arroyo et al., 1982; Bingham and Orthner, 1998). Thus, more reliable pollination by bumblebees than by *T. erectum* pollinators with increasing elevation might explain the difference between our two study species. Additionally, Theobald et al. (2016) observed pollen limitation at the upper elevation range limit of a different *Erythronium* species (*E. montanum*), but only in years when visitations by bumblebees were low. Reliable pollination by bumblebees at our study site might also explain the difference between our results and those of Theobald et al. (2016).

Despite not showing evidence of pollen limitation, reproductive success decreased more consistently with elevation for *E. americanum* than for *T. erectum* (Fig. 1). Limitation of reproductive success can be caused by insufficient pollen receipt and/or insufficient resources available for fruit production (Burd, 1994; Ashman et al., 2004; Knight et al., 2005). In the case of *E. americanum*, we expect that abiotic environmental factors (e.g., climate, soil, or light) are responsible for reduced reproductive success at high elevations. A

plant's capacity to allocate resources to reproduction is generally strongly correlated with plant size (Silvertown and Charlesworth, 2009), and we observed a significant relationship between leaf area and seeds per fruit in our study species, as well. However, plant size was lower at the range limit in only one of the two years, with the opposite pattern in the other year (Appendix S4A, B).

In a broader context, models predicting the effect of climate change on species distributions are most often based only on abiotic factors (VanDerWal et al., 2009; Gilman et al., 2010). Our study, along with other recent studies (e.g. Moeller et al., 2012; Chalcoff et al., 2012; Brown and Vellend, 2014; Urli et al., 2016; Stanton-Geddes et al., 2012), suggests that biotic interactions require greater consideration in order to provide reliable predictions of the consequences of climate warming for species distributions, although results are clearly species-specific. In our case, biotic factors, particularly herbivory, are potentially constraining population growth at the leading edge of *T. erectum*'s distribution, and therefore may limit its capacity for migration under climate change (HilleRisLambers et al., 2013). Long-term demographic studies are needed to further test this hypothesis. To the extent that white-tailed deer prefer deciduous forest plants to boreal forest plants more generally (e.g., due to adaptations to nutrient rich vs. poor soils), our finding might have broader implications for plant migration at the deciduous-boreal forest ecotone.

2.7 Acknowledgments

The authors thank Madelaine Proulx, Méliissa Paquet, Andrés Cruz Zamudio, and Diane Auberson-Lavoie for assistance in the field, Parc National du Mont-Mégantic for permission to conduct the research, the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada for funding (RGPIN-2015-05804), and Jessica Forrest for valuable input on an earlier version of the manuscript.

2.8 Literature cited

- Abrahantes, J. C., and M. Aerts. 2012. A solution to separation for clustered binary data. *Statistical Modelling* 12: 3-27.
- Alexander, H. M., S. Price, R. Houser, D. Finch, and M. Tourtellot. 2007. Is there reduction in disease and pre-dispersal seed predation at the border of a host plant's range? Field and herbarium studies of *Carex blanda*. *Journal of Ecology* 95: 446-457.
- Anderson, R. C. 1994. Height of white-flowered trillium (*Trillium grandiflorum*) as an index of deer browsing intensity. *Ecological Applications* 4: 104-109.
- Arroyo, M., T. Kalin, R. Primack, and J. Armesto. 1982. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of central Chile. I. Pollination mechanisms and altitudinal variation. *American Journal of Botany* 69: 82-97.
- Ashman, T. L., T. M. Knight, J. A. Steets, P. Amarasekare, M. Burd, D. R. Campbell, M. R. Dudash, M. O. Johnston, S. J. Mazer, R. J. Mitchell, M. T. Morgan, and W. G. Wilson. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85: 2408-2421.
- Augustine, D. J. 1997. Grazing patterns and impacts of white-tailed deer in a fragmented forest ecosystem. M.Sc. thesis, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, USA.
- Augustine, D. J., and L. E. Frelich. 1998. Effects of white-tailed deer on populations of an understory forb in fragmented deciduous forests. *Conservation Biology* 12: 995-1004.
- Bates, D., M. Machler, B. M. Bolker, and S. C. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67: 1-48.
- Bernhardt, P. 1977. The pollination ecology of a population of *Erythronium americanum* ker. (Liliaceae). *Rhodora* 79: 278-282.
- Bingham, R. A., and A. R. Orthner. 1998. Efficient pollination of alpine plants. *Nature* 391: 238-239.
- Broyles, S. B., S. L. ShermanBroyles, and P. Rogati. 1997. Evidence of outcrossing in *Trillium erectum* and *Trillium grandiflorum* (Liliaceae). *Journal of Heredity* 88: 325-329.
- Bruelheide, H., and U. Scheidel. 1999. Slug herbivory as a limiting factor for the geographical range of *Arnica montana*. *Journal of Ecology* 87: 839-848.

- Burd, M. 1994. Bateman principle and plant reproduction - the role of pollen limitation in fruit and seed set. *Botanical Review* 60: 83-139.
- Busch, J. W. 2005. The evolution of self-compatibility in geographically peripheral populations of *Leavenworthia alabamica* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* 92: 1503-1512.
- Case, T. J., and M. L. Taper. 2000. Interspecific competition, environmental gradients, gene flow, and the coevolution of species' borders. *American Naturalist* 155: 583-605.
- Chalcoff, V. R., M. A. Aizen, and C. Ezcurra. 2012. Erosion of a pollination mutualism along an environmental gradient in a south Andean treelet, *Embothrium coccineum* (Proteaceae). *Oikos* 121: 471-480.
- Chung, Y. J., S. Rabe-Hesketh, V. Dorie, A. Gelman, and J. C. Liu. 2013. A nondegenerate penalized likelihood estimator for variance parameters in multilevel models. *Psychometrika* 78: 685-709.
- Connell, J. H. 1971. On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees, *Dynamics of populations*, 298-312. Centre for Agricultural Publishing and Documentation, Wageningen, Netherlands.
- Côté, S. D., Rooney, T. P., Tremblay, J. P., Dussault, C., and Waller, D. M. 2004. Ecological impacts of deer overabundance. *Annual review of ecology evolution and systematics* 35: 113-147
- Dafni, A., M. Lehrer, and P. G. Kevan. 1997. Spatial flower parameters and insect spatial vision. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* 72: 239-282.
- Edwards, J. 1985. Effects of herbivory by moose on flower and fruit production of *Aralia nudicaulis*. *Journal of Ecology* 73: 861-868.
- Elliott, S. E., and R. E. Irwin. 2009. Effects of flowering plant density on pollinator visitation, pollen receipt, and seed production in *Delphinium barbeyi* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany* 96: 912-919.
- Fagan, W. F., M. Lewis, M. G. Neubert, C. Aumann, J. L. Apple, and J. G. Bishop. 2005. When can herbivores slow or reverse the spread of an invading plant? A test case from Mount St. Helens. *American Naturalist* 166: 669-685.
- Franco, M., and J. Silvertown. 2004. A comparative demography of plants based upon elasticities of vital rates. *Ecology* 85: 531-538.

- Galen, C. 1990. Limits to the distributions of alpine tundra plants - herbivores and the alpine skylight, *Polemonium viscosum*. *Oikos* 59: 355-358.
- Gilman, S. E., M. C. Urban, J. Tewksbury, G. W. Gilchrist, and R. D. Holt. 2010. A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology & Evolution* 25: 325-331.
- Givnish, T. J. 1990. Leaf mottling: Relation to growth form and leaf phenology and possible role as camouflage. *Functional Ecology* 4: 463-474.
- Grindeland, J. M., N. Sletvold, and R. A. Ims. 2005. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology* 19: 383-390.
- Gunton, R. M., and W. E. Kunin. 2007. Density effects at multiple scales in an experimental plant population. *Journal of Ecology* 95: 435-445.
- Hall, G. 1998. Inventaire floristique du Parc du Mont-Mégantic. Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec.
- Harder, L. D., J. D. Thomson, M. B. Cruzan, and R. S. Unnasch. 1985. Sexual reproduction and variation in floral morphology in an ephemeral vernal lily, *Erythronium americanum*. *Oecologia* 67: 286-291.
- Hardie, D. C., and J. A. Hutchings. 2010. Evolutionary ecology at the extremes of species' ranges. *Environmental Reviews* 18: 1-20.
- Hargreaves, A. L., J. L. Weiner, and C. G. Eckert. 2015. High-elevation range limit of an annual herb is neither caused nor reinforced by declining pollinator service. *Journal of Ecology* 103: 572-584.
- Hewitt, D. G. 2011. Biology and management of white-tailed deer, 686. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- HilleRisLambers, J., M. A. Harsch, A. K. Ettinger, K. R. Ford, and E. J. Theobald. 2013. How will biotic interactions influence climate change-induced range shifts? *Annals of the New York Academy of Sciences* 1297: 112-125.
- Hillyer, R., and M. R. Silman. 2010. Changes in species interactions across a 2.5 km elevation gradient: effects on plant migration in response to climate change. *Global Change Biology* 16: 3205-3214.
- Hochberg, M. E., and A. R. Ives. 1999. Can natural enemies enforce geographical range Limits? *Ecography* 22: 268-276.

- Holt, R. D., and M. Barfield. 2009. Trophic interactions and range limits: the diverse roles of predation. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 276: 1435-1442.
- Irwin, R. E. 2000. Morphological variation and female reproductive success in two sympatric *Trillium* species: Evidence for phenotypic selection in *Trillium erectum* and *Trillium grandiflorum* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 87: 205-214.
- Janzen, D. H. 1970. Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *The American Naturalist* 104: 501-528.
- Kalisz, S., R. B. Spigler, and C. C. Horvitz. 2014. In a long-term experimental demography study, excluding ungulates reversed invader's explosive population growth rate and restored natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111: 4501-4506.
- Kameyama, Y., M. Watanabe, H. Kurosawa, T. Nishimori, D. Matsue, and M. Takyu. 2015. Seasonal changes in pollen limitation and femaleness along the snowmelt gradient in a distylous alpine herb, *Primula modesta*. *Ecology and Evolution* 5: 5352-5363.
- Karron, J. D., N. N. Thumser, R. Tucker, and A. J. Hessenauer. 1995. The influence of population-density on outcrossing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity* 75: 175-180.
- Kawecki, T. J. 2008. Adaptation to marginal habitats. *Annual review of ecology evolution and systematics* 39: 321-342.
- Kelly, D., J. J. Ladley, and A. W. Robertson. 2007. Is the pollen- limited mistletoe *Peraxilla tetrapetala* (Loranthaceae) also seed limited? *Austral Ecology* 32: 850-857.
- Kéry, M., D. Matthies, and M. Fischer. 2001. The effect of plant population size on the interactions between the rare plant *Gentiana cruciata* and its specialized herbivore *Maculinea rebeli*. *Journal of Ecology* 89: 418-427.
- Knight, T. M. 2003. Effects of herbivory and its timing across populations of *Trillium grandiflorum* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 90: 1207-1214.
- Knight, T. M. 2004. The effects of herbivory and pollen limitation on a declining population of *Trillium grandiflorum*. *Ecological Applications* 14: 915-928.
- Knight, T. M., H. Caswell, and S. Kalisz. 2009. Population growth rate of a common understory herb decreases non-linearly across a gradient of deer herbivory. *Forest Ecology and Management* 257: 1095-1103.

- Knight, T. M., J. A. Steets, J. C. Vamosi, S. J. Mazer, M. Burd, D. R. Campbell, M. R. Dudash, M. O. Johnston, R. J. Mitchell, and T. L. Ashman. 2005. Pollen limitation of plant reproduction: Pattern and process. *Annual review of ecology evolution and systematics* 36: 467-497.
- La Rocca, N., P. Pupillo, G. Puppi, and N. Rascio. 2014. *Erythronium dens-canis* L.(Liliaceae): an unusual case of change of leaf mottling. *Plant Physiology and Biochemistry* 74: 108-117.
- Lajoie, G., and M. Vellend. 2015. Understanding context dependence in the contribution of intraspecific variation to community trait-environment matching. *Ecology* 96: 2912-2922.
- Lapointe, L. 2001. How phenology influences physiology in deciduous forest spring ephemerals. *Physiologia Plantarum* 113: 151-157.
- Lenth, R. V. 2016. Least-squares means: The R package lsmeans. *Journal of Statistical Software* 69: 1-33.
- Louthan, A. M., D. F. Doak, and A. L. Angert. 2015. Where and when do species interactions set range limits? *Trends in Ecology & Evolution* 30: 780-792.
- Lubbers, A. E., and M. J. Lechowicz. 1989. Effects of leaf removal on reproductions vs. Belowground storage in *Trillium grandiflorum*. *Ecology* 70: 85-96.
- Maron, J. L., and E. Crone. 2006. Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 273: 2575-2584.
- Maron, J. L., K. C. Baer, and A. L. Angert. 2014. Disentangling the drivers of context-dependent plant-animal interactions. *Journal of Ecology* 102: 1485-1496.
- Martin, A. C., H. S. Zim, and A. L. Nelson. 1961. American wildlife & plants: A guide to wildlife food habits 500. Dover Publications, Inc, New York, New York, USA.
- Menge, B. A., and J. P. Sutherland. 1987. Community regulation: Variation in disturbance, competition, and predation in relation to environmental stress and recruitment. *The American Naturalist* 130: 730-757.
- Moeller, D. A., M. A. Geber, V. M. Eckhart, and P. Tiffin. 2012. Reduced pollinator service and elevated pollen limitation at the geographic range limit of an annual plant. *Ecology* 93: 1036-1048.

- Ollerton, J., R. Winfree, and S. Tarrant. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120: 321-326.
- Otway, S. J., A. Hector, and J. H. Lawton. 2005. Resource dilution effects on specialist insect herbivores in a grassland biodiversity experiment. *Journal of Animal Ecology* 74: 234-240.
- Parc National du Mont-Mégantic. 2007. Synthèse des connaissances.
- Parker, I. M. 1997. Pollinator limitation of *Cytisus scoparius* (Scotch broom), an invasive exotic shrub. *Ecology* 78: 1457-1470.
- Parmesan, C. 2006. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual review of ecology evolution and systematics* 37: 637-669.
- Pastor, J., R. J. Naiman, B. Dewey, and P. McInnes. 1988. Moose, microbes, and the boreal forest. *BioScience* 38: 770-777.
- Pettersson, M. W., and E. Sjödin. 2000. Effects of experimental plant density reductions on plant choice and foraging behaviour of bees (Hymenoptera : Apoidea). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 50: 40-46.
- Price, M. V., D. R. Campbell, N. M. Waser, and A. K. Brody. 2008. Bridging the generation gap in plants: pollination, parental fecundity, and offspring demography. *Ecology* 89: 1596-1604.
- R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Website <http://www.R-project.org/>.
- Root, R. B. 1973. Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: The fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs* 43: 95-124.
- Rouleau, I., M. Crete, and J.-P. Ouellet. 2002. Contrasting the summer ecology of white-tailed deer inhabiting a forested and an agricultural landscape. *Ecoscience* 9: 459-469.
- Russell, F. L., D. B. Zippin, and N. L. Fowler. 2001. Effects of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) on plants, plant populations and communities: A review. *The American Midland Naturalist* 146: 1-26.

- Sage, T. L., S. R. Griffin, V. Pontieri, P. Drobac, W. W. Cole, and S. C. Barrett. 2001. Stigmatic self-incompatibility and mating patterns in *Trillium grandiflorum* and *Trillium erectum* (Melanthiaceae). *Annals of Botany* 88: 829-841.
- Savage, J., and M. Vellend. 2015. Elevational shifts, biotic homogenization and time lags in vegetation change during 40 years of climate warming. *Ecography* 38: 546-555.
- Sexton, J. P., P. J. McIntyre, A. L. Angert, and K. J. Rice. 2009. Evolution and ecology of species range limits. *Annual review of ecology evolution and systematics* 40: 415-436.
- Silvertown, J., and D. Charlesworth. 2009. Introduction to plant population biology, 360. John Wiley and Sons, New York, New York, USA.
- Soberon, J. 2007. Grinnellian and Eltonian niches and geographic distributions of species. *Ecology Letters* 10: 1115-1123.
- Stanton-Geddes, J., P. Tiffin, and R. G. Shaw. 2012. Role of climate and competitors in limiting fitness across range edges of an annual plant. *Ecology* 93: 1604-1613.
- Stone, J. L., and E. G. Jenkins. 2008. Pollinator abundance and pollen limitation of a solanaceous shrub at premontane and lower montane sites. *Biotropica* 40: 55-61.
- Straka, J. R., and B. M. Starzomski. 2015. Fruitful factors: what limits seed production of flowering plants in the alpine? *Oecologia* 178: 249-260.
- Theobald, E. J., H. Gabrielyan, and J. HilleRisLambers. 2016. Lilies at the limit: Variation in plant-pollinator interactions across an elevational range. *American Journal of Botany* 103: 189-197.
- Thomson, J. D. 1986. Pollen transport and deposition by bumble bees in *Erythronium*: Influences of floral nectar and bee grooming. *Journal of Ecology* 74: 329-341.
- Thomson, J. D., and B. A. Thomson. 1989. Dispersal of *Erythronium grandiflorum* pollen by bumblebees: Implications for gene flow and reproductive success. *Evolution* 43: 657-661.
- Totland, O. 2001. Environment-dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species. *Ecology* 82: 2233-2244.
- Urli, M., C. D. Brown, R. N. Perez, P. L. Chagnon, and M. Vellend. 2016. Increased seedling establishment via enemy-release at the upper elevational range limit of sugar maple. *Ecology* 97: 3058-3069.

