

Schlussbericht des Projektes

Ecological response of beech and Norway spruce to climate change along an altitudinal gradient (CLIMARBRE)

Réponse écologique du hêtre et de l'épicéa au changement climatique le long d'un gradient altitudinal (CLIMARBRE)

im Forschungsprogramm Wald und Klimawandel

Alexandre Buttler (chef de projet), Constant Signarbieux (co-resp. scient.),
Pierre Vollenweider (co-resp. scient.), Paula Sangines (PhD student)



Site de transplantation du projet Climarbre à St-Georges (1010 m, VD)

Novembre, 2016



Laboratoire des Systèmes écologiques (ECOS)

Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage WSL, Site Lausanne

Ecole polytechnique fédérale Lausanne

Autoren

Alexandre Buttler^{1,2}, Paula Sanginés^{1,2}, Pierre Vollenweider³, Constant Signarbieux^{1,2}

¹ *Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne EPFL, School of Architecture, Civil and Environmental Engineering ENAC, Laboratory of ecological systems ECOS, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland*

² *Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Site Lausanne, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland.*

³ *Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Site Birmensdorf, 8903 Birmensdorf, Switzerland*

Ein Projekt-Schlussbericht aus dem Forschungsprogramm «Wald und Klimawandel» von BAFU und WSL

(www.wsl.ch/wald_klima)

Projektlaufzeit: 1.12.2012 – 31.12.2016.

Zitierung

Buttler, A.; Sanginés, P.; Vollenweider, P.; Signarbieux, C. 2016. Ecological response of beech and Norway spruce to climate change along an altitudinal gradient. Ecole polytechnique fédérale Lausanne EPFL, Institut fédéral de recherches WSL, 39 pp + annexes.

Im pdf-Format zu beziehen über www.wsl.ch/wald_klima

Nous tenons à remercier le Forschungsprogramm Wald und Klimawandel (BAFU-WSL), le Wald- und Holzforschungsfonds (BAFU), ainsi que le Prof. J.-C. Badoux de la Fondation les Bois Chamblard (EPFL) pour les soutiens financiers et logistiques du projet, ainsi que les nombreuses personnes qui ont contribué au succès du projet, à savoir les responsables et gestionnaires forestiers, J.-F. Métraux, inspecteur cantonal (VD) des forêts, MM. E. Tréboux et M.A. Silva, respectivement inspecteurs forestiers des arrondissements 15 et 14 du Canton de Vaud, les responsables de l'Arboretum national du Vallon de l'Aubonne (MM. Jean-Paul Dégletane et Pascal Sigg), le Service Parcs et Domaines de la Ville de Lausanne (M. Schmidt) et les agriculteurs propriétaires ou gestionnaires (MM. Jean-Claude Pittet, Guy Berset). Nous exprimons aussi notre reconnaissance aux nombreux étudiants qui ont contribué à ce projet dans le cadre de stages ou travaux de master, à savoir Claire Berthelon (Univ. Nancy), Félix Hernandez (Erasmus, Université Polytechnique Madrid), Nadia Mudry (Univ. Neuchâtel), Ester Toledano (Erasmus, Université Polytechnique Madrid), Rocio Mijancos (Erasmus, Université Polytechnique Madrid), Matthieu Bidon (Univ. Bordeaux), Robin Hobkirk (EPFL) et François Pontvianne (EPFL). Nos remerciements vont aussi à nos collègues Rodolphe Schlaepfer (EPFL), Vincent Jassey (EPFL et WSL), Yann Vitasse (Univ. Bâle et WSL), Yongshou Fu (University Antwerp), Terry Menard (WSL), Tom Wolgemuth (WSL) et Rita Bütler (WSL), ainsi qu'aux civilistes Sylvain Vitali (WSL), Lucas Wettstein, (WSL), Adrian Pulgarin (WSL) et Timothée Lottaz (WSL).

Inhalt - Table des matières

Zusammenfassung	p.4
Résumé	p.6
Summary	p.8
1. Introduction	p.10
1.1 Etat des connaissances	p.10
1.2 Problématique, objectifs et hypothèses du projet	p.12
2. Matériel et méthodes	p.13
2.1 Site d'étude et gradient altitudinal	p.13
2.2 Plan expérimental	p.13
2.3 Mesures biométriques	p.15
2.4 Mesures de la biomasse	p.15
2.5 Mesures écophysiological	p.15
2.6 Mesures phénologiques et de l'état chimique des feuilles	p.16
2.7 Mesures morpho-anatomiques	p.17
2.8 Analyse des sols	p.17
2.9 Déroulement du projet	p.17
3. Résultats	p.19
3.1 Effet climatique de la transplantation	p.19
3.2 Modèle allométrique de la croissance et biomasse	p.20
3.3 Activité photosynthétique	p.24
3.4 Phénologie des feuilles du hêtre	p.25
3.5 Effet « carry-over » chez le hêtre	p.26
3.6 Modifications macro- et micromorphologiques du feuillage	p.27
3.7 Activité microbienne des sols en pots	p.28
3.8 Présentation des résultats et communications	p.30
4. Discussion	p.32
5. Littérature	p.35
6. Annexes	p.39

Zusammenfassung

Ziel des CLIMARBRE Projektes war es, für Fichten und Buchen, beides ökonomisch wie auch landschaftlich wichtige Baumarten im Jura, Baumwachstum, Phänologie, Blatt Morphologie und Anatomie, sowie die durch Klimawandel verursachten ökophysiologischen Reaktionen zu analysieren. Dabei standen junge Bäume beider Baumarten im Fokus (mittlere Höhe von 33 cm für die Buche, und 31 cm für die Fichte, für ein Alter von 4 bis 8 Jahren), zumal deren Fähigkeit sich unter den veränderten klimatischen Verhältnissen zu etablieren und anzupassen ausschlaggebend ist für die Zukunft der jurassischen Wytweiden Landschaft und für deren adaptive Bewirtschaftung.

Entlang eines Höhengradienten im Kanton Waadt wurde der Klimaeffekt auf den Zuwachs und die Anpassungsfähigkeit von Jungbäumen untersucht. Dafür wurden junge Buchen und Fichten von einem Standort auf 1350 m ü. M. zusammen mit Boden ausgegraben und weiter unten auf wärmeren und trockeneren Standorten wieder eingepflanzt (auf 1010, 570 und 395 m ü. M.). Mit diesem Vorgehen konnten in etwa drei Varianten von IPCC Klima Szenarios (A1B und A2) simuliert werden. Die klimatischen Unterschiede zwischen den Standorten beliefen sich bei der Temperatur auf über 6°C und beim Niederschlag auf bis zu 47% (zwischen höchst und tiefst gelegenen Standort) während der Vegetationsperiode. Der unterschiedliche Trockenstress zwischen den verschiedenen Höhen über Meer kann am besten mittels Sättigungsdefizit (VPD) zum Ausdruck gebracht werden. Während das Sättigungsdefizit im Jahr 2015 auf allen Höhenstufen hoch war (trocken, zwischen 119 (auf 1350 m ü. M.) und 456 Tagen (auf 570 m ü. M.) über 1.5 KPa während der Vegetationsperiode) war das Sättigungsdefizit im Jahr 2014 weniger ausgeprägt (zwischen 33 und 92 Tagen über 1.5 KPa) und im Jahre 2013 dazwischenliegend.

Bei beiden Baumarten profitierten die verpflanzten Bäume von einem früheren Blattaustrieb im Vergleich zu den Kontrollbäumen auf den Standorten von denen die verpflanzten Bäume stammten (1350 m ü. M.). Fichten war im Austrieb generell 15 Tage später als die Buchen.

Verpflanzte Buchen auf den am tiefsten gelegenen Standorten (395 m ü. M.) wiesen zwischen 2013 und 2015 einen signifikant höheren Zuwachs an Biomasse (gemessen mit allometrischen Modellen) auf als die Kontrollbäume (1350 m ü. M.). Überraschenderweise war dies für die Fichten nicht der Fall. Im Jahr der Verpflanzung 2013 und unter Berücksichtigung der Anzahl Wachstumstage in jeder Höhenstufe, produzierten die Buchen nach der Verpflanzung über 1% mehr von ihrer initialen Biomasse pro Tag auf 395 m ü. M. als auf 1350 m ü. M. wohingegen junge Fichten 2013 in ihrem Zuwachs keine Auswirkungen des Höhengradienten zeigten. Im Jahr 2014 wuchsen alle verpflanzten Fichten und Buchen stärker als die Kontrollbäume auf 1350 m. Im Jahr 2015, welches durch ein hohes Sättigungsdefizit geprägt war, zeigten alle verpflanzten Bäume auf 395 und auf 570 m ü. M. Wachstumseinbuße gegenüber den Kontrollbäumen auf 1350 m ü. M., mit Ausnahme der verpflanzten Buchen auf 1010 m ü. M.

Photosynthesekapazitätsmessungen, welche in den Jahren 2013 und 2014 gemacht wurden konnten die Unterschiede im Zuwachs der Buchen über den Höhengradienten nicht erklären. Im Gegenteil war die Photosynthesekapazität der verpflanzten Bäume für beide Baumarten kleiner als bei den Kontrollbäumen auf 1350 m ü. M.

Bei einer Ernte im 2014 zeigte sich, dass sich die Baumarten in der Biomassenverlagerung unterschieden: die Buchen verfügten über ein stärkeres Wurzelwachstum, während die Fichten mehr Biomasse in das Triebwachstum investierten.

In einem gegenseitigen Verpflanzungsexperiment von Buchen zwischen der tiefsten und höchsten Lage (395 und 1350 m ü. M.) wurde der Effekt von wärmeren oder kühleren Winter auf den Blattaustrieb und Knospenentwicklung getestet. Es zeigte sich, dass der frühere Austrieb der Bäume im Frühling eine vorzeitige Knospenentwicklung im Herbst nach sich zog. Es kam demnach nicht wie erwartet zu einer Verzögerung der Blattseneszenz im Herbst. Das weist darauf hin, dass die potentielle Verlängerung der Vegetationsperiode durch die Klimaerwärmung kleiner sein könnte, als erwartet.

De Stickstoffkonzentration in den Blättern stieg nach dem Austrieb bis zu einem Sättigungspunkt (abhängig vom der Höhe ü. M.) an. Während des Alterungsprozesses der Blätter korrelierten Blattfarbe mit Stickstoffkonzentration und Photosynthesekapazität.

Obwohl es wichtige ontogenetische Unterschiede gibt zwischen Buchen und Fichten, führte die Verpflanzung auf tiefergelegenen Standorte bei beiden Baumarten zu signifikanten Modifikationen der Blatt Morphologie, hauptsächlich im Zusammenhang mit dem Temperaturanstieg. Als Reaktion auf die sehr unterschiedlichen Wuchsbedingungen in den Vegetationsperioden 2013 und 2014 fielen auch die Reaktionen der Blatt Morphologie auf den Höhengradienten zwischen den Jahren unterschiedlich aus. Insbesondere die verpflanzten Buchen zeigten auf den tiefergelegenen Standorten Blätter mit xeromorphen Charakteristiken. Fichtennadeln weisen generell xeromorphe Züge auf und verfügen über eine gute intrinsische Adaptation an Trockenheit. Trotzdem konnten bei den verpflanzten Fichten morphologische und anatomische Anpassungen der Nadeln beobachtet werden. Die Parameter die die höchste phänotypische Plastizität zeigten entlang des Höhengradienten waren für die Buchen die Parameter Blattfläche sowie Blattmasse pro Blattfläche und für die Fichten die Parameter Nadelquerschnittsfläche und relative Fläche von Harzkanälen.

Das mikrobielle C/N Verhältnis nahm für die Buchen mit sinkender Höhe ü. M. zu, während sich dieser Trend für die Fichte nicht abzeichnete. Das weist darauf hin, dass die beiden Baumarten unter Einfluss des Klimawandels den Boden unterschiedlich beeinflussen könnten.

In unserem Projekt zeigten sowohl Buchen als auch Fichten durch die Verpflanzung auf tiefergelegene Standorte Anpassungen ihrer Blatt Morphologie und Anatomie an die trockeneren Verhältnisse. Die Buchen waren stärker als die Fichten in der Lage die höhere Temperatur an den tiefergelegenen Standorten für grösseren Zuwachs zu nutzen, ausserdem schränkten sie ihren Zuwachs bei Trockenheit weniger stark ein.

Übersetzung : Kathrin Streit

Résumé

Le but du projet CLIMARBRE a été d'étudier la croissance, la phénologie, la morphologie et l'anatomie foliaire, ainsi que la réponse éco-physiologique aux changements climatiques de deux espèces d'importance majeure (hêtre et épicéa) d'un point de vue écologique et économique dans le paysage jurassien. Le projet s'est concentré sur les jeunes stades de développement de ces deux espèces (hauteur moyenne de 33 cm pour le hêtre et 31 cm pour l'épicéa, pour des âges des plantules entre 4 et 8 ans), car leur faculté d'acclimatation et de régénération dans un contexte de changement climatique sera déterminante pour le devenir des paysages sylvo-pastoraux du Jura et pour les mesures de gestion adaptative. Nous avons testé, le long d'un gradient altitudinal dans le Jura vaudois la réaction de croissance et la capacité d'acclimatation de jeunes arbres prélevés avec leur sol en montagne (site donneur à 1350 m), puis transplantés à de plus basses altitudes dans des conditions plus chaudes et plus sèches (sites receveurs à 1010, 570 et 395 m) de manière à simuler trois variantes de scénarios IPCC de réchauffement climatique (A1B et A2).

La transplantation dans les trois sites receveurs a exposé les jeunes arbres à des températures plus élevées (plus de 6 °C en moyenne aux basses altitudes par rapport au site donneur) et des précipitations réduites (jusqu'à 47% de moins à la plus basse altitude comparé au site contrôle) durant la période de végétation. Le déficit de pression de vapeur de l'air (VPD) résume le mieux les conditions de stress subies par les plantes aux différentes altitudes. A cet égard, l'année 2015 a été celle avec les valeurs les plus élevées à toutes les altitudes (entre 119 jours à 1350 m et 456 jours à 570 m au-delà de 1.5 KPa durant la période de végétation), 2014 a été la moins extrême (entre 33 et 92 jours au-delà de 1.5 KPa) et 2013 a été intermédiaire. Avec le réchauffement induit par la transplantation, les deux espèces ont été capables d'avancer le débourrement de leurs feuilles et aiguilles, l'épicéa ayant démarré environ 15 jours après le hêtre.

L'accroissement de biomasse, mesurée au moyen de modèles allométriques, des jeunes hêtres durant la période 2013-2015 a été significativement plus grande à la plus basse altitude (395 m) par rapport au site donneur (1350 m). Étonnamment, l'épicéa n'a pas augmenté significativement sa biomasse à la plus basse altitude par rapport au site donneur pendant la même période de croissance. Au cours de la saison de croissance 2013, et en tenant compte du nombre de jours de croissance dans chaque site, les jeunes hêtres dans les sites les plus bas ont produit plus de 1% de leur biomasse initiale par jour de plus que les plantes témoins dans le site donneur. En revanche, les jeunes épicéas n'ont pas poussé plus que ceux dans le site de contrôle et n'ont pas montré de réponse au gradient altitudinal. Au cours de l'année 2014, tous les jeunes arbres ont poussé plus que les arbres du site contrôle des deux espèces à 1350 m. Finalement, les individus qui ont poussé à basse altitude en 2015 ont présenté un déclin de la croissance par rapport à ceux du site donneur, à l'exception du hêtre à 1010 m. Ces résultats peuvent être mis en relation avec un VPD élevé. En revanche, les mesures de la capacité photosynthétique effectuées en 2013 et 2014 n'expliquent pas les différences observées au niveau de l'accroissement de biomasse, car cette capacité est apparue plus faible à basse altitude que dans le site donneur en altitude, pour les deux espèces. En ce qui concerne l'allocation de la biomasse (mesure directe par récolte en 2014), la masse sèche des différentes parties de l'arbre montre un pourcentage plus élevé de biomasse souterraine pour le hêtre, alors que l'épicéa a un pourcentage de feuilles notablement plus élevé par rapport au hêtre.

L'avancement et le retard de l'éclosion des bourgeons du hêtre provoqués expérimentalement par une transplantation réciproque aux deux altitudes extrêmes du gradient altitudinal, ce qui a créé des conditions avec des hivers plus chauds ou plus froids, a significativement impacté la phénologie à l'automne suivant : un débourrement précoce au printemps a entraîné une formation précoce des bourgeons d'automne. Le retard potentiel du processus de sénescence, souvent préconisé en relation avec le réchauffement global, pourrait être moins important que prévu, de même que l'extension de la durée de la période de végétation. Après le débourrement des feuilles, on a observé un incrément de la concentration de l'azote (NBI) avec la maturité des feuilles, jusqu'à un certain seuil, qui dépendait de l'altitude à laquelle les arbres ont poussé. Le suivi de la

sénescence foliaire a montré qu'il existe une corrélation entre la coloration de la feuille, le taux d'azote dans la feuille et le taux d'assimilation du CO₂.

Malgré des différences ontogénétiques importantes, les deux espèces ont montré des modifications significatives de la morphologie de leur feuillage en réponse avant tout à l'augmentation des températures à plus basse altitude, quelle que soit l'échelle structurale considérée. En outre, et suite aux conditions climatiques contrastées pendant les saisons de végétation 2013 et 2014, ces changements ont connu une forte variabilité interannuelle. En particulier chez le hêtre, les changements structuraux observés ont globalement signifié une augmentation des caractéristiques xéromorphiques du feuillage. Malgré leur xéromorphie constitutive et une adaptation intrinsèque à des conditions hydriques plus contraignantes, différents ajustements morpho-anatomiques ont également été observés dans les aiguilles d'épicéa. Les paramètres montrant la plus grande plasticité phénotypique comprenaient la surface foliaire et la masse foliaire par unité de surface chez le hêtre *versus* la surface transversale des aiguilles et la surface relative des canaux à résine chez l'épicéa.

Le rapport C/N microbien a augmenté à basse altitude chez le hêtre, ce qui n'a pas été observé pour l'épicéa. Ces résultats donnent une indication que les deux espèces ont une influence différente sur le sol quand ils sont exposés au même changement des conditions climatiques.

Dans ce projet, à la fois le hêtre et l'épicéa ont montré, avec la transplantation, une acclimatation de la morphologie et de l'anatomie foliaire à des environnements plus chauds et secs à basse altitude. Le hêtre a été davantage capable que l'épicéa de profiter des conditions plus chaudes de basse altitude pour l'accroissement de biomasse et de plus, cette espèce a moins réduit sa croissance lors des périodes sèches.

Summary

The aim of the project CLIMARBRE was to study the growth, the phenology, the leaf morphology and anatomy, as well as the ecophysiological response to climate change of two species of major importance (beech and spruce) for the landscape and the economy in the Jura mountains. The project focused on young trees (average height of 33 cm for beech and 31 cm for spruce, for a relative age of about 4 to 8 years old) of these two species since their faculty of acclimation and regeneration in a context of climate change will be critical for the fate of the sylvopastoral landscape of the Jura and for adaptive management. We tested along an altitudinal gradient in the canton of Vaud the growth response and the adaptation capacity of young trees sampled with their soil in a mountain area (donor site at 1350 m. a.s.l.) and transplanted downhill to warmer and dryer conditions (recipient sites at 1010, 570 and 395 m a.s.l.), so that three variants of IPCC climate warming scenarios could be simulated (A1B and A2).

The transplantation down to the three recipient sites exposed the young trees to higher temperatures (more than + 6°C at the lower sites compared to the donor site) and reduced precipitation (up to 47% less precipitation at the lowest site compared to the donor site) during the growing season. The air vapor pressure deficit (VPD) best reflects the stress conditions for the plants at the different altitudes. The year 2015 had the highest values at all altitudes (between 119 days at 1350 m a.s.l. and 456 days at 570 m a.s.l. above 1.5 KPa during the vegetation period), while 2014 had the least extreme conditions (between 33 and 92 days above 1.5 KPa) and 2013 was intermediate. With the warming induced by the transplantation, both species were able to advance budburst of leaves and needles, with spruce starting its growth period 15 days later than beech.

Biomass increment, measured by means of allometric models, of young beech during the period 2013-2015 was significantly higher at the lowest altitude (395 m a.s.l.) as compared to the donor site (1350 m a.s.l.). Surprisingly, spruce did not increase its biomass at the lowest altitude as compared to the donor site during the same growing period. During the 2013 growing season, while accounting for the number of days of growth in each site, the young beech in the lowest site produced more than 1% of their initial biomass per day more than what was produced by the control plants in the donor site. But young spruce did not grow more than those in the control site and did not respond to the altitudinal gradient. During 2014, all young trees did grow more than the control plants of both species at 1350 m a.s.l. Finally, individuals that grew at low altitude in 2015 did show a decrease of their growth as compared to those in the control donor site, except beech at 1010 m a.s.l. These results can be linked to the VPD. On the other hand, measures of photosynthetic capacity undertaken in 2013 and 2014 did not explain the pattern of biomass increment since this capacity was lower at low altitudes than in the donor site at higher elevation, for both species. With respect to biomass allocation (direct measure with a harvest in 2014), the dry mass of the different parts of the trees showed a higher percentage of belowground biomass for beech, while spruce had a higher percentage of biomass in the foliage as compared to beech.

The advance and the delay of budburst induced in a reciprocal transplantation experiment between the two extreme sites of the altitudinal gradient, which created warmer or cooler winter conditions, has significantly impacted the following autumn phenology: an advanced spring budburst has led to an earlier autumn bud set. Thus, the potential delay in senescence processes due to global warming might be smaller than expected, as well as the assumption of longer growing seasons under climate change. After budburst, leaf nitrogen content (NBI) increased with leaf maturity up to a certain threshold that depended on the altitude where the trees grew. The monitoring of leaf senescence showed a correlation between the color of leaves, the leaf nitrogen content and the assimilation rate.

Despite important ontogenetic differences, both species showed significant changes in their foliage morphology in response mainly to temperature increase at lower altitudes, irrespective of the structural scale considered. Furthermore, as a result of contrasted climate conditions during the vegetation periods 2013 and 2014, these changes had a high interannual variability. For beech in particular, structural changes indicated increased expression of xeromorphic characteristics of

foliage. Spruce already has some constitutive xeromorphic traits and an intrinsic adaptation to more constraining hydric conditions, but still showed some morpho-anatomical adjustments in the needles. Parameters that showed the highest phenotypic plasticity were leaf area and leaf mass per unit area for beech, and needles cross section and percentage of resin ducts for spruce.

The microbial C/N ratio increased at lower altitudes for beech, a trend which was not observed with spruce. This result gives an indication that the two species might impact the soil differently when they are exposed to the same climate warming.

In our project, both beech and spruce showed with the transplantation a leaf morphological and anatomical adaptation to warmer and dryer environments at lower altitudes. Beech was more capable than spruce of using higher temperatures at low altitudes to increase biomass. Furthermore, beech was better able to limit its growth reduction during dry periods.

1. Introduction

1.1 Etat des connaissances

On s'attend à ce que le climat mondial change de manière significative ce siècle, avec une augmentation généralisée des températures, un changement du régime des précipitations et une augmentation des fréquences et de l'intensité des événements climatiques extrêmes, conduisant à plus de variabilité climatique (IPCC 2002). Le réchauffement global et les changements environnementaux associés auront des impacts particulièrement importants sur les écosystèmes montagnards (IPCC 2007). Les tendances observées dans les montagnes suisses durant le 20^{ème} siècle, d'une augmentation de 1.5 °C des températures moyennes annuelles (Beniston et al. 1997), s'accompagnent par une augmentation des événements de températures estivales extrêmes et des sécheresses prolongées (Schär et al. 2004, Beniston 2009). Pour ce siècle, les prédictions annoncent un renforcement de ces tendances et les régions tempérées des montagnes de l'hémisphère nord subiront les réchauffements les plus marqués, qui pourraient être deux à trois fois supérieurs (+2.8 à +5.3 °C) à ce qui a été enregistré au 20^{ème} siècle (Nogues-Bravo et al. 2007). Par exemple, à la limite supérieure de la forêt dans les Alpes suisses, une augmentation de 2.5 °C de la température moyenne a été enregistrée durant le 20^{ème} siècle, avec une accentuation de la tendance depuis 1980 à 1 °C (Gehrig-Fasel et al. 2007). En conséquence, les événements de réchauffements extrêmes et la diminution de 30% des précipitations durant la période de croissance des végétaux va intensifier les périodes de sécheresse en Europe centrale (Beniston et al. 2007, CS2M 2011). Ceci va modifier la disponibilité de l'eau dans les sols durant la saison de croissance des végétaux, la phénologie des plantes, la durée de la saison de croissance des végétaux, et finalement se répercuter sur la répartition des écosystèmes et leur fonction (Parry 2000, FOEN/FSO 2011). De manière générale, on s'attend à ce que les forêts tempérées profitent de conditions plus chaudes, avec une augmentation de leur croissance (Way & Oren 2010), tandis que les forêts méditerranéennes et tropicales pourraient y répondre avec une diminution de croissance (Ogaya & Peñuelas 2007, Way & Oren 2010). Ceci s'explique partiellement par le fait que la croissance des arbres dans les hautes latitudes et altitudes est généralement limitée par la température, tandis que les arbres des régions méditerranéennes sont limités par la disponibilité en eau (Ogaya & Peñuelas 2007, Way & Oren 2010).

Dans les écosystèmes montagnards, les plantes sont plus sensibles au changement climatique et peuvent y répondre de trois manières: 1) par la persistance dans un environnement climatique modifié, 2) par la migration dans des environnements au climat mieux adapté ou 3) par l'extinction (Theurillat & Guisan 2001). Le changement de distribution des espèces et en particulier la remontée à des altitudes plus élevées ont déjà été démontrés (Lenoir et al. 2008, Peñuelas et al. 2007, Walther et al. 2005, Wardle et al. 2011). Par exemple, une remontée des forêts tempérées de hêtre a été observée dans les montagnes du Montseny de Catalogne, en réponse aux changements climatiques et d'utilisation des terres au 20^{ème} siècle (Peñuelas and Boada 2003). Certaines plantes comme le sapin ont montré une chute de leur croissance et de leur vitalité, les conduisant à déplacer leur aire de distribution vers les altitudes supérieures, avec une disparition concomitante à plus basse altitude, pour laisser place à des espèces plus tolérantes à la sécheresse, telles que le hêtre et le chêne pubescent (Cailleret and Hendrik 2011). De tels changements environnementaux provoquent la perte de certaines espèces et le gain

d'autres, résultant dans le changement des traits d'espèces et des interactions dans les communautés végétales, avec des effets en cascade sur le fonctionnement des écosystèmes et sur les services qu'ils procurent (Wardle et al. 2011, Gimmi et al. 2010). Cela conduira fatalement à un changement de la composition des forêts, de la production de bois, et donc de l'économie forestière et du paysage en général (Peringer et al. 2013).

