



THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE BORDEAUX

Spécialité : Ecologie évolutive, fonctionnelle et des communautés

Ecole doctorale : Sciences et Environnements

Variabilité phénotypique et génétique des traits de reproduction de deux espèces de chêne blanc européen (*Quercus petraea* et *Q. robur*).

Thomas Caignard

Directeur: Sylvain Delzon (DR INRA)

Directeur: Antoine Kremer (DR INRA)

Soutenue le 02 mai 2018

Devant la commission d'examen formée de :

Rapporteurs :

Mme Oddou-Muratorio Sylvie (Présidente) DR, CNRS, Montpellier

Mme Chuine Isabelle DR, INRA, Avignon

Examineurs :

Mme Venner Marie-Claude MCU, Université Claude Bernard, Lyon

M Kunstler Georges Ingénieur IAE, IRSTEA, Grenoble

Titre : Variabilité phénotypique et génétique des traits de reproduction de deux espèces de chêne blanc européen (*Quercus petraea* et *Q. robur*).

Résumé :

La dynamique et le fonctionnement des écosystèmes forestiers dépendent fortement de la reproduction des arbres. Ainsi de nombreux travaux se sont intéressés aux fortes fluctuations interannuelles à la fois synchrones et non prévisibles des productions de graines, mais très peu d'études ont pu caractériser la sensibilité aux variables climatiques et le déterminisme des traits de reproduction. Dans le cadre de cette thèse nous avons étudié la reproduction de deux espèces de chênes tempérés européens (*Quercus petraea* et *Quercus robur*) avec pour objectifs (i) d'évaluer l'évolution des traits de reproduction au cours des deux dernières décennies, notamment vis-à-vis des changements de température, (ii) d'estimer la contribution des facteurs génétiques et environnementaux à la variation de ces traits le long de gradients environnementaux et enfin (iii) d'estimer l'héritabilité des traits de reproduction ainsi que d'identifier les régions du génome qui leurs sont associées. A partir de suivis long-termes de l'effort de reproduction « in situ » sur tout le territoire de France métropolitaine, nous avons pu mettre en évidence une augmentation significative de la production fructifère des chênes au cours des 14 dernières années. Ces accroissements du nombre et de la taille des glands sont fortement corrélés à l'augmentation des températures printanières. Cette sensibilité à la température a par ailleurs pu être confirmée grâce à un dispositif indépendant installé le long de gradients altitudinaux dans les Pyrénées. Nos résultats montrent également une différenciation génétique entre les populations provenant du gradient altitudinal et une opposition de signes entre les clines génétique et phénotypique « contre-gradient » pour les deux traits de reproduction étudiés. Contrairement aux traits de croissance pour lesquels nous observons un « co-gradient », le « contre gradient » observé pour la reproduction suggère que les variations génétiques contrecarrent en partie la forte plasticité environnementale, minimisant ainsi la tendance (ou patron) de l'effort de reproduction avec la température. Enfin, nous avons observé une forte héritabilité pour chacun des traits de reproduction chez le chêne pédonculé dans une famille de pleins frères, confirmant l'existence d'un déterminisme génétique évoqué précédemment. De plus, nous avons identifié pour la première fois chez les arbres forestiers, des locus à caractère quantitatif (QTLs) associés à la reproduction du chêne. Ces résultats suggèrent qu'en réponse à des changements environnementaux, les traits de reproduction ont la capacité de répondre à la sélection et de faciliter l'adaptation locale, et ainsi apportent de nouvelles perspectives dans l'étude de la réponse des arbres forestiers aux changements climatiques.

Mots clés : Reproduction, Forêt, Chêne, Adaptation, Gradient environnemental, Changement climatique

Title: Phenotypic and genetic variability of reproduction-related traits in two European white oak species (*Quercus petraea* and *Q. robur*).

Abstract:

Forest ecosystem dynamics closely depend on tree reproduction. Many studies have investigated the synchronous and non-predictable year-to-year variability of seed production, characteristic of masting species. However, little is known about the sensitivity of tree reproduction to climate variables and to which extent this phenotypic variability is genetically and/or environmentally driven. We intensively studied the reproduction of two European temperate oaks and our aims were (i) to characterize the change in reproductive traits over the last two decades, (ii) to assess the determinism of their variations along environmental gradients and (iii) to estimate the heritability of reproductive traits and identify the regions of their genome related to reproduction. We were able to show a dramatic increase in seed production over the last 14 years. This increase in seed production and size was significantly correlated with increasing spring temperatures. We then confirmed this sensitivity to temperature by studying the reproduction of oak populations growing along the elevation gradient of the Pyrenees. Based on a common garden approach, we then showed significant genetic differentiation between oak provenances and demonstrated that the genetic and phenotypic clines for the reproductive traits observed along the environmental gradient have opposite signs (counter-gradient). Contrary to growth traits, for which genetic variation parallels phenotypic variation, the counter-gradient observed for reproduction-related traits suggested that genetic variation partly counteracts the phenotypic effect of temperature, moderating the change in reproductive effort according to temperature. Finally, using a full-sib family where reproduction was monitored during four consecutive years, we found a high heritability of reproductive traits and showed high genetic differentiation between trees of a same population, which confirms the significant genetic determinism observed earlier. Furthermore, we were able to identify for the first time in forest trees quantitative trait loci (QTLs) associated with seed production and size. Our findings show that reproduction-related traits may undergo evolutionary changes under selective pressure and may be determinant for tree adaptation in response to environmental changes.

Key words: Reproduction, Forest, Oak, Adaptation, Environmental Gradient, Climate change

Avant-propos

Ce mémoire de doctorat est rédigé sous forme de thèse sur publication. Cette thèse a été cofinancée pour une durée de trois ans par le programme « Doctorat international » de l'Initiative d'Excellence (IdEx) de l'Université de Bordeaux (ANR-10- IDEX-03- 02) et par le projet TREEPEACE du Conseil Européen de la Recherche (#FP7-339728). Cette thèse a bénéficié d'un prolongement de deux mois, financé par le projet TREEPEACE. Ce travail de recherche s'est déroulé au sein de l'UMR 1202 Biodiversité, Gènes et Communautés (BIOGECO – INRA, Université de Bordeaux), au sein de l'équipe d'Ecologie et de Génomique Fonctionnelles (EGF). Au cours de cette thèse, deux séjours de trois mois ont été effectués dans l'université du Montana à Missoula (Etats Unis) dans l'équipe d'Anna Sala au sein du département « Organismal Biology, Ecology and Evolution » (OBEE) dans le cadre du programme de « Doctorat international » de l'IdEx.

Remerciements

Qu'on se le dise, « la thèse, c'est du boulot ! », mais c'est surtout beaucoup de personnes présentes à vos côtés, beaucoup de personnes sans qui ce manuscrit n'aurait jamais abouti, alors lâchons nous dans le « merci » parce que tout ceux qui suivent valent leur pesant d'or, de sueurs, de neurones, et de cacahuètes... enfin de glands plutôt.

Je souhaite dans un premier temps remercier les membres du jury, Isabelle Chuine, Sylvie Oddou-Muratorio, Marie-Claude Venner et Georges Kunstler d'avoir accepté d'évaluer ce travail.

Sylvain et Antoine, un grand merci à tous les deux de m'avoir donné la chance de travailler, d'apprendre et d'évoluer à vos côtés. Lorsque j'ai commencé ma thèse, je pensais faire preuve de curiosité, avoir un goût prononcé pour la science mais finalement ce n'était rien au regard des deux puits de connaissances que vous êtes, jamais rassasiés d'apprendre et de se creuser la tête avec toujours autant de motivation. De manière plus personnelle, Sylvain merci pour ta bonne humeur constante, je n'ai pas toujours été présent pour les cafés du Caviplace mais je n'ai jamais raté un vendredi soir ! Antoine, merci de ta gentillesse et de chacune de tes histoires passionnantes de voyage à travers les Etats-Unis et l'Europe à récolter des glands. Je ressors de cette thèse avec l'envie de continuer, d'en faire plus, je vous dois donc énormément.

Benjamin, Jean-Marc et Julien, figurez-vous que j'ai fait les comptes, nous avons donc récolté, trié et pesé 724 213 glands soit 1 051 069g entre Bourran, les Pyrénées et Toulence ! Je vous remercie donc 1 tonne de fois chacun pour l'aide précieuse que vous m'avez apporté. Benjamin, merci d'avoir été l'homme de la situation à chaque fois et d'avoir agrémenté nos heures passées au labo de tes blagues qui s'en« chêne ». Jean-Marc, les Pyrénées en ta compagnie m'ont sacrément manqué pendant la rédaction de cette thèse, j'espère que nous aurons d'autres occasions de débattre en voiture sous fond de Pink Floyd (ou autour d'une bouteille de Jurançon). Julien, merci d'avoir chouchouté toute cette marmaille de petits chênes pendant ces 4 ans, merci pour tes initiatives, ta faculté d'optimisation et tout le travail que tu as fourni sur Toulence.

Thanks to the fantastic Americano-Catalonian team in Missoula! Anna, thanks for giving me the opportunity to come and visit your lab, I know we did not get deep into the ecophysiological processes of masting but I learned a lot working with you and always felt part of the lab thanks to you. Gerard and Beth, thank you for saving me from the customs back in Seattle, for teaching me “how to write science in plain English” and for letting me be part of your “bro-sist” mance,

you have been great co-workers and great friends. Patrick, you do not have “tiny eyes”, sorry again... Hope to see you all soon!

Merci à l'équipe lyonnaise Sam, Marie-Claude et Eliane ainsi qu'à toute l'équipe Potenchêne. Sam, merci pour ta pertinence et tes idées toujours éclairées sur le masting et bien au-delà. Eliane, merci pour ton soutien et ton moral d'acier, il va passer ce papier !

Cyril, merci pour tes remarques toujours justes et ton goût pour le terrain (à condition d'une bonne table locale), la prochaine fois nous irons faire un concours de belotte. Catherine, merci pour ton aide et ton soutien dans l'analyse des données de Bourran, on y sera venu à bout de cette dernière année de récolte! Merci à Emilie et Patrick de m'avoir initié à la bio mol, merci pour votre soutien dans l'accomplissement de ces tâches, j'en avais bien besoin ! Merci Fredo de m'avoir fait une place dans ton labo et de m'avoir montré tes talents de sculpteurs. Enfin, merci à toute l'équipe TREEPEACE, Laura, Thibault, Hermine, Armel, Isabelle et les autres pour nos discussions au cours des réunions mensuelles et pour votre détermination à venir trier et récolter des glands à Bourran.

Un grand merci aux équipes des UE de Toulonne et de Bourran, pour votre accueil, votre aide et votre bonne humeur. Ce fut un plaisir à chaque fois de venir passer du temps avec vous. Merci également à tous les agents de l'ONF qui ont permis de réunir cette base de données unique sur RENECOFOR.

Merci à Véro, Chantal et Florence pour votre aide constant et merci à Loïc pour tes talents d'informaticien qui m'ont sauvé plus d'une fois au cours de cette thèse.

Merci à toute l'équipe de la fac, merci pour votre soutien moral et sur le terrain. Régis, merci d'avoir partagé ta culture musicale avec moi le temps d'une virée dans les Pyrénées et le temps d'un café à la fac. Merci Gaëlle d'avoir toujours été prête à m'aider quelle que soit l'heure à laquelle j'avais besoin de tes précieuses données météo. Annabel, merci de ton souci du bien-être de chacun, notamment lorsque tu viens proposer un peu de chocolat pour requinquer les troupes à 20h du soir. Merci Pim et Anne pour votre jovialité canado-basque qui fait du bien à entendre dans le couloir, merci pour ton aide Anne dans la relecture de l'abstract, Pim j'attends maintenant le résumé en basque. Merci à Corine, Marta, Thibaut, Natalia, Alix, Yohan et Coralie ainsi qu'aux jeunes CR Guillaume et José ce fut chouette de partager ce couloir avec chacun d'entre vous.

Merci aux copains de bureau, aux anciens, Elsa, Marius et Hafiz et aux nouveaux Charl... euh Bru...non, enfin Charlie/Bruno pour ton imagination sans limite qui peut t'amener à théoriser le rhum arrangé au lave-vaisselle et Tania pour ton amour de la chanson et des comptines, il me tarde de connaître ton prochain tube. Merci aux copains du bureau d'à côté, Xavier pour ton aide et ta capacité à engloutir autant de stats bayésiennes que de lentilles, Alex Cangenet le bien nommé et Homero (Homerito pour les intimes). Merci aux copains d'un peu plus loin là-bas à Pierroton, Agathe et Arthur pour leur passion des GIFs, des cartons et du tricot et à celle encore plus loin là-bas, en Tasmanie, Déborah qui ne souhaite plus connaître l'hiver.

Enfin, merci à mes K et NK préférés, pour toutes ces années passées avec vous, tout ça m'a pris un peu de temps mais vous le tenez presque votre spécialiste des glands. Merci à ma famille, à mes proches qui m'ont permis de me ressourcer loin des tracasseries de la thèse en Dordogne.

Merci à mes parents pour votre soutien sans faille, merci pour votre présence quotidienne et la liberté que vous m'avez toujours laissé,

Last but not least, merci au petit mulot qui m'accompagne depuis le début, merci d'avoir appris à vivre avec cette thèse en plus de vivre avec moi, merci de ton soutien et d'avoir épongé mes doutes au cours de ces dernières années, vivement la suite maintenant !



Table des matières

Introduction	1
1. Réponses des forêts aux changements environnementaux	2
1.1. Etudier les dynamiques des populations du passé pour mieux appréhender le futur	2
1.2. Des populations en mouvement : Migration et extirpation	5
1.2.1. Aires de répartition : les marges froides et les marges chaudes	5
1.2.2. Migration et extirpation prédites et observées chez les arbres	5
2. Adaptation et maintien des populations	8
2.1. Déterminisme génétique	9
2.2. Déterminisme environnemental.....	11
3. Etude des traits d’histoire de vie chez les arbres forestiers	14
3.1. Traits d’histoire de vie des arbres forestiers : Exemple de la phénologie foliaire, traits historiquement étudiés au sein de l’équipe EGF	14
3.2. Traits d’histoire de vie des arbres forestiers : La croissance et la survie.....	16
3.3. Un trait d’histoire de vie méconnu chez les arbres forestier : la reproduction	18
Matériels et Méthodes	39
1. Espèces étudiées	40
2. Cadre d’étude et suivi de la reproduction.....	42
2.1. Dispositifs de suivi de la variabilité phénotypique.....	42
2.2. Dispositifs de suivi de la variabilité génétique.....	47
2.3. Données climatiques.....	50
3. Estimation de l’effort de reproduction	51
3.1. Tri des récoltes – Comptage	51
3.2. Estimation et pesée	51
3.3. Test de germination	52
Référence.....	53

Chapitre 1:

Increasing spring temperatures favor oak seed production in temperate areas	57
--	-----------

Chapitre 2:

Counter-gradient variation in reproductive effort in a broadly distributed temperate oak (<i>Quercus petraea</i>)	83
--	-----------

Chapitre 3:

Heritability and genetic architecture of reproduction-related traits in a temperate oak species.....	117
---	------------

Discussion 153

1. Sensibilité de la reproduction des chênes aux variables climatiques	155
1.1. Différentes réponses selon les biomes.....	155
1.2. La pollinisation des arbres, un processus déterminant pour expliquer la production de graines	157
2. Capacités adaptatives des chênes tempérés européens.....	160
2.1. Diversité génétique et plasticité phénotypique.....	160
2.2. Compromis entre traits d’histoire de vie	162
3. Vers une meilleure estimation de la fitness des arbres	164
3.1. Autres traits caractéristiques de la reproduction des arbres.....	165
3.2. Les limites de la production de graines en tant qu’estimateur de la fitness.....	166
3.3. Estimation du gradient de sélection à partir de la fitness des arbres	168
4. Variabilité de l’intensité du masting : impact sur la fitness des arbres	170

Annexes..... 181

Introduction

1. Réponses des forêts aux changements environnementaux

Les couverts forestiers représentent 42 millions de km² à la surface du globe, soit 30 % de la surface terrestre répartis dans les trois principaux biomes, tropicaux, boréaux et tempérés (Bonan 2008). Des travaux récents ont par ailleurs pu estimer que ces forêts étaient composées de 3.04 billions d'arbres (Crowther et al., 2015). Les forêts ont un rôle écologique majeur, elles abritent à la fois une grande proportion de la biodiversité mondiale et contribuent largement aux différents cycles biogéochimiques (Bonan, 2008; Crowther et al., 2015; Pan et al., 2011). De plus, elles ont une importance sociétale et économique significative car elles assurent de nombreux services écosystémiques tels que la production de bois, la séquestration du carbone ou l'apport de services récréatifs. Ainsi, l'étude des écosystèmes forestiers en réponse aux changements environnementaux est un sujet actuel fondamental en écologie car de nombreux enjeux écologiques, sociétaux et économiques en dépendent.

1.1. Etudier les dynamiques des populations du passé pour mieux appréhender le futur

Sous l'impulsion du changement climatique récent initié par l'activité humaine à la fin du XIX^{ème} siècle, de nombreuses études au cours de ces dernières décennies se sont intéressées à la réponse des écosystèmes forestiers aux changements environnementaux (Parmesan, 2006). L'étude des réponses passées permet de donner des premiers éléments de réponse sur l'impact du changement climatique actuel sur les populations d'arbres. Au cours du Quaternaire (c'est-à-dire au cours des deux derniers millions d'années), les différentes espèces d'arbres encore présentes actuellement ont connu de nombreuses fluctuations climatiques, alternant périodes glaciaires et interglaciaires. Par le biais d'approches génétiques et paléobotaniques, des études ont ainsi pu estimer pendant cette période l'histoire des changements de plusieurs espèces au cours du temps (Cheddadi et al., 2005; Hewitt, 2000; Hu et al., 2009). En Europe, plusieurs travaux ont montré que pendant les périodes de glaciations, des espèces endémiques au paysage européen actuel tels que le hêtre (*Fagus sylvatica*), l'épicéa commun (*Picea abies*), le mélèze (*Larix decidua*) ou bien les chênes sessiles et pédonculés (*Quercus petraea*, *Q. robur*) étaient réparties dans des zones géographiques restreintes définies comme des zones de refuge (Brewer et al., 2002; de Lafontaine et al., 2014; Magri et al., 2006; Rémy J. Petit et al., 2002; Tollefsrud et al., 2015; Wagner et al., 2015). En réponse au réchauffement climatique global au cours des périodes interglaciaires, chacune de ces espèces ont alors migré et colonisé de nouveaux espaces. Par exemple, lors de la dernière période glaciaire les chênes blancs européens étaient essentiellement répartis dans trois refuges glaciaires situés dans les zones montagneuses de la péninsule ibérique, de l'Italie et des Balkans (Brewer et al. 2002). Post-glaciation, les chênes

ont migré assez rapidement vers le nord de l'Europe jusqu'à atteindre leur répartition actuelle il y a 6000 ans. A partir de l'ADN chloroplastique de cette espèce (ADN uniquement transmis par la mère et donc par les graines) échantillonné sur plusieurs populations réparties dans toute l'Europe, Petit et al., (2002) ont mis en évidence les différentes trajectoires de migration des principaux haplotypes d'ADN chloroplastique du chêne. Ces trajectoires témoignent des migrations passées des chênes européens en réponse au réchauffement durant la dernière période interglaciaire (Figure 1).

En comparaison avec les fluctuations climatiques du Quaternaire, la particularité du changement climatique actuel réside dans l'origine anthropique du réchauffement et dans sa rapidité. Le dernier rapport du GIEC (Groupe d'Expert Intergouvernemental sur l'évolution du climat – IPCC 2013) montre un réchauffement linéaire de 0.85 [0.65, 1.06] °C depuis 1880 jusqu'à 2012. La rapidité du réchauffement actuel questionne sur les réponses potentielles des organismes à ces changements (Loarie et al., 2009) et plus particulièrement sur les réponses des organismes à longue durée de vie tels que les arbres. Il est actuellement communément admis que les populations d'arbres répondent de trois manières différentes aux changements environnementaux : par migration, extirpation et adaptation (Aitken et al., 2008). Ainsi, le processus de migration décrit un déplacement des populations d'arbres avec les changements de climat, les populations suivent alors leur optimum climatique. Cependant, elles peuvent également se maintenir au sein de leur environnement en modifiant leur optimum au rythme des changements climatiques grâce aux processus d'adaptation. Enfin, l'extirpation est la conséquence de l'échec des réponses mises en œuvre par les populations d'arbres en réponse aux changements environnementaux. Ainsi, l'extirpation se traduit par des événements de mortalité induisant la disparition locale d'une espèce d'arbres.

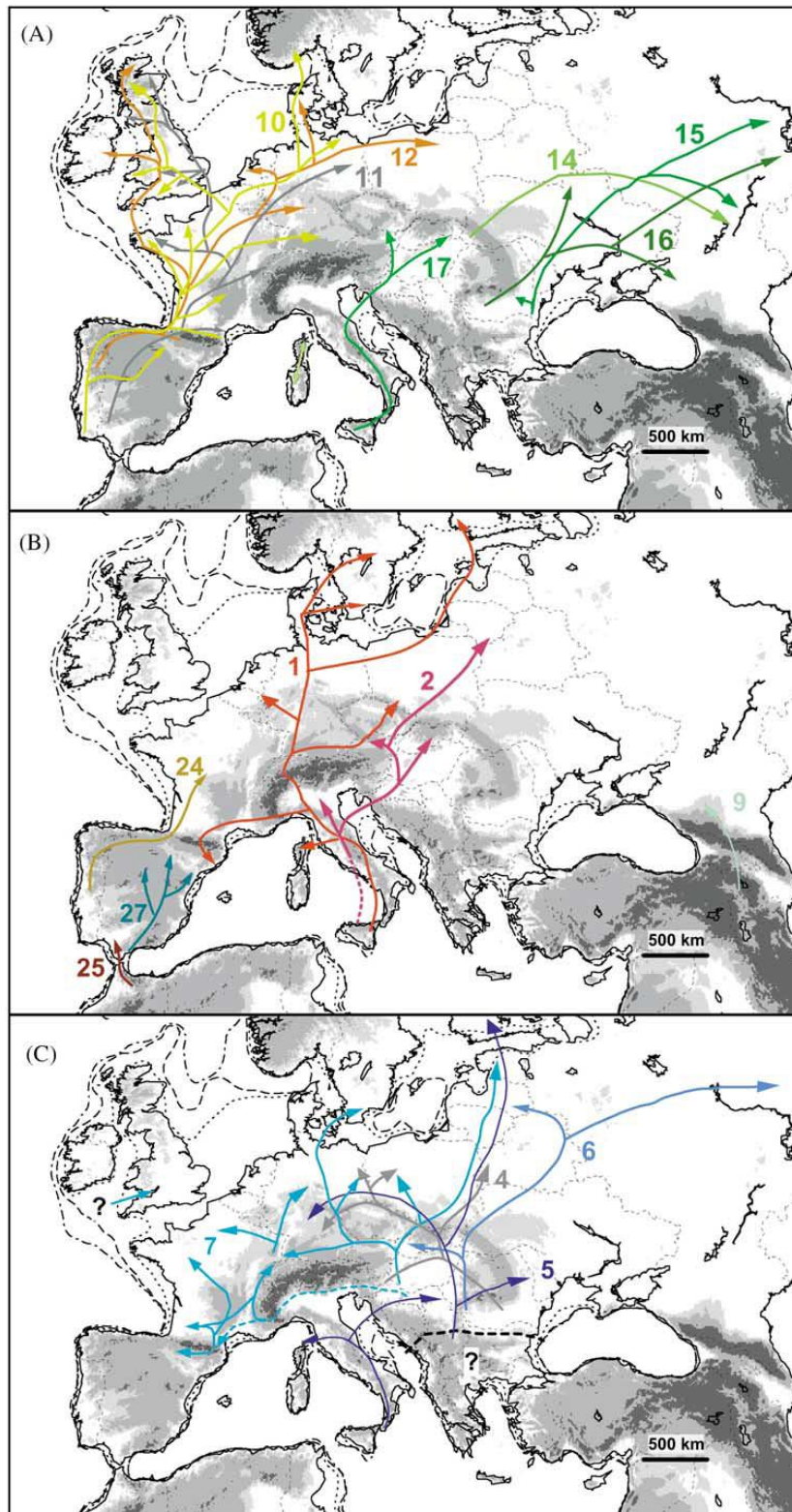


Figure 1: Trajectoires de colonisations des principaux haplotypes d'ADN chloroplastique des chênes blancs en Europe au cours de la dernière période interglaciaire (Petit et al. 2002).

1.2. Des populations en mouvement : Migration et extirpation

1.2.1. Aires de répartition : les marges froides et les marges chaudes

La répartition spatiale d'une espèce est définie comme étant un continuum délimité par deux bornes appelées marge froide (leading edge) et marge chaude (rear edge) (Gaston, 2003). Ces marges sont perpétuellement en mouvement en réponse aux différentes pressions biotiques et abiotiques qui définissent les limites de l'aire de répartition des espèces. Les marges froides de l'hémisphère nord sont généralement situées aux limites de hautes latitude et altitude et à l'inverse les marges chaudes aux limites de basses latitude et altitude. Comme ont pu montrer les études génétiques et paléobotaniques retranscrivant les dynamiques passées des populations d'arbres, les marges froides constituent les fronts de migration et de colonisation de l'espèce (Hampe and Petit, 2005). Il est communément considéré que les principaux facteurs influençant cette limite d'aire de répartition sont les températures froides imposées dans ces milieux (Körner, 2012; Morin et al., 2007). En opposition, les populations situées au niveau des marges chaudes sont essentiellement limitées par les pressions des événements de sécheresse intense (Jump and Penuelas, 2005; Morin et al., 2007). Par conséquent, les populations situées à ce niveau d'aire de répartition sont plus propices à des événements d'extirpation.

1.2.2. Migration et extirpation prédites et observées chez les arbres

En réponse au changement climatique récent, de nombreuses études se sont intéressées à prédire les répartitions futures d'un grand nombre d'espèces d'arbres. Afin de répondre à ces questions, deux grands types d'approche de modélisation ont été communément utilisés (Dormann et al., 2012). La première approche s'appuie sur des modèles dits de niche (niche-based model), qui cherchent à décrire les patrons et non les mécanismes en association avec l'absence ou la présence d'espèce (Elith and Leathwick, 2009). Ces modèles sont essentiellement basés sur les données climatiques, actuelles ou futures, et permettent de prédire à une très large échelle les distributions des espèces. Les prédictions basées sur ces approches montrent une migration très rapide des espèces et supposent de forts événements de mortalité dans les marges sud de leurs aires de répartition (Thuiller, 2003; Thuiller et al., 2005). Toutefois, les nombreuses limitations de ces modèles ont amené à un abandon progressif de cet outil au profit d'approches plus mécanistiques. Les approches de modélisation basées sur les mécanismes, autrement appelés processus, sont connues sous le nom de « process-based model ». Ces méthodes de prédictions sont plus précises mais requièrent d'avoir une grande quantité d'informations sur l'écologie des espèces étudiées et sur la sensibilité de leurs traits

fonctionnels en réponse aux changements environnementaux (Chuine, 2010; Chuine and Beaubien, 2001; Kearney and Porter, 2009). Les quelques études comparant les modèles de niche et de processus sur des espèces similaires, ont pu montrer que les modèles de niche étaient généralement plus pessimistes que les modèles basés sur les processus, prédisant un taux d'extirpation bien plus élevé (Morin and Thuiller, 2009). Il est par conséquent important de garder une vision critique sur l'interprétation des prédictions en fonction des modèles employés, que ce soit l'une des deux approches ou bien des approches hybrides combinant les deux.

Les études récentes modélisant la réponse des populations d'arbres à un réchauffement climatique prédisent une migration des populations vers leurs marges froides et un recul au niveau des marges chaudes (Meier et al., 2012; Morin et al., 2007; Pearson and Dawson, 2003; Thuiller et al., 2005). Quelques études basées sur des données empiriques de forêts de l'hémisphère nord montrent qu'au cours des dernières décennies certaines espèces ont migré vers leurs marges froides, essentiellement en altitude (Beckage et al., 2008; Kelly and Goulden, 2008; Lenoir et al., 2009; Van Bogaert et al., 2011) et quelques-unes en latitude (Delzon et al., 2013- Encadré 1; Walther et al., 2005). Toutefois, il est parfois difficile d'associer ces migrations au seul changement climatique, le changement d'utilisation des terres ou de gestion des écosystèmes ont également un fort impact sur la migration des espèces (Gehrig-Fasel et al., 2007). D'autres études plus globales ont montré par exemple en Amérique du Nord que peu d'espèces d'arbres (20 %) se déplaçaient vers les marges nord de leurs aires de répartition (Zhu et al. 2012). Enfin, lorsque l'on compare les déplacements prédits et observés des populations d'arbres, on observe des divergences substantielles (Delzon et al. 2013, Renwick and Rocca, 2015). Ainsi, les modèles de prédiction actuels ne prennent pas toujours en compte certains paramètres tels que la compétition avec les espèces déjà présentes, ralentissant la migration (Ibáñez et al., 2007, 2008) ainsi que les processus d'adaptation des populations des marges sud leur permettant de se maintenir (Benito Garzón Marta et al., 2011; Valladares et al., 2014). Dans le cadre de cette étude, nous nous focaliserons sur les capacités adaptatives des populations d'arbres, en nous intéressant aux variations phénotypiques de traits quantitatifs en réponse aux changements environnementaux, ainsi qu'aux déterminismes environnementaux et génétiques caractérisant ces variations.

Encadré 1 : Migration du chêne vert (*Quercus ilex*) en France (Delzon et al. 2013) durant l’anthropocène

Malgré de nombreux modèles prédisant une migration des populations d’arbres en réponse au changement climatique récent, il existe peu d’études basées sur des données empiriques montrant une migration récente en réponse à ce changement (Zhu et al., 2012). De manière générale, les déplacements de populations en altitude sont plus couramment observés qu’en latitude. Toutefois, dans la plupart des cas, et particulièrement pour l’altitude, il est difficile de dissocier l’effet du changement climatique des modifications du paysage liées aux pratiques agricoles sur la migration des espèces (Chauchard et al., 2010; Gehrig-Fasel et al., 2007). Delzon et al. (2013) ont mis en évidence une migration du chêne vert (*Quercus ilex*, espèce méditerranéenne) en limite nord de son aire de répartition. Ils ont observé qu’au cours du 20^{ème} siècle cette espèce avait colonisé de grandes zones forestières à la limite nord de son aire de répartition, le long de la côte atlantique, avec un taux de migration variant de 22 à 57 m par an (Figure E1). Contrairement aux études montrant un déplacement en altitude, la migration du chêne a été contrainte par l’homme jusqu’en 1950 afin de favoriser le développement du pin maritime. Après cette date, les forêts ont été laissées dans leur état naturel, sans intervention anthropique, induisant une accélération de la migration. Il est par conséquent difficile de distinguer l’effet unique du changement climatique de l’effet du changement de gestion forestière dans l’interprétation des taux de migration. Toutefois, cette étude montre une migration de l’espèce malgré les contraintes imposées par l’homme pendant la première moitié du 20^{ème} siècle et une accélération du déplacement lorsque les contraintes ont été supprimées. La migration récente est par conséquent probablement principalement causée par le réchauffement environnemental récent.

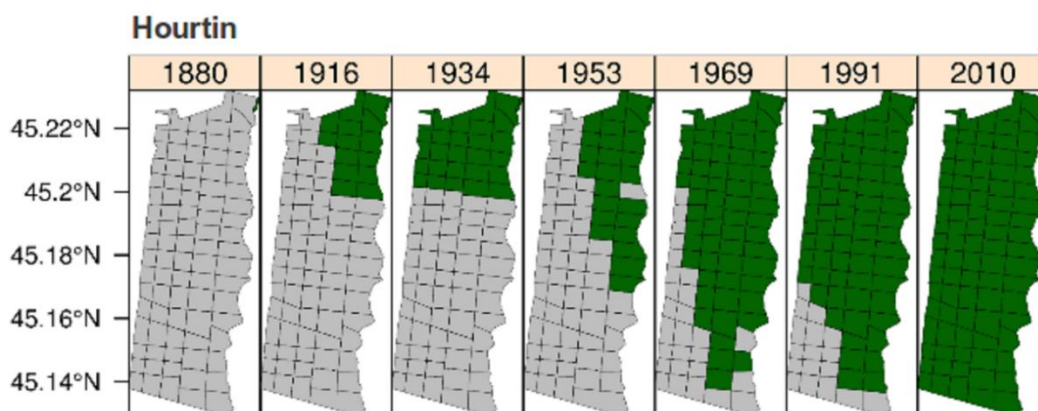


Figure 2: Changement de la couverture forestière du chêne vert (*Quercus ilex*) au cours du 20^{ème} siècle, dans la forêt d’Hourtin située dans le sud-ouest de la France. Les parties en vert décrivent la présence du chêne vert et en gris la présence d’autres espèces

2. Adaptation et maintien des populations

Afin de se maintenir dans leurs environnements, les populations d'arbres d'une même espèce peuvent s'adapter aux nouvelles conditions environnementales auxquelles elles sont soumises. Leur capacité d'adaptation résidera alors dans la variabilité de leur phénotype en réponse aux changements environnementaux, faisant intervenir deux éléments : la plasticité phénotypique et la diversité génétique. Ainsi, à l'échelle d'une population, la variabilité phénotypique (V_P) de traits quantitatifs peut être divisée en 3 composantes :

$$V_P = V_G + V_E + V_{G \times E} \quad [1]$$

La diversité génétique est représentée par V_G qui constitue la part de variabilité génétique déterminant la variabilité phénotypique totale observée. La plasticité phénotypique est quant à elle représentée à la fois par V_E , c'est-à-dire la part de variabilité environnementale et par $V_{G \times E}$ l'interaction entre la composante génétique des arbres et l'environnement (Figure 2).

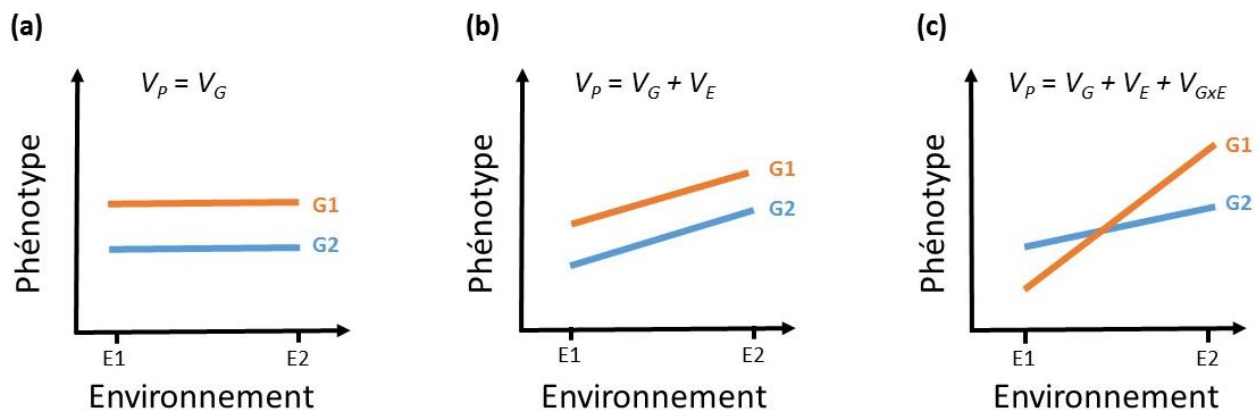


Figure 3: Variance du caractère phénotypique (V_P) en fonction de son déterminisme génétique et environnemental. Les traits orange et bleu représentent deux génotypes (G1 et G2) dans deux environnements différents (E1 et E2). Le graphique (a) décrit la variance phénotypique uniquement expliquée par la variance génétique (V_G), il n'y a donc pas d'effet de l'environnement. Le graphique (b) décrit la variance phénotypique expliquée à la fois par V_G et V_E (la variance environnementale), ici les deux génotypes répondent de la même manière à l'environnement. Le graphique (c) présente l'interaction entre la composante génétique et environnementale par une différence de pente entre les deux génotypes G1 et G2. Les pentes décrivant la réponse d'un génotype à plusieurs environnements sont appelées normes de réaction.

2.1. Déterminisme génétique

Chez les arbres forestiers la variabilité génétique est généralement importante du fait de leur reproduction préférentiellement allogame et de leur faible domestication (Hamrick et al., 1992). La diversité génétique au sein des populations est le plus souvent le résultat des processus évolutifs de mutations génétiques et de flux de gènes qui vont permettre l'apparition de nouveaux allèles. Ces nouveaux allèles sont la plupart du temps neutres ou délétères mais dans certains cas ils peuvent représenter un avantage adaptatif. La mutation est la première source de variation génétique, elle est causée par une altération de la séquence nucléotidique d'un gène suivant différents processus de délétion, duplication ou inversion. L'apparition de mutations bénéfiques fait figure d'évènement rare à l'échelle d'un individu, toutefois il s'agit d'une force évolutive majeure lorsque l'on se place à l'échelle d'une large population d'arbres pour laquelle le nombre de mutations est démultiplié. En parallèle, grâce à leur mode de dispersion par le vent, les arbres sont capables de disperser leur pollen à très longue distance, favorisant les flux de gènes. Kremer et al. (2012) ont pu montrer que les flux de gènes pour les arbres forestiers leurs étaient plus bénéfiques que délétères. Toutefois, l'avantage peut être à nuancer selon la position géographique de la population (Hampe and Petit, 2005). Au niveau des marges froides et du centre de l'aire de répartition des espèces, les flux de gènes sont un avantage dans la migration des populations en réponse au réchauffement récent car ils bénéficient de l'apport de gènes « pré-adaptés » en provenance du sud. Tandis qu'au niveau des marges chaudes, les flux de gènes adaptés aux nouvelles conditions liées au réchauffement récent ne sont pas possibles ce qui peut conduire à des « maladaptations » (Kremer et al., 2012).

Afin de maintenir la diversité génétique neutre ou bien adaptative au sein des populations, l'apparition de nouveaux allèles est soumise à deux forces évolutives majeures : la dérive génétique pour les allèles neutres et la sélection naturelle pour les allèles qui confèrent un avantage ou un désavantage sélectif. La variation aléatoire des fréquences alléliques d'une génération à l'autre constitue le processus de dérive génétique. Dans une population dite infinie la dérive génétique n'a théoriquement pas d'effet sur les fréquences alléliques. Toutefois dans les populations de petite taille, comme on peut en retrouver dans les marges chaudes de l'aire de répartition des espèces d'arbres, l'effet de la dérive génétique est fort (Hampe and Petit, 2005). Les allèles neutres sont donc essentiellement soumis à la dérive génétique contrairement aux allèles non neutres, c'est à dire ayant un effet bénéfique ou délétère sur la valeur sélective des arbres (fitness), qui sont soumis au processus de sélection naturelle d'une génération à l'autre. En réalité, les allèles neutres et non neutres se situent dans un continuum pour lequel

les changements de fréquences alléliques neutres sont soumis à la dérive génétique, elle-même influencée par la sélection et les changements de fréquences alléliques non neutres sont dominés par la sélection mais influencés par la dérive génétique. Toutefois, la sélection naturelle est le processus évolutif principal permettant aux arbres de s'adapter en réponse aux pressions environnementales. Pour expliquer ce processus, nous prenons l'exemple d'un caractère quantitatif (Z) variable au sein d'une population, suivant une distribution normale et dont la variabilité a un impact sur la fitness de l'arbre (Figure 4). En réponse à un changement environnemental, les individus dont le caractère (Z) favorise le plus la fitness vont être sélectionnés au détriment des autres. La réponse à la sélection (ΔZ) est la différence de moyenne du caractère d'une génération à l'autre ($\bar{Z}_t - \bar{Z}_{t+1}$). Cette différence peut être calculée à partir de la « breeder's equation » (Lande and Arnold, 1983; Lynch and Walsh, 1997) qui se décompose ainsi :

$$\Delta Z = h^2 S \quad [2]$$

pour laquelle h^2 est l'héritabilité au sens strict du caractère phénotypique (Encadré 2) et S l'intensité de sélection, c'est-à-dire la différence entre la moyenne de caractère de l'ensemble des individus (\bar{Z}_t) et des individus sélectionnés (\bar{Y}_t) au cours de la première génération (Figure 4). Un trait est donc soumis à la sélection naturelle lorsqu'il est caractéristique de la fitness, lorsqu'il est variable au sein d'une population et lorsqu'il est héritable, c'est-à-dire qu'il peut être transmis d'une génération à l'autre (Voir encadré 2).

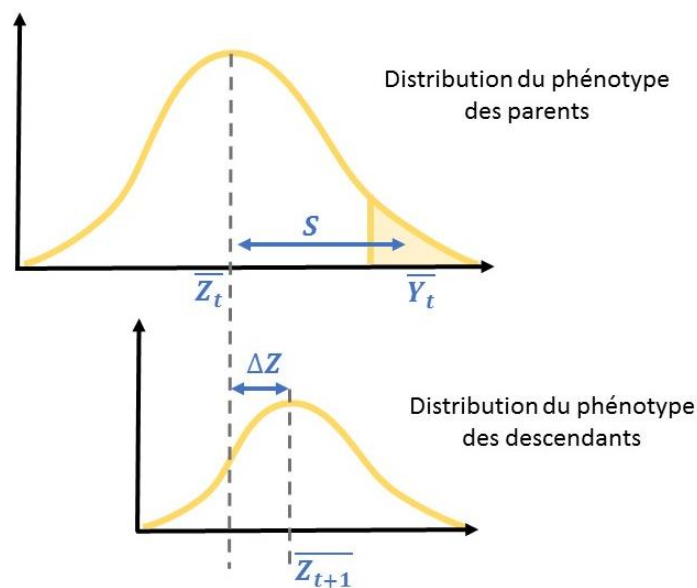


Figure 4: Schéma explicatif de la réponse à la sélection d'un trait phénotypique d'une population de parents à la population des descendants (voir équation [2])

Chez les arbres forestiers on étudie typiquement la variation de traits fonctionnels ayant le plus souvent un impact sur la croissance ou la survie des arbres. Dans le cas du chêne et de l'eucalyptus, deux espèces très étudiées respectivement dans l'hémisphère nord et dans l'hémisphère sud, de nombreuses études se sont focalisées sur la phénologie foliaire et florale, sur les caractéristiques morphologiques des feuilles (surface, densité stomatale etc.), sur les traits écophysiological (résistance au gel, à la sécheresse, teneur en azote etc.) et sur les traits de croissance (Kremer et al., 2014). Ces traits sont généralement très variables au sein des populations et très sensibles aux variations climatiques, toutefois ils ne sont pas toujours soumis à la sélection.

2.2. Déterminisme environnemental

La réponse rapide et réversible d'un individu aux fluctuations climatiques caractérise sa plasticité (Foord, 2006; Nicotra et al., 2010). La plasticité décrit ainsi une réponse directe à un changement environnemental qui se traduit par un changement de sa physiologie, de sa morphologie ou de son développement. Afin de décrire la plasticité phénotypique d'un individu au génotype distinct, on définit sa norme de réaction, c'est-à-dire le patron de la réponse de ce même génotype au sein d'environnements différents (Figure 1). La pente de la norme de réaction va ainsi permettre de quantifier la plasticité phénotypique de cet individu. A l'échelle d'une population, les pentes des normes de réaction sont variables d'un individu à l'autre, ces différences de pentes décrivant ainsi la composante génétique intervenant dans l'expression de la plasticité (Figure 1c). Il est admis que la plasticité joue un rôle dans les processus évolutifs des arbres en réponse aux changements environnementaux (Chevin et al., 2010). De plus, la plasticité phénotypique, étant variable au sein d'une population dans le cas où elle est héritable, peut également être soumise à la sélection naturelle (Scheiner, 1993).

Sur le court terme, la plasticité phénotypique est capitale car elle permet une réponse rapide. Dans le contexte de réchauffement rapide actuel, la plasticité permet à de nombreuses espèces de pouvoir persister dans leur environnement sans migrer ou disparaître pour autant (Matesanz et al., 2010; Nicotra et al., 2010). Par exemple, la forte plasticité phénotypique du comportement des mésanges charbonnières en réponse au changement climatique récent a permis un changement rapide de leurs phénotypes avec très peu de variabilité entre les individus. L'absence de variation suggère une fixation potentiellement rapide de leur réponse adaptative permettant ainsi à ces populations de se maintenir dans leur environnement et de suivre les changements du climat (Charmantier et al., 2008). Pour les organismes sédentaires comme les plantes et les arbres, ces processus de fixation rapide de caractère adaptatif sont donc essentiels

afin qu'ils puissent se maintenir. Les arbres étant une espèce à long cycle de vie, il est communément observé que leur plasticité est élevée (Franks et al., 2014). Alors que la diversité génétique des populations d'arbres ne permettra peut-être pas aux populations de s'adapter très rapidement aux changements climatiques récents, la plasticité phénotypique semble être un mécanisme alternatif facilitant leurs réponses (Chevin et al., 2013). Toutefois, en fonction des normes de réaction il est à noter que la plasticité peut être adaptative ou « maladaptative » (Duputié et al., 2015; Nicotra et al., 2010)

Encadré 2 : Concept et estimation de l'héritabilité

L'héritabilité est définie comme étant la proportion de variance phénotypique (V_P) qui peut être attribuée à la variance génétique totale (V_G), voir l'équation [1]. Ainsi l'héritabilité au sens large (H^2) est exprimée par :

$$H^2 = \frac{V_G}{V_P}$$

La variance génétique peut être décomposée en la variance additive (V_A), la variance de dominance (V_D) et la variance épistatique (V_I).

$$V_G = V_A + V_D + V_I$$

V_A représente l'effet génétique additif, c'est-à-dire l'effet de plusieurs allèles indépendantes les unes des autres sur un même phénotype, elle caractérise les traits quantitatifs c'est-à-dire les traits dont la variation est continue au sein d'une population et qui peuvent être transmis à la descendance. V_D caractérise l'effet génétique de l'interaction entre deux allèles d'un même locus, on considère alors le génotype diploïde de chaque locus pour déterminer la valeur du phénotype. Enfin, V_I représente l'épistasie, c'est-à-dire l'effet génétique de l'interaction entre allèle à différents loci. L'héritabilité au sens strict (h^2) caractérise la proportion de variance phénotypique (V_P) qui peut être attribuée à la part de variabilité génétique qui se transmet (V_A) à la descendance :

$$h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

L'héritabilité au sens large et strict varie entre 0 et 1. Une forte héritabilité ne signifie pas que l'environnement n'a pas d'effet, cela signifie uniquement que la majeure partie de la variation phénotypique observée est expliquée par la variance génétique totale ou additive, toutefois le phénotype peut varier en réponse aux fluctuations environnementales (Visscher et al., 2008). La valeur de l'héritabilité au sens strict est également importante dans le processus de sélection car elle définit son intensité et un trait très héritable répondra mieux à la sélection (Falconer, 1960; Lynch and Lande, 1998).

3. Etude des traits d'histoire de vie chez les arbres forestiers

Les traits d'histoire de vie sont le plus souvent des caractères quantitatifs directement associés à la valeur sélective des individus, autrement appelée fitness. La fitness décrit ainsi la capacité d'un individu à croître, survivre et se reproduire au sein de son environnement. En tant que composante de la fitness, les traits d'histoire de vie subissent l'influence de la sélection naturelle. Ainsi, c'est leur variabilité phénotypique qui permet de définir la capacité d'adaptation des populations en réponse aux changements environnementaux. Afin d'étudier les réponses adaptatives d'une espèce, on s'intéresse donc aux déterminismes environnementaux et génétiques de ces traits caractéristiques de la fitness.

3.1. Traits d'histoire de vie des arbres forestiers : Exemple de la phénologie foliaire, traits historiquement étudiés au sein de l'équipe EGF

Chez les arbres forestiers, la variabilité phénotypique de nombreux traits relatifs à la croissance et à la survie a largement été étudiée. L'un des traits fonctionnels les plus rencontrés dans la littérature récente est la phénologie foliaire, liée plus ou moins directement aux deux composantes de la fitness, la croissance et la survie. La phénologie caractérise la saisonnalité des événements de débourrement ou de senescence des feuilles et décrit ainsi la période de croissance végétative. C'est un trait largement étudié car très sensible aux fluctuations de températures (Sparks and Menzel, 2002; Vitasse et al., 2009b, 2009a) représentant par conséquent un indicateur majeur du changement climatique récent (Chmielewski and Rötzer, 2001; Cleland et al., 2007; Menzel et al., 2006). De nombreuses études ont notamment observé un déplacement des dates de débourrement de plus en plus précoces et de senescence de plus en plus tardives au cours des dernières décennies (Menzel et al., 2006; Myneni et al., 1997; Parmesan and Yohe, 2003; Root et al., 2003). Ces fluctuations de la phénologie des feuilles impactent directement la période de séquestration du carbone, augmentant la croissance des arbres et la productivité des forêts (Dragoni et al., 2011; Keenan et al., 2014). Le timing de la phénologie foliaire a également une importance dans l'évitement de stress biotique et abiotique (Dantec et al., 2015). Un débourrement trop précoce des feuilles augmente la probabilité que les arbres subissent des gels tardifs affectant leur croissance et leur survie. Par conséquent, il existe un compromis constant chez les arbres entre optimiser la période de croissance végétative et éviter les gels trop tardifs (Gömöry and Paule, 2011; Leinonen and Hänninen, 2002; Lockhart, 1983). Ce compromis décrit l'impact des variations de phénologie foliaire sur la fitness des arbres.

Les déterminismes génétiques et environnementaux de la phénologie sont bien connus. La variabilité de la phénologie foliaire le long de gradients environnementaux est majoritairement expliquée par la variabilité environnementale et plus marginalement par les variations génétiques inter-populationnelles. Les traits de phénologie présentent en effet une forte plasticité phénotypique en réponse aux changements environnementaux (Firmat et al., 2017; Kramer, 1995; Vitasse et al., 2013, 2010). Toutefois, la variabilité phénotypique de la phénologie est également expliquée par une variabilité génétique significative et stable dans le temps (Vitasse et al., 2009a). Au sein d'une même forêt *in situ* il est possible d'observer de fortes différenciations dans les dates de débourrement et de senescence des arbres. Afin d'estimer la variabilité génétique entre et au sein des populations, on utilise communément en écologie un jardin commun ou test de provenances (de Vilmereuil et al., 2016; Linhart and Grant, 1996). Le principe de ce type de dispositif consiste à étudier au sein d'un environnement commun la variabilité phénotypique des individus issus d'environnement différents. On capture ainsi principalement la part de variabilité génétique expliquant la variabilité phénotypique en s'abstenant de la variabilité environnementale (Encadré 1). Ainsi, la diversité génétique des traits de phénologie au sein des populations et entre les populations a pu être mise en évidence à partir de ce type de dispositifs. Ces mêmes travaux révèlent également que la température est un facteur majeur dans l'adaptation locale des forêts (Alberto et al., 2011; Vitasse et al., 2009a).

Comme nous l'avons déjà évoqué précédemment, afin qu'un trait phénotypique soit soumis à la sélection naturelle, il doit être à la fois un indicateur de la fitness des arbres, être variable au sein d'une population et être héritable (Encadré 2). A partir de la variabilité des traits de phénotypique mesurés en test de provenances, il est possible d'estimer l'héritabilité des traits de phénologie. Ainsi, les héritabilités au sens strict pour le débourrement des feuilles du chêne sessile (*Quercus petraea*) sont proche de 1 (Alberto et al., 2011; Firmat et al., 2017). Des valeurs similaires ont été estimées pour la senescence et la durée de la croissance végétative (Firmat et al., 2017). Ces fortes valeurs indiquent dans un premier temps que la variabilité phénotypique au sein du jardin commun est principalement expliquée par l'effet génétique, de plus elles suggèrent que les traits de phénologie sont soumis à la sélection. En parallèle, grâce à des dispositifs de croisement contrôlé, des régions du génome (QTL, Quantitative Trait Loci) ayant un effet sur les traits de phénologie ont été mis en évidence (Derory et al., 2010; Scotti-Saintagne et al., 2004).

3.2. Traits d'histoire de vie des arbres forestiers : La croissance et la survie

La croissance est l'un des traits les plus étudiés en écologie forestière car sa variation a un impact direct sur la productivité des forêts. On étudie sa variabilité en réponse aux fluctuations du climat chez les espèces de milieux tempérés (Babst et al., 2013, 2012; Lebourgeois et al., 2004), méditerranéens (Andreu Laia et al., 2007; Tardif Jacques et al., 2003), boréaux (Briceño-Elizondo et al., 2006; Briffa et al., 1998; Charney et al., 2016) et tropicaux (Clark et al., 2003; Schuur Edward A. G., 2003). La croissance des arbres est très sensible aux variations de température, de précipitation et de concentration en CO₂ dans l'atmosphère, par conséquent elle est très variable en réponse au changement climatique récent liée aux activités anthropiques (Boisvenue and Running, 2006). En Europe, la variabilité des traits de croissance diffère selon les milieux (Lindner et al., 2010). Par exemple dans les milieux méditerranéens, nous observons un déclin de la croissance et de la productivité des forêts avec l'augmentation des températures et de l'intensité des événements de sécheresse. Ces variations climatiques dans les zones méditerranéennes ont un impact sur la survie des arbres, entraînant une augmentation des événements de mortalité en réponse aux stress hydriques (Allen et al., 2010). Dans le cas présent l'effet positif de l'augmentation du CO₂ dans l'atmosphère ne semble pas compenser cette diminution. Par exemple, au cours du 20^{ème} siècle, une augmentation de la croissance du pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) a été observée en Catalogne (Espagne), mais sur les sites les plus secs l'augmentation des températures a déjà un effet négatif sur la croissance (Martínez- Vilalta J. et al., 2008). Dans les régions tempérées de l'Europe, la réponse de la croissance aux variations environnementales est plus souvent positive avec l'augmentation de la température mais dépend également de la disponibilité en eau (Maracchi et al., 2005). On observe globalement une augmentation de la croissance des arbres au cours des dernières années, par exemple entre 1960 et 2000, la croissance en hauteur du hêtre commun (*Fagus sylvatica*), de l'épicéa commun (*Picea abies*) et du pin sylvestre (*Pinus sylvestris*) a augmenté d'environ 25% (Kahle, 2008). Enfin dans les milieux boréaux aux limites nord des aires de répartition des espèces, les températures froides ont un effet limitant sur la période de croissance (Vitasse et al., 2009b), par conséquent la croissance des arbres et la productivité des forêts sont impactées positivement par une augmentation des températures (Kellomäki et al., 1997). En parallèle, de nombreuses études se sont également intéressées aux événements de mortalité observés dans les forêts (Allen et al., 2015, 2010; Benito-Garzón et al., 2013; Breshears et al., 2005). Ces événements sont généralement associés à des périodes de sécheresse accompagnées le plus souvent d'autres facteurs biotiques ou abiotiques (Allen et al., 2010; McDowell et al., 2011;

Park Williams et al., 2012). Le déclin des forêts en réponse à la sécheresse peut s'observer dans tous les milieux du globe et les milieux tropicaux humides ne sont pas non plus épargnés car les arbres y sont très peu résistants à la sécheresse (Choat et al., 2012). D'autres stress abiotiques peuvent également avoir une influence sur la survie des arbres tels que les gels tardifs pendant la période de débourrement des feuilles (Hänninen, 2006). Enfin des stress biotiques liés à la propagation de certains pathogènes peuvent également impacter la survie des arbres (Marçais and Desprez-Loustau, 2014; Meddens Arjan J. H. et al., 2012). Les études qui s'intéressent à la variabilité de la survie des populations, s'intéressent à la fois aux pourcentages de mortalité des arbres mais également à des traits plus fonctionnels tels que leur résistance aux stress biotiques (sécheresse et gel) et abiotiques.

Dans la mesure où la variabilité des traits de croissance et de survie a un impact sur la productivité et donc la fitness des populations d'arbres, de nombreux travaux se sont intéressés aux déterminismes génétiques et environnementaux de ces traits. Ainsi, on retrouve dès les années 1970 des études présentant la variabilité génétique de la croissance en diamètre et en hauteur le long de gradients environnementaux (Conkle, 1973; Namkoong and Conkle, 1976). Les premières études basées sur des tests de provenance à large échelle ont permis de mettre en avant la variabilité génétique et environnementale de la croissance des arbres forestiers (Matyas, 1994). Depuis, de plus en plus de travaux s'emploient à déterminer les processus d'adaptation locale et de plasticité phénotypique afin de les prendre en compte dans des modèles de prédiction démographique des espèces (Benito-Garzón et al., 2011; Mimura and Aitken, 2007; Sáenz-Romero et al., 2016; Valladares et al., 2014; Wang et al., 2010). Pour la survie, les études s'attardant sur des traits plus mécanistiques ont montré une forte variabilité entre les espèces pour leur résistance à la sécheresse (Larter et al., 2017) mais une très faible variabilité génétique intra-spécifique (Lamy et al., 2014). Enfin, la réponse à la sélection des traits de croissance a également largement été étudiée. Les héritabilités des traits de croissance sont généralement assez faibles pour les arbres forestiers, quelle que soit l'espèce (Bouvet et al., 2009; Cornelius, 1994; Grattapaglia et al., 2009; Hannrup et al., 1998; Kole, 2007; Lambeth et al., 1994). Ces faibles valeurs sont généralement spécifiques des traits d'histoire de vie (Hoffmann et al., 2016; Merilä and Sheldon, 1999; Price and Schluter, 1991). De même que pour la phénologie, des QTLs associés à la circonférence ou à la hauteur des arbres ont pu être identifiés, ils restent toutefois assez faibles et très variables au cours du temps et des stades de vie de l'arbre (Emebiri et al., 1998; Freeman et al., 2009; Kaya et al., 1999; Verhaegen et al., 1997).

3.3. Un trait d'histoire de vie méconnu chez les arbres forestier : la reproduction

Contrairement aux traits relatifs à la croissance et à la survie, peu d'études se sont intéressées aux déterminismes des traits de reproduction des arbres forestiers. La reproduction est pourtant l'une des composantes majeures de la fitness des arbres et les traits relatifs à la reproduction tels que le nombre de graines produits, la taille des graines, leur taux de germination ou la phénologie de la fructification, ont un impact direct sur la fitness. Par exemple, un fort investissement dans la production de graines à une année donnée permet d'optimiser le nombre de graines dispersées (Howe and Smallwood, 1982; Schupp et al., 2010; Traveset et al., 2014) et d'assurer une plus grande survie de la descendance de l'arbre. En effet, la dispersion à plus longue distance, essentiellement due à la mise en réserve de graines par certains mammifères ou oiseaux, permet d'assurer le développement de la graine et la survie du jeune plant. Dans un premier temps les graines dispersées ne subissent pas les fortes compétitions avec les autres graines sous l'arbre mère, ce qui permet de faciliter la germination et le développement de la jeune pousse. De plus, des études sur le comportement animalier ont montré que, les années de forte production fruitière, les animaux disperseurs ont tendance à accumuler et enterrer de nombreuses réserves de graines qu'ils finissent par délaissier, voire oublier, en raison de la forte abondance de ressources (Vander Wall, 2010). La taille des graines peut également avoir un impact sur le développement et la survie des jeunes plants. Les graines de grande taille ont généralement un taux de germination plus élevé que les graines de petite taille (Gómez, 2004; Walters and Reich, 2000). Cette augmentation du taux de germination avec la taille peut être expliquée par un taux de réserve plus élevé dans les graines de grande taille que dans les petites, permettant à la graine de germer plus facilement et d'assurer l'apport en ressource nécessaire pour le jeune plant. De plus, une plus grande disponibilité en réserve dans la graine diminue les risques que l'embryon soit affecté par un prédateur parasite de la graine, tels que des insectes ou champignons (Bonal et al., 2007; Sousa et al., 2003).

Encadré 3 : Le masting des arbres

Chez de nombreuses espèces d'arbres, la reproduction est caractérisée, à l'échelle d'une population, par de fortes variabilités interannuelles de la production de graines avec des événements de production massive à la fois synchrones entre les arbres et dont la fréquence n'est pas régulière au cours du temps (Figure 4). Ce phénomène est connu sous le nom de masting ou mast-seeding (Koenig and Knops, 2005). Cette particularité est considérée comme une réponse adaptative à la pression de sélection causée par les consommateurs de graines (Silvertown, 1980; Sork, 1993). L'avantage pour un arbre est d'économiser son énergie qu'il concentre pour la reproduction. Un fort investissement (forte production fructifère) est plus efficace en terme de survie de la descendance que des petites productions réparties sur plusieurs années. A l'heure actuelle plusieurs théories ont été proposées pour expliquer les causes proximales du masting. Même s'il n'existe pas de consensus, plusieurs processus ont été identifiés comme étant prépondérants dans les mécanismes du masting. L'accumulation et l'allocation en ressource, en parallèle avec la disponibilité en pollen et les variables climatiques, semblent être déterminantes dans l'explication des mécanismes du masting (Crone and Rapp, 2014; Pearse et al., 2016). Malgré la considération du masting comme étant un avantage adaptatif, aucune étude ne porte actuellement sur les déterminismes génétiques de ce caractère.

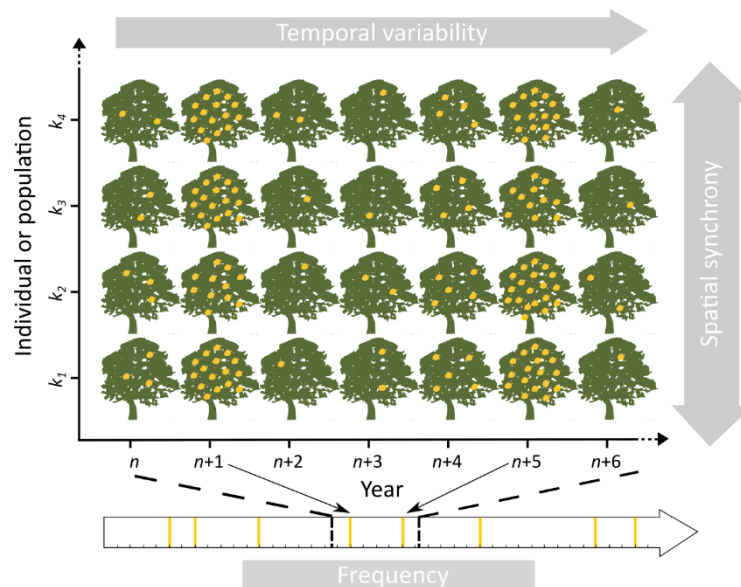


Figure 5: Représentation schématique des patrons caractérisant le masting des arbres : i) une forte variabilité interannuelle de la production de graines, ii) une large synchronie au cours du temps à l'échelle de la population et iii) une fréquence d'évènements de forte production de graines non régulière dans le temps. Le nombre de graines produit dans l'année est indiqué en jaune pour un même individu ou une même population (k_i). La Fréquence est indiquée en bas de la figure, les barres jaunes représentent les années de forte production de graines tels que ($n+1$) et ($n+5$) (Vacchiano et al., 2018).

Alors que la reproduction a un impact direct sur la fitness des arbres, très peu d'études ont pu dans un premier temps mettre en avant la variabilité phénotypique des traits de reproduction des arbres et dans un deuxième temps pu distinguer les déterminismes génétiques et environnementaux pouvant potentiellement expliquer une variabilité. Pour les arbres forestiers, le manque d'études sur la variabilité des traits de reproduction en réponse à des changements environnementaux, peut être notamment expliqué par la forte variabilité interannuelle et synchrone de la production de graines observée à l'échelle d'une population. Ce phénomène aussi connu sous le nom de masting ou de mast-seeding est caractéristique d'un grand nombre d'espèces d'arbres forestiers (Kelly and Sork, 2002, voir encadré 3). La plupart des études cherchant à estimer la sensibilité de la production de graines sur le long terme se sont focalisées sur un seul site ou bien sur une faible quantité de sites dans des aires de répartition limitées. Ainsi comme le souligne Crone et Rapp, (2014), les différentes études montrent le plus souvent des résultats contradictoires, parfois même au sein d'une même espèce. Afin de limiter l'effet causé par le masting, le suivi de la reproduction devrait idéalement être répété dans le temps et dans l'espace dans des populations indépendantes les unes des autres. Toutefois ce type de dispositif conséquent est peu courant dans les études cherchant à estimer la variabilité phénotypique de la production de graines en réponse à des changements environnementaux. Il existe néanmoins une littérature assez importante sur les chênes méditerranéens (Koenig et al., 2013) pour lesquels le réchauffement semble impacter négativement la reproduction dans les zones les plus sèches (Cecich and Sullivan, 1999; Fernández-Martínez et al., 2012), la disponibilité en eau étant alors un facteur déterminant dans l'intensité de reproduction de ces espèces (Pérez-Ramos et al., 2010; Sanchez-Humanes and Espelta, 2011). De plus, de même que pour la phénologie foliaire, la phénologie florale des arbres forestiers est également très variable et sensible aux variations du climat (Fitter and Fitter, 2002; Sparks et al., 2000). Ces premiers éléments suggèrent que la reproduction des arbres forestiers est variable et sensible aux variations climatiques, cependant cette variabilité n'est pas toujours bien définie, il est donc nécessaire de pouvoir mettre en avant la variabilité phénotypique des traits de reproduction afin, dans un deuxième temps, de pouvoir comprendre ses déterminismes.

Les déterminismes génétiques et environnementaux des traits de reproduction des espèces ligneuses forestières sont peu connus, voire ne sont pas connus. Par opposition, les espèces herbacées ont été beaucoup plus étudiées pour estimer la fitness des individus (Harder and Johnson, 2009). On retrouve notamment des études montrant la variabilité génétique de la production de graines à l'aide de tests de provenance, le long de gradients environnementaux

(Fischer et al., 2011; Frei et al., 2014a; Gonzalo-Turpin and Hazard, 2009; Hautier et al., 2009; Pluess and Stöcklin, 2005). Ces études ont mis en évidence une adaptation locale de ces populations avec l'altitude (Fischer et al., 2011; Gonzalo-Turpin and Hazard, 2009), mais également une grande plasticité des traits de reproduction en réponse aux variations du climat (Frei et al., 2014b, 2014a; Hautier et al., 2009). En parallèle, grâce à l'enjeu plus économique que représente la fructification des arbres fruitiers, on observe une abondante littérature sur les déterminismes génétiques d'espèces tels que le pommier (Durand et al., 2017, 2013; Guitton et al., 2011), le poirier (Wu et al., 2014), l'olivier (Sadok et al., 2013) ou le cerisier (Rosyara et al., 2013). Dans le cas des arbres forestiers, la reproduction ne peut être suivie en test de provenances qu'à partir d'un âge avancé contrairement aux plantes annuelles et très peu de dispositifs de croisement contrôlé, comme on peut en trouver pour les arbres fruitiers, existent. Nous disposons de peu d'informations sur l'âge de première reproduction pour les arbres forestiers. Toutefois, il est communément admis qu'une espèce comme le chêne dans un milieu fermé ne commence à se reproduire qu'à partir d'une quarantaine d'années. Même si les arbres peuvent se reproduire plus tôt il est tout de même nécessaire de suivre leur reproduction sur des dispositifs de type test de provenances relativement âgés, et malheureusement ce type de dispositif n'est pas monnaie courante.

La combinaison des trois facteurs limitants que sont le masting, l'âge à maturité de reproduction des arbres et la rareté des dispositifs suffisamment anciens et adaptés à l'étude des déterminismes génétiques et environnementaux des populations, fait qu'il existe actuellement un manque d'informations sur les déterminismes génétiques et environnementaux de la reproduction des arbres forestiers.

Objectifs

Les travaux menés au cours de cette thèse s'inscrivent dans la problématique générale visant à comprendre et mieux appréhender les réponses et les processus d'adaptation des populations d'arbres aux changements environnementaux. De nombreuses études ont porté à ce jour sur la phénologie foliaire qui est un indicateur majeur des variations climatiques. Au cours des dernières décennies, la phénologie des plantes a été avancée de 2 à 3 jours au printemps et retardée de 0.3 à 1.6 jours en automne tous les dix ans (Rout et al. 2003, Menzel et al. 2006, Parmesan and Yohe 2003, Myneni et al. 1999, Sherry et al. 2006). Ces variations de la phénologie foliaire des arbres régissent la longueur de la saison de croissance végétative. Elles impactent ainsi leur valeur sélective, autrement appelée fitness et définie chez les plantes comme étant la capacité d'un individu à se reproduire, croître et survivre dans son environnement. Toutefois, la phénologie foliaire n'est pas directement liée à la fitness comme peuvent l'être la survie et la reproduction. Par conséquent, il est donc urgent et nécessaire de s'intéresser à ces composantes directes de la fitness afin de mieux prédire les réponses actuelles et futures des forêts aux changements environnementaux (Figure 1). Dans le cadre de cette thèse nous nous intéressons aux traits caractérisant la reproduction des arbres.

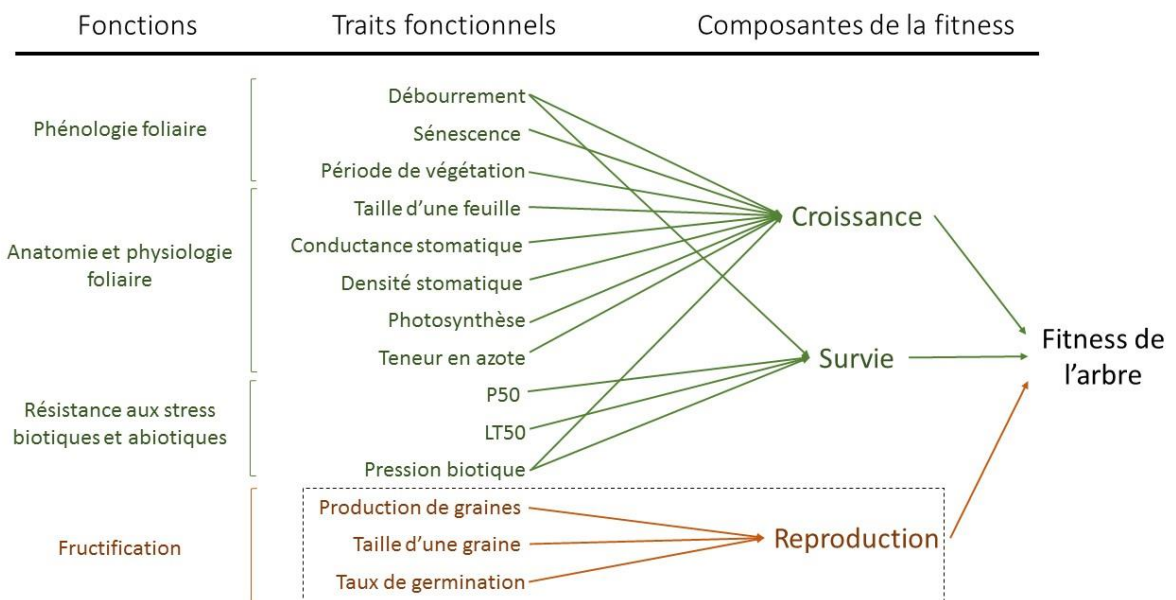


Figure 6 : Schéma décrivant les traits fonctionnels étudiés au sein de l'équipe EGF (UMR BIOGECO) depuis 2005 et leurs liens avec les composantes de la fitness des arbres (en vert). Les traits fonctionnels peu étudiés à ce jour et qui sont au cœur du sujet de cette thèse sont décrits en marron, ainsi que leurs liens avec la fitness. La P50 désigne le potentiel hydrique induisant 50% d'embolies en réponse à la sécheresse et la LT50 désigne la température à laquelle 50% des cellules sont lysées en réponse à un gel.