- VanDerWal, J., L. P. Shoo, C. N. Johnson, and S. E. Williams. 2009. Abundance and the environmental niche: Environmental suitability estimated from niche models predicts the upper limit of local abundance. *The American Naturalist* 174: 282-291.
- Vellend, M., J. A. Myers, S. Gardescu, and P. Marks. 2003. Dispersal of *Trillium* seeds by deer: Implications for long-distance migration of forest herbs. *Ecology* 84: 1067-1072.
- Venables, W. N., and B. D. Ripley. 2002. Modern applied statistics with S, 495. Springer, New York, New York, USA.
- Williams, C. E., E. V. Mosbacher, and W. J. Moriarity. 2000. Use of turtlehead (*Chelone glabra* L.) and other herbaceous plants to assess intensity of white-tailed deer browsing on Allegheny Plateau riparian forests, USA. *Biological Conservation* 92: 207-215.

CHAPITRE 3

EFFET DE LA DATE D'INITIATION DU PRINTEMPS SUR LA PHÉNOLOGIE DE LA FLORAISON ET LE POTENTIEL DE FLUX GÉNIQUE CHEZ DEUX PLANTES DE SOUS-ÉTAGE LE LONG D'UN GRADIENT ALTITUDINAL

Par

Sébastien Rivest et Mark Vellend

3.1. Mise en contexte et contribution des auteurs

Des mesures de la phénologie de la floraison ont été prises durant l'ensemble de la période de floraison, le long d'un gradient altitudinal au parc national du Mont-Mégantic, durant 4 années consécutives, dans le cadre d'une étude à long terme pour *Erythronium americanum* et *Trillium erectum*. En disposant de 4 années de données, nous testons de façon préliminaire si la date d'initiation de la saison phénologique affecte le potentiel de flux génique entre les plantes d'élévations différentes. Nous comparons également les résultats obtenus à partir de différentes méthodes d'estimation du potentiel de flux génique et nous présentons par le fait même une nouvelle méthode d'estimation. Ce chapitre n'est pas directement le sujet d'une soumission à une revue scientifique. Toutefois, des mesures de la phénologie de la floraison seront prises durant les années à venir. La méthodologie et les données préliminaires présentées dans ce chapitre, combinées aux données d'une cinquième année de mesure seront le sujet d'un manuscrit soumis à une revue scientifique.

Ma contribution à ce chapitre est majeure, j'ai participé à l'élaboration du projet conjointement avec mon superviseur, Mark Vellend. J'ai effectué la collecte de données à l'aide de plusieurs assistants de terrain en 2015 et 2016, alors que les données des années 2013 et 2014 ont été collectées par Geneviève Lajoie et Mark Vellend respectivement. J'ai également produit les analyses statistiques et le brouillon de ce chapitre, auquel Mark Vellend a apporté des modifications.

3.2 Résumé

Les changements climatiques provoquent l'avancement des événements phénologiques printaniers. Toutefois, il est possible que la réaction phénologique aux changements climatiques varie spatialement au sein des espèces. Cela pourrait affecter le potentiel de flux génique en modifiant le synchronisme de la floraison entre les populations. La majorité des études adressant l'impact des changements climatiques sur la phénologie de la floraison ne permettent pas de vérifier une telle possibilité puisqu'elles utilisent une seule date pour décrire la phénologie de la floraison. Nous avons fait des observations régulières de la phénologie de la floraison durant l'ensemble de la période de floraison, le long d'un gradient altitudinal, durant 4 années, pour *Trillium erectum* et *Erythronium americanum*, afin de 1) vérifier si la date d'initiation de la saison phénologique affecte le potentiel de flux génique et 2) si la mesure utilisée affecte les conclusions de l'analyse. Nous avons mesuré 1) l'écart temporel entre les pics de floraison des populations, 2) le chevauchement des distributions de floraison et 3) le potentiel de flux génique estimé à partir d'un indice développé dans le cadre de cette étude. Les pentes de ces mesures en fonction de la date d'initiation de la saison de floraison et leurs variations interannuelles ont été comparées aux distributions de ces mêmes paramètres provenant d'un modèle nul. Pour les deux espèces étudiées, la pente de l'écart temporel entre les pics de floraison est significativement plus faible que les résultats du modèle nul et leur variance interannuelle est significativement plus élevée. Toutefois, ces relations ne sont pas significativement différentes concernant le potentiel de flux génique. Ainsi, nos résultats indiquent qu'une augmentation de l'écart temporel entre les pics de

floraison lors de printemps plus hâtifs ne provoque pas une diminution du potentiel de flux génique. Par conséquent, les études utilisant une seule date pour décrire la phénologie de la floraison ne permettent pas de déterminer avec confiance comment le potentiel de flux génique sera affecté par les changements climatiques.

3.3 Introduction

Les changements climatiques provoquent des déplacements temporels des événements phénologiques sur l'ensemble du globe (Parmesan et Yohe, 2003 ; Root *et al.*, 2003 ; Primack *et al.*, 2009) et ces déplacements demeurent l'une des réponses biologiques aux changements climatiques les mieux documentées (Forrest et Miller-Rushing, 2010). Par exemple, Parmesan et Yohe (2003) ont démontré que 62% des espèces étudiées ont subi un avancement de leur phénologie en réponse à l'augmentation récente de la température. Chez les plantes, ces changements phénologiques sont dus au fait que celles-ci s'appuient sur des facteurs environnementaux, en particulier la température, afin de déterminer la période adéquate à leurs événements biologiques (Menzel, 2000 ; Inouye, 2008 ; Heard *et al.*, 2012). Il existe toutefois une grande variabilité spatiale et interspécifique dans la réponse phénologique aux changements climatiques (Fitter et Fitter, 2002 ; Parmesan et Yohe, 2003 ; Primack *et al.*, 2009 ; Pau *et al.*, 2011).

Puisque les différentes populations d'une espèce sont souvent génétiquement différentes (Linhart et Grant, 1996 ; Leimu et Fischer, 2008), ne sont pas soumises aux mêmes conditions environnementales et que l'impact des changements climatiques est susceptible de varier géographiquement, il est possible que la sensibilité phénologique au climat varie spatialement au sein d'une espèce (Loarie *et al.*, 2009 ; Primack *et al.*, 2009 ; Diez *et al.*, 2012 ; Heard *et al.*, 2012 ; Bjorkman *et al.*, 2015). Une telle variabilité pourrait potentiellement influencer la quantité de flux génique en modifiant le synchronisme de la floraison entre les populations (Fox, 2003). En effet, une différence temporelle dans la période de floraison entre plusieurs populations soumises à des conditions

environnementales différentes peut restreindre le flux de gènes entre celles-ci (Rathcke et Lacey, 1985 ; Fox, 2003 ; Heard *et al.*, 2012) et plusieurs études empiriques ont démontré un effet de l'isolement temporel sur le flux génique (Stanton *et al.*, 1997 ; Gerber *et al.*, 2004 ; Hirao et Kudo, 2008 ; Matter *et al.*, 2013 ; Ison *et al.*, 2014). Le flux génique a, par ailleurs, un impact important sur la trajectoire évolutive des populations et des espèces, en influençant l'adaptation locale et la variabilité génétique au sein des populations (Slarkin, 1985 ; Ellstrand, 1992 ; Morjan et Rieseberg, 2004 ; Garant *et al.*, 2007 ; Ellstrand, 2014).

Étant donné le rôle important que joue le flux génique dans la capacité des espèces à s'adapter aux changements climatiques (Aitken et Whitlock, 2013 ; Matter *et al.*, 2013 ; Aguilée *et al.*, 2016), il est d'une grande importance de vérifier si ce dernier sera altéré dans le futur. Une étude de Franks et Weis (2009) a démontré une augmentation du flux génique entre deux populations suite à une sécheresse due à une augmentation de la similarité phénologique de la floraison des populations. Par contre, aucune étude n'a vérifié l'impact de la température sur ce processus évolutif (Matter *et al.*, 2013).

Actuellement, quelques études ont examiné les variations géographiques de la sensibilité de la phénologie reproductive à la température (Wang *et al.*, 2015). Parmi ces études, certaines ont démontré, au sein de plusieurs espèces, une plus grande réactivité des populations d'environnements plus chauds à l'augmentation de la température, provoquant une augmentation de l'écart temporelle entre les populations (Menzel *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2015), suggérant une diminution du flux génique dans le futur. Inversement, une étude de Prevéy *et al.* (2017) a démontré une réactivité plus importante des communautés présentes dans des sites plus froids. Toutefois, ces études sont basées sur une seule date pour décrire la floraison d'une population telle que la date de première floraison qui démontre une faible corrélation avec le pic de floraison et la dernière date de floraison (CaraDonna *et al.*, 2014). Puisque le flux génique entre populations dépend du nombre d'individus dont la floraison est en synchronie (Franks et Weis, 2009), estimer le potentiel de flux génique (PFG) à partir de la phénologie nécessite de tenir compte de l'ensemble de la distribution de la floraison. Par

conséquent, les études phénologiques à long terme actuelles ne permettent pas de déterminer si le flux génique sera conservé, diminué ou augmenté dans le futur en réponse aux changements climatiques.

De plus, même si l'ensemble de la période de floraison est pris en compte, les indices actuellement utilisés pour estimer le PFG entre deux populations ne prédisent pas de façon évidente ce dernier. La mesure du chevauchement des distributions de floraison de deux populations a été utilisée à plusieurs reprises pour estimer le PFG interpopulationnel (Franks et Weis, 2009 ; Willenborg *et al.*, 2009 ; Matter *et al.*, 2013). Toutefois, cet indice ne tient pas compte de l'ensemble des paramètres phénologiques déterminant le PFG. En effet, pour chaque jour où le calcul est effectué, seule la population comportant le moins de fleurs lors de ce jour est prise en compte. Ainsi, l'information provenant de la population possédant le plus d'individus à ce moment est ignorée (Fig. 4). Toutefois, le flux génique interpopulationnel dépend du nombre de fleurs présentes dans les deux populations (voir Fig. 4).

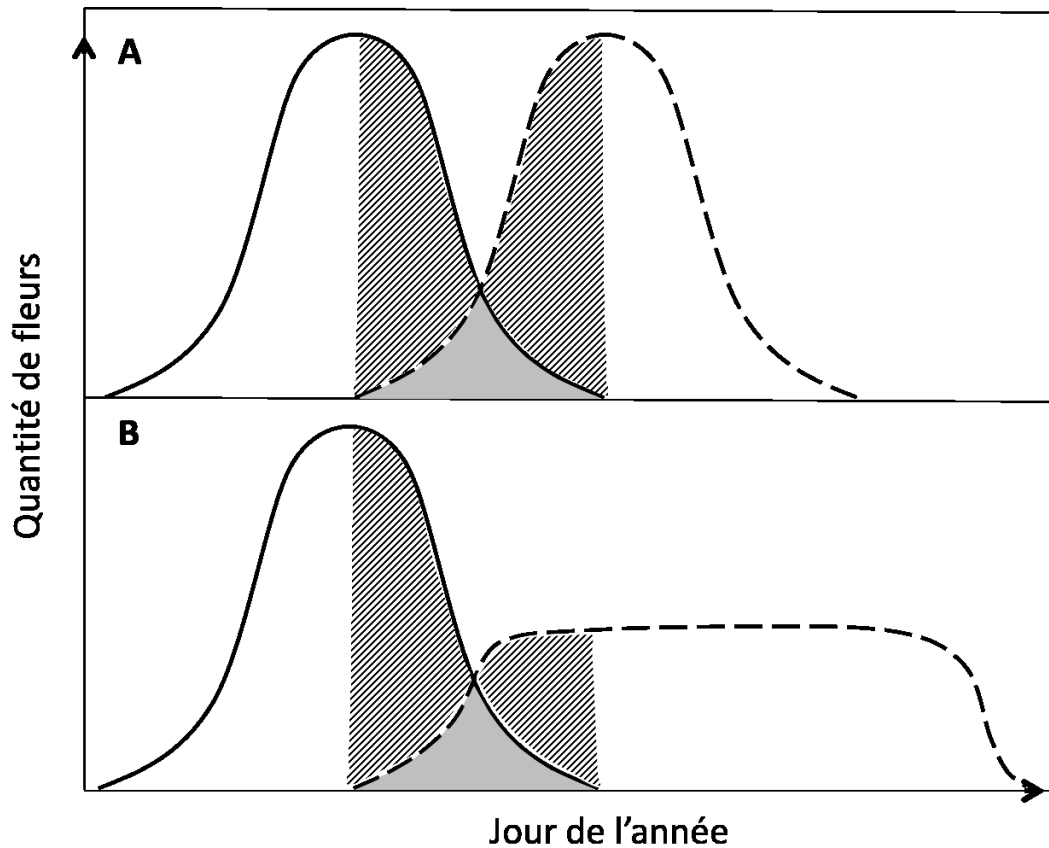


FIGURE 4. Mesure du chevauchement de distributions de floraison. La surface grise représente la surface mesurée par le calcul du chevauchement. La surface hachurée représente la surface provenant de la population qui n'est pas prise en compte dans le calcul pour un temps donné. Dans cet exemple hypothétique, le PFG est plus élevé dans la situation « A » puisqu'un plus grand nombre de fleurs sont en synchronie entre les populations, alors que le chevauchement des distributions de floraison est identique entre les deux situations.

Dans ce chapitre, j'utilise les données de la phénologie de la floraison de plusieurs populations réparties sur un gradient altitudinal durant quatre années chez deux espèces herbacées afin de vérifier de façon préliminaire 1) si la date d'initiation de la saison phénologique (peu importe la combinaison de variables climatiques déterminant cette date) affecte le PFG interpopulationnel (une phénologie plus hâtive est une conséquence des changements climatiques) et 2) si la mesure d'une seule date de floraison, telle

qu'actuellement utilisée dans la majorité des études phénologiques (Miller-Rushing et al., 2008), apporte des conclusions différentes dans les analyses comparativement à des estimations plus complètes du PFG. Je compare l'utilisation de l'écart temporel entre les pics de floraison des populations (EPF), la quantité de chevauchement entre les distributions de floraison des populations (voir Fig. 4) et un indice de PFG développé dans le cadre de cette étude qui tient compte de l'ensemble des paramètres phénologiques déterminant le PFG.

3.4 Méthodologie

Site d'étude

Cette étude a été effectuée au parc national du Mont-Mégantic (45°26'51''N, 71°06'52''W), situé au sud du Québec, Canada, dans le nord de la distribution des Appalaches (Lajoie et Vellend, 2015). Le Mont-Mégantic consiste en une aire protégée de 55 km², composée d'un gradient altitudinal d'environ 600 m, atteignant une élévation maximale de 1105 m (Savage, 2014). Le climat varie de continental humide dominé par l'érable à sucre (*Acer saccharum*) à basse altitude (environ 500 m d'élévation) à boréal dominé par le sapin baumier au sommet (Savage, 2014). La température annuelle moyenne diminue de 0,64 °C par augmentation de 100 m d'altitude, allant de 3,6 °C à 0,4 °C le long du gradient altitudinal, réduisant conséquemment la saison de croissance d'environ 100 jours à 80 jours (Lajoie et Vellend, 2015). Le site d'étude se trouve plus précisément sur le flanc est du Mont-Saint-Joseph (voir Appendix S2).

Espèces étudiées

Parmi les espèces présentes sur le site d'étude, deux espèces vernalles ont été sélectionnées pour les analyses statistiques : *Trillium erectum* et *Erythronium americanum*. La sélection a été effectuée en conservant uniquement les espèces se trouvant sur une portion suffisamment importante du gradient altitudinal, afin de posséder une certaine variabilité phénologique

interpopulationnelle. Aussi, l'étude cible plus précisément les espèces à floraison vernale étant donné leur plus grande sensibilité à la température comparativement aux espèces à floraison tardive (Schwartz et Reiter, 2000 ; Menzel *et al.*, 2001 ; Fitter et Fitter, 2002 ; Forrest *et al.*, 2010 ; CaraDonna *et al.*, 2014).

Échantillonnage

Deux transects altitudinaux, allant de l'est (basse altitude) vers l'ouest (haute altitude) du flanc est du Mont-Saint-Joseph ont été établis en 2013 (Lajoie et Vellend, 2015). Chaque transect est constitué de 5 parcelles de 26 m x 4 m (104 m²), orientées de façon perpendiculaire au gradient altitudinal (du sud au nord) et positionnées à un intervalle d'environ 80 m d'altitude. Les transects parcourent un gradient altitudinal débutant à environ 700 m d'altitude jusqu'à environ 950 m d'altitude. Les deux transects sont espacés d'environ 1 km l'un de l'autre. Les parcelles ont été positionnées uniquement dans des zones situées sous le couvert d'arbres afin d'éviter l'effet des environnements perturbés et des zones humides.

Chaque parcelle a été divisée en 26 sous-parcelles de 2 m x 2 m dans lesquelles le nombre de fleurs a été compté pour chaque espèce présente, à intervalle d'environ 4 jours (maximum 7 jours) durant l'ensemble de la période de floraison. Pour les deux espèces cibles, lorsque le nombre d'individus matures d'une espèce était très faible dans une parcelle (moins de 5 individus), les individus situés hors des parcelles à moins de deux mètres des parcelles ont également été comptés et le nombre d'individus a été standardisé afin de correspondre à la densité en individus par surface de 104 m² (aire des parcelles). Les mesures de la phénologie ont été effectuées en 2013 par Geneviève Lajoie et par Mark Vellend en 2014, alors que j'ai effectué les mesures en 2015 et 2016. Par mesure de commodité, le mot « population » est employé pour décrire l'ensemble des individus d'une espèce dans une parcelle échantillonnée.