Toutefois, le changement climatique actuel ou à venir pourrait être trop rapide pour permettre une migration naturelle efficace dans de nouveaux habitats adéquats, (Rice & Emery 2003), typiquement durant les événements de températures extrêmes qui poussent les organismes aux limites de leur capacité de croissance. Dans cette situation, les plantes doivent faire face et subir sur place les changements environnementaux (Allen et al. 2010, Bonn 2000, Petriccione 2005) par une plasticité phénotypique à court terme (Vitasse et al. 2010), laquelle peut se définir comme la capacité d'un génotype de développer différents phénotypes en réponse à un changement environnemental (Bradshaw 1965).

Ainsi, en réponse au réchauffement climatique, le hêtre pourrait démarrer un processus de défense en fermant ses stomates de façon à limiter l'évapotranspiration. Toutefois, ce processus provoque une diminution de l'activité photosynthétique, et ainsi de la croissance (Jump et al. 2006). En revanche, un effet positif des températures élevées sur les forêts de conifères a été démontré. Grâce à l'activité photosynthétique hors-saison de végétation de l'épicéa, des températures modérées à cette saison impactent le bilan de carbone de la plante et favorisent une croissance précoce (Guehl 1985). Cela permet aussi une diminution de l'embolisme des tissus conducteurs, favorise le débourrement des feuilles et augmente la période de végétation (Rolland et al. 1998). Certaines espèces d'arbres peuvent être plus affectées que d'autres par les changements climatiques en raison de leur sensibilité intrinsèque et leurs différentes capacités d'adaptation (Davis and Shaw 2001). A cet égard, la diversité génétique et la plasticité phénotypique sont deux processus clefs qui permettent la survie des plantes et leur développement dans les nouveaux environnements. Fondamentalement, une grande diversité génétique au sein des populations facilite l'adaptation sur le long terme, alors que la plasticité phénotypique à court terme est une voie efficace par laquelle les plantes peuvent s'adapter aux changements environnementaux rapides (Vitasse et al. 2010). Cependant, la plasticité phénotypique plus que la diversité génétique pourrait jouer un rôle crucial en permettant à la plante de persister dans son nouvel environnement (Rehfeldt et al. 2001). La plasticité phénotypique induite par les températures influence de manière significative la distribution des espèces, où les traits comme la phénologie, la croissance et la résistance au gel semblent largement impliqués dans les patrons de distribution (Vitasse et al. 2010). Ainsi, on constate que les traits fonctionnels du chêne et du hêtre répondent clairement au changement de température le long des gradients altitudinaux, montrant ainsi la capacité d'adaptation inhérente de ces plantes aux futurs climats (Vitasse et al. 2009, 2010, Cailleret and Hendrick 2011, Davi et al. 2011). De plus, la composition et la stabilité des écosystèmes dépendent de l'influence mutuelle des compartiments aériens et souterrains. Ainsi, les réponses des communautés biologiques du sol aux changements climatiques influencent en retour les plantes (Wagg et al. 2011). Par exemple, les symbiontes mycorhiziens facilitent l'accès aux nutriments limitants avec, pour conséquence, un feedback positif sur la productivité des plantes (Whitfield 2007). De fait, tout changement dans la composition microbienne du sol sous l'effet des changements climatiques pourrait largement influencer la biomasse et le statut nutritif des plantes, en influençant leur performance et leur densité (Wardle et al. 2004). De nombreuses observations indiquent que les plantes et plus particulièrement les arbres pourraient s'adapter aux changements climatiques grâce à leur plasticité phénotypique (Pieruschka et al. 2010, Vitasse et al. 2010) et par des adaptations

physiologiques (adaptation à l'optimum de température pour la photosynthèse, Zufferey et al. 2000).

Les écosystèmes sylvopastoraux des montagnes du Jura Suisse sont utilisés traditionnellement comme une source de fourrage et de bois, mais leur sensibilité aux changements d'utilisation des terres et au climat les met en péril (Buttler 2014). La régénération et la croissance des deux espèces principales, l'épicéa (*Picea abies*) et le hêtre (*Fagus sylvatica*), est déterminante pour la structuration de ces écosystèmes et du paysage semi-boisé, et en particulier pour maintenir la coexistence dynamique, dans l'espace et dans le temps, d'arbres isolés, de lambeaux de forêts et des pâturages. Aussi, il est important de comprendre les processus de régénération des arbres pour l'utilisation durable de ces écosystèmes et pour maintenir leur valeur multifonctionnelle, y compris leur biodiversité. Dans la perspective inéluctable de la transformation du paysage avec le changement climatique (Peringer et al. 2013), la gestion adaptative est cruciale pour assurer les biens et services écologiques attendus, notamment le fourrage d'alpage, le bois, la biodiversité et la beauté du paysage. Dans ce contexte, la réaction des jeunes arbres aux changements climatiques prend toute son importance.

1.2 Problématique, objectifs et hypothèses du projet

Le projet s'appuie sur l'expérience du projet des EPF CCES « Mountland » dans laquelle des monolithes de sol, avec leur végétation herbacée en provenance de trois habitats représentatifs d'un gradient d'intensité d'utilisation des sols dans les pâturages boisés du Jura, ont été transplantés dans des cuves lysimétriques à différentes altitudes. Cette étude a porté sur la végétation herbacée (Gavazov et al. 2013, 2014) et les sols (Puissant et al. 2015). Dans le projet CLIMARBRE, nous avons utilisé le même transect altitudinal, allant des Amburnex dans le Parc Naturel Régional du Jura Vaudois, le site donneur à 1350 mètres d'altitude, à trois sites de plus basses altitudes, respectivement à St-George (1010 m), à l'Arboretum National d'Aubonne (570 m), ainsi qu'à Bois Chamblard, site appartenant à une Fondation EPFL (395 m). Nous avons testé avec ces transplantations la croissance et la capacité d'adaptation de jeunes épicéas (*Picea abies*) et hêtres (*Fagus sylvatica*) pris dans le site donneur d'altitude et adaptés à ce climat froid, aux conditions plus chaudes et plus sèches des sites de plus basses altitudes. Le but était d'étudier les réponses adaptatives de la croissance, de la morphologie, de l'anatomie et de l'écophysiologie à l'effet combiné de l'augmentation des températures et de la diminution des précipitations de ces deux espèces d'importance majeure du point de vue écologique, économique et paysager dans les montagnes du Jura. Outre la variabilité inter- et intra- spécifique des réponses qui peut être quantifiées avec une telle expérience, les résultats serviront aussi à calibrer notre modèle spatial et dynamique WoodPam, lequel a déjà été utilisé pour prédire l'évolution des paysages et des espèces d'arbres dans les montagnes jurassiennes (Peringer et al. 2013, Buttler et al. 2012).

Nos hypothèses étaient que (i) l'épicéa et le hêtre s'adaptent aux changements climatiques simulés, (ii) les réponses spécifiques de ces deux espèces diffèrent selon les mécanismes phénotypiques et physiologiques impliqués, et (iii) ces mécanismes sont limités par un seuil le long du gradient altitudinal.

Dans ce rapport final du projet CLIMARBRE, nous présentons brièvement les méthodes utilisées et donnons quelques résultats, qui viennent en complément de ce qui a été présenté dans les rapports intermédiaires. Les thèmes abordés comprennent l'effet de forçage climatique par la transplantation (3.1), le modèle allométrique de croissance et la

biomasse qui en résulte (3.2), l'activité photosynthétique (3.3), la phénologie du feuillage chez le hêtre (3.4), l'effet « carry-over » (3.5), les modifications macro- et micromorphologiques du feuillage (3.6) et l'activité microbienne des sols (3.7). Les articles annexés (publiés ou en cours de soumission) donnent une description plus complète pour les parties 3.2, 3.5 et 3.6.

2. Matériel et Méthodes

2.1 Site d'étude et gradient altitudinal

Dans le projet CLIMARBRE, nous avons repris l'approche par gradient altitudinal utilisée par Gavazov et al. (2013, 2014) et Puissant et al. (2015) pour étudier la réponse de la végétation herbacée des pâturages subalpins et des sols à un climat plus chaud et plus sec, mais en s'intéressant cette fois aux plantules de hêtre et d'épicéa qui forment le stade de régénération (et l'avenir) des écosystèmes sylvo-pastoraux du Jura. Les plantules (hauteur moyenne de 33 cm pour le hêtre et 31 cm pour l'épicéa, pour des âges des plantules entre 4 et 8 ans) ont été prélevées en altitude, dans le site donneur du Marchairuz (Combe des Amburnex, 1350 m) et transplantées à plus basse altitude, dans des environnements plus chauds et plus secs de manière à étudier les réactions d'accroissement, écophysologiques, morpho-anatomiques et phénologiques des jeunes arbres. Les sites de transplantation ont été choisis à St-Georges (1010 m), à l'Arboretum d'Aubonne (570 m) et à Buchillon Les Bois Chamblard (395 m) de manière à simuler trois scénarios IPCC de changement climatique : modéré à 1010 m (en moyenne +2°C et 20% de réduction des précipitations), intermédiaire à 570 m (+4°C et 40% de réduction des précipitations) et extrême à 395 m (+5°C et 50% de réduction des précipitations). Ces données ont été interpolées à partir des stations météorologiques de proximité (source : MeteoSwiss, Agroscope 2016) et les altitudes choisies de manière à représenter les scénarios IPCC d'un réchauffement modéré (A1B) et intensif (A2), ainsi que les réductions de précipitations prédites dans les régions tempérées (Meehl et al. 2007, C2SM et al. 2011, Frei et al. 2006). Parallèlement, ce gradient correspondait aussi à une diminution de la couverture neigeuse et de la durée de la saison de végétation.

2.2 Plan expérimental

Les jeunes plantes de hêtre et d'épicéa ont été prélevées au printemps 2012 aux Amburnex, sur deux surfaces suffisamment limitées pour obtenir des individus d'une même population (provenance). Les individus de hêtre ont été prélevés dans une clairière d'une forêt dominée par le hêtre, tandis que ceux de l'épicéa ont été pris dans un pâturage boisé dominé par l'épicéa. Les plantes ont été placées en pots de 20 litres avec leur sol et réparties dans les quatre sites aux altitudes de 1350 m, 1010 m, 570 m et 395 m (Figure 1).

Le design expérimental a consisté en un plan en bloc généralisé avec mesures répétées. Les quatre blocs fixés étaient les quatre sites aux différentes altitudes. A l'intérieur de chaque bloc, un facteur traitement à deux niveaux (TP pour l'effet combiné température et précipitation des conditions locales, et T pour le traitement irrigué, les plantes recevant l'équivalent des pluies du site donneur), et un facteur espèce à deux niveaux (hêtre et épicéa), avec chaque combinaison répétée cinq fois, attribués aléatoirement aux 20 pots de 20 litres (les plantes ont été transférées dans des pots de 45 litres deux ans plus tard à l'automne 2014) dans chaque bloc. Le but du traitement T était d'isoler l'effet du

réchauffement de celui de l'effet combiné de la température et des précipitations. Le facteur année a été répété au sein des pots. L'unité expérimentale était le pot avec chacun une plante. Les pots ont été arrangés aléatoirement dans chaque site, selon une grille avec des mailles assez espacées pour éviter la compétition pour la lumière. Les pots ont été enfouis dans le sol. Un géotextile a été placé au fond des pots et à la surface du sol dans les pots pour, respectivement, éviter la croissance des racines hors du pot et pour limiter l'évaporation de l'eau du sol.

De plus, dans les trois sites receveurs, d'autres jeunes individus de chaque espèce (5 répétitions) ont été collectés localement et transplantés aux côtés des écotypes de montagne, avec soit le sol du site donneur, soit le sol local, afin d'obtenir un contrôle en référence aux individus natifs (Figure 1). Cette partie de l'expérience n'est pas traitée dans ce rapport.

Chaque site a été équipé d'une station météorologique pour la mesure continue de la température et de l'humidité de l'air et des précipitations. Ces mesures sont accessibles sur le site web (Sensorscope, Climaps: <https://www.climaps.com/>).

En plus de l'expérience principale décrite ci-dessus, une expérience additionnelle de transplantation réciproque (effet « carry-over ») a été conduite avec de jeunes plantes de hêtre, en utilisant uniquement le site donneur et le site receveur de basse altitude.

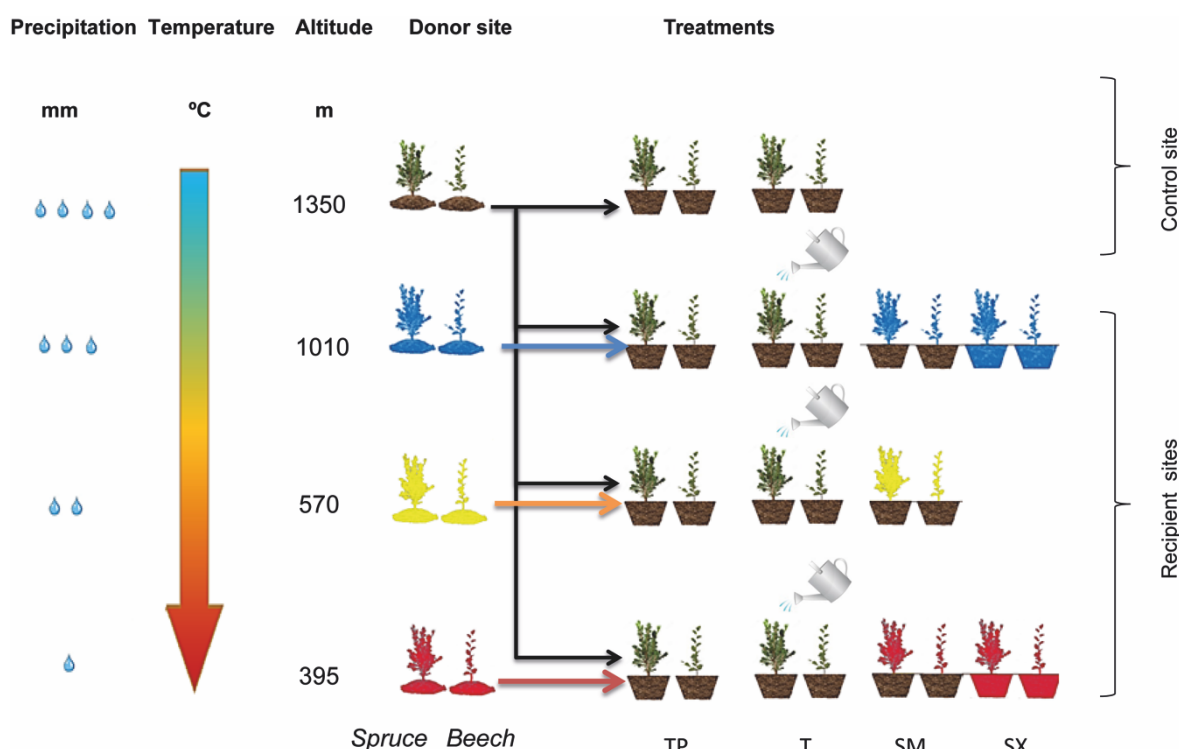


Figure 1 : Schéma du dispositif expérimental principal. TP et T (irrigué selon le régime de précipitation du site donneur) correspondent aux traitements de l'expérience principale faite avec les jeunes arbres de hêtre et d'épicéa prélevés dans le site donneur à 1350 m. SM et SX représentent des pots additionnels contenant des individus de hêtre et d'épicéa pris à proximité des trois sites récepteurs, avec soit le même sol que les pots de l'expérience principale (SM), soit le sol local (SX) ; ces pots servent de contrôle pour la provenance des deux espèces.

2.3 Mesures biométriques

La biomasse aérienne a été estimée pendant la période 2013-2015. Ceci a été fait de façon non-destructive à partir d'équations allométriques, qui permettent de prédire la biomasse des arbres à partir de caractéristiques dendrométriques faciles à mesurer. Plusieurs modèles ont été testés en utilisant notamment le diamètre basal du tronc et la hauteur des jeunes arbres. Finalement, une régression linéaire simple, avec comme variable réponse la biomasse aérienne et comme variable explicative le volume total, comprenant les quatre branches principales et le tronc, a été retenue, avec des paramètres adaptés aux patterns de croissance différents des deux espèces. Le volume de chaque élément a été considéré comme étant un cône, dont le diamètre basal et apical et la longueur a été mesuré. Avec ces modèles, la croissance en hauteur typique du hêtre et la ramification latérale de l'épicéa ont été correctement pris en compte. Le modèle a été construit à partir d'échantillons de jeunes arbres pris dans le site donneur (1350 m) de tailles similaires à ceux de l'expérience, mais en incluant aussi des individus avec des tailles plus grandes. Les modèles ont ainsi mis en relation les variables biométriques avec la masse sèche des différents compartiments (tronc, racines, branches, feuilles).

À partir de ces modèles, la croissance annuelle en biomasse de chaque arbre a pu être calculée. Les mesures biométriques ont été effectuées chaque année en début de saison végétative, avant le débourrement, et à la fin de la saison végétative (après la sénescence du hêtre). La différence de biomasse entre la fin et le début de saison donne la croissance annuelle de l'arbre. Cependant, cette différence a été normalisée à la taille initiale de l'arbre pour éliminer tout biais dû aux différences de taille entre arbres dans les pots.

2.4 Mesures de la biomasse

Afin de valider les modèles de biomasse et pour avoir une meilleure appréciation de l'allocation de biomasse dans les feuilles et les racines, nous avons sacrifié la moitié des arbres de l'expérience de transplantation en automne 2014. De manière similaire aux mesures faites pour l'établissement des modèles allométriques, des mesures biométriques du tronc et des quatre branches principales ont été effectuées sur le matériel frais, juste après la récolte. Ensuite, le sol a été lavé et les racines séparées à l'aide d'un tamis de 2mm. Les différentes composantes de l'arbre (tronc, branches, feuilles et racines) ont été séchées à 65°C jusqu'à poids constant. Pour le hêtre, les feuilles ont été récoltées avec un filet de nylon placé autour de l'arbre avant la chute de la litière foliaire. Les aiguilles d'épicéa ont été récoltées après séchage, lorsqu'elles pouvaient être facilement retirées des branches.

2.5 Mesures écophysologiques

Des mesures écophysologiques ont été effectuées durant la période de végétation pour déterminer les plasticités phénotypiques et physiologiques des deux espèces d'arbres, lors des années 2013 et 2014, respectivement à +1 et +2 années après la transplantation. En effet, nous voulions tester si les plantes allaient acclimater leurs propriétés physiologiques aux nouvelles conditions de croissance dans les sites receveurs et voir s'il existait un lien avec les croissances observées. Un suivi biannuel, en début et fin de saison de végétation, a été réalisé pour les paramètres physiologiques tels que l'assimilation nette de CO₂ et la conductance stomatique (Signarbieux and Feller 2012, Zufferey et al. 2000), la fluorescence de la chlorophylle *a*, ainsi que le potentiel hydrique des feuilles.

Afin de pouvoir comparer correctement les propriétés physiologiques des deux espèces aux différentes altitudes, nous avons, pour chaque campagne de mesures, apporté toutes les plantes à mesurer dans leurs pots à une même altitude (site de St-George à 1010 m) le jour précédant. De cette manière, le jour des mesures, les plantes des deux espèces provenant des différentes altitudes présentaient les mêmes conditions environnementales pour l'humidité de l'air, la température, ainsi que pour la pression partielle de CO₂ ; ce dernier paramètre influençant grandement l'assimilation de CO₂ par les feuilles.

Les mesures de photosynthèse ont été effectuées avec un analyseur de gaz à infrarouge (CIRAS 2, PP-System) équipé d'une chambre circulaire (PLC-6) pour le hêtre et d'une chambre à conifère pour l'épicéa (PLC-5). Les paramètres de mesures tels que la lumière, la température, le déficit de pression de vapeur (VPD) et la concentration de CO₂ ont été fixés pour tous les individus. La fluorescence de la chlorophylle *a* a été mesurée à l'aide d'un fluoromètre (PAM-2500, WALZ) pour indiquer la limitation de la photosynthèse par les processus de régulation non-stomatique (Signarbieux et al. 2011, Flexas et al. 2004). Le potentiel hydrique des feuilles, en tant que bio-indication de l'état de stress hydrique des arbres transplantés le long du transect altitudinal, a été mesuré à l'aide d'une chambre à pression de type Scholander (Scholander et al. 1965).

2.6 Mesures phénologiques et de l'état chimique des feuilles

Généralement, les mesures écophysiologiques sont effectuées lorsque les feuilles sont matures, mais le moment exact de ce stade n'est pas clairement défini. Par exemple, les mesures de photosynthèse sont fortement influencées par la teneur en azote des feuilles. On fait l'hypothèse que l'azote dans la feuille évolue jusqu'à la maturité et que sa concentration peut varier en cas de stress. Par conséquent, le moment dans lequel les mesures de la photosynthèse sont prises est crucial pour l'évaluation correcte de la capacité photosynthétique. En conséquence, nous avons évalué la teneur en azote des feuilles au moyen de l'indice de balance d'azote NBI (Dualox Dx4) des feuilles du hêtre après le débourrement jusqu'à la campagne de mesures écophysiologiques. Etant donné que la date du débourrement est décalée entre les différents sites, cette mesure nous a permis, en 2014, de faire les mesures écophysiologiques au même stade de maturité des feuilles le long du gradient (voir rapport de thèse de Master, Rocio Mijancos).

Les stades de développement au printemps sont en général les plus observés lors des études phénologiques. On définit alors les phases phénologiques suivantes : 1) bourgeons dormants, 2) bourgeons gonflés, 3) ouverture du bourgeon ou débourrement, 4) feuilles en dehors du bourgeon mais encore pliées et 5) au moins une feuille dépliée. Ces stades s'appliquent au hêtre, mais les stades 1 à 3 sont aussi utilisés pour l'épicéa. Si la phénologie printanière est largement étudiée, les détails des processus phénologiques des feuilles à l'automne restent peu connus. Par conséquent, nous avons voulu mettre en relation la teneur en azote des feuilles (mesuré à l'aide du Dualox Dx4), l'assimilation de CO₂ (Ciras-2 PP-System) et la coloration des feuilles pendant la période de sénescence. Les mesures de la chlorophylle (Chl*f*), de l'index azoté (NBI) et de l'assimilation photosynthétique (*A_n*) ont été enregistrées. Au total, six jeunes hêtres du site le plus bas (395 m) ont été suivis pendant la période de sénescence (octobre-novembre 2013). Les mesures ont été effectuées une fois par semaine sur deux à quatre feuilles par individu et les feuilles ont été échantillonnées pour des analyses ultérieures en laboratoire (teneur en chlorophylle et azote). Chaque mesure d'échange de gaz (une par feuille) a été reliée à la moyenne de trois mesures du contenu en azote. Ces mesures ont toujours été effectuées au centre de la feuille.

2.7 Mesures morpho-anatomiques

Pour analyser les modifications macro- et micromorphologiques du feuillage en réponse au forçage climatique expérimental dans CLIMARBRE, des échantillons matures de feuilles et d'aiguilles (5 générations) ont été prélevés en 2013 et 2014, pendant l'été et différentes caractéristiques morphologiques (taille, biomasse, couleur, contenu en eau) ont été analysées. Des disques foliaires (7 mm) ou des segments médians d'aiguilles (5 mm) ont été prélevés en vue d'analyses en microscopie et fixés sous vide (glutaraldéhyde 2.5% tamponnée à pH 7.0 avec un tampon phosphate 0.067M) puis conservés à 4 °C (Vollenweider et al. 2013). Après observation directe des réseaux de nervures foliaires (hêtre), des coupes épaisses (30-50 µm) ont été réalisées avec un microtome à main puis, pour certaines, colorées (hêtre : bleu alcian, Arend et al. 2008 ; épicéa : fluoral yellow 088 Brundrett et al. 1991), dans le but de contraster les cuticules. La taille et la densité des stomates a été mesurée à partir d'empreintes de feuilles séchées, réalisées avec du vernis à ongle. Les préparations ont été observées avec un microscope Leica Leitz DM/RB, les objectifs 5x (réseaux de nervures), 10x (histologie des aiguilles), 20x (stomates), 40x (cuticule des aiguilles/histologie des feuilles) et 100x (cuticule des feuilles), en lumière transmise et à fluorescence. La prise d'images et les mesures uni-dimensionnelles (taille des stomates, épaisseur des tissus et des cuticules) ont été effectuées avec une caméra Infinity2-1R et le module de mesures inclus dans le logiciel de prise de vues (Infinity Analyze 6.4.1., Lumenera Corp., Ottawa, Canada). Les mesures de surface (réseaux de nervure et histologie des aiguilles) ont été réalisées par analyse d'images (WinCell Pro V 2011 a et Adobe Photoshop CS6). Les résultats ont été analysés par ANOVA à mesures répétées. Les composantes principales de la variation des données morpho-anatomiques ont été extraites et rapportées à différents cofacteurs caractérisant les périodes climatiques les plus contraignantes pendant la saison de végétation, par ordination sous contrainte (RDA) La plasticité phénotypique a été analysée selon Valladares et al. (2002).

2.8 Analyse des sols

Pour l'estimation de l'activité microbienne dans le sol, le rapport C/N de la biomasse microbienne (bactéries et champignons) a été mesuré par la méthode de la fumigation au chloroforme. Trois campagnes d'échantillonnage ont eu lieu à trois moments différents de la saison de croissance 2014 : avant le débourrement des feuilles, pendant la saison de croissance et pendant la sénescence. Au total, trois prélèvements par espèce, traitement et site ont été analysés. Cette analyse nous a permis d'avoir une estimation de la dynamique de la matière organique dont on s'attendait à ce qu'elle réagisse assez vite au changement de conditions du milieu.

2.9 Déroulement du projet

Les activités principales sont résumées dans le tableau 1. Le travail s'est déroulé conformément à ce qui a été annoncé dans le projet initial et les activités ont toutes été réalisées. Certaines analyses concernant les sols n'ont cependant pas été faites (p.ex. activités enzymatiques). En revanche, une expérience additionnelle a été faite sur l'effet « carry-over ». De nombreuses collaborations ont été établies et le projet a été formateur pour de nombreux étudiants de l'EPFL, des Universités de Neuchâtel, de Lorraine, de Bordeaux et de l'Universidad Politécnica de Madrid, notamment dans le cadre d'échange ERASMUS. Actuellement, un article dans une revue nationale est publié (La

Forêt), nous avons contribué à un chapitre dans le livre issu du programme Wald und Klimawandel (OFEV/BAFU) et deux articles sont soumis dans des revues internationales à comité de lecture (annexés). En raison d'un problème médical, la doctorante a dû interrompre son travail pendant 4 mois, puis elle a repris à 80% seulement (voir rapport intermédiaire 2015). Ce retard a pu être partiellement compensé par l'engagement de plusieurs étudiants pour des stages ou travaux de master.