A ce jour la reproduction des arbres forestiers est encore très peu étudiée, comparé à d'autres traits d'histoire de vie tels que la croissance. A l'échelle de la population, la reproduction d'un grand nombre d'espèces d'arbres est caractérisée par de fortes variations interannuelles non périodiques et synchrones au sein de la population (Kelly, 1994; Kelly and Sork, 2002). Ce phénomène, désigné sous le nom de "masting" ou "mast-seeding", est bien connu des gestionnaires forestiers. Cependant, **il existe peu d'informations sur l'effet des changements environnementaux récents sur les traits de reproduction (production de graines, fréquence, viabilité...) et encore moins sur les déterminismes génétiques et environnementaux de ces traits.** Ainsi, il est difficile de comprendre les processus d'adaptation des populations d'arbres en réponse aux changements environnementaux et de prédire ainsi la répartition future des forêts. Par conséquent, la problématique générale de cette thèse et les questions de recherche qui s'ensuivent, portent sur la variabilité phénotypique de la reproduction en réponse aux changements environnementaux et sur les déterminismes environnementaux et génétiques de ces traits afin d'estimer les capacités adaptatives des populations d'arbres. Dans cette étude nous nous sommes intéressés à la reproduction de deux espèces de chênes caractéristiques des milieux tempérés européens : le chêne sessile et le chêne pédonculé. Ces deux espèces ont à la fois une importance écologique et économique majeure et font figure d'espèces modèles dans le cadre d'études sur le changement climatique. La variabilité de leur reproduction a ainsi été étudiée par le biais de deux types d'approches méthodologiques distinctes et complémentaires : une approche de suivi « *in situ* » le long de gradients environnementaux et une approche plus expérimentale en test de provenances et en croisement contrôlé.

Ainsi, les objectifs et les hypothèses associées de cette thèse sont triples :

- (1) **Evaluer la variabilité phénotypique et la sensibilité de la reproduction à la température** grâce à des suivis à « long terme » de la reproduction « *in situ* » le long de deux gradients environnementaux : un gradient altitudinal et un gradient latitudinal. Nous faisons l'hypothèse qu'en climat tempéré, pour lequel le stress hydrique n'est pas le facteur le plus prépondérant, **la production de graines est limitée par la température** au printemps (lors de la pollinisation) et à la fin de l'été (lors de la maturation des fruits) et donc **qu'elle pourrait être favorisée par le changement climatique.**

- (2) **Comprendre l'organisation de la variabilité phénotypique et génétique le long de gradients environnementaux** des chênes en quantifiant les variations génétiques des traits de reproduction dans un test de provenances et en les comparant à la variabilité phénotypique observée *in situ* (voir objectif 1). Nous faisons l'hypothèse que la **forte pression de sélection** induite par les conditions environnementales de hautes altitudes qui est à l'origine de clines génétiques pour la croissance a également une **influence sur la variabilité génétique de la reproduction**.
- (3) **Estimer l'héritabilité de la reproduction et identifier les régions du génome associées aux traits de reproduction** (Quantitative trait loci - QTL) à partir d'un croisement contrôlé de plein-frères. Nous supposons que, de même que pour la phénologie foliaire, les traits de reproduction ont une forte héritabilité et sont donc soumis à la sélection. Nous faisons également l'hypothèse que les traits de reproduction sont déterminés génétiquement et associés à une région du génome dont l'expression est stable dans le temps.

Une première approche uniquement basée sur des dispositifs de suivi « *in situ* » a été mise en place afin de répondre au premier objectif de cette thèse. Ainsi, la reproduction du chêne sessile a été suivie d'une part le long de deux gradients altitudinaux dans les Pyrénées par l'équipe EGF depuis 2012 jusqu'en 2016 et d'autre part le long d'un gradient latitudinal réparti dans toute de la France par l'Office National des Forêts sur une période de 14 ans. Ces deux dispositifs permettent d'apporter des résultats indépendants et complémentaires sur la sensibilité de la reproduction aux variations de température. L'intérêt du gradient altitudinal réside dans la forte variabilité de température entre les stations de basse et haute altitudes, permettant d'isoler et d'estimer l'influence de la température sur une faible échelle spatiale et temporelle. Le gradient latitudinal, au contraire, permet de prendre en compte de manière répétée sur une large zone géographique la variabilité de la reproduction en réponse aux changements environnementaux temporels. La répétition des suivis sur des populations distantes les unes des autres permet de minimiser l'effet des fortes variabilités interannuelles de la reproduction observée au sein d'une même population (effet du masting), afin de mieux mettre en évidence la sensibilité de la reproduction aux variations de température. Ces résultats basés sur des données empiriques permettront de mieux prédire l'impact des changements de température au cours du temps.

Une deuxième approche s'appuyant sur un dispositif expérimental de type test de provenances a été mise en place afin de caractériser les déterminismes génétiques des traits de reproduction et les clines génétiques le long du gradient altitudinal. Les individus provenant de 10 populations du gradient altitudinal "in situ" ont donc été récoltés et semés en 2006 puis plantés dans le jardin commun en plaine en 2008. En moyenne, la reproduction de 1544 arbres a été suivie pendant 3 ans. Ces résultats permettent de quantifier les variations génétiques et les clines génétiques le long du gradient altitudinal et ainsi d'estimer les capacités adaptatives des populations de chênes en réponse à un environnement changeant. En parallèle, les comparaisons avec la variabilité phénotypique des traits de reproduction observée le long du gradient altitudinal "in situ" permettent d'estimer le déterminisme environnemental de ces traits. Enfin, ces résultats seront comparés avec les déterminismes génétiques et environnementaux de traits d'histoire de vie déjà bien connus tel que la croissance.

Enfin, une dernière approche basée sur le suivi et l'analyse de la reproduction dans un croisement contrôlé de chêne pédonculé a été mis en place. Au total, la reproduction d'environ 330 arbres a été suivie pendant 4 ans par l'équipe EGF. Dans un premier temps l'objectif est de caractériser le caractère héréditaire de la reproduction, c'est-à-dire d'estimer la part de variance phénotypique expliquée par la variance génotypique. L'estimation de l'héritabilité permet ainsi de déterminer si des traits propres à la reproduction, tels que la production de graines ou la taille des graines peuvent être soumis à la sélection. Dans un deuxième temps, nous avons également cherché à identifier les régions du génome du chêne associées avec ces mêmes traits. Très peu d'études ont cherché à déterminer à la fois l'héritabilité de la reproduction des espèces forestières ainsi qu'à identifier les QTLs associés, ces résultats apporteront de nouvelles perspectives dans l'étude de l'adaptation locale et de la sélection des arbres forestiers dans un environnement changeant.

Dans chacun des dispositifs utilisés au cours de cette thèse, hormis le gradient latitudinal suivi par l'ONF, la totalité de la production de graines de chacun des individus a été récoltée, pesée et comptée. La technique de comptage visuel, communément utilisé pour le suivi de la production de graines, n'a pas été retenue dans le cadre de ces travaux afin d'avoir l'estimation la plus fine possible. Les déterminismes environnementaux et génétiques de la reproduction étant encore très peu étudiés, les réponses aux objectifs exposés au cours de cette thèse vont permettre de mettre en avant de nouvelles perspectives dans l'étude de l'adaptation des populations d'arbres en réponse aux changements environnementaux..

Références

- Aitken, S.N., Yeaman, S., Holliday, J.A., Wang, T., Curtis-McLane, S., 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations: Climate change outcomes for tree populations. *Evol. Appl.* 1, 95–111.
- Alberto, F., Bouffier, L., Louvet, J.-M., Lamy, J.-B., Delzon, S., Kremer, A., 2011. Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along an altitudinal gradient: Variation of phenological traits in *Q. petraea*. *J. Evol. Biol.* 24, 1442–1454.
- Allen, C.D., Breshears, D.D., McDowell, N.G., 2015. On underestimation of global vulnerability to tree mortality and forest die-off from hotter drought in the Anthropocene. *Ecosphere* 6, 1–55.
- Allen, C.D., Macalady, A.K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D.D., Hogg, E.H. (Ted), Gonzalez, P., Fensham, R., Zhang, Z., Castro, J., Demidova, N., Lim, J.-H., Allard, G., Running, S.W., Semerci, A., Cobb, N., 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *For. Ecol. Manag., Adaptation of Forests and Forest Management to Changing Climate* Selected papers from the conference on “Adaptation of Forests and Forest Management to Changing Climate with Emphasis on Forest Health: A Review of Science, Policies and Practices”, Umeå, Sweden, August 25–28, 2008. 259, 660–684.
- Andreu Laia, Gutiérrez Emilia, Macias Marc, Ribas Montse, Bosch Oriol, Camarero J. Julio, 2007. Climate increases regional tree-growth variability in Iberian pine forests. *Glob. Change Biol.* 13, 804–815.
- Babst, F., Carrer, M., Poulter, B., Urbinati, C., Neuwirth, B., Frank, D., 2012. 500 years of regional forest growth variability and links to climatic extreme events in Europe. *Environ. Res. Lett.* 7, 045705.
- Babst, F., Poulter, B., Trouet, V., Tan, K., Neuwirth, B., Wilson, R., Carrer, M., Grabner, M., Tegel, W., Levanic, T., Panayotov, M., Urbinati, C., Bouriaud, O., Ciais, P., Frank, D., 2013. Site- and species-specific responses of forest growth to climate across the European continent: Climate sensitivity of forest growth across Europe. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 22, 706–717.
- Beckage, B., Osborne, B., Gavin, D.G., Pucko, C., Siccama, T., Perkins, T., 2008. A rapid upward shift of a forest ecotone during 40 years of warming in the Green Mountains of Vermont. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 4197–4202.
- Benito Garzón Marta, Alía Ricardo, Robson T. Matthew, Zavala Miguel A., 2011. Intra-specific variability and plasticity influence potential tree species distributions under climate change. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 20, 766–778.
- Benito-Garzón, M., Ruiz-Benito, P., Zavala, M.A., 2013. Interspecific differences in tree growth and mortality responses to environmental drivers determine potential species distributional limits in Iberian forests. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 22, 1141–1151.

- Boisvenue, C., Running, S.W., 2006. Impacts of climate change on natural forest productivity – evidence since the middle of the 20th century. *Glob. Change Biol.* 12, 862–882.
- Bonal, R., Muñoz, A., Díaz, M., 2007. Satiation of predispersal seed predators: the importance of considering both plant and seed levels. *Evol. Ecol.* 21, 367–380.
- Bonan, G.B., 2008. Forests and Climate Change: Forcings, Feedbacks, and the Climate Benefits of Forests. *Science* 320, 1444–1449.
- Bouvet, J.-M., Saya, A., Vigneron, P., 2009. Trends in additive, dominance and environmental effects with age for growth traits in *Eucalyptus* hybrid populations. *Euphytica* 165, 35–54.
- Breshears, D.D., Cobb, N.S., Rich, P.M., Price, K.P., Allen, C.D., Balice, R.G., Romme, W.H., Kastens, J.H., Floyd, M.L., Belnap, J., Anderson, J.J., Myers, O.B., Meyer, C.W., 2005. Regional vegetation die-off in response to global-change-type drought. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 15144–15148.
- Brewer, S., Cheddadi, R., De Beaulieu, J.L., Reille, M., 2002. The spread of deciduous *Quercus* throughout Europe since the last glacial period. *For. Ecol. Manag.* 156, 27–48.
- Briceño-Elizondo, E., Garcia-Gonzalo, J., Peltola, H., Matala, J., Kellomäki, S., 2006. Sensitivity of growth of Scots pine, Norway spruce and silver birch to climate change and forest management in boreal conditions. *For. Ecol. Manag.* 232, 152–167.
- Briffa, K.R., Schweingruber, F.H., Jones, P.D., Osborn, T.J., Shiyatov, S.G., Vaganov, E.A., 1998. Reduced sensitivity of recent tree-growth to temperature at high northern latitudes. *Nature* 391, 678–682.
- Cecich, R.A., Sullivan, N.H., 1999. Influence of weather at time of pollination on acorn production of *Quercus alba* and *Quercus velutina*. *Can. J. For. Res.* 29, 1817–1823.
- Charmantier, A., McCleery, R.H., Cole, L.R., Perrins, C., Kruuk, L.E.B., Sheldon, B.C., 2008. Adaptive Phenotypic Plasticity in Response to Climate Change in a Wild Bird Population. *Science* 320, 800–803.
- Charney, N.D., Babst, F., Poulter, B., Record, S., Trouet, V.M., Frank, D., Enquist, B.J., Evans, M.E.K., 2016. Observed forest sensitivity to climate implies large changes in 21st century North American forest growth. *Ecol. Lett.* 19, 1119–1128.
- Chauchard, S., Beilhe, F., Denis, N., Carcaillet, C., 2010. An increase in the upper tree-limit of silver fir (*Abies alba* Mill.) in the Alps since the mid-20th century: A land-use change phenomenon. *For. Ecol. Manag.* 259, 1406–1415.
- Cheddadi, R., Beaulieu, J.-L. de, Jouzel, J., Andrieu-Ponel, V., Laurent, J.-M., Reille, M., Raynaud, D., Bar-Hen, A., 2005. Similarity of vegetation dynamics during interglacial periods. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 13939–13943.
- Chevin, L.-M., Collins, S., Lefèvre, F., 2013. Phenotypic plasticity and evolutionary demographic responses to climate change: taking theory out to the field. *Funct. Ecol.* 27, 967–979.

- Chevin, L.-M., Lande, R., Mace, G.M., 2010. Adaptation, Plasticity, and Extinction in a Changing Environment: Towards a Predictive Theory. *PLOS Biol.* 8, e1000357.
- Chmielewski, F.-M., Rötzer, T., 2001. Response of tree phenology to climate change across Europe. *Agric. For. Meteorol.* 108, 101–112.
- Choat, B., Jansen, S., Brodribb, T.J., Cochard, H., Delzon, S., Bhaskar, R., Bucci, S.J., Feild, T.S., Gleason, S.M., Hacke, U.G., Jacobsen, A.L., Lens, F., Maherali, H., Martínez-Vilalta, J., Mayr, S., Mencuccini, M., Mitchell, P.J., Nardini, A., Pittermann, J., Pratt, R.B., Sperry, J.S., Westoby, M., Wright, I.J., Zanne, A.E., 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* 491, 752–755.
- Chuine, I., 2010. Why does phenology drive species distribution? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 365, 3149–3160.
- Chuine, I., Beaubien, E.G., 2001. Phenology is a major determinant of tree species range. *Ecol. Lett.* 4, 500–510.
- Clark, D.A., Piper, S.C., Keeling, C.D., Clark, D.B., 2003. Tropical rain forest tree growth and atmospheric carbon dynamics linked to interannual temperature variation during 1984–2000. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 100, 5852–5857.
- Cleland, E.E., Chuine, I., Menzel, A., Mooney, H.A., Schwartz, M.D., 2007. Shifting plant phenology in response to global change. *Trends Ecol. Evol.* 22, 357–365.
- Conkle, M.T., 1973. Growth Data for 29 Years from the California Elevational Transect Study of Ponderosa Pine. *For. Sci.* 19, 31–39.
- Cornelius, J., 1994. Heritabilities and additive genetic coefficients of variation in forest trees. *Can. J. For. Res.* 24, 372–379.
- Crone, E.E., Rapp, J.M., 2014. Resource depletion, pollen coupling, and the ecology of mast seeding: Mechanisms of mast seeding. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1322, 21–34.
- Crowther, T.W., Glick, H.B., Covey, K.R., Bettigole, C., Maynard, D.S., Thomas, S.M., Smith, J.R., Hintler, G., Duguid, M.C., Amatulli, G., Tuanmu, M.-N., Jetz, W., Salas, C., Stam, C., Piotta, D., Tavani, R., Green, S., Bruce, G., Williams, S.J., Wiser, S.K., Huber, M.O., Hengeveld, G.M., Nabuurs, G.-J., Tikhonova, E., Borchardt, P., Li, C.-F., Powrie, L.W., Fischer, M., Hemp, A., Homeier, J., Cho, P., Vibrans, A.C., Umunay, P.M., Piao, S.L., Rowe, C.W., Ashton, M.S., Crane, P.R., Bradford, M.A., 2015. Mapping tree density at a global scale. *Nature* 525, 201–205.
- Dantec, C.F., Ducasse, H., Capdevielle, X., Fabreguettes, O., Delzon, S., Desprez-Loustau, M.-L., 2015. Escape of spring frost and disease through phenological variations in oak populations along elevation gradients. *J. Ecol.* n/a-n/a.
- de Lafontaine, G., Amasifuen Guerra, C.A., Ducouso, A., Petit, R.J., 2014. Cryptic no more: soil macrofossils uncover Pleistocene forest microrefugia within a periglacial desert. *New Phytol.* 204, 715–729.
- de Villemereuil, P., Gaggiotti, O.E., Mouterde, M., Till-Bottraud, I., 2016. Common garden experiments in the genomic era: new perspectives and opportunities. *Heredity* 116, 249–254.

- Delzon, S., Urli, M., Samalens, J.-C., Lamy, J.-B., Lischke, H., Sin, F., Zimmermann, N.E., Porté, A.J., 2013. Field Evidence of Colonisation by Holm Oak, at the Northern Margin of Its Distribution Range, during the Anthropocene Period. *PLoS ONE* 8, e80443.
- Derory, J., Scotti-Saintagne, C., Bertocchi, E., Dantec, L.L., Graignic, N., Jauffres, A., Casasoli, M., Chancerel, E., Bodénès, C., Alberto, F., Kremer, A., 2010. Contrasting relationships between the diversity of candidate genes and variation of bud burst in natural and segregating populations of European oaks. *Heredity* 104, 438.
- Dormann, C.F., Schymanski, S.J., Cabral, J., Chuine, I., Graham, C., Hartig, F., Kearney, M., Morin, X., Römermann, C., Schröder, B., Singer, A., 2012. Correlation and process in species distribution models: bridging a dichotomy. *J. Biogeogr.* 39, 2119–2131.
- Dragoni, D., Schmid, H.P., Wayson, C.A., Potter, H., Grimmond, C.S.B., Randolph, J.C., 2011. Evidence of increased net ecosystem productivity associated with a longer vegetated season in a deciduous forest in south-central Indiana, USA. *Glob. Change Biol.* 17, 886–897.
- Duputié, A., Rutschmann, A., Ronce, O., Chuine, I., 2015. Phenological plasticity will not help all species adapt to climate change. *Glob. Change Biol.* 21, 3062–3073.
- Durand, J.-B., Allard, A., Guitton, B., van de Weg, E., Bink, M.C.A.M., Costes, E., 2017. Predicting Flowering Behavior and Exploring Its Genetic Determinism in an Apple Multi-family Population Based on Statistical Indices and Simplified Phenotyping. *Front. Plant Sci.* 8.
- Durand, J.-B., Guitton, B., Peyhardi, J., Holtz, Y., Guédon, Y., Trottier, C., Costes, E., 2013. New insights for estimating the genetic value of segregating apple progenies for irregular bearing during the first years of tree production. *J. Exp. Bot.* 64, 5099–5113.
- Elith, J., Leathwick, J.R., 2009. Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 40, 677–697.
- Emebiri, L.C., Devey, M.E., Matheson, A.C., Slee, M.U., 1998. Age-related changes in the expression of QTLs for growth in radiata pine seedlings. *Theor. Appl. Genet.* 97, 1053–1061.
- Falconer, D.S., 1960. *Introduction to quantitative genetics*. New York,: Ronald Press Co.
- Fernández-Martínez, M., Belmonte, J., Maria Espelta, J., 2012. Masting in oaks: Disentangling the effect of flowering phenology, airborne pollen load and drought. *Acta Oecologica* 43, 51–59.
- Firmat, C., Delzon, S., Louvet, J.-M., Parmentier, J., Kremer, A., 2017. Evolutionary dynamics of the leaf phenological cycle in an oak metapopulation along an elevation gradient. *J. Evol. Biol.* 30,
- Fischer, M., Weyand, A., Rudmann-Maurer, K., Stöcklin, J., 2011. Adaptation of *Poa alpina* to altitude and land use in the Swiss Alps. *Alp. Bot.* 121, 91.
- Fitter, A.H., Fitter, R.S.R., 2002. Rapid Changes in Flowering Time in British Plants. *Science* 296, 1689–1691.

- Fordyce, J.A., 2006. The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *J. Exp. Biol.* 209, 2377–2383.
- Franks, S.J., Weber, J.J., Aitken, S.N., 2014. Evolutionary and plastic responses to climate change in terrestrial plant populations. *Evol. Appl.* 7, 123–139.
- Freeman, J.S., Whittock, S.P., Potts, B.M., Vaillancourt, R.E., 2009. QTL influencing growth and wood properties in *Eucalyptus globulus*. *Tree Genet. Genomes* 5, 713–722.
- Frei, E.R., Ghazoul, J., Matter, P., Heggli, M., Pluess, A.R., 2014a. Plant population differentiation and climate change: responses of grassland species along an elevational gradient. *Glob. Change Biol.* 20, 441–455.
- Frei, E.R., Ghazoul, J., Pluess, A.R., 2014b. Plastic Responses to Elevated Temperature in Low and High Elevation Populations of Three Grassland Species. *PLoS ONE* 9, e98677.
- Gaston, K.J., 2003. *The Structure and Dynamics of Geographic Ranges*. Oxford University Press.
- Gehrig-Fasel, J., Guisan, A., Zimmermann, N.E., 2007. Tree line shifts in the Swiss Alps: Climate change or land abandonment? *J. Veg. Sci.* 18, 571–582.
- Gómez, J.M., 2004. Bigger is not always better: conflicting selective pressures on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution* 58, 71–80.
- Gömöry, D., Paule, L., 2011. Trade-off between height growth and spring flushing in common beech (*Fagus sylvatica* L.). *Ann. For. Sci.* 68, 975–984.
- Gonzalo-Turpin, H., Hazard, L., 2009. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *J. Ecol.* 97, 742–751.
- Grattapaglia, D., Plomion, C., Kirst, M., Sederoff, R.R., 2009. Genomics of growth traits in forest trees. *Curr. Opin. Plant Biol., Genome Studies and Molecular Genetics* 12, 148–156.
- Guitton, B., Kelner, J.-J., Velasco, R., Gardiner, S.E., Chagné, D., Costes, E., 2011. Genetic control of biennial bearing in apple. *J. Exp. Bot.* err261.
- Hampe, A., Petit, R.J., 2005. Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecol. Lett.* 8, 461–467.
- Hamrick, J.L., Godt, M.J.W., Sherman-Broyles, S.L., 1992. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species, in: *Population Genetics of Forest Trees, Forestry Sciences*. Springer, Dordrecht, pp. 95–124.
- Hänninen, H., 2006. Climate warming and the risk of frost damage to boreal forest trees: identification of critical ecophysiological traits. *Tree Physiol.* 26, 889–898.
- Hannrup, B., Wilhelmsson, L., Danell, O., 1998. Time trends for genetic parameters of wood density and growth traits in *Pinus sylvestris* L. *Silvae Genet. Ger.*

- Harder, L.D., Johnson, S.D., 2009. Darwin's beautiful contrivances: evolutionary and functional evidence for floral adaptation. *New Phytol.* 183, 530–545.
- Hautier, Y., Randin, C.F., Stöcklin, J., Guisan, A., 2009. Changes in reproductive investment with altitude in an alpine plant. *J. Plant Ecol.* 2, 125–134.
- Hewitt, G., 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature* 405, 907–913.
- Hoffmann, A.A., Merilä, J., Kristensen, T.N., 2016. Heritability and evolvability of fitness and nonfitness traits: Lessons from livestock. *Evolution* 70, 1770–1779.
- Howe, H., Smallwood, J., 1982. *Ecology of Seed Dispersal*.
- Hu, F.S., Hampe, A., Petit, R.J., 2009. Paleoecology meets genetics: deciphering past vegetational dynamics. *Front. Ecol. Environ.* 7, 371–379.
- Ibáñez, I., Clark, J.S., Dietze, M.C., 2008. Evaluating the Sources of Potential Migrant Species: Implications Under Climate Change. *Ecol. Appl.* 18, 1664–1678.
- Ibanez, I., Clark, J.S., LaDeau, S., Lambers, J.H.R., 2007. Exploiting temporal variability to understand tree recruitment response to climate change. *Ecol. Monogr.* 77, 163–177.
- Jump, A.S., Penuelas, J., 2005. Running to stand still: adaptation and the response of plants to rapid climate change. *Ecol. Lett.* 8, 1010–1020. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2005.00796.x>
- Kahle, H.-P., 2008. *Causes and Consequences of Forest Growth Trends in Europe: Results of the Recognition Project*. BRILL.
- Kaya, Z., Sewell, M.M., Neale, D.B., 1999. Identification of quantitative trait loci influencing annual height- and diameter-increment growth in loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *Theor. Appl. Genet.* 98, 586–592.
- Kearney, M., Porter, W., 2009. Mechanistic niche modelling: combining physiological and spatial data to predict species' ranges. *Ecol. Lett.* 12, 334–350.
- Keenan, T.F., Gray, J., Friedl, M.A., Toomey, M., Bohrer, G., Hollinger, D.Y., Munger, J.W., O'Keefe, J., Schmid, H.P., Wing, I.S., Yang, B., Richardson, A.D., 2014. Net carbon uptake has increased through warming-induced changes in temperate forest phenology. *Nat. Clim. Change* 4, 598–604.
- Kellomäki, S., Karjalainen, T., Väisänen, H., 1997. More timber from boreal forests under changing climate? *For. Ecol. Manag.* 94, 195–208.
- Kelly, A.E., Goulden, M.L., 2008. Rapid shifts in plant distribution with recent climate change. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 105, 11823–11826.
- Kelly, D., Sork, V.L., 2002. Mast seeding in perennial plants: why, how, where? *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 427–447.
- Koenig, W.D., Díaz, M., Pulido, F., Alejano, R., Beamonte, E., Knops, J.M.H., 2013. Acorn Production Patterns, in: Campos, P., Huntsinger, L., Pro, J.L.O., Starrs, P.F., Diaz, M., Standiford, R.B., Montero, G. (Eds.), *Mediterranean Oak Woodland Working Landscapes, Landscape Series*. Springer Netherlands, pp. 181–209.

- Koenig, W.D., Knops, J.M., 2005. The mystery of masting in trees. *Am. Sci.* 93, 340–347.
- Kole, C. (Ed.), 2007. *Forest Trees*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. Körner, C., 2012. *Alpine Treelines*. Springer Basel, Basel.
- Kramer, K., 1995. Phenotypic plasticity of the phenology of seven European tree species in relation to climatic warming. *Plant Cell Environ.* 18, 93–104.
- Kremer, A., Potts, B.M., Delzon, S., 2014. Genetic divergence in forest trees: understanding the consequences of climate change. *Funct. Ecol.* 28, 22–36.
- Kremer, A., Ronce, O., Robledo-Arnuncio, J.J., Guillaume, F., Bohrer, G., Nathan, R., Bridle, J.R., Gomulkiewicz, R., Klein, E.K., Ritland, K., Kuparinen, A., Gerber, S., Schueler, S., 2012. Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change. *Ecol. Lett.* 15, 378–392.
- Lambeth, C., Endo, M., Wright, J., 1994. Genetic Analysis of 16 Clonal Trials of *Eucalyptus grandis* and Comparisons with Seedling Checks. *For. Sci.* 40, 397–411.
- Lamy, J.-B., Delzon, S., Bouche, P.S., Alia, R., Vendramin, G.G., Cochard, H., Plomion, C., 2014. Limited genetic variability and phenotypic plasticity detected for cavitation resistance in a Mediterranean pine. *New Phytol.* 201, 874–886.
- Lande, R., Arnold, S.J., 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution* 1210–1226.
- Larter, M., Pfautsch, S., Domec, J.-C., Trueba, S., Nagalingum, N., Delzon, S., 2017. Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytol.* 215, 97–112.
- Lebourgeois, F., Cousseau, G., Ducos, Y., 2004. Climate-tree-growth relationships of *Quercus petraea* Mill. stand in the Forest of Bercé (“Futaie des Clos”, Sarthe, France). *Ann. For. Sci.* 61, 361–372.
- Leinonen, I., Hänninen, H., 2002. Adaptation of the timing of bud burst of Norway spruce to temperate and boreal climates. *Silva Fenn.* 36.
- Lenoir, J., Gégout, J.-C., Pierrat, J.-C., Bontemps, J.-D., Dhôte, J.-F., 2009. Differences between tree species seedling and adult altitudinal distribution in mountain forests during the recent warm period (1986–2006). *Ecography* 32, 765–777.
- Lindner, M., Maroschek, M., Netherer, S., Kremer, A., Barbati, A., Garcia-Gonzalo, J., Seidl, R., Delzon, S., Corona, P., Kolström, M., Lexer, M.J., Marchetti, M., 2010. Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. *For. Ecol. Manag.* 259, 698–709.
- Linhart, Y.B., Grant, M.C., 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27, 237–277.
- Loarie, S.R., Duffy, P.B., Hamilton, H., Asner, G.P., Field, C.B., Ackerly, D.D., 2009. The velocity of climate change. *Nature* 462, 1052–1055.
- Lockhart, J.A., 1983. Optimum growth initiation time for shoot buds of deciduous plants in a temperate climate. *Oecologia* 60, 34–37.

- Lynch, M., Lande, R., 1998. The critical effective size for a genetically secure population. *Anim. Conserv.* 1, 70–72.
- Lynch, M., Walsh, B., 1997. Genetics and analysis of quantitative traits. *Genet. Anal. Quant. Traits.*
- Magri, D., Vendramin, G.G., Comps, B., Dupanloup, I., Geburek, T., Gömöry, D., Latalowa, M., Litt, T., Paule, L., Roure, J.M., Tantau, I., Van Der Knaap, W.O., Petit, R.J., De Beaulieu, J.-L., 2006. A new scenario for the Quaternary history of European beech populations: palaeobotanical evidence and genetic consequences. *New Phytol.* 171, 199–221.
- Maracchi, G., Sirotenko, O., Bindi, M., 2005. Impacts of Present and Future Climate Variability on Agriculture and Forestry in the Temperate Regions: Europe. *Clim. Change* 70, 117–135.
- Marçais, B., Desprez-Loustau, M.-L., 2014. European oak powdery mildew: impact on trees, effects of environmental factors, and potential effects of climate change. *Ann. For. Sci.* 71, 633–642.
- Martínez-Vilalta J., López B. C., Adell N., Badiella L., Ninyerola M., 2008. Twentieth century increase of Scots pine radial growth in NE Spain shows strong climate interactions. *Glob. Change Biol.* 14, 2868–2881.
- Matesanz, S., Gianoli, E., Valladares, F., 2010. Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1206, 35–55.
- Matyas, C., 1994. Modeling climate change effects with provenance test data. *Tree Physiol.* 14, 797–804.
- McDowell, N.G., Beerling, D.J., Breshears, D.D., Fisher, R.A., Raffa, K.F., Stitt, M., 2011. The interdependence of mechanisms underlying climate-driven vegetation mortality. *Trends Ecol. Evol.* 26, 523–532.
- Meddens Arjan J. H., Hicke Jeffrey A., Ferguson Charles A., 2012. Spatiotemporal patterns of observed bark beetle-caused tree mortality in British Columbia and the western United States. *Ecol. Appl.* 22, 1876–1891.
- Meier, E.S., Lischke, H., Schmatz, D.R., Zimmermann, N.E., 2012. Climate, competition and connectivity affect future migration and ranges of European trees. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 21, 164–178.
- Menzel, A., Sparks, T.H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., Alm-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavská, O., Briede, A., Chmielewski, F.M., Crepinsek, Z., Curnel, Y., Dahl, ÅSlöG, Defila, C., Donnelly, A., Filella, Y., Jatzak, K., MåGe, F., Mestre, A., Nordli, ØYvind, PeñUelas, J., Pirinen, P., RemišOvá, V., Scheifinger, H., Striz, M., Susnik, A., Van Vliet, A.J.H., Wielgolaski, F.-E., Zach, S., Zust, A., 2006. European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Glob. Change Biol.* 12, 1969–1976.
- Merilä, J., Sheldon, B.C., 1999. Genetic architecture of fitness and nonfitness traits: empirical patterns and development of ideas. *Heredity* 83, 103–109.

- Mimura, M., Aitken, S.N., 2007. Adaptive gradients and isolation-by-distance with postglacial migration in *Picea sitchensis*. *Heredity* 99, 224–232.
- Morin, X., Augspurger, C., Chuine, I., 2007. Process-Based Modeling of Species' Distributions: What Limits Temperate Tree Species' Range Boundaries? *Ecology* 88, 2280–2291.
- Morin, X., Thuiller, W., 2009. Comparing niche- and process-based models to reduce prediction uncertainty in species range shifts under climate change. *Ecology* 90, 1301–1313.
- Myneni, R.B., Keeling, C.D., Tucker, C.J., Asrar, G., Nemani, R.R., 1997. Increased plant growth in the northern high latitudes from 1981 to 1991. *Nature* 386, 698–702.
- Namkoong, G., Conkle, M.T., 1976. Time Trends in Genetic Control of Height Growth in Ponderosa Pine. *For. Sci.* 22, 2–12.
- Nicotra, A.B., Atkin, O.K., Bonser, S.P., Davidson, A.M., Finnegan, E.J., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M.D., Richards, C.L., Valladares, F., van Kleunen, M., 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends Plant Sci.* 15, 684–692.
- Pan, Y., Birdsey, R.A., Fang, J., Houghton, R., Kauppi, P.E., Kurz, W.A., Phillips, O.L., Shvidenko, A., Lewis, S.L., Canadell, J.G., Ciais, P., Jackson, R.B., Pacala, S.W., McGuire, A.D., Piao, S., Rautiainen, A., Sitch, S., Hayes, D., 2011. A Large and Persistent Carbon Sink in the World's Forests. *Science* 333, 988–993.
- Park Williams, A., Allen, C.D., Macalady, A.K., Griffin, D., Woodhouse, C.A., Meko, D.M., Swetnam, T.W., Rauscher, S.A., Seager, R., Grissino-Mayer, H.D., Dean, J.S., Cook, E.R., Gangodagamage, C., Cai, M., McDowell, N.G., 2012. Temperature as a potent driver of regional forest drought stress and tree mortality. *Nat. Clim. Change* 3, 292–297.
- Parmesan, C., 2006. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 37, 637–669.
- Parmesan, C., Yohe, G., 2003. A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* 421, 37–42.
- Pearse, I.S., Koenig, W.D., Kelly, D., 2016. Mechanisms of mast seeding: resources, weather, cues, and selection. *New Phytol.* n/a-n/a.
- Pearson, R.G., Dawson, T.P., 2003. Predicting the impacts of climate change on the distribution of species: are bioclimate envelope models useful? *Glob. Ecol. Biogeogr.* 12, 361–371.
- Pérez-Ramos, I.M., Ourcival, J.M., Limousin, J.M., Rambal, S., 2010. Mast seeding under increasing drought: results from a long-term data set and from a rainfall exclusion experiment. *Ecology* 91, 3057–3068.
- Petit, Rémy J, Brewer, S., Bordács, S., Burg, K., Cheddadi, R., Coart, E., Cottrell, J., Csaikl, U.M., van Dam, B., Deans, J.D., Espinel, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., König, A.O., Lowe, A.J., Madsen, S.F., Mátyás, G., Munro, R.C., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., de Vries, S.G., Ziegenhagen, B., de Beaulieu, J.-L., Kremer, A., 2002. Identification of refugia and post-glacial colonisation

- routes of European white oaks based on chloroplast DNA and fossil pollen evidence. *For. Ecol. Manag.* 156, 49–74.
- Petit, Rémy J., Csaikl, U.M., Bordács, S., Burg, K., Coart, E., Cottrell, J., van Dam, B., Deans, J.D., Dumolin-Lapègue, S., Fineschi, S., Finkeldey, R., Gillies, A., Glaz, I., Goicoechea, P.G., Jensen, J.S., König, A.O., Lowe, A.J., Madsen, S.F., Mátyás, G., Munro, R.C., Olalde, M., Pemonge, M.-H., Popescu, F., Slade, D., Tabbener, H., Turchini, D., de Vries, S.G.M., Ziegenhagen, B., Kremer, A., 2002. Chloroplast DNA variation in European white oaks: Phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations. *For. Ecol. Manag.*, Range wide distribution of chloroplast DNA diversity and pollen deposits in European white oaks: inferences about colonisation routes and management of oak genetic resources . 156, 5–26.
- Pluess, A.R., Stöcklin, J., 2005. The importance of population origin and environment on clonal and sexual reproduction in the alpine plant *Geum reptans*. *Funct. Ecol.* 19, 228–237.
- Price, T., Schluter, D., 1991. On the Low Heritability of Life-History Traits. *Evolution* 45, 853–861.
- Renwick, K.M., Rocca, M.E., 2015. Temporal context affects the observed rate of climate-driven range shifts in tree species. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 24, 44–51.
- Root, T.L., Price, J.T., Hall, K.R., Schneider, S.H., Rosenzweig, C., Pounds, J.A., 2003. Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* 421, 57–60.
- Rosyara, U.R., Bink, M.C.A.M., Weg, E. van de, Zhang, G., Wang, D., Sebolt, A., Dirlewanger, E., Quero-Garcia, J., Schuster, M., Iezzoni, A.F., 2013. Fruit size QTL identification and the prediction of parental QTL genotypes and breeding values in multiple pedigreed populations of sweet cherry. *Mol. Breed.* 32, 875–887.
- Sadok, I.B., Celton, J.-M., Essalouh, L., Aabidine, A.Z.E., Garcia, G., Martinez, S., Grati-Kamoun, N., Rebai, A., Costes, E., Khadari, B., 2013. QTL Mapping of Flowering and Fruiting Traits in Olive. *PLOS ONE* 8, e62831.
- Sáenz-Romero, C., Lamy, J.-B., Ducousso, A., Musch, B., Ehrenmann, F., Delzon, S., Cavers, S., Chałupka, W., Dağdaş, S., Hansen, J.K., Lee, S.J., Liesebach, M., Rau, H.-M., Psomas, A., Schneck, V., Steiner, W., Zimmermann, N.E., Kremer, A., 2016. Adaptive and plastic responses of *Quercus petraea* populations to climate across Europe. *Glob. Change Biol.* n/a-n/a.
- Sanchez-Humanes, B., Espelta, J.M., 2011. Increased drought reduces acorn production in *Quercus ilex* coppices: thinning mitigates this effect but only in the short term. *Forestry* 84, 73–82.
- Scheiner, S.M., 1993. Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24, 35–68.
- Schupp, E.W., Jordano, P., Gómez, J.M., 2010. Seed dispersal effectiveness revisited: a conceptual review. *New Phytol.* 188, 333–353.
- Schuur Edward A. G., 2003. Productivity and global climate revisited: the sensitivity of tropical forest growth to precipitation. *Ecology* 84, 1165–1170.

- Scotti-Saintagne, C., Bodénès, C., Barreneche, T., Bertocchi, E., Plomion, C., Kremer, A., 2004. Detection of quantitative trait loci controlling bud burst and height growth in *Quercus robur* L. *Theor. Appl. Genet.* 109, 1648–1659.
- Silvertown, J.W., 1980. The evolutionary ecology of mast seeding in trees. *Biol. J. Linn. Soc.* 14, 235–250.
- Sork, V.L., 1993. Evolutionary ecology of mast-seeding in temperate and tropical oaks (*Quercus* spp.). *Vegetatio* 107, 133–147.
- Sousa, W.P., Kennedy, P.G., Mitchell, B.J., 2003. Propagule size and predispersal damage by insects affect establishment and early growth of mangrove seedlings. *Oecologia* 135, 564–575.
- Sparks, T.H., Jeffree, E.P., Jeffree, C.E., 2000. An examination of the relationship between flowering times and temperature at the national scale using long-term phenological records from the UK. *Int. J. Biometeorol.* 44, 82–87.
- Sparks, T.H., Menzel, A., 2002. Observed changes in seasons: an overview. *Int. J. Climatol.* 22, 1715–1725.
- Tardif Jacques, Camarero Jesús Julio, Ribas Montse, Gutiérrez Emilia, 2003. Spatiotemporal variability in tree growth in the central pyrenees: climatic and site influences. *Ecol. Monogr.* 73, 241–257.
- Thuiller, W., 2003. BIOMOD—optimizing predictions of species distributions and projecting potential future shifts under global change. *Glob. Change Biol.* 9, 1353–1362.
- Thuiller, W., Lavorel, S., Araújo, M.B., Sykes, M.T., Prentice, I.C., 2005. Climate change threats to plant diversity in Europe. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 8245–8250.
- Tollefsrud, M.M., Latałowa, M., van der Knaap, W.O., Brochmann, C., Sperisen, C., 2015. Late Quaternary history of North Eurasian Norway spruce (*Picea abies*) and Siberian spruce (*Picea obovata*) inferred from macrofossils, pollen and cytoplasmic DNA variation. *J. Biogeogr.* 42, 1431–1442.
- Traveset, A., Heleno, R., Nogales, M., 2014. The ecology of seed dispersal.
- Vacchiano, G., Ascoli, D., Berzaghi, F., Lucas-Borja, M.E., Caignard, T., Collalti, A., Mairota, P., Palaghianu, C., Reyser, C.P.O., Sanders, T.G.M., Schermer, E., Wohlgenuth, T., Hacket-Pain, A., 2018. Reproducing reproduction: How to simulate mast seeding in forest models. *Ecol. Model.* 376, 40–53.
- Valladares, F., Matesanz, S., Guilhaumon, F., Araújo, M.B., Balaguer, L., Benito-Garzón, M., Cornwell, W., Gianoli, E., van Kleunen, M., Naya, D.E., Nicotra, A.B., Poorter, H., Zavala, M.A., 2014. The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecol. Lett.* 17, 1351–1364.
- Van Bogaert, R., Haneca, K., Hoogesteger, J., Jonasson, C., De Dapper, M., Callaghan, T.V., 2011. A century of tree line changes in sub-Arctic Sweden shows local and regional variability and only a minor influence of 20th century climate warming. *J. Biogeogr.* 38, 907–921.

- Vander Wall, S.B., 2010. How plants manipulate the scatter-hoarding behaviour of seed-dispersing animals. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 365, 989–997.
- Verhaegen, D., Plomion, C., Gion, J.-M., Poitel, M., Costa, P., Kremer, A., 1997. Quantitative trait dissection analysis in Eucalyptus using RAPD markers: 1. Detection of QTL in interspecific hybrid progeny, stability of QTL expression across different ages. *Theor. Appl. Genet.* 95, 597–608.
- Visscher, P.M., Hill, W.G., Wray, N.R., 2008. Heritability in the genomics era — concepts and misconceptions. *Nat. Rev. Genet.* 9, 255–266.
- Vitasse, Y., Bresson, C.C., Kremer, A., Michalet, R., Delzon, S., 2010. Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species: Quantifying plasticity of leaf phenology. *Funct. Ecol.* 24, 1211–1218.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C.C., Michalet, R., Kremer, A., 2009a. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Can. J. For. Res.* 39, 1259–1269.
- Vitasse, Y., Hoch, G., Randin, C.F., Lenz, A., Kollas, C., Scheepens, J.F., Körner, C., 2013. Elevational adaptation and plasticity in seedling phenology of temperate deciduous tree species. *Oecologia* 171, 663–678.
- Vitasse, Y., Porté, A.J., Kremer, A., Michalet, R., Delzon, S., 2009b. Responses of canopy duration to temperature changes in four temperate tree species: relative contributions of spring and autumn leaf phenology. *Oecologia* 161, 187–198.
- Wagner, S., Litt, T., Sánchez-Goñi, M.-F., Petit, R.J., 2015. History of *Larix decidua* Mill. (European larch) since 130 ka. *Quat. Sci. Rev.* 124, 224–247. Walters, M.B., Reich, P.B., 2000. Seed size, nitrogen supply, and growth rate affect tree seedling survival in deep shade. *Ecology* 81, 1887–1901.
- Walther, G.-R., Berger, S., Sykes, M.T., 2005. An ecological ‘footprint’ of climate change. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 272, 1427–1432.
- Wang Tongli, O’Neill Gregory A., Aitken Sally N., 2010. Integrating environmental and genetic effects to predict responses of tree populations to climate. *Ecol. Appl.* 20, 153–163.
- Wu, J., Li, L.-T., Li, M., Khan, M.A., Li, X.-G., Chen, H., Yin, H., Zhang, S.-L., 2014. High-density genetic linkage map construction and identification of fruit-related QTLs in pear using SNP and SSR markers. *J. Exp. Bot.* 65, 5771–5781.
- Zhu, K., Woodall, C.W., Clark, J.S., 2012. Failure to migrate: lack of tree range expansion in response to climate change. *Glob. Change Biol.* 18, 1042–1052.

Matériels et Méthodes

1. Espèces étudiées

Dans le cadre de cette thèse nous nous sommes focalisés sur deux espèces appartenant au même genre : le chêne sessile (*Quercus petraea*) et le chêne pédonculé (*Quercus robur*). Ces deux espèces sont des chênes de milieux tempérés endémiques au paysage français et largement représentées sur l'ensemble de l'Europe. Leurs répartitions s'étendent du nord de l'Espagne jusqu'au sud de la Scandinavie, ils sont répartis sur l'ensemble de la partie occidentale et centrale de l'Europe (Figure 1). Leur répartition géographique en Europe est relativement similaire, toutefois le chêne pédonculé est plus étendu en Europe de l'Est (Figure 1A), certaines populations s'étendant jusqu'en Russie, contrairement au chêne sessile qui ne s'étend que jusqu'à la frontière de l'Ukraine et de la Biélorussie (Figure 1B). Les chênes sessiles et pédonculés ont donc une importance écologique majeure, car ils représentent une grande partie des forêts françaises et européennes. De plus, leur bois est très prisé dans le domaine industriel, notamment dans la confection de tonneaux, ce qui leur donne également une importance capitale sur le plan économique.

Les chênes sessiles et pédonculés sont deux espèces relativement comparables, très proches génétiquement (Müller-Starck et al., 1993; Zanetto et al., 1994), elles peuvent s'hybrider entre elles (Steinhoff, 1993). Elles présentent toutefois des différences écologiques, morphologiques et fonctionnelles notables. Malgré une résistance à la sécheresse similaire entre les deux espèces (Lobo et al. 2018 *in review*), le chêne pédonculé est généralement présent sur des sols humides

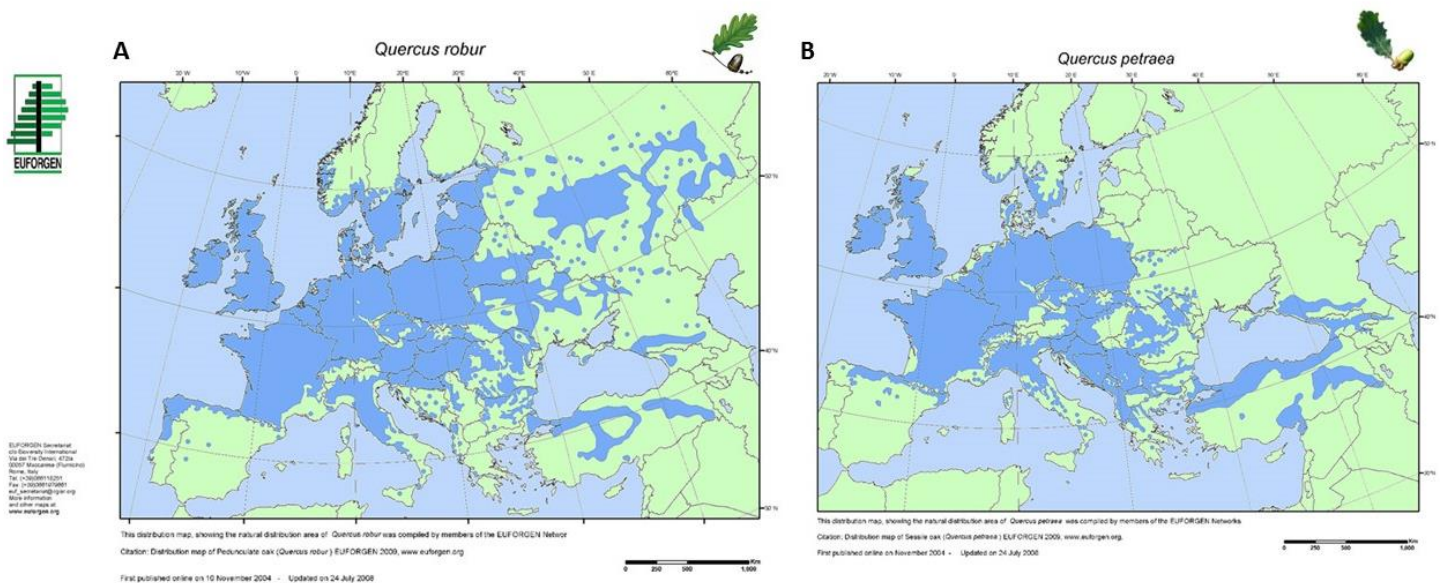


Figure 1: Distribution du chêne pédonculé (*Quercus robur*) en A et du chêne sessile (*Quercus petraea*) en B en Europe.

et riches en nutriments, tandis que le chêne sessile occupe des sols plus secs et plus acides (Rushton, 1979). Leurs distinctions morphologiques s'observent sur les feuilles (nombre de lobes, longueur du pétiole, présence de nervures intercalaires), les bourgeons, l'écorce ou dans l'architecture de leur houppier. Toutefois, leur différence majeure réside dans la présence d'un long pédoncule sur les inflorescences femelles du chêne pédonculé, absent chez le chêne sessile (Dupouey and Badeau, 1993). C'est de cette distinction que sont tirés les noms de chêne sessile et pédonculé. Malgré ces différences, ces deux espèces ont des cycles de reproduction relativement similaires et une phénologie florale comparable selon les milieux (Bacilieri et al., 1995; Pesson and Louveaux, 1984). Ce sont des espèces monoïques, c'est-à-dire qu'un seul et même individu produit des fleurs mâles et femelles bien distinctes et séparées. Le cycle de reproduction débute courant été avec l'initiation florale (Figure 2). Une fois l'automne et l'hiver passés, le cycle reprend au mois d'avril par la production des inflorescences mâles, autrement appelées chatons. La production des inflorescences femelles suit temporellement de près la production des inflorescences mâles, elles sont généralement produites une fois que le pollen généré par les fleurs mâles est arrivé à maturité. Globalement, la période de pollinisation a lieu vers avril et mai une fois que les inflorescences mâles et femelles de chacun des arbres d'une même population ont été produites. Après fécondation des gamètes mâles et femelles, l'embryon se développe puis le fruit rentre dans une période de maturation pendant tout l'été jusqu'à la chute des glands qui débute généralement en septembre. Il est à noter que les dates

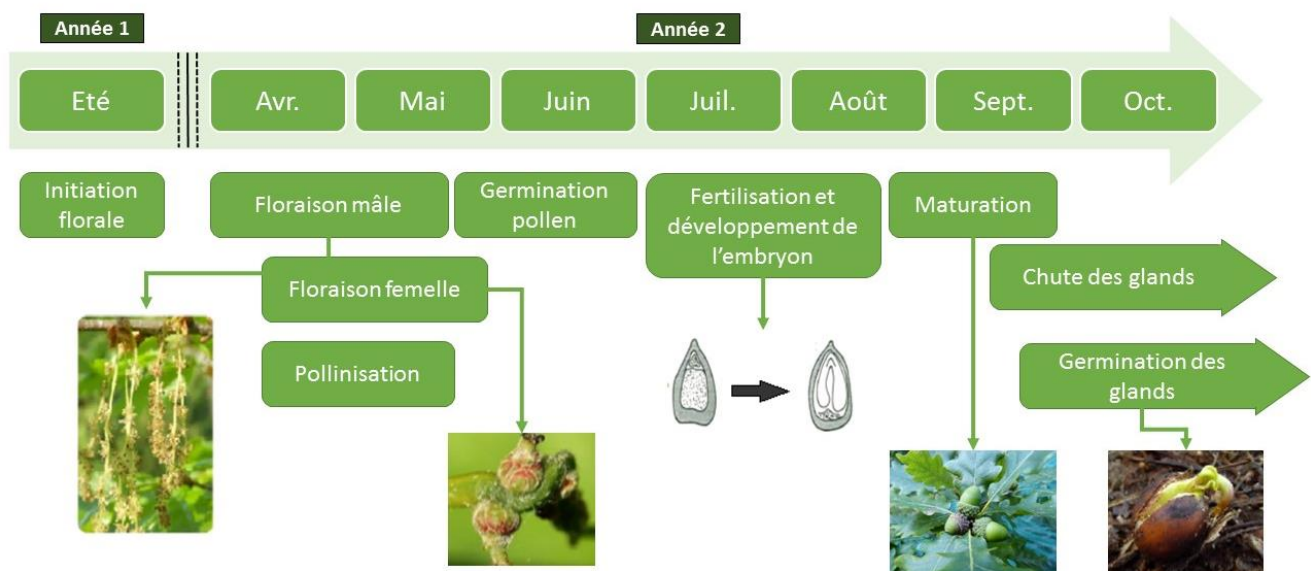


Figure 2: Cycle de reproduction des chênes sessiles et reproduction au cours du temps (Graphique inspiré de Pesson et Louveaux (1984)).

associées au cycle de reproduction sont variables selon les années. De même que pour la phénologie foliaire, la phénologie des fleurs et des fruits est sensible aux variations climatiques (Fitter and Fitter, 2002; Menzel et al., 2006; Sherry et al., 2007).

2. Cadre d'étude et suivi de la reproduction

Au cours de cette thèse, la variabilité phénotypique et génétique de la reproduction des chênes a été suivie à partir de l'association de dispositifs de suivi *in situ* et expérimentaux à la fois distincts et complémentaires. Ainsi, deux dispositifs « *in situ* » ont permis d'étudier et de quantifier la variabilité phénotypique le long de gradients environnementaux (latitudinal et altitudinal) et deux dispositifs au champ (un test de provenances et un peuplement de plein-frères) ont permis de déterminer la variabilité génétique de ces traits ainsi que les QTLs associés.

2.1. Dispositifs de suivi de la variabilité phénotypique

2.1.1. Gradient d'altitude

Situé dans le massif Pyrénéen, à la jonction entre le département des Pyrénées Atlantiques et des Hautes Pyrénées, les deux gradients altitudinaux ont été mis en place en 2004 le long de deux vallées parallèles pour suivre la phénologie du débourrement (voir Vitasse

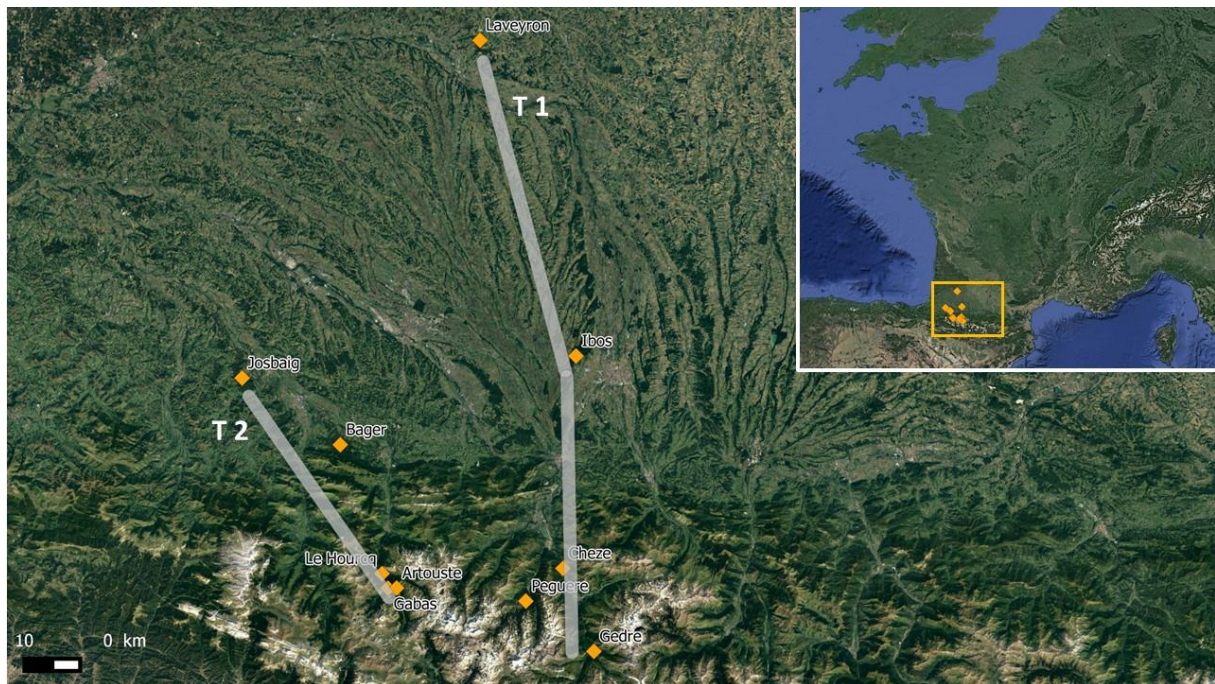


Figure 3: Distribution des sites suivis le long des deux transects situés dans la vallée des Gaves (T1) et la vallée d'Ossau (T2)

et al. 2009, Alberto et al. 2010, Bresson et al. 2011). Ces deux vallées, la vallée d'Ossau et la vallée des Gaves, sont situées sur le flanc nord de la chaîne montagneuse. En raison de la proximité géographique, de 30 kms environ, les deux gradients partagent un climat semblable de type Océanique tempéré. Ainsi, ces deux gradients sont considérés comme étant des transects altitudinaux répétés. La répétition permet à la fois d'augmenter la robustesse statistique des résultats ainsi que de minimiser l'effet stationnel, c'est-à-dire l'effet potentiel de conditions édaphiques distinctives au sein du gradient qui pourraient avoir une influence sur les patrons observés le long du gradient. Le long de chacun des deux transects, 5 populations naturelles de chênes sessiles (*Quercus petraea*) ont été sélectionnées en fonction des seuils d'altitude suivants : 100, 400, 800, 1200 et 1600 m au-dessus de la mer (Table 1). Ainsi, l'ensemble des sites sont répartis de 131 à 1630 m d'altitude le long du gradient. L'intérêt majeur d'un tel dispositif réside dans la forte variabilité environnementale entre les sites de basses et hautes altitudes sur une faible distance géographique. Selon les années, la différence de température moyenne entre le site le plus chaud et le site le plus froid varie (Table 1). Toutefois, sur les 12 dernières années (de 2004 à 2016) on observe une différence moyenne de 5.96°C pour le transect de la vallée d'Ossau et de 5.70 °C pour le transect de la vallée des Gaves. En comparaison, l'écart en latitude entre les sites est relativement faible, de l'ordre de 48 kms pour la vallée d'Ossau et de 108 kms pour la vallée des Gaves. Ici, la distance plus grande observée pour la vallée des Gaves est essentiellement due au site de basse altitude qui se trouve plus au nord car situé en plaine, contrairement aux autres sites qui sont situés dans la vallée. Ces spécificités propres au gradient altitudinal, permettent d'étudier la réponse des arbres au changement de température et sont donc typiquement utilisées en tant que « space for time substitution » (Pickett, 1989) dans le cadre d'études sur le changement climatique.

Ce dispositif altitudinal a déjà fait l'objet de nombreuses études, comprenant plusieurs travaux de thèses. Les études menées sur le gradient ont porté essentiellement sur les variations de phénologie foliaire le long du gradient (Vitasse, 2009 ; Alberto 2010), sur l'impact des contraintes biotiques (oïdium) et abiotiques (gels tardifs) sur la phénologie foliaire (Dantec, 2014) ainsi que sur la variation de traits plus fonctionnels (Bresson, 2011). Ainsi, les arbres que nous avons sélectionnés pour suivre la reproduction ont été choisis aléatoirement à partir du pool arbres suivi pour la phénologie. Au total, 15, 14, et 25 arbres ont été suivis en 2012, 2013 et 2014, respectivement, et 30 arbres ont été suivis en 2015 et 2016 (Table 3), soit 3 arbres par site. La taille de ces arbres était variable le long du gradient, en 2014 le diamètre moyen était de 377.4 mm avec un écart-type de 96.5 mm et la hauteur moyenne de 19.2 m avec un écart-

type de 9.4 m (Table 3). Afin de quantifier la fructification des chênes, des filets recouvrant la surface de projection totale du houppier ont été installés à un mètre du sol (Figure 5a). La surface de projection des houppiers au sol est également variable le long du gradient d'altitude, en moyenne le houppier des arbres recouvrant 70.6 m^2 ($\sigma^2 = 51.8$) (Table 3). Chaque année, nous avons effectué des récoltes toutes les deux semaines à partir de mi-septembre jusqu'à la fin de la chute des glands en décembre. L'ensemble de la production fruitière annuelle de chaque individu était récoltée avec le reste de la litière. La surélévation des filets ainsi que la mise en place de récoltes toutes les deux semaines ont permis de minimiser l'impact des prédateurs sur la quantification de la production de graines. Dans le contexte du dispositif altitudinal, la mise en place de filets recouvrant la totalité de la surface du houppier au sol est la méthode la plus adaptée aux conditions climatiques extrêmes de haute altitude ainsi qu'aux forts reliefs observés sur les sites. Toutefois, cette méthode impose un fort investissement dans la mise en place des filets ainsi que dans la période de récolte et de tri, ce qui explique le faible effectif d'arbres suivis.

Table 1: Description des sites suivis le long du gradient altitudinal dans les Pyrénées. Représentation des données géodésiques de chacun des sites et des températures (°C) annuelles pendant la période de suivi de la reproduction.

Vallée	Site	Espèce	Latitude	Longitude	Altitude	Température				
						2012	2013	2014	2015	2016
	Laveyron	<i>Q.petraea</i>	43°45'N	00°13'E	131	13.5	12.8	13.7	13.5	13.8
	Ibos	<i>Q.petraea</i>	43°15'N	00°00'W	387	12.5	12.11	12.8	13.3	13.5
Luz	Chèze	<i>Q.petraea</i>	42°55'N	00°02'W	803	10.2	19.4	11.5	11.9	11.7
	Gèdre Bas	<i>Q.petraea</i>	42°47'N	00°25'W	1235	9.2	8.7	9.8	10.64	10.2
	Péguère	<i>Q.petraea</i>	42°52'N	00°07'W	1630	7.8	6.9	8.1	8.85	8.5
	Josbaig	<i>Q.petraea</i>	43°13'N	00°44'W	259	11.7	12.9	14.0	13.7	13.4
	Bager	<i>Q.petraea</i>	43°07'N	00°32'W	422	10.8	11.7	12.7	12.5	12.2
Ossau	Le Hourcq	<i>Q.petraea</i>	42°54'N	00°26'W	841	9.4	8.4	9.7	9.7	9.4
	Gabas	<i>Q.petraea</i>	42°53'N	00°25'W	1194	8.9	8.3	9.5	10.0	9.4
	Artouste	<i>Q.petraea</i>	42°53'N	00°24'W	1614	7.1	6.2	7.7	8.3	7.6

2.1.2. Gradient latitudinal

Un réseau national de suivi à long terme des écosystèmes forestiers (RENECOFOR) de l'ONF a été utilisé afin de suivre la variabilité phénotypique de la reproduction des chênes. Ce réseau a été initié en 1992 avec pour objectif d'évaluer les changements des forêts au cours du temps. Les premiers relevés de fructification à large échelle ont débuté en 1994 et ont continué jusqu'en 2007, date à laquelle le suivi a été arrêté pour cause de coupe budgétaire de l'Europe. Les forêts suivies dans le cadre de ce réseau recouvrent une grande partie de la France métropolitaine avec une distribution allant de 43.2° à 50.2°N en latitude et de 0.04°O et 3.7°E en longitude (Table 2). Il est à noter qu'aucun peuplement suivi n'est présent dans le sud-est de la France, cette absence étant principalement due au fait que les chênes situés dans cette région sont essentiellement de type méditerranéen (*Quercus ilex*, *Quercus suber*). Au total 28 peuplements ont été suivis dont 19 de chêne sessile et 9 de chêne pédonculé. Les forêts sont des peuplements matures dont l'âge moyen était de 85 ans ($\sigma^2=30$) en 1994. Chacun des peuplements était dominé par le chêne sessile ou pédonculé. En moyenne la hauteur et le diamètre des arbres étaient respectivement de 23.5 m et 305.4 mm pour les peuplements de chêne pédonculé et de 26.4m et 331.0 mm pour les peuplements de chêne sessile, (Table 3).

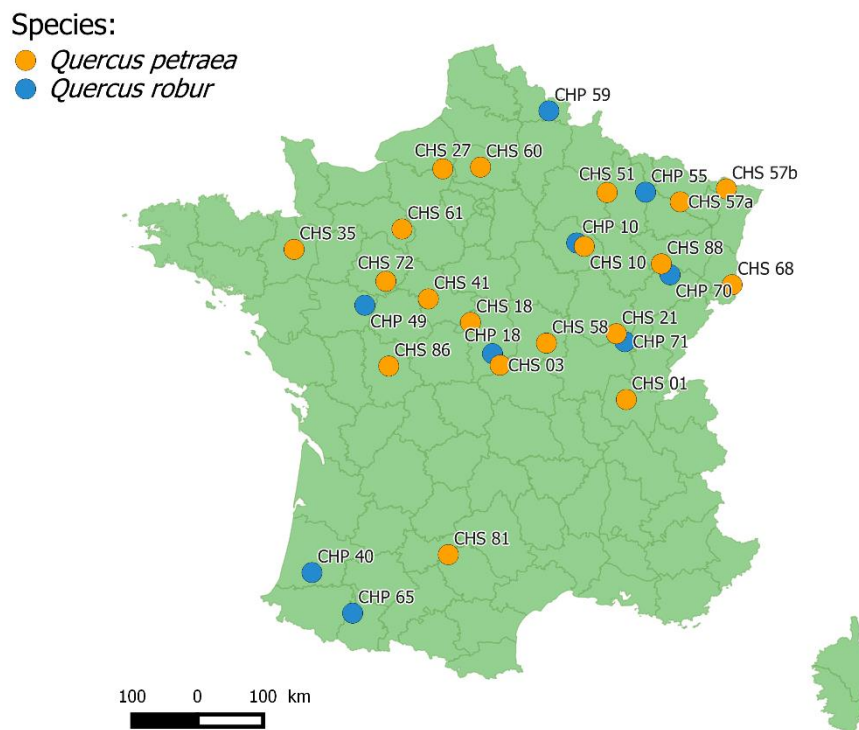


Figure 4: Distribution des sites de chêne sessile (orange) et de chêne pédonculé (bleu) le long du gradient latitudinal

Toutefois quelques espèces de sous-bois telles que le charme (*Carpinus betulus*) ou le hêtre (*Fagus sylvatica*) pouvaient être présentes. L'ensemble des forêts ont un climat tempéré avec une température moyenne annuelle de 11.1°C ($\sigma^2=0.8$) et des précipitations moyennes annuelles de 842 mm ($\sigma^2=116$) de 1994 à 2007 (Table 2). L'altitude entre les sites est variable mais reste faible, allant de 20 m au-dessus de la mer pour le site le plus bas jusqu'à 370 m pour le site le plus haut.

Sur chaque peuplement la fructification a été suivie à l'échelle de la population. Des pièges de 0.5 m² d'envergure disposés de manière systématique sur une surface d'un demi-hectare ont été installés sous la canopée des peuplements (Figure 5b). Ce même dispositif de récolte a été répété sur l'ensemble du réseau dans un souci d'homogénéisation. Les récoltes de litière pour la fructification ont été réalisées une fois par an, lorsque tous les glands étaient tombés. Les pièges étaient sous forme de conteneurs fermés, ce qui permettait de protéger les graines récoltées de la prédation pendant la saison de chute.

Table 2: Description des sites suivis le long du gradient latitudinal distribués sur toute la France métropolitaine. Représentation des données géodésiques de chacun des sites, des températures (°C) et des précipitations (mm) annuelles moyennes sur les 14 années de suivi.