Détermination des distributions de floraison

Les distributions de floraison des populations ont été caractérisées par le nombre de fleurs présentes dans une parcelle en fonction du jour de l'année. Afin d'estimer le nombre de fleurs présentes aux jours sans observations, une courbe d'ajustement a été produite pour chaque population en utilisant la méthode "Locally-weighted scatterplot smoother" avec la fonction « loess » du paquet « stats » du logiciel « R » (R Development Core Team, 2015). Le niveau de lissage et le degré de la courbe ont été fixés à 0.75 et 2 respectivement. Ces valeurs ont été déterminées subjectivement selon notre examen visuel des courbes pour l'ensemble des populations. Les valeurs de nombre de fleurs prédites par la courbe d'ajustement en dessous de 0 ont été rapportées à 0.

Mesures de potentiel de flux génique

Les mesures de l'EPF (l'écart temporel entre les pics de floraison des populations), du PFG (le potentiel de flux génique) et du chevauchement des distributions de floraison ont été effectuées sur l'ensemble des possibilités de paires de populations.

L'EPF a été déterminé en mesurant le nombre de jours séparant les modes des deux distributions de floraisons (Fig. 5).

L'indice de PFG (Éq. 1) a été développé dans le cadre de cette étude afin de tenir compte des facteurs phénologiques et démographiques affectant le flux de gènes potentiel. Cet indice estime pour une population "b" la proportion de pollen reçu provenant de la population "a" assumant une reproduction aléatoire entre les individus des deux populations combinées. La reproduction est plus probable entre individus d'une même population puisque la majorité de la pollinisation se produit sur de courtes distances (Levin, 1981). Ainsi, l'indice représente un PFG maximal (donc, le qualificatif « potentiel »). Puisque l'indice produit une valeur de proportion, la gamme de valeurs possibles se situe entre 0 et 1. L'indice consiste à calculer,

pour chaque jour (i), la proportion de fleurs des populations “a” et “b” combinées provenant de la population donneuse “a” ($a_i/a_{i+}b_i$). Cette proportion est pondérée par la proportion de fleurs présentes dans la population réceptrice “b” lors du jour “i” par rapport au nombre total de fleurs présentes lors de l’ensemble de la période de floraison ($b_i/\sum_{i=1}^n b_i$) (voir Fig. 2).

$$PFG_{a,b} = \sum_{i=1}^n \frac{a_i}{a_{i+}b_i} \cdot \frac{b_i}{\sum_{i=1}^n b_i} \quad (\text{Éq. 1})$$

La mesure du chevauchement des distributions de floraison provient de la mesure de l’aire de chevauchement entre deux distributions développée par Schoener (1970) afin de mesurer le chevauchement entre les niches écologiques de différentes espèces (voir Fig. 1). Cette mesure est décrite comme étant la méthode d’estimation du chevauchement de niches écologiques la plus efficace et simple d’interprétation (Krebs, 1999) et a été utilisée à plusieurs reprises pour estimer le synchronisme phénologique (Fox, 2003 ; Miller-Rushing *et al.*, 2010) et le PFG interpopulationnel (Rozzi *et al.*, 1997 ; Franks et Weis, 2009 ; Willenborg *et al.*, 2009 ; Matter *et al.*, 2013). La mesure du chevauchement des distributions de floraison (Éq. 2) consiste à la somme des valeurs minimales au temps “i” entre le nombre de fleurs des deux populations (a_i et b_i) (voir Fig. 4 et 5). Puisque le nombre de fleurs brute est utilisé dans la mesure du chevauchement, la valeur du chevauchement dépend du nombre de fleurs présentes dans les populations et n’est pas contenue dans une gamme de valeurs déterminée.

$$C_{a,b} = [\sum_{i=1}^n \text{minimum } a_i, b_i] \quad (\text{Éq. 2})$$

Pour chacune des quatre années de mesure, nous avons calculé la moyenne des valeurs de l’EPF, du PFG et du chevauchement de l’ensemble des paires de populations. La pente de la relation entre ces variables et la date d’initiation de la saison de floraison (DISF) au site d’étude a ensuite été estimée. La DISF a été déterminée par la moyenne des dates moyennes de floraison des populations de plus basses altitudes de chaque transect.

Les variances interannuelles de l'EPF moyen, du PFG moyen et du chevauchement moyen ont également été mesurées. Étant donné le faible nombre d'années utilisées pour les analyses (N=4), il est possible de tester avec plus de confiance la présence d'une variance interannuelle significative qu'une corrélation de ces variables avec la DISF. Effectuer des analyses sur la variance interannuelle permet de démontrer si l'écart temporel et le potentiel de flux génique varient de façon significative entre les années. Bien que ce test soit moins informatif que le précédent, il permet d'indiquer la présence de variabilité interannuelle, ce qui est une condition nécessaire à la variation du potentiel de flux génique en fonction de la température.

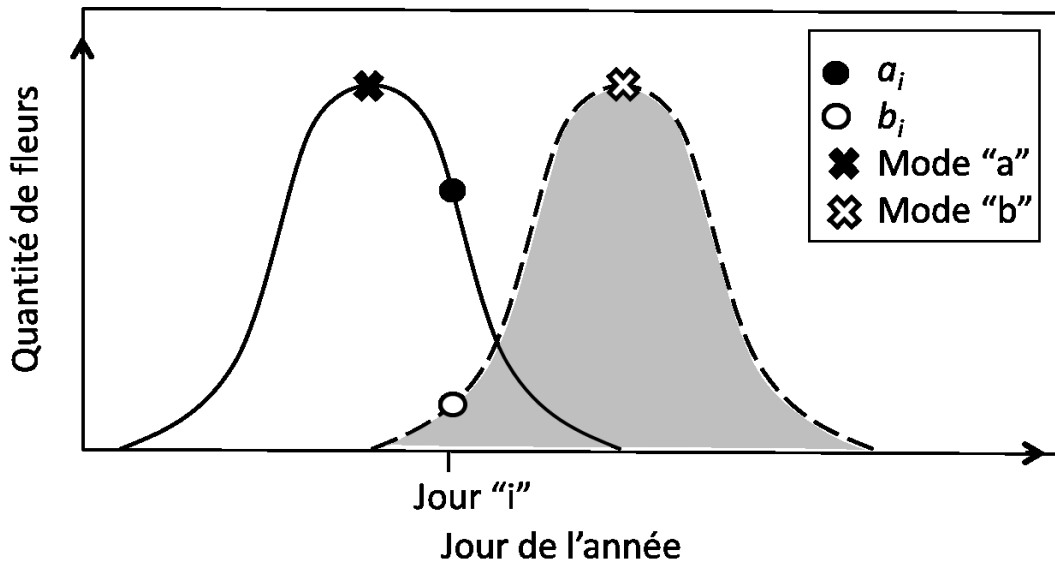


FIGURE 5. Schématisation des différentes mesures d'estimation du PFG entre la population "a" (ligne pleine) et la population "b" (ligne pointillée). L'EPF consiste au nombre de jours séparant le mode de la population "a" (mode "a") et le mode de la population "b" (mode "b"). L'indice $PFG_{a,b}$ consiste à calculer, pour chaque jour "i", la proportion de fleurs des populations «a» et «b» combinées provenant de la population donneuse «a» ($a_i/a_{i+}b_i$). Cette proportion est pondérée par la proportion de fleurs présentes dans la population réceptrice «b» lors du jour "i" par rapport au nombre total de fleurs présentes lors de l'ensemble de la période de floraison (zone grise, $b_i/\sum_{i=1}^n b_i$). La mesure du chevauchement

des distributions de floraison consiste en la somme des valeurs minimales au temps “i” entre (a_i et b_i , voir aussi Fig. 4).

Analyses statistiques

Les valeurs observées des pentes de l’EPF, du PFG et du chevauchement en fonction de la DISF, ainsi que leurs variances interannuelles, ont été comparées aux distributions des mêmes paramètres provenant d’un modèle nul produisant un brassage des distributions phénologiques entre les différentes années de données. Avec un faible nombre de données, il est difficile de distinguer avec confiance un patron significatif d’un patron provenant de variations aléatoires (Halsey *et al.*, 2015). Le modèle nul permet de vérifier si les patrons observés sont probables de survenir si la réaction phénologique de chaque population et par conséquent l’écart temporel entre la floraison des populations ne sont pas corrélés aux conditions environnementales, mais varient plutôt aléatoirement entre les années.

Avant de procéder au brassage, une standardisation des dates de floraison entre les années a été effectuée. Pour chaque année, la moyenne des dates de floraison moyennes de l’ensemble des populations a été rapportée à zéro. Les dates de floraison des plantes vernaies sont corrélées au climat de façon à ce qu’une initiation du printemps plus hâtive produit une floraison plus hâtive (Primack *et al.*, 2004 ; Houle, 2007). La standardisation permet d’enlever l’effet de la date d’initiation du printemps sur les dates de floraison et conserver uniquement l’effet de la réactivité phénologique (voir Fig. 6). Par la suite, une série de 1000 simulations a été effectuée, où pour chaque population, les quatre distributions de floraison annuelles ont été réassignées aléatoirement à une année (2013 à 2016) en utilisant la fonction “sample” du logiciel “R” (R Development Core Team, 2015) sans remplacement (une année pigée est enlevée du vecteur pour les prochaines pigées).

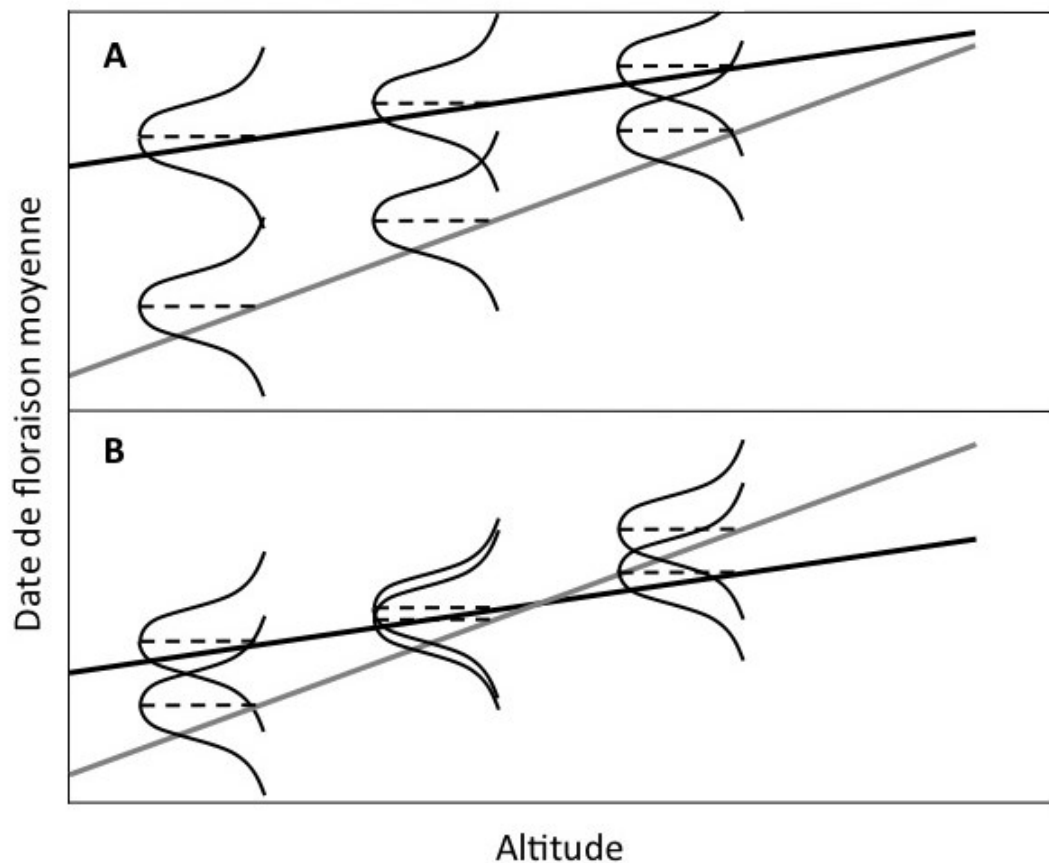


FIGURE 6. Représentation visuelle de la standardisation des différentes années de prise de données pour deux années (ligne grise et ligne noire) et trois populations hypothétiques situées à des altitudes différentes. Les données brutes sont représentées en « A » et les données après la standardisation en « B ». La standardisation consiste à rapporter la moyenne des dates de floraison moyennes de l'ensemble des populations à zéro. La standardisation affecte les valeurs des interceptes mais n'affecte pas les valeurs des pentes.

Les valeurs annuelles de l'EPF, du PFG et du chevauchement ont été mesurées pour chaque simulation afin d'estimer la variance interannuelle et la pente de leur relation avec la DISF, de la même façon que pour les données réelles. Ensuite, les valeurs réelles des pentes et des variances interannuelles ont été comparées à l'ensemble des valeurs simulées afin de vérifier si les valeurs réelles sont significativement différentes à un seuil de 0.05. Concernant les

valeurs de pente, un test bilatéral a été effectué. Dans ce cas, la valeur de la pente est considérée comme significative si elle est moins ou plus élevée que 97.5% des valeurs de pente obtenues par simulation. Concernant les valeurs de variance interannuelle, un test unilatéral a été effectué. Ainsi, la variance interannuelle est considérée significativement supérieure aux résultats du modèle nul si elle est plus élevée que 95% des valeurs de variance obtenues par simulation.

3.5 Résultats et discussion

L'année 2013 a été marquée, pour *Trillium erectum* et *Erythronium americanum*, par une date d'initiation de la saison de floraison (DISF) hâtive (*T. erectum*: 136.3, *E. americanum*: 130.3) comparativement aux années 2014, 2015 et 2016 (*T. erectum*: 145.8, 142.9, 142.0, *E. americanum*: 140.5, 137.3, 137.2 respectivement). Pour les deux espèces, l'écart temporel entre les pics de floraison (EPF) a été le plus élevé en 2013 (Fig. 7A, D). De plus, les pentes de l'EPF en fonction de la DISF et les variances interannuelles de l'EPF sont significativement différentes des résultats du modèle nul (Tableau 4, 5). Une initiation hâtive des événements biologiques printaniers des plantes est associée à un printemps chaud et est observée en réponse aux changements climatiques (Menzel, 2000 ; Schwartz et Reiter, 2000). Par conséquent, nos résultats préliminaires suggèrent une augmentation de l'écart temporel entre la floraison des différentes populations en réponse à l'augmentation de la température prévue pour les prochaines décennies. Nos observations sont consistantes avec celles de Menzel *et al.* (2006) pour plusieurs plantes en Europe et celles de Wang *et al.* (2015) pour trois espèces d'arbres et arbustes aux États-Unis et en Chine, pour lesquelles les plantes en environnements plus chauds possèdent une plus grande réactivité phénologique à l'augmentation de la température.

Un tel patron suggère une diminution du chevauchement et du potentiel de flux génique (PFG) lors d'années plus hâtives. Pour *T. erectum*, le chevauchement et le PFG ont été les plus bas en 2013 (Fig. 7B, C, Fig. 8). Toutefois, uniquement la pente du chevauchement en

fonction de la DISF est significativement différente du modèle nul (Tableau 4). De plus, les variances interannuelles du chevauchement et du PFG ne sont pas significativement différentes (Tableau 5). Concernant *E. americanum*, le PFG et le chevauchement ont été similaires entre 2013 et au moins une des années tardives (Fig. 7E, F, Fig. 9). Les pentes du chevauchement et du PFG en fonction de la DISF, ainsi que leurs variances interannuelles, ne sont pas significativement différentes du modèle nul (Tableau 4, 5). Ainsi, nos résultats préliminaires indiquent que malgré une augmentation de l'EPF lors de printemps plus hâtifs pour les deux espèces étudiées, cela n'entraîne pas une diminution du PFG entre les populations.

Outre l'écart temporel entre la floraison des populations, le PFG est également influencé par la durée de la floraison des populations (la variance autour de la date moyenne de floraison) et la proportion de fleurs produites entre les populations. L'inconsistance entre l'EPF et le PFG peut être expliquée par une corrélation négative entre la DISF et la durée de la période de floraison. Plusieurs études ont démontré une durée de floraison plus élevée lors de printemps hâtifs ou d'années chaudes au niveau individuel (Dunne *et al.*, 2003 ; Miller-Rushing *et al.*, 2007 ; Arroyo *et al.*, 2013) ou populationnel (Bock *et al.*, 2014). Parallèlement, CaraDonna *et al.* (2014) ont observé, pour la phénologie de la floraison de 60 espèces durant 39 ans, un déplacement temporel non uniforme entre la première date de floraison, le pic de floraison et la dernière date de floraison. Ainsi, la durée de la floraison a augmenté ou diminué pour plusieurs espèces en réponse aux changements climatiques. Ensuite, la quantité de fleurs produites et la durée de la floraison au niveau populationnel sont potentiellement influencées par de nombreux facteurs abiotiques et biotiques (ex. : Andersen, 1980 ; Gallegos *et al.*, 1992 ; O'Neil, 1997 ; Stern *et al.*, 1998). Les variations interannuelles de la quantité de fleurs dans une population et la durée de la floraison non expliquées par la DISF peuvent provoquer du bruit dans les analyses qui limite la capacité à détecter un lien entre le PFG et la DISF. En disposant uniquement de 4 années de données, les bruits provenant de cette variabilité peuvent avoir une influence importante sur les résultats des analyses.