Tableau 1 Aperçu des activités de recherche

Activités	Type de mesures, protocoles	Année de mesure	Types de publication
Etude préliminaire (expérience principale)	Mise en place de l'expérience sur le gradient d'altitude, prélèvements des plantes, transplantation, équipement des sites, mesures éco-physiologiques préliminaires (échange gazeux, fluorescence de la chlorophylle, potentiel hydrique).	2012	MSc Claire Berthelon
Prélèvement des plantes et installation des sites (expérience principale)	Mesures climatiques : température et humidité de l'air, entretien des sites, repotage en 2014.	2012-2016	Données climatiques accessibles sur site web Sensorscope
Mesures éco-physiologiques (expérience principale)	Activité photosynthétique ($A_{\max}$), courbes de réponse à la température en laboratoire avec VPD contrôlée, conductance stomatique, potentiel hydrique (Ψ_B et Ψ_M), fluorescence de la chlorophylle (Fv/Fm), contenu foliaire en azote (NBI), C/N foliaire.	2012 à 2014 juillet, août	PhD Paula Sanginés MSc Rocio Mijancos
Mesures biométriques (expérience principale)	Mesures de croissance : diamètre basal, hauteur du tronc, volume (tronc et branches) sur pied, modèle allométrique pour les mesures indirectes d'accroissement annuel.	2013 à 2016 (printemps et automne)	PhD Paula Sanginés MSc Félix Hernandez MSc Matthieu Bidon Travail de semestre de Robin Hobkirk
Mesures de biomasse (expérience principale)	Récolte d'une partie des plantes et séparation tronc, branches, feuilles/aiguilles et racines.	2014	PhD Paula Sanginés Travail de semestre de Mathilde Menoud Article à soumettre fin 2016
Mesures morpho-anatomiques (expérience principale)	Morphologie, histologie, indices de plasticité phénotypique, caractéristiques xéromorphiques.	2013-2015	PhD Paula Sanginés Travail de semestre Nadia Mudry Article à soumettre fin 2016
Analyse des sols (expérience principale)	Respiration (Reco), C/N, C et N totaux et microbiens, minéralisation de l'azote, nutriments.	2014	PhD Paula Sanginés
Effet de « carry over » (expérience additionnelle de transplantation réciproque)	Phénologie du débourrement et de la sénescence du hêtre, carbohydrates non structuraux des feuilles/aiguilles (NSC).	2013 - 2015	PhD Paula Sanginés MSc Ester Toledano Article soumis

Activités	Type de mesures, protocoles	Année de mesure	Types de publication
Relation débourrement-sénescence (expérience principale)	Phénologie du débourrement et de la sénescence, durée de la saison de croissance, «chilling hours» et «forcing hours», contenu foliaire en chlorophylle (Chlf) et azote (index NBI), température et humidité (sondes).	2013-2015	MSc Rocio Mijancos

3. Résultats

3.1 Effet climatique de la transplantation

Les données météorologiques sont enregistrées en continu depuis 2012 et sont encore actuellement disponibles en temps réel sur le site web (Sensorscope, Climaps: <https://www.climaps.com/>). Dans le site donneur (1350 m), les années 2013, 2014 et 2015 ont été plus chaudes (respectivement 0.5, 1.4 et 1.6 °C) que la température moyenne sur le long terme, qui est de 4.5 °C (Tableau 1). Les précipitations ont été comparables aux précipitations moyennes sur le long terme (1750 mm) uniquement en 2013, alors que les années 2014 et 2015 ont été plus sèches. La transplantation dans les trois sites récepteurs a exposé les plantules à des températures plus élevées et des précipitations réduites durant la période de végétation (Tableau 1). Durant les trois années 2013, 2014 et 2015, le gradient de température a été moins régulier qu'attendu selon les calculs initiaux, basés sur des moyennes de températures et de précipitations à long terme (cf. Gavazov et al. 2013). L'augmentation ciblée de +2 °C à 1010 m a été obtenue, voire dépassée en 2014 et 2015, mais pas en 2012 (+ 0.5 °C). A 570 m, l'augmentation de +4 °C a été dépassée les trois années. Il en est allé de même dans le site à 395 m dont l'augmentation de +5 °C a été dépassée les trois années. Finalement, les deux sites de basse altitude ont des températures relativement semblables, malgré la différence d'altitude, en raison d'un effet microclimatique. En ce qui concerne les réductions de précipitations le long du gradient, la diminution de 20% à 1010 m a été dépassée en 2014, mais cette réduction a été insignifiante en 2013 et il a plu davantage en 2014. La diminution des précipitations de 40% à 570 m a été atteinte en 2013, mais pas en 2014, ni en 2015, tandis que la diminution de 50% à 395 m n'a pas été atteinte en 2013 et 2014, mais presque en 2015.

Le gradient d'altitude est bien reflété dans les températures extrêmes durant la période de végétation, à savoir le nombre de jours avec des températures minimales journalières en-dessous de 5 °C et maximales au-dessus de 25 °C (Tableau 1). Mais le déficit de pression de vapeur de l'air résume le mieux les conditions de stress subies par les plantes aux différentes altitudes (Tableau 1). A cet égard, l'année 2015 a été celle avec les valeurs les plus élevées à toutes les altitudes, et 2014 a été la moins extrême. Il apparaît aussi que les deux sites de basse altitude ne sont guère différents, malgré la différence d'altitude.

De manière générale, les conditions climatiques dans les sites récepteurs suggèrent que les plantules n'ont pas été limitées dans leur approvisionnement en eau. Les précipitations mesurées aux différentes altitudes sont suffisantes pour les exigences hydriques des deux espèces. Ceci est confirmé par l'absence de différence observée dans plusieurs analyses (voir par exemple la morpho-anatomie et les croissances) entre les pots ayant subi à la fois le réchauffement et la réduction des précipitations aux différentes altitudes (TP) et les pots

ayant été irrigués et n'ayant subi que le réchauffement de l'altitude du site de transplantation (T).

Tableau 2 : Conditions climatiques dans le site donneur (1350 m) et les sites receveurs (1010, 570 et 395 m) durant les années 2013, 2014 et 2015.

Altitude (m)	Year		Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Mean annual temperature (°C)	Mean temperature during the vegetation period (°C) (Δ °C)	Number of days during the vegetation period with daily minimum temperature < 5 °C	Number of days during the vegetation period with daily maximum temperature > 25 °C	Total annual precipitation (mm)	Total precipitation during the vegetation period (mm, %)	Vapor pressure deficit during the vegetation period, mean of the 10 max. daily values (kPa)	Vapor pressure deficit during the vegetation period (number of hours above 1.5 kPa)
1350	2013	Temperature	-2.8	-6	-0.3	3.8	4.6	10.6	15.4	12.8	9.8	9.4	2.5	-0.3	5.0	9.5	107	7			1.08	8
	2014		-0.3	-0.6	2.1	4.9	6.6	12.3	12.2	10.7	10.3	8.6	4.9	-0.9	5.9	9.5	86	1			1.74	41
	2015		-1.9	-3.7	1.6	4.8	8.5	13	16.5	14.4	8.1	5.1	3.5	3.1	6.1	10.9	83	12			2.35	119
	2013	Precipitation	112	105	100	172	200	129	134	52	195	208	214	85					1706	882		
	2014		81	65	32	65	103	95	197	127	63	134	113	49					1124	650		
	2015		115	53	264	121	199	40	84	108	112	61	91	24					1272	664		
1010	2013	Temperature	-1.1	-3.7	0.4	5.9	7.4	12.3	13.5	12	8.8	7.2	0.1	-1	5.2	10 (+0.5)	46	21			1.9	48
	2014		0.5	0.8	4.3	7.5	9	14.5	14.2	13.1	12.3	9.9	5	0.7	7.7	11.8 (+2.3)	42	7			1.93	33
	2015		-0.6	-2.3	3.4	7.9	10.8	15.8	19	16	10.4	6.4	5.2	3.1	7.9	13.3 (+2.4)	33	35			2.87	223
	2013	Precipitation	88	113	112	179	201	71	200	74	158	183	229	149					1757	883 (+0.1)		
	2014		168	263	72	84	144	34	248	155	103	163	146	84					1664	768 (+18.2)		
	2015		120	90	160	101	237	56	105	172	185	81	152	4					1462	856(-28.9)		
570	2013	Temperature	0.7	-0.5	3.4	9.4	10.8	16.2	21.4	20.6	19	11.3	4.4	0.8	9.8	16.2 (+6.7)	22	29			2.06	166
	2014		3.4	3.6	7.4	10.7	12.2	17.8	16.9	16.7	16.4	13.5	7.8	4.5	10.9	15.1 (+5.6)	10	22			1.94	67
	2015		2.9	1.2	6.9	10.3	14	18.5	22.1	19.1	13.4	9.4	6.4	3.2	10.6	16.2 (+5.3)	18	50			3.44	456
	2013	Precipitation	50	98	125	157	160	70	39	0	64	172	150	165					1250	490 (-44.4)		
	2014		134	231	62	70	106	99	166	105	24	111	113	47					1268	570 (-12.3)		
	2015		106	79	117	74	164	68	51	111	172	65	112	33					1153	640 (-3.6)		
350	2013	Temperature	1.9	0.5	3.9	9.7	11.3	16.6	21.5	19.6	15.8	12.3	5.5	2.1	10.1	15.8 (+6.3)	13	46			2.4	234
	2014		3.8	4.3	7.6	11.4	13	18.8	18	17.4	16.4	13.4	7.8	4.4	11.4	15.8 (+6.3)	6	19			2.06	92
	2015		2.8	1.6	7.7	10.8	14.6	19.4	23.3	20.2	14.8	10.5	7.6	4.7	11.5	17.2 (+6.3)	7	53			2.97	372
	2013	Precipitation	57	97	116	132	135	92	169	54	126	194	148	131					1451	708 (-19.7)		
	2014		102	152	46	53	94	61	148	96	28	113	107	39					1039	480 (-26.2)		
	2015		109	67	125	78	115	47	32	41	38	7	81	28					769	351 (-47.1)		

Months considered for vegetation period are in bold

3.2 Modèle allométrique de croissance et biomasse

La croissance, en terme de biomasse aérienne, des jeunes plantes de hêtre et épicéa exposés au changement climatique simulé a été estimée à partir de la régression linéaire suivante :

$$\ln(B) = c + a\ln(V) \quad \text{Eq. (1)}$$

avec B pour la biomasse aérienne exprimée en grammes, V pour le volume total des quatre branches principales et du tronc, exprimé en cm^3 , c pour l'intercept et a pour la pente de la droite de régression.

L'équation allométrique obtenue pour estimer la biomasse du hêtre est :

$$B = \exp ^{(1.012535 * (\ln(V)) - 0.585528)}$$

avec un R^2 ajusté de 0.995 et une p-value <0.0001. Pour l'épicéa, le modèle obtenu est :

$$B = \exp^{1.00926 * (\ln V)}$$

avec un R^2 ajusté de 0.997 et une p-value <0.0001. La distribution des résidus était normale dans les deux cas. A partir de ces modèles, nous avons pu calculer la biomasse initiale et finale de chaque arbre dans la période considérée, soit par année, soit pour toute la période d'étude.

L'accroissement de biomasse des jeunes hêtres durant la période 2013-2015 a été significativement plus grande à la plus basse altitude (395 m) par rapport au site donneur (1350 m) (Figure 2). Étonnamment, l'épicéa n'a pas augmenté significativement sa biomasse à la plus basse altitude par rapport au site donneur pendant la même période de croissance. Ainsi, différentes réponses de croissance ont été observées entre ces deux espèces au bout de quatre ans d'exposition à des conditions plus chaudes et plus sèches. Ceci peut en partie s'expliquer par l'allongement de la saison de végétation aux altitudes plus basses.

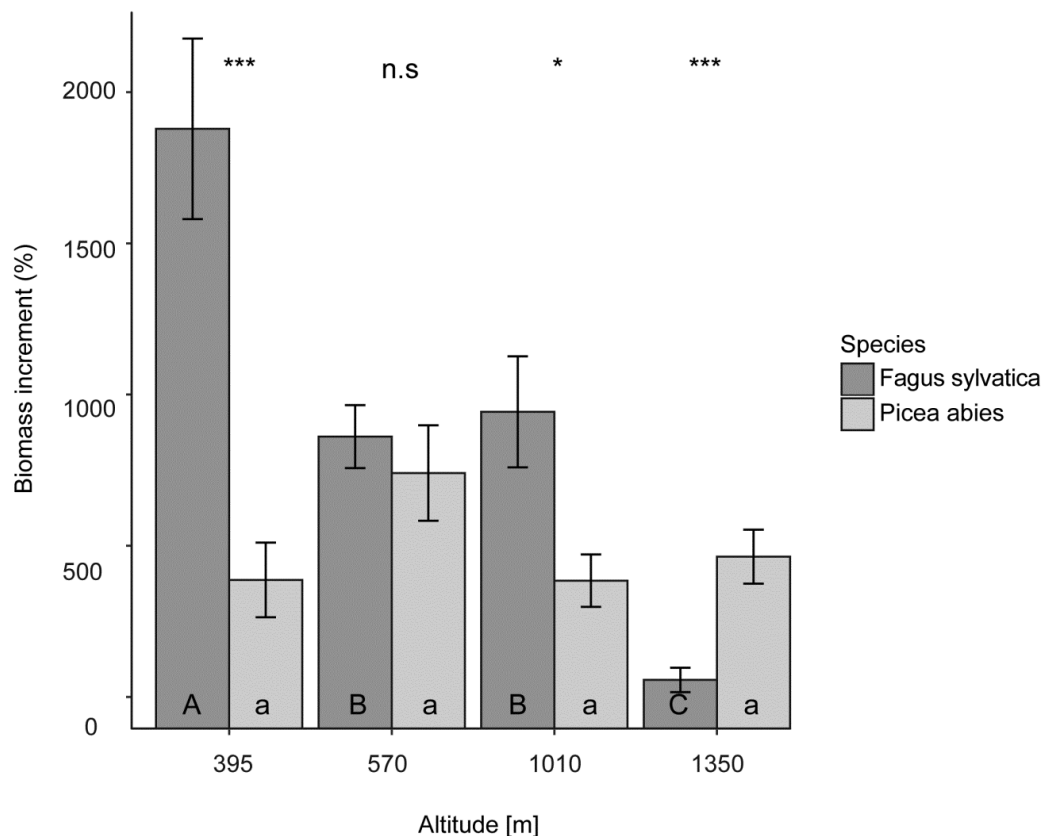


Figure 2 : Biomasse formée durant la période du printemps 2013 à l'automne 2015 pour les jeunes plantes de hêtre et d'épicéa le long du gradient d'altitude. Les traitements T et TP ont été regroupés en l'absence de différence significative (p-value > 0.05). L'augmentation de biomasse est donnée en pourcentage de la biomasse initiale de chaque individu. Les lettres représentent les différences au sein de chaque espèce ; les étoiles représentent les différences entre espèces au sein de chaque altitude (ANOVA).

Les observations phénologiques montrent un allongement général de la période de croissance vers les altitudes plus basses pour les deux espèces (Figure 3), quelle que soit la méthode considérée (fin de formation des bourgeons ou sénescence). Cependant, vouloir comparer la croissance d'une espèce feuillue (hêtre) avec celle d'un conifère (épicéa) n'est pas aisée étant donné que l'épicéa ne montre pas de stade de sénescence. Une solution consiste à fixer la fin de la croissance par la date de fin de formation des bourgeons automnaux, ce qui permet une comparaison facilitée de ces deux espèces.

Malheureusement, cette idée n'est venue que pendant l'année 2014, ce qui fait qu'aucun suivi de la formation des bourgeons n'a été réalisé en 2013. Par contre, une comparaison entre les résultats obtenus (incrément de biomasse standardisés par le nombre de jours de croissance) de ces deux approches (en utilisant soit la sénescence ou la fin de formation du bourgeon) montre des résultats similaires pour le hêtre. Par conséquent, l'emploi de la date de sénescence du hêtre pour déterminer la fin de saison de croissance pour comparer les deux espèces se justifie.

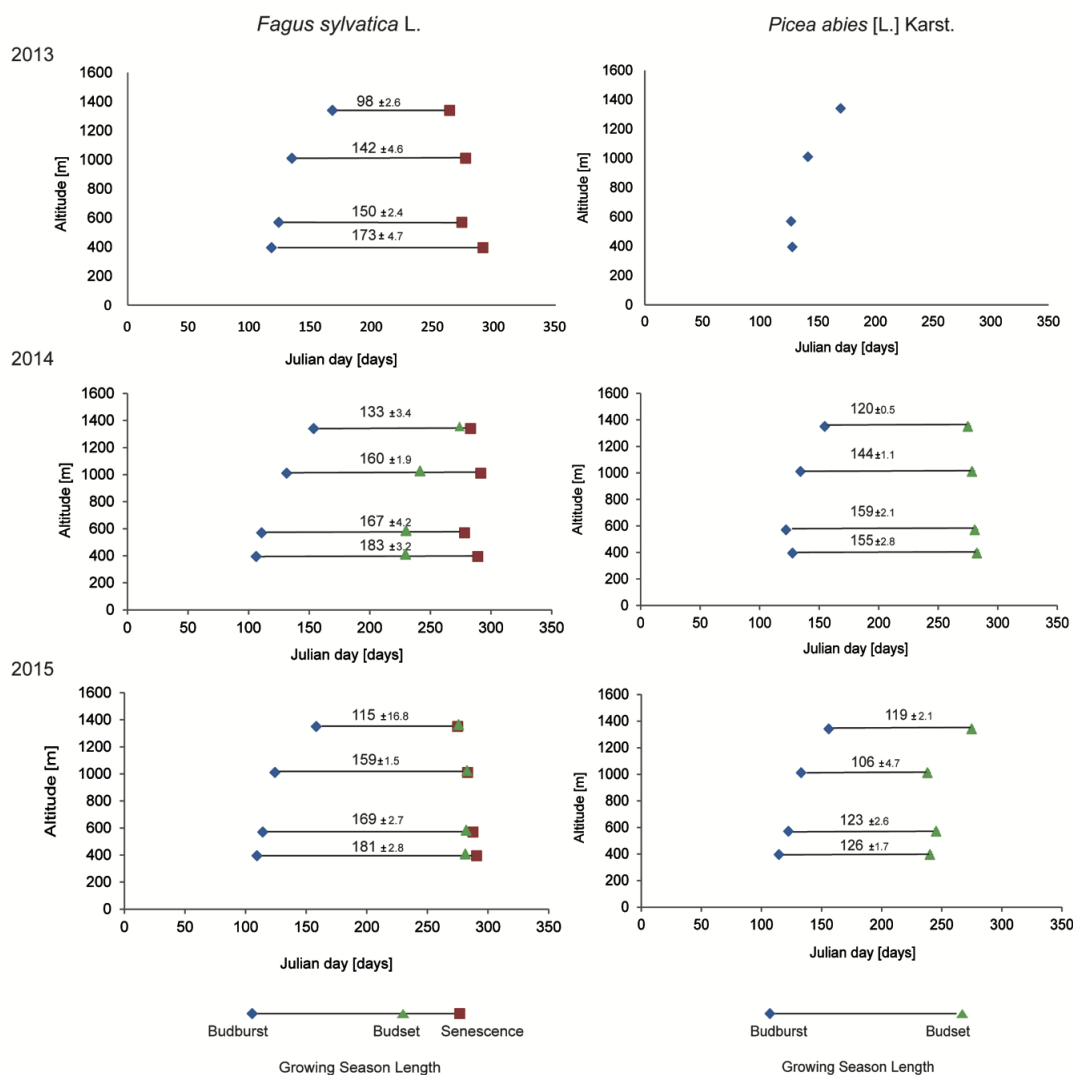


Figure 3 : Durée de la période de croissance du hêtre et de l'épicéa (moyenne et erreur standard) le long du gradient altitudinal en utilisant pour la fin de la période de croissance à la fois le moment de la formation des bourgeons et la sénescence des feuilles du hêtre. Les traitements T et TP ont été confondus étant donné qu'aucune différence significative n'a été trouvée entre les stades phénologiques. Le nombre de répétitions est ainsi de 20 en 2013 et 2014, et 10 en 2015 (après la récolte de la moitié des plantes) pour chaque espèce et altitude.

La quantification des incréments annuels de biomasse pour chaque espèce et dans chaque site révèle différentes réponses des jeunes plantes de hêtre et d'épicéa en rapport avec les conditions climatiques de l'année. Le schéma de croissance le long du gradient altitudinal n'est pas toujours cohérent entre les espèces. Par la standardisation de la croissance annuelle par la durée de la saison de végétation, on supprime l'effet du nombre de jours de croissance, ce qui permet une comparaison plus utile de l'incrément annuel de biomasse (Figure 4). Nous observons que les arbres qui ont poussé dans leur site d'origine

(1350 m a.s.l.) ont maintenu des réponses de croissance similaires au cours des années, avec une croissance plus élevée de l'épicéa par rapport au hêtre. En prenant ces croissances comme traitements témoins, on peut alors comparer l'effet des conditions climatiques chaque année et pour chaque espèce. Au cours de la saison de croissance 2013, les jeunes hêtres dans les sites les plus bas ont produit plus de 1% de leur biomasse initiale par jour de plus que les plantes témoins. En revanche, les jeunes épicéas n'ont pas poussé plus que ceux dans le site de contrôle et n'ont pas montré de réponse au gradient altitudinal. Au cours de l'année 2014, tous les jeunes arbres ont poussé plus que leurs arbres de contrôle respectifs à 1350 m. Par rapport à 2013, aucune différence notable n'a été observée entre les espèces. Finalement, les individus qui ont poussé à basse altitude en 2015 ont présenté un déclin de la croissance par rapport à ceux du site d'origine, mais le hêtre a été moins pénalisé et a même augmenté sa croissance à 1010 m.

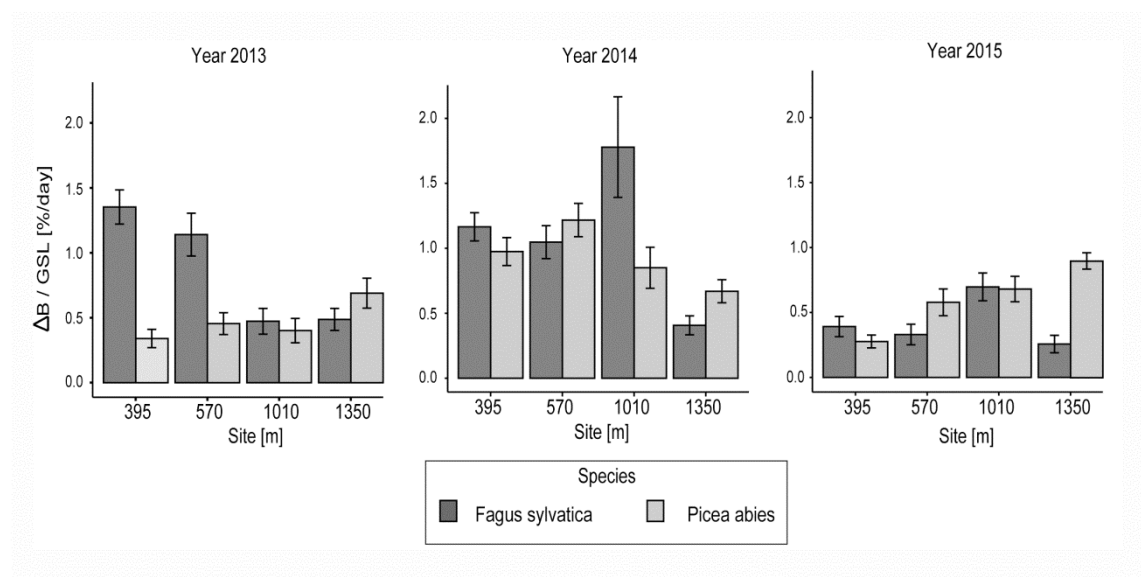


Figure 4 : Augmentation de biomasse (biomasse finale - biomasse initiale/biomasse initiale) exprimée en nombre de jours de croissance durant la saison de végétation. Cette expression de la mesure permet d'enlever à la fois l'effet de la taille initiale de la plante et les différences de durée de la saison végétative. La durée de la saison végétative (GSL : growing season length) a été déterminée par le nombre de jours entre l'éclosion des bourgeons et la sénescence des feuilles pour le hêtre. Pour l'épicéa, la date moyenne de la sénescence par site et par année a été employée.

On peut faire l'hypothèse que cette variation interannuelle de croissance est due à des valeurs variables du déficit de pression de vapeur de l'air (VPD) pendant la période d'étude. Il est connu dans la littérature, mais pas encore totalement démontré, que l'épicéa est plus sensible que le hêtre à l'augmentation de VPD au-dessus de 1.5 à 2 kPa. Le tableau climatique (Tableau 1) nous montre que les valeurs de VPD les plus élevées ont été enregistrées en 2015 aux basses altitudes, dépassant le seuil de 2kPa. En fait, au cours de cette année, aucune des espèces n'a grandi à 395 et 570 m. Si l'on regarde les conditions de VPD aux basses altitudes en 2014, on observe le nombre de 67 et 92 heures, respectivement, au-dessus de 1.5kPa, ce qui a priori ne semble pas avoir limité la croissance de ces espèces, alors qu'en 2015 ces valeurs étaient de 456 et 372 heures, respectivement. En revanche en 2013, les valeurs de VPD n'ont pas été limitantes ni pour la croissance de l'épicéa, ni pour celle du hêtre. A l'heure de ce rapport, cette interprétation est encore en processus de validation.

En ce qui concerne l'allocation de la biomasse, la masse sèche des différents compartiments de l'arbre montre un pourcentage plus élevé de biomasse souterraine pour le hêtre, alors que l'épicéa a un pourcentage de feuilles notablement plus élevé par rapport au hêtre (Figure 5).