Département	Forêt	Espèce	Code	Latitude	Longitude	Altitude	Température	Précipitation
Tarn	Grésigne	<i>Q. petraea</i>	CHS 81	44°02'N	01°44'E	300	12.28	848.1
Ain	Seillon	<i>Q. petraea</i>	CHS 01	46°10'N	05°14'E	260	11.04	992.2
Vienne	Moulière	<i>Q. petraea</i>	CHS 86	46°37'N	00°29'E	116	12.13	789.3
Allier	Tronçais	<i>Q. petraea</i>	CHS 03	46°40'N	02°43'E	260	11.53	776
Nièvre	Vincence	<i>Q. petraea</i>	CHS 58	46°58'N	03°39'E	270	11.41	943.7
Côte d'Or	Cîteaux	<i>Q. petraea</i>	CHS 21	47°04'N	05°04'E	220	11.04	780.3
Cher	Vierzon	<i>Q. petraea</i>	CHS 18	47°15'N	02°07'E	176	11.39	839.3
Loir et Cher	Blois	<i>Q. petraea</i>	CHS 41	47°34'N	01°15'E	127	11.58	656.3
Haut Rhin	Hardt	<i>Q. petraea</i>	CHS 68	47°41'N	07°28'E	256	10.43	845.2
Sarthe	Bercé	<i>Q. petraea</i>	CHS 72	47°47'N	00°22'E	170	11.64	766.5
Vosges	Darney	<i>Q. petraea</i>	CHS 88	48°01'N	06°02'E	330	9.97	1068.5
Ile et Vilaine	Rennes	<i>Q. petraea</i>	CHS 35	48°10'N	01°32'W	80	11.47	807.1
Aube	Temple	<i>Q. petraea</i>	CHS 10	48°17'N	04°27'E	160	11.04	792.4
Orne	Réno Valdieu	<i>Q. petraea</i>	CHS 61	48°31'N	00°40'E	220	10.74	808.5
Moselle	Amelécourt	<i>Q. petraea</i>	CHS 57a	48°52'N	06°29'E	315	10.36	863.3
Moselle	Mouterhouse	<i>Q. petraea</i>	CHS 57b	49°00'N	07°27'E	320	9.85	863
Marne	Chatrices	<i>Q. petraea</i>	CHS 51	49°02'N	04°57'E	180	10.52	864.7
Eure	Lyons	<i>Q. petraea</i>	CHS 27	49°21'N	01°30'E	175	10.29	794.6
Oise	Hez-Froidmont	<i>Q. petraea</i>	CHS 60	49°23'N	02°18'E	55	10.81	695
Hautes Pyrénées	Azereix	<i>Q. robur</i>	CHP 65	43°12'N	00°02'W	370	11.9	997.5
Landes	Gamarde	<i>Q. robur</i>	CHP 40	43°44'N	00°50'W	20	13.52	987.7
Cher	Verneuill	<i>Q. robur</i>	CHP 18	46°49'N	02°34'E	175	11.5	827
Saône et Loire	Pourlans	<i>Q. robur</i>	CHP 71	46°58'N	05°14'E	190	11.2	773.9
Maine et Loire	Monnaie	<i>Q. robur</i>	CHP 49	47°27'N	00°01'EW	57	12.23	704.9
Haute Saône	Anjeux	<i>Q. robur</i>	CHP 70	47°52'N	06°12'E	240	10.44	1167.7
Aube	Larivour	<i>Q. robur</i>	CHP 10	48°20'N	04°18'E	115	11.04	710.9
Meuse	Haudronville	<i>Q. robur</i>	CHP 55	49°01'N	05°46'E	220	10.12	844.6
Nord	Mormal	<i>Q. robur</i>	CHP 59	50°10'N	03°45'E	149	10.15	767.3

2.2. Dispositifs de suivi de la variabilité génétique

2.2.1. *Test de provenances de Toulence*

Afin d'étudier la variabilité génétique intra et inter-populationnelles, des tests de provenance-descendance autrement appelés jardin commun, sont communément utilisés en écologie (de Villemereuil et al., 2016; Linhart and Grant, 1996). Le principe consiste à semer différentes provenances, issues de plusieurs descendance, dans un même site. Ainsi, des glands issus de 152 arbres mère (famille) en provenance des 10 sites répartis le long du gradient altitudinal ont été récoltés en 2006. Les glands ont été semés et cultivés en pépinière puis transplantés en 2008 à l'unité expérimentale de L'INRA de Toulence située en plaine (44°34'N, 00°16'W). Au total, 3448 jeunes plants ont été transplantés suivant une méthode de blocs aléatoires stratifiés avec un espacement de 3.5 x 1.5 m (Alberto et al. 2010). Le suivi de la reproduction des arbres de Toulence a débuté en 2014, année pendant laquelle les premiers arbres du dispositif ont produit des fruits, jusqu'en 2016. En 2014 les arbres étaient âgés de 8 ans, leur diamètre et leur hauteur était encore faible, de l'ordre de 41.6 mm et 2.0 m, respectivement (Table 3). Pendant la période de suivi de la fructification, la température moyenne annuelle à Toulence a été de 13.63°C et les précipitations moyennes annuelles de 733 mm.

Depuis la plantation, des événements de mortalité ont été observés dans le dispositif. Ainsi, en 2016 sur l'ensemble du dispositif, 1435 individus issus de 131 familles ont été suivis. Le suivi de la fructification a été mené de manière hebdomadaire à partir du mois de septembre jusqu'à la chute de tous les glands. Les glands ont été récoltés au sol après l'application d'une légère secousse sur l'arbre afin de récolter les glands prêts à chuter (Figure 5c). Les arbres n'ayant pas produit de glands ont également été notés.

2.2.2. *Croisement contrôlé de Bourran*

La variation de traits à caractère quantitatif tel que la reproduction est généralement due aux facteurs environnementaux ainsi qu'à l'expression de plusieurs régions du génome. En génétique quantitative il est possible d'identifier ces régions, autrement appelées locus à caractère quantitatif (QTL), à partir de dispositifs spécifiques de type croisement contrôlé. Ainsi, dans le cadre de cette thèse nous avons utilisé une famille de plein-frère issue d'un croisement contrôlé entre deux chênes pédonculés adultes mâle et femelle au génotype connu. Le parent mâle (A4) a été sélectionné dans un parc proche d'Arcachon dans le Sud-Ouest de la France (44°40' N, 1°11' O) et le parent femelle (3P) est originaire de la station de recherche

INRA de Pierroton (44°44' N, 0°46' O). Le croisement entre les deux parents a été réalisé en 1992 produisant 278 descendants. Au total, 207 descendants ont été bouturés environ 10 fois, cultivés en pépinière, puis transplantés à l'unité expérimentale de Bourran dans le Sud-Ouest de la France (44°20' N, 0°24' O) (Scotti-Saintagne et al., 2004). Ainsi, 2196 jeunes plants ont été transplantés avec un espacement de 4 m x 1.5 m, suivant une méthode de blocs aléatoires stratifiés comprenant 183 blocs avec 12 individus chacun. En 2012, une éclaircie a été réalisée au sein du dispositif, réduisant de moitié la densité du peuplement. Due à cette réduction drastique d'individus les blocs ont été réorganisés en 8 comprenant chacun d'entre eux une moyenne de 47 ± 6 individus.

Depuis 2014, des filets recouvrant la surface totale du houppier au sol ont été installés au sein du dispositif (Figure 5d). Cette même année les arbres étaient âgés de 22 ans et avaient un diamètre et une hauteur moyenne de 95.9 mm et 7.7 m, respectivement (Table 3). Afin de minimiser le recouvrement entre les arbres, les filets ont été installés une ligne sur deux et les arbres trop proches l'un de l'autre, c'est-à-dire sans espacement entre eux après l'éclaircie, n'ont pas été sélectionnés. Au total, 173, 331, 339 et 337 arbres ont été suivis de 2014 à 2017, correspondant à 117 génotypes pour 2014 et 170 pour les trois dernières années. Chaque année, la période de récolte des graines a été réalisée en deux fois. Le premier passage se déroulait mi-octobre et le deuxième mi-novembre une fois que tous les glands étaient tombés. Au cours de ces campagnes de récolte, de nombreuses personnes ont été mobilisées afin de minimiser les temps de récoltes. En moyenne, 4 à 5 équipes de 2 personnes se répartissaient les filets à récolter. La température moyenne annuelle à Bourran au cours des 4 années de mesure a été de 13.88°C et les précipitations de 650.1 mm.

Table 3: Tableau récapitulatif représentant les caractéristiques de chacun des dispositifs *in situ* et expérimentaux. L'espèce, l'échelle et la première année de suivi sont indiquées ainsi que le nombre d'années, le nombre de sites et le nombre d'individus par site. La moyenne des diamètres, des hauteurs, des surfaces de projection du houppier et des âges au cours de la première année de suivi, sont représentés avec l'écart-type pour chaque dispositif. Le diamètre et la hauteur sont indiqués en m et la surface de projection du houppier au sol en m².

	Dispositifs <i>in situ</i>			Dispositifs expérimentaux	
	Gradient altitudinal	Gradient latitudinal		Test de provenance	Croisement contrôlé
Espèce	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus robur</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus robur</i>
Echelle	Individu	Population	Population	Individu	Individu
1 ^{er} année de suivi	2012	1994	1994	2014	2014
Années de suivi	5	14	14	3	4
Sites	10	9	19	1	1
Individus	30	-	-	1544 ± 96	295 ± 81
Diamètre	0.38 ± 0.19	0.30 ± 0.10	0.33 ± 0.06	0.041 ± 0.024	0.096 ± 0.022
Hauteur	19.2 ± 9.4	23.5 ± 3.7	26.4 ± 2.3	2.0 ± 1.1	7.7 ± 1.3
Surface du Houppier	70.6 ± 51.8	-	-	4.0 ± 1.5	-
Age	≈ 90	70.2 ± 29.7	92.8 ± 26.1	8	22



Figure 5: Représentation des différents dispositifs de filets installés le long du gradient altitudinal (A), le long du gradient latitudinal (B), dans le jardin commun de Toulence (C) et dans la parcelle de plein frère à Bourran (D)

2.3. Données climatiques

Le long du gradient altitudinal et dans les tests de provenance, des capteurs météorologiques de type Hobo (Hobo pro H23-002, Onset, USA) ont été installés à 1,50 m du sol en lisière de forêt dans une clairière au sein de chaque peuplement. Ainsi, la température et l'humidité relative de l'air ont été mesurées avec un pas horaire. Un abri en plastique (RS3B, Onset, USA) au-dessus des capteurs permettait de les protéger à la fois de la pluie et des rayonnements du soleil. Dans le cas de perte des données due à une détérioration d'un des capteurs, les données manquantes ont été gapfillées à partir de modèles linéaires avec le site le plus proche statistiquement. Les procédures de gapfillage entre sites ont été faites pour les pertes de données de moins de 3 mois et lorsque le coefficient de détermination était supérieur à 0.93. Les données météorologiques du gradient latitudinal ont, quant à elles, été extraites de la base de données SAFRAN de météo en France. Les données SAFRAN sont des données horaires recouvrant la France avec une précision de 8x8 kms. Les données de températures et de précipitations ont été extraites pour chacun des sites du gradient.

3. Estimation de l'effort de reproduction

3.1. Tri des récoltes – Comptage

Au cours de cette thèse, les récoltes ont été menées sur le gradient altitudinal dans les Pyrénées, sur le jardin commun de Toulonne ainsi que dans le peuplement de plein frère à Bourran. Dans chacun de ces dispositifs le protocole de tri et de comptage des graines est resté le même. Ainsi, au cours de chacune des récoltes un premier tri grossier était réalisé sur place afin de ramener un minimum de volume au laboratoire. Les litières récoltées comportaient de nombreux éléments organiques en provenance essentiellement des chênes sessiles sélectionnés. Un important volume de feuilles, de rameaux, de bourgeons, de fleurs femelles et de glands avortés ou non était ainsi retrouvé.

Pour chaque récolte, les litières ont été séchées à l'air libre pendant 4 semaines en serre puis triées à la main. Afin d'avoir le tri le plus fin possible nous avons dissocié les glands en plusieurs catégories, en fonction de critères morphologiques distinguant les glands capables de germer et ceux qui ne le peuvent pas (Shaw 1968). Ainsi nous distinguons les glands viables des glands complètement détériorés (présence du péricarpe mais absence de l'albumen), et les glands viables des glands avortés (glands au diamètre supérieur à la longueur, encore très insérés dans leur cupule). Les glands avortés n'ont pas été pris en compte dans le comptage car nous avons considéré qu'ils n'étaient pas assez viables pour germer (Shaw 1968). En revanche, les glands détériorés ont été pris en compte car malgré les dégâts subis par les prédateurs ces glands étaient arrivés à maturation, ils n'étaient donc pas viables à la récolte mais pouvaient potentiellement l'être à leur chute.

3.2. Estimation et pesée

Seuls les glands viables, c'est-à-dire ceux qui pouvaient potentiellement germer à la récolte ont donc été pesés. Les glands avortés et détériorés n'ont pas été pris en compte. La pesée a été réalisée après séchage des glands en serre et nous avons donc calculé la masse sèche. Les mesures ont été faites à partir de balances de précision à 0.01g pour les lots les plus petits et de 0.1g pour les lots les plus grands (poids supérieur à 2 kg). La masse moyenne d'un gland (M_a) a été estimée à partir du nombre total de glands viables (N_{viable}) et de la masse totale (M_{tot}). Lorsque le lot contenait une grande quantité de glands, 100 glands ont été pris aléatoirement et ont été pesés (M_{100}). Le nombre total de glands ($N_{viables}$) a été estimé à partir de la masse totale (M_{tot}) et de la masse de 100 glands (M_{100}) :

$$N_{viables} = \frac{M_{tot} \times 100}{M_{100}}$$

La quantité totale de glands produits par l'arbre (N_{tot}) correspond donc à la somme du nombre de glands viables (N_{viable}) et du nombre de glands détériorés. Afin de pouvoir comparer les arbres, la production de graines a également été normalisée en fonction de la surface de projection du houppier au sol.

3.3. Test de germination

Après chaque récolte le long du gradient altitudinal dans les Pyrénées (*in situ*), 25 glands ont été pris aléatoirement dans les lots récoltés afin de les mettre à germer. Aucune distinction n'a été faite dans la sélection aléatoire, les glands présentant de petits dégâts ou bien étant infestés par un insecte tel que le balanin du chêne (*Curculio glandium*) ont également été pris en compte dans le test de germination. Chacun des lots de 25 glands a été pesé puis mis en germination dans des bacs de vermiculite humidifiée au préalable (Figure 6a). Les bacs ont été déposés en serre sur des tables chauffantes afin de minimiser les variations de températures au cours de la saison. Les relevés de germination ont par la suite étaient faits au bout de 3 mois d'attente. Nous avons considéré qu'il y avait germination lorsque qu'il y avait présence de la radicule à la pointe de la graine (Figure 6b). Le pourcentage de glands ayant germé dans le lot a ensuite été estimé.

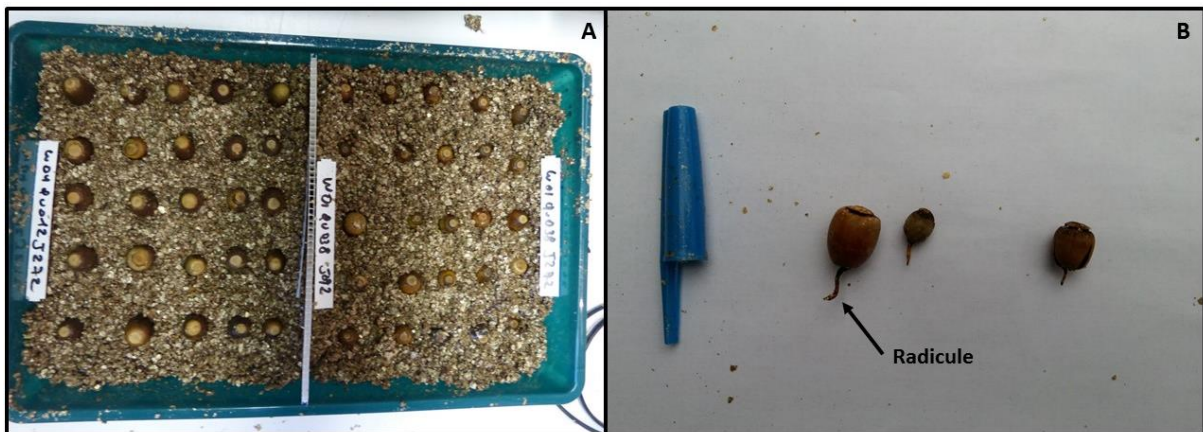


Figure 6: Représentation de la mise en germination des graines (A) et description des graines considérées comme germées.

Référence :

- Bacilieri, R., Ducouso, A., Kremer, A., 1995. Genetic, morphological, ecological and phenological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of northwest of France. *Silvae Genet.* 44, 1–10.
- de Villemereuil, P., Gaggiotti, O.E., Mouterde, M., Till-Bottraud, I., 2016. Common garden experiments in the genomic era: new perspectives and opportunities. *Heredity* 116, 249–254.
- Dupouey, J.L., Badeau, V., 1993. Morphological variability of oaks (*Quercus robur* L, *Quercus petraea* (Matt) Liebl, *Quercus pubescens* Willd) in northeastern France: preliminary results. *Ann. Sci. For.* 50, 35s–40s.
- Fitter, A.H., Fitter, R.S.R., 2002. Rapid Changes in Flowering Time in British Plants. *Science* 296, 1689–1691.
- Linhart, Y.B., Grant, M.C., 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27, 237–277.
- Menzel, A., Sparks, T.H., Estrella, N., Koch, E., Aasa, A., Ahas, R., Alm-Kübler, K., Bissolli, P., Braslavská, O., Briede, A., Chmielewski, F.M., Crepinsek, Z., Curnel, Y., Dahl, ÅSlöG, Defila, C., Donnelly, A., Filella, Y., Jatzak, K., MåGe, F., Mestre, A., Nordli, ØYvind, PeñUelas, J., Pirinen, P., RemišOvá, V., Scheifinger, H., Striz, M., Susnik, A., Van Vliet, A.J.H., Wielgolaski, F.-E., Zach, S., Zust, A., 2006. European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Glob. Change Biol.* 12, 1969–1976.
- Müller-Starck, G., Herzog, S., Hattemer, H.H., 1993. Intra- and interpopulational genetic variation in juvenile populations of *Quercus robur* L and *Quercus petraea* Liebl. *Ann. Sci. For.* 50, 233s–244s.
- Pesson, P., Louveaux, J., 1984. *Pollinisation et productions végétales*. Editions Quae.
- Pickett, S.T.A., 1989. Space-for-Time Substitution as an Alternative to Long-Term Studies, in: Likens, G.E. (Ed.), *Long-Term Studies in Ecology*. Springer New York, New York, NY, pp. 110–135.
- Rushton, B.S., 1979. *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl.: a multivariate approach to the hybrid problem. 2. The geographical distribution of population types. *Watsonia*.
- Scotti-Saintagne, C., Bodénès, C., Barreneche, T., Bertocchi, E., Plomion, C., Kremer, A., 2004. Detection of quantitative trait loci controlling bud burst and height growth in *Quercus robur* L. *Theor. Appl. Genet.* 109, 1648–1659.
- Shaw, M.W., 1968. Factors Affecting the Natural Regeneration of Sessile Oak (*Quercus Petraea*) in North Wales: II. Acorn Losses and Germination Under Field Conditions. *J. Ecol.* 56, 647–660.
- Sherry, R.A., Zhou, X., Gu, S., Arnone, J.A., Schimel, D.S., Verburg, P.S., Wallace, L.L., Luo, Y., 2007. Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 198–202.

- Steinhoff, S., 1993. Results of species hybridization with *Quercus robur* L and *Quercus petraea* (Matt) Liebl. Ann. Sci. For. 50, 137s–143s.
- Zanetto, A., Rousel, G., Kremer, A. (inra, 1994. Geographic variation of inter-specific differentiation between *Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. For. Genet. Slovak.

Chapitre 1

Increasing spring temperatures favor oak seed production in temperate areas

Thomas Caignard, Antoine Kremer, Cyril Firmat, Manuel Nicolas,
Samuel Venner, Sylvain Delzon
(accepted, Scientific Reports)

SCIENTIFIC REPORTS



OPEN

Increasing spring temperatures favor oak seed production in temperate areas

Thomas Caignard¹, Antoine Kremer¹, Cyril Firmat^{1,2}, Manuel Nicolas³, Samuel Venner⁴ & Sylvain Delzon¹

The changes in reproductive phenology (i.e. timing of flowering and fruiting) observed in recent decades demonstrate that tree reproduction has already been altered by climate change. However, understanding the impact of these changes in reproductive success and fitness remains a major challenge for ecologists. We describe here a previously unreported phenomenon: a significant increase in the reproductive effort (seed production) of temperate oaks with increasing spring temperature, observed over the last decade. In contrast, no relationship was found between seed production and precipitation. This sensitivity of seed production to temperature was confirmed by a “space-for-time” substitution based on elevation gradients. Our findings suggest that global warming may enhance oak reproductive effort in temperate ecosystems. Nevertheless, while fitness can be enhanced by higher levels of seed production, it also depends on the frequency and synchronization of mast seeding production, which may also be influenced by climate change.

Forests are important for biodiversity and as a terrestrial carbon sink¹, and contrasting responses to climate change have been identified. For instance, growth and survival, two of the main components of tree fitness, have been found to be substantially altered by climate change^{2,3}. In cold and mild areas, such as boreal and temperate forests, global warming is extending tree growing seasons^{4,5} and promoting wood production and tree growth³, whereas, in warmer and drier areas, negative impacts on tree growth⁶ and survival^{7,8} have been observed. In addition to the reported impact on growth, and, to a lesser extent, forest dieback, we need to know how tree reproduction, one of the most important components of plant fitness, is being affected by climate change, and its likely response.

Reproduction is critical for the maintenance and demography of populations, and should therefore be assessed carefully when modeling population responses to climate change⁹. Seedling regeneration and survival are directly linked to variations in seed production^{10,11} and the assessment of changes in regeneration from seeds in response to temperature has become a major challenge. There is, therefore, an urgent need to assess the impact of climate change on tree reproduction, to improve our understanding of the likely effects of this phenomenon on tree population dynamics.

An impact of climate change on the timing of reproduction has been reported for numerous organisms^{12,13}. Indeed, reproductive phenology is known to be sensitive to environmental cues, such as temperature^{14,15}, so climate change is likely to alter the intensity of seed production. However, the impact of climate change on reproductive effort is difficult to quantify, particularly in forest trees, which display the synchronized, intermittent production of large amounts of seeds. This phenomenon, commonly observed in oak species at the population scale, is called “masting” or “mast-seeding”^{16,17}. Most studies of tree seed production over long time series have focused on single sites or small numbers of sites in limited areas. The specific features of masting have, thus, made it difficult to assess the sensitivity of seed production to temperature. Moreover, as pointed out by Crone and Rapp¹⁸, the large numbers of isolated studies and of weather variables tested have highlighted contradictory correlations with seed production, even for related species. As a result, to avoid artifacts caused by masting, the monitoring of seed production should be replicated in space and time, in ecologically independent forests.

¹BIOGECO, INRA, Univ. Bordeaux, 33615, Pessac, France. ²INRA, URP3F, RD150, Site du Chêne, BP 86006, 86600, Lusignan, France. ³Office National des Forêts, Département recherche-développement-innovation, Boulevard de Constance, 77300, Fontainebleau, France. ⁴Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR 5558-CNRS, Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, F-69365, Lyon, France. Correspondence and requests for materials should be addressed to S.D. (email: sylvain.delzon@u-bordeaux.fr)

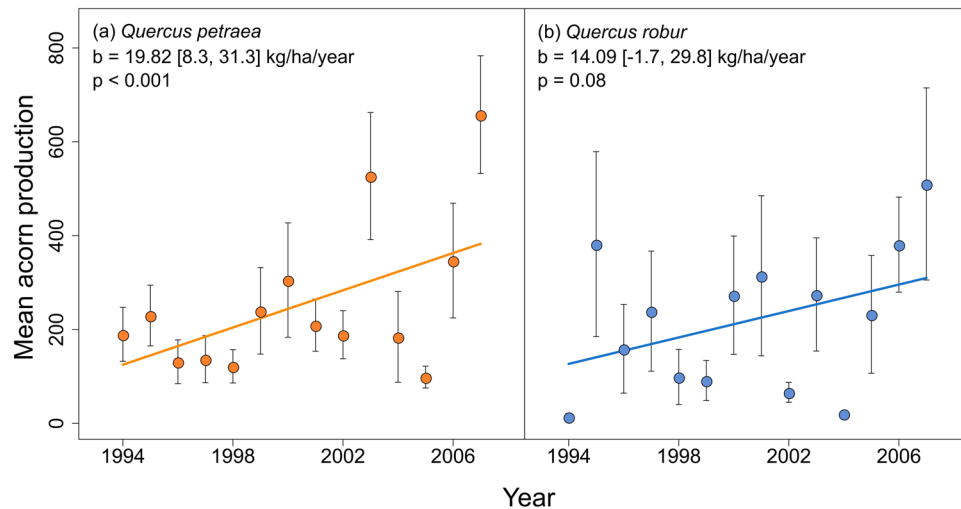


Figure 1. Temporal variation in seed production for *Quercus petraea* and *Quercus robur*. Temporal variation in seed production (kg/ha) of 19 and 9 populations of *Q. petraea* (a) and *Q. robur* (b) respectively, monitored over 14 years and distributed throughout France. Each dot corresponds to the mean seed production across all populations per year (kilograms per hectare per year averaged over all sites), the standard errors are indicated for each dot. The slope of the regression line and its 95% confidence interval, calculated from a linear mixed-effects model [2], are given for both species, with the coefficient of determination (R^2) between model [2] and mean production.

Species	Temporal		Spatial	
	$M_{\text{Acorns}}/\text{Year}$	$M_{\text{Acorns}}/T_{\text{Ap-Ma}}$	$M_{\text{Acorns}}/\text{Alt}_{100\text{m}}$	$M_{\text{Acorns}}/T_{\text{Ap-Ma}}$
<i>Q. petraea</i>	19.82 [8.3, 31.3]	111.89 [63.1, 146.0]	-83.89 [-149.5, -18.3]	334.2 [175.6, 589.2]
<i>Q. robur</i>	14.07 [-1.7, 29.8]	72.66 [19.6, 120.5]	—	—

Table 1. Temperature sensitivity of reproductive efforts in oaks. Slopes of the linear mixed-effect regression between acorn production in kilograms per hectare (M_{Acorns}) and year (temporal gradient, $M_{\text{Acorns}}/\text{Year}$), and for every 100 m increase in elevation (spatial gradient, $M_{\text{Acorns}}/\text{Alt}_{100\text{m}}$), and the mean temperature in April and May in °C ($M_{\text{Acorns}}/T_{\text{Ap-Ma}}$) in both studies. The 95% confidence intervals are indicated in square brackets. Reproduction in *Quercus petraea* was monitored in both studies, whereas *Quercus robur* was monitored in the temporal gradient study only. Significant correlations are indicated in bold.

In this study, we analyzed extensive sets of tree reproduction data for two temperate European white oak species (the sessile oak (*Quercus petraea*) and the pedunculate oak (*Q. robur*)), to determine whether seed production had changed over the last two decades in response to global warming. Seed production was monitored in 28 forests of *Q. petraea* and *Q. robur* distributed throughout France over a period of 14 years. In parallel, a “space-for-time” substitution was used to quantify the temperature sensitivity of acorn production over elevation gradients. These analyses demonstrated significant temperature-induced trends in seed production over the last two decades, suggesting that climate change enhances oak reproductive effort in temperate ecosystems.

Results and Discussion

Temporal trend in seed production. We examined temporal changes in the seed production of two oak species across France over recent decades (1994 to 2007) (Figure S1). We observed an increase over time in reproductive effort for both species (Fig. 1). On average, acorn production (M_{acorn}) in *Q. petraea* populations increased by 19.8 [8.3, 31.3] kg/ha/year (Table 1) and by 14.1 [-1.7, 29.8] kg/ha/year for *Q. robur*. However, for *Q. robur* the regression slope was not significant (Table 1). In addition, the effects of age and diameter have been tested and are reported in Table S1. For both species, growth does not help to explain the variation in seed production (Table S1). However, aging had a significant negative effect on the fructification of *Q. petraea* (Table S2) while no effect was found for *Q. robur*. Such a negative effect suggests that older *Q. petraea* populations produce less acorns than younger ones. This strengthens the positive trend in seed production observed over time. Similar positive temporal trends have been reported in a few other studies. A limited number of reports for *Pinus engelmannii*¹⁹ and in *Nothofagus solandri*^{20,21} have demonstrated temporal shifts. In these studies, the monitored populations were located at high elevations, at which reproduction appears to be more sensitive to environmental change^{20,21}. However, in most cases, no temporal trend in fruit production, for example, was observed^{22,23} and such trends have rarely even been sought, due to the scarcity of adequate, long-term datasets. In our study, the many populations surveyed were found in temperate lowland forests located over a large area and at an elevation of between 55 and 330 m above sea level. The mean synchrony of seed production (Spearman correlation coefficient) among the

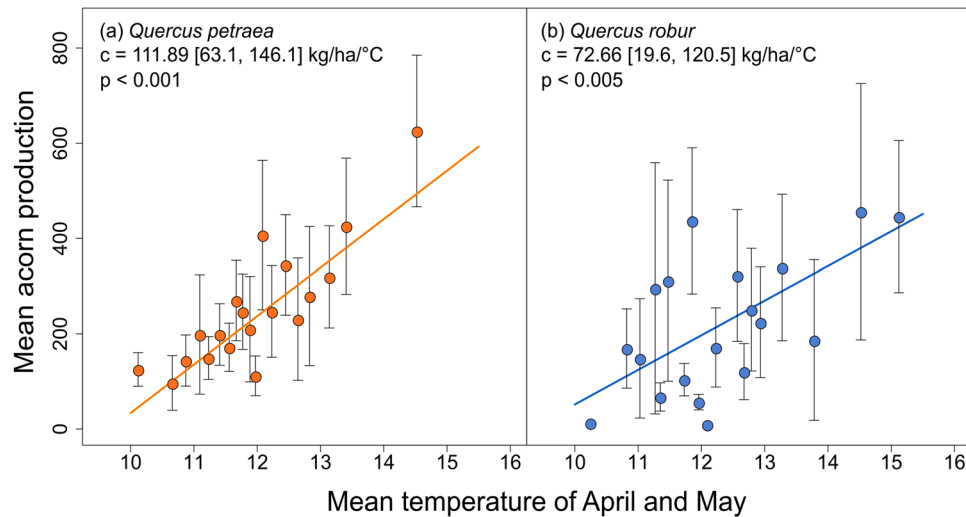


Figure 2. Responses of seed production to spring temperature for both *Quercus petraea* and *Quercus robur*. Changes in acorn production per population and per year (M_{Acorns}) for *Q. petraea* (a) and *Q. robur* (b) according to mean spring temperature. For both species, acorn production data for all populations and all years were binned into 19 temperature classes of approximately the same size, 14 for *Q. petraea* and 6 or 7 for *Q. robur*. Mean acorn production per bin is correlated with the temperature class median, the standard errors are indicated for each dot. The slope of the regression line and its 95% confidence interval, calculated from a linear mixed-effects model [4], and the coefficient of determination (R^2) between the model [4] and the binned data are given for each species.

populations was very low for both species (0.11 ± 0.016 for *Q. petraea* and 0.15 ± 0.052 for *Q. robur*), demonstrating the lack of synchrony between populations over this large scale (the differences in seed production dynamics between the populations monitored are shown in Figure S2). It is worth noticing that the degree of synchrony changes according to the distance between populations, explaining the low overall synchrony over the large distribution of the populations monitored in our study: the greater the distance between two populations is, the lower the synchrony (Figure S3). As the populations were independent, any common temporal change in reproductive effort can be seen as a robust overall pattern rather than a local trend in a marginal population. Many studies have explored the potential drivers of plant reproduction^{18, 24, 25}, but only a few have investigated changes in reproductive effort in response to global warming, due to a general lack of statistical power^{26, 27}. The large number of asynchronous populations monitored in our study provides a significant advance to assess changes in reproduction though time and according to temperature. In the context of climate change, the temporal trends observed here may reflect the effects of recent warming over the last few decades. Consistent with this view, we observed a significant increase in temperature over time at the sites studied (Figure S4), potentially sufficient to account for the positive temporal trend observed.

Reproductive effort in oak is increasing with increasing spring temperatures in temperate areas.

Temperature and rainfall are routinely recorded and are considered the most relevant climatic variables driving seed production²⁴, but their effects seem to differ between tree species and ecosystems²³. Tree reproductive effort has been studied mostly in Mediterranean oak species and monitored mostly in Southern Europe and California²⁸. For most of the Southern European species, a warmer, drier summer season results in lower levels of seed production^{29, 30}. Interestingly, the main driver appears to be water deficit rather than temperature *per se*^{31, 32}. By contrast, we found that, in both *Q. petraea* and *Q. robur*, seed production was positively correlated with spring temperature (Fig. 2a,b and Table 1), which is known to have a strong effect on flowering and pollination^{14, 15}. Moreover, no correlation was found between seed production and annual or seasonal precipitations (Table S3). No study has ever reported positive temporal clines for acorn production, but positive correlations with spring temperature have been found in California for three Mediterranean oak species, *Q. lobota*, *Q. douglasii* and *Q. kelloggii*³³, and three temperate oak species, *Q. alba*, *Q. rubra* and *Q. velutina*¹⁷. In our study, despite the broad distribution of the populations, the positive correlation with spring temperature observed could be explained mostly by temperature variability over time rather than temperature variability over space (Table S4). The trend towards an increase in seed production over time observed for both species was therefore directly correlated with the increase in spring temperature observed over the last decade (Figure S4). Climate change has had a negative impact on reproduction in Mediterranean oaks in Europe^{32, 34}, but we show here that the increase in spring temperature has favored reproduction in temperate oaks. Such a difference could be explained by a water scarcity threshold that is annually reached in Mediterranean ecosystems, while precipitation is currently not limiting for reproduction in European temperate ecosystems.

We then examined seed production along elevation gradients in Southern France, to refine the temperature-seed production relationship. Our findings confirm the strong positive correlation between seed production and spring temperature in *Q. petraea* (Table 1). The gain in acorn production per one-degree rise

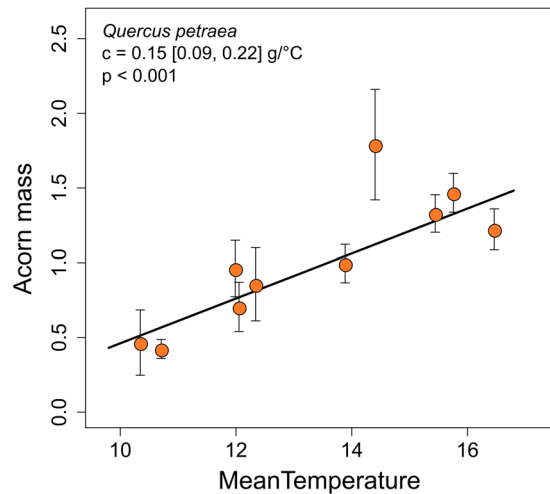


Figure 3. Temperature trends in seed mass for *Quercus petraea*. Trend in acorn mass (g) with mean temperature from April to November (°C) along the elevation gradient. Each dot corresponds to the mean acorn mass, across years and trees, per population along the elevation gradients. The slope of the regression line and its 95% confidence interval, calculated from a linear mixed-effects model, and the coefficient of determination (R^2) are indicated. April to November corresponds to reproductive cycle length in *Q. petraea*: from flowering to acorn release.

along the elevation gradient ($M_{\text{acorn}}/T_{\text{Ap-Ma}} = 334.2 \text{ kg/ha/}^\circ\text{C}$) was three times greater than that along the spatio-temporal gradient ($M_{\text{acorn}}/T_{\text{Ap-Ma}} = 111.89 \text{ kg/ha/}^\circ\text{C}$). This difference may reflect differences in temperature values and gradients between the two designs. Indeed, the range of spring temperature variation was lower for the spatio-temporal gradient (6.2 °C) than for the elevation gradient (10.8 °C).

What is the impact on tree fitness? Our observations suggest that climate change may increase the fitness of temperate oaks. An increase in seed production is beneficial to the tree, as it increases seed dispersal^{35,36}, thereby increasing the number of potential offspring and, consequently, their establishment. In addition, acorn mass increases with increasing temperature, by about 0.15 g per degree [0.09, 0.22] (Fig. 3). This gain may increase the resistance of acorns to environmental stress (predation by insects, frost) and enhance germination^{37,38}. However, reproduction in many tree species, including oaks, is characterized by masting or mast-seeding, with synchronized large-scale seed production at the population scale (Figure S2). This process is considered to be an adaptive response to the selective pressure exerted by predators^{16,17}. Masting limits seed predation and promotes seed dispersal, thereby ensuring high rates of offspring survival and optimizing resource allocation to reproduction^{24,39}. Changes in masting associated with climate change may, therefore, have a negative impact on the fitness of tree populations.

Nowadays climate change effect on masting frequency is still uncertain and only few studies have investigated change in masting frequency and long-term shifts in allocation to seed production. For instance, Övergaard *et al.*⁴⁰ observed, during 30 years of measurement in European beech forest (*Fagus sylvatica*), an increase in the frequency of mast events directly correlated with an increase in temperature. With increasing periodicity, the temporal variability characterizing mast-seeding and enabling the trees to control predator population size^{24,41} might be greatly reduced²⁷. Low inter-annual variability in seed crops may lead to an increase in predator population size, decreasing reduce offspring survival. This paradoxical consequence of climate warming for temperate tree reproduction highlights the need for improvements in our understanding of the proximal mechanisms underlying masting in trees, for prediction of the response of forest ecosystems to climate change.

This study focused on temperate forests dominated by deciduous oak species and cannot be extended to other forest types. However, we can compare the time and temperature trends of acorn production observed in oaks with the patterns reported for whole biomass growth in trees^{42,43}. There is a clear congruent increase in vegetative growth and reproductive growth (our results) in *Q. petraea* and *Q. robur* in recent decades in central Europe. Such trends can be seen as two facets of the overall consequence of the same causes relating to global changes in recent decades. An increase in temperature extends the period of vegetative growth^{4,5} and enhances tree growth⁴⁴. In addition to increasing temperature, increases in the carbon dioxide content of the atmosphere may also promote tree growth in some species, and increases in nitrogen (N) deposition have been shown to stimulate forest growth and carbon sequestration in Europe⁴⁵. As reproduction in trees is also dependent on resource availability^{46–49}, the combined effects of temperature, carbon dioxide, and nitrogen deposition may also contribute to the increase in seed production. Despite a likely competition for resources between these two processes, a concurrent increase in both is reliable as there seem to be largely independent of each other⁵⁰. However, the congruent pattern of vegetative and reproductive growth may be negatively affected by extreme events and disturbances, such as firestorms or the spread of insects and diseases, which may also be triggered by global changes⁵¹.

Global warming has had a positive effect on temperate oak growth. However, the response of tree reproduction to environmental changes remains unclear, mostly due to our limited understanding of masting processes. Long-term studies of reproductive investment over large areas would be required to assess the global impact of climate change on trees.

Material and Methods

Study sites. We analyzed variations in seed production for two European oak species (*Quercus petraea* and *Quercus robur*) along a latitudinal and an elevation gradients. The latitudinal field survey is made of 28 permanent plots that are part of the French intensive forest monitoring network (RENECOFOR) (Figure S1). These plots are widely distributed across France, between latitudes of 43.2° and 50.2°N and longitudes of 0.04° and 3.7°E (Table S5). They correspond to oak tree populations dominated by *Q. petraea* for 19 of them and by *Q. robur* for the 9 other ones. All of these populations were already mature when they started to be monitored (mean age of 85.5 years ± 28.7 in 1994). Seed production was assessed for 14 years, from 1994 to 2007. Due to a budget cut, the monitoring program stopped after 2007 and no data of fructification were available after this date. In each forest plot, acorns were collected at the population scale, with ten 0.5 m²-litterfall traps set up under the closed canopy and evenly distributed over an area of about half a hectare. The litter fallen into the traps was collected each season, and sorted by distinguishing the leaves, branches and acorns from oak trees. Acorns were then separated from their cupule and oven-dried. The dry mass of acorns was measured, then divided by the total area of all the traps and expressed in kg/ha. In addition, the mean diameter of trees in each population were assessed every five years from 1991 to 2014. We then estimated it every year using linear regressions. Daily mean, minimal and maximal temperatures (°C) and precipitation (mm) were extracted from the SAFRAN⁵² spatially explicit database (8 × 8 km grid) for each site.

The elevation gradient survey was set up in the French Pyrenees, along a replicated transect in two parallel valleys: Ossau and Gaves (latitude 42°47'N to 43°45'N; longitude 00°44'W to 00°06'E). Five natural mature populations of *Q. petraea* were monitored in each valley, at different elevations, from 131 m to 1630 m (Table S5). At each site, nets were set up 1 m above the ground under the whole tree canopy, to collect all the acorns produced by an individual. In total 15, 13, 25 and 30 adult trees were monitored in 2012, 2013, 2014 and 2015, respectively. The 30 trees had a mean height of 19.2 ± 9.4 m and a mean diameter of 37.7 ± 19.6 cm. From 2012 onwards, the organic components (leaves, branches, fruits) fallen from the trees were harvested every two weeks, from the end of September until the beginning of December. For each tree, the projected area of the canopy on the ground (SC_{OB_i}) was calculated by first defining the canopy center (O) and then determining the distance from O to the outer limit of the canopy (B_i), at 8 points, 45° apart (OB_{1-8}). The surface area was calculated as:

$$SC_{OB_i} = \frac{\pi}{i} \times \sum OB_i^2 \quad (1)$$

The harvested litters were sorted in the laboratory, and total acorn production, total dry mass and mean acorn weight per tree and per year (g) were determined. Total seed production was normalized by dividing by the total projected surface area of the tree canopy. Air temperature was measured with a data logger (HOBO Pro RH/Temp, Onset Computer Corporation, Bourne, Massachusetts, USA) at all sites. Data were recorded hourly, from January 1 2012 to December 31 2015.

Statistical analysis. *Temporal trend.* We evaluated the change in seed production over time separately for the two species, with a linear mixed-effects model:

$$Y_{j\Theta} = a_{\mu} + b_{\mu}\Theta + (a_j + b_j\Theta) + \varepsilon_{j\Theta} \quad (2)$$

where a_{μ} and b_{μ} are respectively the overall intercept and the overall regression slope of acorn production regressed over time (Θ), a_j and b_j are the random population-specific intercept and slope deviations associated with population j , and $\varepsilon_{j\Theta}$ are the residuals. For both species, we compared the model [2] with a simpler model not accounting for population random-deviation in slope b_j . The fit of the two models was compared with a likelihood-ratio test. No significant variation in slope were detected for both species (*Q. petraea*: $\chi^2 = 0.18$, $p = 0.91$; *Q. robur*: $\chi^2 = 0.00$, $p = 1$) indicating that the temporal trends were similar among populations (the variance of b_j did not differ from zero). Parameters were thus estimated from the simpler model: $Y_{j\Theta} = a_{\mu} + b_{\mu}\Theta + (a_j) + \varepsilon_{j\Theta}$.

In addition, we assessed change in seed production over time separately for the two species and compared linear mixed-effects models adding tree age and diameter as fixed effect to the simpler model [2]:

$$Y_{j\Theta AD} = a_{\mu} + b_{\mu}\Theta + d_{\mu}A + g_{\mu}D + (a_j) + \varepsilon_{j\Theta AD} \quad (3)$$

where d_{μ} and g_{μ} are the regression slopes of acorn production regressed respectively over the mean age of the population in 1994 (A) and over the mean diameter of the population estimated for every year (D). To determine which of the two covariates helps to explain better the variation in seed production, we compared models with and without the effects of tree age (A) and diameter (D) using the Akaike Information Criterion corrected for small sample size (AICc) (Table S1). Models with the lowest AICc were selected, however, we consider models with $\Delta AICc$ between 0 and 2 to have equivalent support⁵³ and based on the principle of parsimony we selected the simplest one.

For *Q. petraea*, AICc differences gave support to the model with the fixed effect $d_{\mu}A$, (Table S1), thus, we estimated the effect of age on acorn production (Table S2).

We then evaluated the response of seed production to temperature:

$$Y_{ijT} = a_{\mu} + c_{\mu}T + (a_j + c_jT) + \varepsilon_{ijT} \quad (4)$$

where c_{μ} is the general regression slope of acorn production regressed against temperature (T), a_j is the random deviation associated with population j , and c_j is the random population-specific deviation in slope, and ε_{ijT} denotes the residuals. As before, we compared the model [4] with a simpler model not accounting for population random-deviation in slope (c_j). No significant variation in slope were detected for both species (Likelihood-ratio tests: *Q. petraea*: $\chi^2 = 2$, $p = 0.08$; *Q. robur*: $\chi^2 = 2$, $p = 0.12$), indicating that the effect of temperature on acorn production was consistent among populations (Figure S5).

We therefore used the simplified model [4] (i.e. $Y_{ijT} = a_{\mu} + c_{\mu}T + (a_j) + \varepsilon_{ijT}$) to evaluate the effect of temperature on seed production. Model [4] was compared to a model without the temperature fixed effect c_{μ} , using the Akaike Information Criterion corrected for small sample size (AICc). To determine the temperature variable having the strongest influence on seed production, this comparison was performed taking several estimations of annual temperature T : the mean temperature computed for each month and the mean temperature computed for every two month over the year. AICc differences giving support to the more complex model were much higher for the periods of April (AICc = 28.1), March-April (AICc = 17.2), and April-May (AICc = 18.8), for *Q. petraea* and for April (AICc = 4.9), and April-May (AICc = 5.2) for *Q. robur* (Figure S6). As the Δ AICc were higher for temperatures recorded during the spring months, we refined the analysis to different spring periods (Table S7). For *Q. petraea*, a significant regression slope was found with the temperature in April ($c_{\mu} = 94.8$ [61.5, 128.4] kg/ha/°C), March-April ($c_{\mu} = 103.0$ [56.6, 152.4] kg/ha/°C), April-May ($c_{\mu} = 111.9$ [63.1, 146.1] kg/ha/°C) and May-June ($c_{\mu} = 41.6$ [1.1, 86.1] kg/ha/°C). For *Q. robur*, a significant regression slope was observed only for April ($c_{\mu} = 54.07$ [14.4, 93.7] kg/ha/°C) and April-May ($c_{\mu} = 72.66$ [19.6, 120.5] kg/ha/°C (Tables 1 and S7). The mean temperatures during the periods of April and April-May are determinant for seed production in both species. We represented April-May period in Fig. 2 as it covered a larger period.

To evaluate the effect of precipitation on fructification, we compared model [4] with a similar mixed effect model taking into account the sum of precipitations as a fixed effect in addition to the spring temperature. The inclusion of the five precipitation periods: winter, (January to March), spring (April to June), summer (July to September), autumn (October to December) and the whole year, as predictor were compared with model [4] using AICc.

As spring temperature was found to have increased over the last decades (Figure S4) and seed production was significantly correlated with temperature (Table 1 and Fig. 2), we considered the observed temporal trend in seed production in both species (Table 1 and Fig. 1) to be due principally to the increase in temperature. However, as the populations were distributed over a large area covering a large range of temperatures, we explicitly accounted for variability due to the year and population, with the following multiple regression model:

$$Y_{ijT_pT_y} = a_{\mu} + b_{\mu}T_p + c_{\mu}T_y + (a_j) + \varepsilon_{ijT_pT_y} \quad (5)$$

where b_{μ} denotes the overall slope of the mean population temperature regressed against year (T_p) and c_{μ} is the overall slope of mean yearly temperature regressed against population (T_y) for acorn production. a_j is the population random intercept and $\varepsilon_{ijT_pT_y}$ denotes the residuals. We used model [5], with the mean temperature of April-May (Table S4).

Trend along the elevation gradient. We then evaluated the sensitivity of reproduction to temperature along the elevation gradients in Pyrenees. We used the following mixed-effect model:

$$Y_{ijkT} = a_{\mu} + c_{\mu}T + (p_j) + (n_{k(j)}) + \varepsilon_{ijkT} \quad (6)$$

where a_{μ} denotes the overall intercept and c_{μ} the overall regression slope of acorn production against temperature (T), p_j and $n_{k(j)}$ are the random deviations associated with population j and the individuals k within population j , respectively, and the residuals are denoted ε_{ijkT} . We tested the effect of temperature over the same period as above (Tables 1 and S7).

Finally, using the same model [6], we also evaluated the sensitivity of acorn size to temperature along the same elevation gradient.

All the linear mixed effects models were fitted by the restricted maximum likelihood (REML)⁵⁴ method in the *lme4* R package⁵⁵.

References

- Pan, Y. *et al.* A large and persistent carbon sink in the world's forests. *Science* **333**, 988–993 (2011).
- Anderegg, W. R. L., Kane, J. M. & Anderegg, L. D. L. Consequences of widespread tree mortality triggered by drought and temperature stress. *Nat. Clim. Change* **3**, 30–36 (2013).
- Briceño-Elizondo, E., Garcia-Gonzalo, J., Peltola, H., Matala, J. & Kellomäki, S. Sensitivity of growth of Scots pine, Norway spruce and silver birch to climate change and forest management in boreal conditions. *For. Ecol. Manag.* **232**, 152–167 (2006).
- Menzel, A. & Fabian, P. Growing season extended in Europe. *Nature* **397**, 659–659 (1999).
- Vitasse, Y., Porté, A. J., Kremer, A., Michalet, R. & Delzon, S. Responses of canopy duration to temperature changes in four temperate tree species: relative contributions of spring and autumn leaf phenology. *Oecologia* **161**, 187–198 (2009).
- Jump, A. S., Hunt, J. M. & Peñuelas, J. Rapid climate change-related growth decline at the southern range edge of *Fagus sylvatica*. *Glob. Change Biol.* **12**, 2163–2174 (2006).
- Allen, C. D. *et al.* A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *For. Ecol. Manag.* **259**, 660–684 (2010).
- Park Williams, A. *et al.* Temperature as a potent driver of regional forest drought stress and tree mortality. *Nat. Clim. Change* **3**, 292–297 (2012).

9. Morin, X., Viner, D. & Chuine, I. Tree species range shifts at a continental scale: new predictive insights from a process-based model. *J. Ecol.* **96**, 784–794 (2008).
10. Moles, A. T. & Westoby, M. Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature. *J. Ecol.* **92**, 372–383 (2004).
11. Turnbull, L. A., Crawley, M. J. & Rees, M. Are plant populations seed-limited? A review of seed sowing experiments. *Oikos* **88**, 225–238 (2000).
12. Fitter, A. H. & Fitter, R. S. R. Rapid changes in flowering time in British plants. *Science* **296**, 1689–1691 (2002).
13. Menzel, A. *et al.* European phenological response to climate change matches the warming pattern. *Glob. Change Biol.* **12**, 1969–1976 (2006).
14. Sherry, R. A. *et al.* Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 198–202 (2007).
15. Hedhly, A., Hormaza, J. I. & Herrero, M. Global warming and sexual plant reproduction. *Trends Plant Sci.* **14**, 30–36 (2009).
16. Kelly, D. The evolutionary ecology of mast seeding. *Trends Ecol. Evol.* **9**, 465–470 (1994).
17. Sork, V. L. Evolutionary ecology of mast-seeding in temperate and tropical oaks (*Quercus* spp.). *Vegetatio* **107**, 133–147 (1993).
18. Crone, E. E. & Rapp, J. M. Resource depletion, pollen coupling, and the ecology of mast seeding: Mechanisms of mast seeding. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1322**, 21–34 (2014).
19. Buechling, A., Martin, P. H., Canham, C. D., Shepperd, W. D. & Battaglia, M. A. Climate drivers of seed production in *Picea engelmannii* and response to warming temperatures in the southern Rocky Mountains. *J. Ecol.* **104**, 1051–1062 (2016).
20. Allen, R. B., Hurst, J. M., Portier, J. & Richardson, S. J. Elevation-dependent responses of tree mast seeding to climate change over 45 years. *Ecol. Evol.* **4**, 3525–3537 (2014).
21. Richardson, S. J. *et al.* Climate and net carbon availability determine temporal patterns of seed production by *Nothofagus*. *Ecology* **86**, 972–981 (2005).
22. Abraham, S. T., Zaya, D. N., Koenig, W. D. & Ashley, M. V. Interspecific and intraspecific pollination patterns of valley oak, *Quercus lobata*, in a mixed stand in coastal Central California. *Int. J. Plant Sci.* **172**, 691–699 (2011).
23. Koenig, W. D. & Knops, J. M. H. Environmental correlates of acorn production by four species of Minnesota oaks. *Popul. Ecol.* **56**, 63–71 (2014).
24. Kelly, D. & Sork, V. L. Mast seeding in perennial plants: why, how, where? *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 427–447 (2002).
25. Pearse, I. S., Koenig, W. D. & Kelly, D. Mechanisms of mast seeding: resources, weather, cues, and selection. *New Phytol.* **212**, 546–562 (2016).
26. Kelly, D. *et al.* Of mast and mean: differential-temperature cue makes mast seeding insensitive to climate change. *Ecol. Lett.* **16**, 90–98 (2013).
27. Mckone, M. J., Kelly, D. & Lee, W. G. Effect of climate change on mast-seeding species: frequency of mass flowering and escape from specialist insect seed predators. *Glob. Change Biol.* **4**, 591–596 (1998).
28. Koenig, W. D. *et al.* In *Mediterranean Oak Woodland Working Landscapes* (eds Campos, P. *et al.*) 181–209 (Springer Netherlands, 2013).
29. Cecich, R. A. & Sullivan, N. H. Influence of weather at time of pollination on acorn production of *Quercus alba* and *Quercus velutina*. *Can. J. For. Res.* **29**, 1817–1823 (1999).
30. Fernández-Martínez, M., Belmonte, J. & María Espelta, J. Masting in oaks: Disentangling the effect of flowering phenology, airborne pollen load and drought. *Acta Oecologica* **43**, 51–59 (2012).
31. Pérez-Ramos, I. M., Ourcival, J. M., Limousin, J. M. & Rambal, S. Mast seeding under increasing drought: results from a long-term data set and from a rainfall exclusion experiment. *Ecology* **91**, 3057–3068 (2010).
32. Sanchez-Humanes, B. & Espelta, J. M. Increased drought reduces acorn production in *Quercus ilex* coppices: thinning mitigates this effect but only in the short term. *Forestry* **84**, 73–82 (2011).
33. Koenig, W. D., Knops, J. M., Carmen, W. J., Stanback, M. T. & Mumme, R. L. Acorn production by oaks in central coastal California: influence of weather at three levels. *Can. J. For. Res.* **26**, 1677–1683 (1996).
34. Pérez-Ramos, I. M., Padilla-Díaz, C. M. & Koenig, W. D. & Marañón, T. Environmental drivers of mast-seeding in Mediterranean oak species: does leaf habit matter? *J. Ecol.* **103**, 691–700 (2015).
35. Jansen, P. A., Bongers, F. & Hemerik, L. Seed mass and mast seeding enhance dispersal by a neotropical scatter-hoarding rodent. *Ecol. Monogr.* **74**, 569–589 (2004).
36. Vander Wall, S. B. How plants manipulate the scatter-hoarding behaviour of seed-dispersing animals. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 989–997 (2010).
37. Aizen, M. A. & Woodcock, H. Effects of acorn size on seedling survival and growth in *Quercus rubra* following simulated spring freeze. *Can. J. Bot.* **74**, 308–314 (1996).
38. Gómez, J. M. Bigger is not always better: conflicting selective pressures on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution* **58**, 71–80 (2004).
39. Herrera, C. M., Jordano, P., Guitián, J. & Traveset, A. Annual variability in seed production by woody plants and the masting concept: reassessment of principles and relationship to pollination and seed dispersal. *Am. Nat.* **152**, 576–594 (1998).
40. Övergaard, R., Gemmel, P. & Karlsson, M. Effects of weather conditions on mast year frequency in beech (*Fagus sylvatica* L.) in Sweden. *Forestry* **80**, 555–565 (2007).
41. Silvertown, J. W. The evolutionary ecology of mast seeding in trees. *Biol. J. Linn. Soc.* **14**, 235–250 (1980).
42. Boisvenue, C. & Running, S. W. Impacts of climate change on natural forest productivity – evidence since the middle of the 20th century. *Glob. Change Biol.* **12**, 862–882 (2006).
43. McMahon, S. M., Parker, G. G., Miller, D. R. & Schlesinger, W. H. Evidence for a Recent Increase in Forest Growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 3611–3615 (2010).
44. Saxe, H., Cannell, M. G., Johnsen, Ø., Ryan, M. G. & Vourlitis, G. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytol.* **149**, 369–399 (2001).
45. Magnani, F. *et al.* The human footprint in the carbon cycle of temperate and boreal forests. *Nature* **447**, 849–851 (2007).
46. Isagi, Y., Sugimura, K., Sumida, A. & Ito, H. How does masting happen and synchronize? *J. Theor. Biol.* **187**, 231–239 (1997).
47. Ichie, T., Kenzo, T., Kitahashi, Y., Koike, T. & Nakashizuka, T. How does *Dryobalanops aromatica* supply carbohydrate resources for reproduction in a masting year? *Trees* **19**, 704–711 (2005).
48. Hoch, G. Carbon Reserves as Indicators for Carbon Limitation in Trees. In *Progress in Botany* 321–346 (Springer, 2015).
49. Sala, A., Hopping, K., McIntire, E. J. B., Delzon, S. & Crone, E. E. Masting in whitebark pine (*Pinus albicaulis*) depletes stored nutrients. *New Phytol.* **196**, 189–199 (2012).
50. Knops, J. M., Koenig, W. D. & Carmen, W. J. Negative correlation does not imply a tradeoff between growth and reproduction in California oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 16982–16985 (2007).
51. Seidl, R., Schelhaas, M.-J., Rammer, W. & Verkerke, P. J. Increasing forest disturbances in Europe and their impact on carbon storage. *Nat. Clim. Change* **4**, 806–810 (2014).
52. Vidal, J. P. *et al.* Multilevel and multiscale drought reanalysis over France with the Safran-Isba-Modcou hydrometeorological suite. *Hydrol. Earth Syst. Sci. Discuss.* **14**, 459–478 (2010).
53. Burnham, K. P. & Anderson, D. R. Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach (Springer Science & Business Media) (2003).
54. Zuur, A. F. *et al.* *Mixed effects models and extensions in ecology with R* 447–458 (Springer New York) (2009).
55. Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S. & others lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. *R Package Version 1* (2014).

Acknowledgements

This research was supported by the European Research Council through the Advanced Grant Project TREEPEACE (#FP7-339728) and the BGF project Potenchene. We are grateful to Jean-Marc Louvet, Benjamin Dencausse and ONF staff for their contribution to the monitoring of seed crops at the forest sites. We thank both the Experimental Unit of Pierroton (UE 0570, INRA, 69 route d'Arcachon, 33612 CESTAS, France) and Toulence (UE 0393 INRA, Domaine des Jarres 33210 Toulence, France) for technical support. TC received a PhD grant from TREEPEACE and the Initiative of Excellence program (IdEX) of Bordeaux University.

Author Contributions

T.C. and S.D. conceived the idea for this work. T.C., C.F. and M.N. assembled the dataset and analyzed the data. T.C. and S.D. wrote the manuscript and A.K., S.V., M.N. and C.F. revised the manuscript.

Additional Information

Supplementary information accompanies this paper at doi:[10.1038/s41598-017-09172-7](https://doi.org/10.1038/s41598-017-09172-7)

Competing Interests: The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's note: Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2017

SUPPLEMENTARY INFORMATIONS

Increasing spring temperatures favor oak seed production in temperate areas

Authors:

Thomas Caignard¹, Antoine Kremer¹, Cyril Firmat^{1,2}, Manuel Nicolas³, Samuel Venner⁴,
Sylvain Delzon¹

Affiliations:

1- BIOGECO, INRA, Univ. Bordeaux, 33615 Pessac, France

2- INRA, URP3F, RD150. Site du Chêne, BP 86006, 86600 Lusignan, France.

3- Office National des Forêts, Département recherche-développement-innovation, Boulevard de Constance, 77300 Fontainebleau, France.

4- Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR 5558-CNRS, Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne F-69365 Lyon, France.

Table S1 | Model selection for testing the effect of age and diameter on acorn production in both species: *Quercus petraea* and *Quercus robur*. AICc values were obtained from model fitted for maximum likelihood (ML). For each model the random factor was the population. Models are ranked by AICc values.

Species	Linear mixed effect model	K	AICc	Δ AICc	AICc weight
<i>Quercus petraea</i>	Year + Age + Diameter	6	3880.23	0	0.53
	Year + Age	5	3881.29	1.06	0.31
	Year	4	3883.34	3.11	0.11
	Year + Diameter	5	3885.33	5.1	0.04
	Constant	3	3892.49	12.26	0
<i>Quercus robur</i>	Year	4	1850.03	0	0.31
	Year + Diameter	5	1850.42	0.39	0.26
	Constant	3	1850.98	0.95	0.19
	Year + Age	5	1851.5	1.47	0.15
	Year + Age + Diameter	6	1852.48	2.45	0.09

Table S2 | Slopes of the linear mixed-effect regression between acorn production in kilograms per hectare and year ($b_{\mu}\Theta$) and the mean age of the population in 1994 ($d_{\mu}A$) for *Q. petraea*. Bold characters correspond to significant regression slopes. The 95% confidence intervals are indicated in square brackets.

	<i>Quercus petraea</i>
b_{μ}	19.73 [8.29, 31.16]
d_{μ}	-1.89 [-3.71, -0.07]

Table S3 | Comparison of Model [4] with a similar mixed effect model taking into account, in addition to spring temperature, the sum of precipitation as a fixed effect for different seasons and for both species (a and b). Comparison were carried out using the Akaike Information Criterion corrected for small sample size (AICc).

Species	Period of the year	Linear mixed effect model	K	AICc	Δ AICc	AICc weight
<i>Quercus petraea</i>	Winter	Temperature	4	3873.68	0	0.65
		Temperature + Precipitation	5	3874.9	1.22	0.35
	Spring	Temperature	4	3873.68	0	0.66
		Temperature + Precipitation	5	3875.04	1.36	0.34
	Summer	Temperature	4	3873.68	0	0.54
		Temperature + Precipitation	5	3873.97	0.28	0.46
	Autumn	Temperature	4	3873.68	0	0.58
		Temperature + Precipitation	5	3874.3	0.62	0.42
	Year	Temperature	4	3873.68	0	0.74
		Temperature + Precipitation	5	3875.75	2.06	0.26
<i>Quercus robur</i>	Winter	Temperature	4	1845.82	0	0.71
		Temperature + Precipitation	5	1847.61	1.8	0.29
	Spring	Temperature	4	1845.82	0	0.7
		Temperature + Precipitation	5	1847.48	1.66	0.3
	Summer	Temperature	4	1845.82	0	0.71
		Temperature + Precipitation	5	1847.62	1.8	0.29
	Autumn	Temperature	4	1845.82	0	0.73
		Temperature + Precipitation	5	1847.81	2	0.27
	Year	Temperature	4	1845.82	0	0.75
		Temperature + Precipitation	5	1847.99	2.17	0.25

Table S4 | Regression slopes of the linear mixed-effect regression between acorn production in kilograms per hectare and b_{μ} the mean population temperature regressed against year (T_P) and c_{μ} the mean yearly temperature regressed against population (T_Y) estimated from model [4] for each species. Bold characters correspond to significant regression slopes. The 95% confidence intervals are indicated in square brackets.

	<i>Quercus petraea</i>	<i>Quercus robur</i>
b_{μ}	10.53 [-68.0, 89.0]	5.17 [-63.1, 73.4]
c_{μ}	147.78 [90.7, 205.0]	119.78 [36.2, 203.3]

Table S5 | Site description and climate for the temporal gradient

Species	Station	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Temperature (°C)	Precipitation (mm)
<i>Quercus petraea</i>	CHS 81	44°02'N	01°44'E	300	12.28	848.1
<i>Quercus petraea</i>	CHS 01	46°10'N	05°14'E	260	11.04	992.2
<i>Quercus petraea</i>	CHS 86	46°37'N	00°29'E	116	12.13	789.3
<i>Quercus petraea</i>	CHS 03	46°40'N	02°43'E	260	11.53	776
<i>Quercus petraea</i>	CHS 58	46°58'N	03°39'E	270	11.41	943.7
<i>Quercus petraea</i>	CHS 21	47°04'N	05°04'E	220	11.04	780.3
<i>Quercus petraea</i>	CHS 18	47°15'N	02°07'E	176	11.39	839.3
<i>Quercus petraea</i>	CHS 41	47°34'N	01°15'E	127	11.58	656.3
<i>Quercus petraea</i>	CHS 68	47°41'N	07°28'E	256	10.43	845.2
<i>Quercus petraea</i>	CHS 72	47°47'N	00°22'E	170	11.64	766.5
<i>Quercus petraea</i>	CHS 88	48°01'N	06°02'E	330	9.97	1068.5
<i>Quercus petraea</i>	CHS 35	48°10'N	01°32'W	80	11.47	807.1
<i>Quercus petraea</i>	CHS 10	48°17'N	04°27'E	160	11.04	792.4
<i>Quercus petraea</i>	CHS 61	48°31'N	00°40'E	220	10.74	808.5
<i>Quercus petraea</i>	CHS 57a	48°52'N	06°29'E	315	10.36	863.3
<i>Quercus petraea</i>	CHS 57b	49°00'N	07°27'E	320	9.85	863
<i>Quercus petraea</i>	CHS 51	49°02'N	04°57'E	180	10.52	864.7
<i>Quercus petraea</i>	CHS 27	49°21'N	01°30'E	175	10.29	794.6
<i>Quercus petraea</i>	CHS 60	49°23'N	02°18'E	55	10.81	695
<i>Quercus robur</i>	CHP 65	43°12'N	00°02'W	370	11.9	997.5
<i>Quercus robur</i>	CHP 40	43°44'N	00°50'W	20	13.52	987.7
<i>Quercus robur</i>	CHP 18	46°49'N	02°34'E	175	11.5	827
<i>Quercus robur</i>	CHP 71	46°58'N	05°14'E	190	11.2	773.9
<i>Quercus robur</i>	CHP 49	47°27'N	00°01'EW	57	12.23	704.9
<i>Quercus robur</i>	CHP 70	47°52'N	06°12'E	240	10.44	1167.7
<i>Quercus robur</i>	CHP 10	48°20'N	04°18'E	115	11.04	710.9
<i>Quercus robur</i>	CHP 55	49°01'N	05°46'E	220	10.12	844.6
<i>Quercus robur</i>	CHP 59	50°10'N	03°45'E	149	10.15	767.3

Table S6 | Site description and climate for the spatial gradient

Valley	Station	Species	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Gradient (m)	Mean annual temperatures (°C)			
							2012	2013	2014	2015
Luz	Laveyron	<i>Quercus petraea</i>	43°45'N	00°13'E	131	100	13.5	12.8	13.7	13.5
Luz	Ibos	<i>Quercus petraea</i>	43°15'N	00°00'W	387	400	12.5	12.11	12.8	13.3
Luz	Chèze	<i>Quercus petraea</i>	42°55'N	00°02'W	803	800	10.2	10.4	11.5	11.9
Luz	Gèdre Bas	<i>Quercus petraea</i>	42°47'N	00°25'W	1235	1200	9.2	8.7	9.8	10.7
Luz	Péguère	<i>Quercus petraea</i>	42°52'N	00°07'W	1630	1600	7.8	6.9	8.1	8.8
Ossau	Josbaig	<i>Quercus petraea</i>	43°13'N	00°44'W	259	100	11.7	12.9	14	13.7
Ossau	Bager	<i>Quercus petraea</i>	43°07'N	00°32'W	422	400	10.8	11.7	12.7	12.5
Ossau	Le Hourcq	<i>Quercus petraea</i>	42°54'N	00°26'W	841	800	9.4	8.4	9.7	9.7
Ossau	Gabas	<i>Quercus petraea</i>	42°53'N	00°25'W	1194	1200	8.9	8.3	9.5	9.9
Ossau	Artouste	<i>Quercus petraea</i>	42°53'N	00°24'W	1614	1600	7.1	6.2	7.7	8.3

Table S7 | Regression slopes of the linear mixed-effect regression between acorn production (kg/ha) and mean temperature (°C) for different periods of time within the spring season. Regression slopes were estimated from model [4] for the temporal gradient and model [5] for the spatial gradient. Regression slopes and their confidence intervals, and R² values are indicated. Bold characters correspond to significant regression slopes.

Species	Period	Temporal		Spatial	
		Slope	R ²	Slope	R ²
<i>Quercus petraea</i>	March	16.97 [-13.9, 47.8]	0.00	12.17 [-4.9, 25.7]	0.04
	April	94.88 [61.5, 128.4]	0.12	22.25 [10.0, 35.6]	0.16
	May	29.97 [-9.1, 69.0]	0.01	24.12 [12.9, 36.7]	0.25
	June	24.13 [-3.8, 52.2]	0.01	29.13 [12.8, 49.4]	0.24
	March - April	102.98 [56.6, 152.4]	0.08	20.38 [6.3, 35.4]	0.10
	April - May	111.89 [63.1, 146.1]	0.10	33.42 [17.6, 58.9]	0.33
	May - June	41.59 [1.1, 86.1]	0.01	28.16 [14.4, 44.7]	0.26
<i>Quercus robur</i>	March	-1.72 [-36.0, 32.5]	0.00	-	-
	April	54.07 [14.4, 93.7]	0.05	-	-
	May	45.36 [-2.2, 93.0]	0.03	-	-
	June	5.88 [-31.1, 42.8]	0.00	-	-
	March - April	32.58 [-13.3, 78.5]	0.01	-	-
	April - May	72.66 [19.6, 120.5]	0.06	-	-
	May - June	31.03 [-19.5, 81.6]	0.01	-	-

Figure S1 | Localization of the *Quercus petraea* (orange) and *Quercus robur* (blue) populations of the temporal gradient. The base map featuring the forested areas was extracted free of charge and use from the IGN National Forest Inventory cartography site (IGN 2015 – Départements administratifs, GEOFLA® 2.1). The map was generated using the free and open source geographic information system Qgis 2.6⁵⁶.

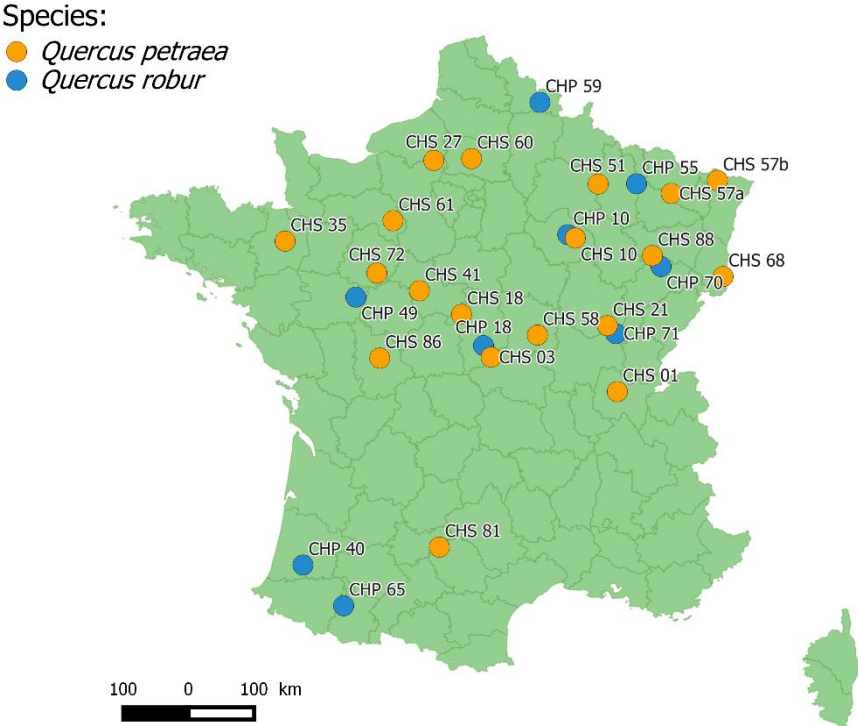


Figure S2 | Patterns of acorn production from 1994 to 2007 for each population of the temporal gradient (RENECOFOR). Each dot corresponds to the amount of acorn produced in kilogram per hectare for each site per year.