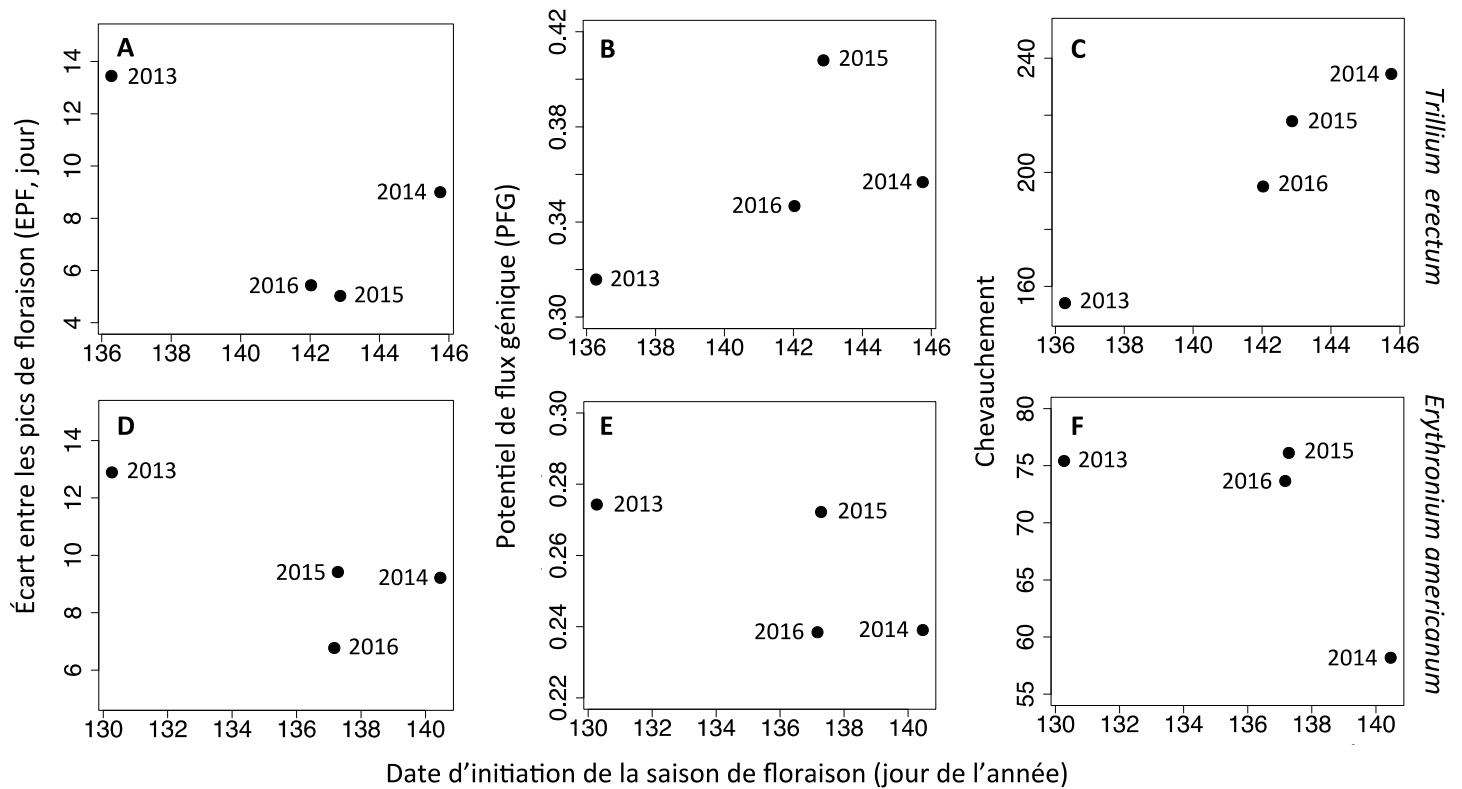


FIGURE 7. Moyennes annuelles de l'écart entre les pics de floraison (A, D), du potentiel de flux génique (B, E) et du chevauchement (C, F) entre plusieurs populations réparties sur un gradient altitudinal selon la date d'initiation de la saison de floraison pour *Trillium erectum* (A-C) et *Erythronium americanum* (D-F). La date d'initiation de la saison de floraison consiste à la moyenne des dates moyennes de floraison des populations de plus basses altitudes de chaque transect.

TABLEAU 4. Valeurs des pentes de la relation de l'EPF, de l'indice de PFG et du chevauchement des distributions de floraison entre plusieurs populations réparties sur un gradient altitudinal avec la date d'initiation de la floraison comparées aux résultats du modèle nul pour *Trillium erectum* et *Erythronium americanum*. La date d'initiation de la saison de floraison consiste à la moyenne des dates moyennes de floraison des populations de plus basses altitudes de chaque transect.

Espèce	Mesure	Pente	Percentile 97.5	Percentile 2.5	P
<i>T. erectum</i>	EPF	-0.63	0.62	-0.59	0.032
	PFG	0.0059	0.011	-0.010	0.31
	Chevauchement	8.63	7.45	-8.19	0.024
<i>E. americanum</i>	EPF	-0.43	0.33	-0.35	0.01
	PFG	-0.0033	0.0076	-0.0082	0.39
	Chevauchement	-1.31	3.49	-3.89	0.46

TABLEAU 5. Valeurs de la variance interannuelle de l'EPF, de l'indice de PFG et du chevauchement des distributions de floraison entre plusieurs populations réparties sur un gradient altitudinal comparées aux résultats du modèle nul pour *Trillium erectum* et *Erythronium americanum*. La date d'initiation de la saison de floraison consiste à la moyenne des dates moyennes de floraison des populations de plus basses altitudes de chaque transect.

Espèce	Mesure	Variance	Percentile 5	P
<i>T. erectum</i>	EPF	15.29	9.90	<0.001
	PFG	0.0015	0.0031	0.43
	Chevauchement	1213.43	1877.12	0.24
<i>E. americanum</i>	EPF	6.33	4.36	0.008
	PFG	0.00040	0.0023	0.23
	Chevauchement	72.28	459.13	0.81

L'inconsistance entre les résultats pour l'EPF et le PFG démontre que l'utilisation d'une seule date pour caractériser la phénologie de la floraison d'une population ne permet pas de tirer des conclusions quant aux patrons de PFG. Ainsi, comprendre comment le flux génique sera altéré par les changements climatiques nécessitera l'utilisation de données sur l'ensemble de la distribution de la floraison, le long de gradients climatiques et durant plusieurs années.

Les conclusions des analyses utilisant notre indice de PFG sont différentes comparativement à celles utilisant la mesure de chevauchement concernant les pentes de ces variables en fonction de la DISF pour *T. erectum*. Ainsi, le chevauchement ne décrit pas toujours le PFG avec exactitude. La mesure du chevauchement ne tient pas compte de l'ensemble des paramètres phénologiques influençant le PFG (voir Fig. 4). Ainsi, les paramètres tenus en compte uniquement dans notre indice de PFG peuvent être la cause de cette inconsistance.

La phénologie de la floraison au parc national du Mont-Mégantic, particulièrement pour *T. erectum*, semble être caractérisée par la présence de deux types phénologiques isolés l'un de l'autre. Les populations présentes à 896 m et 951 m d'altitude sont caractérisées par une phénologie nettement plus tardive que celles de plus basses élévations (697 m, 753 m et 811 m d'altitude) bien que les différences d'altitude séparant les populations les plus rapprochées soient consistantes le long des transects (Fig. 8, Fig. 9). De plus, le PFG est plus élevé entre populations du même type phénologique (Résultats non présentés). Cette observation permettra d'améliorer les analyses statistiques qui seront effectuées lorsqu'un plus grand nombre d'années de données sera disponible. Concernant cette étude préliminaire, le PFG a été mesuré sur l'ensemble des possibilités de paires de populations. Lors des futures analyses, le PFG pourrait être mesuré uniquement entre populations de types phénologiques différents étant donné que le PFG entre populations de mêmes types phénologiques ne semble pas être limité par les paramètres phénologiques.

Le flux génique joue un rôle important dans la capacité des plantes à s'adapter aux changements climatiques (Aitken et Whitlock, 2013 ; Matter *et al.*, 2013 ; Aguilée *et al.*, 2016). Par conséquent, il est actuellement d'une grande importance de comprendre si et comment la quantité de flux génique interpopulationnel sera influencée par ces derniers. Les études concernant la phénologie de la floraison font actuellement un lien entre la mesure d'une seule date de la floraison et le flux génique (Bjorkman *et al.*, 2015 ; Prevéy *et al.*, 2017). Notre étude démontre qu'une telle mesure n'est pas suffisante pour décrire le PFG. Par conséquent, des études mesurant l'ensemble de la période de floraison seront nécessaires pour déterminer si la quantité de flux génique sera altérée dans le futur.

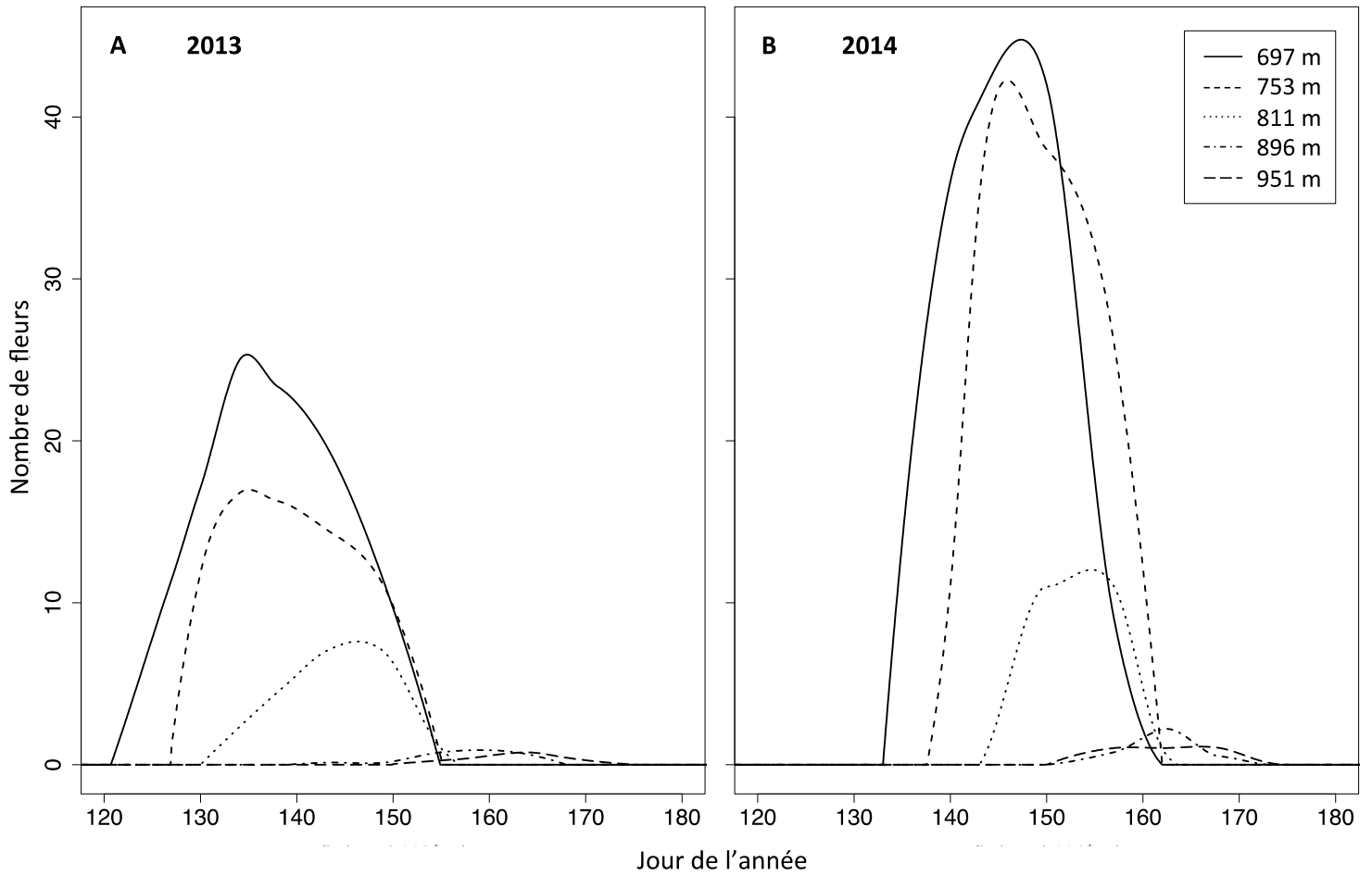


FIGURE 8. Nombre de fleurs ouvertes durant la période de floraison à 5 parcelles d'altitudes différentes sur un des transects (les résultats sont similaires pour les deux transects), pour *Trillium erectum*, durant une année où l'initiation de la floraison a été hâtive (A, 2013) et une année où l'initiation de la floraison a été tardive (B, 2014).

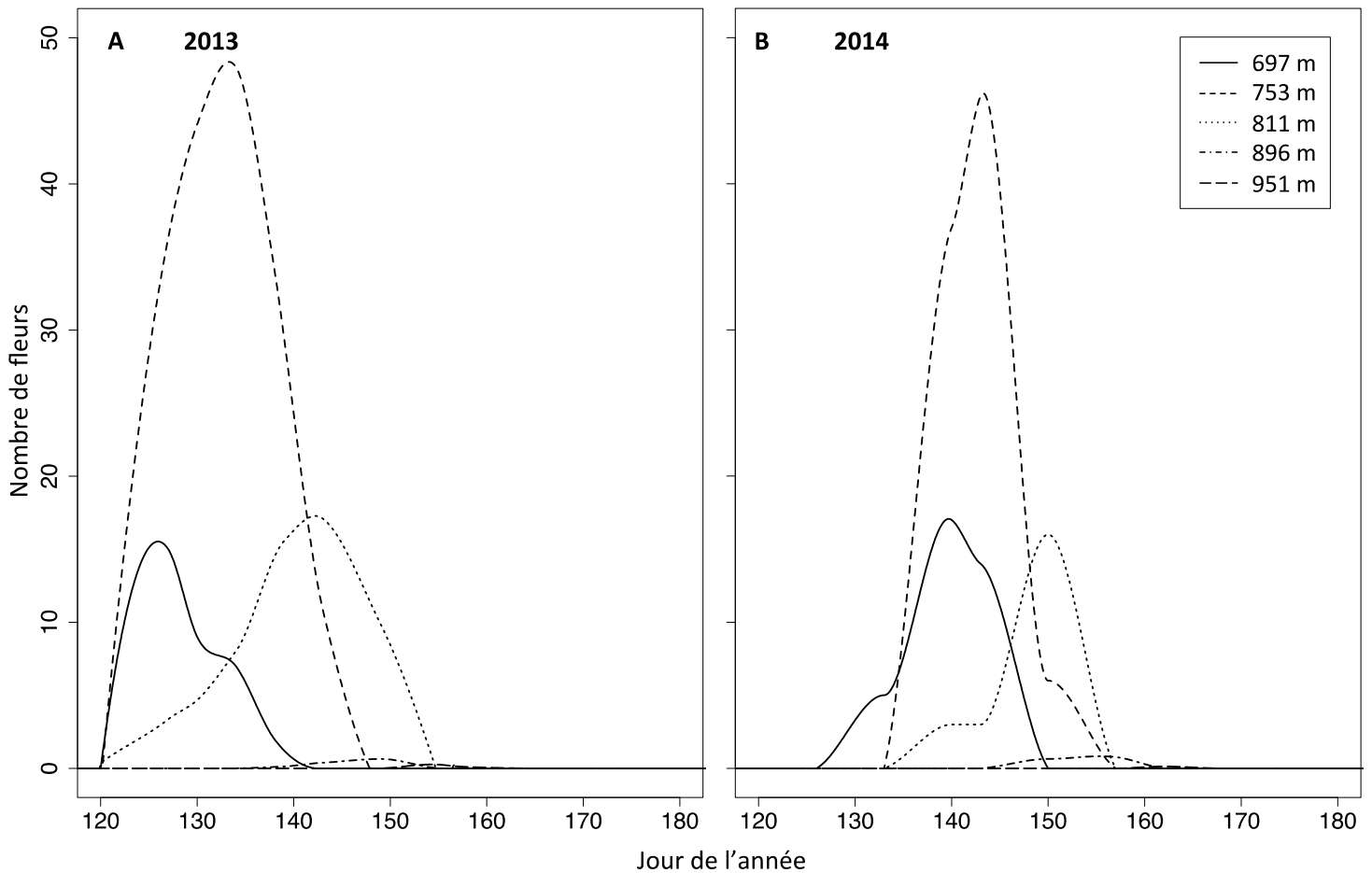


FIGURE 9. Nombre de fleurs ouvertes durant la période de floraison à 5 parcelles d'altitudes différentes sur un des transects (les résultats sont similaires pour les deux transects), pour *Erythronium americanum*, durant une année où l'initiation de la floraison a été hâtive (A, 2013) et une année où l'initiation de la floraison a été tardive (B, 2014).

3.5 Références

Aguilée R., Raoul G., Rousset F. et Ronce O. 2016. Pollen dispersal slows geographical range shift and accelerates ecological niche shift under climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113 : 5741-5748.

Aitken S.N. et Whitlock M.C. 2013. Assisted gene flow to facilitate local adaptation to climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 44 : 367-388.