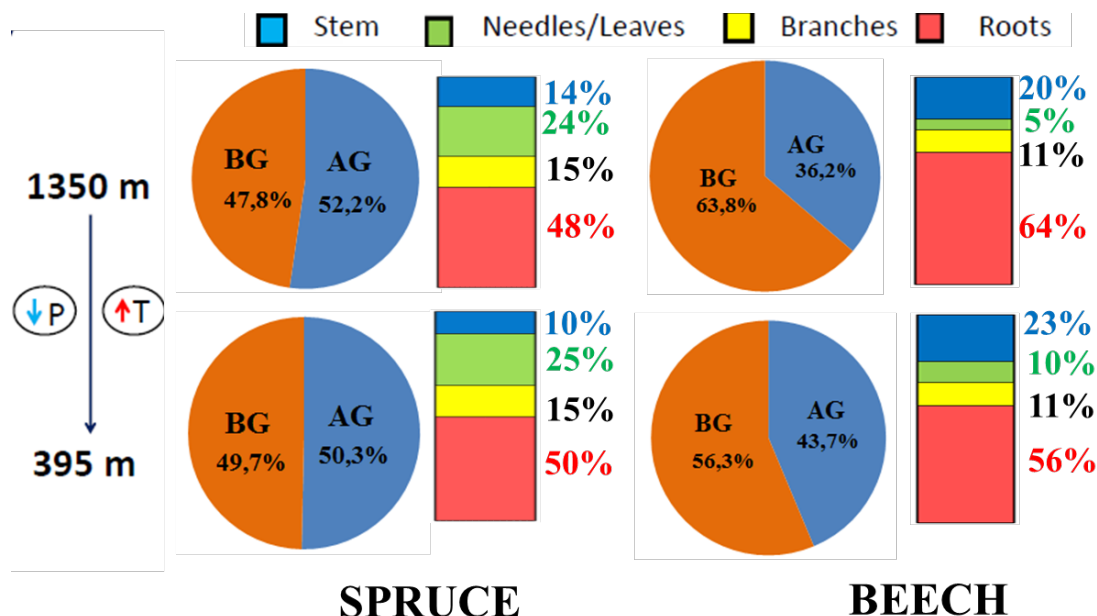


Figure 5 : Répartition de la biomasse après trois ans de simulation de changement climatique dans l'expérience de transplantation. Ces résultats proviennent d'une récolte destructive à l'automne 2014.

3.3 Activité photosynthétique

Les mesures de photosynthèse à l'échelle de la feuille nous permettent d'estimer la quantité de carbone fixé sous forme de CO_2 par la plante, afin de produire de la matière organique pour sa croissance, son métabolisme de maintenance et pour accumuler ses réserves. Les mesures de capacité photosynthétique sont des mesures réalisées dans des conditions optimales pour la plante et représentent ainsi un potentiel maximal pour la fixation de carbone. Ces conditions sont nécessaires afin de pouvoir comparer les performances de différentes espèces entre-elles, soumises également à différentes conditions de croissance, ici le long du gradient altitudinal.

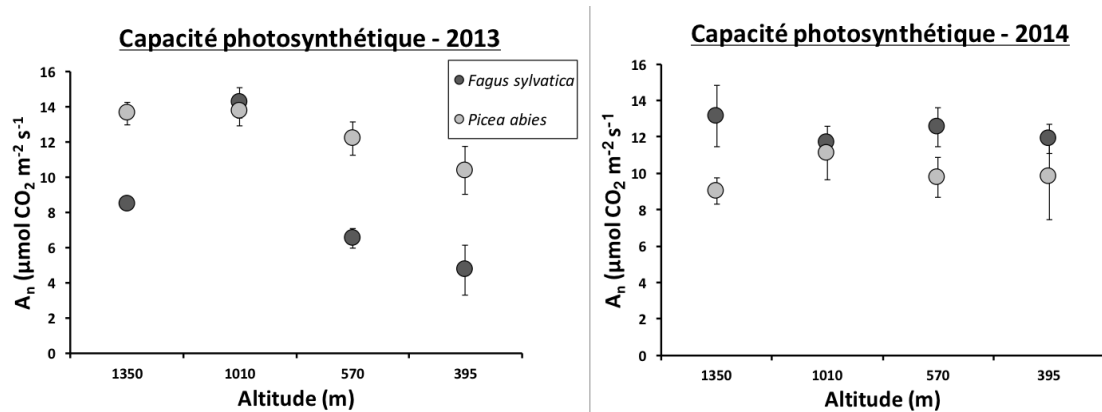


Figure 6 : Capacité photosynthétique du hêtre et de l'épicéa en milieu de saison de végétation à un an (2013) et deux ans (2014) après la transplantation, aux différentes altitudes de croissance. La capacité photosynthétique représente l'assimilation de CO_2 par les feuilles en conditions optimales pour la lumière et la température. Lors des mesures, les plantes ont toutes été regroupées à la même altitude (1010 m), afin que les conditions de déficit de pression de vapeur (VPD) et de pression partielle de CO_2 soient identiques et n'influencent pas la comparaison des valeurs en fonction de l'altitude. Les valeurs de photosynthèse sont calculées sur l'aire projetée des feuilles de hêtre et des aiguilles d'épicéa. Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard.

Dans notre cas, les réponses des deux espèces ont montré des différences de comportement d'une année à l'autre (Figure 6). En 2013, les capacités photosynthétiques des deux espèces ont présenté une diminution des valeurs le long du gradient, avec des valeurs plus élevées à 1350 m qu'à 395 m. De plus, cette année-là, l'épicéa a montré des valeurs généralement plus fortes que le hêtre, à l'exception du site à 1010 m, où les valeurs des deux espèces étaient identiques. En revanche, en 2014, nous n'avons pas observé de différence de capacité photosynthétique le long du gradient au sein de chaque espèce. Par contre, cette fois-ci, le hêtre a montré des valeurs globalement plus fortes que celle de l'épicéa.

3.4 Phénologie des feuilles du hêtre

Le suivi de la sénescence foliaire montre qu'il existe une corrélation entre le taux d'azote dans la feuille (NBI) et le taux d'assimilation (Figure 7). De même, il y a une relation de ces variables avec la coloration de la feuille. Cependant, on observe que la mesure avec le Dualex Dx4 est moins précise dans l'estimation de la teneur en azote quand les feuilles tournent à la sénescence. En ce qui concerne le suivi de l'azote après la date de débourrement des feuilles, on a observé un incrément de la concentration de l'azote avec la maturité jusqu'à un certain seuil, qui dépendait de l'altitude à laquelle l'arbre a poussé (cf. rapport de Master de Rocío Mijancos).

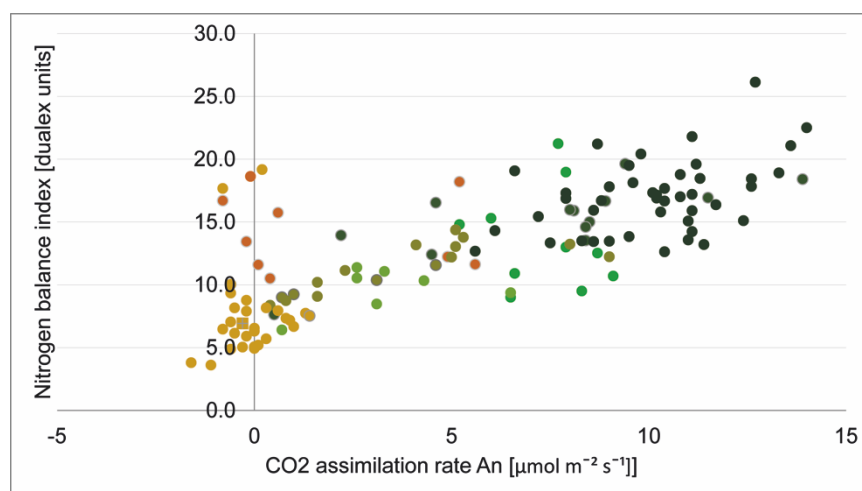


Figure 7 : Relation entre l'index de balance d'azote (NBI) dans les feuilles de hêtre et le taux d'assimilation de CO_2 (A_n). Les mesures ont été faites durant la période de la sénescence des feuilles en 2013. La coloration des feuilles a été mesurée à l'aide des codes de Biesalski (1957) et est représentée en couleur sur le graphique.

3.5 Effet « carry-over » chez le hêtre

Nous avons conduit une expérimentation supplémentaire, en dehors de l'expérimentation principale, afin d'étudier plus particulièrement la réponse de la phénologie du hêtre aux changements des conditions environnementales. En effet, l'étude des variations annuelles du début et de la fin de la période de croissance dans les forêts tempérées est devenue un sujet de recherche important dans les études sur les changements climatiques à cause de son rôle dans la régulation des structures et fonctions des écosystèmes. Il a été montré que le changement climatique peut résulter aussi bien en un réchauffement ou un refroidissement de la période printanière. Mais l'effet particulier d'un refroidissement du printemps sur les phases phénologiques consécutives (formation du bourgeon automnale et sénescence des feuilles) n'a pas encore été bien étudié et n'est pas bien compris (effet dit "carry-over").

Pour cela, nous avons mis en place une expérience de transplantation réciproque sur le même gradient que l'expérimentation principale de CLIMARBRE, en utilisant les deux extrémités du gradient (395 et 1350 m). Nous avons exposé de jeunes plants de hêtre à des conditions plus froides ou plus chaudes que leur site d'origine pendant la période hivernale 2013, en les transplantant respectivement à l'altitude la plus haute ou la plus basse, et nous les avons ensuite ramenés à leur altitude d'origine juste après le débourrement des feuilles au printemps 2014. Cela a eu pour effet de retarder (refroidissement de l'hiver) ou d'avancer (réchauffement de l'hiver) la date de débourrement des feuilles. De plus, les résultats ont montré que le retard ou l'avancement du débourrement ont modifié la phénologie consécutive en automne: un avancement du débourrement au printemps, induit expérimentalement, a conduit à un avancement de la formation des bourgeons en automne, mais pas de manière significative (Figure 8), alors qu'un retard du débourrement au printemps, à lui conduit à un retard significatif de la formation des bourgeons d'automne (cf. article "Carry-over" annexé). Nous avons observé que cet effet "mémoire" pourrait être relié à l'accumulation des carbohydrates non-structuraux (NSC). Cette étude suggère que le retard potentiel des processus de sénescence dû aux changements climatiques pourrait être moins important que prévu et que l'hypothèse d'une saison plus grande saison de végétation ne s'applique pas nécessairement. Ce travail a fait l'objet d'un article qui sera

soumis prochainement et qui est annexé au rapport (cf. « The impact of warmer or cooler winter on European beech phenology lasts beyond spring », to be submitted to *Global Change Biology*).

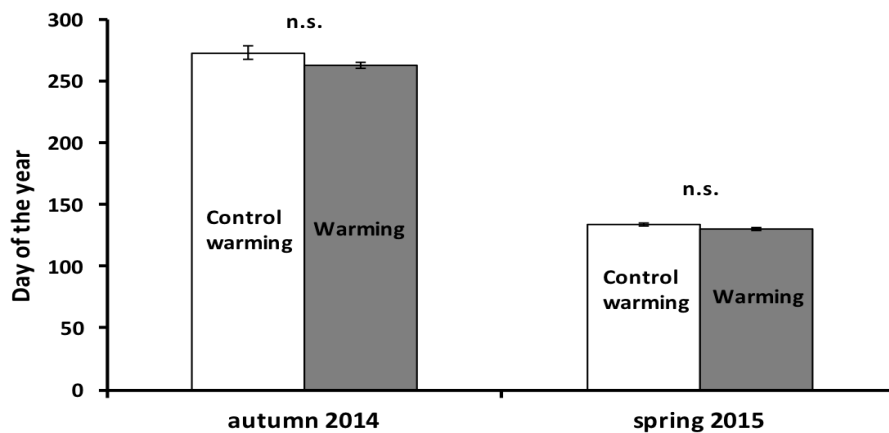


Figure 8 : Date de formation du bourgeon automnale en 2014 (budset) et débourrement des feuilles au printemps 2015 (budburst) pour les jeunes hêtres ayant subi l'hiver 2013-2014 à leur altitude d'origine à 1350 m (Control Warming) et pour les jeunes hêtres ayant subi en réchauffement durant l'hiver 2013-2014 à l'altitude de 350 m (Warming). Après le débourrement, au printemps 2014, les hêtres ayant subi le traitement « Warming » à basse altitude ont été rapportés à leur altitude d'origine à 1350 m jusqu'à la fin de l'expérimentation en 2015.

3.6 Modifications macro- et micromorphologiques du feuillage

Malgré des différences ontogénétiques importantes, les deux espèces étudiées ont montré des modifications significatives de la morphologie de leur feuillage en réponse avant tout à l'augmentation des températures à plus basse altitude, quelle que soit l'échelle structurale considérée. En outre et suite aux conditions climatiques contrastées pendant les saisons de végétation 2013 et 2014, ces changements ont connu une forte variabilité interannuelle, suggérant une importante sensibilité de la morphologie foliaire aux conditions climatiques ambiantes pendant l'élongation et la maturation des organes foliaires. En particulier chez le hêtre - et comme indiqué par un parenchyme palissadique et une cuticule plus épaisse, une plus grande surface foliaire (Figure 9), un pourcentage plus élevé de nervures ou une diminution de la taille des stomates, les changements structuraux observés ont globalement signifié une augmentation des caractéristiques xeromorphiques du feuillage. Des stomates de plus petite taille permettent en effet une plus grande réactivité stomatale et donc une optimisation des performances assimilatrices (Zhao et al. 2015). Avec l'épaississement de la cuticule, cet ajustement structural contribue à un meilleur contrôle du bilan hydrique foliaire. L'ajustement de la surface foliaire est une réaction typique d'adaptation altitudinale aux changements de température (Scheepens et al. 2010) mais l'augmentation observée à basse altitude va à l'encontre du renforcement des caractéristiques xéromorphiques observée par ailleurs (Fahn et Cutler 1992). L'ensemble de ces réactions suggère une réponse intégrative du feuillage aux contraintes environnementales, similairement à ce qui est observé dans d'autres contextes environnementaux (Vollenweider et al. 2013). Malgré leur xéromorphie constitutive et une adaptation intrinsèque à des conditions hydriques plus contraignantes, différents ajustements morpho-anatomiques - tels qu'une augmentation de la masse spécifique, une

diminution de la fréquence des lignes de stomates, un renforcement des épidermes, davantage de mésophile et moins de tissus conducteurs ont été observés dans les aiguilles d'épicéa. Comme pour le hêtre, ces changements suggèrent une réponse intégrative du feuillage aux contraintes environnementales perçues en cours d'élongation et de maturation du feuillage, et variant annuellement. Les paramètres montrant la plus grande plasticité phénotypique comprenaient la surface foliaire et la masse foliaire par unité de surface chez le hêtre *versus* la surface transversale des aiguilles et la surface relative des canaux à résine chez l'épicéa. Globalement, la plasticité foliaire a été légèrement plus grande en 2013 qu'en 2014, ce qui suggère une influence prépondérante de la VPD sur les caractéristiques morphologiques du feuillage.

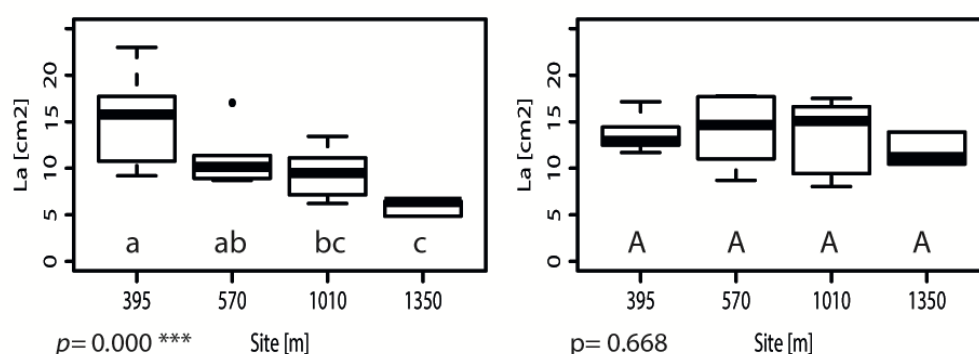


Figure 9 : Surface foliaire chez le hêtre aux différentes altitudes en 2013 (graphique de gauche) et 2014 (graphique de droite).

3.7 Activité microbienne des sols en pots

Des mesures de respiration du sol des pots dans lesquels les jeunes plants de hêtre et d'épicéa ont grandi durant l'expérimentation ont été effectuées pendant la saison de végétation 2014. Ces mesures nous permettent d'estimer l'activité des micro-organismes présents dans le sol grâce au dioxyde de carbone qui est rejeté lors des processus de dégradation de la matière organique. Elles ont été effectuées, comme pour la photosynthèse, à la même altitude sur le site à 1010 m dans les pots provenant de chaque site étudié. Deux ans après la transplantation, les deux espèces ont présenté des réponses quelque peu contrastées (Figure 10). Alors que l'épicéa n'a montré aucune variation des flux de respiration du sol le long du gradient altitudinal avec des valeurs aux alentours de $4 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, le hêtre a quant à lui, présenté des valeurs légèrement plus basses sur le site de plus basse altitude ($\sim 3 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) comparé aux autres sites du gradient (~ 5 à $6 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). Cependant, au sein de chaque site, la différence entre les deux espèces n'a pas semblé flagrante au vu des variabilités exprimées pour ces mesures. Il semblerait donc que seules les communautés microbiennes du sol du hêtre aient été affectées par les conditions de croissance du site le plus bas.

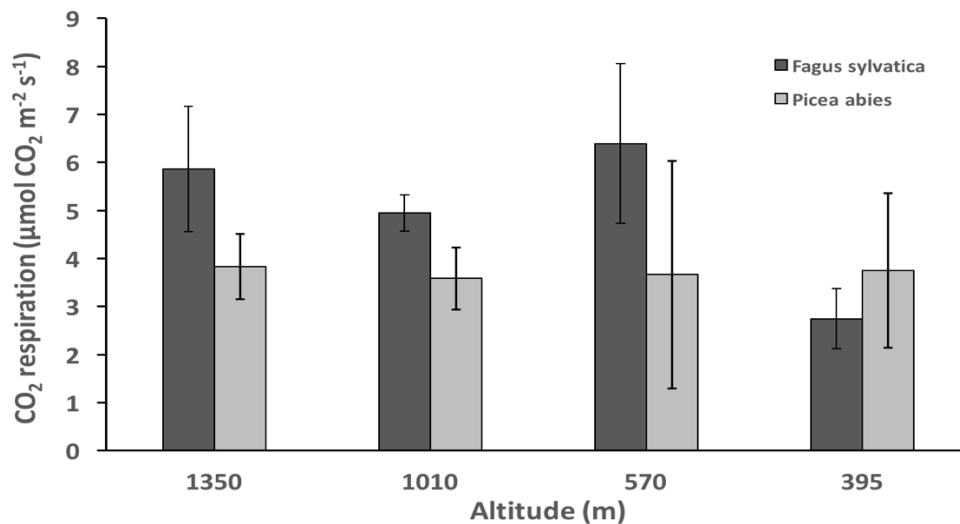


Figure 10 : Respiration du sol dans les pots de hêtre et d'épicéa au milieu de la saison de végétation en juillet 2014 le long du gradient altitudinal. Les mesures ont toutes été réalisées sur le site intermédiaire à 1010 m afin d'exposer les plantes et leurs pots à des conditions environnementales similaires.

Le carbone microbien dans le sol du hêtre a montré une tendance à des teneurs croissantes vers les altitudes plus basses pendant la saison de croissance (Figure 11). Par contre, l'épicéa n'a pas réagi au gradient altitudinal. Cependant, pour les deux espèces, les taux de carbone microbien étaient plus élevés pendant la saison de croissance par rapport à la senescence ou après l'hiver. Si nous considérons le rapport C/N (Figure 12), nous observons qu'il y a eu une augmentation de ce rapport à basse altitude pour le hêtre, ce qui n'a pas été observé pour l'épicéa. Ces résultats donnent une indication que les deux espèces ont une influence différente sur le sol quand ils sont exposés au même changement des conditions climatiques. Une recherche plus approfondie sur ce sujet est en cours au moment de la rédaction de ce rapport.

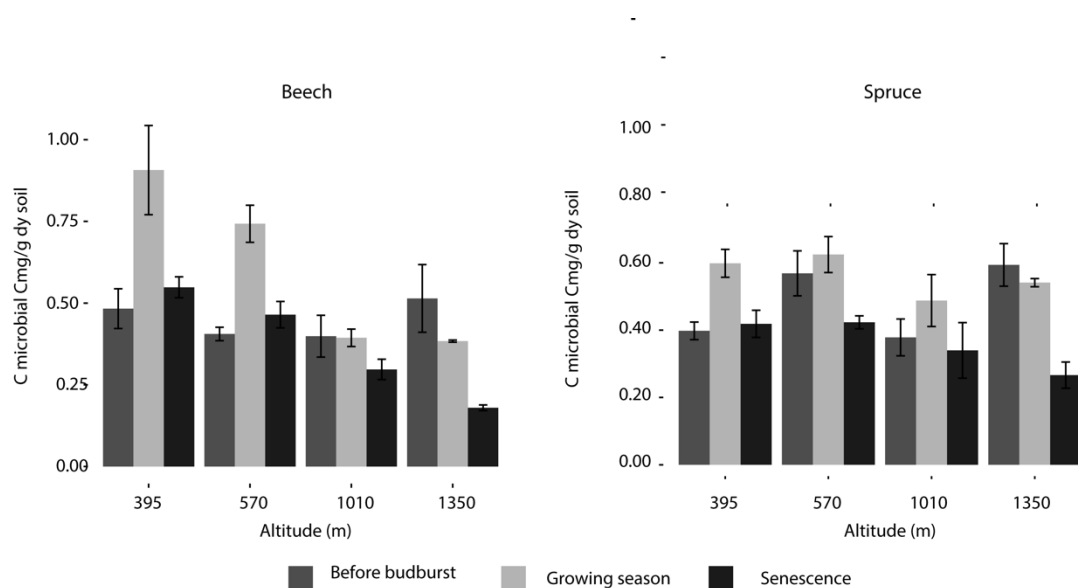


Figure 11 : Variation temporelle du carbone microbien durant trois stades de développement des plantes de hêtre et d'épicéa.

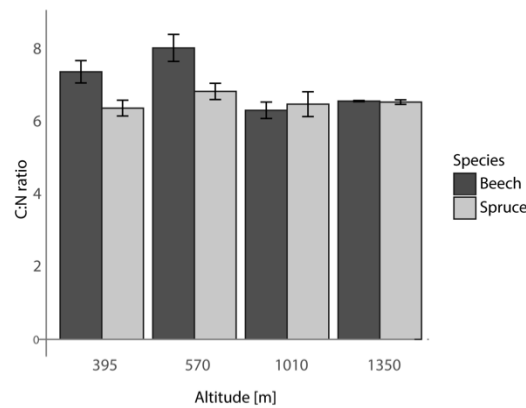


Figure 12 : Rapport C/N microbien dans le sol des pots des deux espèces le long du gradient altitudinal.

3.8 Présentation des résultats et communications

Présentation des résultats lors de congrès internationaux :

Ecophysiological response of beech and spruce to simulated climate change across an altitudinal gradient: a field study. Poster and Workshop: Constant Signarbieux. 16th International on Photosynthesis Research, St-Louis, MO, USA (11-16 of August 2013).

European beech shows higher phenotypic plasticity than Norway spruce under simulated climate change". Speaker: Paula Sanginés. Session Title: Plant (Physiological) Ecology". British Ecological Society Annual Meeting in Edinburgh (13-16 of December 2015).

The effect of warmer or cooler winters on European beech phenology carries over the phenophases of next growing season." Speaker: Constant Signarbieux. Session Title: Global Change Ecology". British Ecological Society Annual Meeting in Edinburgh (13-16 of December 2015).

Présentation des résultats lors de congrès nationaux :

NCCR Climate Change Summer School in Grindelwald (31/08-5/09-2014), Presentation by P. Sangines.

Growth response of beech and spruces saplings reveal different strategies under simulated climate change. Mijancos, R., Sanginés, P., Buttler, A. and Signarbieux, C. 16th Swiss Global Change Day on Wednesday 1st of April 2015 in Bern.

Transplant experiment conducted on beech saplings shows that the effect of a warmer or cooler winter on phenology lasts beyond spring. Toledano, E., Sanginés, P., Buttler, A., Vitasse, Y. and Signarbieux, C. 16th Swiss Global Change Day on Wednesday 1st of April 2015 in Bern.

Rapports de stage et master MSc :

Berthelon C. 2012. Impact du changement climatique sur le hêtre et l'épicéa, le long d'un gradient altitudinal. Travail de master FAGE, Université de Lorraine.

Hernandez F. 2013. Ecological response of trees to simulated climate change along an altitudinal gradient. Travail de master MSc Universidad Politécnica de Madrid.

Menoud M. 2013. Perfectionnement du modèle de biomasse de plantules d'épicéa et de hêtre dans le cadre du projet CLIMARBRE. Projet SIE, EPFL.

Bidon M. 2014. Réponse écologique de deux essences d'arbres à un changement

climatique simulé par un gradient altitudinal. Travail de master, Université de Bordeaux.

Hobkirk R. 2015. Complementary work linked to the « Ecological response of trees to simulated climate change along an altitudinal gradient CLIMARBRE » project. Projet SIE, EPFL.

Mijancos R. 2015. Ecological responses of beech and spruce saplings to simulated climate change in the swiss jura mountains. Travail de master MSc Universidad Politécnica de Madrid et Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.

Toledano E. 2015. Carry over « warming-cooling » effect on beech saplings phenology. Travail de master MSc Universidad Politécnica de Madrid et Ecole polytechnique fédérale de Lausanne.

Publications :

Sangines P, Bütler R, Signarbieux C. 2016. Changement climatique : comment réagissent le hêtre et l'épicéa. La Forêt 7/8/16.

Arend M, Braun S, Buttler A, Siegwolf RTW, Signarbieux C, Körner K.

2016. *Ökophysiologie: Reaktionen von Waldbäumen auf Klimaänderungen*. In: Wald und Klimawandel, Red. A.R. Pluess, S. Augustin, P. Brang. Office fédéral de l'Environnement OFEV/BAFU (in press).

Sanginés P, Signarbieux C, Mudry N, Schlaepfer R, Buttler A, Vollenweider P. Foliage responses of beech (*Fagus sylvatica*) and spruce (*Picea abies*) sapling to simulated climate change in a transplantation experiment in mountain sylvopastoral systems. (to be submitted to Experimental Botany).

Signarbieux C, Toledano E, Sanginés P, Fu YH, Schlaepfer R, Buttler A, Vitasse Y. The impact of warmer or cooler winter on European beech phenology lasts beyond spring (submitted to Global Change Biology).