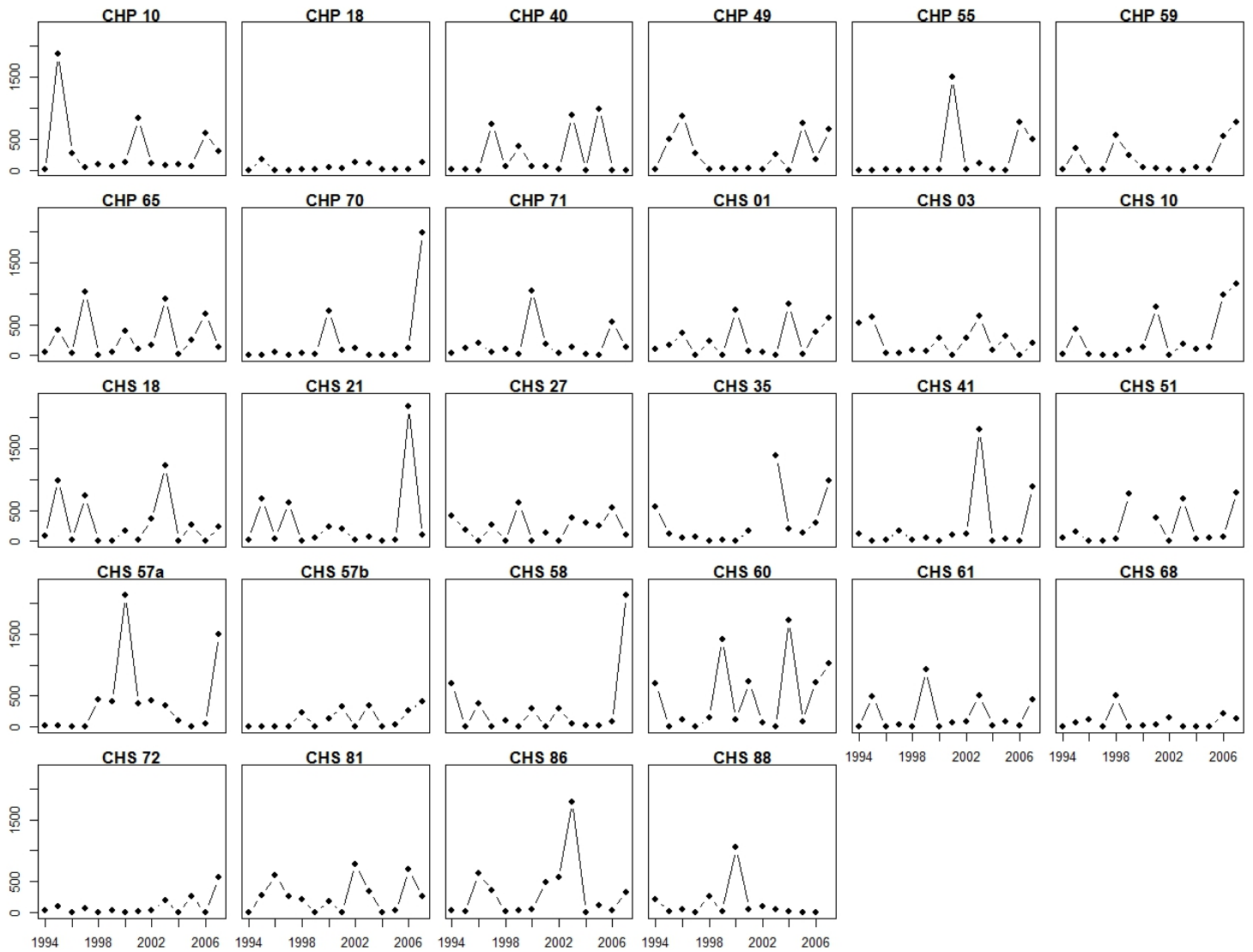


Figure S3 | Changes in the degree of reproductive synchrony, measured by the coefficient of Spearman, according to the distance between populations. The degree of synchrony is plotted for *Quercus petraea* (a) and *Quercus robur* (b). The slope of the regression line, calculated from a linear model and represented for every 100 km, are given for both species with the coefficient of determination (R^2).

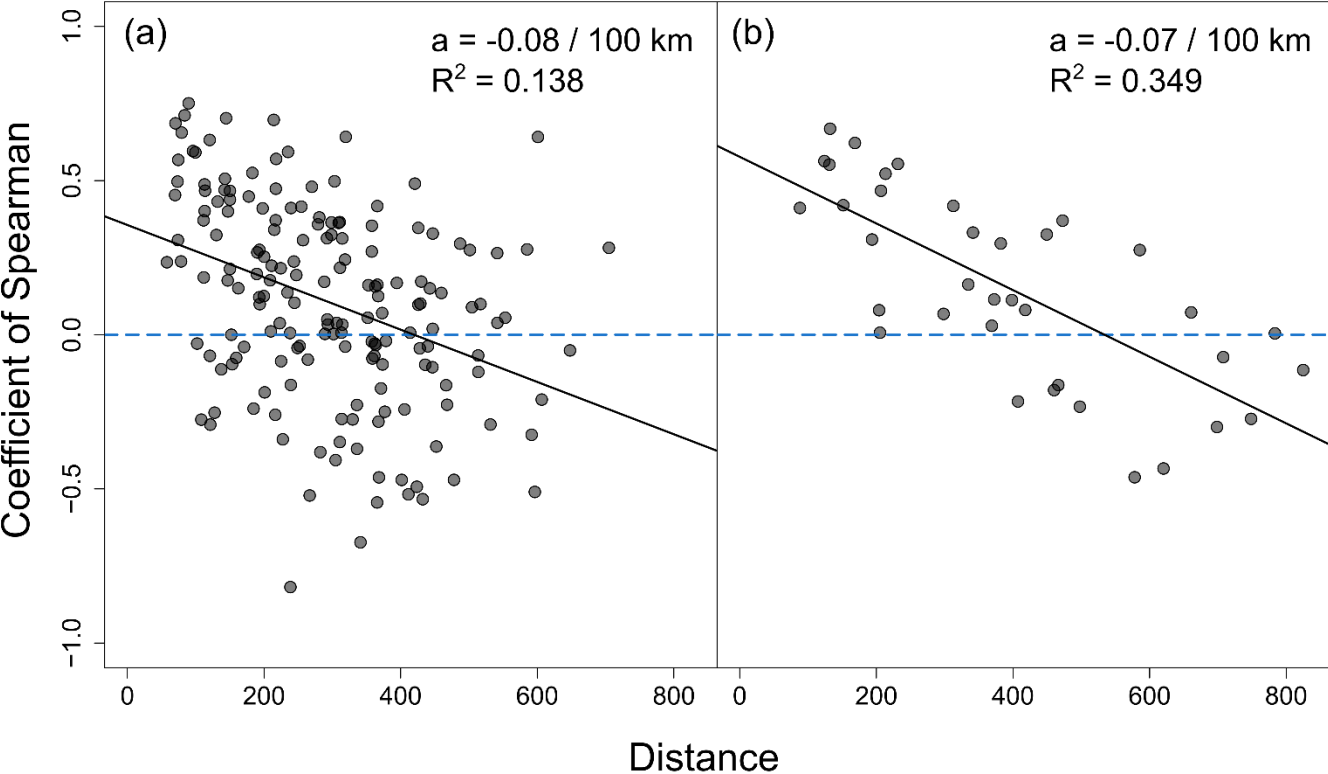


Figure S4 | We evaluated the change in temperature from 1962 to 2012 separately for the two species populations with a linear mixed effect model:

$$Z_{jt} = a_{\mu} + b_{\mu}t + (a_j) + \varepsilon_{jt}$$

with a_{μ} denoting the overall intercept and b_{μ} the overall slope of time (t) on temperature, a_j the random deviation associated to population j, and the residuals ε_{jt} . Slopes and confidence intervals are estimated from the previous model and are represented in the following figure. Each dot represents the average temperature of each sites for one year on both species. The coefficient of determination (R^2) calculated between the previous model and the mean temperature of each site are indicated. Years of seed production monitoring are indicating between the two vertical dashed lines.

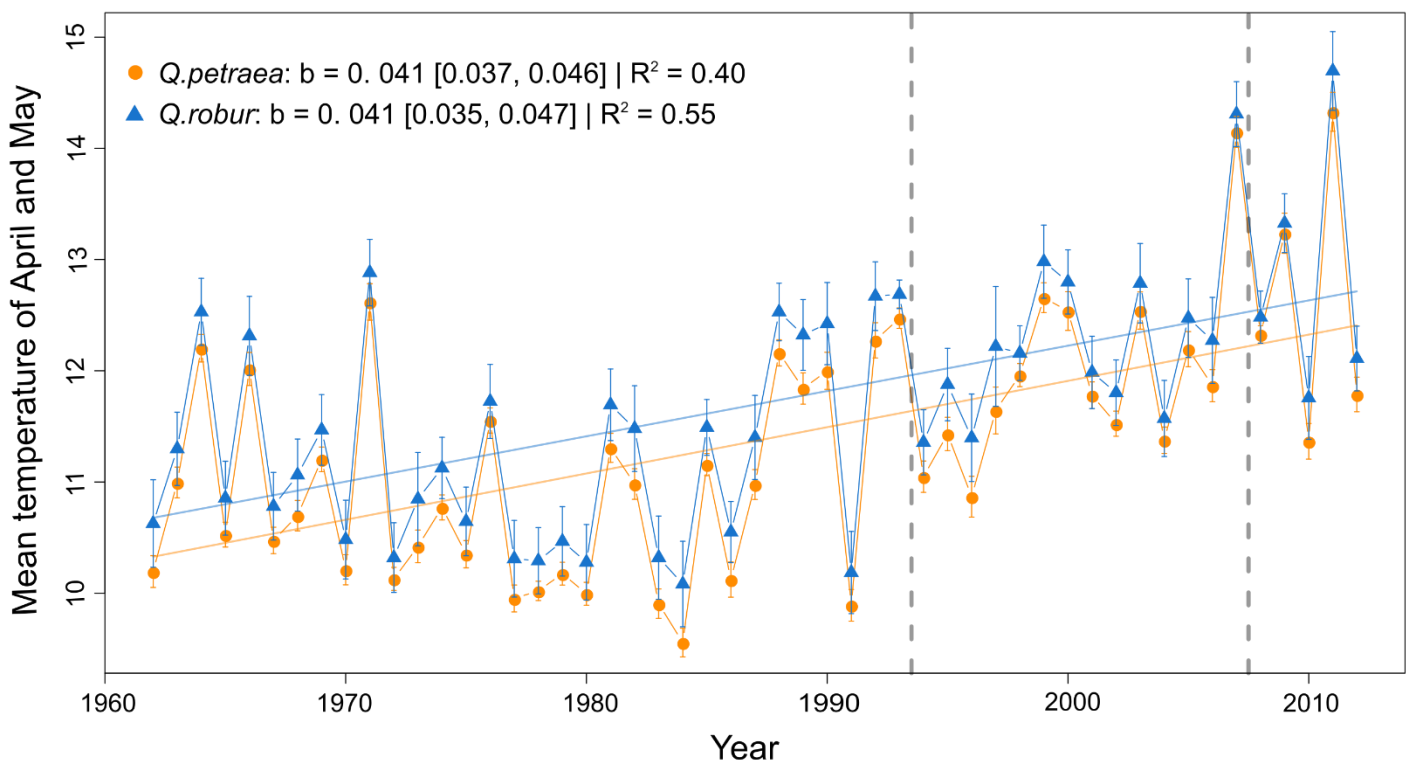


Figure S5 | Relationships between acorn production and mean spring temperature for each population of *Quercus petraea* (a) and *Quercus robur* (b). For both species, acorn production data for each population and year were binned into 19 temperature classes of approximately the same size, 14 for *Q.petraea* and 6 or 7 for *Q.robur*. The temporal trends in acorn production for each population are indicated by each grey lines.

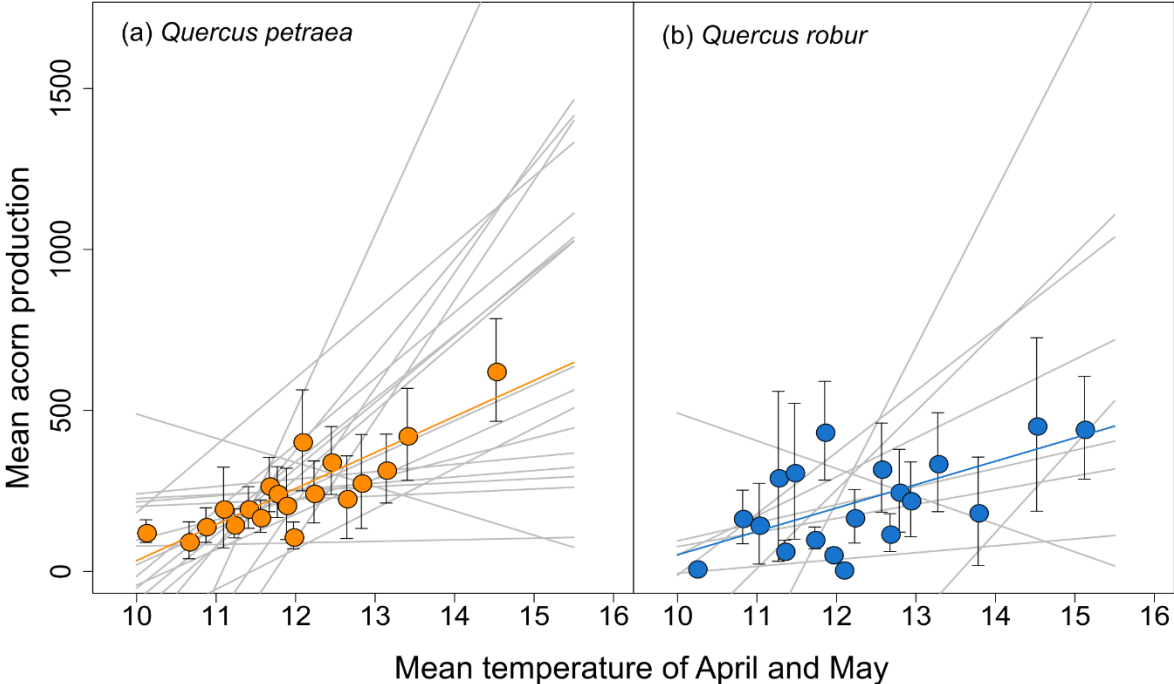
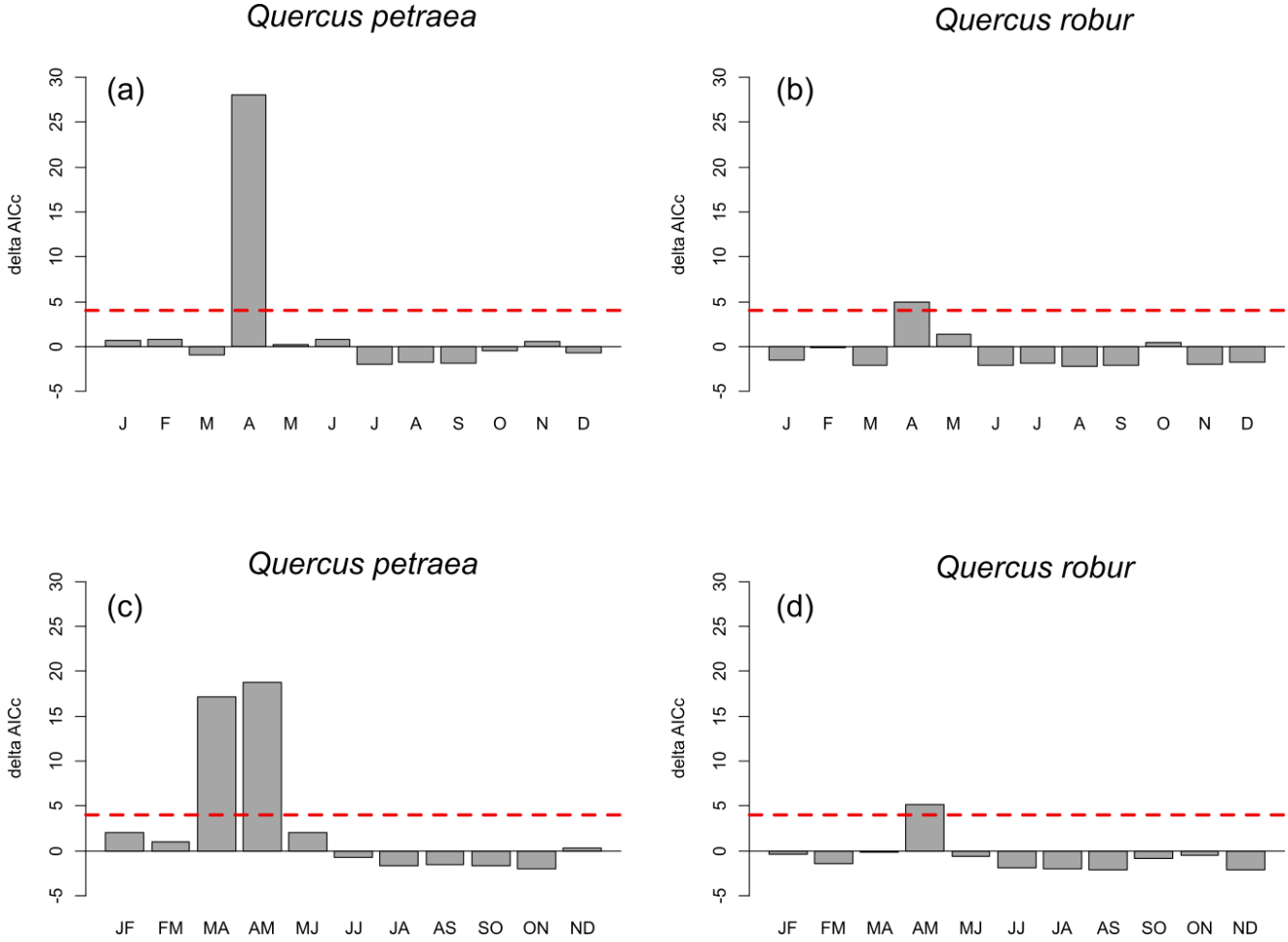


Figure S6 | Comparison of Model [3] with the Null Model (i.e. without the fixed temperature effect implemented) using the Akaike Information Criterion corrected for small sample size (AICc), tested for each month and every two months on *Q. petraea* (a and c) and *Q. robur* (b and d). The dashed red line represents an AICc of 4, considered as an empirical level for which support to the null model is considerably low⁵³.



References

53. Burnham, K.P., and Anderson, D.R. Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach (Springer Science & Business Media) (2003).
56. Quantum GIS Development Team. Quantum GIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation Project. <http://qgis.osgeo.org> (2015).

Chapitre 2

Counter-gradient variation in reproductive effort in a broadly distributed temperate oak (*Quercus petraea*)

Thomas Caignard, Antoine Kremer, Xavier Bouteiller, Julien
Parmentier, Jean-Marc Louvet, Samuel Venner, Sylvain Delzon
(*in review, Journal of Ecology*)

Counter-gradient variation in reproductive effort in a broadly distributed temperate oak (*Quercus petraea*)

Thomas Caignard¹, Antoine Kremer¹, Xavier Bouteiller¹, Julien Parmentier², Jean-Marc Louvet¹, Samuel Venner³, Sylvain Delzon¹

1. BIOGECO, INRA, Univ. Bordeaux, 33615 Pessac, France

2. INRA, UE 0393, Unité Expérimentale Arboricole, Centre de Recherche Bordeaux-Aquitaine, Toulenne, France.

3. Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive UMR 5558-CNRS, Université de Lyon, Université Claude Bernard Lyon 1, Villeurbanne, F-69365, Lyon, France

Abstract

The genetic and phenotypic variability of life history traits determines the ability of tree populations to respond to and persist in a changing environment. Growth- and survival-related traits have been widely studied in forest ecology, but little is known about the determinism of reproductive traits. We assessed the degree to which variations in reproductive effort along climatic gradients are environmentally or genetically driven, by comparing populations growing under field and common garden conditions. *In situ* monitoring revealed a decline in reproductive effort with increasing elevation and decreasing temperature. In common garden conditions, significant genetic differentiation was observed between provenances for reproductive and growth traits: trees from cold environments (high elevations) grew more slowly, and produced larger acorns in larger numbers. Our observations show that genetic and phenotypic clines for reproductive traits have opposite signs (counter-gradient) along the environmental gradient. Contrary to growth traits, for which genetic variation parallels phenotypic variation, the counter-gradient shown here for reproductive effort reveals that genetic variation partly counteracts the phenotypic effect of temperature, moderating the change in reproductive effort according to temperature. We then considered the possible contribution of an evolutionary trade-off between growth and reproduction to this counter-gradient in reproductive effort.

Keywords: Counter-gradient, Elevation gradient, Local adaptation, *Quercus petraea*, Reproduction.

Introduction

Studies of the responses of life history traits to environmental changes have repeatedly demonstrated the important contribution of such traits to the current and future geographic distribution of multiple tree species across local and large geographic scales (Aitken et al., 2008; Benito-Garzón et al., 2013; Reich and Oleksyn, 2008). In ecology, assessments of life history trait variations provide vital information about the fitness of an individual, its ability to survive, grow and reproduce in an environment. At landscape level, the phenotypic variation of such traits in response to environmental changes depends on (1) genetic variations within and between populations and (2) the phenotypic plasticity (i.e. the ability of an individual to produce different phenotypes in response to environmental condition changes) characterizing each individual (Aitken et al., 2008; Nicotra et al., 2010). High levels of genetic diversity and phenotypic plasticity within a population favor local adaptation to environmental changes (Kremer et al., 2014; Lindner et al., 2010). Investigations of the environmental and genetic determinism of life history traits are therefore essential for predicting the process of adaptation and, indirectly, for predicting the forest distributions of different species in response to environmental changes (Chevin et al., 2010).

Common garden experiments are widely used in ecology, to assess local adaptation and account for the contributions of genetic and environmental sources of phenotypic variation in response to environmental changes (de Villemereuil et al., 2016; Linhart and Grant, 1996). Previous common garden experiments have revealed genetic clines for phenotypic life history traits, such as phenology, seedling regeneration, survival and growth along gradients of latitude (Hall et al., 2007; Kawakami et al., 2011) and elevation (Alberto et al., 2013; Sáenz-Romero et al., 2006; Vitasse et al., 2009a). Life history traits are closely related to tree fitness, so such variation is generally interpreted as the response to divergent selection, leading to adaptation to local environmental pressures. The genetic clines observed in common gardens are, to a lesser extent, reflected in the phenotypic clines observed *in situ*, indicating that the adaptive response can be enhanced by plasticity. However, in rare cases, plasticity may constrain local adaptation, as phenotypic variation along an environmental gradient may act in the opposite direction to the genetic variation along the same gradient, leading to a so-called “counter-gradient” (Conover et al., 2009; Kremer et al., 2014).

In forest tree species, phenotypic variation in response to selective pressure has been widely studied for growth and survival, two of the main components of tree fitness (Conkle, 1973; Namkoong and Conkle, 1976). Many studies have also investigated genetic variation in

traits indirectly related to tree fitness, such as leaf and floral phenology (Kramer, 1995; Sáenz-Romero et al., 2016; Vitasse et al., 2009a), resistance to frost (Charrier et al., 2011; Lenz et al., 2013) or drought (Lamy et al., 2014; Larter et al., 2017; Wortemann et al., 2011), and morphological and physiological traits (Bresson et al., 2011; Oleksyn et al., 1998). However, little is known about the extent to which variations in reproduction, a key component of plant fitness, are driven by environmental and/or genetic influences.

Reproduction has been shown to respond to environmental variation. Changes in temperature affect the timing of flowering (Fitter and Fitter, 2002; Sparks et al., 2000) and, to a lesser extent, the timing of fruiting (Lechowicz, 1995). Furthermore, in oak species, combinations of temperature variations and drought may have either a negative (Pérez-Ramos et al., 2010; Sanchez-Humanes and Espelta, 2011) or a positive effect on seed production (Caignard et al., 2017). Due to the difficulties measuring reproduction in long-lived species, very few studies have investigated the genetic differentiation of reproduction between populations. Santos-del-Blanco et al. (2012) reported genetic variation for size at first reproduction between populations of *Pinus pinaster*. Nevertheless, to our knowledge, no study has yet attempted to identify the source of phenotypic variation in tree reproduction.

We quantified the extent to which differences in reproductive effort were related to environmental and genetic variations in a temperate European white oak growing along an elevation gradient. We compared seed production in trees growing under field and common garden conditions in Southern France over successive years, to determine whether genetic variation paralleled or counteracted phenotypic variation *in situ*. One of our main objectives was also to estimate the genetic source of variation in seed production by sorting the total variation observed in a common garden experiment into within- and between-population components. Finally, we investigated whether the evolutionary patterns observed for reproductive traits mimicked those of other fitness-related traits, such as growth.

Materials & Methods

Experimental designs

Since 2006, we have made systematic recurrent observations of sessile oak trees in populations located along an elevation gradient in the French Pyrenees (*in situ* - IS), to monitor tree responses to temperature variations (see Dantec et al., 2015, 2014; Vitasse et al., 2009b). Over such gradients, significant changes in temperature occur over very short distances, with a 0.5 - 0.6°C decrease for every 100 m increase in elevation (Laiolo and Obeso, 2017; Vitasse et al., 2009b). The elevation gradient was replicated in two parallel valleys: Ossau (latitude 42° 47' N to 43° 45' N) and Gaves (Longitude 00° 214 44' W to 00° 06' E), in which we sampled ten (five per valley) natural mature populations of sessile oak (*Quercus petraea*) for monitoring. These populations are located at various elevations, from 131 to 1630 m asl (Table S1, see also (Vitasse et al., 2009b)).

In 2006, acorns from 152 adult trees were collected from the 10 natural populations along the elevation gradient. Acorns were sown and grown at the INRA nursery, and, in 2008, the saplings were transplanted to a common garden (CG) located at the INRA research station in Toulence (lowland common garden; 44°34'N, 00°16'W). Mean annual temperature in this common garden from 2014 to 2016 was 13.63°C and mean total annual precipitation was 733 mm. In total, 3448 seedlings from 150 families were planted within a complete randomized block design with five blocks. Trees were planted 1.5 m apart, in rows 3.5 m apart (Alberto et al., 2011). In 2016, the experiment included a total of 1435 trees from 131 families. The trees began to reproduce in 2014 and were 10 years old in 2016.

We assessed the impact of elevation on growth, by transplanting three populations from the same elevation gradient, originating from sites at 427, 803 and 1235 m above sea level in the Gaves valley to five planting sites at different elevations (131, 488, 833, 1190 and 1533) in the same valley (Vitasse et al., 2010). The trees from these reciprocal transplant experiments (RTEs) were 12 or 13 years old in 2017. On average, we monitored 56 ± 11 individuals per site.

Seed production

We monitored the reproductive traits of trees along the elevation gradient over five years (from 2012 to 2016 included) *in situ* (IS) and over three years (from 2014 to 2016 included) in the common garden (CG).

In situ, large nets were attached 1 m above the ground under the entire tree canopy during August, the month before acorn fall. In total, 15, 13 and 25 adult trees were monitored in 2012, 2013 and 2014, respectively, and 30 trees were monitored in 2015 and 2016. The trees had a mean height of 19.2 ± 9.4 (SD) meters and a mean diameter of 377 ± 196 mm. Acorn predation was minimized by harvesting the litter (organic components falling from the trees: leaves, branches, fruits) from the nets every two weeks from mid-September until the beginning of December. The litter was then sorted in the laboratory.

In the common garden, acorn drop from each tree was monitored weekly over the same period as for the elevation gradient. Acorn drop was facilitated by gently shaking the tree, and acorns were harvested directly from the ground. For both designs, we assessed total acorn production ($N_{\text{tot-tree}}$), total dry mass ($M_{\text{tot-tree}}$) and mean acorn mass (M_a) per tree and per year (g).

Growth traits

Height (H) and diameter (D) were measured in the reciprocal transplant experiment (RTE) in 2011 and 2017, and in the common garden of Toulence (CG) in 2014, 2015 and 2016. For both designs, we estimated the annual height and diameter increments (Δ_H and Δ_D), calculated between 2011 and 2017 for each tree of the RTE and between 2006 and 2016 for each tree of the common garden. We also estimated the projected area of the canopy on the ground for each tree *in situ* (IS) and in the common garden (CG) experiment. For the adult trees *in situ*, we first determined the point at the center of the canopy (O) and measured the distances from O to the outer limit of the tree canopy (B_i) at eight points 45° apart (OB_{1-8}). The surface area was calculated as the sum of the areas of the eight sections ($SC_{OB_i} = \frac{\pi}{i} \times \sum OB_i^2$). A similar formula was applied to each tree in the common garden, but with only four points, 90° apart (OB_{1-4}), because the trees were much smaller (2.83 ± 1.33 m on average). The projected surface area was then used to normalize acorn production per m^2 and to estimate $N_{\text{tot-area}}$ and $M_{\text{tot-area}}$.

Climatic data

Air temperature and relative humidity were recorded hourly, for each population of the elevation gradient (IS), at each planting site in the RTE and in the common garden of Toulence. Data loggers (HOBO Pro RH/Temp, Onset Computer 230 Corporation, Bourne, Massachusetts,

USA) were used for these measurements. Missing data for a particular station were inferred by a gap-filling method based on a linear regression fitted with the climatic variables for the nearest other station.

Statistical analysis

Correlations between life history traits and environmental variables along the elevational gradient in situ

We estimated the variation of reproductive traits along the elevation gradient by first determining mean acorn production ($M_{\text{tot-tree}}$ and $M_{\text{tot-area}}$) and the mean mass of one acorn (M_a) over the years studied, for each tree *in situ*. We then estimated the annual height and diameter increments (Δ_H and Δ_D) between 2011 and 2017 for each tree of the RTE. Trees not producing acorns were taken into account in the analysis for $M_{\text{tot-tree}}$ and $M_{\text{tot-area}}$, whereas only trees producing acorns were considered for M_a .

We assessed the variability of reproductive traits along the elevation gradient with a linear mixed-effects model for M_a :

$$Z_{vE} = a_{\mu} + b_{\mu}E + (a_v + b_vE) + \varepsilon_{vE} \quad [1]$$

and a negative binomial random regression model for $M_{\text{tot-tree}}$ and $M_{\text{tot-area}}$, as seed count data were highly over-dispersed and zero-inflated relative to a Poisson distribution. The mean (μ_{vE}) and the dispersion (r_v) were parameterized as follows:

$$Z_{vE} \text{NegBin}(\mu_{vE}, r_v)$$

Using a log link function, we defined:

$$\log(\mu_{vE}) = a_{\mu} + b_{\mu}E + (a_v + b_vE) + \varepsilon_{vE} \quad [2]$$

Where, for both models, a_{μ} and b_{μ} are the overall intercept and the overall regression slope, respectively, of any reproduction trait Z regressed against elevation (E), a_v is the random deviation associated with valley v , b_v is the random valley-specific deviation in slope, and ε_{vE} is the residuals. For any trait Z , we compared the previous model with a simpler model not accounting for the valley-specific random deviation of slope (b_v), in a likelihood-ratio test. No significant variation in slope (b_v) was observed for any trait, indicating that similar trends along the gradient were observed for both valleys. We discarded (b_vE) from the final analysis, and the analysis was thus conducted with the simpler model.

We assessed the variability in growth along the gradient and within the RTE, using the following linear mixed-effects model:

$$Z_{\beta p E} = a_{\mu} + b_{\mu}E + (a_{\beta} + b_{\beta}E) + (a_{\beta(p)} + b_{\beta(p)}E) + \varepsilon_{\beta p E} \quad [3]$$

where a_{β} and $a_{\beta(p)}$ are the random deviations associated with block β and the population of provenance within the block $\beta(p)$, b_{β} and $b_{\beta(p)}$ are the random block- and population-specific slope deviations, and $\varepsilon_{\beta p E}$ corresponds to the residuals. We again used a likelihood ratio test to compare the model with a simpler model not accounting for the random deviation in slope. Again, no significant variation in slope was observed for any trait, indicating that a similar trend along the gradient was observed for both valleys. Statistical analysis was conducted with the simpler model.

As slope/exposure can influence the local microclimate along the elevation gradient, we tested whether the mean annual temperature at the study site better explained the variability of reproductive and growth traits than elevation *per se*. We therefore performed an analysis based on linear mixed-effect models and negative binomial random regression models for the annual mean temperature of each population (T), in which we replaced E with T in the previous models. For the fitting of the temperature model, we rescaled the variable $M_{\text{tot-tree}}$ as follows: $scaled(M_{\text{tot-tree}}) = M_{\text{tot-tree}_i} / \text{mean}(M_{\text{tot-tree}})$ with subscript i indicating the individual. No significant interaction was observed for any trait in the comparison of the model with the simpler model, indicating that a similar trend for temperature was observed in the two valleys. Statistical analysis was performed on the simpler model.

Genetic variability of life history traits between environments (common garden)

Genetic differentiation (Q_{ST})

A univariate linear mixed effect model, similar to that described by Alberto et al. (2011), was used to assess the genetic parameters of height and diameter increment (Δ_H and Δ_D) and the reproductive trait M_a :

$$Y_{p f B} = a_{\mu} + b_{\mu}B + (a_p + b_p B) + (a_{p(f)} + b_{p(f)} B) + \varepsilon_{p f B} \quad [4]$$

where a_{μ} and b_{μ} denote the overall intercept and the overall regression slope regressed against the fixed effect block (B), respectively, a_p and $a_{p(f)}$ are the random intercepts associated with population p and family within population $p(f)$, respectively, b_p and $b_{p(f)}$ are the random

interactions between block B and the two random effects of population p and family within population $p(f)$, respectively, and ε_{pfB} is the residual effect. For $M_{\text{tot-tree}}$ and $M_{\text{tot-area}}$, we used a negative binomial random regression model with mean (μ_{pfB}) and dispersion (r_{pf}) parameterized as:

$$Y_{ipfB} \text{NegBin}(\mu_{pfB}, r_{pf})$$

Using a log link function, we defined:

$$\log(\mu_{pfB}) = a_{\mu} + b_{\mu}B + (a_p + b_pB) + (a_{p(f)} + b_{p(f)}B) + \varepsilon_{pfB} \quad [5]$$

where the components of the model are as described above.

Genetic parameters were estimated by a Bayesian approach suitable for use in hierarchical analyses (Leinonen et al., 2013; O'Hara et al., 2008). For each trait of the linear mixed effect model, the fixed effect b_{μ} was estimated from a non-informative normal prior distribution $\mu N(y, \sigma^2)$ where y is the trait mean and σ^2 the variance set at 10^3 , with residuals following a uniform distribution: $\varepsilon_{ijk} U(0, 1000)$. Random effects were also estimated from non-informative normal prior distributions and non-informative uniform hyperprior distributions (Kruschke, 2014, Bouteiller et al. *accepted for 2018*). Dispersion within the negative binomial random regression model was estimated from $r_t U(0, 50)$. The code developed in this study for estimating Q_{ST} is provided on the open source GitHub platform (<https://github.com/xbouteiller/BayesMix>).

For each trait, the model was run four times, for similar chains with 60000 iterations including a burn-in of 10000 iterations and a thinning interval of 50 iterations. Convergence was assessed with both the Gelman-Rubin diagnostic ($Rhat < 1.01$) and visually, as recommended (Kruschke, 2015). All the models were fitted with R2jags version 4.3.0, an R interface for JAGS (Just Another Gibbs Sampler (Plummer, 2003)).

The variances of random effects were estimated for each quantitative trait, to assess genetic differentiation between populations (Q_{ST} , Spitze, 1993) as follows:

$$Q_{ST} = \frac{\sigma_p^2}{(\sigma_p^2 + 2 \times \sigma_G^2)} \quad [6]$$

where σ_p^2 is the amount of between-provenance variation related to σ_G^2 and corresponding to the variance σ^2 of a_p in model [5]. σ_G^2 was estimated as: $\sigma_G^2 = 4 \times \sigma_F^2$ where σ_F^2 is the variance

of the family within the provenance corresponding to the variance σ^2 of $a_{p(f)}$ in model [5], assuming no maternal effects and that open-pollinated offspring were half-sibs.

F_{ST} - Q_{ST} comparisons

We assessed whether the differentiation of phenotypic traits between provenances was due to selection, we comparing, for each trait, the distribution of phenotypic differentiation (Q_{ST}) and genetic differentiation (F_{ST}) (Leinonen et al., 2013). Q_{ST} distributions and their 95% confidence intervals were estimated from the posterior distribution of the Bayesian-based estimates (Leinonen et al., 2013; O’Hara and Merilä, 2005). F_{ST} values were estimated with 16 microsatellite markers assessed by Alberto et al. (2010), for which at least 20 trees in each population *in situ* were sampled in 2004 and 2005. As suggested by Whitlock and Guillaume (2009), we compared the Q_{ST} distribution to the F_{ST} distribution bounded at 95% and calculated from a Lewontin-Krakauer distribution (Whitlock, 2008). All F_{ST} calculations were replicated with the R *hierfstat* package (Goudet, 2005).

Genetic clines

We assessed the genetic clines for M_a , Δ_H and Δ_D , using the following linear mixed effect model:

$$Y_{\beta E} = a_{\mu} + b_{\mu}E + (a_{\beta} + b_{\beta}E) + \varepsilon_{\beta E} \quad [7]$$

and a negative binomial random regression model for $M_{tot-tree}$ and $M_{tot-area}$ with mean ($\mu_{\beta E}$) and dispersion (r_{β}) parameterized as follows:

$$Y_{\beta E} \text{NegBin}(\mu_{\beta E}, r_{\beta})$$

Using a log link function, we defined:

$$\log(\mu_{\beta E}) = a_{\mu} + b_{\mu}E + (a_{\beta} + b_{\beta}E) + \varepsilon_{\beta E} \quad [8]$$

where a_{μ} and b_{μ} denote the overall intercept and the overall regression slope regressed against the elevation of provenance (E), respectively, a_{β} and $b_{\beta}E$ are the random intercept and the random slope associated with block (β) and $\varepsilon_{\beta E}$ corresponds to the residuals. The same models were regressed against temperature of provenance (T). For both models and each any trait Y , we compared the model with a simpler model not accounting for the block-associated random deviation of slope (b_{β}) in a likelihood-ratio test. No significant variation in slope was observed between valleys for any trait, indicating that similar trends along the gradient were observed in the two valleys. Statistical analysis was performed on the simpler model.

We also assessed, for each provenance, the percentage of trees producing at least one acorn during the last three years of measurement. We used a linear model to regress the percentages against elevation and temperature.

All the linear mixed effect models and negative binomial random regression models were fitted by the restricted maximum likelihood (REML) method in lme4 R packages (Bates et al., 2014; Bolker et al., 2009). These analyses were performed in R Studio version 1.0.153 (R core team 2014).

Results

Phenotypic variations *in situ*

Seed production per unit of ground area ($M_{\text{tot-area}}$, Fig. 1a) and per tree ($M_{\text{tot-tree}}$, Fig. S1a) decreased strongly and significantly with increasing elevation (Table 1). These correlations were significant with a log estimate of $-0.31 \text{ g}\cdot 100^{-1} \text{ m}$ $[-0.44, -0.19]$ and $-0.18 \text{ g}\cdot 100^{-1}$ $[-0.30, -0.06]$ for $M_{\text{tot-area}}$ and $M_{\text{tot-tree}}$, respectively. The similar trends observed for $M_{\text{tot-area}}$ and $M_{\text{tot-tree}}$ suggest that the size of the tree (or its crown area) is not the main driver of the variation observed along the elevation gradient. A linear negative cline with elevation was observed for mean acorn mass (M_a), with a significant decrease of 0.06 $[0.07, 0.04]$ g for every 100 m (Fig. 1c). For growth, we observed a significant decrease in Δ_H and Δ_D measured on saplings in the RTE

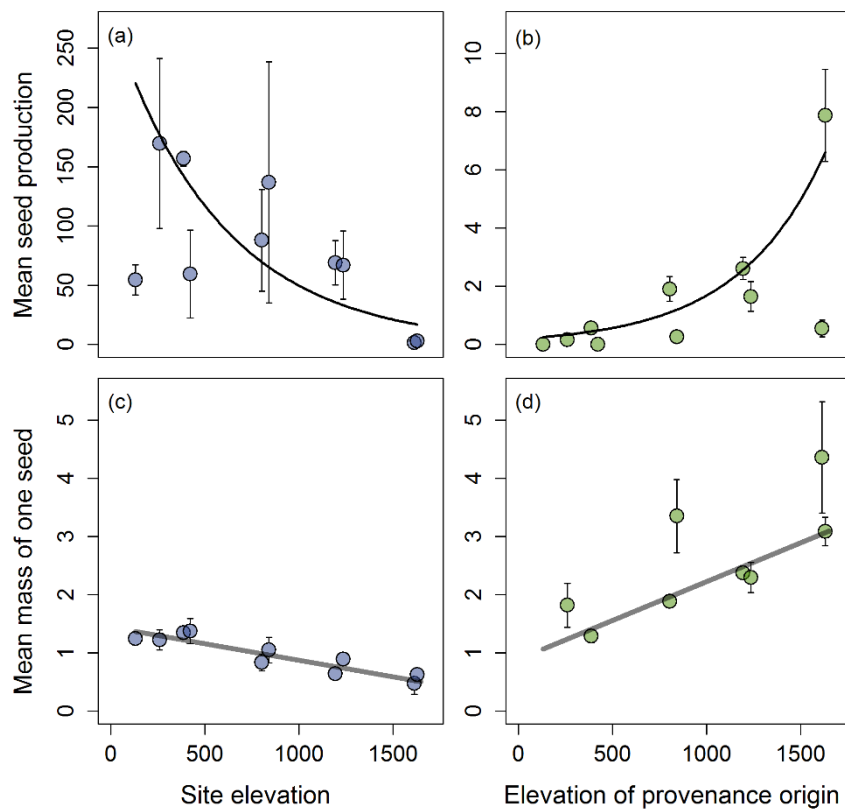


Figure 1: Variation in seed production per unit ground area ($M_{\text{tot-area}}$ in g m^2) and variation of the mean mass of one acorn (M_a in g) with elevation *in situ* (a and c) and elevation of provenance origin in the common garden (b and d). Each dot represents the mean annual acorn production or the mean mass of one acorn of each population estimated during five and three years *in situ* and in the common garden, respectively. The bars represent the standard errors for each population. Negative binomial random regression models were used for both experiments *in situ* and in the common garden for $M_{\text{tot-area}}$ (see model 2 and 8), and linear mixed effect models were used for both experiments *in situ* and in the common garden for M_a (see model 1 and 7).

along the elevation gradient (Figs. 2a and 2c). For every 100 m increase in elevation Δ_H and Δ_D decreased by -0.13 [-0.17, -0.08] m and -0.073 [-0.125, -0.022] mm, respectively (Table 1).

Seed production increased significantly with increasing mean annual temperature, for both reproductive traits considered (Figs. 3a and 3c). Similar significant responses to temperature were observed for height and diameter increment (Figs. 4a and 4c), with a gain of 0.31 [0.21, 0.41] m and 0.16 [0.04, 0.28] mm, respectively, for every 1°C increase in temperature (Table 1). Except for $M_{\text{tot_tree}}$, temperature explained as much of the variation in reproduction and growth as elevation, suggesting that temperature was the major driver of the phenotypic variation observed along the gradient.

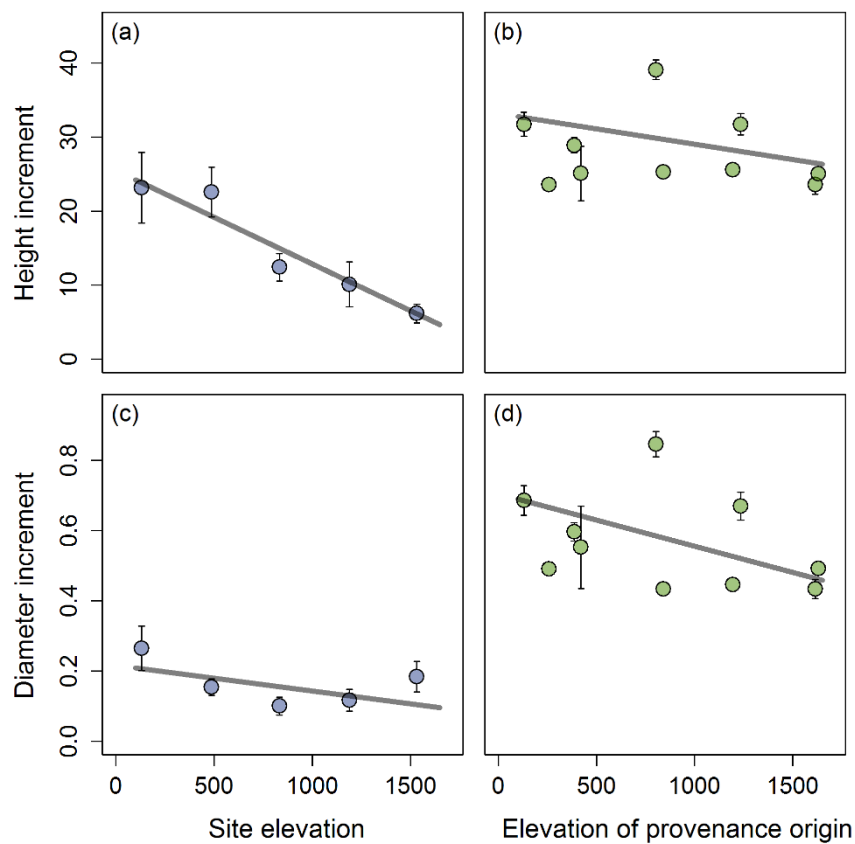


Figure 2: Variation of mean annual height (Δ_H) and diameter (Δ_D) increments between 2011 and 2017 with elevation in situ (a and c) and to the elevation of provenance origin in the common garden (b and d). Each dot represents the mean value for the population. The bars represent the standard errors for each population. Linear mixed effect models were used for experiments in situ and in the common garden (see models 3 and 7).

Genetic differentiation in the common garden

In the lowland common garden, we observed a significant increase in M_{tot_tree} , M_{tot_area} and M_a with increasing elevation of provenance origin (Table 1, Figs. 1b, 1d and S1b) and a significant decrease in the same traits with increasing mean annual temperature of provenance origin (Table 1, Figs. 3b, 3d and S2b). Populations from high elevations (lower temperatures), produce larger acorns, in larger numbers than populations from low elevations (higher temperatures). The standard deviations of the reproductive traits are large (Table 2), potentially contributing to the dispersion of mean population values on Fig. 1b and S1b. By contrast, the genetic clines observed for growth traits (Δ_H and the Δ_D) were significant but negative for elevation of provenance origin and positive for mean annual temperature of origin (Table 1,

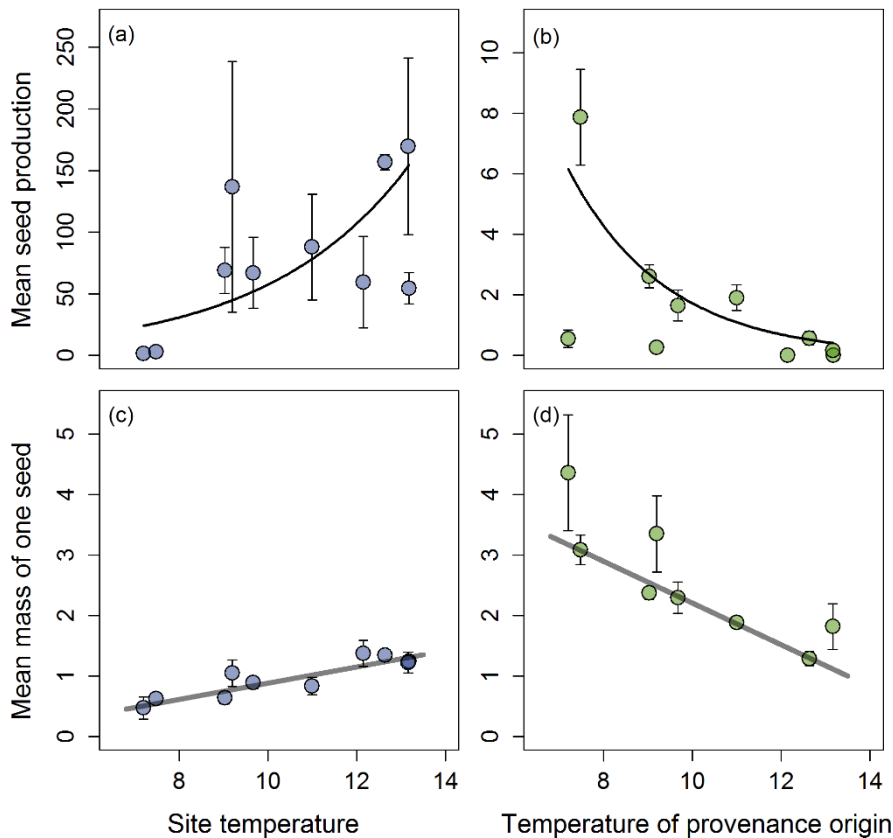


Figure 3: Variation in seed production per unit ground area (M_{tot_area} in $g\ m^2$) and variation of the mean mass of one acorn (M_a in g) with mean annual temperature in situ (a and c) and mean annual temperature of provenance origin in the common garden (b and d). Each dot represents mean annual acorn production or the mean mass of one acorn of each population estimated during five and three years in situ and in the common garden, respectively. The bars represent the standard errors for each population. Negative binomial random regression models were used for experiments in situ and in the common garden for M_{tot_area} (see models 2 and 8) and linear mixed effect models were used for experiments in situ and in the common garden for M_a (see models 1 and 7).

Figs. 2c, 2d, 4c and 4d). Thus, in the lowland common garden, populations originating from low elevations grew better, achieving greater heights and diameters, than populations from high elevations.

The high Q_{ST} values obtained for reproductive traits (M_{tot_tree} (0.36 [0.09, 0.78]), M_{tot_area} (0.33 [0.08, 0.78]), M_a (0.27 [0.02, 0.85])) and growth traits (Δ_H (0.33 [0.09, 0.82]) and Δ_D (0.33 [0.11, 0.67])), (Table 2) highlight genetic differentiation between populations. For M_{tot_tree} , M_{tot_area} , Δ_H and Δ_D , the Q_{ST} estimates were significantly higher than the F_{ST} value for microsatellites (Fig. 5) of 0.022 [0.008, 0.044] obtained (Alberto et al., 2010; Firmat et al., 2017). However, for M_a , the distribution of the two parameters overlapped, indicating that the estimated Q_{ST} value was not significantly higher than F_{ST} for this trait (Fig. 5c).

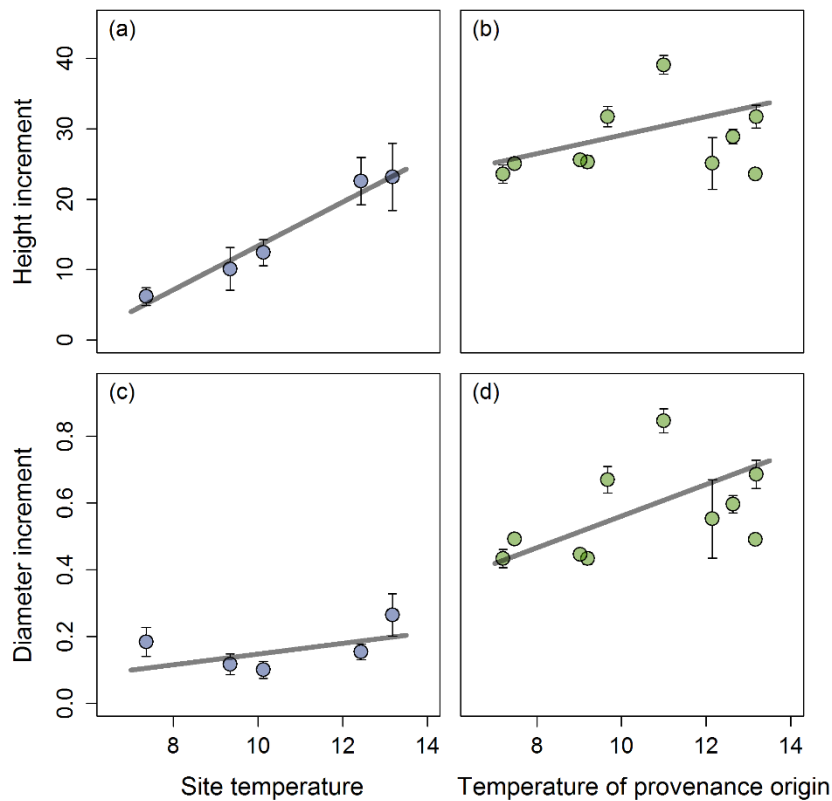


Figure 4: Variation of mean annual height (Δ_H) and diameter (Δ_D) increments between 2011 and 2017 with mean annual temperature in situ (a and c) and mean annual temperature of provenance origin in the common garden (b and d). Each dot represents the mean value for the population. The bars represent the standard errors for each population. Linear mixed effect models were used for experiments in situ and in the common garden (see models 3 and 7).

The percentage of trees producing acorns also increased significantly with increasing elevation of provenance origin (Fig. 6). This increase was consistent each year (Figs. 6a, c and e) and over the three years (Fig. 6g). Considering all three years of measurement, we observed a significant increase of 1.18% for every 100 m increase in elevation. Age at maturity therefore differed significantly between provenances. A significant negative trend was observed for the number of acorn-producing trees at different temperatures, both in individual years (Figs. 6b, d and f) and over the three years studied (Fig. 6h), suggesting that temperature at provenance origin is a major driver of the cline observed here.

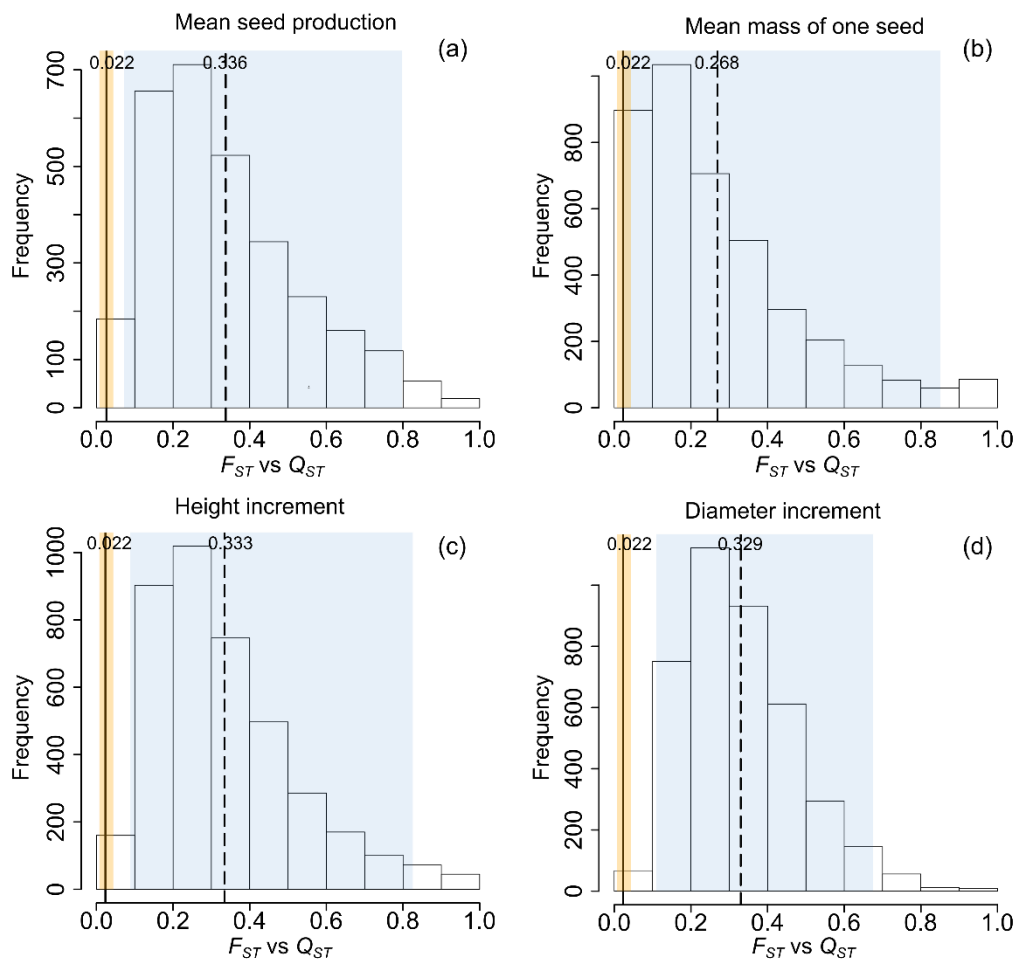


Figure 5: F_{ST}/Q_{ST} Comparison between F_{ST} and Q_{ST} distributions for reproductive and growth traits. The mean Q_{ST} and F_{ST} are represented with a solid and a dashed line, respectively, and the 95% confidence intervals for these two genetic parameters are shown in blue and orange, respectively.

Table 1: Regression slopes and their confidence intervals estimated for all traits assessed along the elevation gradient (in situ) and in the common garden. The total dry mass of acorn produced per tree (M_{tot_tree}) and per unit of ground area (M_{tot_area}) were regressed against elevation and the annual mean temperature in a negative binomial random regression model. The mean mass of one acorn (M_a) and the mean annual height (Δ_H) and diameter (Δ_D) increments were regressed against elevation and annual mean temperature in a linear mixed effect model. The 95% confidence interval, the coefficient of determination (R^2) and the p-value are indicated for each trait.

Trait	Elevation			Temperature			
	Estimates	R^2	p.value	Estimates	R^2	p.value	
<i>In situ</i>	$\log(M_{tot_tree})$	-0.31 [-0.44, -0.19]	-	***	0.50 [0.25, 0.79]	-	***
	$\log(M_{tot_area})$	-0.18 [-0.30, -0.06]	-	**	0.31 [0.04, 0.60]	-	*
	M_a	-0.06 [-0.07, -0.04]	0.57	***	0.13 [0.08, 0.18]	0.54	***
	Δ_H	-0.13 [-0.17, -0.08]	0.22	***	0.31 [0.21, 0.41]	0.24	***
	Δ_D	-0.07 [-0.12, -0.02]	0.05	**	0.16 [0.04, 0.28]	0.04	**
Common garden	$\log(M_{tot_tree})$	0.16 [0.09, 0.24]	-	***	-0.32 [-0.49, -0.15]	-	***
	$\log(M_{tot_area})$	0.22 [0.15, 0.28]	-	***	-0.45 [-0.59, -0.31]	-	***
	M_a	0.13 [0.08, 0.18]	0.09	***	-0.34 [-0.45, -0.23]	0.1	***
	Δ_H	-0.04 [-0.06, -0.02]	0.03	***	0.13 [0.08, 0.17]	0.03	***
	Δ_D	-0.15 [-0.19, -0.10]	0.03	***	0.46 [0.35, 0.56]	0.03	***

Units for each trait per elevation and temperature, respectively: $\log(M_{tot_tree})$ in $g \cdot 100m^{-1}$ and $g \cdot ^\circ C^{-1}$; $\log(M_{tot_area})$ in $g \cdot 100m^{-1}$ and $g \cdot ^\circ C^{-1}$; M_a in $g \cdot 100m^{-1}$ and $g \cdot ^\circ C^{-1}$; Δ_H in $m \cdot year^{-1} \cdot 100m^{-1}$ and $m \cdot year^{-1} \cdot ^\circ C^{-1}$; Δ_D in $m \cdot year^{-1} \cdot 100m^{-1}$ and $mm \cdot year^{-1} \cdot ^\circ C^{-1}$;

Discussion

Phenotypic variation along elevation gradients is known to be due to the increasingly harsh conditions at higher elevations (Friend and Woodward, 1990; Körner et al., 1989). As elevation increases, trees become smaller and reduce their investment in reproduction (Körner, 2012). Our observations for sessile oak are consistent with these patterns, but the main goal of this study was to identify the factors underlying these phenotypic patterns. We report here the first evidence of genetically driven effects on tree reproductive traits complementary to the genetically driven growth traits already reported by Oleksyn et al., 1998 and Vitasse et al., 2009a. Our findings show that genetic variations of seed production and size counteract the phenotypic influence of temperature, decreasing phenotypic variation along the elevation gradient. The genetic and phenotypic clines along the gradient thus operated in opposite directions, forming a counter-gradient. By contrast, for growth traits, genetic variation paralleled the phenotypic variation measured *in situ* (co-gradient).

Genetic differentiation

The high Q_{ST} values obtained for seed production, which were significantly higher than the F_{ST} , suggest that the differences between populations are probably due to diversifying selection (Leinonen et al., 2013; Whitlock, 2008). Similar conclusions were drawn for growth traits (Figure 5), and these results are also consistent with observations for leaf phenology with the same device (Alberto et al., 2011; Firmat et al., 2017). However, for the mean mass of a single acorn, Q_{ST} was higher than F_{ST} , although this difference was not significant. Overall, the confidence interval for Q_{ST} values was extremely large, due to the limited sample sizes for analyses this trait. Nevertheless, the significant genetic clines observed for seed production and size in the common garden, and those observed with temperature of provenance origin confirm that these two traits display genetic differentiation. Due to the long generation time in trees and difficulties monitoring reproduction, reproductive traits have seldom been analyzed in common gardens. Nevertheless, similar clines have been widely reported for perennial grass species (Fischer et al., 2011; Frei et al., 2014; Gonzalo-Turpin and Hazard, 2009; Hautier et al., 2009; Pluess and Stöcklin, 2005). However, contrary to our findings, negative genetic clines with elevation were observed for most of the reproductive traits monitored (Fischer et al., 2011; Hautier et al., 2009).

Table 2: Genetic parameters estimated for reproductive and growth traits in the common garden experiment. The standard deviation of the trait mean and the 95% confidence interval of each genetic parameter are indicated.

Trait	$M_{\text{tot-tree}}$	$M_{\text{tot-area}}$	M_a	Δ_H	Δ_D
Mean	9.29 ± 36.14 g	2.37 ± 9.11 g.m ⁻²	2.43 ± 1.40 g	0.36 ± 0.22 m	7.1 ± 5.2 mm
Q_{ST}	0.36 [0.09, 0.78]	0.33 [0.08, 0.78]	0.27 [0.02, 0.85]	0.33 [0.09, 0.82]	0.33 [0.11, 0.67]
σ_P^2	2.88 [0.27, 6.95]	1.67 [0.63, 3.24]	0.36 [0.03, 0.84]	947.53 [108.08, 2030.30]	0.68 [0.24, 1.25]
σ_F^2	13.16 [1.40, 48.7]	8.45 [1.30, 40.67]	1.04 [0.09, 4.18]	3474.3 [950.2, 10202.4]	2.75 [0.84, 7.87]

Phenotypic and genetic clines

The genetic clines in reproductive traits were negative with increasing temperature of provenance origin in the common garden, whereas phenotypic clines displayed the opposite pattern *in situ* (Fig. 3). This opposition of signs between phenotypic and genetic clines has been reported for many organisms (Conover et al., 2009), but rarely for forest trees (Kremer et al., 2014). Previous studies in temperate oaks have shown that phenotypic traits, such as bud burst, leaf senescence and growth, display co-gradient variation (Alberto et al., 2013; Vitasse et al., 2009a). Rare cases of counter-gradient variation in trees have been observed, in *Fagus sylvatica*, for example, in which an opposition of genetic and phenotypic clines was observed for the timing of bud burst (Vitasse et al., 2009a). In our study, the observed cline for the total mass of seed produced per tree and per unit area ($M_{\text{tot-tree}}$ and $M_{\text{tot-area}}$) can be partly explained by two individual attributes: (i) age at reproductive maturity and (ii) the size of each acorn. Age at maturity partly drives the genetic cline observed for seed production, as larger numbers of non-fruiting trees decrease the mean total seed production of the population. Furthermore, the mass of a single acorn is also a component of the overall seed mass produced per tree. Age at first reproduction and mean acorn size both contribute to the fitness of the individual. Early reproduction increases lifetime reproductive success and facilitates the colonization of new sites in pioneer species (Thomas, 2011). Acorn size is also a component of tree fitness, as germination success and early growth depend on the resources available in the seed (Aizen and Woodcock, 1996; Gómez, 2004).

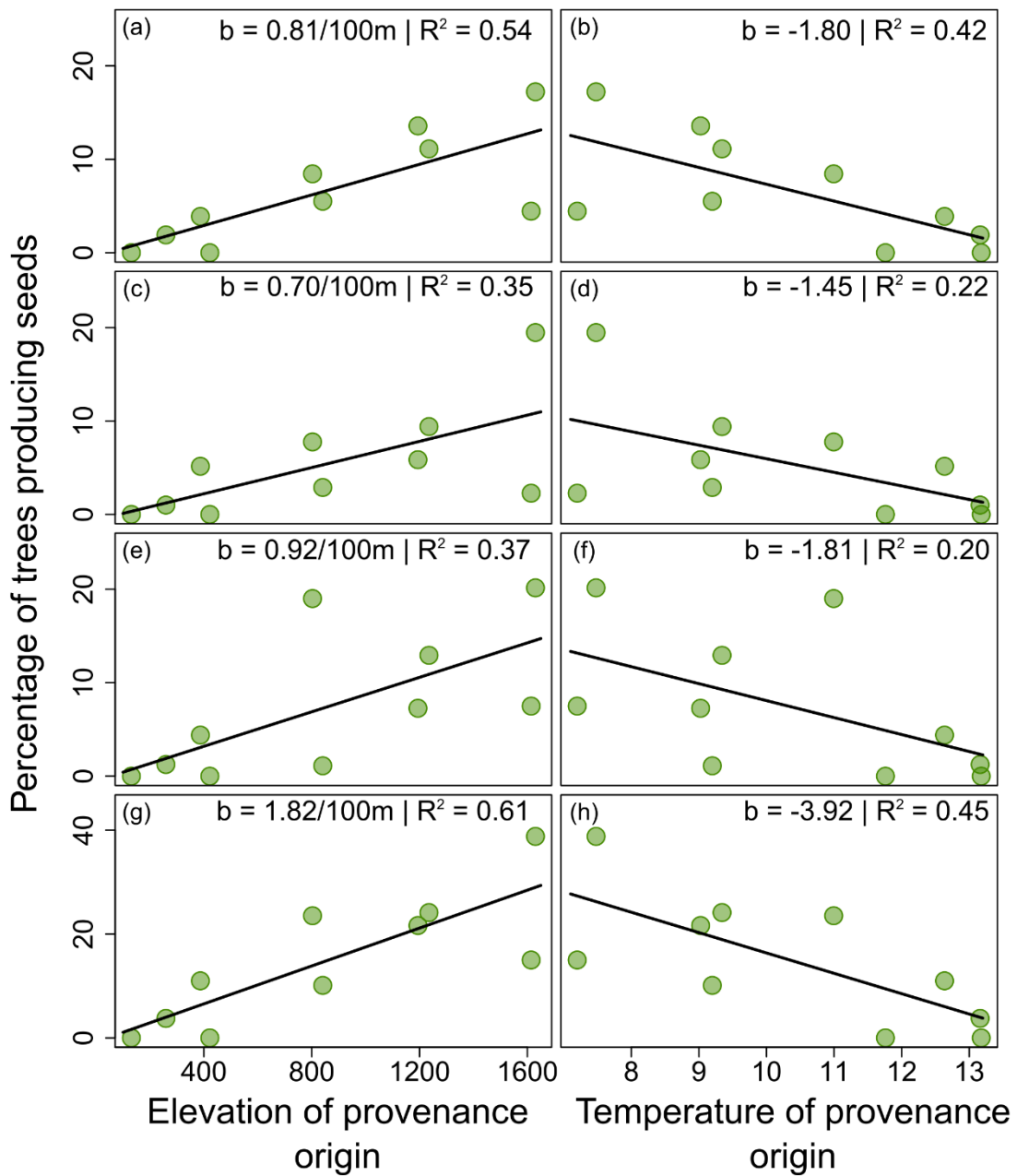


Figure 6: temperature of provenance origin (right panels). Age at first reproduction is assessed as the percentage of trees producing at least one acorn and it was calculated per year and provenance growing in the common garden. The panels show the variation of age at first reproduction in 2014 (a and b) 2015 (c and d), 2016 (e and f) and for the three years pooled together (g and h). The regression line slopes and coefficients of determination are indicated.

In our study, the significant differences between Q_{ST} and F_{ST} and between the genetic and phenotypic clines suggest that the divergent selection of the reproductive traits observed along the gradient acts in the opposite direction to plasticity (i.e. reduction of reproductive effort with decreasing temperature). By contrast to co-gradients, which enhance local adaptation because selection and plasticity drive populations towards higher fitness in the same direction, counter-gradients are thought to constrain local adaptation. Plasticity is often considered to be maladaptive in cases of counter-gradient variation (Crispo, 2008; Eckhart et al., 2004). However, Conover et al. (2009) have suggested that counter-gradients may also contribute to local adaptation, by counteracting environmental constraints with a negative effect on fitness. This is probably the situation here, for the counter-gradient variation of reproductive traits, also known as “genetic compensation” (Grether, 2005). This can be illustrated by considering the likely direction of environmental and genetic sources of variation in reproductive traits at high elevations. Environmental conditions become harsher at high elevations, limiting the nutrients and energy resources available, reducing the contribution of the environment to the phenotypic value of reproductive and decreasing vegetative growth. However, the survival of the species can be ensured only by reproduction and early survival, and natural selection therefore acts to increase the genetic component of reproductive traits, such as the number of seeds and seed mass. Thus, natural selection favors reproductive input at high elevations, as shown also by the occurrence of “natural” vegetative reproduction in *Quercus petraea*, which has been reported only in populations from high altitudes (Alberto et al., 2010).

This study has several limitations linked to the difficulties of measuring reproductive traits due to (1) the long generation times of trees and (2) the masting pattern characteristic of some tree species, such as oaks. Assessments of the phenotypic and genetic variability of reproductive effort require long-term experiments. In our study, for example, there was a lack of trees producing acorns in the common garden because not all the trees had reached the age of reproductive maturity. Age at first reproduction is, nevertheless, an interesting trait to analyze, because, as pointed out above, it also affects the fitness of the individual. The method used to analyze the reproductive effort of each tree *in situ* is highly accurate, as the acorns produced each year were counted. However, this method is time-consuming, limiting the size of the sample for analysis. Nevertheless, the repetition of measurements over a period of five years and the accuracy of the measurements obtained provided strong insight into overall reproductive effort along the gradient.