Andersen S.T. 1980. Influence of climatic variation on pollen season severity in wind-pollinated trees and herbs. *Grana*, 19 : 47-52.

Arroyo M.T., Dudley L.S., Jespersen G., Pacheco D.A. et Cavieres L.A. 2013. Temperature - driven flower longevity in a high - alpine species of *Oxalis* influences reproductive assurance. *New Phytologist*, 200 : 1260-1268.

Bjorkman A.D., Elmendorf S.C., Beamish A.L., Vellend M. et Henry G.H.R. 2015. Contrasting effects of warming and increased snowfall on Arctic tundra plant phenology over the past two decades. *Global Change Biology*, 21 : 4651-4661.

Bock A., Sparks T.H., Estrella N., Jee N., Casebow A., Schunk C., Leuchner M. et Menzel A. 2014. Changes in first flowering dates and flowering duration of 232 plant species on the island of Guernsey. *Global Change Biology*, 20 : 3508-3519.

CaraDonna P.J., Iler A.M. et Inouye D.W. 2014. Shifts in flowering phenology reshape a subalpine plant community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111 : 4916-4921.

Diez J.M., Ibanez I., Miller-Rushing A.J., Mazer S.J., Crimmins T.M., Crimmins M.A., Bertelsen C.D. et Inouye D.W. 2012. Forecasting phenology: from species variability to community patterns. *Ecology Letters*, 15 : 545-553.

Dunne J.A., Harte J. et Taylor K.J. 2003. Subalpine meadow flowering phenology responses to climate change: Integrating experimental and gradient methods. *Ecological Monographs*, 73 : 69-86.

Ellstrand N.C. 1992. Gene flow by pollen - implications for plant conservation genetics. *Oikos*, 63 : 77-86.

Ellstrand N.C. 2014. Is gene flow the most important evolutionary force in plants? *American Journal of Botany*, 101 : 737-753.

Fitter A.H. et Fitter R.S.R. 2002. Rapid changes in flowering time in British plants. *Science*, 296 : 1689-1691.

Forrest J. et Miller-Rushing A.J. 2010. Toward a synthetic understanding of the role of phenology in ecology and evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 365 : 3101-3112.

Forrest J., Inouye D.W. et Thomson J.D. 2010. Flowering phenology in subalpine meadows: does climate variation influence community co-flowering patterns? *Ecology*, 91 : 431-440.

- Fox G.A. 2003. Assortative mating and plant phenology: evolutionary and practical consequences. *Evolutionary Ecology Research*, 5 : 1-18.
- Franks S.J. et Weis A.E. 2009. Climate change alters reproductive isolation and potential gene flow in an annual plant. *Evolutionary Applications*, 2 : 481-488.
- Gallegos M.E., Merino M., Marba N. et Duarte C.M. 1992. Flowering of *Thalassia testudinum* Banks ex König in the Mexican Caribbean: age-dependence and interannual variability. *Aquatic Botany*, 43 : 249-255.
- Garant D., Forde S.E. et Hendry A.P. 2007. The multifarious effects of dispersal and gene flow on contemporary adaptation. *Functional Ecology*, 21 : 434-443.
- Gerber J.D., Baltisberger M. et Leuchtman A. 2004. Effects of a snowmelt gradient on the population structure of *Ranunculus alpestris* (Ranunculaceae). *Botanica Helvetica*, 114 : 67-78.
- Halsey L.G., Curran-Everett D., Vowler S.L. et Drummond G.B. 2015. The fickle P value generates irreproducible results. *Nature Methods*, 12 : 179-185.
- Heard M.J., Riskin S.H. et Flight P.A. 2012. Identifying potential evolutionary consequences of climate-driven phenological shifts. *Evolutionary Ecology*, 26 : 465-473.
- Hirao A.S. et Kudo G. 2008. The effect of segregation of flowering time on fine-scale spatial genetic structure in an alpine-snowbed herb *Primula cuneifolia*. *Heredity*, 100 : 424-430.
- Houle G. 2007. Spring-flowering herbaceous plant species of the deciduous forests of eastern Canada and 20th century climate warming. *Canadian journal of forest research*, 37 : 505-512.
- Inouye D.W. 2008. Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. *Ecology*, 89 : 353-362.
- Ison J.L., Wagenius S., Reitz D. et Ashley M.V. 2014. Mating between *Echinacea angustifolia* (Asteraceae) individuals increases with their flowering synchrony and spatial proximity. *American Journal of Botany*, 101 : 180-189.
- Krebs C.J. 1999. *Ecological Methodology*. Addison-Wesley Educational Publishers, Inc.
- Lajoie G. et Vellend M. 2015. Understanding context dependence in the contribution of intraspecific variation to community trait-environment matching. *Ecology*, 96 : 2912-2922.
- Leimu R. et Fischer M. 2008. A meta-analysis of local adaptation in plants. *PloS one*, 3 : e4010.

- Levin D.A. 1981. Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 68: 233-253.
- Linhart Y.B. et Grant M.C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 27 : 237-277.
- Loarie S.R., Duffy P.B., Hamilton H., Asner G.P., Field C.B. et Ackerly D.D. 2009. The velocity of climate change. *Nature*, 462 : 1052-U1111.
- Matter P., Kettle C.J., Ghazoul J. et Pluess A.R. 2013. Extensive contemporary pollen-mediated gene flow in two herb species, *Ranunculus bulbosus* and *Trifolium montanum*, along an altitudinal gradient in a meadow landscape. *Annals of Botany*, 111 : 611-621.
- Menzel A. 2000. Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996. *International Journal of Biometeorology*, 44 : 76-81.
- Menzel A., Estrella N. et 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., Sparks T.H., Estrella N., Koch E., Aasa A., Ahas R., Alm-Kubler K., Bissolli P., Braslavska O., Briede A., et al. 2006. European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology*, 12 : 1969-1976.
- Miller-Rushing A.J., Hoyer T.T., Inouye D.W. et Post E. 2010. The effects of phenological mismatches on demography. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 365 : 3177-3186.
- Miller-Rushing A.J., Inouye D.W. et Primack R.B. 2008. How well do first flowering dates measure plant responses to climate change? The effects of population size and sampling frequency. *Journal of Ecology*, 96: 1289-1296.
- Miller-Rushing A.J., Katsuki T., Primack R.B., Ishii Y., Lee S.D. et Higuchi H. 2007. Impact of global warming on a group of related species and their hybrids: cherry tree (Rosaceae) flowering at Mt. Takao, Japan. *American Journal of Botany*, 94 : 1470-1478.
- Morjan C.L. et Rieseberg L.H. 2004. How species evolve collectively: implications of gene flow and selection for the spread of advantageous alleles. *Molecular Ecology*, 13 : 1341-1356.
- O'Neill S.D. 1997. Pollination regulation of flower development. *Annual review of plant biology*, 48 : 547-574.
- Parmesan C. et Yohe G. 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, 421 : 37-42.

Pau S., Wolkovich E.M., Cook B.I., Davies T.J., Kraft N.J.B., Bolmgren K., Betancourt J.L. et Cleland E.E. 2011. Predicting phenology by integrating ecology, evolution and climate science. *Global Change Biology*, 17 : 3633-364

Prevéy, J. Vellend, M., Ruger, N., Hollister, R., Bjorkman, A., Meyers-Smith, I., Elmendorf, S., Clark, k., Cooper, E.J., Elberling, B., et al., 2017. Greater temperature sensitivity of plant phenology at colder sites: Implications for convergence across northern latitudes. *Global Change Biology*, en impression.

Primack D., Imbres C., Primack R.B., Miller-Rushing A.J. et Del Tredici P. 2004. Herbarium specimens demonstrate earlier flowering times in response to warming in Boston. *American Journal of Botany*, 91 : 1260-1264.

Primack R.B., Ibanez I., Higuchi H., Lee S.D., Miller-Rushing A.J., Wilson A.M. et Silander J.A. 2009. Spatial and interspecific variability in phenological responses to warming temperatures. *Biological Conservation*, 142 : 2569-2577.

R Development Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Website <http://www.R-project.org/>.

Rathcke B. et Lacey E.P. 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16 : 179-214.

Root T.L., Price J.T., Hall K.R., Schneider S.H., Rosenzweig C. et Pounds J.A. 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature*, 421 : 57-60.

Rozzi R., Arroyo M.K. et Armesto J.J. 1997. Ecological factors affecting gene flow between populations of *Anarthrophyllum cumingii* (Papilionaceae) growing on equatorial-and polar-facing slopes in the Andes of Central Chile. *Plant Ecology*, 132 : 171-179.

Savage J. 2014. Changements temporels de végétation sur quatre décennies le long d'un gradient altitudinal: effets du réchauffement climatique. Master Thesis, Université de Sherbrooke, Québec.

Schoener T.W. 1970. Nonsynchronous spatial overlap of lizards in patchy habitats. *Ecology*, 51 : 408-418.

Schwartz M.D. et Reiter B.E. 2000. Changes in North American spring. *International Journal of Climatology*, 20 : 929-932.

Slarkin M. 1985. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16 : 393-430.

Stanton M.L., Galen C. et Shore J. 1997. Population structure along a steep environmental gradient: consequences of flowering time and habitat variation in the snow buttercup, *Ranunculus adoneus*. *Evolution*, 51 : 79-94.

Stern R., Meron M., Naor A., Wallach R., Bravdo B. et Gazit S. 1998. Effect of Fall Irrigation Level in Mauritius' and Floridian' Lychee on Soil and Plant Water Status, Flowering Intensity, and Yield. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 123 : 150-155.

Wang H.J., Ge Q.S., Dai J.H. et Tao Z.X. 2015. Geographical pattern in first bloom variability and its relation to temperature sensitivity in the USA and China. *International Journal of Biometeorology*, 59 : 961-969.

Willenborg C.J., Luschei E.C., Brule-Babel A.L. et Van Acker R.C. 2009. Crop genotype and plant population density impact flowering phenology and synchrony between cropped and volunteer spring wheat. *Agronomy Journal*, 101 : 1311-1321.

CHAPITRE 4

DISCUSSION GÉNÉRALE ET CONCLUSION

Plusieurs études ont démontré que le climat n'est pas suffisant à lui seul afin d'expliquer comment les espèces déplacent leurs distributions et s'adaptent aux changements climatiques (Harsch *et al.*, 2009 ; Chen *et al.*, 2011 ; Pau *et al.*, 2011 ; Zhu *et al.*, 2012). En effet, les réactions des espèces à ces changements dépendent d'un grand nombre de facteurs biotiques et abiotiques variant eux-mêmes dans l'espace et le temps (HilleRisLambers *et al.*, 2013). Pour prédire de façon précise comment les espèces vont réagir aux changements climatiques, il est nécessaire de comprendre quels facteurs affectent ces réactions et comment ces facteurs varient spatialement. Dans le cadre des deux précédents chapitres, nous avons étudié les interactions biotiques et la phénologie le long d'un gradient altitudinal situé dans l'est de l'Amérique du Nord afin de mieux comprendre comment ces facteurs varient dans l'espace et peuvent potentiellement influencer la réaction des espèces aux changements climatiques.

4.1 Interactions biotiques le long d'un gradient altitudinal

Les résultats du second chapitre indiquent que les interactions biotiques positives peuvent diminuer et les interactions négatives peuvent augmenter aux limites de distributions altitudinales des espèces. Ce patron a effectivement été observé pour la limitation pollinique et l'herbivorie chez *Trillium erectum* (Fig. 2 et 3). La présence d'interactions négatives fortes et d'interactions positives faibles peut affecter le fitness individuel et la croissance des populations (Maron *et al.*, 2014). Toutefois, malgré une augmentation de la limitation pollinique à la limite de distribution de *T. erectum*, cela n'a pas provoqué une diminution importante du succès reproducteur (Fig. 2). Par conséquent, l'impact de la pollinisation sur la limite altitudinale de *T. erectum* et sa réaction aux changements climatiques est

probablement faible. Cependant, en se basant sur des études antérieures (Knight *et al.*, 2009 ; Kalisz *et al.*, 2014), la proportion d'herbivorie observée à la limite altitudinale de *T. erectum* semble suffisante pour provoquer une croissance négative des populations. Cela suggère que l'herbivorie est un facteur contribuant à limiter la distribution altitudinale de *T. erectum* et sa capacité à déplacer sa distribution en réponse aux changements climatiques.

Il est toutefois impossible de déterminer avec certitude la véracité de cette affirmation sans connaître l'impact démographique de l'herbivorie sur les populations situées à la limite de distribution altitudinale de *T. erectum*. Obtenir une telle information nécessite une prise de données démographiques sur plusieurs années (ex. : Knight, 2004 ; Kalisz *et al.*, 2014), ce qui était impossible dans le cadre de ce projet. Nous avons basé notre inférence sur plusieurs études antérieures ayant effectué de telles observations sur la même espèce (Kalisz *et al.*, 2014) et une espèce appartenant au même genre et ayant un cycle de vie pratiquement identique; *T. grandiflorum* (Knight, 2004 ; Knight *et al.*, 2009). Bien que ces études ne puissent garantir avec certitude que l'herbivorie observée à notre site d'étude produit une croissance négative des populations, elles indiquent qu'une telle conséquence est observée dans les autres systèmes étudiés. Ensuite, certaines études ont observé une variabilité interannuelle importante dans l'intensité de certaines interactions biotiques (Augustine *et al.*, 1998 ; Stone et Jenkins, 2008 ; Kameyama *et al.*, 2015 ; Theobald *et al.*, 2016). Il est ainsi possible que les patrons d'herbivorie et de limitation pollinique observés en 2016 ne soient pas représentatifs de la tendance générale à long terme. Par contre, une observation qualitative de l'herbivorie en 2015 suggère la présence du même patron pour une seconde année, ce qui augmente notre confiance quant à la généralité de nos résultats. De plus, l'absence de diminution du succès reproducteur en 2015 à la limite de distribution de *T. erectum* indique que la limitation pollinique aurait été absente ou aurait eu un faible impact durant cette année également. Il est toutefois plus difficile de faire de généralisation à partir du patron de limitation pollinique observé chez *E. americanum* en 2016. Nous pouvons par contre supposer que même si elle était présente durant certaines années, la limitation

pollinique, n'étant pas présente durant toutes les années, ne devrait pas avoir un impact majeur sur la survie des populations à la limite de distribution altitudinale.

Comprendre comment les interactions biotiques varient le long de la distribution des espèces représente une première étape pour mieux comprendre comment ces facteurs vont affecter les déplacements des distributions des espèces en réponse aux changements climatiques (HilleRisLambers *et al.*, 2013). Ainsi, notre étude consiste en une première étape dans la compréhension de la réponse des plantes de sous-étage aux changements climatiques. De plus, elle soulève de nombreuses hypothèses pour expliquer le patron d'herbivorie que nous avons observé. Plusieurs de ces hypothèses, ainsi qu'une meilleure compréhension des variations interannuelles de l'herbivorie, seront adressées dans le cadre de futures études. Entre autres, trois hypothèses non mutuellement exclusives peuvent expliquer l'augmentation de la proportion d'herbivorie à la limite de distribution altitudinale de *T. erectum*. Premièrement, il est possible que la fréquence de visitation du cerf de Virginie (*Odocoileus virginianus*) soit plus élevée à haute élévation comparativement à basse élévation. Un tel patron semble toutefois peu probable puisque les cerfs de Virginie sont généralement plus abondants dans les forêts décidues se trouvant à basse élévation que dans les forêts boréales (Hewitt, 2011). Ensuite, il est possible que l'orignal (*Alces americanus*), espèce d'ongulé habitant les forêts boréales (Martin *et al.*, 1961 ; Pastor *et al.*, 1988), consomme également *T. erectum* à haute élévation. Toutefois, à notre connaissance, il n'existe aucune mention de consommation de *Trillium* par cette espèce. De plus, l'orignal n'a pas connu la même augmentation démographique que le cerf de Virginie durant les dernières décennies. Finalement, il est possible que le cerf de Virginie consomme sélectivement *T. erectum* comparativement à d'autres espèces végétales. Il est documenté que les ongulés consomment les ressources végétales disponibles de façon sélective, affichant des préférences pour certaines espèces (Augustine et McNaughton, 1998). Puisque l'abondance de *T. erectum* est très élevée à basse élévation, une telle sélectivité est peu susceptible de provoquer la consommation d'une grande proportion de plantes. Toutefois, à haute élévation, où la densité en individus est très faible, la sélectivité du cerf de Virginie

pour *T. erectum* peut potentiellement entraîner la consommation d'une grande proportion d'individus. Cette dernière hypothèse est appuyée par de nombreuses observations témoignant de la préférence du cerf de Virginie pour les espèces du genre *Trillium* comparativement à d'autres plantes de sous-étage (Anderson, 1994 ; Augustine, 1997 ; Rouleau *et al.*, 2002). Si cette dernière hypothèse est exacte, le patron altitudinal de l'herbivorie observé pour *T. erectum* pourrait être généralisable aux espèces de plantes préférées par le cerf de Virginie. L'absence d'un tel patron chez *E. americanum* peut être expliqué par les motifs présents sur ses feuilles qui servent de camouflage face aux herbivores dichromates (possédant uniquement deux types de cônes dans les yeux) comme le cerf de Virginie (La Rocca *et al.*, 2014).