Sanginés P. et al. Vapor pressure deficit-driven changes in the growth of spruce and beech saplings exposed to simulated climate change (in preparation).

4. Discussion

Le projet CLIMARBRE a été effectué dans le Jura, une région de moyenne montagne où l'on s'attend à ce que les changements climatiques soient le plus accentués (Beniston et al. 1997, Beniston et al. 2007, Beniston 2009, Schär et al. 2004) et aient un impact prononcé sur l'évolution et l'utilisation du paysage. De plus, les forêts des montagnes du Jura sont aussi celles qui possèdent la plus grande valeur économique. Ainsi, tout changement climatique toucherait profondément l'économie forestière dans cette région. Le projet CLIMARBRE, qui se situe à l'interface entre la recherche fondamentale en écologie forestière et les sciences appliquées, devait attirer l'attention des exploitants forestiers, des gestionnaires de milieux naturels (e.g. Parc Jura vaudois) et du public en général à l'impact des changements climatiques sur les écosystèmes. Un de nos sites d'étude a été choisi dans le très visité Arboretum National d'Aubonne; à de nombreuses reprises nous avons pu expliquer nos recherches et les enjeux du changement climatique au grand public.

Avec l'expérience CLIMARBRE, nous pouvons donner aux praticiens une information objective et tangible sur la réaction aux changements climatiques de deux espèces importantes dans le paysage jurassien et nourrir la réflexion pour une gestion adaptative. L'investigation avec de jeunes individus de hêtre et d'épicéa permet de montrer les facultés d'acclimatation et de plasticité phénotypique de « l'ensemble de l'avenir » pour la structuration des paysages sylvopastoraux du Jura, dont la sensibilité au changement de gestion (Chételat et al. 2013), au changement climatique (Peringer et al. 2013, Buttler et al. 2012) et l'impact sur l'économie (Huber et al. 2013) ont été démontrés pour cette même région.

L'approche principale de ce projet de recherche a été d'étudier la réponse écologique de jeunes essences d'importance pour le Jura face à un changement climatique graduel simulé. Avec un changement de climat imposé pendant plusieurs années aux deux espèces, la question principale, certainement aussi la plus intéressante pour la pratique, était de déterminer la réponse de la croissance des jeunes arbres soumis à un climat graduellement plus chaud et plus sec. Ensuite, de manière à pouvoir expliquer les différentes réponses de croissance, l'approche physiologique nous a conduit à nous intéresser à la partie foliaire des arbres pour savoir comment les processus phénologiques responsables de la longueur de la saison de végétation, les performances photosynthétiques ou encore la morphologie et l'anatomie des feuilles étaient liés à la croissance observée. Pour finir, une étude sommaire des propriétés des sols des pots dans lesquels les arbres ont poussé et de leur évolution sous conditions environnementales changeantes, nous a permis d'élargir le champ d'étude et d'affiner la réponse à nos questions.

Le projet CLIMARBRE a fait la démonstration expérimentale de la réponse de jeunes plantes de ces deux espèces transplantées le long d'un gradient altitudinal, simulant ainsi des conditions environnementales de climats futurs. L'expérience a permis d'obtenir des données expérimentales dans un cadre contrôlé avec des conditions climatiques réalistes à quatre altitudes différentes, permettant de simuler trois scénarios climatiques IPCC possibles : le site à 1010 m, équivalent au scénario A1B pour une augmentation modérée des gaz à effet de serre, le site à 570 m, pour le scénario A2 dans le cas d'une augmentation importante des gaz à effet de serre, et finalement le site à 395 m représentant le scénario extrême avec des variables climatiques se situant à l'extrémité positive du modèle de prédiction du scénario A2. Le gradient altitudinal choisi *a priori* selon ces scénarios, sur la base de données météorologiques régionales, devait reproduire, par rapport au site de contrôle à 1350 m, à 1010 m le scénario de changement climatique modéré avec une

augmentation moyenne des températures de +2°C et une réduction des précipitations de 20%, à 570 m un scénario intermédiaire avec une température de +4°C et 40% de réduction des précipitations, et à 395 m un scénario extrême avec une augmentation de +5°C et 50% de réduction des précipitations. Ainsi, durant les trois années 2013, 2014 et 2015, ce gradient s'est marqué sur les plantes transplantées par une augmentation de la température et une réduction des précipitations vers les plus basses altitudes. Cependant, le gradient des conditions climatiques n'a pas été linéaire par rapport à l'altitude et des irrégularités ont été observées pour les quatre sites choisis, notamment en raison des conditions microclimatiques locales. Par exemple, certaines années il pleut davantage à 1010 m qu'à 1350 m, et les températures peuvent être relativement similaires à 570 et à 395 m. Finalement, la meilleure variable pour refléter le gradient altitudinal et qui influence les jeunes plantes de l'expérience, a été le déficit de pression de vapeur (VPD), notamment quand il est exprimé soit par la moyenne des dix valeurs journalières maximales durant la période de végétation, soit par le nombre d'heures au-dessus du seuil de 1,5 kPa, durant la période de végétation. Ces critères montrent que, le plus souvent, dans les quatre sites, mais de façon plus marquée dans les deux sites de basse altitude, 2015 a été l'année avec une période de végétation la plus extrême pour les plantes, 2014 a été la moins extrême, et 2013 a été intermédiaire.

L'expérience a permis de distinguer les réponses sur le court terme (2012-2015) dans le cadre du programme « Forêt et changements climatique ». La possibilité pour un suivi et une démonstration sur le long terme est envisageable, mais dépendra de la survie des plantes.

Les performances observées des jeunes plantes de hêtre confirment les résultats des inventaires forestiers nationaux, qui attestent déjà d'une diminution de la contribution des épicéas - l'essence commerciale par excellence - dans toutes les régions de basse et moyenne montagne (Brändli 2010 - Inventaire forestier national - IFN, page 73) au profit du hêtre qui est lui, plus dynamique. De manière générale, le hêtre est davantage capable que l'épicéa d'utiliser les conditions plus chaudes de basse altitude pour l'accroissement de biomasse et de plus, cette espèce réduit moins sa croissance lors des périodes sèches. L'épicéa, lui, utilise moins cette opportunité de meilleures conditions climatiques pour sa croissance. Cette réponse de croissance est le reflet d'une période de végétation allongée à plus basse altitude. Toutefois, en standardisant la croissance annuelle par la durée de la saison de végétation, on montre que la meilleure performance du hêtre pour la croissance à basse altitude est maintenue. Cependant, cette différence entre espèces ne se marque pas toutes les années. Elle s'est marquée en 2013, mais pas en 2015, quand les conditions étaient extrêmes (e.g. VPD) et qu'une réduction de croissance est intervenue aux basses altitudes. Lors d'une année climatiquement moyenne, comme en 2014, la différence entre les deux espèces ne se marquent pas ou beaucoup moins, car elles sont les deux plus performantes aux basses altitudes. Ces réponses de croissance suivent bien les différences annuelles observées pour les valeurs de VPD.

Une stratégie intéressante à noter est l'investissement accru des jeunes hêtres dans les parties souterraines, ce qui contribue probablement à la meilleure résilience de cette espèce lors du réchauffement climatique, alors que l'épicéa, avec sa plus grande proportion de biomasse dans les aiguilles, est davantage exposé à ces changements environnementaux et en particulier à des VPD extrêmes. Une meilleure efficacité photosynthétique de l'épicéa lors d'une année sèche comme 2013 n'a apparemment pas été suffisante pour compenser la croissance.

Nos résultats indiquent qu'à la fois le hêtre et l'épicéa ont montré, avec la transplantation, une adaptation de la morphologie et de l'anatomie foliaire à des environnements plus chauds et secs à basse altitude, notamment par des traits de xéromorphie. Les changements suggèrent une réponse intégrative du feuillage aux contraintes environnementales perçues en cours d'élongation et de maturation du feuillage, et variant annuellement. Globalement, la plasticité foliaire a été légèrement plus grande en 2013 qu'en 2014, ce qui suggère une influence prépondérante du VPD sur les caractéristiques morphologiques du feuillage.

Bien que le sol n'ait pas été central dans cette étude, les quelques mesures préliminaires semblent indiquer que le hêtre influencerait davantage les processus microbiens du sol, spécialement à basse altitude. Ces investigations mériteraient sans nul doute d'être poursuivies et approfondies.

Finalement, l'ensemble de nos résultats récoltés sur les sites aux quatre altitudes le long du transect altitudinal tendent à indiquer qu'il existe un seuil pour les réponses à partir de l'altitude de 570 m où les changements observés sont en rupture. A cette altitude, le scénario intermédiaire A2 avec une température de +4°C et 40% de réduction des précipitations était ciblé, mais les mesures climatiques durant les années 2013 à 2015 montrent que ces conditions ont été quelque peu dépassées pour la température, et atteintes certaines années pour les précipitations.

Dans l'ensemble, nos résultats, qui doivent encore être analysés de manière plus poussée avant d'en tirer des conclusions définitives, confirment que dans les écosystèmes sylvo-pastoraux du Jura, où l'épicéa est encore dominant à ce jour, cette espèce pourrait céder sa place au hêtre, dont la performance lors du réchauffement climatique constituera un avantage compétitif. A terme, ceci pourrait modifier la dominance des espèces dans les paysages de montagne et profondément transformer le paysage, comme l'ont montré certaines simulations paysagères (Buttler et al. 2012, Peringer et al. 2013). Ces travaux de modélisation prédisent le début d'un remplacement de l'épicéa par le hêtre dans trois écosystèmes sylvo-pastoraux de montagne à partir de 2100 pour le scénario IPCC B2, et un changement de dominance à partir de 2300, notamment en raison de l'effet des sécheresses. Toutefois, ce processus sera lent et pourrait s'échelonner sur plusieurs siècles selon l'intensité du réchauffement et les modes d'utilisation des pâturages de montagne.

5. Littérature

Agroscope, 2016. Agrometeo. Available at: <http://www.agrometeo.ch/>.

Allen CD, Macalady AK, Chenchouni H, Bachelet D, McDowell N, Vennetier M, Kitzberger T, Rigling A, Breshears DD, Gonzalez P, Fensham R, Zhang Z, Castro J, Demidova N, Lim JH, Allard G, Running SW, Semerci A, Cobb N. 2010. A global overview of drought and heat-induced tree mortality reveals emerging climate change risks for forests. *Forest Ecology and Management* 259(4): 660–684.

Arend M, Muninger M, Fromm J. 2008. Unique occurrence of pectin-like fibrillar cell wall deposits in xylemfibres of poplar. *Plant Biol (Stuttg)* 10: 763–770.

Beniston M, Diaz HF, Bradley RS. 1997. Climatic change at high elevation sites: an overview. *Climatic Change* 36: 233–251.

Beniston M, Stephenson DB, Christensen OB, Ferro CAT, Frei C, Goyette S, Halsnaes K, Holt T, Jylha K, Koffi B, Palutikof J, Scholl R, Semmler T, Woth K. 2007. Future extreme events in European climate: an exploration of regional climate model projections. *Climatic Change* 81: 71–95.

Beniston M. 2009. Decadal-scale changes in the tails of probability distribution functions of climate variables in Switzerland. *International Journal of Climatology* 29 : 1362-1368.

Biesalski E. 1957. Pflanzenfarbenatlas für Gartenbau, Landwirtschaft und Forstwesen mit Farbzeichen nach DIN 6164. Göttingen, Germany, Musterschmidt-Verlag.

Bonn S. 2000. Competition dynamics in mixed beech-oak stands and its modifications expected due to climate changes. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitschrift* 171(5-6): 81–88.

Bradshaw AD. 1965. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. *Advances in Genetics* 13(C): 115–155.

Brändli UB. 2010. Inventaire forestier national suisse. Résultats du troisième inventaire 2004-2006. Birmensdorf, Institut fédéral de recherches sur la forêt, la neige et le paysage WSL. Berne, Office fédéral de l'environnement, OFEV. 312 p.

Brundrett MC, Kendrick B, Peterson CA. 1991. Efficient lipid staining in plant material with sudan red 7B or fluoral yellow 088 in polyethylene glycol-glycerol. *Biotech & Histochem* 66: 111-116.

Buttler A. 2014. Grasslands in silvopastoral mountain ecosystems, in: *Grasslands biodiversity and conservation in a changing world*. Mariotte P & Kardol P (Eds). Nova Publisher, New York, ISBN 978-1-61761-619-8, p. 187-217.

Buttler A, Spiegelberger T, Chételat J, Kalbermatten M, Lannas K, Peringer, A, Wettstein JB, Gillet F. 2012. Evolution récente et future des paysages sylvo-pastoraux du Parc Jurassien Vaudois. *Schweiz. Z. Forstwes.* 163(12): 469-480.

C2SM Center for Climate Systems Modeling 2011. Swiss Climate Change Scenarios CH2011. C2SM/MeteoSwiss/ETH/NCCR Climate/OcCC, Zurich.

Cailleret M & Hendrik D. 2011. Effects of climate on diameter growth of co-occurring *Fagus sylvatica* and *Abies alba* along an altitudinal gradient. *Trees-Structure and Function* 25: 265-276.

Chételat J, Kalbermatten M, Lannas KSM, Spiegelberger T, Wettstein JB, Gillet F, Peringer A, Buttler A. 2013. A Contextual Analysis of Land-Use and Vegetation Changes in Two Wooded Pastures in the Swiss Jura Mountains. *Ecology and Society* 18 (1): 39.

Davi H, Gillmann M, Ibanez T, Cailleret M, Bontemps A, Fady B & Lefevre F. 2011. Diversity of leaf unfolding dynamics among tree species: New insights from a study along an altitudinal gradient. *Agricultural and Forest Meteorology* 151: 1504-1513.

Davis MB & Shaw RG. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change.

Science 292, 673-679.

Fahn A, Cutler DF. 1992. Xerophytes. Borntraeger, Berlin

Flexas J, Bota J, Loreto F, Cornic G, Sharkey TD. 2004. Diffusive and Metabolic Limitations to Photosynthesis under Drought and Salinity in CPlants. *Plant Biology* 6 : 269-279.

FOEN/FSO Federal Office for the Environment and Federal Statistical Office. 2011. Environment Switzerland 2011. Bern and Neuchâtel, Switzerland.

Frei C, Scholl R, Fukutome S, Schmidli J & Vidale PL. 2006. Future change of precipitation extremes in Europe: an intercomparison of scenarios from regional climate models. *J Geophys Res Atmospheres* 111: D06105.

Gavazov K, Peringer A, Buttler A, Gillet F & Spiegelberger T. 2013. Dynamics of Forage Production in Pasture-woodlands of the Swiss Jura Mountains under Projected Climate Change Scenarios. *Ecology and Society* 18 (1): 38.

Gavazov K, Spiegelberger T & Buttler A. 2014. Transplantation of subalpine wood-pasture turfs along a natural climatic gradient reveals lower resistance of unwooded pastures to climate change compared to wooded ones. *Oecologia* 174: 1425-1435.

Gehrig-Fasel J, Guisan A & Zimmermann NE. 2007. Tree line shifts in the Swiss Alps: Climate change or land abandonment? *Journal of Vegetation Science* 18(2005): 571–582.

Gimmi U, Wohlgemuth T, Rigling A, Hoffmann CW and Burgi M. 2010. Land-use and climate change effects in forest compositional trajectories in a dry Central-Alpine valley. - *Annals of Forest Science* 67, DOI: 10.1051/forest/2010026.

Guehl JM. 1985. Étude comparée des potentialités hivernales d'assimilation carbonée de trois conifères de la zone tempérée (*Pseudotsuga menziesii* Mirb., *Abies alba* Mill. et *Picea excelsa* Link). *Annales des Sciences forestières* 42 : 23-38.

Huber R, Briner S, Peringer A, Lauber S, Seidl R, Widmer A, Gillet F, Buttler A, Bao Le Q, Hirschi C. 2013. Modeling social-ecological feedback effects in the implementation of payments for environmental services in pasture-woodlands. *Ecology and Society*, 18, 2: 41.

IPCC, 2002. Climate Change and biodiversity, IPCC Technical Paper V. Group, 24, p.77.

IPCC 2007. Climate Change 2007: synthesis report . Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland.

Jump AS, Hunt JM and Penuelas J. 2006. Rapid climate change-related growth decline at the southern range edge of *Fagus sylvatica*. *Global Change Biology* 12: 2163-2174.

Lenoir J, Gégout JC, Marquet PA, de Ruffray P & Brisse H. 2008. A Significant Upward Shift in Plant Species Optimum Elevation During the 20th Century. *Science* (New York, N.Y.) 320: 1768–1771.

Meehl GA, Stocker TF, Collins WD, Friedlingstein P, Gaye AT, Gregory JM, Kitoh A, Knutti R, Murphy JM, Noda A, Raper SCB, Watterson IG, Weaver AJ & Zhao ZC. 2007. *Global Climate Projections*. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M and Miller HL(eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Nogués-Bravo D, Araújo MB, Errea MP & Martinez-Rica JP. 2007. Exposure of global mountain systems to climate warming during the 21st century. *Global Environmental Change-Human and Policy Dimensions* 17: 420–428.

Ogaya R & Peñuelas J. 2007. Species-specific drought effects on flower and fruit production in a Mediterranean holm oak forest. *Forestry* 80(3): 351–357.

- Parry ML. 2000. Assessment of potential effects and adaptations for climate change in Europe: the Europe ACACIA project. Jackson Environmental Institute, University of East Anglia, Norwich, UK.
- Penuelas J & Boada M. 2003. A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology* 9 : 131-140.
- Penuelas J, Ogaya R, Boada M & Jump AS. 2007. Migration, invasion and decline: changes in recruitment and forest structure in a warming-linked shift of European beech forest in Catalonia (NE Spain). *Ecography* 30 : 829-837.
- Peringer A, Siehoff S, Chételat J, Spiegelberger T, Buttler A & Gillet F. 2013. Past and future landscape dynamics in pasture-woodlands of the Swiss Jura Mountains under climate change. *Ecology and Society* 18(3): 11.
- Petriccione B. 2005. Short-term changes in key plant communities of Central Apennines (Italy). *Acta botanica Gallica* 152(4): 545–561.
- Pieruschka R, Huber G and Berry JA. 2010. Control of transpiration by radiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 13372-13377.
- Puissant J, Cécillon L, Mills R, Robroek B, Gavazov K, De Danieli S, Spiegelberger T, Buttler A & Brun JJ. 2015. Seasonal influence of climate manipulation on microbial community structure and function in mountain soils. *Soil Biology and Biochemistry* 80: 296–305.
- Rehfeldt GE, Wyckoff WR & Ying CC. 2001. Physiologic plasticity, evolution, and impacts of a changing climate on *Pinus contorta*. *Climatic Change* 50 : 355-376.
- Rice KJ & Emery NC. 2003. Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment* 1(9): 469–478.
- Rolland C, Petitcolas V, Michalet R. 1998. Changes in radial tree growth for *Picea abies*, *Larix decidua*, *Pinus cembra* and *Pinus uncinata* near the alpine timberline since 1750, *Trees* 13 : 40-53.
- Schär C, Vidale PL, Luthi D, Frei C, Haberli C, Liniger MA, Appenzeller C. 2004. The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature*, vol 427: 332-336.
- Scheepens J, Frei ES, Stöcklin J. 2010. Genotypic and environmental variation in specific leaf area in a widespread Alpine plant after transplantation to different altitudes. *Oecologia* 164: 141–150.
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstre ED and Hemmingsen EA. 1965. Sap pressure in vascular plants - Negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148 : 339-346.
- Signarbieux C & Feller U. 2011. Non-stomatal limitations of photosynthesis in grassland species under artificial drought in the field. *Environmental and Experimental Botany* 71 : 192-197.
- Signarbieux C & Feller U. 2012. Effects of an extended drought period on physiological properties of grassland species in the field. *Journal of Plant Research* 125 : 251-261.
- Theurillat JP & Guisan A. 2001. Potential Impact of Climate Change on Vegetation in the European Alps: A Review. *Climatic Change* 50(1-2): 77–109.
- Valladares F, Chico J, Aranda I, Balaguer L, Dizengremel P, Manrique E. & Dreyer E. 2002. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees* 16(6): 395–403.
- Vitasse Y, Delzon S, Bresson CC, Michalet R & Kremer A. 2009. Altitudinal differentiation in growth and phenology among populations of temperate-zone tree species growing in a common garden. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* 39 : 1259-1269.
- Vitasse Y, Bresson CC, Kremer A, Michalet R & Delzon S. 2010. Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species. *Functional Ecology* 24(6): 1211–1218.
- Vollenweider P, Fenn ME, Menard T, Günthardt-Goerg M, Bytnerowicz A. 2013. Structural injury

underlying mottling in ponderosa pine needles exposed to ambient ozone concentrations in the San Bernardino Mountains near Los Angeles, California. *Trees* 27 (4): 895-911.

Wagg C, Husband BC, Green DS, Massicotte HB & Peterson RL. 2011. Soil microbial communities from an elevational cline differ in their effect on conifer seedling growth. *Plant and Soil* 340 : 491-504.

Way DA & Oren R. 2010. Differential responses to changes in growth temperature between trees from different functional groups and biomes: a review and synthesis of data. *Tree Physiology* 30 (6): 669-688.

Walther GR, Beißner S & Burga CA. 2005. Trends in the upward shift of alpine plants. *Journal of Vegetation Science* 16: 541–548.

Wardle DA, Bardgett RD, Callaway RM & Van der Putten WH. 2011. Terrestrial Ecosystem Responses to Species Gains and Losses. *Science (New York, N.Y.)* 332: 1273–1277.

Wardle DA, Bardgett RD, Klironomos JN, Setälä H, van der Putten WH & Wall DH. 2004. Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science* 304 : 1629-1633.

Whitfield J. 2007. Fungal roles in soil ecology: Underground networking. *Nature* 449 : 136-138.

Zhao W, Sun Y, Kjelgren R, Liu X. 2015. Response of Stomatal Density and Bound Gas Exchange in Leaves of Maize to Soil Water Deficit. *Plants, Soils, and Climate Faculty Publications*. Paper 732.

Zufferey V, Murisier F and Schultz HR. 2000. A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs Riesling and Chasselas leaves in the field: I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis* 39: 19-26.

6. Annexes

Sangines P, Bütler R, Signarbieux C. 2016. Changement climatique : comment réagissent le hêtre et l'épicéa. La Forêt 7/8/16.

Sanginés P, Signarbieux C, Mudry N. Schlaepfer R, Buttler A., Vollenweider P. Foliage responses of beech (*Fagus sylvatica*) and spruce (*Picea abies*) sapling to simulated climate change in a transplantation experiment in mountain sylvopastoral systems. (to be submitted to Experimental Botany).

Signarbieux C, Toledano E, Sanginés P, Fu YH, Schlaepfer R, Buttler A, Vitasse Y. The impact of warmer or cooler winter on European beech phenology lasts beyond spring (submitted to Global Change Biology).

CHANGEMENT CLIMATIQUE

Comment réagissent le hêtre et l'épicéa?

Des chercheurs de l'Institut de recherches WSL et de l'Ecole polytechnique fédérale de Lausanne (EPFL) s'intéressent à l'avenir de nos forêts. Ils veulent savoir comment pousseront le hêtre et l'épicéa dans les forêts du Jura dans un futur climat plus chaud. Regard sur un projet de recherche en cours.

Texte et photos: María Paula Sanginés De Cárcer, Rita Büttler, Constant Signarbieux*

Depuis 1970, la température moyenne en Suisse s'est accrue de 1,5° C. D'ici 2100, elle va encore croître de 2 à 7° C en été, et des étés secs comme en 2003 deviendront beaucoup plus fréquents. De plus, les précipitations estivales seront moindres, tandis qu'elles devraient augmenter en hiver. Les changements climatiques en cours sont déjà bien visibles. Par exemple, en Valais, le pin sylvestre souffre d'une forte mortalité et son rajeunissement est entravé, entre autres, par la sécheresse et le manque d'eau accrus; il est en train d'être remplacé par le chêne pubescent jusqu'à une altitude de 1200 m. D'autre part, depuis la deuxième moitié du XX^e siècle, la période de végétation s'est prolongée de 2,7 jours tous les dix ans en Suisse. Dès lors, une question s'impose: la forêt peut-elle réagir si rapidement à de tels changements et comment?

Climarbre dans le Jura vaudois

Le projet Climarbre étudie depuis quatre ans les capacités d'acclimatation du hêtre et de l'épicéa en phase de régénération dans le Jura vaudois. L'acclimatation est le fait, pour un organisme vivant, de s'adapter à un changement durable de son environnement. A la différence de l'adaptation évolutive, l'acclimatation se déroule sur une période courte, au plus égale à la durée de vie de la plante.

Celle-ci peut réagir par différents mécanismes au stress climatique. Tout d'abord, il est possible qu'elle accélère ou ralentisse sa croissance ou qu'elle modifie sa phénologie, par exemple par un débourrement précoce des feuilles. De plus, elle peut modifier son efficacité photosynthétique. Finalement, des changements de la taille des feuilles ou de la structure de leurs tissus sont possibles. La capacité d'acclimatation d'une espèce



Fig. 1: María Paula Sanginés de Cárcer, doctorante au laboratoire ECOS de l'Ecole polytechnique fédérale de Lausanne, mesurant la photosynthèse des arbres.

est déterminante pour son succès de survie dans un environnement modifié. Dans les hauteurs du Jura vaudois, où l'homme a favorisé l'épicéa au détriment du hêtre depuis des siècles, le gestionnaire forestier se pose aujourd'hui à juste titre la question de l'avenir qui est réservé à ces deux essences (fig. 3).

Mais comment peut-on étudier la réaction des plantes aux changements climatiques? Une méthode bien connue en écologie est la transplantation de plantes issues d'un environnement froid et humide dans un environnement plus chaud et plus sec, suivie par toute une batterie de mesures, que ce soit au niveau climatique ou en relation avec la réaction des individus transplantés (fig. 2). Une telle expérience de transplantation permet

de simuler des conditions environnementales plus chaudes et plus sèches prédites en Suisse et d'observer la réaction des plantes sur un laps de temps relativement court.

Différence de croissance

Dans le projet Climarbre, 200 jeunes hêtres et épicéas d'environ 4 à six ans provenance de la Combe des Amburnex (1340 m) ont été transplantés à Saint-George (1010 m), à l'Arboretum d'Aubonne (570 m) et au Bois Chamblard (395 m) dans une expérience contrôlée. Entre les deux sites extrêmes, une différence de température de 6° C et une réduction de la pluviométrie de 30% ont été mesurées pendant la saison de végétation.