Evolutionary trade-off between growth and reproduction

Studies investigating the environmental and genetic determinism of reproduction in forest trees are scarce, and other life history traits characterizing tree fitness, such as growth, have been the focus of greater attention in the past. In this study, we aimed to perform a joint dissection of the environmental and genetic sources of variation of both reproductive and growth traits and to demonstrate the existence of significant genetic differentiation for both types of trait along the elevation gradient. The significantly higher Q_{ST} than F_{ST} values for height and diameter indicated divergent selection between populations. However, unlike those for reproductive traits, the genetic clines for growth traits had negative slopes with increasing elevation of provenance origin. These results confirm previous assessments made 10 years ago by Vitasse et al. (2009a). Growth differences between provenances are conserved as trees become older. Unlike reproductive traits, vegetative growth traits follow a co-gradient pattern with elevation. Indeed, there is positive covariance between genetic and environmental variation, inflating the phenotypic variance observed *in situ*. Taking the example of upper peripheral populations, a lack of availability of resources and environmental constraints at high elevation may underlie the lower levels of phenotypic vegetative growth. In this case, lower levels of growth increase fitness, either due to a negative genetic correlation with reproduction or because limited vegetative growth *per se* increases viability. Higher levels of growth may indeed expose trees to more lethal damage due to the breakage of branches or of the main stem by snow or wind (Körner, 2012). Conversely, a negative genetic correlation might reflect a trade-off between growth and reproduction. Whatever the mechanism, natural selection at high elevations decreases the genetic component of vegetative growth, just as plasticity reduces the environmental component. In a broader context, considering populations over the whole gradient, opposing directions of the genetic contributions of growth and reproductive traits along the gradient suggest that trees from high and low elevations may respond differently. At low elevation and warmer temperatures, natural selection favors vegetative growth over reproduction, whereas, at higher elevations, the harsher conditions increase the fitness of fruiting and slow growth. Such contrasting responses to natural selection have also often been interpreted as reflecting different life history strategies corresponding to a trade-off between vegetative growth and reproduction. At low elevation, there is more competition between trees (Alexander et al., 2015; Kunstler et al., 2011), potentially explaining their greater investment in growth than in reproduction. Conversely, populations growing at higher elevations are

subject to lower levels of competition and may adopt life history strategies typical of pioneer species, with a greater investment in reproduction than in growth (Marchand and Roach, 1980).

Conclusion

The differences in adaptive strategies between growth and reproduction observed here highlight the importance of investigating the genetic determinism of reproduction together with other life history traits. These results raise new questions about the life history strategies adopted by a given species along environmental gradients. In the context of climate change, assessment of the determinism of reproductive effort in many species remains a major challenge for ecologists, but one that we must meet if we are to understand forest regeneration and dynamics. In this context, this study sheds new light on the local adaptation of forest tree species to environmental changes, and should encourage further investigations of the determinism of reproductive traits.

Acknowledgments

This research was supported by the European Research Council through the Advanced Grant Project TREEPEACE (#FP7-339728), the french national research agency through the ANR MeCC (#13-ADAP-0006-03) and the BGF project Potenchene. We thank Benjamin Dencausse and Nicolas Cheval for their contributions to the monitoring of seed crops and growth traits at the forest sites. We thank the experimental units of both Pierroton (UE 0570, INRA, 69 route d'Arcachon, 33612 CESTAS, France) and Toulence (UE 0393 INRA, Domaine des Jarres 33210 Toulence, France) for technical support. TC received a PhD grant from TREEPEACE and the Initiative of Excellence program (IdEX-03-02) of Bordeaux University.

Authors' contributions

T.C., A.K. and S.D. conceived the idea for this work; T.C., J.M.L and J.P assembled the dataset; T.C and X.B. analyzed the data; T.C., A.K. and S.D., wrote the manuscript and S.V. and X.B. revised the manuscript.

References

- Aitken, S.N., Yeaman, S., Holliday, J.A., Wang, T., Curtis-McLane, S., 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations: Climate change outcomes for tree populations. *Evol. Appl.* 1, 95–111.
- Aizen, M.A., Woodcock, H., 1996. Effects of acorn size on seedling survival and growth in *Quercus rubra* following simulated spring freeze. *Can. J. Bot.* 74, 308–314.
- Alberto, F., Bouffier, L., Louvet, J.-M., Lamy, J.-B., Delzon, S., Kremer, A., 2011. Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along an altitudinal gradient: Variation of phenological traits in *Q. petraea*. *J. Evol. Biol.* 24, 1442–1454.
- Alberto, F., Niort, J., Derory, J., Lepais, O., Vitalis, R., Galop, D., Kremer, A., 2010. Population differentiation of sessile oak at the altitudinal front of migration in the French Pyrenees. *Mol. Ecol.* 19, 2626–2639.
- Alberto, F.J., Derory, J., Boury, C., Frigerio, J.-M., Zimmermann, N.E., Kremer, A., 2013. Imprints of natural selection along environmental gradients in phenology-related genes of *Quercus petraea*. *Genetics* 195, 495–512.
- Alexander, J.M., Diez, J.M., Levine, J.M., 2015. Novel competitors shape species' responses to climate change. *Nature* 525, 515–518.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., others, 2014. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R Package Version 1.
- Benito-Garzón, M., Ruiz-Benito, P., Zavala, M.A., 2013. Interspecific differences in tree growth and mortality responses to environmental drivers determine potential species distributional limits in Iberian forests. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 22, 1141–1151.
- Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.-S.S., 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.* 24, 127–135.
- Bouteiller X.P., Barraquand F., Garnier-Géré P., Harmand N., Laizet Y., Raimbault A., Segura R, Lassois L., Monty A., Verdu C., Mariette S., Porté A.J., 2018. No evidence for genetic differentiation in juvenile traits between Belgian and French populations of the invasive tree *Robinia pseudoacacia*. Accepted for publication in *Plant Ecology and Evolution*.

- Bresson, C.C., Vitasse, Y., Kremer, A., Delzon, S., 2011. To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiol.* tpr084.
- Caignard, T., Kremer, A., Firmat, C., Nicolas, M., Venner, S., Delzon, S., 2017. Increasing spring temperatures favor oak seed production in temperate areas. *Sci. Rep.* 7, 8555.
- Charrier, G., Bonhomme, M., Lacoïnte, A., Améglio, T., 2011. Are budburst dates, dormancy and cold acclimation in walnut trees (*Juglans regia* L.) under mainly genotypic or environmental control? *Int. J. Biometeorol.* 55, 763–774.
- Chevin, L.-M., Lande, R., Mace, G.M., 2010. Adaptation, plasticity, and extinction in a changing environment: towards a predictive theory. *PLoS Biol.* 8, e1000357.
- Conkle, M.T., 1973. Growth data for 29 years from the California elevational transect study of ponderosa pine. *For. Sci.* 19, 31–39.
- Conover, D.O., Duffy, T.A., Hice, L.A., 2009. The covariance between genetic and environmental influences across ecological gradients. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1168, 100–129.
- Conover, D.O., Schultz, E.T., 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. *Trends Ecol. Evol.* 10, 248–252.
- Crispo, E., 2008. Modifying effects of phenotypic plasticity on interactions among natural selection, adaptation and gene flow. *J. Evol. Biol.* 21, 1460–1469.
- Dantec, C.F., Ducasse, H., Capdevielle, X., Fabreguettes, O., Delzon, S., Desprez-Loustau, M.-L., 2015. Escape of spring frost and disease through phenological variations in oak populations along elevation gradients. *J. Ecol.* n/a-n/a.
- Dantec, C.F., Vitasse, Y., Bonhomme, M., Louvet, J.-M., Kremer, A., Delzon, S., 2014. Chilling and heat requirements for leaf unfolding in European beech and sessile oak populations at the southern limit of their distribution range. *Int. J. Biometeorol.* 58, 1853–1864.
- de Villemereuil, P., Gaggiotti, O.E., Mouterde, M., Till-Bottraud, I., 2016. Common garden experiments in the genomic era: new perspectives and opportunities. *Heredity* 116, 249–254.

- Eckhart, V.M., Geber, M.A., McGuire, C.M., Williams, C.F., 2004. Experimental studies of adaptation in *Clarkia xantiana*. I. Sources of trait variation across a subspecies border. *Evolution* 58, 59–70.
- Firmat, C., Delzon, S., Louvet, J.-M., Parmentier, J., Kremer, A., 2017. Evolutionary dynamics of the leaf phenological cycle in an oak metapopulation along an elevation gradient. *J. Evol. Biol.* 30, 2116–2131.
- Fischer, M., Weyand, A., Rudmann-Maurer, K., Stöcklin, J., 2011. Adaptation of *Poa alpina* to altitude and land use in the Swiss Alps. *Alp. Bot.* 121, 91.
- Fitter, A.H., Fitter, R.S.R., 2002. Rapid changes in flowering time in British plants. *Science* 296, 1689–1691.
- Frei, E.R., Ghazoul, J., Pluess, A.R., 2014. Plastic responses to elevated temperature in low and high elevation populations of three grassland species. *PLoS ONE* 9, e98677.
- Friend, A.D., Woodward, F.I., 1990. Evolutionary and ecophysiological responses of mountain plants to the growing season environment, in: Begon, M., Fitter, A.H., Macfadyen, A. (Eds.), *Advances in Ecological Research*. Academic Press, pp. 59–124.
- Gómez, J.M., 2004. Bigger is not always better: conflicting selective pressures on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution* 58, 71–80.
- Gonzalo-Turpin, H., Hazard, L., 2009. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *J. Ecol.* 97, 742–751.
- Goudet, J., 2005. hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Mol. Ecol. Notes* 5, 184–186.
- Grether, G.F., 2005. Environmental change, phenotypic plasticity, and genetic compensation. *Am. Nat.* 166, E115–E123.
- Hall, D., Luquez, V., Garcia, V.M., St Onge, K.R., Jansson, S., Ingvarsson, P.K., 2007. Adaptive population differentiation in phenology across a latitudinal gradient in European aspen (*Populus tremula*, L.): a comparison of neutral markers, candidate genes and phenotypic traits. *Evolution* 61, 2849–2860.

- Hautier, Y., Randin, C.F., Stöcklin, J., Guisan, A., 2009. Changes in reproductive investment with altitude in an alpine plant. *J. Plant Ecol.* 2, 125–134.
- Kawakami, T., Morgan, T.J., Nippert, J.B., Ocheltree, T.W., Keith, R., Dhakal, P., Ungerer, M.C., 2011. Natural selection drives clinal life history patterns in the perennial sunflower species, *Helianthus maximiliani*. *Mol. Ecol.* 20, 2318–2328.
- Körner, C., 2012. *Alpine Treelines*. Springer Basel, Basel.
- Körner, C., Neumayer, M., Menendez-Riedl, S.P., Smeets-Scheel, A., 1989. Functional morphology of mountain plants 1) dedicated to Prof. H. Meusel, on the occasion of his 80th birthday. *Flora* 182, 353–383.
- Kramer, K., 1995. Phenotypic plasticity of the phenology of seven European tree species in relation to climatic warming. *Plant Cell Environ.* 18, 93–104.
- Kremer, A., Potts, B.M., Delzon, S., 2014. Genetic divergence in forest trees: understanding the consequences of climate change. *Funct. Ecol.* 28, 22–36.
- Kruschke, J., 2014. *Doing Bayesian data analysis: a tutorial with R, JAGS, and Stan*. Academic Press.
- Kruschke, J.K., 2015. *Doing Bayesian data analysis: a tutorial with R, JAGS, and Stan*, Edition 2. ed. Academic Press, Boston.
- Kunstler, G., Albert, C.H., Courbaud, B., Lavergne, S., Thuiller, W., Vieilledent, G., Zimmermann, N.E., Coomes, D.A., 2011. Effects of competition on tree radial-growth vary in importance but not in intensity along climatic gradients. *J. Ecol.* 99, 300–312.
- Laiolo, P., Obeso, J.R., 2017. Life-history responses to the altitudinal gradient. *SpringerLink* 253–283.
- Lamy, J.-B., Delzon, S., Bouche, P.S., Alia, R., Vendramin, G.G., Cochard, H., Plomion, C., 2014. Limited genetic variability and phenotypic plasticity detected for cavitation resistance in a Mediterranean pine. *New Phytol.* 201, 874–886.
- Larter, M., Pfautsch, S., Domec, J.-C., Trueba, S., Nagalingum, N., Delzon, S., 2017. Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytol.* 215, 97–112.

- Lechowicz, M.J., 1995. Seasonality of flowering and fruiting in temperate forest trees. *Can. J. Bot.* 73, 175–182.
- Leinonen, T., McCairns, R.J.S., O’Hara, R.B., Merilä, J., 2013. Q_{ST} – F_{ST} comparisons: evolutionary and ecological insights from genomic heterogeneity. *Nat. Rev. Genet.* 14, 179–190.
- Lenz, A., Hoch, G., Vitasse, Y., Körner, C., 2013. European deciduous trees exhibit similar safety margins against damage by spring freeze events along elevational gradients. *New Phytol.* 200, 1166–1175.
- Lindner, M., Maroschek, M., Netherer, S., Kremer, A., Barbati, A., Garcia-Gonzalo, J., Seidl, R., Delzon, S., Corona, P., Kolström, M., Lexer, M.J., Marchetti, M., 2010. Climate change impacts, adaptive capacity, and vulnerability of European forest ecosystems. *For. Ecol. Manag.* 259, 698–709.
- Linhart, Y.B., Grant, M.C., 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27, 237–277.
- Marchand, P.J., Roach, D.A., 1980. Reproductive strategies of pioneering alpine species: seed production, dispersal, and germination. *Arct. Alp. Res.* 12, 137–146.
- Namkoong, G., Conkle, M.T., 1976. Time trends in genetic control of height growth in ponderosa pine. *For. Sci.* 22, 2–12.
- Nicotra, A.B., Atkin, O.K., Bonser, S.P., Davidson, A.M., Finnegan, E.J., Mathesius, U., Poot, P., Purugganan, M.D., Richards, C.L., Valladares, F., van Kleunen, M., 2010. Plant phenotypic plasticity in a changing climate. *Trends Plant Sci.* 15, 684–692.
- O’hara, R.B., Cano, J.M., Ovaskainen, O., Teplitsky, C., Alho, J.S., 2008. Bayesian approaches in evolutionary quantitative genetics. *J. Evol. Biol.* 21, 949–957.
- O’Hara, R.B., Merilä, J., 2005. Bias and precision in Q_{ST} estimates: problems and some solutions. *Genetics* 171, 1331–1339.
- Oleksyn, J., Modrzyński, J., Tjoelker, M.G., Zytowski, R., Reich, P.B., Karolewski, P., 1998. Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Funct. Ecol.* 12, 573–590.

- Pérez-Ramos, I.M., Ourcival, J.M., Limousin, J.M., Rambal, S., 2010. Mast seeding under increasing drought: results from a long-term data set and from a rainfall exclusion experiment. *Ecology* 91, 3057–3068.
- Pluess, A.R., Stöcklin, J., 2005. The importance of population origin and environment on clonal and sexual reproduction in the alpine plant *Geum reptans*. *Funct. Ecol.* 19, 228–237.
- Plummer, M., 2003. JAGS: A program for analysis of Bayesian graphical models using Gibbs sampling.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Reich, P.B., Oleksyn, J., 2008. Climate warming will reduce growth and survival of Scots pine except in the far north: Scots pine growth and survival following climate transfer. *Ecol. Lett.* 11, 588–597.
- Sáenz-Romero, C., Guzmán-Reyna, R.R., Rehfeldt, G.E., 2006. Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, Mexico. *For. Ecol. Manag.* 229, 340–350.
- Sáenz-Romero, C., Lamy, J.-B., Ducousso, A., Musch, B., Ehrenmann, F., Delzon, S., Cavers, S., Chałupka, W., Dağdaş, S., Hansen, J.K., Lee, S.J., Liesebach, M., Rau, H.-M., Psomas, A., Schneck, V., Steiner, W., Zimmermann, N.E., Kremer, A., 2016. Adaptive and plastic responses of *Quercus petraea* populations to climate across Europe. *Glob. Change Biol.* n/a-n/a.
- Sanchez-Humanes, B., Espelta, J.M., 2011. Increased drought reduces acorn production in *Quercus ilex* coppices: thinning mitigates this effect but only in the short term. *Forestry* 84, 73–82.
- Santos-del-Blanco, L., Climent, J., González-Martínez, S.C., Pannell, J.R., 2012. Genetic differentiation for size at first reproduction through male versus female functions in the widespread Mediterranean tree *Pinus pinaster*. *Ann. Bot.* 110, 1449–1460.
- Sparks, T.H., Jeffree, E.P., Jeffree, C.E., 2000. An examination of the relationship between flowering times and temperature at the national scale using long-term phenological records from the UK. *Int. J. Biometeorol.* 44, 82–87.

- Spitze, K., 1993. Population structure in *Daphnia obtusa*: quantitative genetic and allozymic variation. *Genetics* 135, 367–374.
- Thomas, S.C., 2011. Age-related changes in tree growth and functional biology: the role of reproduction. *SpringerLink* 33–64.
- Vitasse, Y., Bresson, C.C., Kremer, A., Michalet, R., Delzon, S., 2010. Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species: Quantifying plasticity of leaf phenology. *Funct. Ecol.* 24, 1211–1218.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Bresson, C.C., Michalet, R., Kremer, A., 2009a. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Can. J. For. Res.* 39, 1259–1269.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Dufrêne, E., Pontailier, J.-Y., Louvet, J.-M., Kremer, A., Michalet, R., 2009b. Leaf phenology sensitivity to temperature in European trees: do within-species populations exhibit similar responses? *Agric. For. Meteorol.* 149, 735–744.
- Whitlock, M.C., 2008. Evolutionary inference from Q_{ST} . *Mol. Ecol.* 17, 1885–1896.
- Whitlock, M.C., Guillaume, F., 2009. Testing for spatially divergent selection: comparing Q_{ST} to F_{ST} . *Genetics* 183, 1055–1063.
- Wortemann, R., Herbette, S., Barigah, T.S., Fumanal, B., Alia, R., Ducousso, A., Gomory, D., Roeckel-Drevet, P., Cochard, H., 2011. Genotypic variability and phenotypic plasticity of cavitation resistance in *Fagus sylvatica* L. across Europe. *Tree Physiol.* 31, 1175–1182.

Supporting Information:

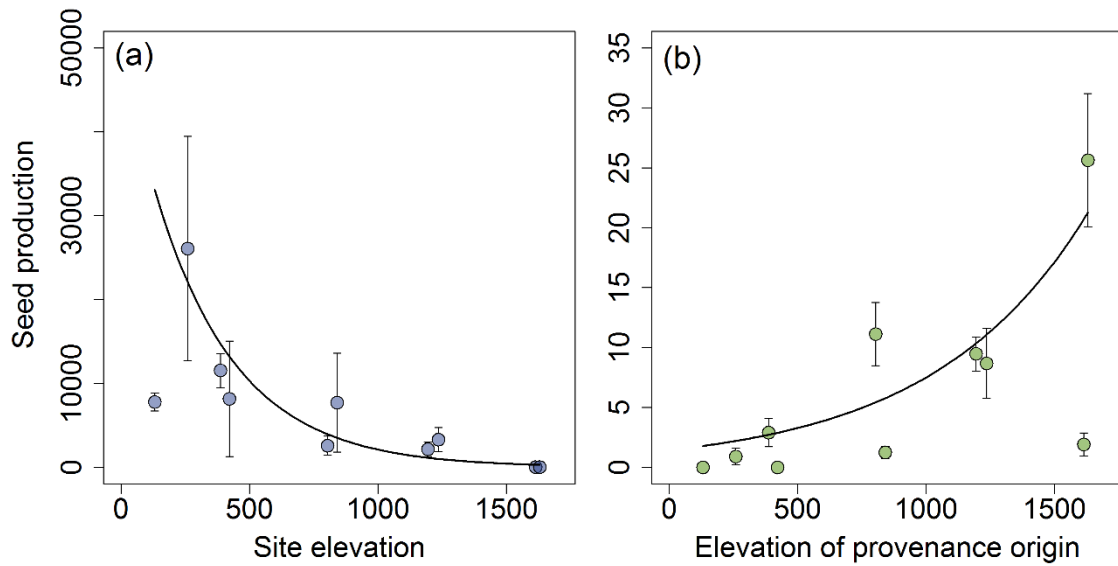


Figure S1: Variation of seed production per tree ($M_{\text{tot_tree}}$ in g) with elevation *in situ* (a) and elevation of provenance origin in the common garden (b). Each dot represents the mean annual acorn production of the population estimated over five and three years *in situ* and in the common garden, respectively. The bars represent the standard error for each population. Negative binomial random regression models were used for both experiments *in situ* and in the common garden (see model 2 and 8).

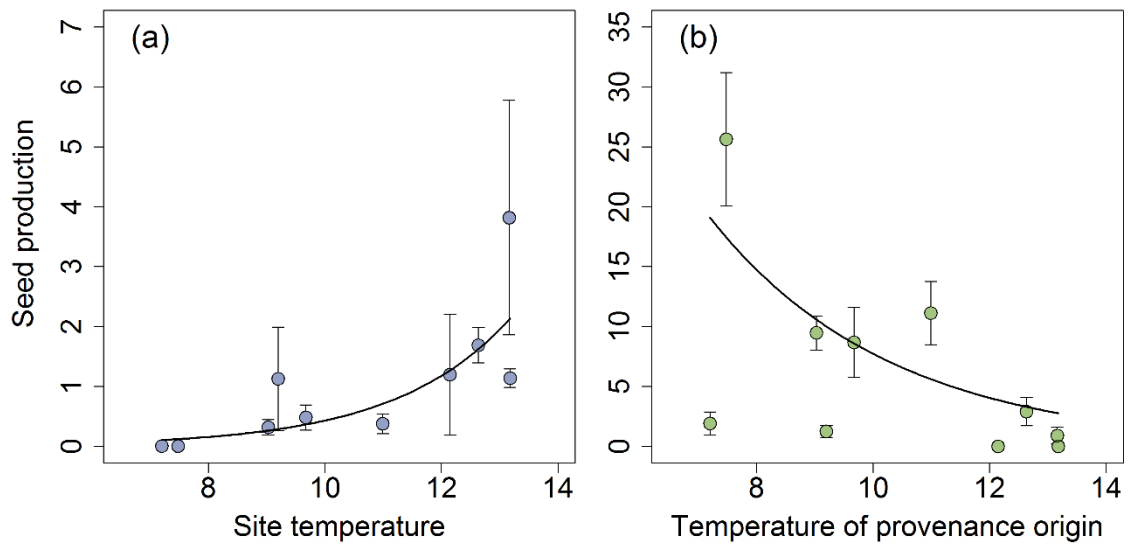


Figure S2: Variation in seed production per tree ($M_{\text{tot_tree}}$ in g) with mean annual temperature *in situ* (a) and mean annual temperature of provenance origin in the common garden (b). Each dot represents the mean annual acorn production of the population estimated over five and three years *in situ* and in the common garden, respectively. The bars represent the standard errors for each population. Negative binomial random regression models were used for experiments *in situ* and in the common garden (see models 2 and 8).

Figure S1:

Chapitre 3

Heritability and genetic architecture of reproduction-related traits in a temperate oak species.

Thomas Caignard, Sylvain Delzon, Catherine Bodénès, Benjamin
Dencausse, Antoine Kremer (*in preparation*)

Heritability and genetic architecture of reproduction-related traits in a temperate oak species

Thomas Caignard¹, Sylvain Delzon¹, Catherine Bodénès¹, Benjamin Dencausse¹, Antoine Kremer¹

¹BIOGECO, INRA, Univ. Bordeaux, 33615 Pessac, France

Abstract

Reproduction, one of the main component of plant fitness, is highly variable in response to environmental cues, but little is known about the genetic determinism underlying reproduction-related traits in forest tree species. There is therefore an urgent need to characterize the genetic architecture of those traits if we are to predict the evolutionary trajectories of forest populations facing rapidly changing environment and mitigate the impacts. Using a full-sib family of pedunculate oak (*Quercus robur*), we investigated the within population variability of seed production and mean seed mass during four consecutive years. Reproductive traits were highly variable between trees and between years. The high narrow sense heritability and evolvability estimated underline the important genetic effect on the variability in seed production and mean seed mass. Despite a large variability over years, reproductive traits show significant genetic correlation between years. Furthermore, for the first time in forest tree species, quantitative trait loci (QTLs) associated with seed production and mean mass of a seed have been identified. While it is commonly assumed and observed than fitness-traits have low narrow sense heritabilities, our findings show that reproduction-related traits may undergo evolutionary changes under selective pressure and may be determinant for tree adaptation.

Introduction

Tree fitness defines the ability of an individual to survive, grow and reproduce in an environment. Numerous studies have investigated the phenotypic variation of growth and survival in response to environmental changes in forest tree species but there is a lack of studies investigating reproduction (Kang et al., 2003; Santos del Blanco et al., 2010; Santos-del-Blanco et al., 2012). Yet, understanding the variability in tree reproduction is essential in order to assess the process of adaptation of forest tree species in response to environmental changes (Aitken et al., 2008; Anderson, 2016). Increased reproduction enhances fitness of trees through different processes. For example, higher seed production increases the probability of dispersion by animals (Howe and Smallwood, 1982; Schupp et al., 2010; Traveset et al., 2014) and thus enhances population growth and dynamics. Long-distance dispersion generally due to scatterhoarding, i.e. the way animals buried their seeds for latter consumption, favors regeneration because (1) seed dispersed escape density-dependent competition under the mother tree and (2) because during years of abundant seed production, buried seeds will not all be consumed by predators (Vander Wall, 2010). Furthermore, the variability in seed size within a same species also plays a role as it is correlated with the germination rate (Gómez, 2004; Walters and Reich, 2000). Thus, because of the larger amount of reserves, bigger seed are more likely to survive to infestation from insects and seedlings' early development is favored (Bonal et al., 2007; Sousa et al., 2003).

Tree reproduction is highly variable in response to environmental changes. Previous studies have shown large variations in seed production, seed size or seed germination along environmental gradients and across years (in oaks Caignard et al., 2017; Koenig et al., 2009; in pine Lopez-Toledo et al., 2017; in black spruce Sirois, 2000). Part of this variation is driven by environmental changes such as temperature and precipitation. For example, seed production in European oak species increases with a rise in temperature during the period of pollination (Caignard et al., 2017; Schermer et al. submitted) and decreases with increasing drought occurring during late summer (Bogdziewicz et al., 2017; Pérez-Ramos et al., 2010; Sanchez-Humanes and Espelta, 2011). While numerous studies have investigated the phenotypic variability of reproduction traits in response to environmental changes little is known about the genetic source of this variation.

Common garden experiments have been useful in documenting genetically based differentiations among and within populations but few have focused on the genetic variations of reproductive traits, most likely because their assessments can only be made on older trees

while other fitness related trait can be measured on juvenile traits. While annual plants (Alonso-Blanco et al., 1999; Mitchell-Olds, 1996), plant crops (Doligez et al., 2002; Houel et al., 2015; Kadri et al., 2017) and fruit trees (Guitton et al., 2011; Sadok et al., 2013; Wu et al., 2014) have been already explored for the genetics of reproductive traits, few studies reported on genetic differentiation in forest trees (Caignard et al. *submitted*; Santos del Blanco et al., 2010; Santos-del-Blanco et al., 2012). Quantitative trait loci (QTLs) associated with seed size, seed number or size at first reproduction were detected for *Arabidopsis thaliana* (Alonso-Blanco et al., 1999) and *Vitis vinifera* (Doligez et al., 2002) but to our knowledge they have been no previous studies investigating QTL detection for seed production in natural forest populations. In fruit trees, genetic investigations were oriented towards flowering and fruiting phenology (Dirlewanger et al., 2012; Romeu et al., 2014), biennial fruit bearing, i.e. the yearly alternation of flowering and fruiting (Guitton et al., 2011; Sadok et al., 2013; Shalom et al., 2012). While the phenological variation of the apical buds has been extensively investigated in recent years in forest trees (Derory et al., 2010; Jermstad et al., 2001; Pelgas et al., 2011; Scotti-Saintagne et al., 2004), very few studies have targeted the genetic variation of reproduction within population (Bilir et al., 2006; Sivacioglu et al., 2009; Tsubomura et al., 2012) and even fewer have attempted to detect QTLs underlying reproductive traits (see Ujino-Ihara et al., 2012 for male strobilus abundance). As the selective response to environmental changes, and so the capacity of adaptation of tree population largely depend on the genetic variations and the genetic architecture underlying fitness related traits, it is necessary to investigate more reproduction.

In this study we assessed the phenotypic and genetic variation of reproductive traits and searched for their underlying quantitative trait loci (QTLs) in a full-sib family of a broadly distributed temperate oak species (*Quercus robur L.*). Our main objectives were to (i) subdivide the total phenotypic variation of reproductive traits into environmental and genetic components (ii) to dissect the genetic architecture of reproductive traits by detecting their underlying QTLs (iii) to examine the stability of QTLs expression over successive years.

Material and Methods

Experimental design

A full-sib family originating from a controlled cross of pedunculate oak (*Quercus robur*) was used. The male parent (A4) was selected in a park close to Arcachon in the South West of France (44°40'N, 1°11'W) and the female parent (3P) originated from the INRA forest research station of Pierroton (44°44'N, 0°46'W). The controlled cross was carried out in 1992 and provided 278 seedlings, which subsequently were vegetatively propagated. Rooted cuttings from 207 genotypes (with approximately ten clonal replicates per genotype) were planted in the field in 2000 at the INRA's experimental unit of Bourran (44°20'N, 0°24'W), located in the south west of France (Saintagne et al., 2004). Spacing of trees was 4m x 1.5m at the plantation. In 2012 a systematic thinning was carried out in the parcel, reducing the overall density by one half on average with a total amount of 1130 individuals. On average, the annual precipitation was 650.1 mm and the average temperature was 13.9°C from 2014 to 2017, i.e. during the four years of monitoring (Table 1).

Genetic linkage maps were established for both parents (3P and A4) using gene-based SNP (Bodénès et al., 2016). Using the JoinMap procedure, a subset of SNP markers evenly distributed along the 12 linkage groups (LG) was selected to reconstruct two new parental linkage maps for QTL analysis. In total, the male and female linkage maps contain 341 and 345 markers, respectively.

Monitoring reproduction

During spring 2014, when the trees were 16 year old since they were vegetatively propagated from the ortet (and 23 since seed production), we set up nets to collect acorns at 1 m above the ground under the whole canopy of each tree. The nets were stretched at the individual scale every two rows within the design and the trees which were very close to one another within a given row (i.e with no trees cut between them after thinning) were not sampled for recording reproduction, as their canopies were intermingled (Figure S1). In total seed crop was assessed on 173, 331, 339 and 337 individuals (clonal replicates) in 2014, 2015, 2016 and 2017 corresponding from 117 to 170 different genotypes over the four years (Table 1). In what follows the full sib genotypes will be called clones. Trees were planted within a randomized incomplete block design comprising 8 blocks with 47 ± 6 individuals per block. To minimize

predation and facilitate the acorns sorting, trees were harvested twice during mid-October and mid-November by collecting all the material (litter and acorns) deposited in the nets. Acorns were sorted from the rest of the litter in the laboratory and dried at room temperature.

Once the acorns were sorted from the rest of the litter, the total amount of seed produced N_{tot} , the total mass of seeds produced M_{tot} and the mean mass of one seed M_a were assessed. Along the last three years of measurement (2015, 2016 and 2017) we also estimated the coefficient of variation of each individual CV_i . As the number of trees assessed in 2014 was much lower due to technical constraints related to the stretching of the nets, data of 2014 were not used in this analysis. In addition, diameter at breast height (D) and height (H) of each tree were measured in 2014 and the ratio between reproduction and growth (N_{tot}/D) were calculated for each year in order to normalize the total seed production relative to the size of the tree.

Table 1: Description of the experimental design

	2014	2015	2016	2017
Total number of genotypes	117	170	170	170
Total number of individuals (clonal replicates)	173	331	339	337
Mean number of clonal replicates per genotype	1.48	1.95	1.99	1.98
Maximum amount of clonal replicates per genotype	4	6	6	6
Yearly averaged temperature (°C)	14.2	14.0	13.6	13.7
Yearly sum of precipitation (mm)	792.5	511.5	707.5	589.0

Statistical analysis

We used a univariate linear mixed effect model to assess the genetic parameter of reproductive and growth traits for the four years of measurement:

$$Y_{ijk} = \mu + b_i + C_j + \varepsilon_{ijk} \quad [1]$$

where Y_{ijk} denotes the observed phenotypic value of clone replicates k of clone j in block i , μ the overall mean, b_i the fixed effect associated with block i , C_j the random effect associated with clone j (genetic effect) and ε_{ijk} the residuals. In addition to assess the multi-annual variability we used an additional univariate linear mixed model for each trait:

$$Y_{ijkl} = \mu + b_{ij} + t_l + G_j + \varepsilon_{ijkl} \quad [2]$$

where Y_{ijkl} is the observed phenotypic value of clone j in block i and year l and t_l the fixed effect associated to year l . For both models, the reproductive traits M_{tot} , N_{tot} and the ratio N_{tot}/D were

log transformed. Best linear unbiased predictions (BLUPs) of random effects were estimated for each trait and within each year from the two linear mixed effect models. Year-Year correlations were estimated for phenotypic and BLUP values of $\log(N_{\text{tot}} + 1)$, $\log(M_{\text{tot}} + 1)$, $\log(N_{\text{tot}}/D + 1)$ and M_a using Pearson coefficient, thus leading to phenotypic and genotypic correlations. In addition, the differences between years for the same traits were tested using an analysis of variance (ANOVA).

Variances of random clone effects were used to estimate the genetic parameters of each trait. Following Scotti-Saintagne et al. (2004) we assume that the environmental effect was absorbed by the variance among replicates (cuttings) of a same genotype (clone). Considering that the cuttings were full sibs, the clonal variance estimated (σ_c^2) was equal to the within full-sib family (σ_w^2), where:

$$\sigma_c^2 = \frac{1}{2}V_A + \frac{3}{4}V_D \quad [3]$$

Here, V_A is the additive genetic variance and V_D is the dominance variance. To estimate the narrow sense heritability (h^2) of each trait, which represents the proportion of phenotypic variance that can be attributed to V_A , we considered two cases encompassing the likely range of the dominance variance ($V_D = 0$ and $V_D = \frac{1}{2}V_A$), as V_D is generally lower than V_A in forest trees (Cornelius 1994). Thus we estimated h^2 using :

$$(i) h_0^2 = \frac{2\sigma_c^2}{2\sigma_c^2 + \sigma_\varepsilon^2} \quad \text{and} \quad (ii) h_{1/2}^2 = \frac{\frac{8}{7}\sigma_c^2}{\frac{12}{7}\sigma_c^2 + \sigma_\varepsilon^2} \quad [4]$$

In addition, we also estimated the repeatability using :

$$R = \frac{\sigma_c^2}{\sigma_c^2 + \frac{\sigma_\varepsilon^2}{n_0}} \quad [4]$$

where (σ_ε^2) is the environmental here residual variance and n_0 is the number of cuttings per clone.

Finally we also estimated the evolvability (Hansen et al., 2011) for the two cases previously described for the estimation of h^2 , using:

$$(i) e_0 = \frac{2\sigma_c^2}{m^2} \quad \text{and} \quad (ii) e_{1/2} = \frac{\frac{8}{7}\sigma_c^2}{m^2} \quad [6]$$

were m is the mean of the trait. For N_{tot} , M_{tot} and N_{tot}/D , we estimated the evolvabilities of the non-transformed data since as reported by Hansen et al. (2011), the additive variance of the log-transformed data is approximately equal to the evolvability of the non-transformed scale.

The analyses were performed in R Studio version 1.0.153 (R core team 2014). All the linear mixed effect models were fitted by the restricted maximum likelihood (REML) method in the lme4 R package (Bates et al., 2014; Bolker et al., 2009).

QTL detection

Quantitative trait locus (QTL) mapping was performed using Haley-Knott regression (Haley and Knott, 1992) in R/qtl package (Broman et al., 2003) with 1cM step using the BLUP values. QTLs were selected using a stepwise model selection approach (Manichaikul et al., 2009) based on a significant threshold at 5% error rate made from 1000 permutations. The 95 % confidence interval was calculated for each selected QTL using Bayesian methods (Manichaikul et al., 2006). The effect of each QTL and the percentage of phenotypic variance explained (PEV) were also estimated. In addition, we also used a two QTL model when the results of one QTL model suggested the likely presence of a second QTL on the same linkage group, LG₃ (Figure S2). The *scantwo* function on R/QTL was used in this case (Figure S3).

Results

Phenotypic and genetic variation of reproductive traits

Large phenotypic variations were observed for seed production and size over the four years (Figure 1). Mean annual number of acorns per tree (N_{tot}) varied between 27.8 and 226.6 while N_{tot}/D varied between 0.54 and 2.34 acorns per cm and M_{tot} between 16.1 and 385.9 g. Similar results can be observed when comparing seed production of a given tree over years (Inter-annual coefficient of variation for N_{tot} amounts to 1.05 ± 0.29 , for the four years and 1.07 ± 0.35 for the last three years). On average the production of seeds was higher in 2014 and 2017 (Figure 1b, c and d) and the mean mass of one seed was higher in 2014 (Figure 1a) with an average mass of 2.5 g. Furthermore, within a given year we observed a large inter-individual variability for all reproductive traits (Figure 1). The large differences between marginal and conditional coefficient of determination (R^2_{m} and R^2_{c}) observed for most of the annual and multi-annual traits (trait over the four years of monitoring, see model [2]), show that the clone random effect from the linear mixed effect model explains most of the variability predicted by model 1 for one year traits and by model 2 for multi-annual traits (Table 2). Clonal repeatability varied between 0.22 for M_{a} to 0.70 for N_{tot} and N_{tot}/D , suggesting that the between clonal

variance was almost as large as the within clonal variance. One can notice that the difference between R^2_m and R^2_c , estimated from the multi-annual model of the mean mass of one acorn (M_a), is lower than for the other traits ($R^2_m = 0.05$ and $R^2_c = 0.1$). This discrepancy is most likely due to the large differences of mean acorn mass between years already pointed out. The narrow sense heritabilities (h^2_0 and $h^2_{1/2}$) estimated for each year were moderate and similar over time for every trait monitored (Table 2). For each year, the highest heritabilities were observed for N_{tot} and N_{tot}/D and the lowest heritabilities were estimated for M_a . In comparison, very high evolvabilities were observed for N_{tot} and M_{tot} , ranging from 0.37 to 1.24 but there were more moderate for N_{tot}/D . The evolvabilities estimated were much lower for M_a (ranging from 0.0008 and 0.04) and CV_i , nevertheless there are still relatively high compared to the other estimated values in the literature (Hansen et al., 2011).

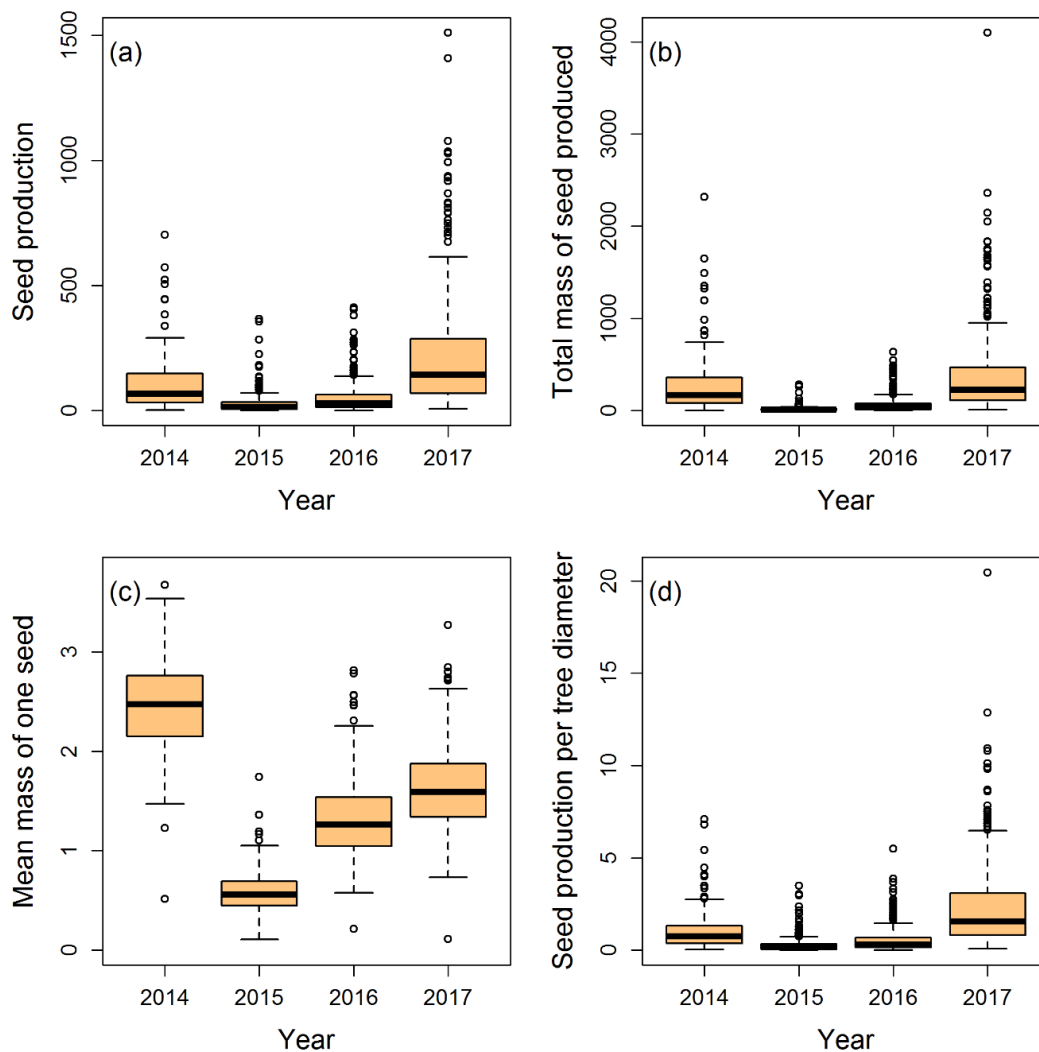


Figure 1: Boxplots of the 4 phenotypic traits represented for each year. Seed production, total mass of seed produced (g) and seed production per tree diameter (normalized) were log transformed

Phenotypic and genetic correlations between traits over time

Phenotypic and genotypic correlations between traits over years were positive. For all six pairwise year-year combinations the phenotypic and genotypic correlations were significant for each trait. The coefficients of Pearson (Figure 2 and 3) were, in most cases, higher for the estimated genetic values than for the phenotypic values with one exception for M_a (2015-2017), for which the phenotypic correlation ($r = 0.33$) was higher than the estimated genetic value ($r = 0.31$). In average, the year-year genetic and phenotypic correlations were much lower for M_a than for the three other traits. In addition, the highest r values for the genotypic and phenotypic correlations were observed between 2014 and 2017 for $\log(N_{tot}+1)$, $\log(M_{tot}+1)$ and $\log(N_{tot}/D + 1)$, while for M_a , the highest phenotypic correlation was observed between 2014 and 2016 and the highest genotypic correlation between 2016 and 2017.

Table 2: Table 2: Estimation of the marginal and conditional coefficient of determination (R^2m and R^2c), the mean clone repeatability (R), the narrow sense heritabilities (h^2_0 and $h^2_{1/2}$) and the evolvabilities (e_0 and $e_{1/2}$) for each trait and each year monitored (from 2014 to 2017).

Trait	Year	n0	R^2m	R^2c	R	h^2_0	$h^2_{1/2}$	e_0	$e_{1/2}$
N_{tot}	2014	1.48	0.02	0.43	0.52	0.59	0.37	1.02	0.58
N_{tot}	2015	1.95	0.07	0.48	0.61	0.62	0.39	1.24	0.71
N_{tot}	2016	2.00	0.04	0.33	0.46	0.46	0.28	0.76	0.43
N_{tot}	2017	1.98	0.02	0.54	0.69	0.69	0.44	1.03	0.58
N_{tot}	Multi-Annual	2.00	0.13	0.35	0.70	0.40	0.24	0.89	0.51
M_{tot}	2014	1.48	0.01	0.41	0.50	0.58	0.36	1.16	0.66
M_{tot}	2015	1.94	0.07	0.47	0.60	0.60	0.38	1.09	0.62
M_{tot}	2016	2.00	0.07	0.32	0.43	0.43	0.26	0.78	0.44
M_{tot}	2017	1.98	0.04	0.54	0.69	0.69	0.44	1.16	0.67
M_{tot}	Multi-Annual	2.00	0.13	0.23	0.49	0.22	0.13	0.65	0.37
M_a	2014	1.48	0.01	0.31	0.39	0.46	0.28	0.0211	0.0121
M_a	2015	1.88	0.05	0.21	0.27	0.28	0.17	0.0402	0.0230
M_a	2016	1.93	0.07	0.19	0.22	0.22	0.13	0.0210	0.0120
M_a	2017	1.98	0.21	0.42	0.42	0.42	0.26	0.0278	0.0159
M_a	Multi-Annual	1.93	0.05	0.1	0.28	0.10	0.06	0.0014	0.0008
N_{tot}/D	2014	1.48	0.02	0.43	0.52	0.59	0.37	0.15	0.08
N_{tot}/D	2015	1.95	0.04	0.5	0.64	0.65	0.41	0.05	0.03
N_{tot}/D	2016	2.00	0.08	0.46	0.58	0.58	0.36	0.08	0.04
N_{tot}/D	2017	1.98	0.02	0.54	0.70	0.70	0.44	0.34	0.19
N_{tot}/D	Multi-Annual	2.00	0.16	0.36	0.68	0.38	0.23	0.11	0.06
CVi	Multi-Annual	1.93	0.14	0.42	0.48	0.49	0.30	0.0593	0.0339

no: mean number of clonal replicates per genotype; *Multi-annual*: trait value over the for years; h^2_0 and $h^2_{1/2}$: narrow sense heritabilities assuming dominance variance = 0 and dominance variance = $1/2$ of the additive variance; e_0 and $e_{1/2}$: evolvabilities assuming dominance variance = 0 and dominance variance = $1/2$ additive variance

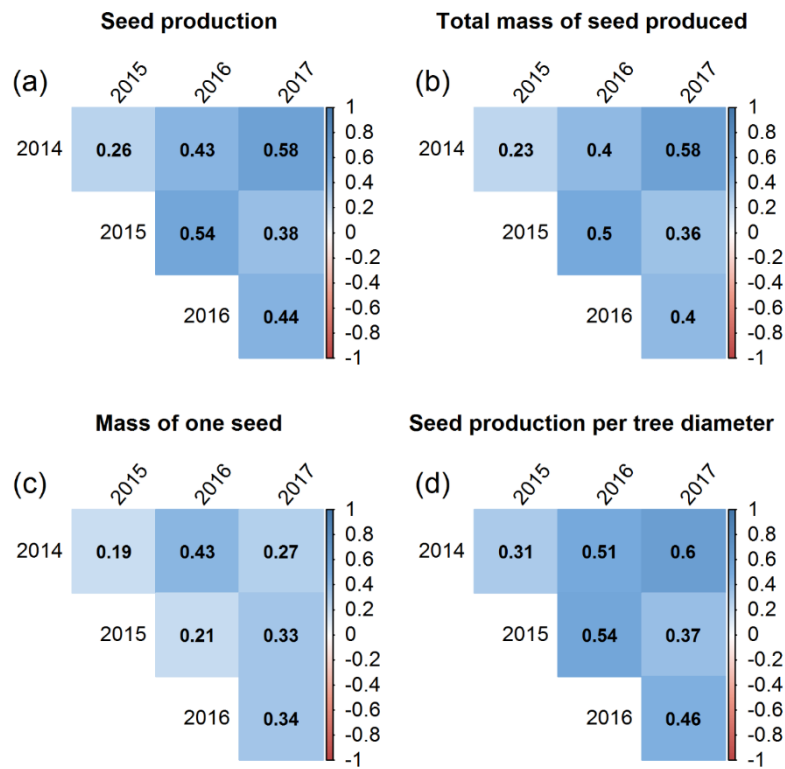


Figure 2: Correlation between years, estimated for the phenotypic values of each trait using the coefficient of Pearson. Phenotypic values were log transformed for seed production (a), total mass of seed produced (b) and seed production per tree diameter (d).

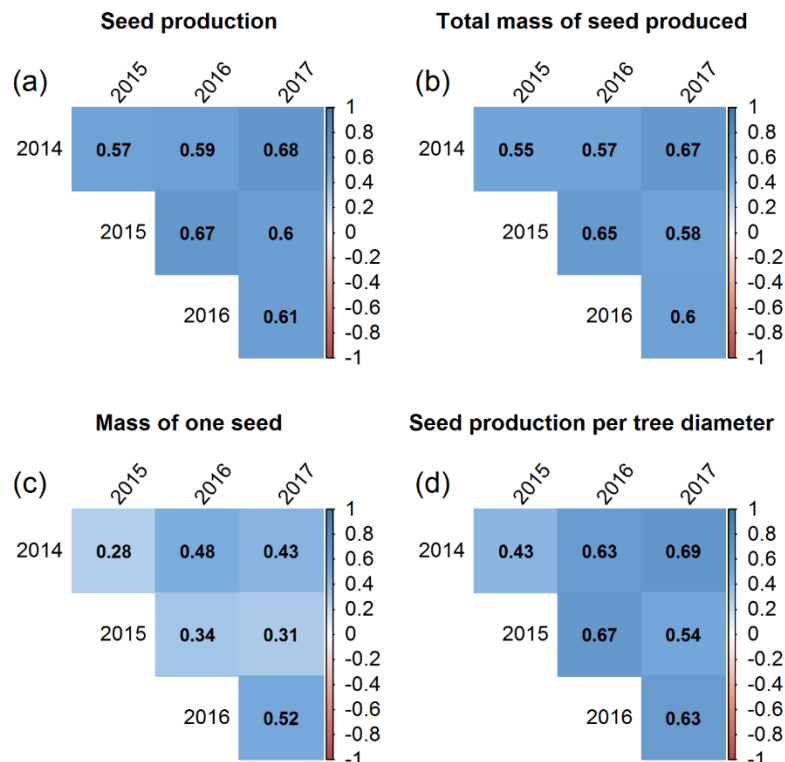


Figure 3: Correlation between years, estimated for the genetic values (BLUPs) of each trait using the coefficient of Pearson. Genetic values of seed production (a), total mass of seed produced (b) and seed production per tree diameter (d) were estimated on the log-transformed phenotypic values.

QTL detection

Annual and multi-annual models were used to detect the QTLs of reproductive traits. For M_a we detected significant QTLs on both maps (Male and Female), 1 QTL on the female linkage group 1 (LG₁F) for 2016, 2017 and for the multi-annual model, and 2 QTLs on LG₇M for 2016 on LG₁₁M for the multi-annual model. The QTLs detected on LG₁F were, for the three cases, located at 26 cM and the percentage of phenotypic explained variance (PEV) was of the same amount over the years: 9.80 % in 2016, 8.08 % in 2017 and 12.81 % over the four years, but the confidence intervals in 2016 and 2017 were much larger. For traits related to seed production (M_{tot} , N_{tot} and N_{tot}/D) we detected significant QTLs at the same location on LG₃F in 2015, 2016, and 2017 and across the three years with the multi-annual model. The position were very similar through time and between traits. The highest PEVs on this linkage group were observed for N_{tot} , with 10.94 in 2015, 15.01% in 2016, 17.51 % in 2017 and 16.47 % for across the four years. In addition, on LG₁₁M, we also detected highly significant QTLs for the same traits than previously in 2014, 2016, and 2017 and across all years. The highest PEVs observed were for N_{tot}/D with respectively 15.38%, 17.54%, 12.32% and 14.11% in 2014, 2016, and 2017 and across all years. Another QTL was detected on the male map for traits related to seed production: for N_{tot} in 2014 and N_{tot}/D in 2014 on LG₅M. For both cases the position estimated on the linkage group was 65.03 cM and the PEV amounted to 10.11 % and 13.84 % respectively. Finally we also detected a significant QTL for N_{tot}/D in 2015 on LG₁₂F but the PEV estimated was relatively low (7.69 %) compared to the other QTLs.

Table 3: Significant QTLs detected for each trait and their related statistics.

Trait	Year	Parent	n	LG	Position	LOD	BCI	PEV	p.value
M_a	2016	Female	168	1	25	3.76	8.85 – 38.00	9.8	<0.001
	2016	Male	168	7	50.08	2.99	36.00 – 58.87	7.86	<0.001
	2017	Female	169	1	26.47	3.11	12.00 – 48.00	8.07	<0.001
	Multi-Annual	Female	170	1	26.00	5.06	20.81– 38.00	12.81	<0.001
	Multi-Annual	Male	170	11	34.29	3.24	25.49– 52.00	8.39	<0.001
M_{tot}	2014	Male	117	11	54.01	2.97	15.00 – 58.73	11.03	<0.001
	2015	Female	169	3	32.56	3.29	7 – 37.24	8.53	<0.001
	2016	Female	169	3	33.8	5.86	13.24 – 36.00	14.75	<0.001
	2016	Male	169	11	23.6	6.34	10.72 – 34.29	15.87	<0.001
	2017	Female	170	3	28.00	6.78	24.00 – 33.00	16.77	<0.001
	2017	Male	170	11	23.6	5.12	14.00 – 54.01	12.96	<0.001
	Multi-Annual	Female	170	3	31.00	5.85	12.93 – 34.44	14.65	<0.001
	Multi-Annual	Male	170	11	23.6	6.16	14.00 – 34.00	15.36	<0.001
N_{tot}	2014	Male	117	5	65.03	2.7	45.00 – 72.24	10.11	<0.001
	2014	Male	117	11	54.01	3.02	13 – 58.73	11.24	<0.001
	2015	Female	170	3	32.56	4.28	8.86 – 36.62	10.94	<0.001
	2016	Female	170	3	31	6	13.24 – 35.05	15.01	<0.001
	2016	Male	170	11	23	5.81	10.00 – 33.00	14.56	<0.001
	2017	Female	170	3	29.00	7.76	25.00 – 32.00	17.51	<0.001
	2017	Male	170	11	23.6	4.21	10.00 – 54.01	10.78	<0.001
	Multi-Annual	Female	170	3	31.63	6.64	13.24– 34.75	16.47	<0.001
Multi-Annual	Male	170	11	23.00	4.73	10.00 – 52.00	12.04	<0.001	
$N_{tot/D}$	2014	Male	117	5	65.03	3.78	56.78 – 72.24	13.84	<0.001
	2014	Male	117	11	22	4.24	13.00 – 56.00	15.38	<0.001
	2015	Female	170	3	32.6	3.24	4.00 – 39.13	8.41	<0.001
	2015	Female	170	12	19	2.95	10.00 – 30.69	7.69	<0.001
	2016	Female	170	3	31	5.51	16.00 – 36.62	13.86	<0.001
	2016	Male	170	11	10.72	7.12	10.00 – 32.00	17.54	<0.001
	2017	Female	170	3	30.00	7.50	25.19 – 33.00	18.40	<0.001
	2017	Male	170	11	23.6	4.85	10.00 – 54.01	12.32	<0.001
	Multi-Annual	Female	170	2	30.98	3.23	16.58 – 41.00	8.10	<0.001
	Multi-Annual	Female	170	3	32.00	3.28	17.00 – 40.00	8.21	<0.001
Multi-Annual	Male	170	11	22.00	5.56	10.72 – 33.00	13.54	<0.001	

Year: year of monitoring; Multi-annual: trait value over the four years; Parent: Female or male genetic map; n: number of clonal replicates per genotype; LG: Linkage group; Position: Position of the QTL on LG in cM; BCI: Interval of confidence of the position at 95% indicated in cM; PEV: Percentage of phenotypic explained variance by a QTL; p.value: significance level.

Discussion

Reproduction in forest tree species is highly variable between and within populations (Haymes and Fox, 2012; Kang et al., 2003; Pérez-Ramos et al., 2014). Although few studies have shown and quantified the genetic contribution to the between population variation of reproductive traits (Santos-del-Blanco et al., 2012), our study is one of the first to investigate the genetic variation within a single population. Using a full-sib family of *Quercus robur*, this study highlights a large variability of reproductive traits at the within population level, and underlines the important contribution of genetic effects. Furthermore, we detected for the first time in forest tree species quantitative trait loci (QTLs) associated with seed production and the mean mass of a seed. Despite a large phenotypic variability over years, the genetic contribution to reproduction was highly correlated between years.

Large genetic variation of reproductive traits

The repeated assessment of reproduction related traits over four years resulted in estimates of large phenotypic variability for N_{tot} , M_{tot} and N_{tot}/D and to a lesser extent seed size (M_a). In addition, the estimated heritability and evolvability values suggested significant and substantial genetic contribution to the phenotypic variability. It is tempting to compare our values of heritability and evolvability to other reported values in trees; however the scarce published tree studies reported broad sense heritabilities (H^2), which are larger than narrow sense heritabilities. Nevertheless, our results suggest slightly larger genetic (additive) variance of reproductive traits in oaks than in other species. For example Sivacioglu et al. (2009) reported H^2 values ranging from 0.18 to 0.38 for cone production in *Pinus sylvestris* while H^2 was found lower, around 0.15 in *Pinus pinea* (Mutke et al., 2005). These values are similar to the H^2 estimated for female and male inflorescences in pines and spruces (Bilir et al., 2006; Nikkanen and Ruotsalainen, 2000; Sivacioglu et al., 2009). For example H^2 values estimated for female and male flowering were around 0.38, in *Picea abies* (Nikkanen and Ruotsalainen, 2000) and 0.12 in *Pinus sylvestris* (Bilir et al., 2006). Compared to other traits commonly assessed in forest trees and especially in oak, narrow sense heritability values (h^2) assessed here on reproduction traits are slightly lower than for phenological traits (Baliuckas and Pliura, 2004; Alberto et al., 2011; Firmat et al., 2017), about the same magnitude than wood density and wood anatomical related traits (Nepveu, 1982, 1984; Mather et al., 1993; Savill et al., 1993), and higher than growth traits (Jensen et al., 1997; Bogdan, et al. 2004,2017; Barzdajn, 2008).

Therefore, our results suggest that reproduction traits in trees may undergo evolutionary changes if they are targets of selection under ongoing environmental changes.

Over the four years of monitoring, seed production was highly variable and synchronized between trees. This phenomenon, also known as masting or mast-seeding, is characteristic of several forest tree species including oak species (Koenig et al., 1996, 1994). The coefficient of variation estimated for each individual (CV_i) is a common measure of the ability to express multi-annual variability of seed production. The moderate heritability estimated for CV_i ($h^2_0 = 0.49$ and $h^2_{1/2} = 0.30$) suggests that the variation of CV_i estimated from 2015 to 2017 was partly due to genetic effects. While the period of monitoring was relatively short in our study, these results suggest that a masting-related traits might be heritable. To our knowledge, no study has attempted so far to study the genetic determinism of masting while it is commonly assumed that it is an adaptive response to the selection pressure by predators (Kelly and Sork, 2002). Our results should however be considered as very preliminary, as long term longitudinal monitoring would be necessary to estimate the genetic contribution to a trait expresses over multiple successive years.

Despite the large multi-annual variability and the significant sensitivity of reproduction to environmental changes, the genetic contribution was highly correlated over time. Thus our results showed that most prolific trees were the same during the four years of monitoring, regardless of the overall level of seed crop within each year. For every trait assessed, heritabilities estimated using the multi-annual model was lower than the heritabilities estimated within single year. These differences may be explained by the increase of the residual variation over years due to the changes biotic and abiotic conditions over time. Evidence for the inter-annual variation of the residual variance is also suggested by the changes of single year heritabilities over years. Similar trends were also observed in other species; for example broad sense heritability (H^2) of female and male inflorescence production in *Picea abies* (Nikkanen and Ruotsalainen, 2000) and cone production in *Pinus sylvestris* (Kroon et al., 2009) changed substantially over years. Despite variation of the overall mean and variance of reproductive traits over years, phenotypic and genetic correlations between years were quite high suggesting that monitoring of reproduction for genetic evaluation of clones can be limited to a very few number of years.

While it is commonly assumed and observed than fitness-traits have low narrow sense heritabilities (Hoffmann et al., 2016; Price and Schluter, 1991), we obtained relatively high values for reproductive traits which are known to be main components of tree fitness. Merilä

and Sheldon, (1999) have shown that contrary to what was admitted before, the low heritability of fitness traits was mostly explained by a high residuals variance including the environmental and dominance variance. Admittedly we assumed in our estimation of narrow sense heritability that dominance (on a broader scale non additive) variance was lower than additive variance in trees based on earlier reported values (White et al., 2007). Our assumption of low V_D may account for the discrepancy between observed values and predicted values based on evolutionary theory of fitness related traits. However the underestimation of the residual variance would have a lesser impact on evolvability which is a standardization of the additive variance on the mean of the trait. And evolvability values still suggest that there is large additive variation existing in this oak clonal trial. Indeed, with a few exceptions our reported values of evolvability are in the upper half of all reported values of various species in the metaanalysis of Hansen et al. (2011).

Genetic architecture

Our QTL detection was implemented in a trial prone to sampling biases known as the Beavis effect (Beavis 1998). Typically when the sample size (number of clones in our experiment) is less than 100, then the statistical power to detect QTLs of small effects are low, and their effects are inflated. Because of our limited sample size, our results should be interpreted with caution. We have likely only detected QTLs with major effects, and their effects may also have been overestimated. Thus the refined genetic architecture (number of QTLs and distribution of their effects) needs still further investigations.

Despite statistical limitations for exploring the genetic architecture, our results have important biological implications regarding potential genomic regions containing genes that contribute to the variation of reproduction traits. Indeed, for seed production, significant QTLs on LG_{3F} and LG_{11M} were repeatedly detected over years, explaining from 8.21 to 18.40 and 10.70 to 17.54 percent of the phenotypic variance, respectively. The inferred position on the linkage groups were almost identical between years. Although we found a significant QTL on LG_{11M} for M_a with the multi-annual model, the other QTLs identified were not co-localized with the QTLs identified for the seed production related traits, even with the QTLs detected for M_{tot} . These genomic regions will be targets for association studies in natural populations to reduce their range within the genome and narrow down the search of candidate genes within the genome of *Quercus robur* that was recently sequenced (Plomion et al., 2016). As very few

studies have attempted to dissect the genetic architecture of tree reproduction, it is difficult to compare our results with earlier reported studies. While Ujino-Ihara et al. (2012) undertook detection of QTLs associated with the production of male strobili in *Cryptomeria japonica*, to our knowledge, seed production and seed size have never been investigated in forest tree species. In fruit trees, numerous studies investigated the genetic determinism of biennial fruit bearing i.e. the irregular fruit production of a tree over consecutive years. While in our study no significant QTLs for CV_i (ability to masting) were identified, Guitton et al. (2011) detected QTLs for apple tree (*Malus domestica*), explaining 49 % and 37 % of the total variation of alternate inflorescence and fruit bearing over 6 years, respectively. They found that the QTLs associated with biennial bearing co-localized with genomic regions containing genes involved in floral development (floral integration gene, meristem identity gene and gibberellin oxidase gene). These results illustrate how our results could further lead to the identification of candidate genes by refining genomic regions containing the 3 major QTLs that we detected.

Finally, it is worthwhile checking whether the QTLs of reproduction related traits may colocalize with QTLs of other important traits particularly growth and phenology that were investigated earlier on the same QTL mapping pedigree (Scotti-Saintagne, 2004; Derory et al. 2010). The cross comparison of our results with QTLs of growth resulted in only one notable co-localization. LG₅M for the total tree height in 2001 and for N_{tot} and N_{tot}/D in 2014. Due to the low sample size in 2014 and the absence of repetition for the QTL on LG₅M, the co-localization of seed production and growth on this region is weak. Apart from this region, no co-localization was observed between growth and reproduction. Potential co-localization may witness negative pleiotropic effects that may support the negative mechanistic trade-off between growth and reproduction that has often been reported in the literature (Camarero et al., 2010; Drobyshev et al., 2010; Han et al., 2008; Ishihara and Kikuzawa, 2009; Koenig and Knops, 1998; Monks and Kelly, 2006; Silvertown and Dodd, 1999). The lack of co-localization of QTLs in our study may thus be in line with the more recent hypothesis by Knops et al. (2007) that the negative correlation observed might not be causal, or that the trade-off may only be driven by environmental effects. The cross comparison of our results with QTLs of phenology (bud burst) resulted in only one notable co-localization on one linkage group (LG₁₁M), which would support genetic correlation with leaf phenology, seed production and seed size if the gene effects at the co-localized QTLs are strong.

References

- Aitken, S.N., Yeaman, S., Holliday, J.A., Wang, T., Curtis-McLane, S., 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations: Climate change outcomes for tree populations. *Evol. Appl.* 1, 95–111.
- Alberto F., Bouffier L., Louvet J.M., Delzon S., and Kremer A. 2011 Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along altitudinal gradients. *Journal of evolutionary Biology* 24 (7): 1442-1454
- Aitken, S.N., Yeaman, S., Holliday, J.A., Wang, T., Curtis-McLane, S., 2008. Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations: Climate change outcomes for tree populations. *Evol. Appl.* 1, 95–111.
- Alonso-Blanco, C., Vries, H.B., Hanhart, C.J., Koornneef, M., 1999. Natural allelic variation at seed size loci in relation to other life history traits of *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 96, 4710–4717.
- Anderson, J.T., 2016. Plant fitness in a rapidly changing world. *New Phytol.* 210, 81–87.
- Barzdajn W., 2008. Comparison of provenance, family and individual heritability of growth traits in pedunculate oak (*Quercus robur* L.) in the family-provenance trial in the Milicz Forest District. *Sylvan* 152 : 52-59
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., others, 2014. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R Package Version 1.
- Beavis, W. D. (1998). QTL analyses: power, precision, and accuracy. *Molecular dissection of complex traits, 1998*, 145-162.
- Bilir, N., Prescher, F., Ayan, S., Lindgren, D., 2006. Growth characters and number of strobili in clonal seed orchards of *Pinus sylvestris*. *Euphytica* 152, 1–9.
- Bodénès, C., Chancerel, E., Ehrenmann, F., Kremer, A., Plomion, C., 2016. High-density linkage mapping and distribution of segregation distortion regions in the oak genome. *DNA Res.* 23, 115–124.
- Bogdan S., Katicic-Trupcevic, Kajab D. 2004 Genetic variation in growth traits in a *Quercus robur* L. open-pollinated progeny test of the Slavonian provenance. *Silvae Genetica* 53: 198-201

- Bogdan S., Ivankovic M., Temunovic M., Moric M., Franjic J., Bogdan I.K. 2017 . Adaptive genetic variability and differentiation of Croatian and Austrian *Quercus robur* L. populations at a drought prone field trial. *Annals of Forest Research* 60: 33-46
- Bogdziewicz, M., Fernández-Martínez, M., Bonal, R., Belmonte, J., Espelta, J.M., 2017. The Moran effect and environmental vetoes: phenological synchrony and drought drive seed production in a Mediterranean oak. *Proc R Soc B* 284, 20171784.
- Bolker, B.M., Brooks, M.E., Clark, C.J., Geange, S.W., Poulsen, J.R., Stevens, M.H.H., White, J.-S.S., 2009. Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends Ecol. Evol.* 24, 127–135.
- Bonal, R., Muñoz, A., Díaz, M., 2007. Satiation of predispersal seed predators: the importance of considering both plant and seed levels. *Evol. Ecol.* 21, 367–380.
- Broman, K.W., Wu, H., Sen, Ś., Churchill, G.A., 2003. R/qtl: QTL mapping in experimental crosses. *Bioinformatics* 19, 889–890.
- Caignard, T., Kremer, A., Firmat, C., Nicolas, M., Venner, S., Delzon, S., 2017. Increasing spring temperatures favor oak seed production in temperate areas. *Sci. Rep.* 7, 8555.
- Camarero, J.J., Albuxech, J., López-Lozano, R., Casterad, M.A., Montserrat-Martí, G., 2010. An increase in canopy cover leads to masting in *Quercus ilex*. *Trees* 24, 909–918.
- Cornelius, J., 1994. Heritabilities and additive genetic coefficients of variation in forest trees. *Can. J. For. Res.* 24, 372–379.
- Derory, J., Scotti-Saintagne, C., Bertocchi, E., Dantec, L.L., Graignic, N., Jauffres, A., Casasoli, M., Chancerel, E., Bodénès, C., Alberto, F., Kremer, A., 2010. Contrasting relationships between the diversity of candidate genes and variation of bud burst in natural and segregating populations of European oaks. *Heredity* 104, 438.
- Dirlwanger, E., Quero-García, J., Dantec, L.L., Lambert, P., Ruiz, D., Dondini, L., Illa, E., Quilot-Turion, B., Audergon, J.-M., Tartarini, S., Letourmy, P., Arús, P., 2012. Comparison of the genetic determinism of two key phenological traits, flowering and maturity dates, in three *Prunus* species: peach, apricot and sweet cherry. *Heredity* 109, 280.