Les modèles actuels prédisant l'effet des changements climatiques sur les distributions des espèces sont généralement basés uniquement sur les facteurs abiotiques (VanDerWal *et al.*, 2009 ; Gilman *et al.*, 2010). Nos résultats, ainsi que d'autres études (ex. : Moeller *et al.*, 2012 ; Chalcoff *et al.*, 2012 ; Brown and Vellend, 2014 ; Urli *et al.*, 2016 ; Stanton-Geddes *et al.*, 2012), indiquent que les interactions biotiques doivent être prises en considération afin de permettre des prédictions adéquates des déplacements des distributions des espèces en réponse aux changements climatiques. Par contre, nos résultats indiquent que les patrons d'interactions biotiques en fonction de l'altitude sont spécifiques aux espèces. *T. erectum* et *E. americanum* sont tous deux des plantes herbacées de sous-étage à floraison vernale de l'est de l'Amérique du Nord habitant les forêts décidues (Lapointe, 2001). Leurs limites de distribution altitudinales au parc national du Mont-Mégantic sont également situées à des altitudes similaires. Malgré cette similarité dans leurs niches écologiques, les deux espèces possèdent des patrons d'herbivorie et de limitation pollinique complètement différents. Ces résultats suggèrent qu'il sera difficile de faire des généralisations au sein d'une communauté quant aux facteurs limitant les distributions des espèces et leurs déplacements de distributions.

4.2 Phénologie et flux génique

Les résultats préliminaires du chapitre 3 suggèrent que les populations d'altitudes différentes ont des sensibilités phénologiques différentes. En effet, l'année avec le printemps le plus hâtif était celle caractérisée par le plus grand écart temporel entre les pics de floraison (Fig. 7). Une initiation hâtive des événements biologiques printaniers des plantes est associée à un printemps chaud et est observée en réponse aux changements climatiques (Menzel, 2000 ; Schwartz et Reiter, 2000). Par conséquent, les patrons phénologiques observés lors de printemps hâtifs devraient être comparables à ceux observés en réponse aux changements climatiques. Nous supposons ainsi que les changements climatiques devraient augmenter l'écart temporel entre la floraison des populations d'altitudes différentes. Nos résultats sont comparables à certaines études qui ont observé une plus grande sensibilité phénologique à la température pour les populations d'environnements plus chauds chez plusieurs espèces, ce qui prédit le même patron (Menzel *et al.*, 2006 ; Wang *et al.*, 2015).

Toutefois, un plus grand écart temporel entre la phénologie de la floraison des populations d'altitudes différentes lors d'années aux printemps plus hâtifs n'a pas provoqué une diminution du potentiel de flux génique (Tableaux 4 et 5). Le potentiel de flux génique ne dépend pas uniquement d'une valeur phénologique unique de la distribution de la floraison telle que le pic ou la première date de floraison, mais aussi de la variance de cette distribution et de la démographie. Nos résultats indiquent que ces paramètres ne peuvent pas être ignorés pour estimer le potentiel de flux génique. Puisqu'ils sont plus faciles à obtenir, la plupart des données phénologiques de la floraison disponibles consistent en une date unique afin de caractériser la phénologie d'une population (Miller-Rushing *et al.*, 2008). Ainsi, la plupart des études phénologiques à long terme disposent uniquement de ce type de données. Nos résultats préliminaires indiquent que de telles données ne sont pas suffisantes pour prédire comment le potentiel de flux génique sera affecté par les changements climatiques.

Bien qu'un changement de la quantité de flux génique en réponse aux changements climatiques ait été hypothétisé (Bjorkman *et al.*, 2015), à notre connaissance, cette possibilité n'a jamais été testée autre que dans le contexte d'une sécheresse (Franks et Weis, 2009).

Notre étude permet de franchir une étape dans la compréhension du lien entre flux génique et changements climatiques. Par contre, étant une analyse préliminaire, les résultats doivent être interprétés avec prudence. Les analyses ont été effectuées en disposant uniquement de quatre années de données. Parmi ces années, l'année 2013 s'est démarquée des trois autres par une initiation de la floraison plus hâtive. Ainsi, nous disposons uniquement d'une année pour caractériser la phénologie lors d'années aux printemps hâtifs. Ce projet précède un suivi à plus long terme de la phénologie de la floraison au Mont-Mégantic. La présence d'autres années de données caractérisées par une initiation hâtive de la floraison augmentera notre confiance à savoir si nos observations phénologiques en 2013 sont représentatives des années aux printemps hâtifs en général. Bien que nous n'ayons pas observé de lien entre l'écart temporel entre les pics de floraison et le potentiel de flux génique, il est possible qu'une relation entre ces deux paramètres soit observée avec un plus grand nombre d'années de données. Nous croyons tout de même que cela n'enlève pas d'importance à nos observations puisqu'elles démontrent qu'utiliser une seule date comme mesure phénologique pourrait mener à des conclusions erronées.

Dans le cadre de ce chapitre, nous avons mis au point une nouvelle méthode afin d'estimer le potentiel de flux génique. La plupart des études estimant ce dernier à partir de la phénologie utilisent actuellement une mesure du chevauchement de la floraison (Rozzi *et al.*, 1997 ; Franks et Weis, 2009 ; Willenborg *et al.*, 2009 ; Matter *et al.*, 2013). Toutefois, ces mesures ne prennent pas en compte certaines informations déterminant le potentiel de flux génique. Notre méthode de mesure du potentiel de flux génique consiste en un modèle basé sur les processus phénologiques et démographiques déterminant ce dernier. De plus, elle nécessite la même information utilisée pour estimer le chevauchement de la floraison, c'est-à-dire la distribution de la floraison des populations d'intérêt. Notre mesure omet volontairement les paramètres liés à la distance et le comportement des pollinisateurs. Nous avons comme objectif de conserver une mesure utilisable avec des données phénologiques relativement simples. L'objectif de la mesure n'est pas d'obtenir une estimation précise du flux génique, mais plutôt d'indiquer comment il est limité par les paramètres phénologiques. Cette

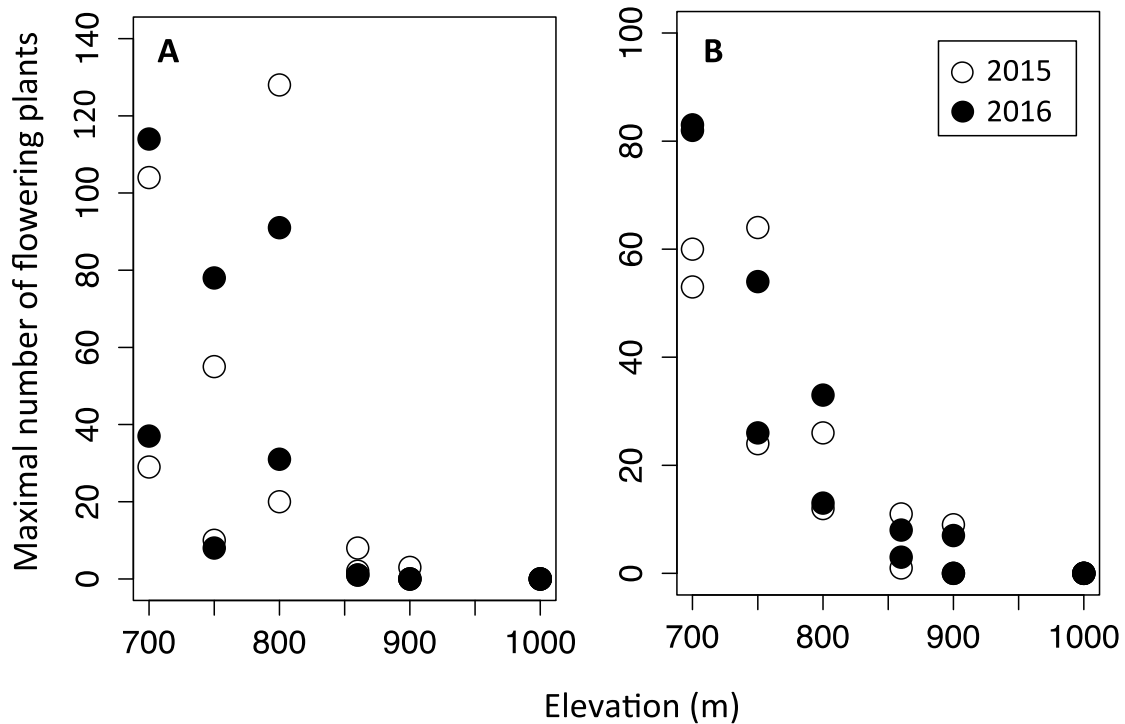
méthode de mesure pourra être utilisée dans le futur afin d'estimer avec une plus grande exactitude comment la phénologie de la floraison affecte le potentiel de flux génique. Ainsi, il sera possible de déterminer avec une plus grande confiance si les changements climatiques affecteront le flux génique dans le futur.

4.3 Conclusion

Nos études ont permis de mieux comprendre comment les variations des interactions biotiques et de la phénologie le long de gradients climatiques affectent la capacité des plantes à s'adapter aux changements climatiques. Les facteurs biotiques tels que l'herbivorie peuvent affecter de façon importante les plantes de sous-étage aux limites nordiques de leurs distributions. Ensuite, les réactions phénologiques des plantes aux conditions environnementales semblent varier le long de gradients climatiques. Toutefois, cette variation semble avoir un faible impact sur la capacité des plantes à s'adapter aux changements climatiques.

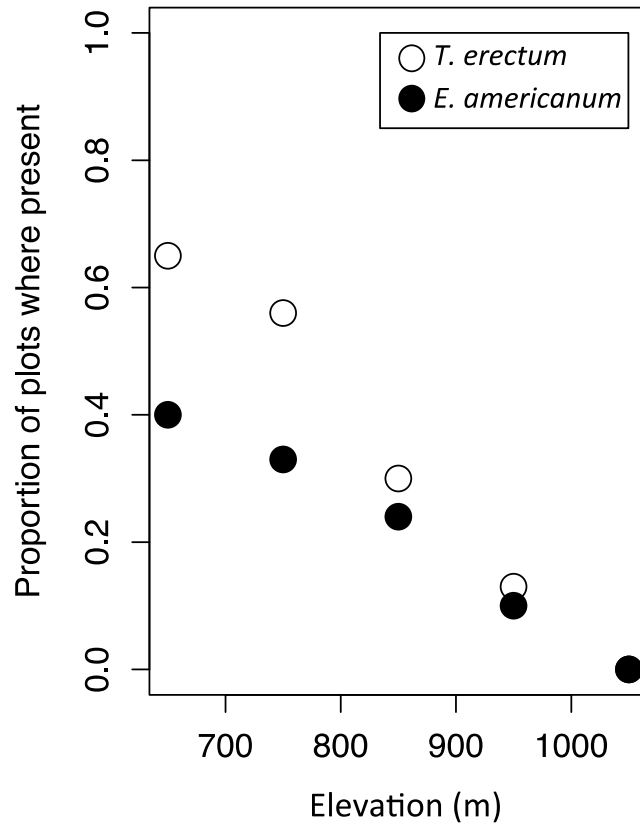
ANNEXES

APPENDIX S1



Appendix S1.1. Elevational variation in the maximal number of flowering plants observed on a given day during the flowering period for *Erythronium americanum* (A) and *Trillium erectum* (B) in 2015 (white dots) and 2016 (black dots). Observations of the number of flowering individuals per plot were conducted at approximately 3-4 days interval during the whole flowering period in 12 permanent plots (each data point is one 104 m² plot) on the eastern flank of Mont-Saint-Joseph. Plots are arranged along two transects adjacent to those used for the herbivory and pollen limitation experiment. For a more detailed description of these plots, see Lajoie and Vellend (2015)¹.

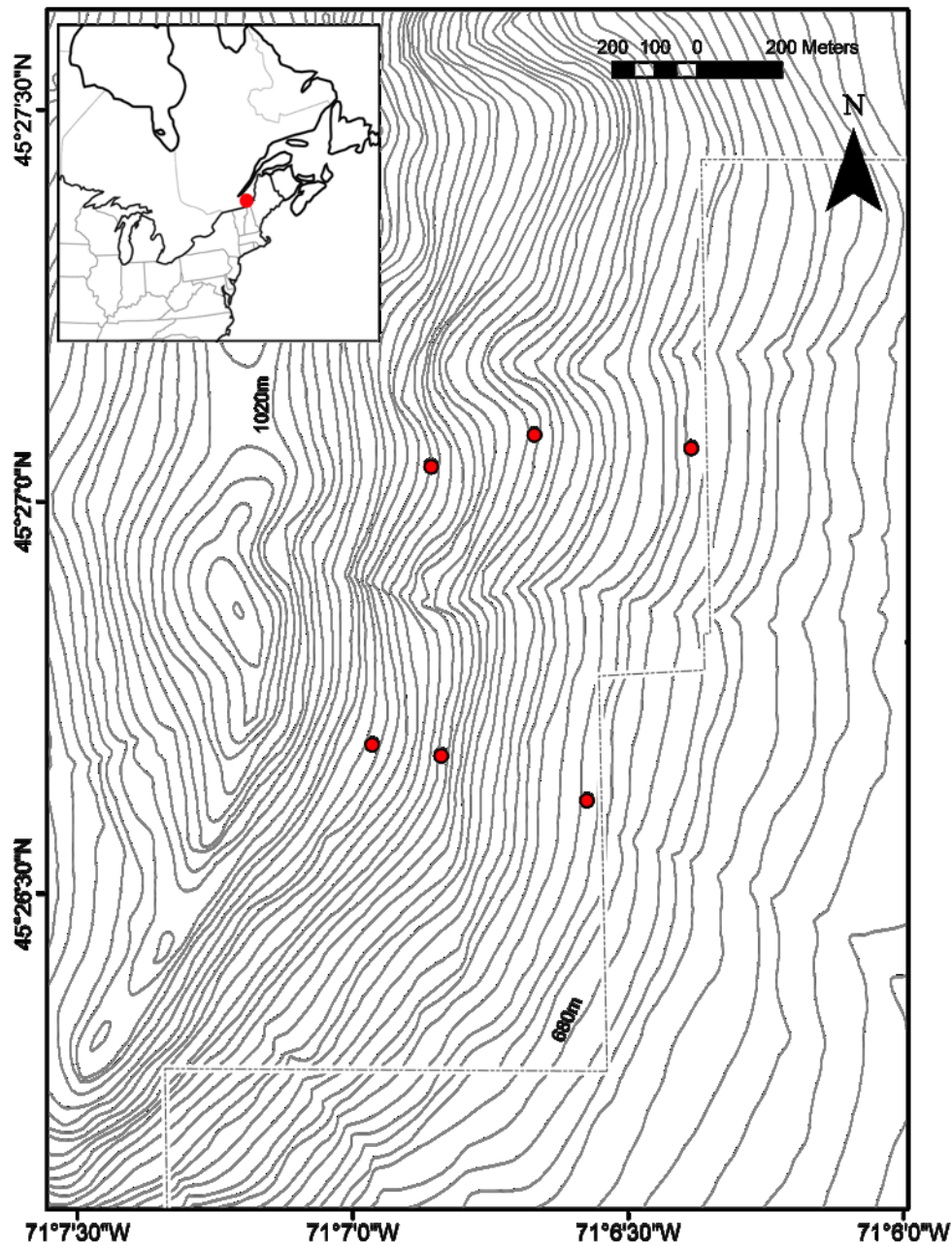
¹ Lajoie, G., and M. Vellend. 2015. Understanding context dependence in the contribution of intraspecific variation to community trait-environment matching. *Ecology* 96: 2912-2922.



Appendix S1.2. Data from Hall (1998)¹ illustrating elevational variation in the proportion of plots (30m-radius circles) where *Trillium erectum* or *Erythronium americanum* were found to be present in Mont-Mégantic National Park. Plots were distributed throughout the entire park (see Hall 1998 for details).

¹ Hall, G. 1998. Inventaire floristique du Parc du Mont-Mégantic. Ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec.

APPENDIX S2



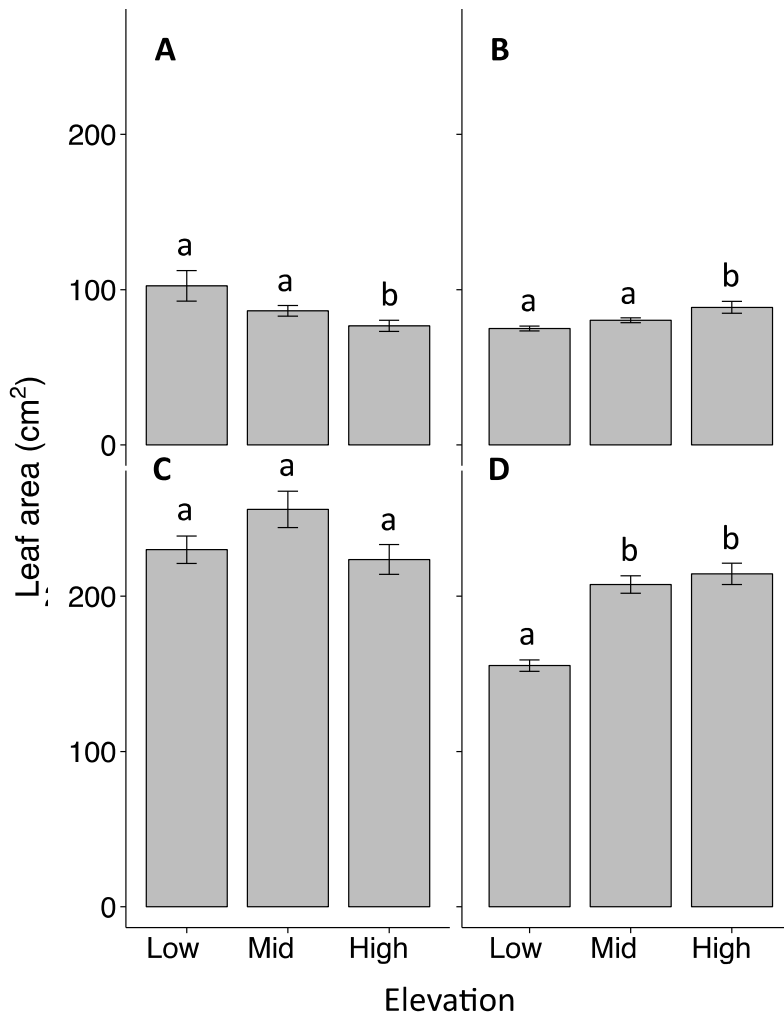
Appendix S2. Map of experimental sites on the eastern flank of Mont-Saint-Joseph, from low (right) to high (left) elevation, along two transects. The dotted line shows the boundary of Parc National du Mont-Mégantic, with the park being to the west of the line. Contour lines are at 10 m intervals.