* María Paula Sanginés de Cárcer est doctorante en écophysiologie au laboratoire ECOS à l'EPFL. Rita Büttler est responsable de l'interface recherche-pratique pour la Suisse romande au WSL et responsable pour la biodiversité en forêt à la Direction générale de l'environnement du canton de Vaud. Constant Signarbieux est écophysiologiste et collaborateur scientifique au laboratoire ECOS à l'EPFL.

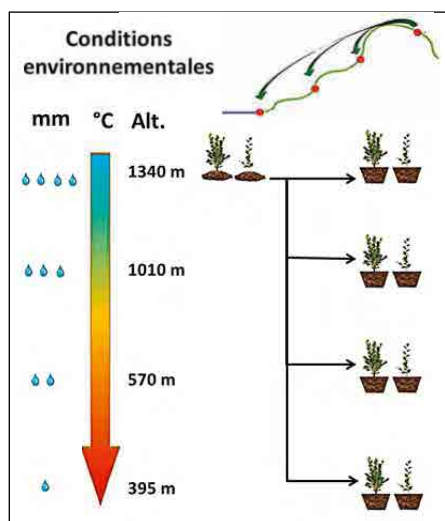


Fig. 2: Transplantation le long d'un gradient altitudinal dans le Jura suisse schématisant la diminution des précipitations (en mm), l'augmentation des températures moyennes (en °C) et l'altitude des différents sites receveurs.

Comment ces plantes ont-elles réagi au changement de leur environnement? Le résultat le plus frappant est la différence de croissance entre les deux espèces. Après quatre années, alors que les deux essences présentent une croissance similaire à 1340 m en multipliant leur biomasse par 1,5, le hêtre a, lui, multiplié sa biomasse par 9 à 395 m, alors que l'épicéa maintient une croissance constante le long du gradient altitudinal (fig. 4, au centre). Les deux essences ont été capables d'augmenter leur durée de saison de végétation en avançant le débourrement de leurs

feuilles et aiguilles: celui-ci a lieu aux alentours de la mi-juin à 1340 m, mais déjà au début de mai à 395 m, l'épicéa démarrant environ 15 jours après le hêtre (mesuré lorsque la moitié des feuilles de chaque arbre étaient sorties). L'efficacité photosynthétique n'explique pas les différences observées au niveau de la croissance, car elle apparaît plus faible à basse altitude que dans les hauts du Jura pour les deux essences (fig. 1). Un premier élément de réponse pourrait se trouver au niveau des feuilles. En effet, les hêtres à basse altitude ont développé des feuilles deux à trois fois plus grandes que leurs congénères restés aux Amburnex.

Le hêtre en tête

Si les deux espèces ont réagi au stress climatique par un débournement précoce du feuillage, le hêtre a néanmoins su beaucoup mieux exploiter les ressources supplémentaires en termes de croissance. Il apparaît donc clairement que le hêtre serait plus à même de tirer profit du climat modifié dans la phase de rajeunissement. Dès lors, est-ce que le hêtre supplantera en grande partie l'épicéa dans les hauteurs du Jura suisse?

Il est encore trop tôt pour donner une réponse définitive. Il faut tout de même signaler que ces observations concernent des provenances des hauteurs de la chaîne du Jura suisse et que les réponses observées ne sont pas généralisables à une plus grande échelle géographique.

L'expérience est toujours en cours afin de mieux identifier les mécanismes conférant une meilleure acclimatation du hêtre au réchauffement du climat. La réponse se



Fig. 3: Quel est l'avenir de ces jeunes épicéas de la chaîne du Jura suisse?

trouve peut-être dans le sol, où les micro-organismes associés aux racines des hêtres pourraient mieux réagir que ceux de l'épicéa en libérant plus de nutriments pour la croissance de la plante. Affaire à suivre !

Remerciements:

Nous tenons à remercier le Fonds pour les recherches forestières et l'utilisation du bois de l'Office fédéral de l'environnement (OFEV), le programme de recherche «Forêts et changements climatiques» dirigé par Peter Brang du WSL, ainsi que Alexandre Buttler, professeur à l'EPFL et responsable du projet Climarbre.



Fig. 4: Rocío Andrey Mijancos, étudiante en master à l'EPFL, mesurant la biomasse des arbres. Après quatre ans d'expérience, on voit la différence de taille des arbrisseaux à haute altitude (à gauche, site contrôle), et à basse altitude près du lac Léman (au centre, un épicéa, à droite, un hêtre).

Cet article est tiré de



L'unique revue forestière de Suisse entièrement rédigée en français

Revue spécialisée dans le domaine de la forêt
et du bois, paraît 11 fois par an

Editeur:  **ForêtSuisse**
Association des propriétaires forestiers

Président: Max Binder
Directeur: Markus Brunner
Responsable d'édition: Urs Wehrli

Rédaction:
Rosenweg 14, 4501 Soleure
Tél. 032 625 88 00, fax 032 625 88 99
laforet@foretsuisse.ch
Réd. en chef: Fabio Gilardi (fg), gilardi@foretsuisse.ch
Réd. adjoint: Alain Douard (ad), douard@foretsuisse.ch

Administration:
Rosenweg 14, 4501 Soleure, tél. 032 625 88 00,
fax 032 625 88 99, www.foretsuisse.ch

Annonces:
Gassmann Media SA, Roger Hauser,
chemin du Long-Champ 135, CH-2501 Bienne
T +41 32 344 83 83, M +41 79 669 92 55
service@gassmann.ch

Abonnements:
Manuela Kaiser, kaiser@waldschweiz.ch

Prix de vente:
Abonnement annuel: Fr. 89.–. Prix spéciaux pour apprentis,
étudiants, retraités et groupes. Prix à l'unité: Fr. 10.–

Tirage:
1654 ex. (REMP 22.9.2015)

Impression:
Stämpfli SA, Wölflistrasse 1, 3001 Berne

La reproduction des articles est autorisée uniquement
avec l'accord de la rédaction.
Mention des sources obligatoire

Label de qualité
du groupe presse
spécialisée
de l'Association
de la presse suisse

ISSN 0015-7597



OUI, JE M'ABONNE À LA FORÊT (onze numéros par an)

Tarifs 2016: Fr. 89.– par an
Fr. 59.– par an (apprentis, étudiants, retraités)
Fr. 118.– ou euros 98.– par an (pour l'étranger)

Entreprise/Nom/Prénom _____

Profession _____

Rue _____

NPA/Lieu _____

Tél. _____

Vous pouvez imprimer cette page, découper le coupon et l'envoyer par la poste à:

Service abonnements, LA FORÊT, ForêtSuisse, Rosenweg 14, CH-4501 Soleure

ou utiliser le bulletin d'abonnement en ligne

Foliage responses of beech (*Fagus sylvatica*) and spruce (*Picea abies*) sapling to simulated climate change in a transplantation experiment in mountain sylvopastoral systems

Sanginés de Cárcer, P.^{1,2}, Signarbieux, C.^{1,2}, Mudry, N.^{1,2,4}, Schlaepfer, R.^{1,2}, Buttler, A.^{1,2,3}, Vollenweider, P.⁴

¹ Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne EPFL, School of Architecture, Civil and Environmental Engineering ENAC, Laboratory of ecological systems ECOS, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland.

² Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Site Lausanne, Station 2, 1015 Lausanne, Switzerland.

³ Laboratoire de Chrono-Environnement, UMR CNRS 6249, UFR des Sciences et Techniques, 16 route de Gray, Université de Franche-Comté, F-25030 Besançon, France.

⁴ Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research WSL, Site Birmensdorf, 8903 Birmensdorf, Switzerland

Abstract (to be checked again at the end, especially the results and final message in yellow)

The world's climate is expected to change significantly over the next century with an overall increase of temperatures, changes in precipitation and an increase in frequency and intensity of extreme climatic events. Global warming and associated environmental changes are predicted to have a particularly strong impact on mountain ecosystems. Sylvopastoral systems of the Swiss Jura Mountains serve as a traditional source of forage and timber in the subalpine vegetation belt, but their sensitivity to climate change puts their future sustainability at stake. These ecosystems are dominated by Norway spruce and European beech and therefore their regeneration abilities in the context of climate change are crucial to understand, since the resulting patterns are of importance for both sustainable landscape management and biodiversity conservation. In this study, we transplanted saplings from a cold environment, given as the donor site at high altitude, to three recipient sites at lower altitude thus simulating warmer and dryer conditions. The main research question was to assess how plastic key functional foliar traits of spruce and beech are affected by changing conditions of temperature and precipitation. The results revealed for beech a high response to higher extreme temperatures, indicating an increase of xeromorphism and resulting in larger leaves with thicker cuticle as well as increased vein network and smaller stomata. The xeromorphic needles of spruce did not present marked differences between the extreme sites of the elevational gradient, suggesting an existing adaptation to warmer and drier conditions of this species, when not exposed to water deficit.

Keywords

Tree regeneration, pasture woodlands, forest, altitudinal gradient, temperature, precipitation, quantitative leaf anatomy, xeromorphy, plasticity.

Introduction

The world's climate is expected to change significantly over the next century with an overall increase of temperatures, changes in precipitation and an increase in frequency and intensity of extreme climatic events, leading to more climate variability (IPCC 2002). Global warming and associated environmental changes are predicted to have a particularly strong impact on mountain ecosystems (IPCC 2007). The observed trend in Swiss mountains during the 20th century for a 1.5°C rise in mean annual air temperature (Beniston et al, 1997) is paralleled by increased event frequency of extreme summer temperature maxima and prolonged droughts (Schär et al, 2004; Beniston 2009). Throughout the current century, these tendencies are predicted to become more pronounced, and northern hemisphere temperate mountains will experience the most intensive temperature rise with a rate of warming typically of about two to three times higher (range +2.8 °C to +5.3 °C) than that recorded over the 20th century (Nogues-

Bravo et al, 2007). For example, at the tree line in the Swiss Alps, an increase of 2.5 °C of the mean air temperature has been evidenced during the twentieth century, but a marked increase of 1°C was observed since 1980 (Gehrig-Fasel et al. 2007). Alongside, predicted hot spells and a 30% diminishing precipitation during the growing season will intensify the dry periods in Central Europe (Beniston 2007, CS2M 2011). These will bring about changes in summer soil water availability, plant phenology, and growing season length, which would ultimately have repercussions on ecosystem distribution and function (Parry 2000, FOEN/FSO 2011). Temperate forests seem to benefit from warmer conditions with an increase in growth (Way & Oren 2010), while mediterranean and tropical forests are likely to respond with a decline in biomass allocation (Ogaya & Peñuelas 2007; Way & Oren 2010). This is partly explained by the fact that the growth of trees at high latitudes or altitudes is usually temperature-limited, while mediterranean forests are mainly limited by water availability (Penuelas et al. 2004; Way & Oren 2010).

Sylvopastoral systems of the Swiss Jura Mountains serve as a traditional source of forage and timber in the subalpine vegetation belt, but their sensitivity to historic land-use and climate change puts their future sustainability at stake (Buttler 2014). Tree regeneration and growth of the two main species, spruce (*Picea abies*) and beech (*Fagus sylvatica*), is a major process shaping sylvopastoral ecosystems, driving the coexistence of closed forest and open grasslands within a dynamical mosaic and continuous gradients over space and time. A good understanding of the regeneration processes and resulting patterns are crucial for both sustainable landscape management and biodiversity conservation. Regarding inevitable future shifts in landscape structure in relation to climate change (Peringer et al. 2013), adaptive management is key for ensuring the sustainable provision of ecosystem services, forage, wood and the beauty and richness of mosaic landscapes.

In mountain ecosystems, plants are more sensitive to climate change and may respond to it in three different ways: (i) persistence in the modified climate (ii) migration to more suitable climates or (iii) extinction (Theurillat & Guisan 2001). The change in species range and in particular upward shifts of species has already been demonstrated (Lenoir et al. 2008, Peñuelas et al., 2007; Walther et al. 2005, Wardle et al., 2011). Nevertheless, the ongoing climate warming might be too rapid for natural migration to successfully allow species to reach more suitable habitats (Rice & Emery 2003), especially during extreme heat waves, which push organisms to their limits. In this context, individual plants would need to remain in their current location and withstand environmental changes (Allen et al. 2010; Bonn 2000; Petriccione 2005) through short-term phenotypic plasticity (Vitasse et al. 2010), defined as the ability of a genotype to develop different phenotypes in response to environmental changes (Bradshaw 1965). Leaf functional traits have been proven to provide good indicators for tracking the impact of environmental changes on plants, particularly with respect to climate change (Nicotra et al. 2010). Indeed, leaf phenotypic plasticity has been recognized as a key process by which plants cope with rapid climate changes (Stojnić et al. 2015; Nicotra et al. 2010; Vitasse et al. 2010). However, the extent to which phenotypic plasticity manifests in response to new climate conditions remains unclear. It was shown that some species will be affected more than others in terms of vitality due to differing sensitivities to stress conditions (Davis & Shaw 2001). Ultimately, foliar traits changes will affect trees performance and physiology (Niinemets et al. 1998) and this could lead to changes in wood production and even species composition, potentially impacting important sectors of forest economy, as was demonstrated in the Swiss Jura mountains (Peringer et al. 2013).

Plants growing in environments with limited water supply, either as a result of rain deficit (e.g. chaparral), winter drought (e.g. cold habitats), physiological dryness (e.g. saline soils, acid bogs) or high rates of evaporation usually exhibit xeromorphic adaptations such as thick cuticle of wax, thick walled hypodermis, sunken stomata and compact mesophyll (Khan 2002). These characteristics are typical for some species such as pine trees whose needles have sclerified epidermis and a high ratio of leaf dry mass per area (LMA) (López et al. 2010). A consistent increase of LMA ratio with xericity has been reported in other studies (Paula & Pausas 2006) and leads to a reduction of leaf transpiration (Niinemets 2001). Interestingly, xeromorphism is not limited to xerophytes and not all xerophytes exhibit xeromorphic characteristics (Khan 2002). Furthermore, response of such leaf traits might be more subtle than expected. Lopez et al. (2010) studied four provenances of *Pinus canariensis* along a climate gradient and observed a morphological and anatomical foliar plasticity in response to contrasting ecological regions of the Canary Islands. They reported a nearly linear increase of epidermis and hypodermis to

climatic xericity, in terms of thickness, while an opposite behavior was observed for the mesophyll tissue. For seedlings of *Quercus ilex* L, which were growing under high temperature conditions, an increase in water use efficiency and photosynthetic rate was correlated to higher leaf mass area and to the proportion of palisade in the mesophyll thickness (Gratani et al. 2003). Relationships between morpho-anatomical adaptations and physiological performances have also been demonstrated for .. beech ... (reference Gratani? WSL?)

Similarly to Gavazov et al. (2013, 2014) and Puissant et al. 2015) who used an altitudinal gradient to evaluate the effect of year-round warmer and drier climate on semi-natural subalpine grasslands and their soils, we used young trees, respectively saplings of beech and spruce, which represent the regeneration phase in the sylvopastoral systems, and transplanted them downslope, from the cold environment at high altitude to three lower-lying warmer sites, thus testing for their resistance to change and plasticity in three intensities of climate change.

The aim of this research is to study, by means of a transplantation experiment along an altitudinal gradient, how temperature changes can affect the morphology and anatomy foliage of two common tree species in the Jura Mountains (i.e. beech and spruce), and to assess this species-specific plasticity? We hypothesized that i) the responding leaf traits of spruce and beech will develop more xeric characteristics in warmer and drier conditions, indicating an overall higher evaporative demand; ii) these two species having contrasted morphological traits in foliage, we expect that the mesomorphic leaves of beech will present more changes than the xeromorphic needles of spruce.

Material and methods

Study sites and altitudinal gradient

An altitudinal gradient was used along the south-facing slope of the Jura Mountain in Switzerland to simulate climate change impacts. Specifically, the increase of temperature and the decrease of precipitation were achieved through a down-hill transplantation experiment, i.e. using a space-for-time substitution approach (Körner, 2003). A detail description for site selection is given in Gavazov et al. (2014). Briefly, the donor site was located at Combe des Amburnex (N 46°54', E 6°23', 1350 m a.s.l.) within the boundaries of the Parc Jurassien Vaudois natural area. In this subalpine area, Norway spruce is generally the dominant tree species of the pasture-woodland landscape, especially on shallow humic soils at stony sites, while on deeper soils beech is also present, together with spruce. At lower altitudes spruce expands its distribution beyond the limits of natural range, favored over beech by forest managers due to economic reasons. The region is characterized by an oceanic climate, with a mean annual temperature and rainfall of 4.5°C and 1750 mm, respectively, and presents a permanent snow cover from November to May (Gavazov et al. 2013, 2014). The three recipient sites were situated at lower altitudes: St.-George at 1010 m a.s.l. (N 46°52', E 6°26'), Arboretum d'Aubonne at 570 m a.s.l. (N 46°51', E 6°37') and Les Bois Chamblard at 395 m a.s.l. (N 46°47', E 6°41'). Thus, by establishing Amburnex as the control site with native climate conditions, we covered three possible IPCC warming scenarios, according to Gavazov et al. (2013, 2014): moderate at 1010 m a.s.l. (on average +2°C and 20% rainfall reduction), intermediate at 570 m a.s.l. (+4°C and 40% rainfall reduction) and extreme at 395 m a.s.l. (+5°C and 50 % rainfall reduction). These data for each site were spatially interpolated from nearby weather stations (source: MeteoSwiss, Agroscope 2016). The temperature increments were chosen in accordance with the moderate A1B and the intensive A2 climate change scenarios outlined in the IPCC report (Meehl et al. 2007) and the predicted concurrent decrease in precipitation for temperate regions (C2SM et al. 2011 ; Frei et al. 2006).

Autecology of beech and spruce

European beech (*Fagus sylvatica* L.) is a deciduous species that presents a large geographical distribution in Europe due to it's tolerance to a wide range of environmental conditions, except for drought to which it is sensitive, which limits its distribution range in Southern Europe (Gelete 2010). Water requirements of beech lies between 550 mm and more than 2000 mm, according to the literature review of Gelete (2010). Regarding the optimal thermal requirements of beech, Enquist (1929) reported a sum of 245 days with temperatures above or equal to 5°C, while Hjelmqvist (1940) reported a sum of 216 days above or equal to 6.5°C. Beech tolerates a wide range of soil pH (acid soils and basic carbonate rich soils).

However, its preferences are base rich, moderately moist but well drained (calcareous) cambisols where the highest growth rates have been recorded (Bolte et al. 2007). Moreover, beech prefers a maritime, temperature climate with mild winters and moist summer conditions. In the Jura mountains, beech is becoming very competitive due to climate change and this was also observed in Montseny mountains in Catalogna (Peñuelas & Boada, 2003). Norway Spruce (*Picea abies* (Karst) L.), as beech, has a relatively high water requirement (do you have the range in mm?) and is also susceptible to summer drought. It naturally occurs in low temperature regions like scots pine and European Larch (Modrzyński & Eriksson 2002). According to Kock (1958), in the mountain ranges of central Europe the optimum growth of Norway spruce is found at 600 m a.s.l. Below 600 m a.s.l. its growth correlates with precipitation and above this altitude with temperature during the growing season (Modrzyński & Eriksson 2002). What is the thermal requirement in days above threshold? Spruce grows optimally in mesic and loamy soils with pH between 5.6 and 6.0 (Modrzyński 2007). Beech and spruce are mesomorphic species (Ellenberg 1988) with foliage showing respectively mesomorphic and xeromorphic traits. The reason for xeromorphic traits is the evergreen foliage and tolerance to winter drought. Nevertheless, as compared to xerophytic pines, the xeromorphic traits in spruce are much less expressed.

Experimental Design

Saplings of beech and spruce were collected in spring 2011 in the Amburnex site in two areas that were limited enough in surface to assume that the saplings belonged to a same population (provenance). Saplings of beech were taken in a clearing within a beech dominated forest, while spruce saplings were taken in a spruce dominated wooded pasture. Saplings of similar size (c.a. 35 cm of height) were dug out with their intact soil, transplanted in 20 L pots and reallocated in the four common gardens, respectively at each altitude.

The experimental design is a generalized block design with repeated measures. The four blocks, considered as fixed, are the four study sites at altitudes 1350, 1010, 570 and 395 m a.s.l. Within each block, the two levels of the factor treatment (TP = combined effect of temperature and precipitation, i.e. saplings were subjected to the local environmental conditions at each site, and T = irrigation treatment, i.e. at each recipient site, water was added weekly during the growing season in accordance to the rainfall at the donor site) and the factor species, also with two levels (beech and spruce), each combination with 10 5? repetitions, were allocated at random to the 20 pots of the block. The aim of the irrigation treatment was to disentangle the rainfall effect and study the responses of leaf to temperature *per se*. The factor year is repeated within pot and has 2 levels (2013 and 2014). The experimental unit is a pot with one plant. Within each site (block), pots were placed randomly on a grid with 0.3 x 0.9 m spacing to avoid light competition. Pots were pushed into the soil and, in order to reduce soil water evaporation and to avoid roots' breaking through the pot, a geotextile cap was placed on top and at the bottom of the pot. As response variables, twenty morpho-anatomical characteristics were measured on beech leaves, and thirty-eight on spruce needles (see supplementary figures S1 and S2). All sites were equipped with wireless meteorological stations (Sensorscope, Climaps. available at: <https://www.climaps.com/>.) that recorded continuously climate parameters (i.e. precipitation and air temperature). When necessary, data from nearby stations were used to complete the data set (Agroscope 2016).

Leave and needles sampling and morpho-anatomical observations

In order to assess potential morphological and anatomical stress symptoms in leaves and needles at maturity, triplicate samples were collected at the same moment along the gradient, in August 2013 and 2014. Only undamaged and fully expanded foliage were collected, avoiding second-flush leaves. Macro-morphological measurements (i.e. lamina fresh and dry weight) were immediately performed in the laboratory the following day of the sampling. Foliage fresh weights and surface (LICOR-3100 area meter) were measured prior oven-drying at 65°C until constant mass. Then, two leaf discs of beech and three mid-portion segments of spruce needles were fixed by infiltration with buffered 2.5% glutaraldehyde at pH 7.0 and stored at 4°C until further processing. The intercellular volume (Vair) was determined using Va/Vf (%), where Va (ml) is the air space in a leaf; Vf (ml) is the volume of fresh leaves (Koike, 1988). Using glassware, two fresh unstained disks (7mm diameter) per beech sample were mounted in the slide and a photograph was taken with the Infinity camera installed on the microscope using the 5x magnification. Light intensity and color settings were fixed in order to have standardized and high quality images (i.e. exposure= 13.42, gain=3.16, gamma=2.07, saturation=0.91 and

hue=8). Using WinCELL image analysis system software, the lumen and wall areas of the cells were measured in order to quantify the veinlet network and assimilative green patches in beech leaves. To determine the size and number of stomata per beech leaf the traditional clear nail varnish method was used. The epidermis imprints were observed under microscope and the variables (width, length, area and number of stomata) were measured directly in the Infinity Software at x5 magnification. The frequency of stomata lines was estimated directly with a binocular using a support device to hold the needle and turn it 360 degrees. Regarding the histological quantification, microscopic slides were prepared following the usual methods of softening cutting with hand-microtome, staining and mounting. For microscopic examination, cross sections were either directly observed under transmitted and fluorescence light, or stained before microscopic observations (see figure 1 and figure 2). Different stains were applied in function of the application target. Sudan-black B (C29H24N6 ROTH 0292.1) was used on spruce cross-sections to highlight lipids, which are the main components of the cuticle tissue and in the xylem vessels. The reagent was obtained by dissolving 10 mg of Sudan Black in 5 ml ethanol 94%, followed by a centrifugation and blend of the supernatant with glycerine 1:1. Cross sections of beech leaves were embedded in Alcian Blue at pH 2±5 to point out the polysaccharides forming the different tissues of the beech leaf. If not mentioned, cuttings were observed directly through the microscope without dye. Due to the anisotropy of needles, tissue area was measured in 70 µm needle cross-sections while tissue thickness was measured in 40 µm leaf sections. All sections were observed with a Leica microscope and images were analyzed using a software (Adobe Photoshop Cs5, version 12.0.0.0), which allowed to do ??? what ????. Altogether, twenty-one morpho-anatomical variables were measured on beech leaves, and forty-four on spruce needles. In order to have a parsimonious approach and using the best variables, a selection was made based on statistical criteria (see below). A detailed description of the variables finally retained in this paper are presented in Table 1.

Statistical analysis

We used repeated-measures three-way ANOVA's to detect the effects of altitude (1350, 1010, 570 and 395 m a.s.l.), treatment (TP and T) and year (2013 and 2014) on the macro- and micromorphological adjustments of leaves and needles at organ, tissue, cell (stomata) and subcellular (cuticula) level to changing environmental conditions. Focus was on traits potentially responsive to varying water availability (Fahn and Cutler, 1992). The full data set was visually inspected for normality and homoscedasticity of variance prior to analysis and log-transformed if necessary. All final models were checked for homogeneity of the residuals. The same data were also explored with a correlation matrix in order to detect correlations between morpho-anatomical response variables (Supplementary figures S1 and S2). Based on these two univariate methods, we selected the best response variables to be considered in a further step, following two criteria: 1) avoiding as much as possible collinearity between response variables in further statistical analyses and 2) considering their importance for a good understanding of morpho-anatomical plasticity and for answering the hypotheses. Results from ANOVA's for the twelve traits variables which have been retained for both beech and spruce are given in supplementary tables S3 and S4.

To further understand the potential effects of changing climatic conditions with varying altitude on the foliar morphology and anatomy, we compared the multivariate data set of foliar traits with the more extreme temperature conditions during warm and dry or cold spells, as well as with rainfall. Hence proxies in the form of the amount of days above and below a given temperature threshold during the period elapsed between budburst and sampling (mid August) was calculated for each sapling. This sampling period largely covered that of foliage elongation and differentiation at all sites. Beech always presented an earlier budburst than spruce, especially at lower altitudes. We selected two specific temperature thresholds to represent extreme conditions considering the thermal requirements of each species (Gelete 2010): (i) number of days during which the daily maximum temperature was above 25 °C (extreme warm conditions) and (ii) number of days during which the daily minimum temperature was below 5 °C (extreme cold conditions). We assessed the relationships between selected morphological and anatomical traits of leaves from tree saplings and the environmental variables by means of RDA ordination, using as explanatory variables extreme warm conditions (1), extreme cold conditions (2) and rainfall during the leaf development (3). Canonical axes and explanatory variables were tested by means of ANOVA's. Separate analyses were performed for each species and year after observing a clear differentiation between years 2013 and 2014. All analyses were carried out using R v3.2.3 (R Core Development Team 2016) and vegan package. Finally, in order to

make comparable the results between species, a phenotypic plasticity index was calculated according to Valladares et al. (2002) (ranging from 0 to 1). Averaging the phenotypic plasticity for all variables resulted in an overall plasticity of each species.