- Doligez, A., Bouquet, A., Danglot, Y., Lahogue, F., Riaz, S., Meredith, C., Edwards, K., This, P., 2002. Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theor. Appl. Genet.* 105, 780–795.
- Drobyshev, I., Övergaard, R., Saygin, I., Niklasson, M., Hickler, T., Karlsson, M., Sykes, M.T., 2010. Masting behaviour and dendrochronology of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in southern Sweden. *For. Ecol. Manag.* 259, 2160–2171.
- Firmat C, Delzon S, Louvet JM, Parmentier J, Kremer A 2017. Evolutionary dynamics of the leaf phenological cycle in an oak metapopulation along an elevation gradient. *Journal of Evolutionary Biology* 30: 2116-2131
- Gómez, J.M., 2004. Bigger is not always better: conflicting selective pressures on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution* 58, 71–80.
- Guitton, B., Kelner, J.-J., Velasco, R., Gardiner, S.E., Chagné, D., Costes, E., 2011. Genetic control of biennial bearing in apple. *J. Exp. Bot.* err261.
- Haley, C.S., Knott, S.A., 1992. A simple regression method for mapping quantitative trait loci in line crosses using flanking markers. *Heredity* 69, 315.
- Han, Q., Kabeya, D., Iio, A., Kakubari, Y., 2008. Masting in *Fagus crenata* and its influence on the nitrogen content and dry mass of winter buds. *Tree Physiol.* 28, 1269–1276.
- Hansen, T.F., Pélabon, C., Houle, D., 2011. Heritability is not Evolvability. *Evol. Biol.* 38, 258–277.
- Haymes, K.L., Fox, G.A., 2012. Variation among individuals in cone production in *Pinus palustris* (Pinaceae). *Am. J. Bot.* 99, 640–645.
- Hoffmann, A.A., Merilä, J., Kristensen, T.N., 2016. Heritability and evolvability of fitness and nonfitness traits: Lessons from livestock. *Evolution* 70, 1770–1779.
- Houel, C., Chatbanyong, R., Doligez, A., Rienth, M., Foria, S., Luchaire, N., Roux, C., Adivèze, A., Lopez, G., Farnos, M., Pellegrino, A., This, P., Romieu, C., Torregrosa, L., 2015. Identification of stable QTLs for vegetative and reproductive traits in the microvine (*Vitis vinifera* L.) using the 18 K Infinium chip. *BMC Plant Biol.* 15, 205.
- Howe, H., Smallwood, J., 1982. *Ecology of Seed Dispersal.*

- Ishihara, M.I., Kikuzawa, K., 2009. Annual and spatial variation in shoot demography associated with masting in *Betula grossa*: comparison between mature trees and saplings. *Ann. Bot.* 104, 1195–1205.
- Jensen J.S., Wellendorf H., Jager K., De Vries S.M.G., Jensen V. 1997. Analysis of a 17-year old Dutch open-pollinated progeny trial with *Quercus robur* (L.). *Forest Genetics* 4: 139-147
- Jermstad, K.D., Bassoni, D.L., Jech, K.S., Wheeler, N.C., Neale, D.B., 2001. Mapping of quantitative trait loci controlling adaptive traits in coastal Douglas-fir. I. Timing of vegetative bud flush. *Theor. Appl. Genet.* 102, 1142–1151.
- Kadri, A., Julier, B., Laouar, M., Ben, C., Badri, M., Chedded, J., Mouhouche, B., Gentzbittel, L., Abdelguerfi, A., 2017. Genetic determinism of reproductive fitness traits under drought stress in the model legume *Medicago truncatula*. *Acta Physiol. Plant.* 39, 227.
- Kang, K.-S., Bila, A.D., Harju, A.M., Lindgren, D., 2003. Estimation of fertility variation in forest tree populations. *For. Int. J. For. Res.* 76, 329–344.
- Kelly, D., Sork, V.L., 2002. Mast seeding in perennial plants: why, how, where? *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 427–447.
- Knops, J.M., Koenig, W.D., Carmen, W.J., 2007. Negative correlation does not imply a tradeoff between growth and reproduction in California oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 16982–16985.
- Koenig, W.D., Knops, J.M., Carmen, W.J., Stanback, M.T., Mumme, R.L., 1996. Acorn production by oaks in central coastal California: influence of weather at three levels. *Can. J. For. Res.* 26, 1677–1683.
- Koenig, W.D., Knops, J.M.H., 1998. Scale of mast-seeding and tree-ring growth. *Nature* 396, 225–226.
- Koenig, W.D., Knops, J.M.H., Dickinson, J.L., Zuckerberg, B., 2009. Latitudinal decrease in acorn size in bur oak (*Quercus macrocarpa*) is due to environmental constraints, not avian dispersal. *Botany* 87, 349–356.
- Koenig, W.D., Mumme, R.L., Carmen, W.J., Stanback, M.T., 1994. Acorn production by oaks in central coastal California: variation within and among years. *Ecology* 99–109.

- Kroon, J., Wennström, U., Prescher, F., Lindgren, D., Mullin, T.J., 2009. Estimation of Clonal Variation in Seed Cone Production Over Time in a Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) Seed Orchard. *Silvae Genet.* 58.
- Lopez-Toledo, L., Heredia-Hernández, M., Castellanos-Acuña, D., Blanco-García, A., Saénz-Romero, C., 2017. Reproductive investment of *Pinus pseudostrobus* along an altitudinal gradient in Western Mexico: implications of climate change. *New For.* 1–15.
- Manichaikul, A., Dupuis, J., Sen, S., Broman, K.W., 2006. Poor Performance of Bootstrap Confidence Intervals for the Location of a Quantitative Trait Locus. *Genetics* 174, 481–489.
- Manichaikul, A., Moon, J.Y., Sen, S., Yandell, B.S., Broman, K.W., 2009. A Model Selection Approach for the Identification of Quantitative Trait Loci in Experimental Crosses, Allowing Epistasis. *Genetics* 181, 1077–1086.
- Mather R.A., Kanowski P.J., Savill P.S. 1993. Genetic determinism of vessel area in oak (*Quercus robur* L. and *Q.petraea* Liebl): a characteristic related to the occurrence of stem sakes. *Annals of Forest Sciences* 50, Suppl.1, 395s-398s
- Merilä, J., Sheldon, B.C., 2000. Lifetime Reproductive Success and Heritability in Nature. *Am. Nat.* 155, 301–310.
- Merilä, J., Sheldon, B.C., 1999. Genetic architecture of fitness and nonfitness traits: empirical patterns and development of ideas. *Heredity* 83, 103–109.
- Mitchell-Olds, T., 1996. Genetic Constraints on Life-History Evolution: Quantitative-Trait Loci Influencing Growth and Flowering in *Arabidopsis Thaliana*. *Evolution* 50, 140–145.
- Monks, A., Kelly, D., 2006. Testing the resource-matching hypothesis in the mast seeding tree *Nothofagus truncata* (Fagaceae). *Austral Ecol.* 31, 366–375.
- Moran, E.V., Clark, J.S., 2012. Causes and consequences of unequal seedling production in forest trees: a case study in red oaks. *Ecology* 93, 1082–1094.
- Mutke, S., Gordo, J., Gil, L., 2005. Cone Yield Characterization of a Stone Pine (*Pinus pinea* L.) Clone Bank. *Silvae Genet.* 54.
- Nepveu G. 1984a Genotypic determination of the anatomical structure of wood in *Quercus robur*. *Silvae Genetica* 33: 91-95

- Nepveu G 1984b Hereditary control of density and retractability of wood from 3 oak species (*Quercus petraea*, *Quercus robur* and *Quercus rubra*). *Silvae Genetica* 33:110-115
- Nikkanen, T., Ruotsalainen, S., 2000. Variation in flowering abundance and its impact on the genetic diversity of the seed crop in a Norway spruce seed orchard. *Silva Fenn.* 34.
- Pelgas, B., Bousquet, J., Meirmans, P.G., Ritland, K., Isabel, N., 2011. QTL mapping in white spruce: gene maps and genomic regions underlying adaptive traits across pedigrees, years and environments. *BMC Genomics* 12, 145.
- Pérez-Ramos, I.M., Aponte, C., García, L.V., Padilla-Díaz, C.M., Marañón, T., 2014. Why Is Seed Production So Variable among Individuals? A Ten-Year Study with Oaks Reveals the Importance of Soil Environment. *PLoS ONE* 9, e115371.
- Pérez-Ramos, I.M., Ourcival, J.M., Limousin, J.M., Rambal, S., 2010. Mast seeding under increasing drought: results from a long-term data set and from a rainfall exclusion experiment. *Ecology* 91, 3057–3068.
- Plomion C, Aury JM, Anselem J, Alaeitabar T, Barbe V, Belser C, Berges H, Bodénès C, Boudet N, Boury C, Canaguier A, Couloux A, Da Silva C, Duplessis S, Ehrenmann F, Estrada-Mairey B, Fouteau S, Francillonne N, Gaspin C, Guichard C, Klopp C, Labadie K, Lalanne C, Le Clainche I, Lépilé JC, Le Provost G, Leroy T, Lesur I, Martin F, Mercier J, Michotey C, Murat F, Salin F, Steinbach D, Faivre-Rampant P, Wincker P, Salse J, Quesneville H, Kremer A 2016 Decoding the oak genome: public release of sequence data, assembly, annotation and publication strategies. *Molecular Ecology Resources* 16: 254-265
- Price, T., Schluter, D., 1991. On the Low Heritability of Life-History Traits. *Evolution* 45, 853–861.
- Romeu, J.F., Monforte, A.J., Sánchez, G., Granell, A., García-Brunton, J., Badenes, M.L., Ríos, G., 2014. Quantitative trait loci affecting reproductive phenology in peach. *BMC Plant Biol.* 14, 52.
- Sadok, I.B., Celton, J.-M., Essalouh, L., Aabidine, A.Z.E., Garcia, G., Martinez, S., Grati-Kamoun, N., Rebai, A., Costes, E., Khadari, B., 2013. QTL Mapping of Flowering and Fruiting Traits in Olive. *PLOS ONE* 8, e62831.

- Saintagne, C., Bodénès, C., Barreneche, T., Pot, D., Plomion, C., Kremer, A., 2004. Distribution of genomic regions differentiating oak species assessed by QTL detection. *Heredity* 92, 20–30.
- Sanchez-Humanes, B., Espelta, J.M., 2011. Increased drought reduces acorn production in *Quercus ilex* coppices: thinning mitigates this effect but only in the short term. *Forestry* 84, 73–82.
- Santos del Blanco, L., Zas, R., Notivol Paíno, E., Chambel, M.R., Majada, J., Climent, J., 2010. Variation of early reproductive allocation in multi-site genetic trials of Maritime pine and Aleppo pine. Variación en asignación reproductiva temprana en ensayos multi-localidad de pino carrasco y pino negral.
- Santos-del-Blanco, L., Climent, J., González-Martínez, S.C., Pannell, J.R., 2012. Genetic differentiation for size at first reproduction through male versus female functions in the widespread Mediterranean tree *Pinus pinaster*. *Ann. Bot.* 110, 1449–1460.
- Savill P.S., Kanowski P.J., Gourlay I.D., Jarvis A.R. 1993 Genetic and intra tree variation in the number of sapwood rings in *Quercus robur* and *Q. petraea*. *Silvae Genetica* 42: 371-375
- Schupp, E.W., Jordano, P., Gómez, J.M., 2010. Seed dispersal effectiveness revisited: a conceptual review. *New Phytol.* 188, 333–353.
- Scotti-Saintagne, C., Bodénès, C., Barreneche, T., Bertocchi, E., Plomion, C., Kremer, A., 2004. Detection of quantitative trait loci controlling bud burst and height growth in *Quercus robur* L. *Theor. Appl. Genet.* 109, 1648–1659.
- Shalom, L., Samuels, S., Zur, N., Shlizerman, L., Zemach, H., Weissberg, M., Ophir, R., Blumwald, E., Sadka, A., 2012. Alternate Bearing in Citrus: Changes in the Expression of Flowering Control Genes and in Global Gene Expression in ON- versus OFF-Crop Trees. *PLOS ONE* 7, e46930.
- Silvertown, J., Dodd, M., 1999. The Demographic Cost of Reproduction and Its Consequences in Balsam Fir (*Abies balsamea*). *Am. Nat.* 154, 321–332.
- Sirois, L., 2000. Spatiotemporal variation in black spruce cone and seed crops along a boreal forest - tree line transect. *Can. J. For. Res.* 30, 900–909.

- Sıvacıoğlu, A., Ayan, S., Çelik, D., 2009. Clonal variation in growth, flowering and cone production in a seed orchard of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Turkey. *Afr. J. Biotechnol.* 8.
- Sousa, W.P., Kennedy, P.G., Mitchell, B.J., 2003. Propagule size and predispersal damage by insects affect establishment and early growth of mangrove seedlings. *Oecologia* 135, 564–575.
- Traveset, A., Heleno, R., Nogales, M., 2014. The ecology of seed dispersal.
- Tsubomura, M., Fukatsu, E., Nakada, R., Fukuda, Y., 2012. Inheritance of male flower production in *Cryptomeria japonica* (sugi) estimated from analysis of a diallel mating test. *Ann. For. Sci.* 69, 867–875.
- Ujino-Ihara, T., Iwata, H., Taguchi, Y., Tsumura, Y., 2012. Identification of QTLs associated with male strobilus abundance in *Cryptomeria japonica*. *Tree Genet. Genomes* 8, 1319–1329.
- Vander Wall, S.B., 2010. How plants manipulate the scatter-hoarding behaviour of seed-dispersing animals. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 365, 989–997.
- Walters, M.B., Reich, P.B., 2000. Seed size, nitrogen supply, and growth rate affect tree seedling survival in deep shade. *Ecology* 81, 1887–1901.
- Wu, J., Li, L.-T., Li, M., Khan, M.A., Li, X.-G., Chen, H., Yin, H., Zhang, S.-L., 2014. High-density genetic linkage map construction and identification of fruit-related QTLs in pear using SNP and SSR markers. *J. Exp. Bot.* 65, 5771–5781.

Supporting information

Table

Table S1: Estimation of the genetic components similar to table 2 on log-transformed (Model 1) and not log-transformed (Model 2) data for N_{tot} , M_{tot} and N_{tot}/D . The evolvabilities estimated for the Model 1 data were calculated for non-transformed data considering that $e = V_A$ as (Hansen et al. 2011) and for the log-transformed data ($e = V_A/m^2$) where V_A is the additive variance and m the mean of the log-transformed trait.

Table S1

Trait	Year	n0	Model 1									Model 2						
			R ² m	R ² c	R	h ² ₀	h ² _{1/2}	V _A		V _A /m ²		R ² m	R ² c	R	h ² ₀	h ² _{1/2}	e ₀	e _{1/2}
								e ₀	e _{1/2}	e ₀	e _{1/2}							
N _{tot}	2014	1.48	0.02	0.43	0.52	0.59	0.37	1.02	0.58	0.087e ⁻³	0.050e ⁻³	0.01	0.31	0.39	0.46	0.28	0.65	0.37
N _{tot}	2015	1.95	0.07	0.48	0.61	0.62	0.39	1.24	0.71	1.61e ⁻³	0.92e ⁻³	0.03	0.45	0.60	0.60	0.38	1.91	1.09
N _{tot}	2016	2.00	0.04	0.33	0.46	0.46	0.28	0.76	0.43	0.287e ⁻³	0.164e ⁻³	0.09	0.44	0.55	0.55	0.34	1.09	0.62
N _{tot}	2017	1.98	0.02	0.54	0.69	0.69	0.44	1.03	0.58	0.020e ⁻³	0.012e ⁻³	0.02	0.50	0.65	0.66	0.41	1.04	0.60
N _{tot}	Multi-Annual	2.00	0.13	0.35	0.70	0.40	0.24	0.89	0.51	0.084e ⁻³	0.048e ⁻³	0.13	0.29	0.62	0.32	0.19	0.83	0.47
M _{tot}	2014	1.48	0.01	0.41	0.50	0.58	0.36	1.16	0.66	0.015e ⁻³	0.008e ⁻³	0.02	0.26	0.33	0.40	0.24	0.67	0.38
M _{tot}	2015	1.94	0.07	0.47	0.60	0.60	0.38	1.09	0.62	4.209e ⁻³	2.405e ⁻³	0.02	0.49	0.64	0.65	0.41	2.53	1.44
M _{tot}	2016	2.00	0.07	0.32	0.43	0.43	0.26	0.78	0.44	0.163e ⁻³	0.093e ⁻³	0.11	0.40	0.49	0.49	0.30	1.10	0.62
M _{tot}	2017	1.98	0.04	0.54	0.69	0.69	0.44	1.16	0.67	0.008e ⁻³	0.004e ⁻³	0.03	0.48	0.63	0.64	0.40	1.29	0.74
M _{tot}	Multi-Annual	2.00	0.13	0.23	0.49	0.22	0.13	0.65	0.37	0.021e ⁻³	0.012e ⁻³	0.07	0.21	0.54	0.25	0.15	0.90	0.51
N _{tot} /D	2014	1.48	0.02	0.43	0.52	0.59	0.37	0.15	0.08	0.13	0.07	0.01	0.34	0.42	0.50	0.31	0.69	0.39
N _{tot} /D	2015	1.95	0.04	0.50	0.64	0.65	0.41	0.05	0.03	0.64	0.37	0.02	0.49	0.64	0.65	0.41	2.09	1.19
N _{tot} /D	2016	2.00	0.08	0.46	0.58	0.58	0.36	0.08	0.04	0.27	0.15	0.10	0.40	0.50	0.50	0.31	0.99	0.56
N _{tot} /D	2017	1.98	0.02	0.54	0.70	0.70	0.44	0.34	0.19	0.62	0.035	0.03	0.48	0.63	0.63	0.40	0.97	0.55
N _{tot} /D	Multi-Annual	2.00	0.16	0.36	0.68	0.38	0.23	0.11	0.06	0.096	0.055	0.13	0.30	0.63	0.33	0.20	0.82	0.47

no: mean number of clonal replicates per genotype; *Multi-annual*: trait value over the for years; h^2_0 and $h^2_{1/2}$: narrow sense heritabilities assuming dominance variance = 0 and dominance variance = 1/2 of the additive variance; e_0 and $e_{1/2}$: evolvabilities assuming dominance variance = 0 and dominance variance = 1/2 additive variance.

Figures:

Figure S1: Pictures of the design representing the nets collecting acorns, stretched at the individual scale (A) every two rows (B). Trees on the left of picture B were just harvested but trees on the right were not.

Figure S2: LOD scores of female linkage groups 3P for 2015, 2016 and 2017

Figure S3: LOD scores, for selected chromosomes, from a two-dimensional, two-QTL genome scan with the hyper data were assessed for every year and for the multi-annual model. Figure on the left side represent the analysis for all the linkage group of the female parent (3P) and on the right side for LG_{3F}. For figures on the left side of the panel, LOD_i is displayed in the upper left triangle; LOD_f is displayed in the lower right triangle. In the color scale on the right, numbers to the left and right correspond to LOD_i and LOD_f , respectively. . In the color scale on the right, numbers to the left and right correspond to LOD_i and LOD_f , respectively. For figures on right side, LOD_a is displayed in the upper left triangle; LOD_{av1} is displayed in the lower right triangle. In the color scale on the right, numbers to the left and right correspond to LOD_a and LOD_{av1} , respectively. On the left panel, LOD_{av1} compare the additive model to the single QTL model and indicate the presence of a second QTL on a same linkage group.

Figure S4: Female and male genetic linkage maps with bar colors indicated the significant the significant QTLs detected and the interval of confidence of 95%. M_a , N_{tot} , M_{tot} and N_{tot}/D were represented in green, light blue, pink and dark blue, respectively

Figure S1:

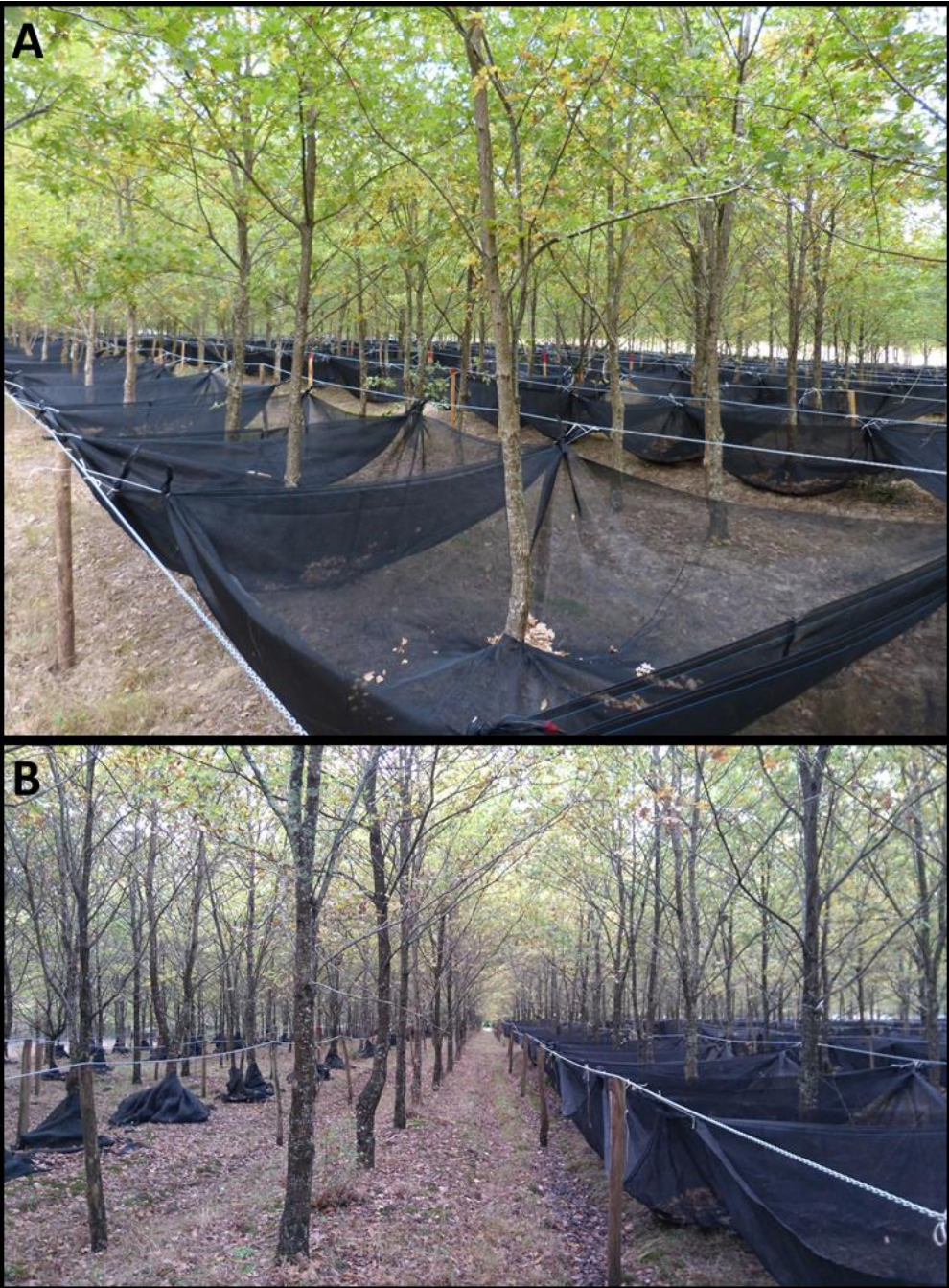


Figure S2:

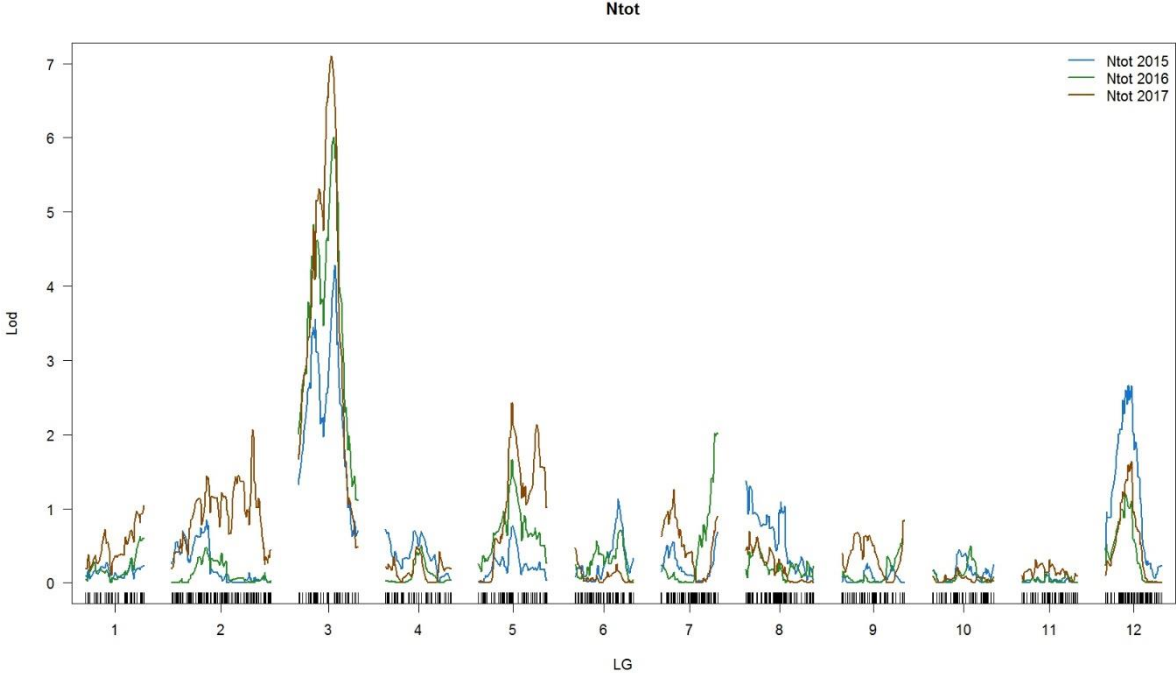


Figure S3:

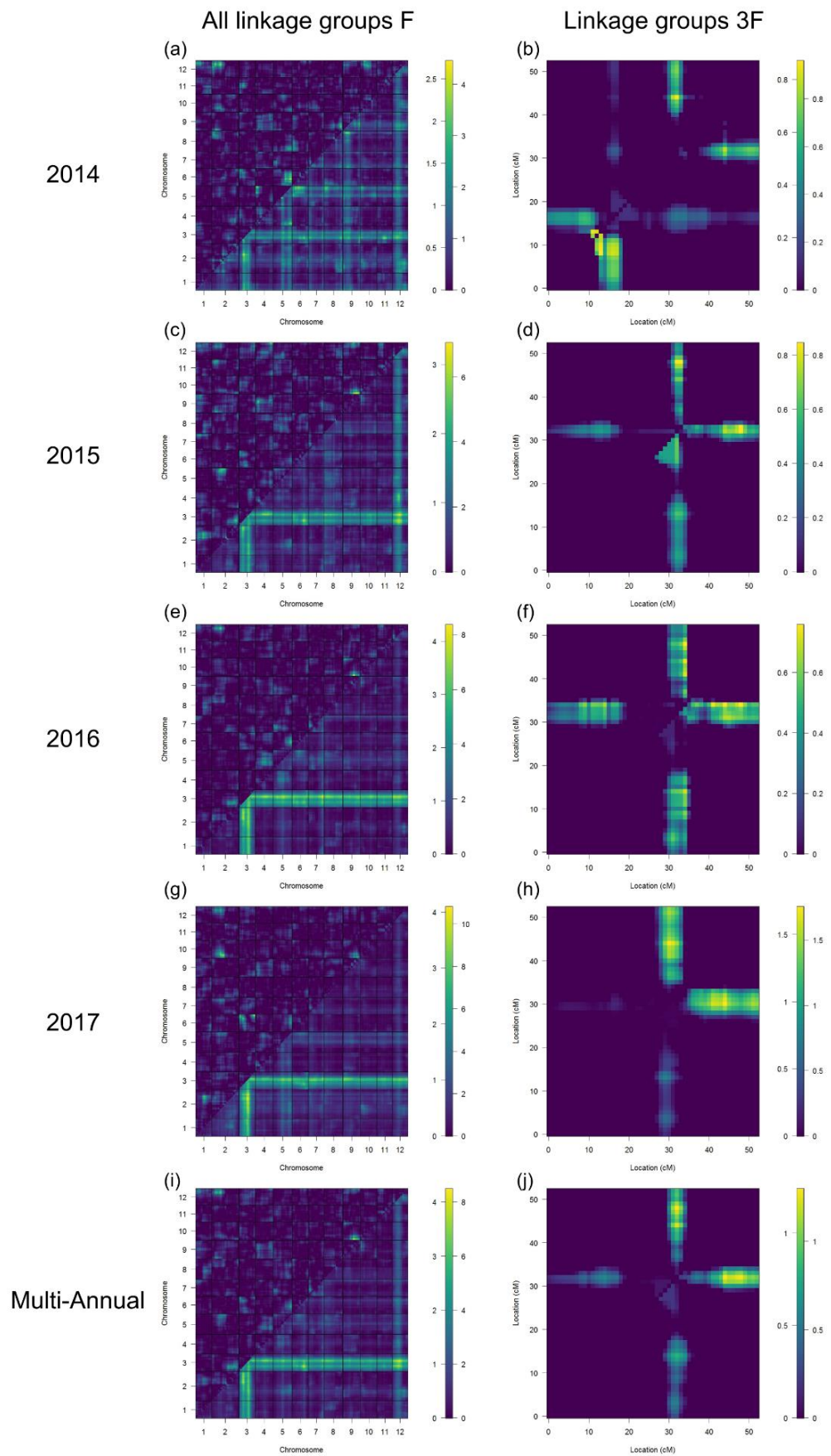
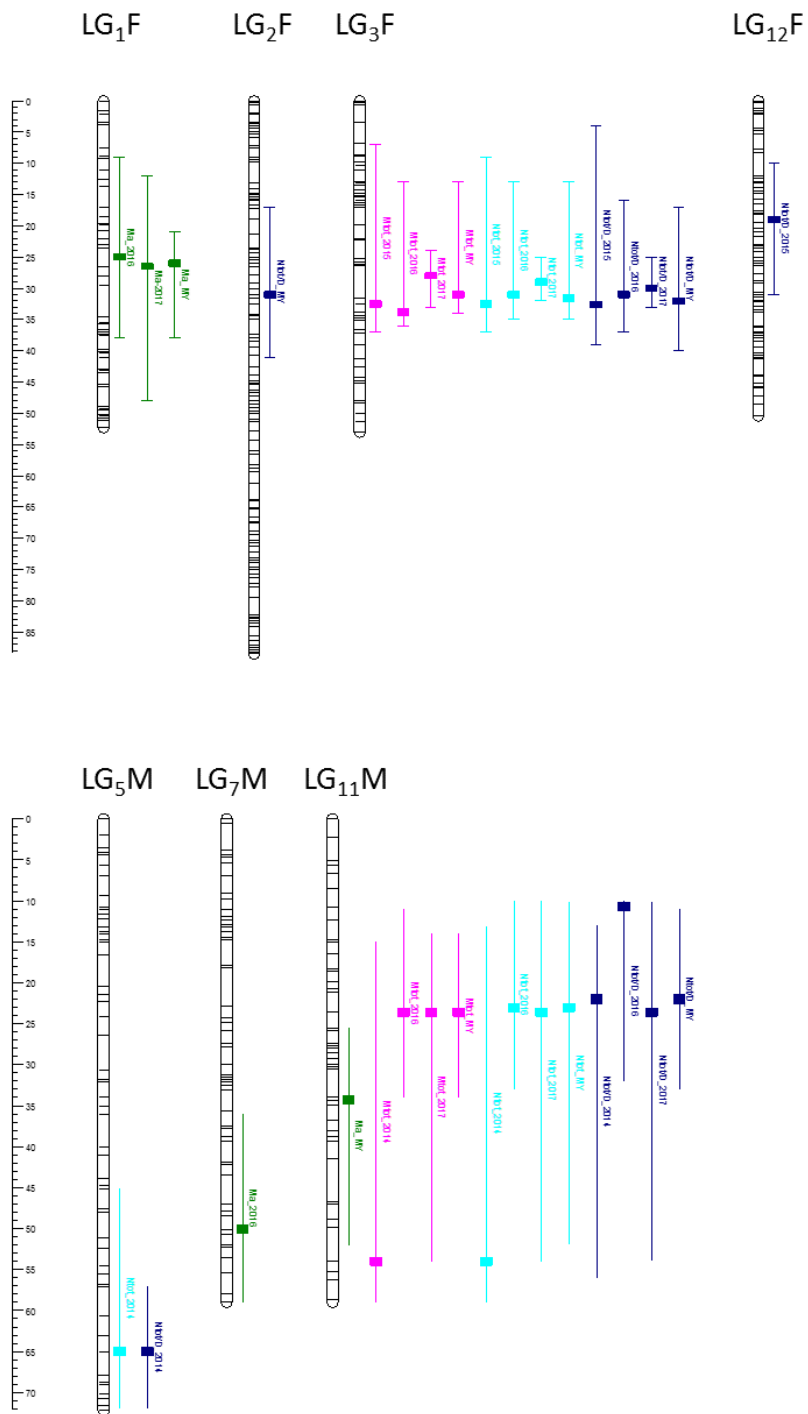


Figure S4:



Discussion

Les objectifs principaux de ces travaux de thèse étaient de quantifier d'une part la variabilité phénotypique des caractères liés à la reproduction et d'autre part de caractériser les déterminismes environnementaux et génétiques de ces traits. L'approche de génétique quantitative utilisée est relativement classique avec des monitorings *in situ* le long de gradients environnementaux et de tests de provenances et l'originalité de cette thèse réside dans l'étude des traits de reproduction très représentatifs de la valeur sélective mais encore peu ou pas étudiés chez les arbres forestiers.

Nous avons pu mettre en évidence une augmentation de la production fructifère des chênes sessile et pédonculés au cours de la dernière décennie, en réponse à une augmentation des températures printanières. Ces patrons suggèrent une augmentation de la valeur sélective des individus, favorable au maintien des populations de chêne dans leurs environnements. Cependant, de manière comparable à la croissance, la reproduction des chênes tempérés semble être favorisée par le réchauffement à condition que la disponibilité en eau ne soit pas limitante (Saxe et al., 2001; Scharnweber et al., 2011). Par ailleurs, il est actuellement difficile d'estimer et de prédire l'impact du changement climatique sur la fluctuation temporelle de ces épisodes de glandées (masting des chênes). Des fructifications plus importantes mais plus régulières d'une année sur l'autre pourraient diminuer l'avantage évolutif que le masting procure à l'échelle de la population.

Pour expliquer la variabilité phénotypique de la reproduction observée le long des gradients environnementaux, nous avons étudiés les déterminismes de ces traits et montré une différenciation génétique inter-populationnelles. Toutefois, de façon surprenante, nous avons observé une opposition entre les clines génétiques et phénotypiques pour tous les traits de reproduction étudiés. Ce patron constitué de clines de signe opposé est nommé « contre-gradient ». Ce contre gradient se caractérise ici par une plasticité phénotypique des traits de reproduction allant dans le sens opposé de la sélection naturelle. A haute altitude la sélection génétique a favorisé les arbres les plus féconds, mais cette supériorité n'est pas visible *in situ* puisque les conditions environnementales ne permettent pas l'expression d'une forte fécondité. On peut s'interroger si la sélection pour une plus forte fécondité ne s'est pas faite au prix d'un coût sur la croissance végétative (trade-off), puisque en jardin commun les arbres de haute altitude sont aussi les moins vigoureux (variation de type co-gradient pour la croissance en hauteur). A l'inverse à basse latitude, la sélection a favorisé les arbres les plus vigoureux mais aussi les moins féconds. L'interprétation évolutive pourrait être que la sélection a favorisé les

meilleurs compétiteurs pour la lumière à basse latitude, et que la chute de la fécondité soit liée au trade-off croissance-reproduction.

Les clines génétiques des traits de reproduction observés le long du gradient altitudinal, montrent que les traits favorisant la reproduction des arbres ont été sélectionnés avec l'altitude. Ceci est en cohérence avec les fortes héritabilités estimées pour la production de graines (0.13 à 0.70) et pour la masse moyenne d'une graine (0.06 à 0.46), suggérant que ces traits peuvent être soumis à la sélection en réponse à des changements environnementaux. Les corrélations génétiques entre années pour un même sont très significatives, ces résultats supposent donc que, malgré une forte variabilité interannuelle, l'effet génétique sur la reproduction est très conservé entre les années. De plus, pour la première fois chez les arbres forestiers, nous avons pu identifier des régions du génome associées à la reproduction du chêne et répétées entre les années. Nous avons pu montrer l'absence de co-localisation génétique entre la croissance et la reproduction, ce qui suggère que le compromis mécanistique souvent considéré entre les deux traits est probablement dû à d'autres facteurs comme le suggéraient Knops et al.(2007). Dans cette discussion conclusive, nous allons tout d'abord placer nos observations et résultats dans le cadre plus général des connaissances disponibles sur la reproduction des chênes et notamment en considérant le phénomène de « masting ». En second lieu nous reviendrons sur les implications plus écologiques et évolutives de nos propres résultats.

1. Sensibilité de la reproduction des chênes aux variables climatiques

1.1. Différentes réponses selon les biomes

Déterminer la sensibilité de la reproduction aux changements environnementaux peut représenter des difficultés en partie dues notamment à l'effet du masting de certaines espèces. En effet, la majorité des études sont basées sur des observations d'une seule population ou bien sur un faible nombre de populations proches géographiquement, et ne permet donc pas d'observer une sensibilité claire de la reproduction aux variations climatiques (Crone and Rapp, 2014). On observe par ailleurs des résultats contradictoires pour des espèces semblables (voir études sur les *Dipterocarpaceae* Ashton et al., 1988; Hamann Andreas, 2004; Sakai Shoko et al., 2006). La force de notre étude était donc de pouvoir estimer la sensibilité de la production fruitière au cours du temps sur plusieurs populations indépendantes les unes des autres et réparties sur une large échelle géographique. Grâce au dispositif mis en place par l'ONF en 1994, nous avons pu mettre en évidence une augmentation de la production de graines des

chênes sur une période de 14 années. Des patrons temporels de la production de graines ont très peu été relatés dans la littérature, on retrouve toutefois des patrons similaires pour *Pinus engelmannii* (Buechling et al., 2016) et *Nothofagus solandri* (Richardson et al., 2005). De plus, à ce jour une grande partie des travaux sur la reproduction des arbres a porté sur des espèces situées en milieux méditerranéens. Cette littérature très dense sur les chênes américains du sud-ouest des Etats-Unis ainsi que sur les chênes du sud de l'Europe (Koenig et al., 2013) montre, contrairement à nos résultats, que la reproduction des chênes méditerranéens est affectée négativement par un réchauffement du climat (Cecich and Sullivan, 1999; Fernández-Martínez et al., 2012), en réponse sans doute au facteur limitant que constitue la disponibilité en eau pour la reproduction en région méditerranéenne (Pérez-Ramos et al., 2010; Sanchez-Humanes and Espelta, 2011). Nos résultats suggèrent que la température a et pourrait avoir un effet positif sur la production de graines tant que la disponibilité en eau n'est pas limitante en zone tempérée. Cependant, il est actuellement difficile de déterminer l'effet du changement climatique sur l'intensité du masting. Alors que l'augmentation des températures du printemps favorisera la production de graines, il est possible que les fréquences des événements de forte production de graines augmentent, ce qui baisserait l'intensité du masting. En adéquation avec cette hypothèse, Övergaard (2010) a pu observer au cours de 30 années de mesures sur le hêtre commun en Suède une augmentation de la fréquence des pics de production de graines directement associée à une augmentation de la température. Toutefois, l'observation de tels changements sur le long terme est rare, c'est pourquoi de nombreux travaux cherchent à étudier et modéliser les causes proximales du masting dans le but de mieux prédire les variations de ce phénomène en réponse à des environnements changeants (Vacchiano et al. 2018). De manière plus globale, les modèles du masting pourraient être intégrés dans des modèles de dynamique forestière plus larges permettant de prédire l'impact des fructifications sur ces écosystèmes. Toutefois, comme le souligne Vacchiano et al. (2018) certains processus pouvant jouer un rôle sur le masting (régulation hormonale et génétique, processus éco-physiologique d'allocation des ressources) restent encore à définir.

1.2. La pollinisation des arbres, un processus déterminant pour expliquer la production de graines

A partir de notre étude nous avons pu mettre en évidence que la période printanière était déterminante dans la production de graines des chênes tempérés. Une augmentation de 1°C en Avril et Mai augmente en moyenne la production de 112 et 73 g.m⁻² pour les chênes sessile et pédonculé, respectivement. Dans le cas de ces deux espèces, les mois d'Avril et Mai

correspondent à la période de floraison et de pollinisation des arbres (Pesson and Louveaux, 1984 et observations personnelles dans les Pyrénées et dans les dispositifs expérimentaux de Toulenne et de Bourran). La limitation en pollen a été très étudiée chez les plantes entomogames, pour lesquelles elle joue un rôle majeur sur la production de graines (Wilcock and Neiland, 2002). Toutefois, elle reste largement débattue chez les espèces anémogames, notamment parce qu'une quantité relative de pollen peut être détectée tous les ans (Clot, 2003; Spieksma et al., 2003), parce que la pollinisation peut être efficace même avec une faible quantité de pollen (Friedman and Barrett, 2009) et parce que les expériences menées sur des dispositifs de pollinisation contrôlée mènent à des résultats contradictoires (Crone and Lesica, 2006; Pearse et al., 2015; Tamura and Hiura, 1998). Afin d'expliquer les dynamiques de production fruitière et donc le masting des arbres, plusieurs hypothèses prennent en compte ces processus de pollinisation. Il est important ici de faire la distinction avec nos résultats ; dans le cas de notre étude nous n'avons pas cherché à expliquer les phénomènes du masting mais à mettre en avant la sensibilité de la reproduction à des fluctuations climatiques sur de larges échelles de temps et d'espace. Dans le cas des recherches sur le masting, la plupart des études cherchent plutôt à déterminer et expliquer les causes proximales de ce phénomène. Ainsi, deux hypothèses majeures prenant en compte la pollinisation s'opposent actuellement pour expliquer le masting. La première hypothèse se base sur des modèles théoriques avec lesquels on a pu montrer l'importance de la limitation du pollen dans le processus de masting, : il s'agit de l'hypothèse de « pollen coupling » (Satake and Iwasa, 2000, 2002; Venner et al., 2016). Ces travaux se basent sur l'utilisation de « Resource Budget Models » (RBMs) imaginés par Isagi et al., (1997), considérant que la dynamique d'allocation des ressources dans l'arbre détermine le nombre de fleurs et de fruits produits. Ainsi, le postulat du « pollen coupling » implique deux conditions : (i) un épuisement des réserves de l'arbre allouées à la reproduction après une année de forte production et (ii) une disponibilité en pollen limitée au cours de certaines années. Lorsqu'on prend en considération ces deux paramètres, il est possible de modéliser les dynamiques de fructification de masting, sans prendre en compte les variations du climat. Le processus d'épuisement des ressources peut être observé lorsque l'on compare les fructifications d'un même arbre sur deux années à la suite. La figure 1 représente la production de glands de l'année n en fonction de l'année n-1 pour chacun des chênes pyrénéens suivis au cours de cette thèse. On note ainsi qu'aucun des arbres suivis le long du gradient altitudinal ne produit beaucoup de glands deux années de suite. Ces résultats suggèrent un rôle important de l'épuisement des réserves de l'arbre d'une année à l'autre et mettent en avant l'importance de prendre en compte la dynamique des ressources lorsque l'on cherche à prédire le masting des

arbres. Toutefois ils ne permettent pas d'expliquer totalement la synchronie et le caractère imprévisible des pics de forte production fruitière propre au masting. Ainsi, la deuxième hypothèse, connue sous le nom de « pollination Moran effect », considère que les conditions météorologiques agissent en tant que signal, pouvant induire ou non une forte production de graines, en ayant un impact direct sur la période de floraison et de pollinisation (Koenig, 2002; Pearse et al., 2016). Ces études sont essentiellement basées sur des données empiriques de fructification et de pollinisation et mettent en avant des corrélations entre variables climatiques, production de pollen et production de graines (Fuhrmann et al., 2016; García-Mozo et al., 2012; Kasprzyk et al., 2014).

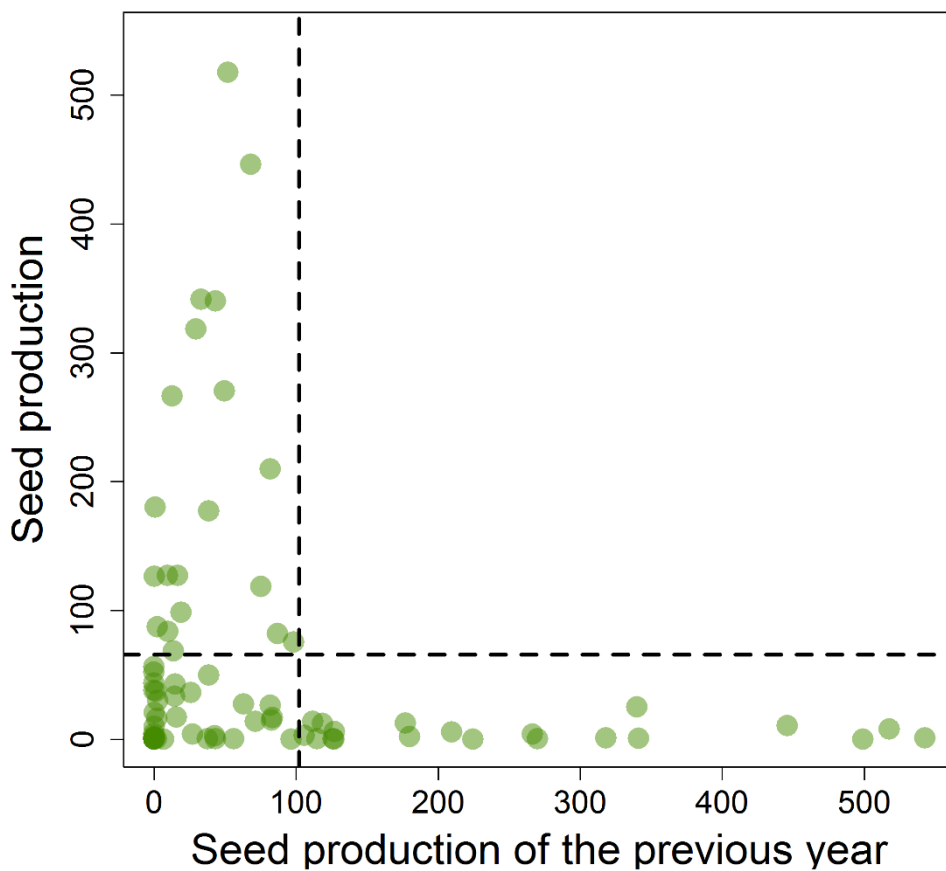


Figure 1: Production de glands par m^2 de chacun des arbres de l'année en fonction de la production de l'année précédente. Les arbres ont été suivis de 2012 à 2016. Les lignes en pointillés représentent les valeurs du 3^{ème} quartile de chacune des variables : production de l'année actuelle (ligne horizontale) et production de l'année précédente (ligne verticale).

Afin d'expliquer le masting des arbres, des travaux récents ont considéré la combinaison des deux approches de « Pollination Moran effect » et de « pollen coupling » afin de prédire la variabilité des productions annuelles de graines. Schermer et al. (*en révision*) ont ainsi pu montrer que la production de pollen des chênes tempérés européens était très fluctuante d'une année sur l'autre et très similaire au patron observé pour la production de glands. Cette étude révèle également un rôle très important des conditions météorologiques printanières (température, précipitations et vitesse du vent au mois d'Avril) sur la production et la dispersion du pollen. On observe ainsi que les printemps secs et chauds favorisent la production et la dispersion du pollen, impactant positivement la production de graines (Figure 2). Au contraire, de fortes précipitations au cours du printemps accompagnées de températures froides peuvent avoir un effet négatif sur la disponibilité du pollen et le rendre limitant. Ces résultats corroborent nos résultats et confirment le rôle primordial des températures printanières. Enfin, un autre paramètre déterminant dans la fructification des arbres est la synchronisation de la phénologie florale (Koenig et al. 2015). Une forte production de pollen peut être limitante dans le cas où la production des arbres n'est pas synchronisée. Récemment Bogdziewicz et al., (2017) ont pu montrer que la durée de la période de pollinisation chez le hêtre et les chênes avait un impact sur la fructification, une période de production de pollen à la fois courte et synchronisée entre

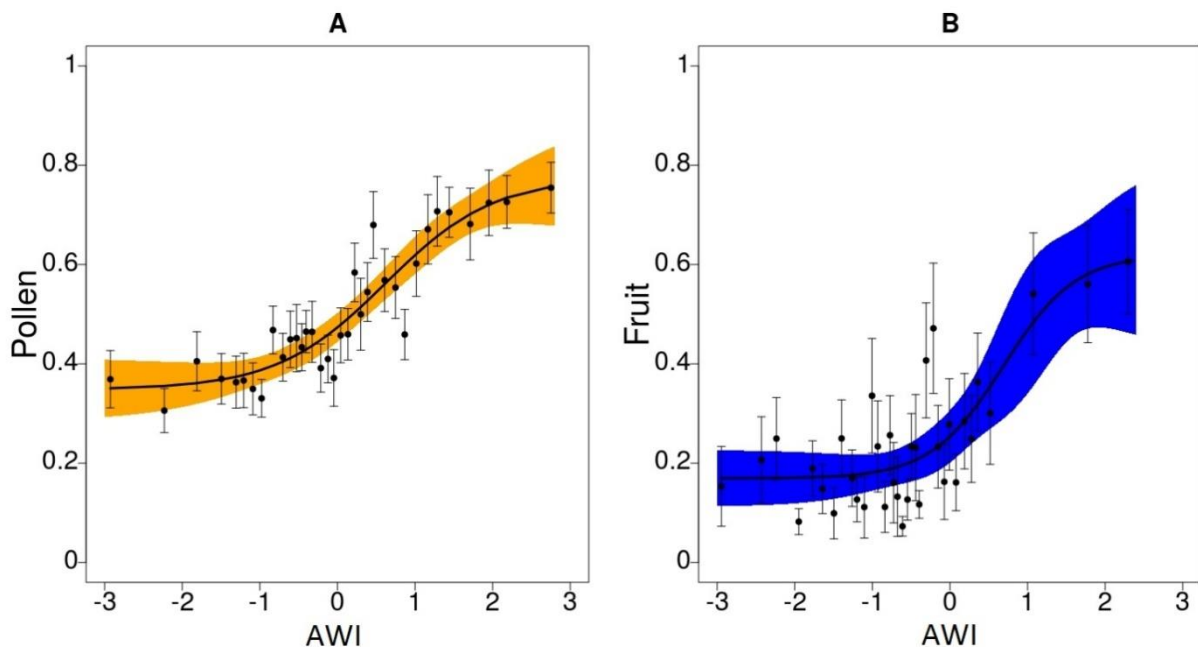


Figure 2: Augmentation suivant une fonction logistique de la production de pollens (a) et de fruits (b) en fonction de l'indice météorologique du mois d'Avril (AWI) correspondant à la co-variation entre une augmentation des températures et une diminution des précipitations et de la vitesse du vent. Les zones en orange et bleu correspondent à l'intervalle de confiance de 95% du modèle. (Figure tirée de Schermer et al. *En révision*)

les arbres favorisant les larges productions fruitières. En combinant les deux approches considérant le processus de pollinisation comme l'ont fait Schermer et al. et en considérant la phénologie des arbres il sera possible de calibrer les modèles afin de mieux prédire la production de graines.

Nous avons pu observer à la fois l'impact positif des températures sur la production de graines en milieu tempéré et l'importance de prendre en compte à la fois la dynamique des ressources dans l'arbre et les conditions météorologiques limitantes pour la pollinisation (fortes précipitations, faibles températures) afin de modéliser le masting. En milieu méditerranéen, la baisse de la production de graines avec la température et la sécheresse semble être expliquée par le processus de production de pollen. Des résultats récents sur le chêne vert (*Quercus ilex*) ont pu montrer, à partir d'un milieu contrôlé, que les arbres ayant subi une sécheresse ont un taux de viabilité du pollen inférieur de 35 % par rapport aux arbres n'ayant pas subi de stress hydrique (Bykova et al., 2018.). Par conséquent la période de pollinisation est déterminante dans la reproduction des arbres forestiers. Pour aller plus loin dans la compréhension de la sensibilité des arbres aux changements environnementaux, il sera également nécessaire de prendre en compte la phénologie de la floraison (Koenig et al. 2015). La phénologie de la floraison étant sensible au climat, sa variabilité en réponse à des changements environnementaux peut avoir un impact sur la reproduction (Sherry et al., 2007)

2. Capacités adaptatives des chênes tempérés européens

2.1. Diversité génétique et plasticité phénotypique.

Force est de constater que le nombre d'études sur les traits de reproduction et leur variabilité n'a cessé d'augmenter au cours des dernières années. Toutefois, peu d'études se sont intéressées aux déterminismes génétiques et environnementaux de la reproduction afin de mieux prédire les capacités d'adaptation des espèces dans le contexte plus général de milieu changeant.

Nos résultats ont mis en évidence une grande variabilité de la reproduction des chênes en réponse aux variations de température. Nous nous sommes par la suite attachés à étudier les déterminismes génétiques et environnementaux contribuant à cette variabilité. Le long d'un gradient altitudinal dans les Pyrénées, nous avons pu mettre en évidence une différenciation génétique entre les populations pour la production des graines et la masse moyenne des graines. Les valeurs élevées des Q_{ST} calculés, de l'ordre 0.34 pour la production de graines et 0.27 pour la taille des graines, confirment également la forte différenciation génétique entre les

populations. De plus, les valeurs de Q_{ST} étant supérieures aux F_{ST} , on suppose ici que les clines génétiques observés le long du gradient altitudinal sont dus à une forte sélection divergente des traits de reproduction en réponse aux différences de température induites par l'altitude. A partir du croisement contrôlé de chênes pédonculés situés à Bourran nous avons pu montrer qu'au sein d'une parcelle de pleins frères les traits de reproduction étaient très variables d'un individu à l'autre avec un fort effet du génotype de l'arbre (clone). Ainsi nous avons estimé des valeurs d'héritabilité et d'évolvabilité élevées pour la production de graines et plus modérées pour la taille des graines. Ainsi, les fortes valeurs d'héritabilité et d'évolvabilité estimées pour le chêne pédonculé permettraient d'expliquer les réponses à la sélection divergente observée le long du gradient pour le chêne sessile. Ces résultats sont similaires aux observations faites sur les traits de phénologie foliaire sur les populations du même gradient altitudinal (Alberto et al., 2011; Firmat et al., 2017). Cependant, contrairement à la phénologie foliaire, le cline génétique des traits de reproduction que nous observons est de signe opposé au cline phénotypique. Comme nous l'avons déjà évoqué au cours de cette thèse, cette opposition de cline est communément appelé contre-gradient.

La différence de signes entre les deux clines permet de mettre en avant le fort déterminisme environnemental exercé sur la reproduction le long du gradient altitudinal. En effet, alors que le cline génétique est négatif avec la température, la variabilité phénotypique observée varie positivement avec l'augmentation de température. Par conséquent, ces résultats suggèrent que les arbres *in situ* présentent une forte plasticité phénotypique exprimée à la fois par l'effet de l'environnement et par l'interaction entre le génotype et l'environnement. Dans le cas de notre étude, la plasticité a un ordre de grandeur supérieur aux variations génétiques et explique le fort cline phénotypique observé *in situ*. Il est intéressant d'observer ici que la sélection que nous avons pu mettre en évidence précédemment se fait en opposition au phénotype exprimé. D'un premier abord, le contre gradient observé pour la reproduction le long du gradient semble exprimer une sélection maladaptative. Toutefois, comme le suggère Conover et al. (2009), il est possible d'interpréter le contre gradient comme étant une adaptation locale qui permet de contrecarrer les conditions environnementales. Ainsi, dans le cadre de notre étude, les populations soumises à des stress plus élevés, causés notamment par les faibles températures de hautes altitudes, sont capables d'investir plus dans la reproduction afin de pouvoir assurer le maintien de la population, ce qui pourrait être considéré comme de la compensation génétique (Grether 2005).

2.2. Compromis entre traits d'histoire de vie

Ce contre-gradient pour la reproduction est-il atypique par rapport à d'autres traits d'histoire de vie tels que la croissance ou la phénologie ? Contrairement à la reproduction, la phénologie des chênes présente un co-gradient, c'est-à-dire que les clines observés *in situ* (débourrement plus tardif et senescence plus précoce avec l'altitude) sont de même signe que les clines génétiques. Un co-gradient similaire est également observé pour les traits de croissance. De même que pour la reproduction, en réponse à une augmentation de température *in situ*, la croissance augmente. Toutefois, lorsque l'on compare les arbres en jardin commun, on observe que les individus provenant de hautes altitudes sont de taille inférieure aux individus provenant de basses altitudes mais produisent plus de graines et des graines de plus grosse taille que les arbres de basse altitude. En biologie évolutive, on distingue généralement deux types de compromis, un compromis fonctionnel basé sur les valeurs phénotypiques, c'est le cas par exemple du compromis entre la taille et le nombre d'œufs que l'on peut observer chez certaines espèces d'insectes (Tully and Ferrière, 2008) ou d'oiseaux (Christians, 2000) et un compromis génétique pour lequel l'effet environnemental est exclu et qui peut permettre d'expliquer ou non le compromis phénotypique.

Compromis phénotypique

Les compromis phénotypiques sont généralement dus à l'environnement et à la disponibilité en ressources ; si les ressources sont limitantes, nous allons alors observer un compromis entre deux traits d'histoire de vie. Toutefois, un compromis basé sur les ressources à l'échelle d'un individu n'est pas toujours observé si les processus mécanistiques de ces deux traits ne puisent pas dans les mêmes réserves (Flint et al., 1996; van Noordwijk and de Jong, 1986). Pour les arbres forestiers, le compromis mécanistique entre croissance et reproduction fait encore figure de débat. Plusieurs études ont pu montrer une corrélation négative entre la croissance et la reproduction, montrant que, les années de forte production fruitière, la croissance de l'arbre était faible et inversement (Camarero et al., 2010; Drobyshev et al., 2010; Ishihara and Kikuzawa, 2009; Koenig and Knops, 1998; Monks and Kelly, 2006; Silvertown and Dodd, 1999). Toutefois, comme l'ont souligné Knops et al., (2007) la relation de causalité entre croissance et reproduction peut être discutée. Des événements météorologiques, tels que des fortes précipitations pendant la période de pollinisation, peuvent impacter négativement la reproduction mais impacter positivement la croissance des arbres. De plus, la croissance et la reproduction semblent utiliser des ressources différentes : alors que les ressources carbonées font figure de ressources limitantes pour la croissance, l'arbre semble épuiser des ressources

phosphorées et azotées pendant la maturation des graines (Allen et al., 2017; Sala et al., 2012). Ainsi, la relation négative entre croissance et reproduction ne serait pas due à un compromis d'allocation des ressources mais plutôt à un effet des conditions abiotiques qui, lorsqu'elles impactent positivement un trait, impactent négativement l'autre (Knops et al., 2007). Dans le cadre de notre étude, l'observation de cline phénotypique (*in situ*) similaire suggère que la croissance et la reproduction répondent positivement à des températures plus élevées. Toutefois ces résultats ne présentent pas de compromis mécanistiques entre les arbres à l'échelle individuelle. Pour observer un tel effet il aurait fallu comparer la croissance annuelle de chacun des arbres suivis pour la reproduction.

Compromis génétique

La différence de cline génétique observé en test de provenance entre la croissance et la reproduction pourrait suggérer que, malgré des clines phénotypique de mêmes signes, il pourrait y avoir chez le chêne un compromis génétique entre ces deux traits. Le compromis génétique peut être expliqué soit par l'effet pléiotropie de gènes affectant à la fois la croissance et la survie, soit par des associations statistiques (dus à un déséquilibre de liaison génétique) dans la population entre différents gènes affectant l'un ou l'autre trait. Les études menées sur le croisement contrôlé de Bourran et présentées dans le chapitre 3 ont pu mettre en avant l'absence de co-localisation entre les QTLs de croissance et de reproduction ou de QTL très proches qui pourraient sous tendre une liaison génétique. A partir de résultats préliminaires, non présentés ici, nous avons également pu observer une absence de corrélation sur les valeurs génétiques (BLUPs) de ces deux traits, au niveau individuel (ou intra population). Cependant, dans le cas des études sur le gradient altitudinal, le compromis génétique probable se situe, non pas au niveau individuel, mais au niveau population et peut être le résultat d'une histoire évolutive particulière concrétisée par les clines génétiques observés pour la croissance et la reproduction. On suppose ici que, le long du gradient altitudinal, des associations statistiques entre les allèles des gènes de croissance au niveau populationnel ne sont pas dues à des effets mécanistiques de types pléiotropie ou liaison génétique, mais résultent de pressions sélectives différentes sur les deux caractères. Ainsi à haute altitude, les gènes favorisant la reproduction sont sous sélection tandis que les gènes favorisant la croissance sont relativement plus neutres, l'inverse étant observé à basse altitude. On retrouve ainsi une corrélation génétique négative, sans que les fonctions soient structurellement antagonistes. Cependant, on peut s'interroger sur les raisons d'une sélection pour une meilleure reproduction en haute altitude et pour une meilleure croissance à basse altitude. Nous faisons l'hypothèse ici, qu'à basse altitude, la compétition

entre les arbres est plus élevée (Alexander et al., 2015; Kunstler et al., 2011), ce qui expliquerait que les arbres investissent plus dans la croissance que dans la reproduction. A l'inverse, les populations de hautes altitudes sont soumises à une compétition plus faible mais sont plus exposées aux risques d'extinction dus aux facteurs extrêmes. Une sélection pour une plus forte fécondité permet d'assurer une meilleure maintien de la population (Marchand and Roach, 1980).

3. Vers une meilleure estimation de la fitness des arbres

Dans un schéma darwinien, sélectionniste, les traits favorisant la fitness des organismes sont sélectionnés en réponse aux pressions environnementales. Afin d'estimer les capacités d'adaptation des organismes, on étudie les variabilités phénotypiques et génétiques de ces traits. Chez les arbres forestiers les traits de croissance et de survie ont souvent été étudiés (Conkle, 1973; Namkoong and Conkle, 1976). En parallèle, des traits fonctionnels indirectement liés à la fitness, tels que la phénologie foliaire et florale (Kramer, 1995; Sáenz-Romero et al., 2016; Vitasse et al., 2009), la résistance au gel (Charrier et al., 2011; Lenz et al., 2013) et à la sécheresse (Lamy et al., 2014; Larter et al., 2017; Wortemann et al., 2011) ainsi que des traits morphologiques et physiologiques (Bresson et al., 2011; Oleksyn et al., 1998) ont largement été étudiés et considérés comme des proxis plus au moins proches de la fitness. Bien que l'ensemble de ces traits aient un impact direct ou indirect sur la fitness des arbres, aucun ne caractérise la composante reproductive de la fitness. Comme nous l'avons déjà montré précédemment, l'étude des déterminismes génétiques et environnementaux de la production de graines, de la taille des graines ou de l'âge à maturité des arbres, représente une avancée dans l'étude des processus adaptatifs des arbres forestiers. Cependant, afin de mieux caractériser la fitness des arbres, d'autres traits caractéristiques de la reproduction devront également être étudiés.

3.1. Autres traits caractéristiques de la reproduction des arbres

La phénologie de la floraison est un facteur majeur pouvant impacter la production de graines (Bogdziewicz et al., 2017; Koenig et al., 2015). La synchronisation de la période de pollinisation entre les arbres est essentielle afin d'éviter la limitation du pollen et d'assurer le flux de gènes entre les arbres (Bogdziewicz et al., 2017; Chuine et al., 2000; Smith et al., 1990). De même que la phénologie foliaire, la phénologie de la floraison est très sensible aux variations climatiques (Morin et al., 2007; Sherry et al., 2007). Par conséquent les variations de la phénologie florale ont un rôle important dans les processus adaptatifs des arbres aux changements environnementaux. Enfin, la phénologie de la fructification, encore très peu étudiée, peut également avoir un impact sur la fitness des arbres car une maturation trop tardive des graines pourrait entraîner des chutes trop précoces, en réponse à des stress hydriques

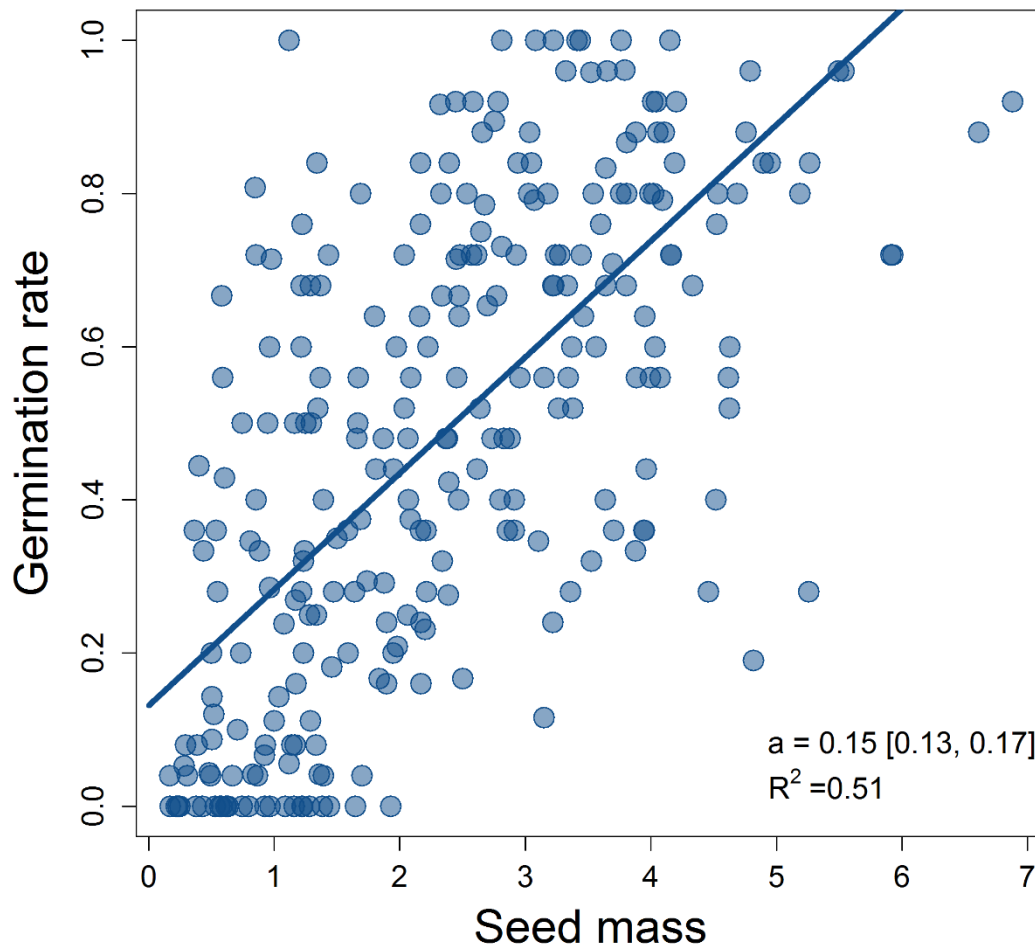


Figure 3: Corrélation entre le taux de germination et la masse moyenne d'une graine. Le coefficient de détermination, la valeur de la pente et son intervalle de confiance sont représentés

pendant l'été, ou à des gels précoces en automne. Ce raisonnement pose plusieurs questions ; il interroge notamment sur l'impact des dates de floraison sur la période de maturation des graines, associé à la date de chute et implicitement à la vitesse de maturation.

La production de graines est le résultat du nombre de fleurs femelles produites, fécondées et non avortées. Par l'étude de la production de graines nous ne prenons donc pas en compte le nombre de fleurs mâles, ni le nombre total de fleurs femelles produites. Ainsi, la production de fleurs d'un individu peut être très élevée, mais, à cause de conditions abiotiques défavorables, le nombre de graines mesurées après leur chute n'est pas représentatif du coût d'investissement dans la floraison. La prise en compte de la production de fleurs en plus de la production de graines permettrait d'avoir une meilleure estimation de l'effort de reproduction total des arbres pour la reproduction (Pearse et al., 2015; Stephenson, 1981).

Plusieurs travaux ont montré que la taille et la masse des graines avaient une influence sur le taux de germination et la survie des jeunes plantules (Aizen and Woodcock, 1996; Bonal et al., 2007; Gil and Aranda, 2009; Gómez, 2004). Nous avons donc pris en compte ces observations en considérant la taille des graines comme une composante de la fitness des arbres. Le taux de germination des graines permet cependant de donner une meilleure estimation de leur viabilité et ainsi du nombre de descendants produits par un individu. Afin d'observer l'effet de la taille des graines, nous avons réalisé des relevés de germination sur les glands en provenance des Pyrénées. Nous avons testé la corrélation entre la masse moyenne d'une graine et le taux de germination. On peut observer en figure 3 une augmentation significative de 15% du taux de germination par gramme de graines. Ces résultats nous permettent de confirmer l'effet positif de la masse moyenne d'un gland sur le taux de germination.

3.2. Les limites de la production de graines en tant qu'estimateur de la fitness

Au cours de ces travaux de thèse nous avons considéré la production de graines comme étant une composante importante de la fitness des arbres, toutefois on peut se demander si ce trait est toujours représentatif de leurs succès reproducteur efficace. En effet, selon la période de reproduction considérée (floraison, fructification, germination ou jeunes descendants) la variation observée du succès reproducteur peut potentiellement être variable. Par exemple, comme nous l'avons évoqué précédemment, la production florale n'est pas toujours représentative de la production de graines et ce schéma s'applique également entre la production de graines et le nombre de descendants ayant survécu après quelques années. Peu d'études évoquent la disparité qu'il peut y avoir entre le nombre de graines produites par l'arbre

et le nombre de descendants encore en vie à l'année $n+1$. Moran and Clark (2012) ont étudié la reproduction de plusieurs espèces de chênes (*Quercus rubra*, *Q. velutina*, *Q. falcata* et *Q. cocinea*) et ont pu montrer *in situ* que 2 à 20 % des graines produites devenaient des jeunes pousses au bout d'un an. Malgré un pourcentage de survie des descendants plus faible pour les individus ayant produit beaucoup de graines, le nombre de graines et de descendants sont corrélés positivement. Cependant, lorsque c'est possible, le succès reproducteur en tant que valeur de fitness devrait être estimé à partir du nombre de descendants d'un arbre présents après quelques années, ayant survécu à la période juvénile où le taux de sélection (en conditions de régénération naturelle) est le plus élevé. Considérant la longue durée de vie d'un arbre et la grande proportion de graines qu'il produit, il est quasiment impossible de déterminer le nombre de descendants d'un individu. Grâce aux méthodes de génétique actuelle, il est possible d'identifier les parents des jeunes arbres au sein d'une population, à partir d'analyses de parenté.