APPENDIX S3

As an index of plant size, we calculated the product of the length and width of each leaf, and summed across leaves for *E. americanum*, and multiplied by three for *T. erectum*. For *T. erectum*, we estimated total leaf area by first collecting (outside the experimental plots) 45 sexually reproductive plants covering a wide range of sizes, and measuring the length and width of one leaf. Each of these plants was digitally scanned, and their total leaf area estimated using ImageJ (Schneider, Rasband, and Eliceiri, 2012)¹. We then used a general linear model to predict total leaf area with three times the product (P) of leaf length and width, assuming a zero y-intercept. We used the resulting regression equation with estimated coefficient B_1 to calculate total leaf area ($R^2 = 0.98$): Estimated leaf area = $B_1 3P$. We did not parameterize a leaf area equation for *E. americanum*, but given the constancy of the lanceolate leaf shape across plants, we expect the product of leaf length and width to provide a precise index of total leaf area, as it does for *T. erectum* (the magnitude of the slope estimate has no influence on the statistical analysis).

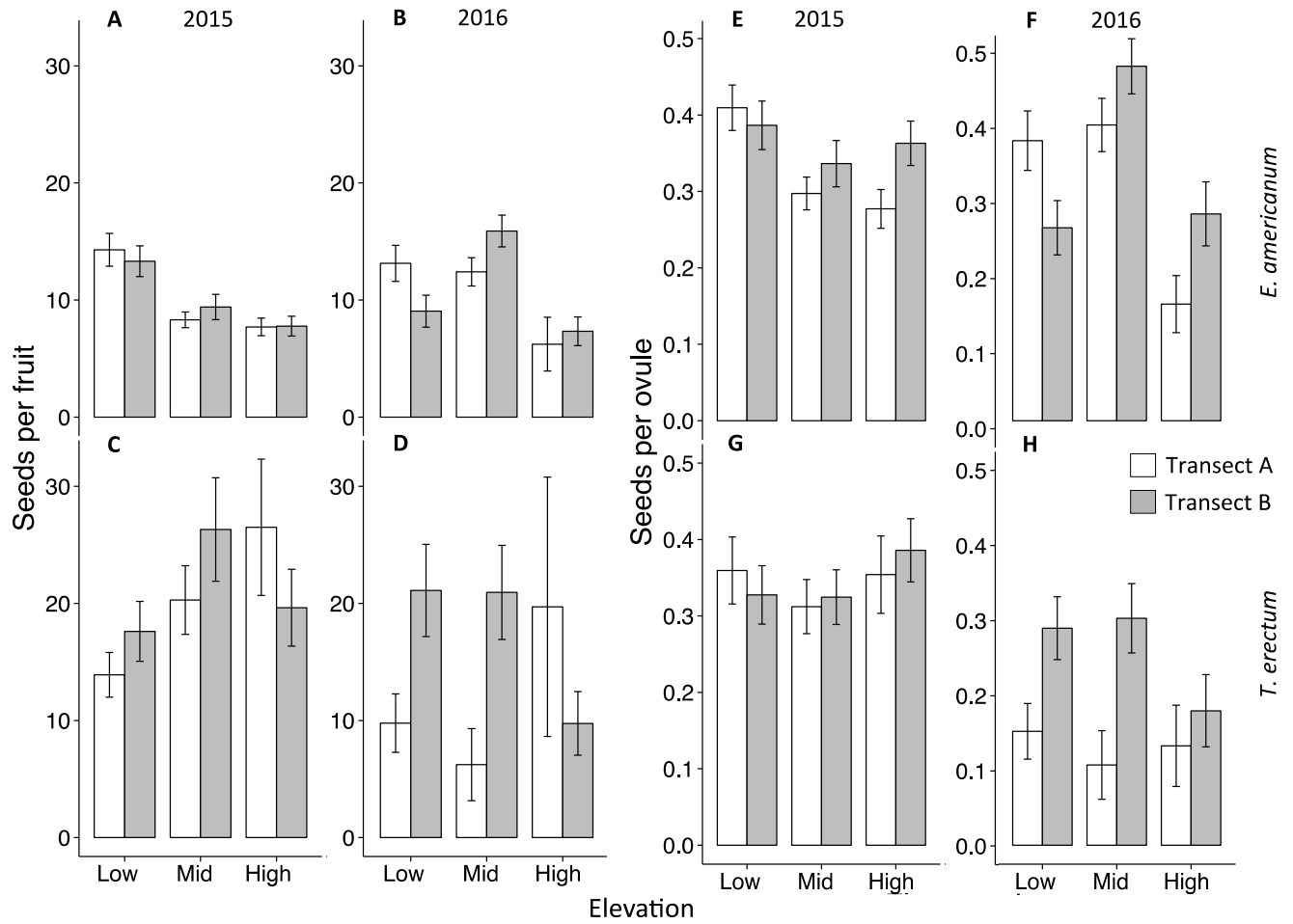
¹ Schneider, C.A., Rasband, W.S. and Eliceiri, K.W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 Years of Image Analysis. *Nature Methods*, 9: 671-675.

APPENDIX S4

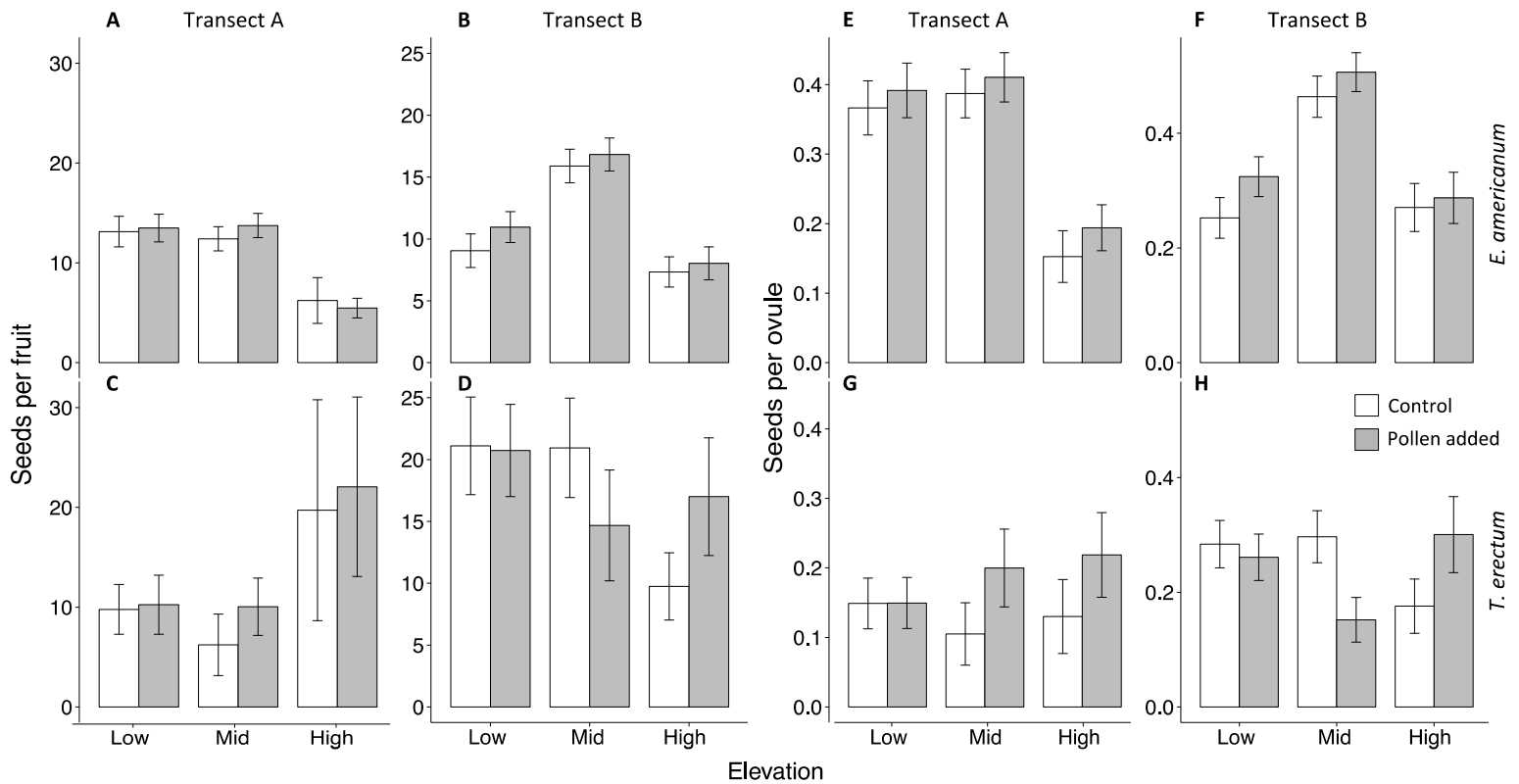


Appendix S4. Elevational variation in leaf area for *Erythronium americanum* (A, B) and *Trillium erectum* (C, D) in 2015 (A, C) and 2016 (B, D). For *Erythronium americanum* there was a significant effect of elevation on leaf area in 2015 and 2016. *Erythronium americanum* plants had reduced leaf area at high elevation compared to low elevation in 2015 ($t = -2.41$, $P = 0.021$) but the opposite trend was observed in 2016 ($t = 2.11$, $P = 0.037$). For *Trillium erectum*, there was no significant effect of elevation on leaf area in 2015. In 2016, mid and high elevation plants had greater leaf area than low elevation plants (high elevation: $t = 7.89$, $P < 0.0001$; mid elevation: $t = 7.17$, $P < 0.0001$).

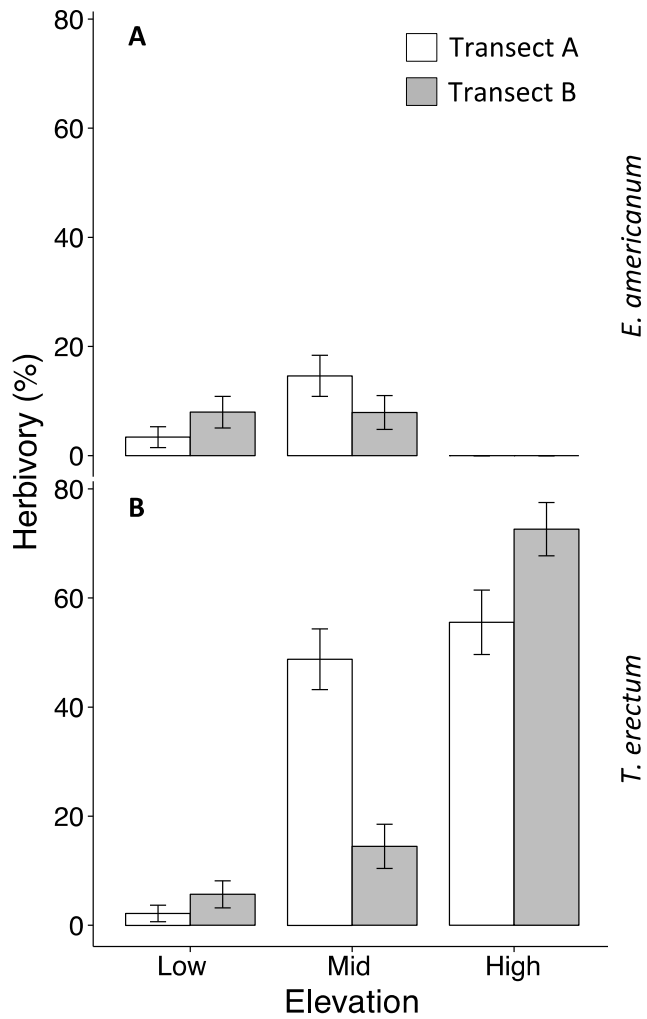
APPENDIX S5



Appendix S5.1. Elevational variation in seeds per fruit (absolute seed set, A-D) and seeds per ovule (relative seed set, E-H) on each transect for *Erythronium americanum* (A, B, E, F) and *Trillium erectum* (C, D, G, H) in 2015 (A, C, E, G) and 2016 (B, D, F, H). Graphs show means and standard errors on raw data.



Appendix S5.2. The effect of pollen supplementation on seeds per fruit (absolute seed set, A-D) and seeds per ovule (relative seed set, E-H) along the elevational transects A (A, C, E, G) and B (B, D, F, H) for *Erythronium americanum* (A, B, E, F) and *Trillium erectum* (C, D, G, H) in 2016. White bars indicate control flowers while grey bars indicate pollen-supplemented flowers. Graphs show means and standard errors on raw data.



Appendix S5.3. Elevational variation in percentage herbivory of *Erythronium americanum* (A) and *Trillium erectum* (B) along each transect. Graphs show means and standard errors on raw data.

BIBLIOGRAPHIE

- Aguilée R., Raoul G., Rousset F. et Ronce O. (2016). Pollen dispersal slows geographical range shift and accelerates ecological niche shift under climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*, 5741-5748.
- Aitken S.N. et Whitlock M.C. (2013). Assisted gene flow to facilitate local adaptation to climate change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *44*, 367-388.
- Aizen M.A. et Harder L.D. (2007). Expanding the limits of the pollen-limitation concept: effects of pollen quantity and quality. *Ecology*, *88* : 271-281.
- Anderson R.C. (1994). Height of white-flowered trillium (*Trillium grandiflorum*) as an index of deer browsing intensity. *Ecological Applications*, *4*, 104-109.
- Araújo M.B. et Luoto M. (2007). The importance of biotic interactions for modelling species distributions under climate change. *Global Ecology and Biogeography*, *16*, 743-753.
- Ashman T.L., Knight T.M., Steets J.A., Amarasekare P., Burd M., Campbell D.R., Dudash M.R., Johnston M.O., Mazer S.J., Mitchell R.J., et al. (2004). Pollen limitation of plant reproduction: ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology*, *85*, 2408-2421.
- Augustine D.J. (1997). Grazing patterns and impacts of white-tailed deer in a fragmented forest ecosystem. Master. Thesis, University of Minnesota, St. Paul, Minnesota, USA.
- Augustine D.J. et McNaughton S.J. (1998). Ungulate Effects on the Functional Species Composition of Plant Communities: Herbivore Selectivity and Plant Tolerance. *The Journal of Wildlife Management*, *62*, 1165-1183.
- Augustine D.J., Frelich L.E. et Jordan P.A. 1998. Evidence for two alternate stable states in an ungulate grazing system. *Ecological Applications*, *8*, 1260-1269.
- Bjorkman A.D., Elmendorf S.C., Beamish A.L., Vellend M. et Henry G.H.R. (2015). Contrasting effects of warming and increased snowfall on Arctic tundra plant phenology over the past two decades. *Global Change Biology*, *21*, 4651-4661.
- Boulangéat I., Gravel D. et Thuiller W. (2012). Accounting for dispersal and biotic interactions to disentangle the drivers of species distributions and their abundances. *Ecology Letters*, *15*, 584-593.

Brown C.D. et Vellend M. (2014). Non-climatic constraints on upper elevational plant range expansion under climate change. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, *281*, 20141779.

Brys R., Jacquemyn H., De Bruyn L. et Hermy M. (2007). Pollination success and reproductive output in experimental populations of the self-incompatible *Primula vulgaris*. *International Journal of Plant Sciences*, *168*, 571-578.

Burd M. (1994). Bateman principle and plant reproduction - the role of pollen limitation in fruit and seed set. *Botanical Review*, *60*, 83-139.

CaraDonna P.J., Iler A.M. et Inouye D.W. (2014). Shifts in flowering phenology reshape a subalpine plant community. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *111*, 4916-4921.

Case T.J. et Taper M.L. (2000). Interspecific competition, environmental gradients, gene flow, and the coevolution of species' borders. *American Naturalist*, *155*, 583-605.

Case T.J., Holt R.D., McPeck M.A. et Keitt T.H. (2005). The community context of species' borders: ecological and evolutionary perspectives. *Oikos*, *108*, 28-46.

Chen I.-C., Hill J.K., Ohlemüller R., Roy D.B. et Thomas C.D. (2011). Rapid range shifts of species associated with high levels of climate warming. *Science*, *333*, 1024-1026.

Connell J.H. (1971). On the role of natural enemies in preventing competitive exclusion in some marine animals and in rain forest trees. *Dynamics of populations*, P.J den Boer, et G. Gradwell. Wageningen, eds. (Wageningen, Netherlands: Centre for Agricultural Publishing and Documentation), pp. 298-312.

Crawley M.J. (2009). *Plant-herbivore dynamics*. *Plant Ecology*, Second Edition, John Wiley and Sons (Malden, USA: Blackwell Publishing), pp. 401-474.