Results

Overall climatic conditions at each site during the leaf development

At the donor site (1350 m a.s.l., the years 2013 and 2014 were warmer than the long term average (0.5 and 1.4 °C, respectively) and the precipitation was similar to the long term average (e.g. mean annual temperature and rainfall of 4.5°C and 1750 mm, respectively) in 2013, but not in 2014, which was much drier (1124 mm) (Table 2). The transplantation downhill in the three recipient sites exposed the saplings to an expected increase in ambient air temperature and reduced precipitation (Table 2). When considering the difference between the donor site (1350 m a.s.l.) and the lowest recipient site (395 m a.s.l.) during the two growing seasons 2013 and 2014, the mean temperature increase was 6.3 °C at the lowest site, and at the same time precipitations were reduced by 20 to 26% compared to the donor site. Nevertheless, during these two years, the gradient was less regular than expected from the site selection according to long term climate data. In particular, during the vegetation period, the +2 °C target at 1010 m a.s.l. was realized only in 2014, while in 2013 the increase was much smaller, only 0.5 °C. At 570 m a.s.l. the target of +4 °C was exceeded in both years. Likewise, the target of +5 °C at 395 m a.s.l. was also exceeded in both years. This resulted in a rather similar warming in the two lowest sites. With respect to precipitation reduction, the target of 20% reduction at 1010 m a.s.l. was nearly reached in 2014, but not at all in 2013, while the target of 40% reduction at 570 m a.s.l. was achieved in 2013, but not in 2014. The target reduction of 50% at 395 m a.s.l. was never achieved and the precipitation in this lowest site fell between the two yearly values at the site at 570 m a.s.l. An interannual variability in climatic conditions within each site during the leaf development was detected, with an inverse climatic trend between the season of spring and summer in 2013 and 2014. While the onset of spring 2014 was characterized by a warmer and drier weather compared to spring 2013, in summer 2014 the weather was generally milder and wetter as compared to 2013, despite mean temperature in 2014 being higher than in 2013 (Table 2).

At the highest site, more than eighty days with daily minimum temperatures below 5 °C were recorded during the two vegetation periods 2013 and 2014 (Table 2). This value decreased consistently along the gradient to reach about ten days at the lowest site. While at the highest site there were less than ten days with daily maximum temperatures above 25 °C, this number reached a maximum of forty-six days in the lowest site in 2013. With respect to vapor pressure deficit (VPD) and considering the mean of the ten highest daily values during the vegetation periods, the threshold of 2 was reached at 570 m a.s.l. in 2013, and in both years at the lowest site.

Variations of leaf traits under changing environmental conditions

Response of beech leaves

A significant site effect (repeated anova, p-value <0.05), i.e. altitude, was found for half of the variables considered, while a strong year effect (p-value < 0.01) was observed for most variables except for stomata density and area (supplementary Table S3). However, no significant effect was found for the irrigation treatment, therefore for the following analyses these treatments were pooled together to increase the robustness of the analysis.

Morphological changes that have been observed on the leaves, which developed in warmer and drier conditions during the growing seasons 2013 and 2014, are given in Figure 3. Overall, more variables presented significant responses between sites in 2013, while in 2014 the variables were less responsive. Particularly in 2013, leaf area and lower cuticle increased consistently along the gradient to lower altitudes, while stomata area and upper epidermis decreased along the gradient. Similar but less consistent trends were observed for vein network and palisade parenchyma which increased also towards lower altitudes. Leaf mass per area, stomata density and spongy parenchyma increased up to the intermediate lower site at 570 m a.s.l. but then decreased at the lowest site. In 2014, the trend was similar to the one in 2013 for

leaf mass area, while other trends appeared for intercellular space which decreased towards lower altitude and for upper cuticle, which increased along this gradient.

Response of spruce needles

Repeated measures anova revealed more variable responding significantly to site, i.e. altitude effects as compared to beech, while less variables responded to the year effect (supplementary Table S4). No significant irrigation treatment was observed, except for phloem tissue, and therefore, as was done previously for beech, both treatments were pooled together, except for phloem.

Morphological changes that have been observed on the needles, which developed in warmer and drier conditions during the growing seasons 2013 and 2014 are given in Figure 4. Contrarily to what was observed for beech, more variables measured on spruce responded in 2014, but trends were often similar between years. Albeit the altitudinal gradient did not fully mirror in the variable responses, variables such as resin ducts, endodermis and transfer tissues tended to decrease to lower altitudes, especially in 2014, but frequency of stomata line and xylem did also in 2013. Interestingly, at the second highest site (1010 m a.s.l.), the cross section and mesophyll proportion was lowest, especially in 2013, while epidermis, endodermis and transfer tissue had highest values. As for beech, leaf mass area was highest in the intermediate low site (570 m a.s.l.), in both years.

Multivariate analysis of leave traits responses

The redundancy analysis (RDA) using the morpho-anatomical data set under the constrain of climatic explanatory variables was performed separately for each species due to their difference in growth strategy. Because of contrasted weather conditions in 2013 and 2014, the analysis was kept separate for each year.

Gradient for beech leaves

The first canonical axes were highly significant in both years ($p\text{-value} < 0.001$) while the second axes were less significant ($p\text{-values} < 0.01$ and < 0.05 in 2013 and 2014, respectively), explaining 37.4 percent of total variance in 2013, and 28.6 percent in 2014 (Figure 5).

Overall, we observed a high response of most variables to higher extreme temperatures, resulting in larger leaves with thicker cuticle and increased vein network, while having smaller stomata. In year 2013, we observed a clear separation along axis one between the lowest sites (395 and 570 m a.s.l.), with warmer and drier conditions, and the higher sites (1010 and 1350 m a.s.l.), with cooler and wetter conditions. This axis was mainly explained by the proportion of extreme warm days, $T > 25^\circ\text{C}$ ($p\text{-value} < 0.001$), by the amount of rainfall ($p\text{-value} < 0.05$) and by the interaction between extreme warm days and rainfall ($p\text{-value} < 0.01$). The leaf variables such as leaf area, parenchyma palisade, vein network and cuticle thickness were positively correlated to extreme warmer temperatures and to its interaction with rainfall, while epidermis thickness and stomata area were negatively correlated to these conditions. Moreover, intercellular volume, spongy parenchyma and stomata density were mainly related to the second axis, for which the amount of rainfall had the strongest weight, a pattern which was related to the extreme position of the intermediate lower site at 570 m a.s.l.

The general picture of the biplot for 2014 was similar but the sites were less clearly separated as compared to 2013. While both the proportion of extreme warm days and of extreme cold days were significant ($p\text{-value} < 0.01$), the amount of rainfall was not any more. But the interaction between extreme warm days and rainfall was still significant ($p\text{-value} < 0.01$). Some responses to higher temperatures found in 2013 were maintained in 2014 such as increasing cuticle thickness, vein-network and leaf area, but epidermis thickness was no longer inversely related to this gradient and was weakly represented on the scatter plot of first two axes. Furthermore, stomata area was less strongly related to the extreme cold days, while parenchyma palisade was more strongly related to these conditions in interaction with higher rainfall.

Gradient for spruce needles

The RDA models for spruce had the first axis significant in both years ($p\text{-value} < 0.01$ and < 0.001 in 2013 and 2014, respectively), but the second axis was significant only in 2014 ($p\text{-value} < 0.01$). Together, the first two axes explained 25.3 % of variance in 2013 and 36.2% in 2014 (Figure 6).

In year 2013, only the first axis was possible for interpretation, which is mainly explained by the proportion of extreme warm (p-value 0.05) and cold days (p-values 0.06) and rainfall (p-value < 0.05). This first axis isolated the site at 1010m a.s.l., while the other three sites were more intermingled, revealing similar responses. Most variables of needle tissues such as epidermis, resin ducts, endodermis, phloem, transfer and xylem were positively correlated to rainfall, which related also to cold temperatures, and characterized mostly the site at 1010m, while variables such as needle length, mesophyll, cross section, cuticle thickness and leaf mass area had an opposite response and related to lower precipitation and higher temperatures.

In 2014, the environmental variables which explained most the distribution were the temperature variables (p-values < 0.05), and the interaction of extreme cold days with rainfall (p-value < 0.01). The gradient across the biplot separated the lower sites (395 and 570 m a.s.l.) from the higher sites (1010 and 1350 m a.s.l.). Needle variables were grouped in a similar way as in 2013, but since both axes were significant, a clearer pattern appeared. Variables such as xylem, resin ducts, transfer, frequency of stomata lines, endodermis and phloem were strongly related to the extreme cold conditions and interaction with rainfall, while the other variables, and in particular epidermis, needle mass area, cross section, cuticle and mesophyll were less related to the main gradient of temperature and could be linked to other not measured environmental variables.

Phenotypic plasticity index as a measure for comparing species

The mean phenotypic plasticity index of beech was 0.21 in 2013 and 0.13 in 2014 (Figure 7). Spruce had a slightly higher overall phenotypic plasticity, 0.23 and 0.20 for the same years. In both cases, plasticity was higher in 2013, as compared to 2014. On the level of individual leaf variables, we could observe for both species a large variability of plasticity indexes, ranging roughly from 0.40 to less than 0.10. For beech, the highest plasticity was observed for leaf area and leaf mass per area, and for spruce it was for needle cross section and resin conducts.

Discussion

Minimum climatic requirements

The transplantation from the donor site to the three recipient sites along the altitudinal gradient allowed simulating chronic warmer and dryer conditions, thus approximating three possible IPCC climate change scenarios (see Gavazov et al. 2013), albeit in the two years 2013 and 2014, the target values for temperature and precipitation changes were not entirely fulfilled and differed notably between years. Overall, the climatic conditions suggest that saplings were exposed to similar warmer conditions at the two lowest sites but were not water limited, which is the main factor limiting tree growth at low altitudes (Way & Oren 2010). Indeed, considering that the rainfall fulfilled the water requirements of beech, even at the lowest site, it can be assumed that this species was not water limited, nor was Norway spruce, which has a similar water requirement (Modrzyński & Eriksson 2002). This explains why no differences was found between the irrigation treatments (T and TP). It could be argued that it is not the rainfall *per se* that makes the difference, but the soil water retention capacity. In this experiment, we took the original soil together with the saplings during the transplantation, and therefore the water holding capacity of the original soil was not changed, but the transplantation in pots could have potentially changed the soil hydrology.

The upper thermal limit for beech was established to not exceed 19 °C in July (Bolte et al. 2007), while Jedliński (1922) reported a threshold of 8 °C in May above which beech should perform better (in terms of growth and development). At the lowest site in our study the months with highest mean temperature in 2013 were July and August with mean values of 21.5 °C and 19.6 °C, respectively. These temperatures are above the optimal range established in literature for beech (REF?). On the contrary, in 2014 mean monthly temperatures were 18.8 °C and 18.0 °C in June and July, respectively. Spruce has a lower thermal requirement than beech (Modrzyński 2007) and therefore, as for beech, the saplings experienced temperatures above the optimal range. As the reduced precipitations at lower sites was not sufficient to expose the saplings to drought stress, changes in the morpho-anatomical traits due to warmer conditions might have been somewhat mitigated. Overall, if one considers the vapor pressure deficit (VPD), it appears that the most stressful conditions were experienced during the vegetation period of 2013 in the two lowest sites .

Beech showed higher changes in the foliage towards xeromorphy

The higher temperatures since the transplantation in 2012 increased the xeromorphic traits of beech towards lower altitudes by an increase of parenchyma palisade, cuticle thickness, leaf mass per area, vein network and a decreased stomata area (SOME MORE VARIABLES ARE CITED IN RESULT). This is in agreement with the literature where a well-developed palisade parenchyma, formed at the expense of spongy parenchyma, is considered as a characteristic of xeromorphic leaves (De Micco & Aronne 2012 REF BEFORE 2000?). The reason lies in the proper structure and function of the mesophyll layers, composed by the vertical cylindrical compact cells of the palisade parenchyma and by oval shaped and loosely arranged cells of the spongy parenchyma, forming many air pockets. Palisade parenchyma is the main tissue responsible for photosynthesis as it lays closer to the light oriented leaf surface and contains most of the chloroplasts. In contrast, the large air space within the spongy parenchyma allows gas exchanges between the leaf and the atmosphere through the stomata and generally do not contain chloroplasts. So it has been stated that a lower spongy parenchyma thickness reduces the inner free surface of the leaf and therefore the water transpiration (Esau 1977). Even though in this study no overall significant altitude effect was found for spongy parenchyma, the trends in 2013 suggest a decrease of this layer. Smaller stomata are able to open and close more quickly, which in combination with a high stomatal density per unit area provides a greater capacity to rapidly increase stomatal conductance and optimize photosynthetic performance (Drake et al. 2013). Nevertheless, at the lowest site the stomata density was the lowest, which contradicts what is generally described in literature for xeromorphic features (REF?). Nevertheless, if one considers the measured climate gradient, the second lowest site at 570 m a.s.l. might have experienced more extreme conditions than the lowest one, especially in 2013. Regarding other factors regulating the water evaporation of leaves, the increase of cuticle thickness and the reduction of stomata size reduce the gas flow between the leaf and the air (Jenks 2005), and consequently the water loss by transpiration of beech leaves developed in warmer conditions. In the RDA ordination scatter plot, we observed that the higher stomata density was related to higher rainfall in 2013. We found also higher epidermis thickness at higher altitude. The lower epidermis tissue also contributes to the regulation of gas exchange via stomata and it is usually thicker both in very hot or very cold environments (REF?). Contrarily to what is commonly reported in literature as xeromorphic features, beech leaves had a larger leaf area at lower altitudes than at higher altitudes. ADD SOMETHING IN RELATION TO THE COMMENT OF PIERRE.

Changes in morpho-anatomical variables of spruce needles were more numerous than those observed in beech leaves. While beech responded more in 2013 than in 2014 (respectively 37.4 and 28.6% of variance on axes 1 and 2 of the RDA), spruce was more responsive in 2014 than in 2013 (respectively 36.2 and 25.3% of variance on axes 1 and 2 of the RDA). This can be related to the climate and the sensitiveness of spruce to the drier and warmer spring. Albeit spruce has already xeromorphic traits, variables such as cuticle thickness and leaf mass area increased towards lower altitudes, as for beech. It is possible that the already xeromorphic adapted needles, i.e. by presence of hypodermis, sunken stomata and smaller surface area, reduces the water loss from transpiration, especially in the harsh environment (*i.e* extreme low temperatures and winter drought) where this species naturally occurs. Nevertheless, results of the RDA ordination showed that in 2013 several variables of needle tissues had higher values in relation to higher rainfall, and this pattern reproduced in 2014 under both effects of higher rainfall and lower temperatures. This could indicate that spruce is more responsive to rainfall along the studied gradient. Even if the water treatment did generally not significantly impact the morpho-anatomy of beech and spruce, for this later species there was a significant effect on phloem.

It is worthy to further analyze the particular response of needles developed at the second highest site (1010 m a.s.l.) in 2013. The climatic data revealed a four consecutive-days period with minimum daily temperatures around 0°C (mean daily temperatures ranging between 2.7 and 4.4 °C) few days after spruce sapling budburst in this site. The RDA ordination also confirms the impact of these low temperatures by separating this site from the other sites along first axis. The needles in this site showed higher percentage of epidermis and endodermis. This might be related to a hail event which indeed damaged many of the saplings of both species in this site. Since beech budburst earlier and had its leaves already more mature, this event affected more spruce young needles. At the highest site, where the hail event also occurred, the needles were protected since they did not yet reach the budburst stage. These results show

how critical the environmental conditions during the first ten days of leaf development are for leaf subsequent morphology.

Beech has a higher phenotypic plasticity

Even though little differences were found between the overall indexes, phenotypic plasticity was higher in the milder year 2013 than in the warmer year 2014. An important result is the relative differences between the mesophyll tissues of both species. Parenchyma palisade tissue of beech was more plastic (0.28 in 2013) than mesophyll of spruce, which had a very low plasticity index (0.07 in 2013). This suggests two different strategies adopted by these species when warmer conditions occur, either more investment in photosynthetic tissue, as does beech, or more investment in protective tissue as for spruce.

Conclusion

This study revealed the ability of beech and spruce to acclimate their foliage morphology under warmer and drier conditions and with no water limitation. With its mesomorphic leave traits, beech showed a higher plasticity in xeromorphic traits than the already adapted spruce with its xeromorphic needles. If under the same warm conditions, drought would have taken place, then it is most likely that the increase of xeromorphy would have been more pronounced for both beech and spruce, since the degree of tolerance to drought of these two species is very low. The same experiment carried out in closed chambers could eventually complete this study, predicting the morpho-anatomical changes of foliage under extreme warm temperatures and drought events. This question is critical considering the increasing and repeated occurrence of extreme climate events and the sensitivity to environmental changes in mountainous regions.

Acknowledgements

We are grateful to Terry Menard for helping in laboratory analyzes, and to Vincent Jassey for statistical advices. The work was supported by WHFF Wald- und Holzforschungsfonds (BAFU) and by the Forschungsprogramm Wald und Klimawandel (BAFU-WSL).

References

- Agroscope, 2016. Agrometeo. Available at: <http://www.agrometeo.ch/>.
- Allen, C.D., Macalady, A.K., Chenchouni, H., Bachelet, D., McDowell, N., Vennetier, M., Kitzberger, T., Rigling, A., Breshears, D.D., 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. *Forest Ecology and Management*, 259(4): 660–684.
- Beniston, M., Diaz, H.F. & Bradley, R.S. 1997. Climatic change at high elevation sites: an overview. *Climatic Change* 36: 233–251.
- Beniston, M., Stephenson, D.B., Christensen, O.B., Ferro, C.A.T., Frei, C., Goyette, S., Halsnaes, K., Holt, T., Jylha, K., Koffi, B., Palutikof, J., Scholl, R., Semmler, T. & Woth, K. 2007. Future extreme events in European climate: an exploration of regional climate model projections. *Climatic Change* 81: 71–95.
- Beniston, M. 2009. Decadal-scale changes in the tails of probability distribution functions of climate variables in Switzerland. *International Journal of Climatology* 29 : 1362–1368.
- Bolte, A., Czajkowski, T. & Kompa, T. 2007. The north-eastern distribution range of European beech - A review. *Forestry*, 80(4): 413–429.
- Bonn, S. 2000. Competition dynamics in mixed beech-oak stands and its modifications expected due to climate changes. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitschrift*, 171(5-6): 81–88.
- Bradshaw, A.D. 1965. Evolutionary Significance of Phenotypic Plasticity in Plants. *Advances in Genetics*, 13(C): 115–155.
- Buttler, A. 2014. Grasslands in silvopastoral mountain ecosystems, in: *Grasslands biodiversity and conservation in a changing world*. Mariotte, P. & Kardol, P. (Eds). Nova Publisher, New York, ISBN 978-1-61761-619-8, p. 187–217.
- C2SM Center for Climate Systems Modeling 2011. *Swiss Climate Change Scenarios CH2011*.

- C2SM/MeteoSwiss/ETH/NCCR Climate/OcCC, Zurich.
- Davis, M.B. & Shaw, R.G. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science (New York, N.Y.)*, 292(5517): 673–679.
- Drake, P.L., Froend, R.H. & Franks, P.J. 2013. Smaller, faster stomata: Scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *Journal of Experimental Botany*, 64(2): 495–505.
- Ellenberg, H., 1988. Vegetation Ecology of Central Europe Fourth Edition. In Ellenberg, H. *Vegetation Ecology of Central Europe*, Fourth Edition. Xxii+731p. Cambridge University Press: New Rochelle, New York, USA; Cambridge, England, Uk. Illus. Maps. Xxii+731p, 1988.
- Enquist 1929 ????
- Fahn, A. & Cutler, D.F. 1992. *Handbuch der Pflanzenanatomie*. G. Borntraeger (eds). University of Chicago, ISBN 344314019X, 9783443140199, 176 pp.
- FOEN/FSO Federal Office for the Environment and Federal Statistical Office. 2011. *Environment Switzerland 2011*. Bern and Neuchâtel, Switzerland.
- Frei, C., Scholl, R., Fukutome, S., Schmidli, J. & Vidale, P.L. 2006. Future change of precipitation extremes in Europe: an intercomparison of scenarios from regional climate models. *J Geophys Res Atmospheres* 111: D06105.
- Gavazov, K. S., Peringer, A., Buttler, A., Gillet, F. & Spiegelberger, T. 2013. Dynamics of Forage Production in Pasture-woodlands of the Swiss Jura Mountains under Projected Climate Change Scenarios. *Ecology and Society* 18 (1): 38.
- Gavazov, K., Spiegelberger, T. & Buttler, A. 2014. Transplantation of subalpine wood-pasture turfs along a natural climatic gradient reveals lower resistance of unwooded pastures to climate change compared to wooded ones. *Oecologia* (174): 1425-1435.
- Gehrig-Fasel, J., Guisan, A. & Zimmermann, N.E. 2007. Tree line shifts in the Swiss Alps: Climate change or land abandonment? *Journal of Vegetation Science*, 18(2005): 571–582.
- Gelete, D.C. 2010. *Modelling the Potential Ecological Niche of Fagus (Beech) Forest in Majella National Park, Italy*. Thesis. ITC International Institute for geo-information science and earth observation, Enschede, The Netherlands. Retrieved from https://www.itc.nl/library/papers_2010/msc/nrm/desalegn.pdf
- Gratani, L., Meneghini, M., Pesoli, P. & Crescente, M.F. 2003. Structural and functional plasticity of *Quercus ilex* seedlings of different provenances in Italy. *Trees - Structure and Function*, 17(6): 515–521.
- Hjelmqvist, H., 1940. Studien über die Abhängigkeit der Baumgrenzen von der Temperaturverhältnissen unter besonderer Berücksichtigung der Buche und ihrer Klimarassen. *Blom*, Lund, Germany. 247 pp.
- IPCC, 2002. Climate Change and biodiversity, IPCC Technical Paper V. *Group*, 24, p.77.
- IPCC 2007. Climate Change 2007: synthesis report . Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland.
- Jedliński, W. 1922. O granicach naturalnego zasięgu buka, jodły i świerka. Zamość (in Polish).
- Jenks, M. A. 2005. *Plant Abiotic Stress* Edited by M. A. Jenks and P. M. Hasegawa. Oxford: Blackwell Publishing, pp. 270, ISBN 1-4051-2238-2. Available at: http://www.journals.cambridge.org/abstract_S0014479706224906.
- Khan, A., 2002. *Plant Anatomy and Physiology*. Kalpaz Publications, ISBN-13: 978-8178350493
- Kock 1958 ????
- Koike, T. 1988. Leaf Structure and Photosynthetic Performance as Related to the Forest Succession of Deciduous Broad-Leaved Trees. *Plant Species Biology*, 3: 77–87.
- Körner, C. 2003. Alpine plant life: functional plant ecology of high mountain ecosystems . Springer, Berlin Heidelberg, New York. ISBN 3-540-00347-9, 344 pp.
- López, R., Climent, J. & Gil, L. 2010. Intraspecific variation and plasticity in growth and foliar morphology along a climate gradient in the Canary Island pine. *Trees*, 24(2): 343–350.
- Lenoir, J., Gégout, J.C., Marquet, P.A., de Ruffray, P. & Brisse, H. 2008. A Significant Upward Shift in Plant Species Optimum Elevation During the 20th Century. *Science (New York, N.Y.)* 320: 1768–1771.
- De Micco, V. & Aronne, G. 2012. Morpho-anatomical traits for plant adaptation to drought. In: *Plant Responses to Drought Stress: From Morphological to Molecular Features* pp. 37–61.

- Meehl, G.A., T.F. Stocker, W.D. Collins, P. Friedlingstein, A.T. Gaye, J.M. Gregory, A. Kitoh, R. Knutti, J.M. Murphy, A. Noda, S.C.B. Raper, I.G. Watterson, A.J. Weaver & Z.-C. Zhao, 2007: *Global Climate Projections*. In: Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Solomon, S., D. Qin, M. Manning, Z. Chen, M. Marquis, K.B. Averyt, M. Tignor and H.L. Miller (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Modrzyński, J. 2007. Outline of ecology. In: S. S. & B. Media, ed. *Biology and ecology of Norway Spruce, Vol. 78, Series Forestry Sciences*: 195–253.
- Modrzyński, J. & Eriksson, G. 2002. Response of *Picea abies* populations from elevational transects in the Polish Sudety and Carpathian mountains to simulated drought stress. *Forest Ecology and Management*, 165(1–3): 105–116.
- 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 in plant science*, 15(12): 684–92.
- Niinemets, Ü. 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology*, 82(2): 453–469.
- Niinemets, U., Kull, O. & Tenhunen, J.D. 1998. An analysis of light effects on foliar morphology, physiology, and light interception in temperate deciduous woody species of contrasting shade tolerance. *Tree physiology*, 18: 681–696.
- Nogués-Bravo, D., Araújo, M.B., Errea, M.P. & Martínez-Rica, J.P. 2007. Exposure of global mountain systems to climate warming during the 21st century. *Global Environmental Change-Human and Policy Dimensions* 17: 420–428.
- Ogaya, R. & Peñuelas, J. 2007. Species-specific drought effects on flower and fruit production in a Mediterranean holm oak forest. *Forestry*, 80(3): 351–357.
- Paula, S. & Pausas, J.G. 2006. Leaf traits and resprouting ability in the Mediterranean basin. *Functional Ecology*, 20(6): 941–947.
- Parry, M. L. 2000. *Assessment of potential effects and adaptations for climate change in Europe: the Europe ACACIA project*. Jackson Environmental Institute, University of East Anglia, Norwich, UK.
- Peñuelas, J. & Boada, M. 2003. A global change-induced biome shift in the Montseny mountains (NE Spain). *Global Change Biology* 9: 131–140.
- Peñuelas, J., Gordon, C., Llorens, L., Nielsen, T., Tietema, A., Beier, C., Bruna, P., Emmett, B., Estiarte, M. & Gorissen, A. 2004. Nonintrusive field experiments show different plant responses to warming and drought among sites, seasons, and species in a north–south European gradient. *Ecosystems*, 7(6): 598–612.
- Peñuelas, J., Ogaya, R., Boada, M.S & Jump, A. 2007. Migration, invasion and decline: changes in recruitment and forest structure in a warming-linked shift of European beech forest in Catalonia (NE Spain). *Ecography* 30: 829–837.
- Peringer, A., S. Siehoff, J. Chételat, T. Spiegelberger, A. Buttler & F. Gillet. 2013. Past and future landscape dynamics in pasture-woodlands of the Swiss Jura Mountains under climate change. *Ecology and Society* 18(3): 11.
- Petriccione, B. 2005. Short-term changes in key plant communities of Central Apennines (Italy). *Acta botanica Gallica*, 152(4): 545–561.
- Puissant, J., Cécillon, L., Mills, R.T.E., Robroek, B.J.M. Gavazov, K., De Danieli, S., Spiegelberger, T., Buttler, A. & Brun, J.J. 2015. Seasonal influence of climate manipulation on microbial community structure and function in mountain soils. *Soil Biology and Biochemistry* 80: 296–305.
- R Core Development Team, 2016. *R: a language and environment for statistical computing*. Document freely available on the internet at: <http://www.r-project.org>. Available at: <https://www.r-project.org/>.
- Rice, K.J. & Emery, N.C. 2003. Managing microevolution: restoration in the face of global change. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 1(9): 469–478.
- Schär, C., Vidale, P. L., Luthi, D., Frei, C., Haberli, C., Liniger, M. A. & Appenzeller, C. 2004. The role of increasing temperature variability in European summer heatwaves. *Nature*, vol 427: 332–336.
- Stojnić, S., Orlović, S., Miljković, D., Galić, Z., Kebert, M. & von Wuehlisch, G. 2015. Provenance plasticity of European beech leaf traits under differing environmental conditions at two Serbian common garden sites. *European Journal of Forest Research*, 134(6): 1109–1125.
- Theurillat, J.-P. & Guisan, A. 2001. Potential Impact of Climate Change on Vegetation in the

- European Alps: A Review. *Climatic Change*, 50(1-2): 77–109.
- Valladares, F., Chico, J., Aranda, I., Balaguer, L., Dizengremel, P., Manrique, E. & Dreyer, E. 2002. The greater seedling high-light tolerance of *Quercus robur* over *Fagus sylvatica* is linked to a greater physiological plasticity. *Trees*, 16(6): 395–403.
- Vitasse, Y., Bresson, C.C., Kremer, A., Michalet, R. & Delzon, S. 2010. Quantifying phenological plasticity to temperature in two temperate tree species. *Functional Ecology*, 24(6): 1211–1218.
- Walther, G.R., Beißner, S. & Burga, C.A. 2005. Trends in the upward shift of alpine plants. *Journal of Vegetation Science* 16: 541–548.
- Wardle, D.A., Bardgett, R.D., Callaway, R.M. & Van der Putten, W.H. 2011. Terrestrial Ecosystem Responses to Species Gains and Losses. *Science (New York, N.Y.)* 332: 1273–1277.
- Way, D.A. & Oren, R. 2010. Differential responses to changes in growth temperature between trees from different functional groups and biomes: a review and synthesis of data. *Tree Physiology*, 30 (6): 669–688.