Nous avons mis en place un protocole expérimental défini dans le cadre de l'ANR MECC afin d'évaluer la survie de la descendance de deux populations de chênes sessiles à basse (131 m) et haute (1349 m) altitude. Le protocole a consisté à échantillonner et localiser de façon exhaustive les parents de chaque population sur une zone limitée, et d'échantillonner 200 descendants en dessous de leur canopée dans une zone plus restreinte. Au total, 153 et 130 arbres parents, ainsi que 200 et 199 jeunes plantules ont été échantillonnés et génotypés à basse et haute altitudes. Trois puces SNPs (W1 et W2 de 40 SNPs et W3 de 17 SNPs), déjà conçues et validées au préalable, ont été utilisées (Truffaut et al., 2017; Lepoittevin et al., 2015). Au total 97 SNPs ont donc été utilisées pour génotyper chacun des individus échantillonnés (parents et plantules). Chaque SNP a été vérifiée et validée visuellement, faisant un total de 68 SNPs après évaluation visuelle des résultats. L'analyse de parenté a été conduite sous CERVUS v3.0.7. (Marshall et al., 1998) entre les arbres adultes et les juvéniles de chacune des deux populations. CERVUS réalise des simulations pour évaluer la marge d'erreur dans l'attribution de relations de parentés entre les individus. Ainsi, nous avons défini dans la simulation une prise en compte de 1000 parents potentiels, avec une proportion de 60% d'entre eux échantillonnés et 10 000 descendants. Le nombre minimum de loci saisis par individu dans l'analyse était de 55. Une fois l'analyse de parenté conduite, seuls les résultats ne présentant pas d'erreur (mismatch) et avec un seuil de confiance à 95% ont été considérés. A partir de cette méthode nous avons donc pu définir le succès reproducteur des parents en quantifiant leur nombre de descendants vivants au stade juvénile. On observe dans un premier temps une forte disparité entre les arbres. Au total nous n'avons pas identifié de descendants pour 53 et 41 %

des arbres adultes à basse et haute altitudes. A l'inverse, on note la présence d'individus au succès reproducteur bien plus élevé que les autres, c'est le cas par exemple dans la forêt de haute altitude pour laquelle nous avons pu identifier 20 descendants pour 1 seul parent. Ces résultats nous permettent de bien déterminer la variation du succès reproducteur des individus, toutefois il n'est pas possible de dissocier le parent père et le parent mère d'un descendant. Afin de prendre en compte cette distinction, Klein et al. (2011) ont mis en place des méthodes statistiques basées sur des inférences bayésiennes permettant de considérer l'effet spatial et la dispersion du pollen et des graines en plus de l'apparentement des individus. A partir de cette méthode, ils définissent deux indices estimant le succès reproducteur des arbres : un indice de fécondité mâle et femelle proche du succès reproducteur de l'arbre.

3.3. Estimation du gradient de sélection à partir de la fitness des arbres

Grâce à des estimations aussi fines du succès reproducteur des arbres et donc de leur fitness, il est possible d'estimer le gradient de sélection d'une population. En génétique quantitative, le gradient de sélection d'un caractère phénotypique représente le coefficient de régression de la fitness sur sa valeur phénotypique. Le gradient de sélection nommé β , mesure donc l'intensité et le sens de la sélection sur chaque caractère phénotypique. Grâce à l'estimation du succès reproducteur réalisée à partir de l'analyse de parenté, nous avons estimé le gradient de sélection de la phénologie foliaire et de la période de croissance végétative des populations de chênes sessile de haute et basse altitudes. La date de débourrement a été évaluée et moyennée sur 9 années (2005-2007, 2009-2012 et 2014-2015) et la date de sénescence sur 7 années (2005-2007 et 2009-2012), la période de croissance végétative moyenne a été calculée en fonction des deux variables précédentes pour 20 et 26 arbres échantillonnés à basse altitude et haute altitude, respectivement. Nous présentons en figure 4 les résultats obtenus pour la date de débourrement des arbres (leaf unfolding), pour les populations de basse altitude (en jaune) et de haute altitude (en bleu) et pour chaque estimateur du succès reproducteur : Nombre de descendants attribués pour chaque parent avec l'analyse sur CERVUS (Seedlings), l'indice de fécondité femelle (Female fecundity) et mâle (Male fecundity) estimé à partir des méthodes de Klein et al., (2011). Nous observons dans chacun des cas des régressions linéaires de pente négative mais non significatives. On note cependant que, même si les régressions individuelles ne sont pas significatives, la pente du gradient est du même signe pour toutes les régressions et ceci dans les deux populations. Ces résultats convergents suggèrent qu'il y a sans doute une sélection directionnelle pour un débourrement plus précoce, mais que cette sélection reste faible et que notre dispositif et notre échantillonnage manquent de puissance statistique pour la

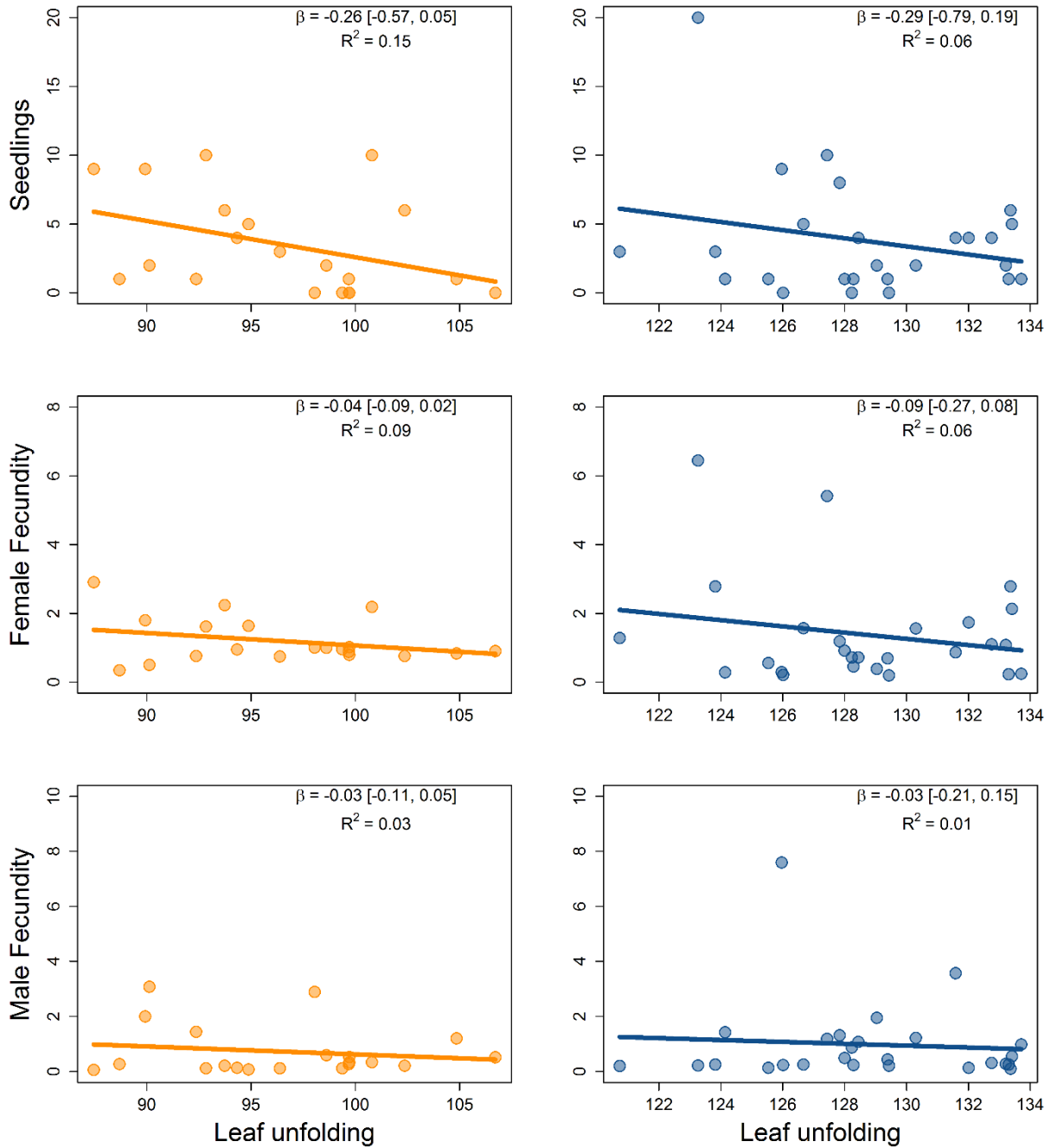


Figure 4: Représentation des gradients de sélection (β) et de leurs intervalles de confiance à 95%, de la date de débourrement des arbres de deux populations de chênes sessiles situées à 131 m (jaune) et 1349 m (bleu) d'altitude dans les Pyrénées. Les gradients de sélection ont été estimés à partir d'un modèle linéaire pour différents estimateurs de la fitness des arbres : Nombre de descendants attribués pour chaque parent avec l'analyse sur CERVUS (Seedlings), l'indice de fécondité femelle (Female Fecundity) et mâle (Male Fecundity) estimé à partir des méthodes de [Kleijn et al. \(2011\)](#). Les coefficients de détermination (R^2) sont représentés pour chacun des modèles.

détecer. Ces résultats méritent cependant d'être placés à l'avenir dans un contexte « phénotypique » plus large où la sélection s'exerce sur un phénotype global intégrant de nombreux traits phénotypiques. A terme, il faudra donc vérifier si le faible gradient de sélection

pour la phénologie résulte d'une sélection directe sur la date de débourrement végétatif ou d'une sélection indirecte via d'autres caractères (comme la phénologie de l'arrêt de croissance ou la longueur de la saison de végétation)

4. Variabilité de l'intensité du masting : impact sur la fitness des arbres

Nous nous sommes concentrés au cours de cette thèse à étudier les processus d'adaptation des chênes tempérés européens en nous focalisant sur la variabilité phénotypique et génétique de la production de graines. A l'échelle démographique, le masting des chênes est considéré dans la littérature comme étant une réponse adaptative à la pression de sélection causée par les consommateurs de glands (Silvertown, 1980; Sork, 1993). La variabilité de l'intensité du masting (c'est-à-dire l'intensité des événements de forte production de graines à la fois rares, variables entre les années et synchrones entre les arbres) peut de ce fait, avoir un impact sur la fitness des individus. La notion d'économie d'échelle associée au masting, considère que les arbres sont plus avantagés lorsqu'ils économisent leur énergie concentrée pour la reproduction (Herrera et al., 1998; Norton and Kelly, 1988). Un fort investissement (forte production fructifère) synchrone à l'échelle d'une population est plus efficace en termes de survie pour la descendance que des petites productions réparties sur plusieurs années. Cet avantage peut se concevoir de plusieurs manières, avec dans un premier temps une forte fluctuation interannuelle de la production de graines qui permet de réguler les populations de prédateurs. Les années de faibles productions de graines sont des années de faibles quantités en ressources pour les prédateurs dont la démographie de la population est faible. Ainsi, la satiété des prédateurs est atteinte rapidement pendant les années de forte production fructifère favorisant le développement et la survie des jeunes plantules (Silvertown, 1980). L'année suivante, les arbres produisent peu de graines ce qui permet de réguler les populations de prédateurs qui se sont développées après avoir bénéficié de beaucoup de ressources. De plus, la forte production de graines favorise leur dispersion par les prédateurs (Jansen et al., 2004; Vander Wall, 2002). Enfin, la synchronisation liée au masting permet, pendant la période de pollinisation, de favoriser les flux de gènes et de minimiser l'autofécondation (Koenig et al., 2015; Smith et al., 1990).

Alors que le masting est considéré comme une réponse adaptative, très peu d'études ont pu montrer la variabilité de son intensité sous l'impact du réchauffement climatique (voir la deuxième partie de ce chapitre) et encore moins d'études ont pu mettre en évidence les déterminismes génétiques de ce phénomène (Pearse et al., 2016). L'intensité du masting peut pourtant être très variable selon les populations. A partir des données de fructification du réseau RENECOFOR de l'ONF, analysées dans le premier chapitre de cette thèse, nous avons pu estimer les coefficients de variation de chacune des populations (CV) communément utilisés comme indicateur de l'intensité des fluctuations de la production de graines. On peut observer en figure 5 que les CV sont variables entre les populations, allant de 0.89 à 2.11 pour le chêne sessile (*Quercus petraea*) et de 1.11 à 2.38 pour le chêne pédonculé (*Quercus robur*). En Figure 5, nous n'observons pas de cline significatif le long du gradient latitudinal pour les deux espèces mais nous observons un cline significativement positif, d'Ouest en Est, pour le chêne pédonculé. Nous n'observons pas de patron spatial en fonction de la latitude ou de la longitude, mais la variabilité de CV entre les populations pourrait suggérer que ce trait soit quantitatif et soumis à la sélection.

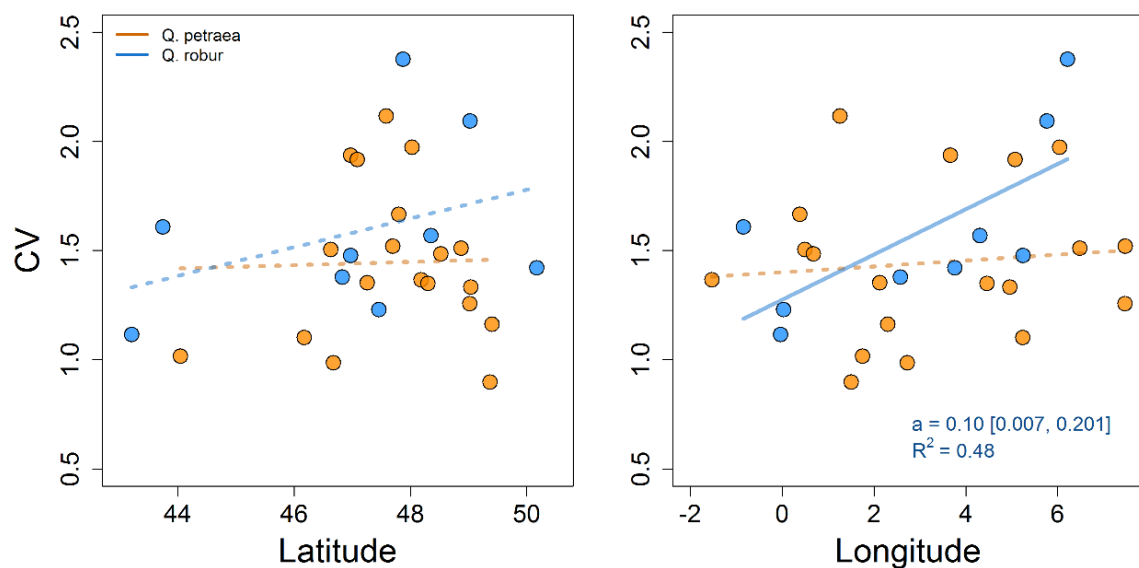


Figure 5: Coefficient de variation de la production de glands des chênes sessiles (*Quercus petraea*) et pédonculés (*Quercus robur*) le long du gradient latitudinal et longitudinal. Les clines significatifs ou non significatifs à 95% sont représentés avec des lignes pleines ou en pointillés, respectivement. Lorsque le cline est significatif, la pente (a) associée à son intervalle de confiance à 95% et le coefficient de détermination (R^2) sont représentés.

Nous avons quantifié dans le cadre du chapitre 3 de cette thèse, le coefficient de variation sur la production de graines de chacun des chênes pédonculés (CV_i) suivis au cours de ces trois dernières années et regardé sa variabilité au sein de la population. Nous observons une héritabilité au sens strict relativement élevée, de 0.30 à 0.49 selon la variance de dominance considérée. Par conséquent, la variabilité phénotypique de ce trait observé au sein du croisement contrôlé est en partie expliquée par la variabilité génétique. Ces résultats montrent pour la première fois chez une espèce forestière la variabilité génétique d'un estimateur caractéristique du masting. Ces résultats vont également dans le sens que le CV_i peut être sélectionné en réponse à des pressions environnementales. Toutefois, dans notre étude, le CV_i a été calculé sur une très courte durée, car plus d'années seraient nécessaires afin d'avoir une bonne estimation de la variabilité génétique de traits caractéristiques du masting. En parallèle nous avons cherché à identifier les QTLs associés à ce trait. Toutefois, aucune région dans le génome du chêne n'était significativement associée aux variations génétiques du CV_i . Pour les arbres fruitiers comme le pommier, des études ont pu montrer que certains QTLs expliquaient 49 et 37% de la variance génétique totale d'un trait comparable au CV_i : ' « alternate bearing ». Ils ont également pu mettre en avant que les QTLs co-localisaient avec des régions associées notamment avec l'initiation florale et les gènes codant pour la gibbérelline. L'étude des déterminismes génétiques du masting des chênes apporte donc de nouvelles perspectives, à la fois sur la capacité adaptative des traits de masting en réponse à des pressions environnementales, ainsi que sur les mécanismes sous-jacents à ce phénomène.

Conclusion et perspectives

Les résultats obtenus au cours de cette thèse apportent de nouvelles perspectives dans l'étude de la reproduction des arbres. Dans un premier temps, la forte sensibilité de la reproduction à la température révèle l'importance de prendre en compte ce trait dans les modèles démographiques. La phénologie florale ainsi que des processus de maturation et d'avortement des graines semble être des pistes prometteuses pour mieux estimer la sensibilité de la reproduction aux facteurs abiotiques. De plus, une meilleure compréhension des processus liés au masting des arbres permettrait de mieux comprendre et prédire la dynamique des écosystèmes forestiers, notamment en réponse au changement climatique. Au-delà de l'estimation de la variabilité de l'effort de reproduction des arbres, la prise en compte d'autres caractères liés à la reproduction permet d'avoir une meilleure estimation du succès reproducteur et donc de la fitness des arbres. La forte variabilité génétique que nous avons pu mettre en évidence dans les populations pour les caractères de reproduction laisse potentiellement augurer des changements évolutifs de ces caractères en réponse aux changements environnementaux.

Références

- Aizen, M.A., Woodcock, H., 1996. Effects of acorn size on seedling survival and growth in *Quercus rubra* following simulated spring freeze. *Can. J. Bot.* 74, 308–314.
- Alberto, F., Bouffier, L., Louvet, J.-M., Lamy, J.-B., Delzon, S., Kremer, A., 2011. Adaptive responses for seed and leaf phenology in natural populations of sessile oak along an altitudinal gradient: Variation of phenological traits in *Q. petraea*. *J. Evol. Biol.* 24,
- Alexander, J.M., Diez, J.M., Levine, J.M., 2015. Novel competitors shape species' responses to climate change. *Nature* 525, 515–518. <https://doi.org/10.1038/nature14952>
- Allen, R.B., Hurst, J.M., Portier, J., Richardson, S.J., 2014. Elevation-dependent responses of tree mast seeding to climate change over 45 years. *Ecol. Evol.* 4, 3525–3537.
- Allen, R.B., Millard, P., Richardson, S.J., 2017. A Resource Centric View of Climate and Mast Seeding in Trees, in: *Progress in Botany Vol. 79*, Progress in Botany. Springer, Cham,
- Ashton, P.S., Givnish, T.J., Appanah, S., 1988. Staggered Flowering in the Dipterocarpaceae: New Insights Into Floral Induction and the Evolution of Mast Fruiting in the Aseasonal Tropics. *Am. Nat.* 132, 44–66.
- Bogdziewicz, M., Szymkowiak, J., Kasprzyk, I., Grewling, Ł., Borowski, Z., Borycka, K., Kantorowicz, W., Myszkowska, D., Piotrowicz, K., Ziemianin, M., Pesendorfer, M.B., 2017. Masting in wind-pollinated trees: system-specific roles of weather and pollination dynamics in driving seed production. *Ecology* 98, 2615–2625.
- Bonal, R., Muñoz, A., Díaz, M., 2007. Satiation of predispersal seed predators: the importance of considering both plant and seed levels. *Evol. Ecol.* 21, 367–380.
- Bresson, C.C., Vitasse, Y., Kremer, A., Delzon, S., 2011. To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiol.* tpr084.
- Buechling, A., Martin, P.H., Canham, C.D., Shepperd, W.D., Battaglia, M.A., 2016. Climate drivers of seed production in *Picea engelmannii* and response to warming temperatures in the southern Rocky Mountains. *J. Ecol.* n/a-n/a.
- Bykova, O., Limousin, J.-M., Ourcival, J.-M., Chuine, I., n.d. Water deficit disrupts male gametophyte development in *Quercus ilex*. *Plant Biol.* n/a-n/a.
- Camarero, J.J., Albuixech, J., López-Lozano, R., Casterad, M.A., Montserrat-Martí, G., 2010. An increase in canopy cover leads to masting in *Quercus ilex*. *Trees* 24, 909–918.
- Cecich, R.A., Sullivan, N.H., 1999. Influence of weather at time of pollination on acorn production of *Quercus alba* and *Quercus velutina*. *Can. J. For. Res.* 29, 1817–1823.
- Charrier, G., Bonhomme, M., Lacoite, A., Améglio, T., 2011. Are budburst dates, dormancy and cold acclimation in walnut trees (*Juglans regia*) under mainly genotypic or environmental control? *Int. J. Biometeorol.* 55, 763–774.
- Christians, J.K., 2000. Trade-offs between egg size and number in waterfowl: an interspecific test of the van Noordwijk and de Jong model. *Funct. Ecol.* 14, 497–501.

- Chuine, I., Belmonte, J., Mignot, A., 2000. A modelling analysis of the genetic variation of phenology between tree populations. *J. Ecol.* 88, 561–570.
- Clot, B., 2003. Trends in airborne pollen: An overview of 21 years of data in Neuchâtel (Switzerland). *Aerobiologia* 19, 227–234.
- Conkle, M.T., 1973. Growth Data for 29 Years from the California Elevational Transect Study of Ponderosa Pine. *For. Sci.* 19, 31–39.
- Conover, D.O., Duffy, T.A., Hice, L.A., 2009. The Covariance between Genetic and Environmental Influences across Ecological Gradients. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1168,
- Crone, E.E., Lesica, P., 2006. Pollen and water limitation in *Astragalus scaphoides*, a plant that flowers in alternate years. *Oecologia* 150, 40–49.
- Crone, E.E., Rapp, J.M., 2014. Resource depletion, pollen coupling, and the ecology of mast seeding: Mechanisms of mast seeding. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1322, 21–34.
- Drobyshev, I., Övergaard, R., Saygin, I., Niklasson, M., Hickler, T., Karlsson, M., Sykes, M.T., 2010. Masting behaviour and dendrochronology of European beech (*Fagus sylvatica* L.) in southern Sweden. *For. Ecol. Manag.* 259, 2160–2171.
- Fernández-Martínez, M., Belmonte, J., Maria Espelta, J., 2012. Masting in oaks: Disentangling the effect of flowering phenology, airborne pollen load and drought. *Acta Oecologica* 43, 51–59.
- Firmat, C., Delzon, S., Louvet, J.-M., Parmentier, J., Kremer, A., 2017. Evolutionary dynamics of the leaf phenological cycle in an oak metapopulation along an elevation gradient. *J. Evol. Biol.* 30, 2116–2131.
- Flint, P.L., Grand, J.B., Sedinger, J.S., 1996. Allocation of Limited Reserves to a Clutch: A Model Explaining the Lack of a Relationship between Clutch Size and Egg Size. *The Auk* 113, 939–942.
- Friedman, J., Barrett, S.C.H., 2009. Wind of change: new insights on the ecology and evolution of pollination and mating in wind-pollinated plants. *Ann. Bot.* 103, 1515–1527.
- Fuhrmann, C.M., Sugg, M.M., Konrad, C.E., 2016. Airborne pollen characteristics and the influence of temperature and precipitation in Raleigh, North Carolina, USA (1999–2012). *Aerobiologia* 32, 683–696.
- García-Mozo, H., Domínguez Vilches, E., Galán Soldevilla, C., 2012. A model to account for variations in holm-oak (*Quercus ilex* subsp. *ballota*) acorn production in southern Spain.
- Gil, L., Aranda, I., 2009. Population differences in juvenile survival under increasing drought are mediated by seed size in cork oak (*Quercus suber* L.). *For. Ecol. Manag.* 257, 1676–1683.
- Gómez, J.M., 2004. Bigger is not always better: conflicting selective pressures on seed size in *Quercus ilex*. *Evolution* 58, 71–80.
- Grether, G.F., 2005. Environmental Change, Phenotypic Plasticity, and Genetic Compensation. *Am. Nat.* 166, E115–E123.
- Guichoux, E., Garnier-Géré, P., Lagache, L., Lang, T., Boury, C., Petit, R.J., 2013. Outlier loci highlight the direction of introgression in oaks. *Mol. Ecol.* 22, 450–462.

- Hamann Andreas, 2004. Flowering and fruiting phenology of a Philippine submontane rain forest: climatic factors as proximate and ultimate causes. *J. Ecol.* 92, 24–31.
- Herrera, C.M., Jordano, P., Guitián, J., Traveset, A., 1998. Annual Variability in Seed Production by Woody Plants and the Masting Concept: Reassessment of Principles and Relationship to Pollination and Seed Dispersal. *Am. Nat.* 152, 576–594.
- Isagi, Y., Sugimura, K., Sumida, A., Ito, H., 1997. How does masting happen and synchronize? *J. Theor. Biol.* 187, 231–239.
- Ishihara, M.I., Kikuzawa, K., 2009. Annual and spatial variation in shoot demography associated with masting in *Betula grossa*: comparison between mature trees and saplings. *Ann. Bot.* 104, 1195–1205.
- Jansen, P.A., Bongers, F., Hemerik, L., 2004. Seed mass and mast seeding enhance dispersal by a neotropical scatter-hoarding rodent. *Ecol. Monogr.* 74, 569–589.
- Kasprzyk, I., Ortyl, B., Dulcka-Jeż, A., 2014. Relationships among weather parameters, airborne pollen and seed crops of *Fagus* and *Quercus* in Poland. *Agric. For. Meteorol.* 197, 111–122.
- Klein, E.K., Carpentier, F.H., Oddou-Muratorio, S., 2011. Estimating the variance of male fecundity from genotypes of progeny arrays: evaluation of the Bayesian forward approach: Estimating male fecundity and pollen dispersal. *Methods Ecol. Evol.* 2, 349–361.
- Knops, J.M., Koenig, W.D., Carmen, W.J., 2007. Negative correlation does not imply a tradeoff between growth and reproduction in California oaks. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 16982–16985.
- Koenig, W.D., 2002. Global patterns of environmental synchrony and the Moran effect. *Ecography* 25, 283–288.
- Koenig, W.D., Díaz, M., Pulido, F., Alejano, R., Beamonte, E., Knops, J.M.H., 2013. Acorn Production Patterns, in: Campos, P., Huntsinger, L., Pro, J.L.O., Starrs, P.F., Diaz, M., Standiford, R.B., Montero, G. (Eds.), *Mediterranean Oak Woodland Working Landscapes*, Landscape Series. Springer Netherlands, pp. 181–209.
- Koenig, W.D., Knops, J.M., Carmen, W.J., Pearse, I.S., 2015. What drives masting? The phenological synchrony hypothesis. *Ecology*.
- Koenig, W.D., Knops, J.M.H., 1998. Scale of mast-seeding and tree-ring growth. *Nature* 396, 225–226.
- Kramer, K., 1995. Phenotypic plasticity of the phenology of seven European tree species in relation to climatic warming. *Plant Cell Environ.* 18, 93–104.
- Kunstler, G., Albert, C.H., Courbaud, B., Lavergne, S., Thuiller, W., Vieilledent, G., Zimmermann, N.E., Coomes, D.A., 2011. Effects of competition on tree radial-growth vary in importance but not in intensity along climatic gradients. *J. Ecol.* 99, 300–312.
- Lamy, J.-B., Delzon, S., Bouche, P.S., Alia, R., Vendramin, G.G., Cochard, H., Plomion, C., 2014. Limited genetic variability and phenotypic plasticity detected for cavitation resistance in a Mediterranean pine. *New Phytol.* 201, 874–886.

- Larter, M., Pfautsch, S., Domec, J.-C., Trueba, S., Nagalingum, N., Delzon, S., 2017. Aridity drove the evolution of extreme embolism resistance and the radiation of conifer genus *Callitris*. *New Phytol.* 215, 97–112.
- Lenz, A., Hoch, G., Vitasse, Y., Körner, C., 2013. European deciduous trees exhibit similar safety margins against damage by spring freeze events along elevational gradients. *New Phytol.* 200, 1166–1175.
- Lepoittevin, C., Bodénès, C., Chancerel, E., Villate, L., Lang, T., Lesur, I., Boury, C., Ehrenmann, F., Zelenica, D., Boland, A., Besse, C., Garnier-Géré, P., Plomion, C., Kremer, A., 2015. Single-nucleotide polymorphism discovery and validation in high-density SNP array for genetic analysis in European white oaks. *Mol. Ecol. Resour.* 15, 1446–1459.
- Marchand, P.J., Roach, D.A., 1980. Reproductive Strategies of Pioneering Alpine Species: Seed Production, Dispersal, and Germination. *Arct. Alp. Res.* 12, 137–146.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk, L.E.B., Pemberton, J.M., 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Mol. Ecol.* 7, 639–655.
- Monks, A., Kelly, D., 2006. Testing the resource-matching hypothesis in the mast seeding tree *Nothofagus truncata* (Fagaceae). *Austral Ecol.* 31, 366–375.
- Moran, E.V., Clark, J.S., 2012. Causes and consequences of unequal seedling production in forest trees: a case study in red oaks. *Ecology* 93, 1082–1094.
- Morin, X., Augspurger, C., Chuine, I., 2007. Process-Based Modeling of Species' Distributions: What Limits Temperate Tree Species' Range Boundaries? *Ecology* 88, 2280–2291.
- Namkoong, G., Conkle, M.T., 1976. Time Trends in Genetic Control of Height Growth in Ponderosa Pine. *For. Sci.* 22, 2–12.
- Norton, D., Kelly, D., 1988. Mast Seeding Over 33 Years by *Dacrydium cupressinum* Lamb. (rimu) (Podocarpaceae) in New Zealand: The Importance of Economies of Scale. *Funct. Ecol.* 2, 399–408.
- Oleksyn, J., Modrzyński, J., Tjoelker, M.G., Z-tykowiak, R., Reich, P.B., Karolewski, P., 1998. Growth and physiology of *Picea abies* populations from elevational transects: common garden evidence for altitudinal ecotypes and cold adaptation. *Funct. Ecol.* 12, 573–590.
- Övergaard, R., 2010. Seed production and natural regeneration of beech (*Fagus sylvatica* L.) in southern Sweden.
- Pearse, I.S., Koenig, W.D., Funk, K.A., Pesendorfer, M.B., 2015. Pollen limitation and flower abortion in a wind-pollinated, masting tree.
- Pearse, I.S., Koenig, W.D., Kelly, D., 2016. Mechanisms of mast seeding: resources, weather, cues, and selection. *New Phytol.* n/a-n/a.
- Pérez-Ramos, I.M., Ourcival, J.M., Limousin, J.M., Rambal, S., 2010. Mast seeding under increasing drought: results from a long-term data set and from a rainfall exclusion experiment. *Ecology* 91, 3057–3068.
- Pesson, P., Louveaux, J., 1984. *Pollinisation et productions végétales*. Editions Quae.

- Richardson, S.J., Allen, R.B., Whitehead, D., Carswell, F.E., Ruscoe, W.A., Platt, K.H., 2005. Climate and net carbon availability determine temporal patterns of seed production by *Nothofagus*. *Ecology* 86, 972–981.
- Sáenz-Romero, C., Lamy, J.-B., Ducousso, A., Musch, B., Ehrenmann, F., Delzon, S., Cavers, S., Chałupka, W., Dağdaş, S., Hansen, J.K., Lee, S.J., Liesebach, M., Rau, H.-M., Psomas, A., Schneck, V., Steiner, W., Zimmermann, N.E., Kremer, A., 2016. Adaptive and plastic responses of *Quercus petraea* populations to climate across Europe. *Glob. Change Biol.* n/a-n/a.
- Sakai Shoko, Harrison Rhett D., Momose Kuniyasu, Kuraji Koichiro, Nagamasu Hidetoshi, Yasunari Tetsuzo, Chong Lucy, Nakashizuka Tohru, 2006. Irregular droughts trigger mass flowering in aseasonal tropical forests in asia. *Am. J. Bot.* 93, 1134–1139.
- Sala, A., Hopping, K., McIntire, E.J.B., Delzon, S., Crone, E.E., 2012. Masting in whitebark pine (*Pinus albicaulis*) depletes stored nutrients. *New Phytol.* 196, 189–199.
- Sanchez-Humanes, B., Espelta, J.M., 2011. Increased drought reduces acorn production in *Quercus ilex* coppices: thinning mitigates this effect but only in the short term. *Forestry* 84, 73–82.
- Satake, A., Iwasa, Y., 2002. Spatially limited pollen exchange and a long-range synchronization of trees. *Ecology* 83, 993–1005.
- Satake, A., Iwasa, Y., 2000. Pollen Coupling of Forest Trees: Forming Synchronized and Periodic Reproduction out of Chaos. *J. Theor. Biol.* 203, 63–84.
- Saxe, H., Cannell, M.G., Johnsen, Ø., Ryan, M.G., Vourlitis, G., 2001. Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytol.* 149, 369–399.
- Scharnweber, T., Manthey, M., Criegee, C., Bauwe, A., Schröder, C., Wilmking, M., 2011. Drought matters – Declining precipitation influences growth of *Fagus sylvatica* L. and *Quercus robur* L. in north-eastern Germany. *For. Ecol. Manag.* 262, 947–961.
- Sherry, R.A., Zhou, X., Gu, S., Arnone, J.A., Schimel, D.S., Verburg, P.S., Wallace, L.L., Luo, Y., 2007. Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104, 198–202.
- Silvertown, J., Dodd, M., 1999. The Demographic Cost of Reproduction and Its Consequences in Balsam Fir (*Abies balsamea*). *Am. Nat.* 154, 321–332.
- Silvertown, J.W., 1980. The evolutionary ecology of mast seeding in trees. *Biol. J. Linn. Soc.* 14, 235–250.
- Smith, C.C., Hamrick, J.L., Kramer, C.L., 1990. The Advantage of Mast Years for Wind Pollination. *Am. Nat.* 136, 154–166.
- Sork, V.L., 1993. Evolutionary ecology of mast-seeding in temperate and tropical oaks (*Quercus* spp.). *Vegetatio* 107, 133–147.
- Spieksma, F.T.M., Corden, J.M., Detandt, M., Millington, W.M., Nikkels, H., Nolard, N., Schoenmakers, C.H.H., Wachter, R., Weger, L.A. de, Willems, R., Emberlin, J., 2003. Quantitative trends in annual totals of five common airborne pollen types (*Betula*, *Quercus*, *Poaceae*, *Urtica* and *Artemisia*), at five pollen-monitoring stations in western Europe. *Aerobiologia* 19, 171–184.

- Stephenson, A.G., 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 12, 253–279.
- Tamura, S., Hiura, T., 1998. Proximate factors affecting fruit set and seed mass of *Styrax obassia* in a masting year. *Écoscience* 5, 100–107.
- Tully, T., Ferrière, R., 2008. Reproductive Flexibility: Genetic Variation, Genetic Costs and Long-Term Evolution in a Collembola. *PLOS ONE* 3, e3207.
- Vacchiano, G., Ascoli, D., Berzaghi, F., Lucas-Borja, M.E., Caignard, T., Collalti, A., Mairota, P., Palaghianu, C., Reyer, C.P.O., Sanders, T.G.M., Schermer, E., Wohlgemuth, T., Hacket-Pain, A., 2018. Reproducing reproduction: How to simulate mast seeding in forest models. *Ecol. Model.* 376, 40–53.
- van Noordwijk, A.J., de Jong, G., 1986. Acquisition and Allocation of Resources: Their Influence on Variation in Life History Tactics. *Am. Nat.* 128, 137–142.
- Vander Wall, S.B., 2002. Masting in animal-dispersed pines facilitates seed dispersal. *Ecology* 83, 3508–3516.
- Venner, S., Siberchicot, A., Pélisson, P.-F., Schermer, E., Bel-Venner, M.-C., Nicolas, M., Débias, F., Miele, V., Sauzet, S., Boulanger, V., others, 2016. Fruiting Strategies of Perennial Plants: A Resource Budget Model to Couple Mast Seeding to Pollination Efficiency and Resource Allocation Strategies. *Am. Nat.* 188, 000–000.
- Vitasse, Y., Delzon, S., Dufrêne, E., Pontailier, J.-Y., Louvet, J.-M., Kremer, A., Michalet, R., 2009. Leaf phenology sensitivity to temperature in European trees: do within-species populations exhibit similar responses? *Agric. For. Meteorol.* 149, 735–744.
- Wilcock, C., Neiland, R., 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends Plant Sci.* 7, 270–277.
- Wortemann, R., Herbette, S., Barigah, T.S., Fumanal, B., Alia, R., Ducouso, A., Gomory, D., Roeckel-Drevet, P., Cochard, H., 2011. Genotypic variability and phenotypic plasticity of cavitation resistance in *Fagus sylvatica* L. across Europe. *Tree Physiol.* 31, 1175–1182.

Annexes

Manuscript Number:

Title: Reproducing reproduction: how to simulate mast seeding in forest models

Article Type: Review Paper

Keywords: masting; seed production; process-based models; resource budget model; resource allocation; tree reproduction

Corresponding Author: Dr. Giorgio Vacchiano, Ph.D.

Corresponding Author's Institution: Università degli Studi di Milano

First Author: Giorgio Vacchiano, Ph.D.

Order of Authors: Giorgio Vacchiano, Ph.D.; Davide Ascoli; Fabio Berzaghi; Manuel Esteban Lucas-Borja; Thomas Caignard; Alessio Collalti; Paola Mairota; Ciprian Palaghianu; Christopher P Reyer; Tanja Sanders; Eliane Schermer; Thomas Wohlgemuth; Andrew Hackett-Pain

Abstract: Masting is the highly variable and synchronous production of seeds by plants. Masting can have cascading effects on plant population dynamics and forest properties such as tree growth, carbon stocks, regeneration, nutrient cycling, or future species composition. However, masting has often been missing from forest models. Those few that simulate masting have done so using relatively simple empirical rules, and lack an implementation of process-based mechanisms that control such events. Here we review more than 150 published papers on mechanistic formulations of masting, and summarize how the main processes involved in masting and their related patterns can be incorporated in forest models at different degrees of complexity.

Our review showed that, of all proximate causes of masting, resource acquisition, storage and allocation were the processes studied most often. Hormonal and genetic regulation of bud formation, floral induction, and anthesis were less frequently addressed.

We outline the building blocks of a general process-based model of masting that can be used to improve the oversimplified functions in different types of forest models, and to implement them where missing. A complete implementation of masting in forest models should include functions for resource allocation and depletion, and for pollination, as regulated by both forest structure and weather in the years prior to seed production. When models operate at spatio-temporal scales mismatched with the main masting processes, or if calibration data are not available, simulation can be based on parameterizing masting patterns (variability, synchrony, or frequency). Also, observed masting patterns have the potential to be used as "reality checks" for more process-based forest models wishing to accurately reproduce masting as an emergent phenomenon.

Suggested Reviewers: Marco Mina PhD

Postdoc, Waldressourcen und Waldmanagement Ressourcenanalyse, Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL
marco.mina@wsl.ch

expert in process-based forest modeling (ForClim, LandClim)

Robert M Scheller PhD
Associate Professor, Forest Inventory and Analysis, Portland State
University
rmschell@pdx.edu
expert in forest landscape models (Landis-ii)

Walter D Koenig PhD
Senior Scientist, Department of Neurobiology and Behavior, Cornell
University
wdk4@cornell.edu
expert in mast seeding

Dave Kelly PhD
Biological Sciences, University of Canterbury
dave.kelly@canterbury.ac.nz
expert in mast seeding

Opposed Reviewers:

Highlights

- Masting has cascading effects on plant population dynamics, forest structure and ecosystem services
- Integrating masting into forest models is important to reduce prediction accuracy
- We review mathematical and statistical models of masting patterns and processes
- Resource acquisition, storage and allocation were the processes most studied
- Masting can be implemented using a process-based approach, or using extensive empirical datasets of masting patterns

1 **Reproducing reproduction: how to simulate mast seeding in forest models**

2 Giorgio Vacchiano^{1*}, Davide Ascoli², Fabio Berzaghi³, Manuel Esteban Lucas-Borja⁴,
3 Thomas Caignard⁵, Alessio Collalti^{6,7}, Paola Mairota⁸, Ciprian Palaghianu⁹, Christopher P.O.
4 Reyer¹⁰, Tanja GM Sanders¹¹, Eliane Schermer¹², Thomas Wohlgemuth¹³, Andrew Hackett-
5 Pain¹⁴

6
7 * corresponding author

8
9 1 Università degli Studi di Milano, DISAA, via Celoria 2, 20133 Milano (Italy).

10 gvacchiano@gmail.com

11 2 Università degli Studi di Napoli “Federico II”, Dipartimento di Agraria, via Università 100,
12 80055 Portici (NA), Italy. davide.ascoli@unina.it

13 3 Università degli Studi della Tuscia, DIBAF, Via Camillo de Lellis snc, Viterbo, Italy.
14 fabe@unitus.it

15 4 University of Castilla-La Mancha, Department of Agricultural Technology and Science and
16 Genetics. ETSIA, Campus Universitario s/n, Albacete, E-02071, Spain.
17 manuelesteban.lucas@uclm.es

18 5 INRA, BIOGECO, Univ. Bordeaux, 33615 Pessac, France. thomas.caignard@u-bordeaux.fr

19 6 Foundation Euro-Mediterranean Center on Climate Change (CMCC) – Impacts on
20 Agriculture, Forests and Ecosystem Services (IAFES) Division, 01100, Viterbo, Italy.
21 alessio.collalti@cmcc.it

22 7 National Research Council of Italy, Institute for Agriculture and Forestry Systems in the
23 Mediterranean (CNR-ISAFOM), 87036, Rende, CS, Italy

24 8 University of Bari “Aldo Moro”, Department of Agri-Environmental and Territorial
25 Sciences, via Amendola 165/A, 70126 Bari, Italy. paola.mairota@uniba.it

26 9 Stefan cel Mare University of Suceava, Forestry Faculty, Universitatii street, 13, 720229,
27 Romania. cpalaghianu@usv.ro
28 10 Potsdam Institute for Climate Impact Research, Telegrafenberg, D-14412 Potsdam,
29 Germany. reyer@pik-potsdam.de
30 11 Thünen Institute of Forest Ecosystems, Alfred-Möller-Str. 1, 16225 Eberswalde, Germany.
31 anja.sanders@thuenen.de
32 12 LBBE, CNRS, Unité Mixte de Recherche (UMR) 5558, Univ Lyon1, Université de Lyon,
33 69100 Villeurbanne, France. eliane.schermer@univ-lyon1.fr
34 13 Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Forest Dynamics,
35 Zürcherstrasse 111, CH-8903 Birmensdorf, Switzerland. tom.wohlgemuth@wsl.ch
36 14 St Catherine's College, Manor Road, Oxford. Current address, Department of Geography
37 and Planning, School of Environmental Science, University of Liverpool, Liverpool, UK.
38 andrew.hackett-pain@liverpool.ac.uk

39

40 **Abstract**

41 Masting is the highly variable and synchronous production of seeds by plants. Masting can
42 have cascading effects on plant population dynamics and forest properties such as tree
43 growth, carbon stocks, regeneration, nutrient cycling, or future species composition.
44 However, masting has often been missing from forest models. Those few that simulate
45 masting have done so using relatively simple empirical rules, and lack an implementation of
46 process-based mechanisms that control such events. Here we review more than 150 published
47 papers on mechanistic formulations of masting, and summarize how the main processes
48 involved in masting and their related patterns can be incorporated in forest models at different
49 degrees of complexity.

50 Our review showed that, of all proximate causes of masting, resource acquisition, storage and
51 allocation were the processes studied most often. Hormonal and genetic regulation of bud
52 formation, floral induction, and anthesis were less frequently addressed.

53 We outline the building blocks of a general process-based model of masting that can be used
54 to improve the oversimplified functions in different types of forest models, and to implement
55 them where missing. A complete implementation of masting in forest models should include
56 functions for resource allocation and depletion, and for pollination, as regulated by both
57 forest structure and weather in the years prior to seed production. When models operate at
58 spatio-temporal scales mismatched with the main masting processes, or if calibration data are
59 not available, simulation can be based on parameterizing masting patterns (variability,
60 synchrony, or frequency). Also, observed masting patterns have the potential to be used as
61 “reality checks” for more process-based forest models wishing to accurately reproduce
62 masting as an emergent phenomenon.

63

64 **Keywords:** masting; seed production; process-based models; resource budget model;
65 resource allocation; tree reproduction

66

67 **Highlights**

- 68 • Masting has cascading effects on plant population dynamics, forest structure and
69 ecosystem services
- 70 • Integrating masting into forest models is important to improve prediction accuracy
- 71 • We review mathematical and statistical models of masting patterns and processes
- 72 • Resource acquisition, storage and allocation were the processes most studied
- 73 • Masting can be implemented using a process-based approach, or using extensive
74 empirical datasets of masting patterns

75

76

77 **1 Introduction**

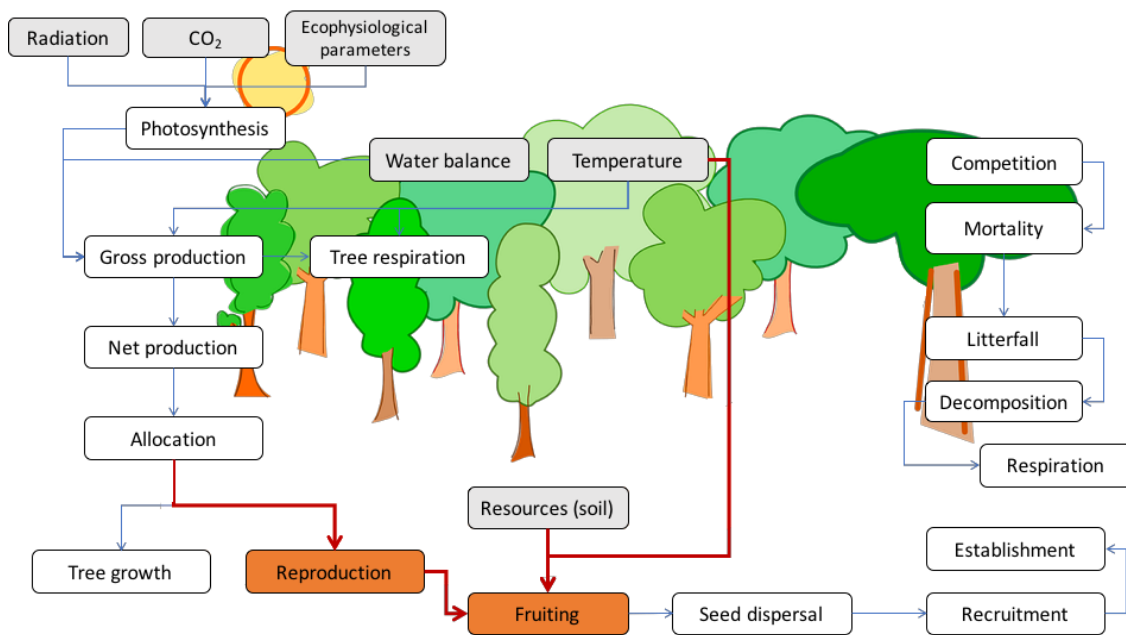
78 Understanding forest ecosystems and predicting their dynamics through models remains an
79 abiding concern of forest researchers. Modeling forest dynamics using only a limited set of
80 fundamental variables represents a challenging task, considering the myriad of components,
81 mechanisms and the degree of complexity involved. Models, however, provide invaluable
82 information to plan sustainable forest management (Monserud, 2003; Taylor et al., 2009). In
83 order to improve the accuracy of forest models operating under changing environmental
84 conditions, ecological processes which have big effects on forest dynamics must be
85 accounted for.

86 A prominent but overlooked example of such processes is mast-seeding or masting, i.e., the
87 highly variable and synchronous production of seeds by a population of plants. Masting
88 occurs among grass, shrub, and tree species in many different biomes (e.g., Schauber et al.,
89 2002; Abrahamson and Layne, 2003; Poncet et al., 2009; Drobyshev et al., 2010). The
90 synchronized annual variability displayed by masting has been explained by several
91 hypotheses (Sork, 1993; Kelly, 1994; Herrera et al., 1998; Kelly and Sork, 2002). Masting
92 events are thought to be “cued” by particular climatic conditions synchronized over large
93 areas (i.e., Moran effect) in the years that precede flowering (Schauber et al., 2002; Piovesan
94 and Adams, 2001, 2005; Kelly et al., 2013). However, no general consensus has been
95 reached yet on the complete set of processes and mechanisms causing masting (Pearse et al.,
96 2016).

97 Masting is intimately related to other processes of forest dynamics (Figure 1), such as tree
98 growth (Thomas, 2011; Muller-Haubold et al., 2013; Hackett-Pain et al., 2017), seed,
99 dispersal, and regeneration (Vander Wall, 2001; Ascoli et al., 2015). The relative contribution
100 of seed production to tree growth in masting species has been estimated for some species at
101 between 20% and 57% of annual net primary productivity (NPP) (Mund et al., 2010; Muller-

102 Haubold et al., 2013), and about 15% of stem biomass growth (Mencuccini et al., 1995). The
 103 fact that tree growth is reduced in years of heavy seed production (Piovesan and Schirone,
 104 2000) may help to explain the failure of most process-based forest models to reproduce
 105 observed inter-annual variability in carbon fluxes or observed biomass growth (Drobyshev et
 106 al., 2010; Collalti et al., 2016), as well as the disagreement between modeled growth-climate
 107 relationships and observed tree rings (Babst et al., 2013).

108



109

110 Figure 1 - Simplified process diagram for a generic forest model. Grey boxes: input variables,
 111 white: processes, orange (and red arrows): masting-related processes (modified from Fischer
 112 et al., 2016).

113

114 Additionally, masting has far-reaching effects on ecosystem functions and services, such as
 115 carbon sequestration (Miyazaki, 2013), and on community trophic cascades, including birds
 116 and mammals (Ostfeld et al., 1996; McShea, 2000; Clotfelter et al., 2007; Jensen et al., 2012;
 117 Zwolak et al., 2016; Selås, 2017) and vectors of human diseases (Ostfeld, 1997; Tersago et
 118 al., 2009).

119 Since masting has such widespread influences on forest ecosystem dynamics, implementing it
 120 into forest models may contribute to improve their accuracy, not only in terms of modeling
 121 seed production but also extending to growth trade-offs, pollen and seed dispersal,
 122 establishment success, species migration, cascading trophic interactions, effects of
 123 silvicultural treatments, and ecosystem resilience to natural disturbances or climate change.
 124 In forest models, seed production is implemented either as a constant or limitless process, not
 125 integrated into allocation (Price et al., 2001), or, more realistically, as a function of NPP or
 126 leaf mass (e.g. Bossel, 1996), but this is unlikely to fully reproduce the characteristics of
 127 masting. Those that do attempt to model masting explicitly tend to use a simplistic
 128 implementation, e.g., a regular frequency of years with high seed output (Rammig et al.
 129 2007), while neglecting the relationship between masting processes and environmental
 130 conditions. As a result, attempts to assess the relevance of masting for ecosystem and
 131 ecological dynamics have produced inconsistent results (Table 1).

132

133 Table 1 - Forest models analyzing the effect of masting on forest dynamics.

Model	Scope	Functional group or species/Biome	Reference	Did masting have an effect?
Individual based gap model (FORMIND)	Effect of mast on forest structure	Broadleaf /Tropical	Kohler and Huth (2004)	Yes: Masting affected the population dynamics of small trees
Gap model (SAL)	Effect of masting on tree species range shift	Broadleaf evergreen and broadleaf deciduous /Tropical and temperate	Kohyama (2005)	No: null effect or slightly delayed tree migration speed
Gap model (FORSPACE)	Effects of climate change on long-term forest dynamics	Conifer and broadleaf /Temperate	Kramer (2006) Kramer (2008)	Yes: mast years were associated with increased dispersal distances

Vegetation model + individual based tree regeneration model	Effect of seed production on forest succession of wind disturbed forests	Conifer /Subalpine	Rammig et al. (2007)	Yes: mast frequency and timing affected regeneration response to disturbance
Individual based gap model	How spatiotemporal processes shape treeline patterns	Conifer /Temperate	Wallentin et al. (2008)	Unknown: Fecundity is an important driver but specific role of masting not reported
Dynamic Global Vegetation Model (LPJ-DISP)	Past plant migration refugia	<i>Fagus grandifolia</i> /Temperate to Boreal (virtual landscape)	Snell and Cowling (2015)	Yes: Masting increased the number of long-distance dispersal events

134

135 In the following paragraphs we first provide a concise overview of the most important
136 patterns and processes related to masting, then propose ways to implement them in forest
137 models across different spatial, temporal, and ecological scales. To do so, carried out a review
138 of formulations used in the scientific literature to model masting patterns and processes.
139 Finally, we bring this evidence together in a broader discussion on what to consider when
140 implementing masting in forest models.

141

142 **2 Masting patterns and underlying processes**

143 Masting can be modelled using two main approaches: (a) reproducing demographic and
144 ecological patterns produced by masting (both spatially and temporally), or (b) understanding
145 and reproducing mechanistic processes (or “proximate causes” *sensu* Kelly, 1994), which is
146 usually a more complex task and not necessarily leading to less uncertainties than the former.

147

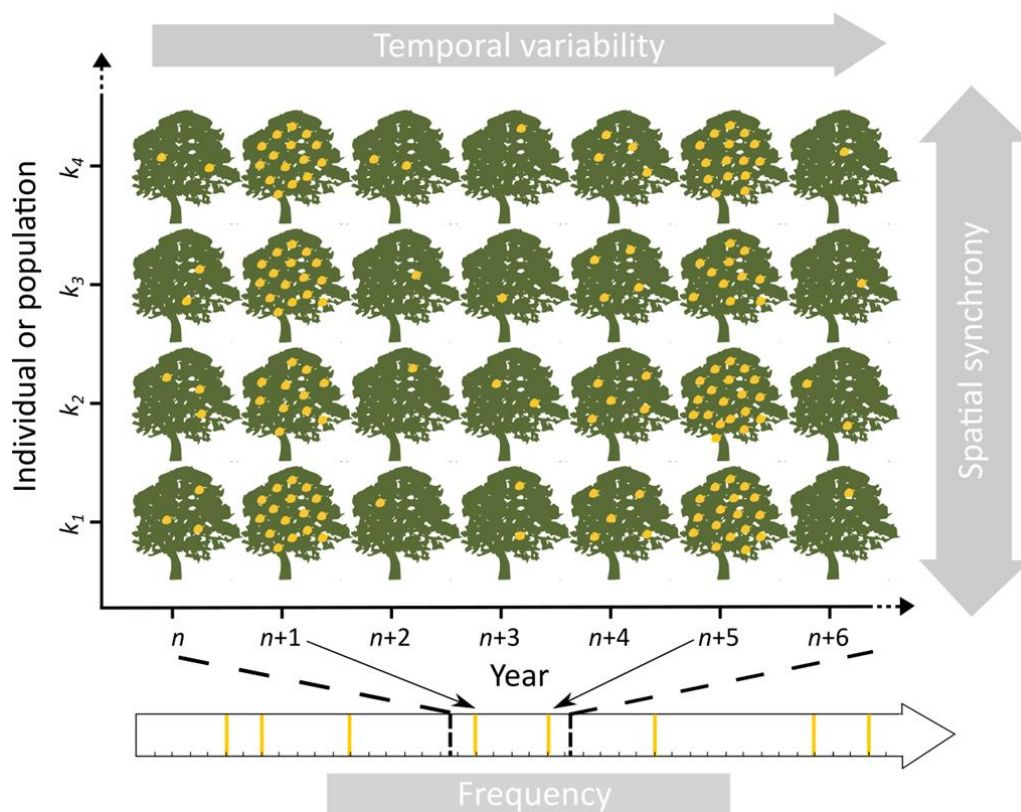
148 *2.1 Patterns*

149 Patterns of masting have been characterized in different ways in the literature (e.g. , Kelly
150 and Sork, 2002; Koenig et al., 2003; Pearse et al., 2016). Here we refer to variability,
151 synchrony, and frequency as key elements to describe masting patterns (Figure 2), although

152 other elements have been proposed, such as temporal autocorrelation (e.g., Koenig et al.,
153 2003; Crone et al., 2011).

- 154 • Variability: defined as the absolute or relative difference in the number or mass of
155 seeds produced by one unit (typically a tree or stand) across time (e.g., Herrera et al.,
156 1998; Greene and Johnson, 2004; Richardson et al., 2005; Crone et al., 2011). Seed
157 production that is either large or zero produces a bimodal frequency distribution of
158 seed crop size (but see Allen et al., 2012). For more continuous distributions,
159 variability can be quantified either by the coefficient of variation (CV) of the number
160 of seeds produced across time, or by the recently proposed “disparity index”
161 (Fernández-Martínez et al., 2017a). The latter is a modification of CV that does not
162 depend on the mean, and takes into account actual year-to-year variation in a
163 temporally explicit way. A particular type of variability often found in masting species
164 is a negative autocorrelation: the current seed crop can be often explained, to a high
165 degree, by a negative correlation with the previous year’s crop (e.g., in alternate
166 bearing species, or as a consequence of resource depletion).
- 167 • Synchrony: defined as the degree of similarity between the number or mass of seeds
168 produced by a population of trees or stands at the same time, for one or multiple
169 species (e.g., LaMontagne and Boutin, 2007; Fearer et al., 2008; Allen et al., 2012).
170 The spatial extent of synchrony may range from stand to region or even sub-continent
171 (Koenig and Knops, 2000); a marked distance-decay in synchrony was reported at
172 continental (Vacchiano et al., 2017), regional (e.g., Fearer et al., 2008), and local (e.g.,
173 Allen and Platt, 1990) scales. Synchrony can be measured at the individual level
174 (correlation between individual and population seed production) or at the population
175 level (correlation among trees or stands, or percentage of trees or stands showing a
176 similar seed output).

177 • Frequency: defined as the number of high seed production years during a time period
 178 (e.g., Sork et al., 1993; Greene and Johnson, 2004; Allen et al., 2012). When the
 179 causes for synchrony and variability are explicitly modeled, frequency is an emergent
 180 behavior, and regular cycles in fruiting need not to be mechanistically explained.
 181 However, they can and should be linked to the temporal patterns of the underlying
 182 drivers, e.g., solar activity or climate oscillations (Ascoli et al., 2018). In this review,
 183 we consider frequency as a stand-alone pattern, because the question of interest
 184 usually is “when will the next massive fruiting occur?”. Furthermore, masting
 185 frequency is typically the only parameter that has been implemented in forest models
 186 thus far (e.g., Rammig et al., 2007).



187
 188 Figure 2 – Annual patterns of masting in a tree species. Masting is generally defined by three
 189 main aspects: 1) a high temporal variability of seed production at individual or population
 190 level, 2) a high spatial synchrony of seed production through time among individuals of a
 191 same population, and 3) a non-regular frequency of years of high seed production (yellow

192 bars). The number of seeds produced per year is represented for a same individual or
193 population (k_i) through time in yellow. Frequency is illustrated at the bottom as the number of
194 years of high seed production such as (n+1) or (n+5) in a certain time period (can be high or
195 low depending on the time period chosen).

196

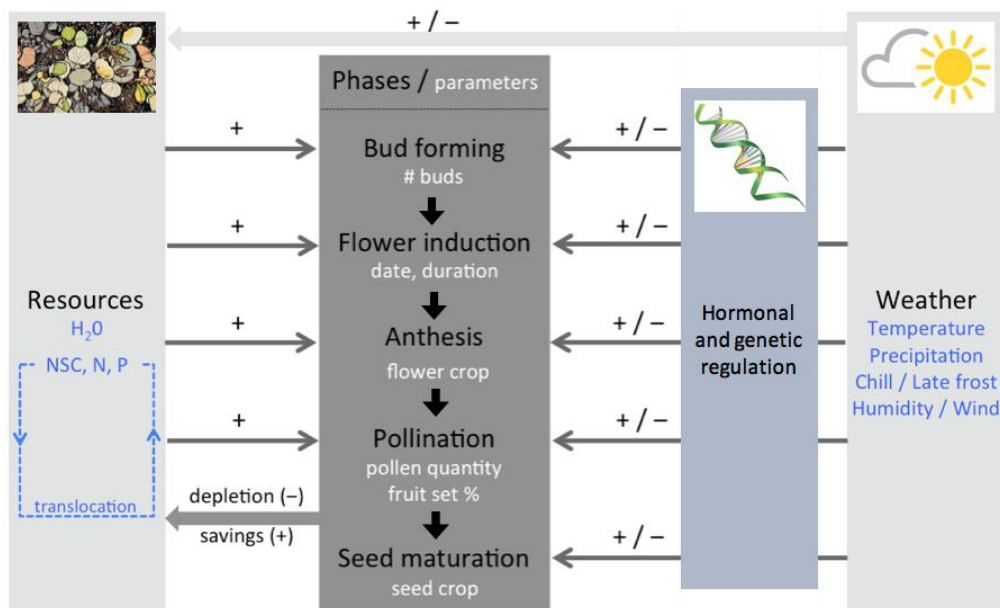
197 *2.2 Processes*

198 The causes driving variability and synchrony in seed production have been categorized as
199 ultimate and proximate (Pearse et al., 2016). Ultimate causes include processes associated
200 with evolutionary timescales, such selective pressure; they are excluded from the present
201 review because they would be incompatible with the time-span covered by most forest
202 models used for ecological or forest management prediction.

203 Proximate causes, on the other hand, operate between a decade and a few days before seed
204 production. They include dynamics of resource accumulation and depletion, weather events
205 favorable to phenological phases involved in flowering and fruiting, and all cellular and
206 genetic processes involved in their occurrence (Crone and Rapp, 2014; Pearse et al., 2016).

207 Masting patterns emerge when several proximate causes interact across space and time,
208 affecting all processes that lead to seed production: resource acquisition, bud initiation,
209 anthesis, pollination and fertilization, flower abortion, and seed maturation (Allen et al.,
210 2017) (Figure 3).

211



212

213 Figure 3 - Functional links between processes leading to masting (black) and their proximate
 214 causes (+: positive correlation, -: negative) (modified from Pearse et al., 2016).

215

216 2.2.1. *Resource acquisition, storage and allocation*

217 Trees allocate resources to growth, survival, and reproduction (cf. Fridley, 2017 for a review).

218 It is well established that there is an internal cycling of resources (see Millard and Grelet,

219 2010 for a review on carbohydrates and Nitrogen [N]; and Proe and Millard, 1995 for

220 Phosphorus [P]) and that macronutrients influence fecundity and seed production (Reekie and

221 Bazzaz, 1987; Ichie and Nakagawa, 2013; Miyazaki, 2013; Han et al., 2014). Yet it is still

222 unclear which of the nutrients - non-structural carbohydrates (NSC), N, or P - and

223 interactions among nutrients (compensation effects) - are most limiting for reproduction

224 (Körner, 2003; Han et al., 2008; Sala et al., 2012), whether nutrients used for reproduction

225 come from recently acquired or accumulated resources (Koenig and Knops, 2000; Kelly and

226 Sork, 2002; Sala et al., 2012), and in the last case what is the accumulation period (Ichie et

227 al., 2013).

228 Until today, four non-mutually exclusive mechanisms have been proposed to explain how

229 resource supply and uptake are involved in seed production:

230

- 231 • "resource matching", in which a fixed fraction of resources is allocated each year to
232 reproduction (Koenig and Knops, 2000);
- 233 • "storage", in which trees accumulate resources over several years in order to
234 eventually allocate them to high seed production, leading to negative temporal
235 autocorrelation in seed production series (Sork et al., 1993; Koenig et al., 1994);
- 236 • "switching", in which a variable fraction of resources is allocated each year to
237 reproduction leading to negative correlations between reproduction and growth
238 (Yasumura et al., 2006; Monks and Kelly, 2006; Sala et al., 2012);
- 239 • "veto", in which some external agent (e.g., late frost) may limit the investment in
240 fruiting, preventing resources to be allocated to reproduction (Koenig et al., 2015;
241 Pesendorfer et al., 2016; Bogdziewicz et al., 2017b).

242

243 2.2.2. *Hormonal and genetic regulation of bud formation, floral induction, and anthesis*

244 Floral induction is driven by hormonal induction, which incorporates the influence of
245 numerous external and internal cues (Bernier and Perilleux, 2005; Turnbull, 2011; Bluemel et
246 al., 2015). Large seed quantities are directly correlated to gibberellin contents (Bohlenius et
247 al., 2006; Turnbull, 2011), whereas fruit abortion is driven by ethylene (Bleecker and Kende,
248 2000).

249 Also, the biosynthesis of growth hormones (Wahl et al., 2013) and the expression of
250 flowering genes (Miyazaki et al., 2014) are stimulated under higher resource supply,
251 especially N (Sedgley and Griffin, 1989).

252

253 2.2.3. *Pollination*

254 A tree can produce a large quantity of seeds when three conditions are met: (i) the tree
255 produces a high initial flower crop, (ii) pollination success is high, and (iii) a high proportion
256 of fertilized flowers mature into fruits. Most masting species are outcrossers (Pearse et al.,
257 2016). Therefore, masting is restricted by pollen production by other plants in the population
258 (Smith et al., 1990). Plants with many pollen-producing neighbors produce larger seed crops
259 than more isolated ones (Knapp et al., 2001). Theoretical models showed that such density-
260 dependent pollen limitation (“pollen coupling”) can also induce synchrony in seed production
261 (Isagi et al., 1997; Lyles et al., 2015; Venner et al., 2016). However, empirical support of the
262 role of pollen limitation on masting remains scarce, and the importance of pollen limitation as
263 a trigger of seed production is still widely debated (Koenig and Ashley, 2003; Koenig et al.,
264 2012; Rapp et al., 2013; Pearse et al., 2015; see also Pearse et al., 2016 for a review).

265

266 2.2.4. *Seed maturation: fertilization and flower abortion*

267 In perennial plants, fertilized flowers are often aborted (Stephenson, 1981; Sork and Bramble,
268 1993; Holland et al., 2004). From an evolutionary point of view, flower abortion is an
269 inexpensive strategy to either maximize the long-term quality of the remaining fertilized
270 flowers (Becerra and Lloyd, 1992), or re-allocate resources to other non-reproductive
271 processes in response to unpredicted disturbances (Goubitz et al., 2002; Montesinos et al.,
272 2012), especially when resources are depleted during fruit maturation (Tsuruta et al., 2011).

273

274 2.2.5 *Weather: cues and vetoes*

275 Many of the processes above are influenced (linearly or not: Fernández-Martínez et al.,
276 2017b) by weather, as confirmed by the large number of studies reporting on correlations
277 between weather and seed production in masting species (Allen et al., 2014; Canham et al.,
278 2014; Moreira et al., 2015; Pérez-Ramos et al., 2015; Caignard et al., 2017; Vacchiano et al.,

279 2017). Acquisition and storage of resources depend on photosynthesis and on the amount of
280 solar radiation, but is also constrained by water limitation and drought stress, which were
281 showed to affect seed crops with a lag of two or three years (Newbery et al., 2006; Smaill et
282 al., 2011; Barringer et al., 2013; Muller-Haubold et al., 2015; Bachofen et al., 2017). Other
283 studies highlighted a correlation between large seed crops and higher than average summer
284 temperatures during both floral initiation and fruit maturation (Piovesan and Adams, 2001;
285 Richardson et al., 2005; Fearer et al., 2008; Buechling et al., 2016), which can also be
286 attributed to resource-mediated mechanisms.

287 Meteorological conditions (solar radiation and temperature) can also affect flowering-
288 inducing hormones such as gibberellins and phytochromes (reviewed by Ruan et al., 2012),
289 and have a crucial impact on pollination. In particular, pollen concentrations are negatively
290 correlated to rainfall and humidity but positively correlated to temperature during the pollen
291 season (Cecich and Sullivan, 1999; Sabit et al., 2016; Bogdziewicz et al., 2017a). The pollen
292 season itself is longer under drier and warmer weather (Fuhrmann et al., 2016). Also, spring
293 microclimatic conditions affect the local budburst synchrony (that is a proxy for flowering
294 synchrony and pollen availability) and consequently the pollination efficiency (Koenig et al.,
295 2015).

296 Finally, extreme weather events can damage reproductive structures by e.g. late frost during
297 flowering (Augsburger, 2009; ChangYang et al., 2016) or intense summer rainfall during fruit
298 maturation (Abrahamson and Layne, 2003). However, the variability of weather has been
299 shown to be often smaller than the variability in masting, indicating that climate alone cannot
300 explain all variability in masting (Koenig and Knops, 2005).

301

302 **3 Literature review**

303 To assess how masting patterns and processes have been modeled in the scientific literature,
 304 we searched the Scopus database using the following search string: ((masting OR “mast
 305 seeding” OR “mast fruiting” OR “mast flowering”) AND (variability OR pattern OR
 306 synchrony OR periodicity OR model*) AND tree). We complemented the search results by a
 307 targeted search based on references from a recent and comprehensive review on masting
 308 processes (Pearse et al., 2016). The geographic scope of our search was global.
 309 We excluded from the analysis papers that only reported masting observations without any
 310 modelling. Out of a total of 311 papers found for the period 1957–2016, we selected 175 for
 311 further analysis, containing a total of 288 individual model formulations for a pattern, a
 312 process, or both.
 313 For each individual model formulation, we collected information regarding the modeled
 314 species, the pattern and process being modeled, and the modelling methods (Table 2).
 315
 316 Table 2 – Information collected for each masting formulation in the literature review

Data collected	Explanation
Pattern	Variability, synchrony, frequency
Process	Resource dynamics, pollination, abortion and seed maturation, hormonal induction and genetics, weather
Ecological level: the hierarchical level of ecological and data complexity at which masting is addressed.	Descriptive: if only a pattern is reported without any explicit cause. Weather cues fall in this class. Demographics: numerical oscillations of reproductive organs (flowers, pollen, fruits, seeds) ¹ . Resource: processes that build up and consume macronutrients (NSC, N, P) or water Biochemical: processes mediated by inter-cellular (non-structural carbohydrates, hormones) and intra-cellular pathways (enzymes, mitochondrial activity) Genetics: processes related to gene expression, and regulation
Mathematical complexity: the type of formulation used to model masting pattern or process	Empirical observation: a non-statistical comment, observation or association, based on empirical evidence presented in the paper Constant: an invariant value Distribution: a value extracted from a probability or frequency distribution Uni- and multivariate: a mathematical relationship (correlation, regression...) Linking seed production to one or more predictors.
Stand-alone	Whether the model formulation was the main analytical tool of the paper, as opposed to a series of chained formulations that may or may

	not end with seed production as output variable
Empirically-based	Whether the algorithm was based on empirical data or on theoretical or conceptual models
Response and explanatory variables	Categories of predictor and response variables being measured
Spatial unit: spatial grain at which the algorithm is run, and number of sampling units observed or measured	Leaf, organ, tree, patch or stand, population, super-population
Geographical focus: the spatial extent of the study	Stand, region, country, multi-country, continental, species range, global
Temporal unit: temporal step at which the algorithm is run, and number of observations or measurements in time	Hour, day, month, year, decade
Biome: bioclimatic area in which the algorithm is run	Boreal, temperate, mediterranean, or tropical
Species group	Conifers, deciduous broadleaves, evergreen broadleaves, o others
Seed dispersal strategy	Anemochorous, zoochorous, hydrochorous, barochorous
Pollen dispersal vector	Wind, insects, other animals, water

317 [†] Several studies have found a positive correlation between seed abundance and flower, pollen and fruit abundance (Schauber et al., 2002;
318 Pidek et al., 2010; Kasprzyk et al., 2014; Ascoli et al., 2015). Notably, the quantity of pollen directly affects pollination efficiency and thus
319 the percentage of sound seeds (Nilsson and Wastljung, 1987; Norton and Kelly, 1988; Koenig et al., 2015). Small discrepancies between
320 flower, pollen, and seed abundance may occur in presence of flower abortion and pollination failure.