Dafni A., Lehrer M. et Kevan P.G. (1997). Spatial flower parameters and insect spatial vision. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *72*, 239-282.

Eckert C.G., Samis K.E. et Lougheed S.C. (2008). Genetic variation across species' geographical ranges: the central-marginal hypothesis and beyond. *Molecular Ecology*, *17*, 1170-1188.

Edwards J. (1985). Effects of herbivory by moose on flower and fruit production of *Aralia nudicaulis*. *The Journal of Ecology*, *73*, 861-868.

- Elliott S.E. et Irwin R.E. (2009). Effects of flowering plant density on pollinator visitation, pollen receipt, and seed production in *Delphinium barbeyi* (Ranunculaceae). *American Journal of Botany*, *96*, 912-919.
- Ellstrand N.C. (1992). Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics. *Oikos*, *63*, 77-86.
- Ellstrand N.C. (2014). Is gene flow the most important evolutionary force in plants? *American Journal of Botany*, *101*, 737-753.
- Elzinga J.A., Atlan A., Biere A., Gigord L., Weis A.E. et Bernasconi G. (2007). Time after time: flowering phenology and biotic interactions. *Trends in Ecology & Evolution*, *22*, 432-439.
- Fagan W.F., Lewis M., Neubert M.G., Aumann C., Apple J.L. et Bishop J.G. (2005). When can herbivores slow or reverse the spread of an invading plant? A test case from Mount St. Helens. *American Naturalist*, *166*, 669-685.
- Fox G.A. (2003). Assortative mating and plant phenology: evolutionary and practical consequences. *Evolutionary Ecology Research*, *5*, 1-18.
- Franks S.J. et Weis A.E. (2009). Climate change alters reproductive isolation and potential gene flow in an annual plant. *Evolutionary Applications*, *2*, 481-488.
- Garant D., Forde S.E. et Hendry A.P. (2007). The multifarious effects of dispersal and gene flow on contemporary adaptation. *Functional Ecology*, *21*, 434-443.
- Gaston K.J. (2003). *The Structure and Dynamics of Geographic Ranges* (Oxford: Oxford University Press).
- Gaston K.J. (2009). Geographic range limits of species. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, *276*, 1391-1393.
- Gerber J.D., Baltisberger M. et Leuchtman A. (2004). Effects of a snowmelt gradient on the population structure of *Ranunculus alpestris* (Ranunculaceae). *Botanica Helvetica*, *114*, 67-78.
- Gilman S.E., Urban M.C., Tewksbury J., Gilchrist G.W. et Holt R.D. (2010). A framework for community interactions under climate change. *Trends in Ecology & Evolution*, *25*, 325-331.
- Grindeland J.M., Sletvold N. et Ims R.A. (2005). Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. *Functional Ecology*, *19*, 383-390.

Gunton R.M. et Kunin W.E. 2007. Density effects at multiple scales in an experimental plant population. *Journal of Ecology*, *95*, 435-445.

Hampe A. et Petit R.J. (2005). Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters*, *8*, 461-467.

Hardie D.C. et Hutchings J.A. (2010). Evolutionary ecology at the extremes of species' ranges. *Environmental Reviews*, *18*, 1-20.

Hargreaves A.L., Weiner J.L. et Eckert C.G. (2015). High-elevation range limit of an annual herb is neither caused nor reinforced by declining pollinator service. *Journal of Ecology*, *103*, 572-584.

Harsch M.A., Hulme P.E., McGlone M.S. et Duncan R.P. (2009). Are treelines advancing? A global meta - analysis of treeline response to climate warming. *Ecology Letters*, *12*, 1040-1049.

Heard M.J., Riskin S.H. et Flight P.A. (2012). Identifying potential evolutionary consequences of climate-driven phenological shifts. *Evolutionary Ecology*, *26*, 465-473.

Hewitt D.G. (2011). *Biology and management of white-tailed deer* (Florida: CRC Press).

HilleRisLambers J., Harsch M.A., Ettinger A.K., Ford K.R. et Theobald E.J. (2013). How will biotic interactions influence climate change-induced range shifts? *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1297*, 112-125.

Hirao A.S. et Kudo G. (2008). The effect of segregation of flowering time on fine-scale spatial genetic structure in an alpine-snowbed herb *Primula cuneifolia*. *Heredity*, *100*, 424-430.

Holt R.D. (2003). On the evolutionary ecology of species' ranges. *Evolutionary Ecology Research*, *5*, 159-178.

Holt R.D. et Barfield M. (2009). Trophic interactions and range limits: the diverse roles of predation. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, *276*, 1435-1442.

Inouye D.W. (2008). Effects of climate change on phenology, frost damage, and floral abundance of montane wildflowers. *Ecology*, *89*, 353-362.

Ison J.L., Wagenius S., Reitz D. et Ashley M.V. (2014). Mating between *Echinacea angustifolia* (Asteraceae) individuals increases with their flowering synchrony and spatial proximity. *American Journal of Botany*, *101*, 180-189.

- Janzen D.H. (1970). Herbivores and the number of tree species in tropical forests. *American Naturalist* 104, 501-528.
- Jump A.S. et Penuelas J. (2005). Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecology Letters*, 8, 1010-1020.
- Kalisz S., Spigler R.B. et Horvitz C.C. (2014). In a long-term experimental demography study, excluding ungulates reversed invader's explosive population growth rate and restored natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111, 4501-4506.
- Kameyama Y., Watanabe M., Kurosawa H., Nishimori T., Matsue D. et Takyu M. (2015). Seasonal changes in pollen limitation and femaleness along the snowmelt gradient in a distylous alpine herb, *Primula modesta*. *Ecology and Evolution*, 5, 5352-5363.
- Karron J.D., Thumser N.N., Tucker R. et Hessenauer A.J. (1995). The influence of population-density on outcrossing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity*, 75, 175-180.
- Kawecki T.J. (2008). Adaptation to marginal habitats. *Annual review of ecology evolution and systematics*, 39, 321-342.
- Kéry M., Matthies D. et Fischer M. (2001). The effect of plant population size on the interactions between the rare plant *Gentiana cruciata* and its specialized herbivore *Maculinea rebeli*. *Journal of Ecology*, 89, 418-427.
- Knight T.M. (2003). Effects of herbivory and its timing across populations of *Trillium grandiflorum* (Liliaceae). *American Journal of Botany*, 90, 1207-1214.
- Knight T.M. (2004). The effects of herbivory and pollen limitation on a declining population of *Trillium grandiflorum*. *Ecological Applications*, 14, 915-928.
- Knight T.M., Caswell H. et Kalisz S. (2009). Population growth rate of a common understory herb decreases non-linearly across a gradient of deer herbivory. *Forest Ecology and Management*, 257, 1095-1103.
- Knight T.M., Steets J.A., Vamosi J.C., Mazer S.J., Burd M., Campbell D.R., Dudash M.R., Johnston M.O., Mitchell R.J. et Ashman T.L. (2005). Pollen limitation of plant reproduction: Pattern and process. *Annual review of ecology evolution and systematics*, 36, 467-497.
- Körner C. (2003). *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems* (Berlin: Springer-Verlag Berlin Heidelberg).

Kremer A., Ronce O., Robledo - Arnuncio J.J., Guillaume F., Bohrer G., Nathan R., Bridle J.R., Gomulkiewicz R., Klein E.K. et Ritland K. (2012). Long - distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecology Letters*, *15*, 378-392.

La Rocca N., Pupillo P., Puppi G. et Rascio N. (2014). *Erythronium dens-canis* L.(Liliaceae): an unusual case of change of leaf mottling. *Plant Physiology and Biochemistry*, *74*, 108-117.

Lajoie G. et Vellend M. (2015). Understanding context dependence in the contribution of intraspecific variation to community trait-environment matching. *Ecology*, *96*, 2912-2922.

Lapointe L. (2001). How phenology influences physiology in deciduous forest spring ephemerals. *Physiologia Plantarum*, *113*, 151-157.

Lenormand T. (2002). Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology & Evolution*, *17*, 183-189.

Levin D.A. (1981). Dispersal versus gene flow in plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, *68*, 233-253.

Louthan A.M., Doak D.F. et Angert A.L. (2015). Where and when do species interactions set range limits? *Trends in Ecology & Evolution*, *30* : 780-792.

Maron J.L. et Crone E. (2006). Herbivory: effects on plant abundance, distribution and population growth. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, *273*, 2575-2584.

Maron J.L., Baer K.C. et Angert A.L. (2014). Disentangling the drivers of context-dependent plant-animal interactions. *Journal of Ecology*, *102*, 1485-1496.

Martin A.C., Zim H.S. et Nelson A.L. (1961). *American wildlife & plants: A guide to wildlife food habits* (New York: Dover Publications, Inc).

Matter P., Kettle C.J., Ghazoul J. et Pluess A.R. (2013). Extensive contemporary pollen-mediated gene flow in two herb species, *Ranunculus bulbosus* and *Trifolium montanum*, along an altitudinal gradient in a meadow landscape. *Annals of Botany*, *111*, 611-621.

Meehl G.A., Stocker T.F., Collins W.D., Friedlingstein P., Gaye A.T., Gregory J.M., Kitoh A., Knutti R., Murphy J.M., Noda A., et al. (2007). Global Climate Projections. In: *Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor et H.L. Miller, eds, (New York: Cambridge University Press), pp. 747-845.

Menzel A. (2000). Trends in phenological phases in Europe between 1951 and 1996. *International Journal of Biometeorology*, *44*, 76-81.

Menzel A., Sparks T.H., Estrella N., Koch E., Aasa A., Ahas R., Alm-Kubler K., Bissolli P., Braslavska O., Briede A., et al. (2006). European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Global Change Biology*, *12*, 1969-1976.

Miller - Rushing A.J., Inouye D.W. et Primack R.B. (2008). How well do first flowering dates measure plant responses to climate change? The effects of population size and sampling frequency. *Journal of Ecology*, *96*, 1289-1296.

Moeller D.A., Geber M.A., Eckhart V.M. et Tiffin P. (2012). Reduced pollinator service and elevated pollen limitation at the geographic range limit of an annual plant. *Ecology*, *93*, 1036-1048.

Morjan C.L. et Rieseberg L.H. (2004). How species evolve collectively: implications of gene flow and selection for the spread of advantageous alleles. *Molecular Ecology*, *13*, 1341-1356.

Ollerton J., Winfree R. et Tarrant S. (2011). How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos*, *120*, 321-326.

Otway S.J., Hector A. et Lawton J.H. (2005). Resource dilution effects on specialist insect herbivores in a grassland biodiversity experiment. *Journal of Animal Ecology*, *74*, 234-240.

Parmesan C. (2006). Ecological and evolutionary responses to recent climate change. *Annual review of ecology evolution and systematics*, *37*, 637-669.

Parmesan C. et Yohe G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, *421*, 37-42.

Pastor J., Naiman R.J., Dewey B. et McInnes P. (1988). Moose, microbes, and the boreal forest. *BioScience*, *38*, 770-777.

Pau S., Wolkovich E.M., Cook B.I., Davies T.J., Kraft N.J.B., Bolmgren K., Betancourt J.L. et Cleland E.E. (2011). Predicting phenology by integrating ecology, evolution and climate science. *Global Change Biology*, *17*, 3633-3643.

Peterson A.T., Soberón J., Pearson R.G., Anderson R.P., Martínez-Meyer E., Nakamura M. et Araújo M.B. (2011). *Ecological Niches and Geographic Distributions* (New Jersey: Princeton University Press).

Pettersson M.W. et Sjodin E. (2000). Effects of experimental plant density reductions on plant choice and foraging behaviour of bees (Hymenoptera : Apoidea). *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science*, 50, 40-46.

Pflugshaupt K., Kollmann J., Fischer M. et Roy B. (2002). Pollen quantity and quality affect fruit abortion in small populations of a rare fleshy-fruited shrub. *Basic and Applied Ecology*, 3, 319-327.

Pidwirny M. (2014). *Understanding Physical Geography (British Columbia: Our Planet Earth Publishing)*.

Prevéy, J. Vellend, M., Ruger, N., Hollister, R., Bjorkman, A., Meyers-Smith, I., Elmendorf, S., Clark, k., Cooper, E.J., Elberling, B., et al. (2017). Greater temperature sensitivity of plant phenology at colder sites: Implications for convergence across northern latitudes. *Global Change Biology*, en impression.

Rathcke B. et Lacey E.P. (1985). Phenological patterns of terrestrial plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 16, 179-214.

Root R.B. (1973). Organization of a plant-arthropod association in simple and diverse habitats: The fauna of collards (*Brassica oleracea*). *Ecological Monographs*, 43, 95-124.

Rouleau I., Crete M. et Ouellet J.-P. (2002). Contrasting the summer ecology of white-tailed deer inhabiting a forested and an agricultural landscape. *Ecoscience*, 9, 459-469.

Rozzi R., Arroyo M.K. et Armesto J.J. (1997). Ecological factors affecting gene flow between populations of *Anarthrophyllum cumingii* (Papilionaceae) growing on equatorial- and polar-facing slopes in the Andes of Central Chile. *Plant Ecology*, 132, 171-179.

Samis K.E. et Eckert C.G. (2009). Ecological correlates of fitness across the northern geographic range limit of a Pacific Coast dune plant. *Ecology*, 90, 3051-3061.

Savage J. et Vellend M. (2015). Elevational shifts, biotic homogenization and time lags in vegetation change during 40 years of climate warming. *Ecography*, 38, 546-555.

Schmitt J. (1980). Pollinator foraging behavior and gene dispersal in *Senecio* (Compositae). *Evolution*, 34, 934-943.

Schneider C.A., Rasband W.S. et Eliceiri K.W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9, 671-675.

Schwartz M.D. et Reiter B.E. (2000). Changes in North American spring. *International Journal of Climatology*, 20, 929-932.

- Sexton J.P., McIntyre P.J., Angert A.L. et Rice K.J. (2009). Evolution and ecology of species range limits. *Annual review of ecology evolution and systematics*, *40*, 415-436.
- Slatkin M. (1985). Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*, *16*, 393-430.
- Slatkin M. (1987). Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, *236*, 787-792.
- Stanton M.L., Galen C. et Shore J. (1997). Population structure along a steep environmental gradient: consequences of flowering time and habitat variation in the snow buttercup, *Ranunculus adoneus*. *Evolution*, *51*, 79-94.
- Stanton-Geddes J., Tiffin P. et Shaw R.G. (2012). Role of climate and competitors in limiting fitness across range edges of an annual plant. *Ecology*, *93*, 1604-1613.
- Stone J.L. et Jenkins E.G. (2008). Pollinator abundance and pollen limitation of a solanaceous shrub at premontane and lower montane sites. *Biotropica*, *40*, 55-61.
- Sun S. et Cheptou P.O. (2012). Life-history traits evolution across distribution ranges: how the joint evolution of dispersal and mating system favor the evolutionary stability of range limits? *Evolutionary Ecology*, *26*, 771-778.
- Sundqvist M.K., Sanders N.J. et Wardle D.A. (2013). Community and ecosystem responses to elevational gradients: processes, mechanisms, and insights for global change. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *44*, 261-280.
- Theobald E.J., Gabrielyan H. et HilleRisLambers J. (2016). Lilies at the limit: Variation in plant-pollinator interactions across an elevational range. *American Journal of Botany*, *103*, 189-197.
- Toftgaard T., Posledovich D., Navarro - Cano J.A., Wiklund C., Gotthard K. et Ehrlén J. (2015). Variation in plant thermal reaction norms along a latitudinal gradient-more than adaptation to season length. *Oikos*, *125*, 622-628.
- Urli M., Brown C.D., Perez R.N., Chagnon P.L. et Vellend M. (2016). Increased seedling establishment via enemy - release at the upper elevational range limit of sugar maple. *Ecology*, *97*, 3058-3069.
- VanDerWal J., Shoo L.P., Johnson C.N. et Williams S.E. (2009). Abundance and the environmental niche: Environmental suitability estimated from niche models predicts the upper limit of local abundance. *The American Naturalist*, *174*, 282-291.

Vankat J.L. (1979). *The Natural Vegetation of North America: An Introduction* (New York: Wiley).

Walther G.-R., Berger S. et Sykes M.T. (2005). An ecological 'footprint' of climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *272*, 1427-1432.

Walther G.R., Post E., Convey P., Menzel A., Parmesan C., Beebee T.J.C., Fromentin J.M., Hoegh-Guldberg O. et Bairlein F. (2002). Ecological responses to recent climate change. *Nature*, *416*, 389-395.

Wang H.J., Dai J.H., Zheng J.Y. et Ge Q.S. (2015a). Temperature sensitivity of plant phenology in temperate and subtropical regions of China from 1850 to 2009. *International Journal of Climatology*, *35*, 913-922.

Wang H.J., Ge Q.S., Dai J.H. et Tao Z.X. (2015b). Geographical pattern in first bloom variability and its relation to temperature sensitivity in the USA and China. *International Journal of Biometeorology*, *59*, 961-969.

Willenborg C.J., Luschei E.C., Brule-Babel A.L. et Van Acker R.C. (2009). Crop genotype and plant population density impact flowering phenology and synchrony between cropped and volunteer spring wheat. *Agronomy Journal*, *101*, 1311-1321.

Zhu K., Woodall C.W. et Clark J.S. (2012). Failure to migrate: lack of tree range expansion in response to climate change. *Global Change Biology*, *18*, 1042-1052.

Ziello C., Estrella N., Kostova M., Koch E. et Menzel A. (2009). Influence of altitude on phenology of selected plant species in the Alpine region (1971–2000). *Climate Research*, *39*, 227-234.