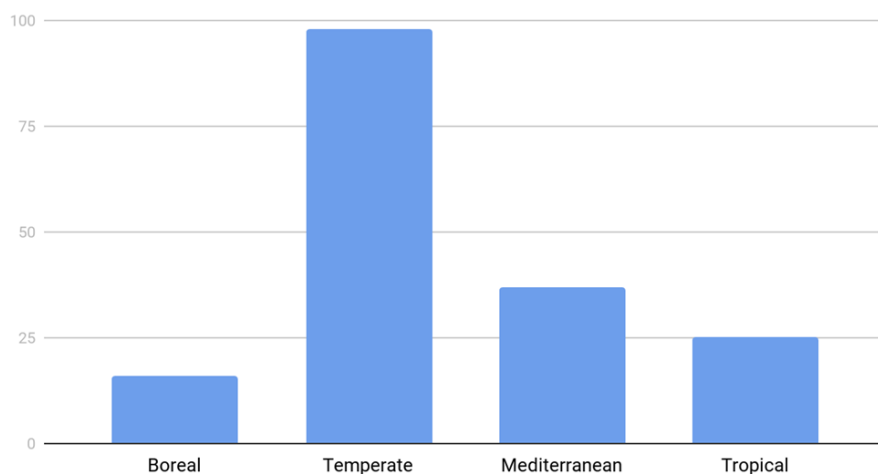
321

322 The complete review table and metadata is reported as Supplementary Material S1.

323

324 *3.1. Patterns*

325 On a total of 175 studies reporting on masting patterns, by far the largest part was carried out
326 in temperate ecosystems (n=98; 56%), followed by studies from Mediterranean (21%),
327 tropical (14%) and boreal biomes (9%; Figure 4). Most studies? Involve wind-pollinated
328 species (81%), a strategy that is disproportionately common among masting species (Herrera
329 et al., 1998) especially for cross-pollinated trees (Satake and Iwasa, 2000, 2002a, 2002b).
330 Several studies (37%) reported more than one pattern, e.g., Kelly et al. (2013). Only 5% of
331 them, however, reported patterns of masting for multiple biomes, reflecting the overall
332 scarcity of generalized approaches on masting.



333

334 Figure 4 – Number of studies reporting masting pattern per biome.

335

336 Most masting formulations covered in our review (78%) described variables related to seeds
 337 or fruits, which are usually easier to measure and more directly related to masting than e.g.,
 338 pollen or flowers. A small group of resource-based formulations instead modeled the nutrient
 339 content of tree organs, including reproductive ones, following masting. The dominant
 340 geographical focus was the stand (53% of all formulations), followed by region (25%) and
 341 multi-country (9%); at the two ends of the spectrum, individual-tree and continental/global
 342 algorithms were equally rare (3% each). The temporal unit was almost always the year
 343 (94%), with only 17 formulations having a time resolution of one month or less.

344 Variability was the most frequently analyzed pattern (65%, 188 of 288 formulations,), vastly
 345 exceeding synchrony (20%) and frequency (12%). Only 3% of formulations used theoretical
 346 models.

347 Most analyses were conducted at tree (45% of all formulations), patch (33%), or population
 348 level (20%). By definition, synchrony was the only pattern where the geographical focus was
 349 always larger than a single tree.

350 Variability was usually quantified using the coefficient of variation of masting time-series
351 series (e.g., Ichie and Nakagawa, 2013; Monks and Kelly, 2006), or the standard deviation
352 (e.g., Nussbaumer et al., 2016) or variance (e.g. Koenig et al., 1994) of the time-series. Other
353 methods to quantify variability included the temporal autocorrelation structure in the data
354 (e.g. Koenig et al., 2003).

355 Some studies extended the analysis by linking variability in seed production with variability
356 in weather conditions, usually using a correlation-based approach (e.g., Selås et al., 2002;
357 Kelly et al., 2013). Typically, strong correlations were found with weather measured in
358 seasons associated with masting-related processes; multiple regression models could
359 reproduce the observed variability of reproduction with a high accuracy (Poncet et al., 2009;
360 Vacchiano et al., 2017). A variation on this theme is to relate variability to teleconnection
361 indices rather than climate indices (Schauber et al, 2002; Sakai et al., 2006; Ascoli et al.,
362 2018). A second group of studies attempted to explain observed variability in seed production
363 using information on biological processes (e.g., flower and leaf phenology) (Koenig et al.,
364 2012; Pesendorfer et al., 2016).

365 Synchrony between populations was modeled by correlating it to geographic distance (e.g. by
366 Mantel tests: Suzuki et al., 2005) or by using indices of spatial aggregation (Fredriksson and
367 Wich, 2006). Spatial synchrony between populations was also linked to the synchrony of
368 weather conditions during important phases of the reproductive cycle (Moran effect) (Koenig,
369 2002). Synchrony of trees within the same population was modeled using the standard
370 deviation (SD) between individual seed production in any given year (e.g., Isagi et al., 1997).

371 At the individual level, pollen availability is a key control on synchrony within populations
372 (“pollen coupling”), even if such link has been modeled only by theoretical formulations so
373 far (Satake and Iwasa, 2000, 2002a, 2002b; although see Bogdziewicz et al., 2017b).

374 Frequency was the least reported pattern of masting, but also the easiest to incorporate in
375 forest models (Table 1). Measures of frequency included a typical (mean) return interval, or a
376 typical frequency, of mast years (Hilton and Packham, 2003; Nussbaumer et al., 2016). This
377 approach relies on the identification of a binary threshold for masting (i.e., the definition of a
378 mast year vs. a non-mast year). A more rigorous approach is to conduct a form of spectral
379 analysis, but this was not frequently reported (Abrahamson and Layne, 2003, using Fourier
380 analysis). A similar approach is to test for temporal autocorrelation at different timescales
381 (Greene and Johnson, 2004). Spearman's rank correlation between seed production series
382 over different periods also seems to be a good estimator to test for variations in frequency
383 (Allen et al., 2012; Greene and Johnson, 2004).

384

385 *3.2. Processes*

386 The large majority of formulations that modeled a masting process (84 in total) were
387 empirically based (77%) and stand-alone (87%), confirming a significant lack of
388 implementing masting within larger model frameworks. These group of studies preferentially
389 focused on individual trees as modelling units (62% of cases), or even tree organs or leaves
390 (10%) in the case of biochemical studies (nutrient content).

391 Our review has confirmed the stronger tradition of studies related to resource acquisition,
392 storage and allocation, which represented the most abundant (70%) and longest-studies group
393 (Table 3). Pollination (20%) and more recently seed maturation after flower abortion (7%)
394 have become the focus of research, whereas studies on hormonal and genetic regulation of
395 bud formation, floral induction, and anthesis (4%) emerged as a novel yet challenging
396 approach.

397

398 Table 3 – Reviewed studies on processes and their proximate causes.

	Number of studies	Range of publication dates
Resources	58	1987 – 2016
Hormonal and genetic regulation	3	2012 – 2013
Pollination	17	1998 – 2016
Seed maturation	6	2002 – 2014
Total	84	

399

400 Our review also highlighted the increasing effort to relate seed production to multiple and
401 interacting proximate causes, since as much as 40% of all algorithms had a multivariate
402 structure as opposed to the 51% using univariate statistics only (Table 4).

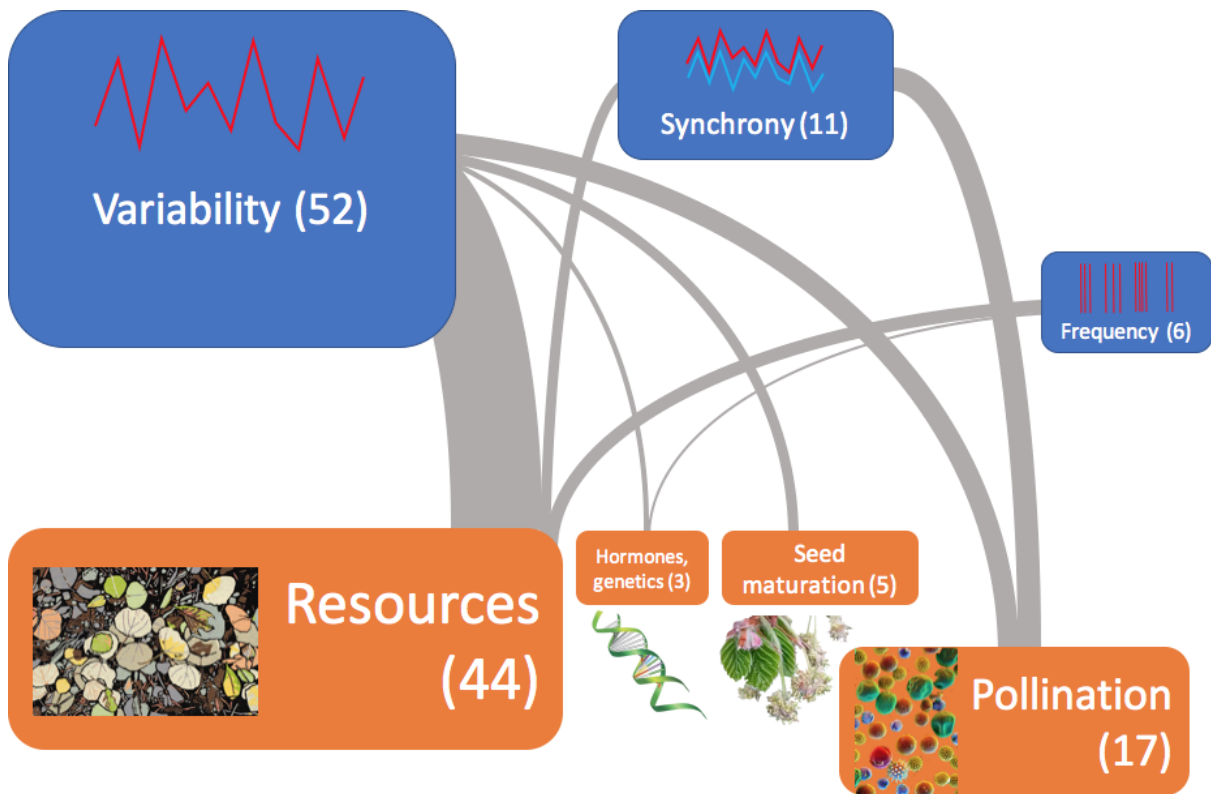
403

404 Table 4 – Mathematical complexity of process formulations by process category in the
405 reviewed studies.

Mathematical complexity	All	Resources	Hormonal and genetic regulation	Pollination	Seed maturation
Univariate	43	28	2	9	4
Multivariate	34	26	1	6	1
Constant	4	3	-	1	-
Distribution	2	-	-	1	1
Total	84	58	3	17	6

406

407 Only 69 studies addressed both a pattern and a process of masting. The review of such
408 simultaneous pattern and process formulations highlighted the complex relations among them
409 (Figure 5). No process could explain individually the variability, synchrony or frequency of
410 masting, but rather a combination of processes was always involved in all patterns (Crone
411 and Rapp, 2014; Pearse et al., 2016).



413

414 Figure 5 – Links between patterns and processes of masting in 69 reviewed studies
 415 addressing both types of formulations (number of studies in brackets). The size of boxes and
 416 connectors is proportional to the number of studies found.

417

418 *3.3 Examples of masting process formulations*

419 Two thirds of studies on masting processes (56 papers) focused on broadleaves species. To
 420 illustrate how masting patterns and processes can be modeled, we collected formulations for
 421 in species belonging to the *Fagales* order (Table 5), which have been repeatedly analyzed by
 422 some of the most recent and comprehensive studies on masting.

423

424 Table 5 – Examples of masting model formulations for the *Fagales* order.

Object	Reference	Species	Formulation
--------	-----------	---------	-------------

Patterns			
Variability	Pesendorfer et al. (2016)	<i>Quercus lobata</i>	<p>Coefficient of variation of individual tree crop size across time = 74.9% to 457.0%</p> <p>Coefficient of variation of mean relative crop size of all trees across time = 91.5%</p> <p>Lag-1 autocorrelation of mean seed production of all trees in the population = -0.53</p>
Synchrony	Pesendorfer et al. (2016)	<i>Quercus lobata</i>	Mean cross-correlation of seed production among all trees in the population = 0.49 (range: 0.41–0.55)
Frequency	Nussbaumer et al. (2016)	<i>Fagus sylvatica</i> , <i>Quercus robur</i> , <i>Q. petraea</i>	Mast frequency (number of years of observations / number of years with masting) = 2.6 to 5.50 for beech and 2.11 to 6.33 for oaks
Processes			
Resource availability	Miyazaki et al. (2014)	<i>Fagus crenata</i>	Relative flowering intensity in next spring [0-1] = $-1.27 + 1.20$ (N% dry matter)
Resource allocation and storage	Han et al. (2008)	<i>Fagus crenata</i>	N content (mg) of winter buds containing both leaf and flower primordia formed in a masting year were 2.1–3.4-fold lower than in winter buds containing leaf primordia only.
	Hoch et al. (2013)	<i>Carpinus betulus</i> , <i>Fagus sylvatica</i> and <i>Quercus petraea</i>	$\delta^{13}\text{C}$ % in flowers after 8 years CO_2 enrichment at 530 ppm was 0.95 to 1.14 times that at ambient CO_2
	Hoch and Keel (2006)	<i>Carpinus betulus</i> and <i>Fagus sylvatica</i>	$\delta^{13}\text{C}$ % in fruits and vegetative infructescence tissue after girdling and/or defoliation was respectively 0.58-0.99 and 0.16-0.97 times the control
Hormonal/genetic regulation	Miyazaki et al. (2014)	<i>Fagus crenata</i>	<p>Relative flowering intensity in next spring [0-1] = $0.15 + 0.33$ (FcFT relative expression in July)</p> <p>FcFT relative expression in July increased by 0.2 to 0.42 under fertilization with the addition of $4.5 \text{ g N m}^{-2} \text{ month}^{-1}$ between April and August of the previous year</p>
Pollination	Pesendorfer et al. (2016)	<i>Quercus lobata</i>	<p>Each tree obtains a fixed amount of surplus energy (Ps) from photosynthesizing, and when the stored energy surpasses a threshold (Lt), the surplus (Cf) is invested in flowers. The pollinated flowers then bear fruit (Ca), whose production cost (Rcf) is proportional to the number of flowers, so that $L_t - C_a = L_t - R_{cf} C_f$.</p> <p>Ca is then scaled on mean daily TMax of April, which is a proxy for phenological asynchrony:</p> <p>$C_a = 0.01 R_{cf} C_f (100 - 10*(8.9 - T_{\text{maxApril}}))$</p>
	Bogdziewicz et al. (2017b) ¹	<i>Quercus ilex</i>	<p>\ln (seed production) = 4.86</p> <ul style="list-style-type: none"> -0.11 length of pollen season_{year0} -0.32 pollen abundance -1.10 spring_{year0} water deficit +0.79 Precip_{January0-June0} +0.21 seed production_{year-1} +0.28 length of pollen season_{year-1} +0.14 spring_{year-1} water deficit -0.97 pollen season₀ x spring₀ water deficit

			$+0.58 \text{ pollen season}_0 \times \text{pollen season}_{-1}$ $+0.54 \text{ spring}_0 \text{ water deficit} \times \text{spring}_{-1} \text{ water deficit}$
	Pearse et al. (2015)	<i>Quercus lobata</i>	Pollen exclusion decreased acorn density by 70% compared to open-pollinated controls; pollen supplementation increased acorn crop by 26-125%
Seed maturation	Tsuruta et al. (2011)	<i>Quercus serrata</i>	Beyond 80 days after pollination (late July), the survival of acorns from artificial self-pollination and non-pollination treatments was 90 to 100% lower than under outcross-pollination
Weather cues	Vacchiano et al. (2017)	<i>Fagus sylvatica</i>	$\text{Logit (masting class [1-5])} = -1.25 \text{ Masting class}_{\text{year-1}}$ $+0.55 \text{ Precipitation}_{\text{June-2}} + 1.27 \text{ TMax}_{\text{July-1}} - 1.05$ $\text{Tmax}_{\text{July-2}} + 0.75 \text{ TMax}_{\text{June-1}}$
Weather vetoes	Bogdziewicz et al. (2017b) ¹	<i>Quercus ilex</i>	$\ln(\text{seed production}) = 4.12$ $+0.19 \text{ mean TMax}_{\text{pollen season0}}$ $+0.19 \text{ TMax}_{\text{pollen season-1}}$ $+0.15 \text{ mean daily Precip}_{\text{pollen season0}}$ $-0.76 \text{ mean daily Precip}_{\text{pollen season-1}}$ $+1.44 \text{ Precip}_{\text{January0-June0}}$ $-0.12 \text{ seed production}_{\text{year-1}}$ $+0.57 \text{ TMax}_{\text{pollen season0}} \times \text{TMax}_{\text{pollen season-1}}$ $+0.55 \text{ seed production}_{\text{year-1}} \times \text{Precip}_{\text{January0-June0}}$ $+0.77 \text{ TMax}_{\text{pollen season0}} \times \text{daily Precip}_{\text{pollen season-1}}$

425 ¹ standardized regression coefficients

426

427 **4 Challenges for modelling masting**

428 *4.1 Options to implement masting in forest models*

429 Based on the review of 175 papers on the use of mast seeding in forest models, we confirmed
430 that masting is an important albeit overlooked process in modelling forest dynamics. The
431 review highlighted the progression in understanding of masting by ecologists, from the
432 description of temporal variability in seed production, to a more mechanistic understanding
433 of what drives the highly fluctuating and synchronous seed production at the population level.
434 Different options are available to “reproduce reproduction” in forest models for masting
435 species, from very simple (formulations for variability, synchrony, frequency) to semi-
436 empirical (seed crop as a function of weather) or completely detailed (explicitly accounting
437 for resources, hormones, and genetic regulation). Complete process-based approaches should
438 have the capability of producing emergent masting patterns without the need to parameterize
439 them externally. However, while it may seem desirable to improve model realism by

440 including a higher number of processes, this would also increase model complexity and
441 introduce more sources of uncertainty.

442 Regarding model complexity, it is clear that proximate causes of masting involve different
443 ecological levels and occur at several scales (from leaf to stand). This presents a challenge for
444 models that operate either at the wider side of the scale spectrum, because they may miss the
445 processes that result in emergent masting behavior, or at the narrower, because process
446 modeled with insufficient accuracy or complexity may fail to generate the desired pattern
447 when the model is up-scaled.

448 Regarding model uncertainty, while some masting processes have been repeatedly described
449 by quantitative algorithms (e.g., resource uptake, allocation and storage), other processes are
450 fairly unclear. For example, if masting needs to be modeled in a process-based way,
451 flowering and pollination should be addressed by algorithms and included either implicitly or
452 explicitly in forest models. So far, only little evidence has been elaborated on the interaction
453 between resource dynamics in the tree and biochemical processes, which renders the
454 implementation of this masting component difficult in forest models. Additionally, nutrient
455 cycles are missing from many forest models (especially P), or may have not been validated as
456 thoroughly or extensively as other processes (e.g., Vega-Nieva et al., 2013). The uncertainty
457 on such a crucial mechanism of masting both in the masting literature and in its
458 implementation in forest models calls for more scientific effort. On the other hand, hormonal
459 and genetics components, which operate as a signaling device, are usually not included
460 explicitly in forest dynamics models, especially when the modelling object is larger than a
461 single tree.

462 For these reasons, modeling masting by patterns (variability, synchrony, or frequency) rather
463 than processes might be the best option currently available for those forest models that
464 operate at spatio-temporal scales incompatible with a process-based implementation of the

465 main masting processes (e.g., “big leaf” global dynamic vegetation models), or when the
466 variables involved are not readily produced by the model or data to parameterize a process-
467 based formulation are lacking.

468 When several formulations of masting patterns and processes are available for some species
469 or biome, the choice on which to include in a forest model depends on the predictor and
470 response variables involved, and on the temporal and spatial resolution of the other model
471 components (e.g., tree vs. stand). The large amount of empirical studies and data accumulated
472 in the literature (e.g., Mencuccini et al., 1995; Schauber et al., 2002; Ascoli et al., 2017)
473 should nevertheless represent a solid base to calibrate masting formulations for many species,
474 biomes, and ecological resolutions, but a minimum number of temporal and spatial
475 observations needs to be assured. Although we have reported examples of masting algorithms
476 for some species and biomes (Table 5), modelers operating in different or novel ecosystems
477 should be cautious when assuming that process-based masting models would work in the
478 same way there. Indeed, some of the mechanisms underlying proximate causes of masting
479 may be highly context-dependent (e.g., significant weather predictors), although the scale at
480 which they vary is not entirely clear yet (Vacchiano et al., 2017). On the other hand, even in
481 the absence of calibration data, quantifying the variability, synchrony, and frequency of
482 masting that emerge from process-based models of seed production may serve as a tool for
483 the verification of model behavior.

484

485 *4.2 Linked patterns, linked processes*

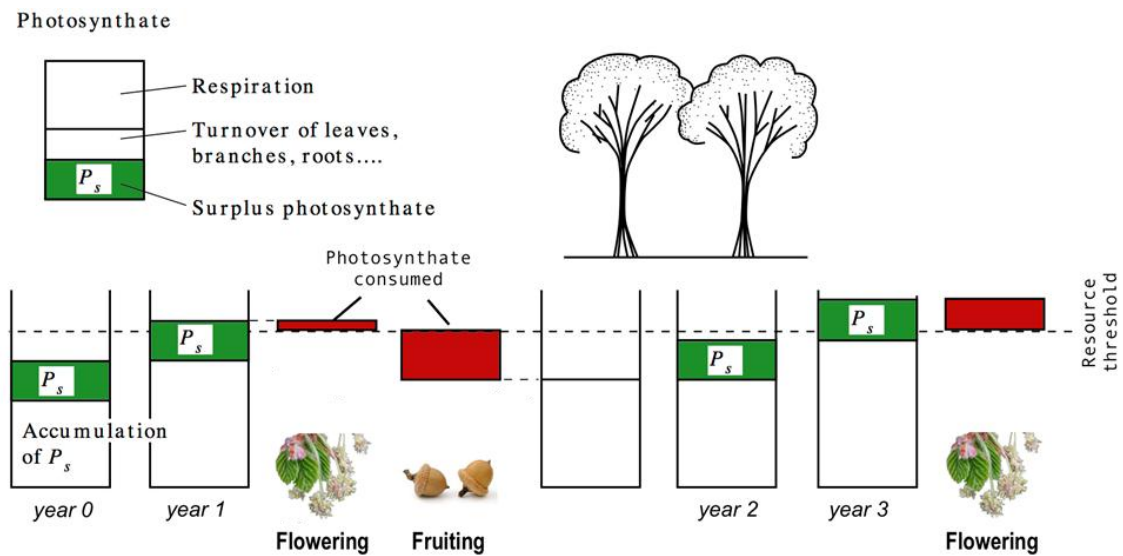
486 Even if pattern-only formulations are used, the strong relationships between such patterns
487 need to be acknowledged. For example: high variability at the population scale is only
488 observable when synchrony is high (Koenig et al., 2003); synchrony is only meaningful if
489 measured over a long period of time (one year’s high synchrony is not enough to define

490 masting); finally, the frequency of mast events is an indirect component of their variability,
491 since rare high seed production events also imply a relatively high variability. Any
492 quantitative description of mast seeding therefore needs to combine the temporal and the
493 spatial dimensions of all masting patterns (Figure 2).

494 Likewise, a process-based formulation must take into consideration that masting is
495 determined by a chain of events (Figure 3). More tests with existing or new forest models are
496 needed to understand whether all such processes must be included to obtain an accurate
497 simulation of mast seeding, and to assess the trade-offs between realism gained and
498 uncertainties introduced when chaining several sub-models together.

499 An example of successful model chain is represented by Resource Budget Models (RBM)
500 (Isagi et al., 1997), which include a strong link among most of the proximate causes of
501 masting. In particular, resource allocation and depletion and pollination processes (pollen
502 coupling combined to density-dependent pollen limitation) are linked in RBM, because
503 pollen availability depends on the amount of resources allocated to flowering (both male and
504 female flowers). In particular, the RBM postulates that that: (i) a plant cannot gain the
505 amount of resources required to produce a high seed production in one year only, but needs to
506 accumulate resources over multiple years until its resources exceed some threshold that
507 allows them to reproduce; (ii) the ratio between the amount of resources used for fruiting and
508 those used for flowering regulates masting patterns, i.e., a higher ratio results in a higher
509 inter-annual variability and lower frequency; (iii) a large seed crop causes resource depletion
510 for the individual plant, which will fail to reproduce the following years as long as its
511 reserves are below the threshold (Figure 6). Theoretical RBM produce an emergent
512 representation of variability and synchrony of masting (Rees et al., 2002; Satake and Iwasa,
513 2002a, 2002b; Venner et al., 2016); noise in synchrony between individuals and populations

514 is taken into account by varying the level of resources gained by each tree and each year
 515 through photosynthesis.

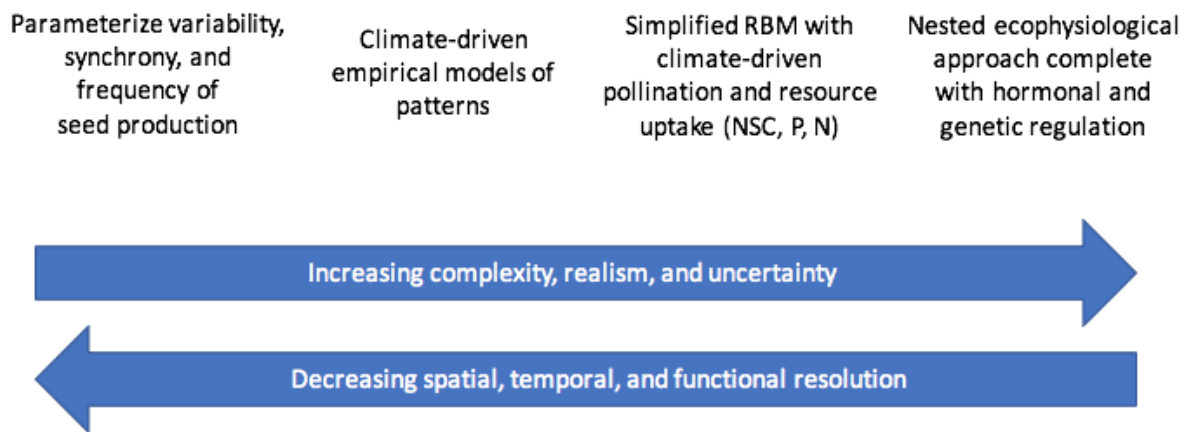


516
 517 Figure 6 – Conceptual structure of a Resource Budget Model for masting (adapted from Isagi
 518 et al., 1997).

519
 520 Yet, RBMs have been tested empirically for very few species (see Crone and Rapp, 2014 for
 521 a review). For example, it is unclear if the resource whose accumulation and depletion are
 522 simulated in RBM is carbon (NSC) or rather some less abundant nutrient such as N or P. In
 523 addition, Pearse et al. (2016) questioned the existence of a resource “threshold” for
 524 reproduction. Should such a threshold exist, most species would have no reproduction in
 525 most years – a hypothesis that lacks empirical confirmation (Monks and Kelly, 2006; Kelly et
 526 al., 2013) as seedfall is often continuously distributed (Kelly, 1994; Koenig and Knops, 2000;
 527 Allen et al., 2012).

528 A proposal for a novel process-based implementation of masting within forest models could
 529 therefore revolve around validating and improving RBMs, possibly integrated with the
 530 knowledge collected about pollen regulation from a biochemical context, dynamics of
 531 limiting resources, and weather influences on both resources and pollination processes as a

532 trigger or signal (Figure 7). Such implementation would also provide grounds to test
 533 hypotheses on the ecological relevance of masting (e.g., after natural disturbance: Ascoli et
 534 al., 2015) and about the effect of climate change on masting and its patterns, a topic which is
 535 still largely controversial due to the interactions between different processes and variables
 536 involved (McKone et al. 1998; Piovesan and Adams, 2001; Jump et al., 2006; Övergaard et
 537 al., 2007; Drobyshev et al., 2010).



538
 539 Figure 7 – Recommendations to include masting in forest models as a function of model
 540 resolution and complexity.

541
 542 Future research on this topic will need to focus on understanding the most important controls
 543 of the masting process cascade, moving away from a “big bucket” approach and focusing on
 544 proximate causes still lacking a formal quantitative treatment (e.g., hormonal induction,
 545 resource allocation), while trying to link with inputs and outputs currently used by forest
 546 models. Also, variation in masting patterns and processes between species/biomes will need
 547 to be better understood, with a special focus on less known ecosystems (e.g., tropical). A
 548 suitable design to advance these ideas and calibrate predictive models would involve the
 549 experimental manipulation of resource dynamics at various life stages of the tree. In
 550 particular, this would address the reproductive cycle, with complementary measurements of
 551 inter-annual variation in climate, resources, as well as reproductive buds, flowers and seeds

552 (Allen et al., 2017). In addition, the design would account for contrasts between functionally
553 different species in the same environment, and for the same species in markedly different
554 environments.

555

556 **Acknowledgements**

557 This work is the result of a working group within the European Union (EU) COST Action
558 PROFOUND (FP1304).

559

560 **Authors' contribution**

561 GV coordinated and conceived the study, with the contribution of all authors during a COST
562 workshop in Turin, Italy. All authors carried out equal parts of the literature review, and
563 contributed to the outline of the manuscript and to the figure concepts during a COST
564 workshop in Cambridge, UK. GV and AHP analyzed the data; PM, ES, and TW compiled the
565 tables; DA, MELB, TC, TW, and GV drew the figures. All authors contributed to discussion
566 of the results and the writing of the manuscript.

567

568

569 **Supplementary material**

570 Table S1 – Studies reviewed in the present paper, metadata, and literature cited

571

572 **References**

573 Abe, T., Tachiki, Y., Kon, H., Nagasaka, A., Onodera, K., Minamino, K., Han, Q., Satake, A.
574 (2016). Parameterisation and validation of a resource budget model for masting using
575 spatiotemporal flowering data of individual trees. *Ecology Letters*, 19(9), 1129-1139.

576 Abrahamson, W. G., Layne, J. N. (2003). Long-term patterns of acorn production for five oak
577 species in xeric Florida uplands. *Ecology*, 84(9), 2476-2492.

- 578 Allen, R. B., Hurst, J. M., Portier, J., Richardson, S. J. (2014). Elevation-dependent responses
579 of tree mast seeding to climate change over 45 years. *Ecology and Evolution*, 4(18), 3525-
580 3537.
- 581 Allen, R. B., Mason, N. W., Richardson, S. J., Platt, K. H. (2012). Synchronicity, periodicity
582 and bimodality in inter-annual tree seed production along an elevation gradient. *Oikos*,
583 121(3), 367-376.
- 584 Allen, R. B., Millard, P., Richardson, S. J. (2017). A resource centric view of climate and
585 mast seeding in trees. *Progress in Botany*, in press. doi: https://doi.org/10.1007/124_2017_8
- 586 Allen, R. B., Platt, K. H. (1990). Annual seedfall variation in *Nothofagus solandri*
587 (*Fagaceae*), Canterbury, New Zealand. *Oikos*, 57(2), 199-206.
- 588 Ascoli, D., Maringer, J., Hacket-Pain, A., Conedera, M., Drobyshev, I., Motta, R., Cirolli, M.,
589 Kantorowicz, W., Zang, C., Schueler, S., Croisé, L. (2017). Two centuries of masting data for
590 European beech and Norway spruce across the European continent. *Ecology*, 98(5), 1473-
591 1473.
- 592 Ascoli, D., Vacchiano, G., Maringer, J., Bovio, G., Conedera, M. (2015). The synchronicity
593 of masting and intermediate severity fire effects favors beech recruitment. *Forest Ecology and*
594 *Management*, 353, 126-135.
- 595 Ascoli, D., Vacchiano, G., Turco, M., Conedera, M., Drobyshev, I., Maringer, J., Motta, R.,
596 Hacket-Pain, A. (2018). Inter-annual and decadal changes in teleconnections drive
597 continental-scale synchronization of tree reproduction. *Nature Communications*, accepted for
598 publication.
- 599 Augspurger, C. K. (2009). Spring 2007 warmth and frost: phenology, damage and refoliation
600 in a temperate deciduous forest. *Functional Ecology*, 23(6), 1031-1039.
- 601 Babst, F., Bouriaud, O., Papale, D., Gielen, B., Janssens, I., Nikinmaa, E., Ibrom, A., Wu, J.,
602 Bernhofer, C., Koestner, B., Gruenwald, T. (2013). Coherence between woody carbon uptake
603 and net ecosystem productivity at five eddy-covariance sites. *American Geophysical Union*,
604 *Fall Meeting 2013*, abstract #B31F-04.
- 605 Bachofen, C., Moser, B., Hoch, G., Ghazoul, J., Wohlgemuth, T. (2017) No carbon “bet
606 hedging” in pine seedlings under prolonged summer drought and elevated CO₂. *Journal of*
607 *Ecology*, in press. doi: 10.1111/1365-2745.12822
- 608 Barringer, B. C., Koenig, W. D., Knops, J. M. (2013). Interrelationships among life-history
609 traits in three California oaks. *Oecologia*, 171(1), 129-139.
- 610 Becerra, J. X., Lloyd, D. G. (1992). Competition-dependent abscission of self-pollinated
611 flowers of *Phormium tenax* (*Agavaceae*): A second action of self-incompatibility at the whole
612 flower level?. *Evolution*, 46(2), 458-469.
- 613 Bernier, G., Périlleux, C. (2005). A physiological overview of the genetics of flowering time
614 control. *Plant Biotechnology Journal*, 3(1), 3-16.
- 615 Bleecker, A. B., Kende, H. (2000). Ethylene: a gaseous signal molecule in plants. *Annual*
616 *Review of Cell and Developmental Biology*, 16(1), 1-18.
- 617 Bluemel, M., Dally, N., Jung, C. (2015). Flowering time regulation in crops—what did we
618 learn from *Arabidopsis*?. *Current Opinion in Biotechnology*, 32, 121-129.
- 619 Bogdziewicz, M., Fernández-Martínez, M., Bonal, R., Belmonte, J., Espelta, J. M. (2017a).
620 The Moran effect and environmental vetoes: phenological synchrony and drought drive seed

- 621 production in a Mediterranean oak. Proceedings of the Royal Society of London B, in press.
622 doi: /10.1098/rspb.2017.1784
- 623 Bogdziewicz, M., Szymkowiak, J., Kasprzyk, I., Grewling, Ł., Borowski, Z., Borycka, K.,
624 Kantorowicz, W., Myszkowska, D., Piotrowicz, K., Ziemianin, M., Pesendorfer, M.B.
625 (2017b). Masting in wind-pollinated trees: system-specific roles of weather and pollination
626 dynamics in driving seed production. *Ecology*, 98(10), 2615-2625.
- 627 Böhlenius, H., Huang, T., Charbonnel-Campaa, L., Brunner, A. M., Jansson, S., Strauss, S.
628 H., Nilsson, O. (2006). CO/FT regulatory module controls timing of flowering and seasonal
629 growth cessation in trees. *Science*, 312(5776), 1040-1043.
- 630 Bossel, H. (1996). TREEDYN3 forest simulation model. *Ecological Modelling*, 90(3), 187-
631 227.
- 632 Buechling, A., Martin, P. H., Canham, C. D., Shepperd, W. D., Battaglia, M. A. (2016).
633 Climate drivers of seed production in *Picea engelmannii* and response to warming
634 temperatures in the southern Rocky Mountains. *Journal of Ecology*, 104(4), 1051-1062.
- 635 Caignard, T., Kremer, A., Firmat, C., Nicolas, M., Venner, S., Delzon, S. (2017). Increasing
636 spring temperatures favor oak seed production in temperate areas. *Scientific Reports*, 7, 8555.
- 637 Canham, C. D., Ruscoe, W. A., Wright, E. F., Wilson, D. J. (2014). Spatial and temporal
638 variation in tree seed production and dispersal in a New Zealand temperate rainforest.
639 *Ecosphere*, 5(4), 1-14.
- 640 Cecich, R. A., Sullivan, N. H. (1999). Influence of weather at time of pollination on acorn
641 production of *Quercus alba* and *Quercus velutina*. *Canadian Journal of Forest Research*,
642 29(12), 1817-1823.
- 643 ChangYang, C. H., Sun, I., Tsai, C. H., Lu, C. L., Hsieh, C. F. (2016). ENSO and frost
644 codetermine decade-long temporal variation in flower and seed production in a subtropical
645 rain forest. *Journal of Ecology*, 104(1), 44-54.
- 646 Clotfelter, E. D., Pedersen, A. B., Cranford, J. A., Ram, N., Snajdr, E. A., Nolan, V.,
647 Ketterson, E. D. (2007). Acorn mast drives long-term dynamics of rodent and songbird
648 populations. *Oecologia*, 154(3), 493-503.
- 649 Collalti, A., Marconi, S., Ibrom, A., Trotta, C., Anav, A., D'Andrea, E., Matteucci, G.,
650 Montagnani, L., Gielen, B., Mammarella, I., Grünwald, T., et al. (2016). Validation of 3D-
651 CMCC Forest Ecosystem Model (v. 5.1) against eddy covariance data for 10 European forest
652 sites. *Geoscientific Model Development*, 9(2), 479-504.
- 653 Crone, E. E., McIntire, E. J., Brodie, J. (2011). What defines mast seeding? Spatio-temporal
654 patterns of cone production by whitebark pine. *Journal of Ecology*, 99(2), 438-444.
- 655 Crone, E. E., Rapp, J. M. (2014). Resource depletion, pollen coupling, and the ecology of
656 mast seeding. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1322(1), 21-34.
- 657 Drobyshev, I., Övergaard, R., Saygin, I., Niklasson, M., Hickler, T., Karlsson, M., Sykes, M.
658 T. (2010). Masting behavior and dendrochronology of European beech (*Fagus sylvatica* L.)
659 in southern Sweden. *Forest Ecology and Management*, 259(11), 2160-2171.
- 660 Fearer, T. M., Norman, G. W., Pack Sr., J. C., Bittner, S., Healy, W. M. (2008). Influence of
661 physiographic and climatic factors on spatial patterns of acorn production in Maryland and
662 Virginia, USA. *Journal of Biogeography*, 35(11), 2012-2025.

- 663 Fernández-Martínez, M., Vicca, S., Janssens, I. A., Espelta, J. M., Peñuelas, J. (2017a). The
664 role of nutrients, productivity and climate in determining tree fruit production in European
665 forests. *New Phytologist*, 213(2), 669-679.
- 666 Fernández-Martínez, M., Bogdziewicz, M., Espelta, J. M., Penuelas, J. (2017b). Nature
667 beyond linearity: meteorological variability and Jensen's inequality can explain mast seeding
668 behavior. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 5, 134.
- 669 Fischer, R., Bohn, F., de Paula, M.D., Dislich, C., Groeneveld, J., Gutiérrez, A.G.,
670 Kazmierczak, M., Knapp, N., Lehmann, S., Paulick, S., Pütz, S. (2016). Lessons learned from
671 applying a forest gap model to understand ecosystem and carbon dynamics of complex
672 tropical forests. *Ecological Modelling*, 326, 124-133.
- 673 Fredriksson, G. M., Wich, S. A. (2006). Frugivory in sun bears (*Helarctos malayanus*) is
674 linked to El Niño-related fluctuations in fruiting phenology, East Kalimantan, Indonesia.
675 *Biological Journal of the Linnean Society*, 89(3), 489-508.
- 676 Fridley, J. D. (2017). Plant energetics and the synthesis of population and ecosystem ecology.
677 *Journal of Ecology*, 105(1), 95-110.
- 678 Fuhrmann, C. M., Sugg, M. M., Konrad, C. E. (2016). Airborne pollen characteristics and the
679 influence of temperature and precipitation in Raleigh, North Carolina, USA (1999–2012).
680 *Aerobiologia*, 32(4), 683-696.
- 681 Goubitz, S., Werger, M. J., Shmida, A., Ne'eman, G. (2002). Cone abortion in *Pinus*
682 *halepensis*: the role of pollen quantity, tree size and cone location. *Oikos*, 97(1), 125-133.
- 683 Greene, D. F., Johnson, E. A. (2004). Modelling the temporal variation in the seed production
684 of North American trees. *Canadian Journal of Forest Research*, 34(1), 65-75.
- 685 Hackett-Pain, A. J., Lageard, J. G. A., Thomas, P. A. Drought and reproductive effort interact
686 to control growth of a temperate broadleaved tree species (*Fagus sylvatica*). *Tree Physiology*,
687 37, 744-754, doi:10.1093/treephys/tpx025 (2017).
- 688 Han, Q., Kabeya, D., Iio, A., Inagaki, Y., Kakubari, Y. (2014). Nitrogen storage dynamics are
689 affected by masting events in *Fagus crenata*. *Oecologia*, 174(3), 679-687.
- 690 Han, Q., Kabeya, D., Iio, A., Kakubari, Y. (2008). Masting in *Fagus crenata* and its influence
691 on the Nitrogen content and dry mass of winter buds. *Tree Physiology*, 28(8), 1269-1276.
- 692 Herrera, C. M., Jordano, P., Guitián, J., Traveset, A. (1998). Annual variability in seed
693 production by woody plants and the masting concept: reassessment of principles and
694 relationship to pollination and seed dispersal. *The American Naturalist*, 152(4), 576-594.
- 695 Hilton, G. M., Packham, J. R. (2003). Variation in the masting of common beech (*Fagus*
696 *sylvatica* L.) in northern Europe over two centuries (1800–2001). *Forestry*, 76(3), 319-328.
- 697 Hoch, G., Keel, S. G. (2006). ¹³C labelling reveals different contributions of photoassimilates
698 from infructescences for fruiting in two temperate forest tree species. *Plant Biology*, 8, 606-
699 614.
- 700 Hoch, G., Siegwolf, R. T., Keel, S. G., Körner, C., Han, Q. (2013). Fruit production in three
701 masting tree species does not rely on stored carbon reserves. *Oecologia*, 171(3), 653-662.
- 702 Holland, J. N., Bronstein, J. L., DeAngelis, D. L. (2004). Testing hypotheses for excess
703 flower production and low fruit-to-flower ratios in a pollinating seed-consuming mutualism.
704 *Oikos*, 105(3), 633-640.

- 705 Houle, G. (1999). Mast seeding in *Abies balsamea*, *Acer saccharum* and *Betula*
706 *alleghaniensis* in an old growth, cold temperate forest of north-eastern North America.
707 *Journal of Ecology*, 87(3), 413-422.
- 708 Ichie, T., Igarashi, S., Yoshida, S., Kenzo, T., Masaki, T., Tayasu, I. (2013). Are stored
709 carbohydrates necessary for seed production in temperate deciduous trees?. *Journal of*
710 *Ecology*, 101(2), 525-531.
- 711 Ichie, T., Nakagawa, M. (2013). Dynamics of mineral nutrient storage for mast reproduction
712 in the tropical emergent tree *Dryobalanops aromatica*. *Ecological Research*, 28(2), 151-158.
- 713 Isagi, Y., Sugimura, K., Sumida, A., Ito, H. (1997). How does masting happen and
714 synchronize?. *Journal of Theoretical Biology*, 187(2), 231-239.
- 715 Jensen, P. G., Demers, C. L., McNulty, S. A., Jakubas, W. J., Humphries, M. M. (2012).
716 Marten and fisher responses to fluctuations in prey populations and mast crops in the northern
717 hardwood forest. *The Journal of Wildlife Management*, 76(3), 489-502.
- 718 Jump, A. S., A.S., Hunt, J.M., Martínez-Izquierdo, J.A., Penuelas, J. (2006). Natural selection
719 and climate change: temperature-linked spatial and temporal trends in gene frequency in
720 *Fagus sylvatica*. *Molecular Ecology* 15, 3469-3480.
- 721 Kasprzyk, I., Ortyl, B., Dulaska-Jeż, A. (2014). Relationships among weather parameters,
722 airborne pollen and seed crops of *Fagus* and *Quercus* in Poland. *Agricultural and Forest*
723 *Meteorology*, 197, 111-122.
- 724 Kelly, D. (1994). The evolutionary ecology of mast seeding. *Trends in Ecology and*
725 *Evolution*, 9(12), 465-470.
- 726 Kelly, D., Geldenhuys, A., James, A., Penelope Holland, E., Plank, M.J., Brockie, R.E.,
727 Cowan, P.E., Harper, G.A., Lee, W.G., Maitland, M.J., Mark, A.F. (2013). Of mast and mean:
728 differential-temperature cue makes mast seeding insensitive to climate change. *Ecology*
729 *Letters*, 16(1), 90-98.
- 730 Kelly, D., Sork, V. L. (2002). Mast seeding in perennial plants: why, how, where?. *Annual*
731 *Review of Ecology and Systematics*, 33(1), 427-447.
- 732 Knapp, E. E., Goedde, M. A., Rice, K. J. (2001). Pollen-limited reproduction in blue oak:
733 implications for wind pollination in fragmented populations. *Oecologia*, 128, 48-55.
- 734 Koenig, W. D. (2002). Global patterns of environmental synchrony and the Moran effect.
735 *Ecography*, 25(3), 283-288.
- 736 Koenig, W. D., Ashley, M. V. (2003). Is pollen limited? The answer is blowin' in the wind.
737 *Trends in Ecology and Evolution*, 18(4), 157-159.
- 738 Koenig, W. D., Funk, K. A., Kraft, T. S., Carmen, W. J., Barringer, B. C., Knops, J. M.
739 (2012). Stabilizing selection for within-season flowering phenology confirms pollen
740 limitation in a wind-pollinated tree. *Journal of Ecology*, 100(3), 758-763.
- 741 Koenig, W. D., Kelly, D., Sork, V. L., Duncan, R. P., Elkinton, J. S., Peltonen, M. S., Westfall,
742 R. D. (2003). Dissecting components of population-level variation in seed production and the
743 evolution of masting behavior. *Oikos*, 102(3), 581-591.
- 744 Koenig, W. D., Knops, J. M. (2000). Patterns of annual seed production by northern
745 hemisphere trees: a global perspective. *The American Naturalist*, 155(1), 59-69.
- 746 Koenig, W. D., Knops, J. M. (2005). The mystery of masting in trees. *American Scientist*,
747 93(4), 340-347.

- 748 Koenig, W. D., Knops, J. M., Carmen, W. J., Pearse, I. S. (2015). What drives masting? The
749 phenological synchrony hypothesis. *Ecology*, 96(1), 184-192.
- 750 Köhler, P., Huth, A. (2004). Simulating growth dynamics in a South-East Asian rainforest
751 threatened by recruitment shortage and tree harvesting. *Climate Change* 67, 95–117.
- 752 Kohyama, T. (2005). Scaling up from shifting-gap mosaic to geographic distribution in the
753 modeling of forest dynamics. *Ecological Research*, 20(3), 305–312.
- 754 Kon, H., Noda, T., Terazawa, K., Koyama, H., Yasaka, M. (2005). Proximate factors causing
755 mast seeding in *Fagus crenata*: the effects of resource level and weather cues. *Botany*,
756 83(11), 1402-1409.
- 757 Körner, C. (2003). Carbon limitation in trees. *Journal of Ecology*, 91(1), 4-17.
- 758 Kramer, K., Bruinderink, G. G., Prins, H. H. T. (2006). Spatial interactions between ungulate
759 herbivory and forest management. *Forest Ecology and Management*, 226(1-3), 238-247.
- 760 Kramer, K., Buiteveld, J., Forstreuter, M., Geburek, T., Leonardi, S., Menozzi, P., Povillon,
761 F., Schelhaas, M.J., du Cros, E.T., Vendramin, G.G., Van der Werf, D. (2008). Bridging the
762 gap between ecophysiological and genetic knowledge to assess the adaptive potential of
763 European beech. *Ecological Modelling*, 216(3-4), 333-353.
- 764 Lamontagne, J. M., Boutin, S. (2007). Local-scale synchrony and variability in mast seed
765 production patterns of *Picea glauca*. *Journal of Ecology*, 95(5), 991-1000.
- 766 Lázaro, A., Traveset, A., Méndez, M. (2006). Masting in *Buxus balearica*: assessing fruiting
767 patterns and processes at a large spatial scale. *Oikos*, 115(2), 229-240.
- 768 Lyles, D., Rosenstock, T. S., Hastings, A. (2015). Plant reproduction and environmental
769 noise: How do plants do it?. *Journal of Theoretical Biology*, 371, 137-144.
- 770 McKone, M. J., Kelly, D., Lee, W. G. (1998). Effect of climate change on mast-seeding
771 species: frequency of mass flowering and escape from specialist insect seed predators. *Global*
772 *Change Biology*, 4(6), 591-596.
- 773 McShea, W. J. (2000). The influence of acorn crops on annual variation in rodent and bird
774 populations. *Ecology*, 81(1), 228-238.
- 775 Mencuccini, M., Piussi, P., Zanzi Sulli, A. (1995). Thirty years of seed production in a
776 subalpine Norway spruce forest: patterns of temporal and spatial variation. *Forest Ecology*
777 *and Management*, 76(1-3), 109-125.
- 778 Millard, P., Grelet, G. A. (2010). Nitrogen storage and remobilization by trees:
779 ecophysiological relevance in a changing world. *Tree Physiology*, 30(9), 1083-95.
- 780 Miyazaki, Y. (2013). Dynamics of internal carbon resources during masting behavior in trees.
781 *Ecological Research*, 28(2), 143-150.
- 782 Miyazaki, Y., Maruyama, Y., Chiba, Y., Kobayashi, M.J., Joseph, B., Shimizu, K.K.,
783 Mochida, K., Hiura, T., Kon, H., Satake, A. (2014). Nitrogen as a key regulator of flowering
784 in *Fagus crenata*: understanding the physiological mechanism of masting by gene expression
785 analysis. *Ecology Letters*, 17(10), 1299-1309.
- 786 Monks, A., Kelly, D. (2006). Testing the resource-matching hypothesis in the mast seeding
787 tree *Nothofagus truncata* (*Fagaceae*). *Austral Ecology*, 31(3), 366-375.
- 788 Monserud, R. A. (2003). Evaluating forest models in a sustainable forest management
789 context. *Forest Biometry, Modelling and Information Sciences*, 1(1), 35-47.

790 Montesinos, D., García-Fayos, P., Verdú, M. (2012). Masting uncoupling: mast seeding does
791 not follow all mast flowering episodes in a dioecious juniper tree. *Oikos*, 121(11), 1725-1736.

792 Moreira, X., Abdala-Roberts, L., Linhart, Y. B., Mooney, K. A. (2015). Effects of climate on
793 reproductive investment in a masting species: assessment of climatic predictors and
794 underlying mechanisms. *Journal of Ecology*, 103(5), 1317-1324.

795 Muller-Haubold, H., Hertel, D., Seidel, D., Knutzen, F., Leuschner, C. (2013). Climate
796 responses of aboveground productivity and allocation in *Fagus sylvatica*: a transect study in
797 mature forests. *Ecosystems*, 16(8), 1498-1516.

798 Mund, M., Kutsch, W.L., Wirth, C., Kahl, T., Knohl, A., Skomarkova, M.V., Schulze, E.D.
799 (2010). The influence of climate and fructification on the inter-annual variability of stem
800 growth and net primary productivity in an old-growth, mixed beech forest. *Tree*
801 *Physiology*, 30(6), 689-704.

802 Newbery, D. M., Chuyong, G. B., Zimmermann, L. (2006). Mast fruiting of large
803 ectomycorrhizal African rain forest trees: importance of dry season intensity, and the
804 resource-limitation hypothesis. *New Phytologist*, 170(3), 561-579.

805 Nilsson, S. G., Wastljung, U. (1987). Seed predation and cross-pollination in mast-seeding
806 beech (*Fagus sylvatica*) patches. *Ecology*, 68(2), 260-265.

807 Norton, D. A., Kelly, D. (1988). Mast seeding over 33 years by *Dacrydium cupressinum*
808 Lamb. (rimu) (*Podocarpaceae*) in New Zealand: the importance of economies of scale.
809 *Functional Ecology*, 2(3), 399-408.

810 Nussbaumer, A., Waldner, P., Etzold, S., Gessler, A., Benham, S., Thomsen, I. M., Jørgensen,
811 B.B., Timmermann, V., Verstraeten, A., Sioen, G., Rautio, P. (2016). Patterns of mast fruiting
812 of common beech, sessile and common oak, Norway spruce and Scots pine in Central and
813 Northern Europe. *Forest Ecology and Management*, 363, 237-251.

814 Ostfeld, R. (1997). The ecology of Lyme-disease risk complex interactions between
815 seemingly unconnected phenomena determine risk of exposure to this expanding disease.
816 *American Scientist*, 85, 338-346.

817 Ostfeld, R. S., Jones, C. G., Wolff, J. O. (1996). Of mice and mast. *BioScience*, 46(5), 323-
818 330.

819 Övergaard, R., Gemmel, P., Karlsson, M. (2007). Effects of weather conditions on mast year
820 frequency in beech (*Fagus sylvatica* L.) in Sweden. *Forestry*, 80(5), 555-565.

821 Pearse, I. S., Koenig, W. D., Funk, K. A., Pesendorfer, M. B. (2015). Pollen limitation and
822 flower abortion in a wind-pollinated, masting tree. *Ecology*, 96(2), 587-593.

823 Pearse, I. S., Koenig, W. D., Kelly, D. (2016). Mechanisms of mast seeding: resources,
824 weather, cues, and selection. *New Phytologist*, 212(3), 546-562.

825 Pearse, I. S., Koenig, W. D., Knops, J. M. (2014). Cues versus proximate drivers: testing the
826 mechanism behind masting behavior. *Oikos*, 123(2), 179-184.

827 PérezRamos, I. M., Padilla-Díaz, C. M., Koenig, W. D., Maranon, T. (2015). Environmental
828 drivers of mast-seeding in Mediterranean oak species: does leaf habit matter?. *Journal of*
829 *Ecology*, 103(3), 691-700.

830 Pesendorfer, M. B., Koenig, W. D., Pearse, I. S., Knops, J. M., Funk, K. A. (2016). Individual
831 resource limitation combined with population-wide pollen availability drives masting in the
832 valley oak (*Quercus lobata*). *Journal of Ecology*, 104(3), 637-645.

- 833 Pidek, I. A., Svitavská-Svobodová, H., van der Knaap, W. O., Noryśkiewicz, A. M.,
834 Filbrandt-Czaja, A., Noryśkiewicz, B., Latałowa, M., Zimny, M., Święta-Musznicka, J.,
835 Bozilova, E., Tonkov, S. (2010). Variation in annual pollen accumulation rates of *Fagus* along
836 a N–S transect in Europe based on pollen traps. *Vegetation History and*
837 *Archaeobotany*, 19(4), 259-270.
- 838 Piovesan, G., Adams, J. M. (2001). Masting behavior in beech: linking reproduction and
839 climatic variation. *Canadian Journal of Botany*, 79(9), 1039-1047.
- 840 Piovesan, G., Adams, J. M. (2005). The evolutionary ecology of masting: does the
841 environmental prediction hypothesis also have a role in mesic temperate forests?. *Ecological*
842 *Research*, 20(6), 739-743.
- 843 Piovesan, G., Schirone, B. (2000). Winter North Atlantic oscillation effects on the tree rings
844 of the Italian beech (*Fagus sylvatica* L.). *International Journal of Biometeorology*, 44(3),
845 121-127.
- 846 Poncet, B. N., Garat, P., Manel, S., Bru, N., Sachet, J. M., Roques, A., Despres, L. (2009).
847 The effect of climate on masting in the European larch and on its specific seed predators.
848 *Oecologia*, 159(3), 527-537.
- 849 Price, D. T., Zimmermann, N. E., Van Der Meer, P. J., Lexer, M. J., Leadley, P., Jorritsma, I.
850 T., Schaber, J., Clark, D.F., Lasch, P., McNulty, S., Wu, J. (2001). Regeneration in gap
851 models: priority issues for studying forest responses to climate change. *Climatic*
852 *Change*, 51(3-4), 475-508.
- 853 Proe, M. F., Millard, P. (1995). Effect of P supply upon seasonal growth and internal cycling
854 of P in Sitka spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) seedlings. *Plant and Soil*, 168(1), 313-
855 317.
- 856 Rammig, A., Fahse, L., Bebi, P., Bugmann, H. (2007). Wind disturbance in mountain forests:
857 Simulating the impact of management strategies, seed supply, and ungulate browsing on
858 forest succession. *Forest Ecology and Management*, 242(2), 142–154.
- 859 Rapp, J. M., McIntire, E. J., Crone, E. E. (2013). Sex allocation, pollen limitation and
860 masting in whitebark pine. *Journal of Ecology*, 101(5), 1345-1352.
- 861 Reekie, E. G., Bazzaz, F. A. (1987). Reproductive effort in plants. 3. Effect of reproduction
862 on vegetative activity. *The American Naturalist*, 129(6), 907-919.
- 863 Rees, M., Kelly, D., Bjørnstad, O. (2002). Snow tussocks, chaos, and the evolution of mast
864 seeding. *The American Naturalist*, 160(1), 44–59.
- 865 Richardson, S. J., Allen, R. B., Whitehead, D., Carswell, F. E., Ruscoe, W. A., Platt, K. H.
866 (2005). Climate and net carbon availability determine temporal patterns of seed production
867 by *Nothofagus*. *Ecology*, 86(4), 972-981.
- 868 Ruan, Y. L., Patrick, J. W., Bouzayen, M., Osorio, S., Fernie, A. R. (2012). Molecular
869 regulation of seed and fruit set. *Trends in Plant Science*, 17(11), 656-665.
- 870 Sabit, M., Ramos, J. D., Alejandro, G. J., Galan, C. (2016). Seasonal distribution of airborne
871 pollen in Manila, Philippines, and the effect of meteorological factors to its daily
872 concentrations. *Aerobiologia*, 32(3), 375-383.
- 873 Sakai, S., Harrison, R. D., Momose, K., Kuraji, K., Nagamasu, H., Yasunari, T., Chong, L.,
874 Nakashizuka, T. (2006). Irregular droughts trigger mass flowering in aseasonal tropical
875 forests in Asia. *American Journal of Botany*, 93(8), 1134-1139.

- 876 Sala, A., Hopping, K., McIntire, E. J., Delzon, S., Crone, E. E. (2012). Masting in whitebark
877 pine (*Pinus albicaulis*) depletes stored nutrients. *New Phytologist*, 196(1), 189-199.
- 878 Satake, A., Iwasa, Y. (2000). Pollen coupling of forest trees: forming synchronized and
879 periodic reproduction out of chaos. *Journal of Theoretical Biology*, 203(2), 63-84.
- 880 Satake, A., Iwasa, Y. (2002a). The synchronized and intermittent reproduction of forest trees
881 is mediated by the Moran effect, only in association with pollen coupling. *Journal of Ecology*,
882 90(5), 830-838.
- 883 Satake, A., Iwasa, Y. (2002b). Spatially limited pollen exchange and a long-range
884 synchronization of trees. *Ecology*, 83(4), 993-1005.
- 885 Schaubert, E. M., Kelly, D., Turchin, P., Simon, C., Lee, W. G., Allen, R. B., Payton, I. J.,
886 Wilson, P. R., Cowan, P. E., Brockie, R. E. (2002). Masting by eighteen New Zealand plant
887 species: the role of temperature as a synchronizing cue. *Ecology*, 83(5), 1214-1225.
- 888 Sedgley, M., Griffin, A. R. (1989). *Sexual reproduction of tree crops*. Academic Press, New York.
- 889 Selås, V. (2017). Autumn irruptions of Eurasian Jay (*Garrulus glandarius*) in Norway in
890 relation to acorn production and weather. *Ornis Fennica*, 94(2), 92-100.
- 891 Selås, V., Piovesan, G., Adams, J. M., Bernabei, M. (2002). Climatic factors controlling
892 reproduction and growth of Norway spruce in southern Norway. *Canadian Journal of Forest*
893 *Research*, 32(2), 217-225.
- 894 Smaill, S. J., Clinton, P. W., Allen, R. B., Davis, M. R. (2011). Climate cues and resources
895 interact to determine seed production by a masting species. *Journal of Ecology*, 99(3), 870-
896 877.
- 897 Smith, C. C., Hamrick, J. L., Kramer, C. L. (1990). The advantage of mast years for wind
898 pollination. *American Naturalist*, 136(2), 154-166.
- 899 Snell, R.S., Cowling, S.A. (2015). Consideration of dispersal processes and northern refugia
900 can improve our understanding of past plant migration rates in North America. *Journal of*
901 *Biogeography*, 42(9), 1677-1688.
- 902 Sork, V. L. (1993). Evolutionary ecology of mast-seeding in temperate and tropical oaks
903 (*Quercus* spp.). *Plant Ecology*, 107(1), 133-147.
- 904 Sork, V. L., Bramble, J. E. (1993). Prediction of acorn crops in three species of North
905 American oaks: *Quercus alba*, *Q. rubra* and *Q. velutina*. *Annals of Forest Science*, 50
906 (Supplement), 128-136.
- 907 Sork, V. L., Bramble, J., Sexton, O. (1993). Ecology of mast-fruiting in three species of North
908 American deciduous oaks. *Ecology*, 74(2), 528-541.
- 909 Stephenson, A. G. (1981). Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate
910 functions. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 12(1), 253-279.
- 911 Suzuki, W., Osumi, K., Masaki, T. (2005). Mast seeding and its spatial scale in *Fagus crenata*
912 in northern Japan. *Forest Ecology and Management*, 205(1), 105-116.
- 913 Tanentzap, A. J., Lee, W. G., Coomes, D. A., Mason, N. W. (2014). Masting, mixtures and
914 modes: are two models better than one?. *Oikos*, 123(9), 1144-1152.
- 915 Taylor, A. R., Chen, H. Y., VanDamme, L. (2009). A review of forest succession models and
916 their suitability for forest management planning. *Forest Science*, 55(1), 23-36.

- 917 Tersago, K., Verhagen, R., Servais, A., Heyman, P., Ducoffre, G., Leirs, H. (2009).
 918 Hantavirus disease (*nephropathia epidemica*) in Belgium: effects of tree seed production and
 919 climate. *Epidemiology and Infection*, 137(2), 250-256.
- 920 Thomas, S. C. (2011). Age-related changes in tree growth and functional biology: the role of
 921 reproduction. In: Meinzer, F., Lachenbruch, B., Dawson, T. (eds.) Size- and age-related
 922 changes in tree structure and function. Springer, New York, pp. 33-64.
- 923 Tsuruta, M., Kato, S., Mukai, Y. (2011). Timing of premature acorn abortion in *Quercus*
 924 *serrata* Thunb. Is related to mating pattern, fruit size, and internal fruit development. *Journal*
 925 *of Forest Research*, 16(6), 492-499.
- 926 Turnbull, C. (2011). Long-distance regulation of flowering time. *Journal of Experimental*
 927 *Botany*, 62(13), 4399-4413.
- 928 Vacchiano, G., Hacket-Pain, A., Turco, M., Motta, R., Maringer, J., Conedera, M.,
 929 Drobyshev, I., Ascoli, D. (2017). Spatial patterns and broad-scale weather cues of beech mast
 930 seeding in Europe. *New Phytologist*, 215(2), 595-608.
- 931 Vander Wall, S. B. (2001). The evolutionary ecology of nut dispersal. *The Botanical Review*,
 932 67(1), 74-117.
- 933 Van Schaik, C. P., Terborgh, J. W., Wright, S. J. (1993). The phenology of tropical forests:
 934 adaptive significance and consequences for primary consumers. *Annual Review of Ecology*
 935 *and Systematics*, 24(1), 353-377.
- 936 Vega-Nieva, D.J., Tomé, M., Tomé, J., Fontes, L., Soares, P., Ortiz, L., Basurco, F., Rodríguez-
 937 Soalleiro, R. (2013). Developing a general method for the estimation of the fertility rating
 938 parameter of the 3-PG model: application in *Eucalyptus globulus* plantations in northwestern
 939 Spain. *Canadian Journal of Forest Research*, 43(7), 627-636.
- 940 Venner, S., Siberchicot, A., Péliisson, P.F., Schermer, E., Bel-Venner, M.C., Nicolas, M.,
 941 Débias, F., Miele, V., Sauzet, S., Boulanger, V., Delzon, S. (2016). Fruiting strategies of
 942 perennial plants: a resource budget model to couple mast seeding to pollination efficiency
 943 and resource allocation strategies. *The American Naturalist*, 188(1), 66-75.
- 944 Wahl, V., Ponnu, J., Schlereth, A., Arrivault, S., Langenecker, T., Franke, A., Feil, R., Lunn,
 945 J.E., Stitt, M., Schmid, M. (2013). Regulation of flowering by trehalose-6-phosphate
 946 signaling in *Arabidopsis thaliana*. *Science*, 339(6120), 704-707.
- 947 Wallentin, G., Tappeiner, U., Strobl, J., Tasser, E. (2008). Understanding alpine tree line
 948 dynamics: An individual-based model. *Ecological Modelling*, 218(3), 235-246.
- 949 Wiley, E., Helliker, B. (2012). A re-evaluation of carbon storage in trees lends greater support
 950 for carbon limitation to growth. *New Phytologist*, 195(2), 285-289.
- 951 Wright, S. J., Van Schaik, C. P. (1994). Light and the phenology of tropical trees. *The*
 952 *American Naturalist*, 143(1), 192-199.
- 953 Yasumura, Y., Hikosaka, K., Hirose, T. (2006). Resource allocation to vegetative and
 954 reproductive growth in relation to mast seeding in *Fagus crenata*. *Forest Ecology and*
 955 *Management*, 229(1), 228-233.
- 956 Zwolak, R., Bogdziewicz, M., Rychlik, L. (2016). Beech masting modifies the response of
 957 rodents to forest management. *Forest Ecology and Management*, 359, 268-276.
- 958

Résumé :

La dynamique et le fonctionnement des écosystèmes forestiers dépendent fortement de la reproduction des arbres. Ainsi de nombreux travaux se sont intéressés aux fortes fluctuations interannuelles à la fois synchrones et non prévisibles des productions de graines, mais très peu d'études ont pu caractériser la sensibilité aux variables climatiques et le déterminisme des traits de reproduction. Dans le cadre de cette thèse nous avons étudié la reproduction de deux espèces de chênes tempérés européens (*Quercus petraea* et *Quercus robur*) avec pour objectifs (i) d'évaluer l'évolution des traits de reproduction au cours des deux dernières décennies, notamment vis-à-vis des changements de température, (ii) d'estimer la contribution des facteurs génétiques et environnementaux à la variation de ces traits le long de gradients environnementaux et enfin (iii) d'estimer l'héritabilité des traits de reproduction ainsi que d'identifier les régions du génome qui leurs sont associées. A partir de suivis long-termes de l'effort de reproduction « in situ » sur tout le territoire de France métropolitaine, nous avons pu mettre en évidence une augmentation significative de la production fructifère des chênes au cours des 14 dernières années. Ces accroissements du nombre et de la taille des glands sont fortement corrélés à l'augmentation des températures printanières. Cette sensibilité à la température a par ailleurs pu être confirmée grâce à un dispositif indépendant installé le long de gradients altitudinaux dans les Pyrénées. Nos résultats montrent également une différenciation génétique entre les populations provenant du gradient altitudinal et une opposition de signes entre les clines génétique et phénotypique « contre-gradient » pour les deux traits de reproduction étudiés. Contrairement aux traits de croissance pour lesquels nous observons un « co-gradient », le « contre gradient » observé pour la reproduction suggère que les variations génétiques contrecarrent en partie la forte plasticité environnementale, minimisant ainsi la tendance (ou patron) de l'effort de reproduction avec la température. Enfin, nous avons observé une forte héritabilité pour chacun des traits de reproduction chez le chêne pédonculé dans une famille de pleins frères, confirmant l'existence d'un déterminisme génétique évoqué précédemment. De plus, nous avons identifié pour la première fois chez les arbres forestiers, des locus à caractère quantitatif (QTLs) associés à la reproduction du chêne. Ces résultats suggèrent qu'en réponse à des changements environnementaux, les traits de reproduction ont la capacité de répondre à la sélection et de faciliter l'adaptation locale, et ainsi apportent de nouvelles perspectives dans l'étude de la réponse des arbres forestiers aux changements climatiques.

Mots clés : *Reproduction, Forêt, Chêne, Adaptation, Gradient environnemental, Changement climatique*

Abstract:

Forest ecosystem dynamics closely depend on tree reproduction. Many studies have investigated the synchronous and non-predictable year-to-year variability of seed production, characteristic of masting species. However, little is known about the sensitivity of tree reproduction to climate variables and to which extent this phenotypic variability is genetically and/or environmentally driven. We intensively studied the reproduction of two European temperate oaks and our aims were (i) to characterize the change in reproductive traits over the last two decades, (ii) to assess the determinism of their variations along environmental gradients and (iii) to estimate the heritability of reproductive traits and identify the regions of their genome related to reproduction. We were able to show a dramatic increase in seed production over the last 14 years. This increase in seed production and size was significantly correlated with increasing spring temperatures. We then confirmed this sensitivity to temperature by studying the reproduction of oak populations growing along the elevation gradient of the Pyrenees. Based on a common garden approach, we then showed significant genetic differentiation between oak provenances and demonstrated that the genetic and phenotypic clines for the reproductive traits observed along the environmental gradient have opposite signs (counter-gradient). Contrary to growth traits, for which genetic variation parallels phenotypic variation, the counter-gradient observed for reproduction-related traits suggested that genetic variation partly counteracts the phenotypic effect of temperature, moderating the change in reproductive effort according to temperature. Finally, using a full-sib family where reproduction was monitored during four consecutive years, we found a high heritability of reproductive traits and showed high genetic differentiation between trees of a same population, which confirms the significant genetic determinism observed earlier. Furthermore, we were able to identify for the first time in forest trees quantitative trait loci (QTLs) associated with seed production and size. Our findings show that reproduction-related traits may undergo evolutionary changes under selective pressure and may be determinant for tree adaptation in response to environmental changes.

Key words: *Reproduction, Forest, Oak, Adaptation, Environmental Gradient, Climate change*