Figure 1 : Cross section of *Fagus sylvatica* L. broadleaf. The different tissues are labelled in figure A) with the following numeration; upper cuticle (1), upper epidermis (2), palisade parenchyma I (3), palisade parenchyma II (4), intercellular space (5), spongy parenchyma (6), lower epidermis (7), lower cuticle (8), stomata (9). In figure B the protocol of vein network estimation is presented with B.1 the original 5x image, B.2. selected color class, B.3 color group image with analyzed cells and B.4 binary image which is used to calculate the proportion of lumen and wall area. Figure C represents the process followed to measure the stomata area and stomata density after taking imprints of beech leaves.

Figure 2 : Cross-section of *Picea abies* (L.) Karst needle. The different tissues are labelled with the following numeration; cuticle thickness (1), epidermis (2), mesophyll (3), vascular bundle (4), endodermis (4.1), transfer (4.2), xylem (4.3), phloem (4.4), fibers (4.5), resin duct (5) and stomata (6). A) is the representation of the cross-section of the needle taken at x10 magnification (the image is composed by 4-5 photographs merged with GUI software), B) shot of the vascular bundle taken under fluorescent light at x20 magnification, C) close up of cuticle thickness stained with Sudan-black and measured at x63 magnification.

Figure 3 : Variation along the gradient of the twelve selected variables for beech (see table 1) during two consecutive years. Letters indicate the results of the post-hoc Tukey test after one-way Anova (p-value < 0.05), with site as factor and treatments T and TP pooled together to increase robustness (as no difference was found, see supplementary Tables 1 and 2). When normality was not achieved, non-parametric tests were performed, namely for LMA and P.P.

Figure 4 : Variation along the gradient of the twelve selected variables for spruce (see table 1) during two consecutive years. Letters indicate the results of the post-hoc Tukey test after one-way Anova (p-value < 0.05), with site as factor and treatments T and TP pooled together to increase robustness (as no difference was found, see supplementary Tables 1 and 2). When normality was not achieved, non-parametric tests were performed, namely for LMA and M.

Figure 5 : Redundancy analysis (RDA) of beech using twelve morpho-anatomical variables for years 2013 (upper graph) and 2014 (lower graph). Explanatory variables are temperature thresholds (number of days with temperature maxima above 25 °C and number of days with temperature minima below 5 °C) and cumulative precipitation during the growing season (from budburst to August as the sampling date).

Figure 6 : Redundancy analysis (RDA) of spruce using twelve morpho-anatomical variables for years 2013 a) and 2014 b). Explanatory variables are temperature thresholds (number of days with temperature maxima above 25 °C and number of days with temperature minima below 5 °C) and cumulative precipitation during the growing season (from budburst to August).

Figure 7 : Phenotypic plasticity index of beech leaf variables (upper graph) and spruce needle variables (lower graph) for 2013 (black bars) and 2014 (grey bars). Index is calculated according to Valladares et al. 2000. Mean phenotypic plasticity for both species together was 0.21 in 2013 and 0.13 in 2014.

Table 1: Description of macro and micromorphological variables measured on foliage of spruce and beech.

Study	Species	Variable	Acronym-Units
Morphology	Beech	Leaf mass per area Leaf area Intercellular space	LMA [mg cm^{-2}] La [cm^2] Vair [%]
	Spruce	Leaf mass area Needle length Frequency of stomata lines	LMA [mg mm^{-2}] L [mm] Lst [lines mm^{-1}]
Micromorphology	Beech	Vein network Stomata density Stomata area Upper cuticle Upper epidermis Palisade parenchyma I Palisade parenchyma II Spongy parenchyma Lower epidermis Lower cuticle	Wall [%] Std [mm^{-2}] Sta [μm^2] S.C. [μm] S.E. [μm] P.P.I [μm] P.P.II [μm] S.P. [μm] I.E. [μm] I.C. [μm]
	Spruce	Cross-section Cuticle thickness Epidermis Resin ducts Mesophyll Endodermis Transfer Phloem Xylem	Cross.sect. [mm^2] C [μm] Ep [%] RC [%] M [%] En [%] Tr [%] Ph [%] Xy [%]

Table 2 : Temperature and precipitation at the four altitudes in 2013 and 2014

Altitude (m)	Year		Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Mean annual temperature (0C)	Mean temperature during the vegetation period (0C) (Δ 0C)	Number of days during the vegetation period with daily minimum temperature < 5 0C	Number of days during vegetation period with daily maximum temperature > 25 0C	Total annual precipitation (mm)	Total precipitation during the vegetation period (mm) (Δ mm, %)	Vapor pressure deficit during the vegetation period, mean of the 10 max. daily values (KPa)
1350	2013	Temperature	-2.8	-6	-0.3	3.8	4.6	10.6	15.4	12.8	9.8	9.4	2.5	-0.3	5.0	9.5	107	7			1.08
	2014	Temperature	-0.3	-0.6	2.1	4.9	6.6	12.3	12.2	10.7	10.3	8.6	4.9	-0.9	5.9	9.5	86	1			1.74
	2013	Precipitation	112	105	100	172	200	129	134	52	195	208	214	85					1706	882	
	2014	Precipitation	81	65	32	65	103	95	197	127	63	134	113	49					1124	650	
1010	2013	Temperature	-1.1	-3.7	0.4	5.9	7.4	12.3	13.5	12	8.8	7.2	0.1	-1	5.2	10 (+0.5)	46	21			1.9
	2014	Temperature	0.5	0.8	4.3	7.5	9	14.5	14.2	13.1	12.3	9.9	5	0.7	7.7	11.8 (+2.3)	42	7			1.93
	2013	Precipitation	88	113	112	179	201	71	200	74	158	183	229	149					1757	883 (-0.1)	
	2014	Precipitation	168	263	72	84	144	34	248	155	103	163	146	84					1664	768 (-18.2)	
570	2013	Temperature	0.7	-0.5	3.4	9.4	10.8	16.2	21.4	20.6	19	11.3	4.4	0.8	9.8	16.2 (+6.7)	22	29			2.06
	2014	Temperature	3.4	3.6	7.4	10.7	12.2	17.8	16.9	16.7	16.4	13.5	7.8	4.5	10.9	15.1 (+5.6)	10	22			1.94
	2013	Precipitation	50	98	125	157	160	70	39	0	64	172	150	165					1250	490 (-44.4)	
	2014	Precipitation	134	231	62	70	106	99	166	105	24	111	113	47					1268	570 (-12.3)	
350	2013	Temperature	1.9	0.5	3.9	9.7	11.3	16.6	21.5	19.6	15.8	12.3	5.5	2.1	10.1	15.8 (+6.3)	13	46			2.4
	2014	Temperature	3.8	4.3	7.6	11.4	13	18.8	18	17.4	16.4	13.4	7.8	4.4	11.4	15.8 (+6.3)	6	19			2.06
	2013	Precipitation	57	97	116	132	135	92	169	54	126	194	148	131					1451	708 (-19.7)	
	2014	Precipitation	102	152	46	53	94	61	148	96	28	113	107	39					1039	480 (-26.2)	

Months considered for vegetation period are in bold

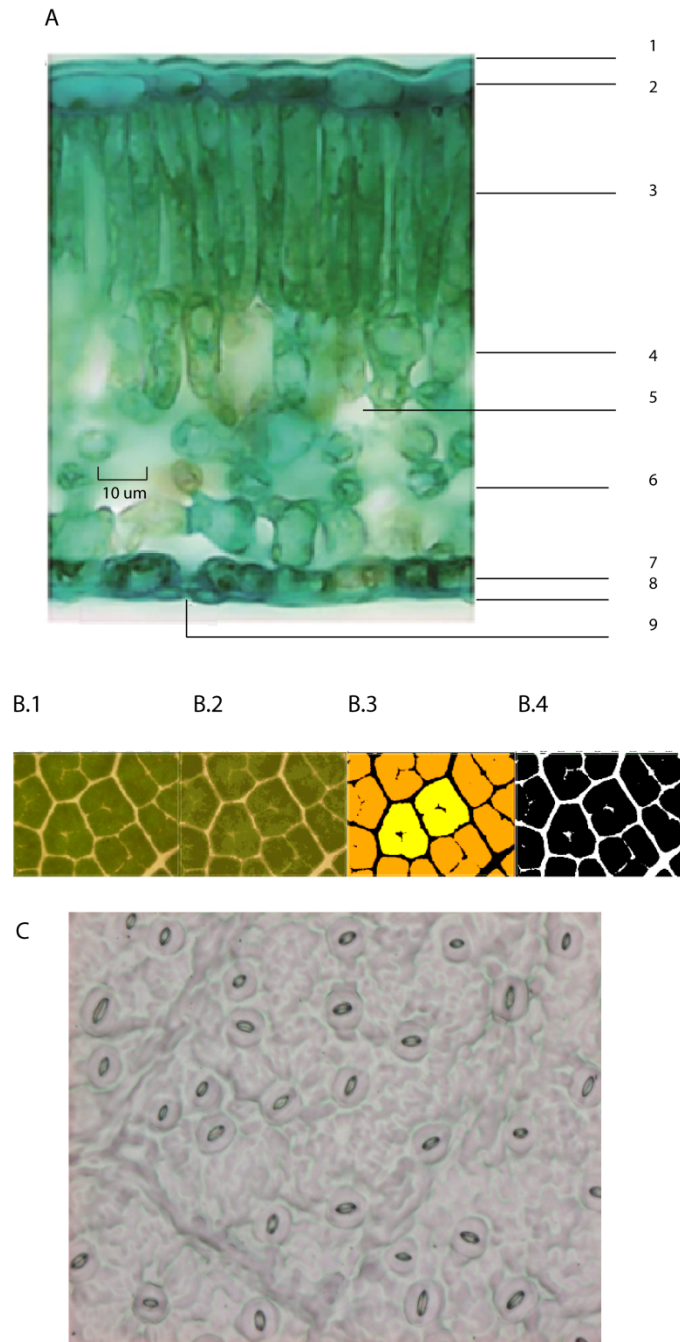


Figure 1 : Cross section of *Fagus sylvatica* L. broadleaf. The different tissues are labelled in figure A) with the following numeration; upper cuticle (1), upper epidermis (2), palisade parenchyma I (3), palisade parenchyma II (4), intercellular space (5), spongy parenchyma (6), lower epidermis (7), lower cuticle (8), stomata (9). In figure B the protocol of vein network estimation is presented with B.1 the original 5x image, B.2. selected color class, B.3 color group image with analyzed cells and B.4 binary image which is used to calculate the proportion of lumen and wall area. Figure C represents the process followed to measure the stomata area and stomata density after taking imprints of beech leaves.

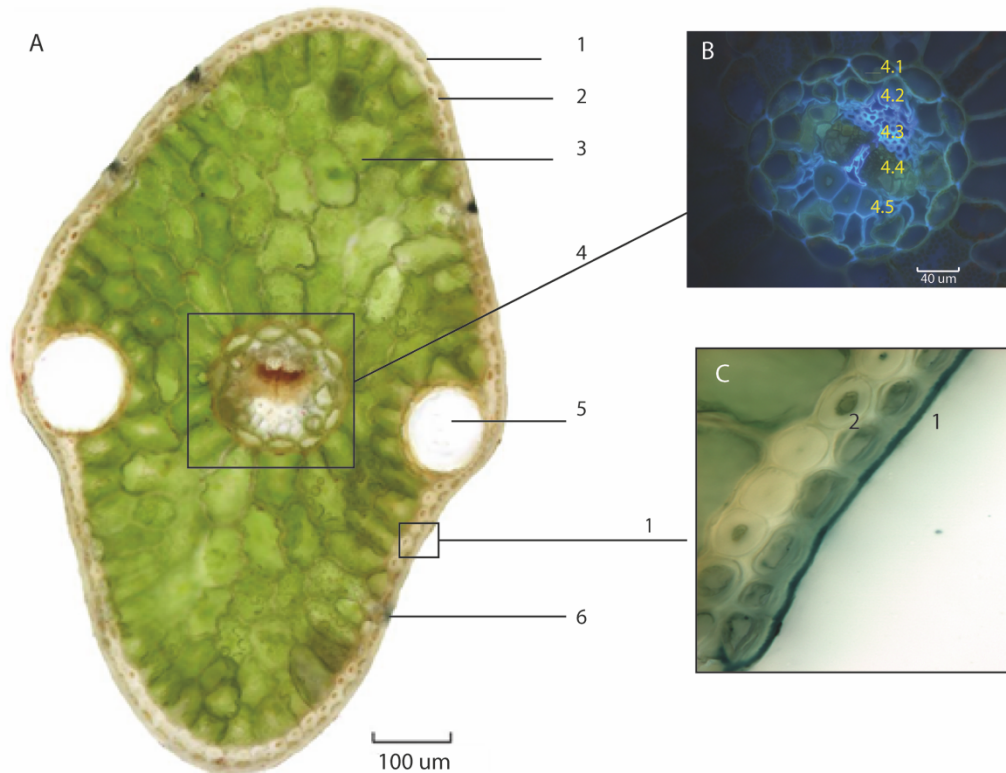


Figure 2 : Cross-section of *Picea abies* (L.) Karst needle. The different tissues are labelled with the following numeration; cuticle thickness (1), epidermis (2), mesophyll (3), vascular bundle (4), endodermis (4.1), transfer (4.2), xylem (4.3), phloem (4.4), fibers (4.5), resin duct (5) and stomata (6). A) is the representation of the cross-section of the needle taken at x10 magnification (the image is composed by 4-5 photographs merged with GUI software), B) shot of the vascular bundle taken under fluorescent light at x20 magnification, C) close up of cuticle thickness stained with Sudan-black and measured at x63 magnification.

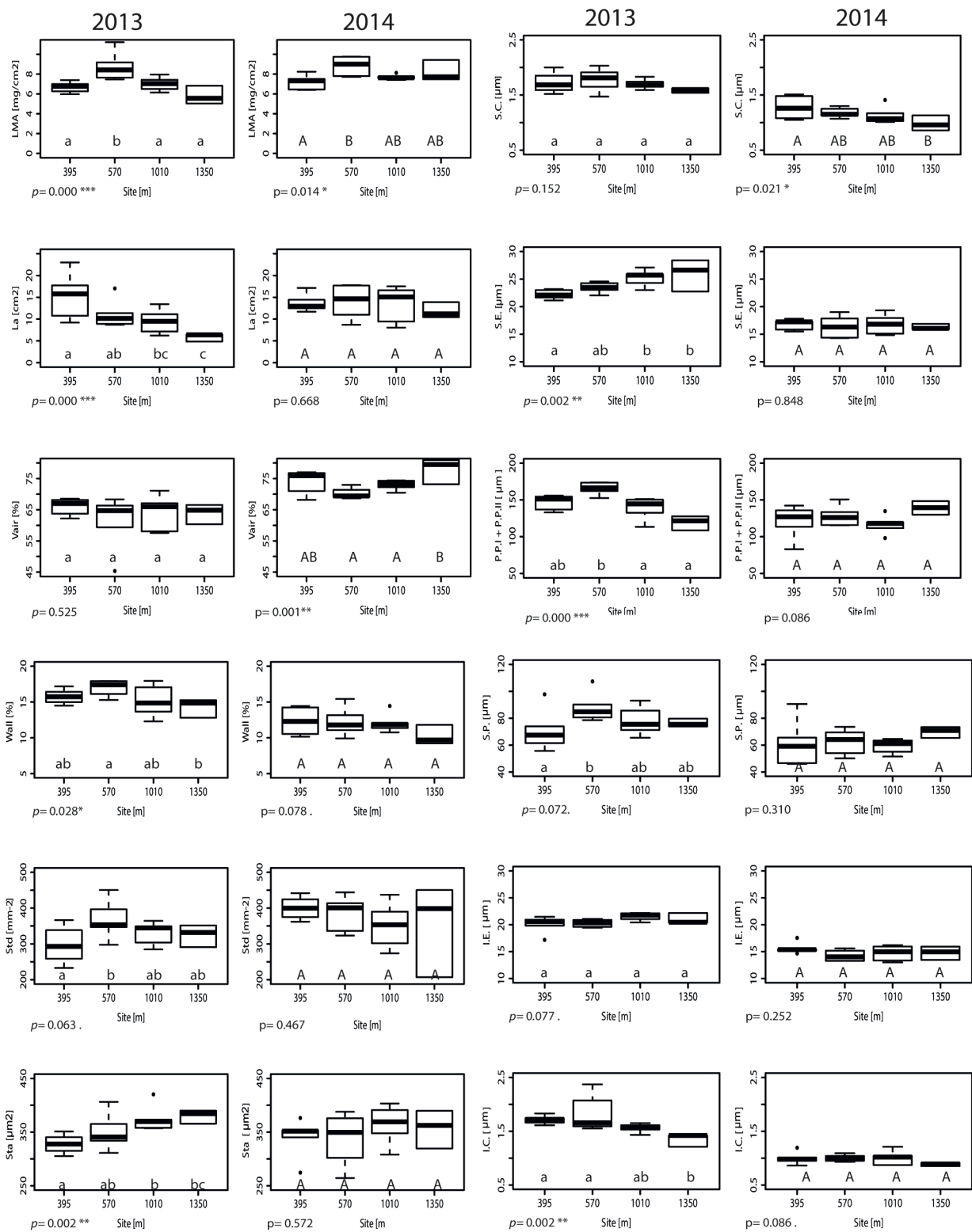


Figure 3

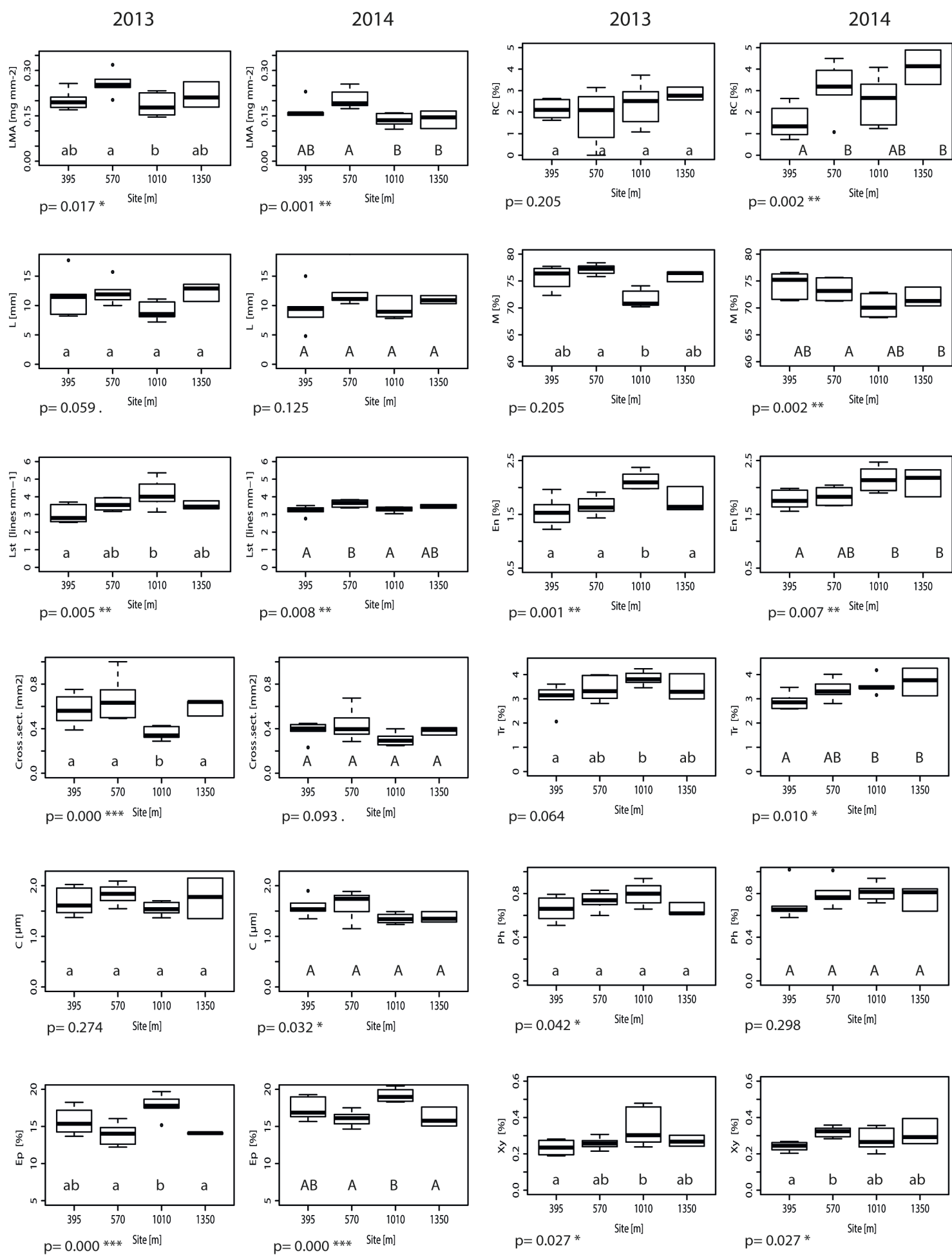


Figure 4

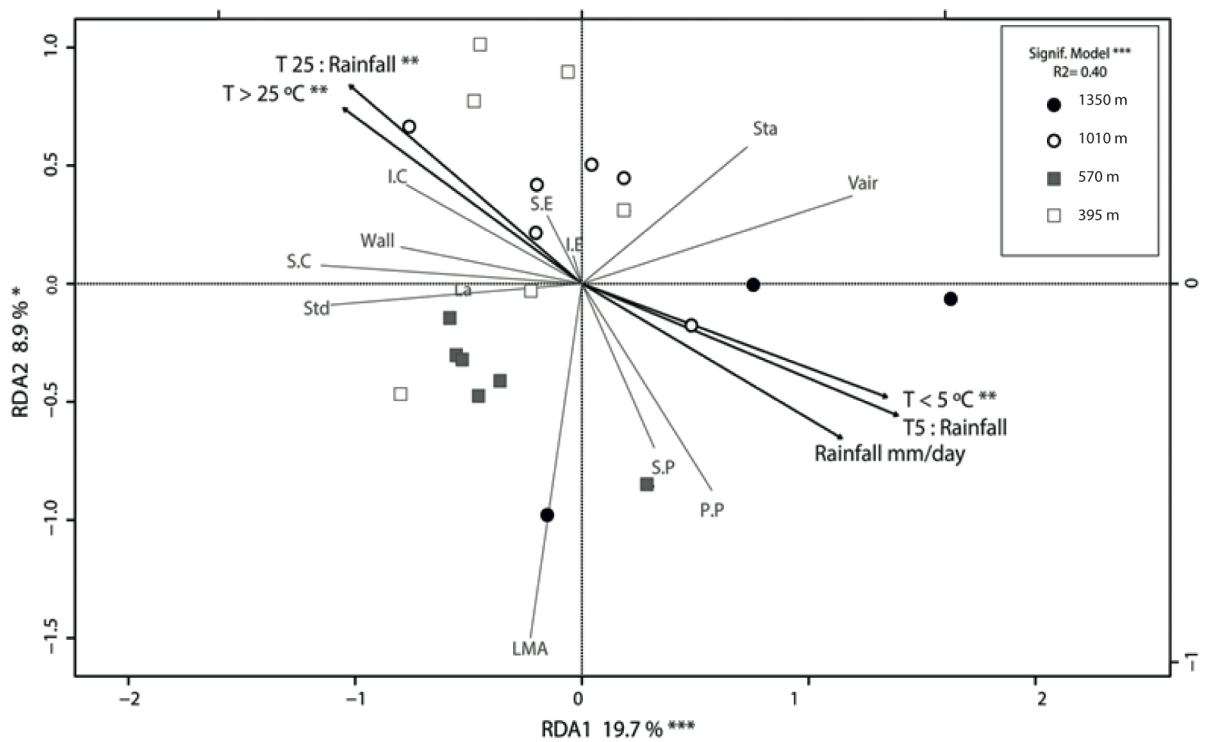
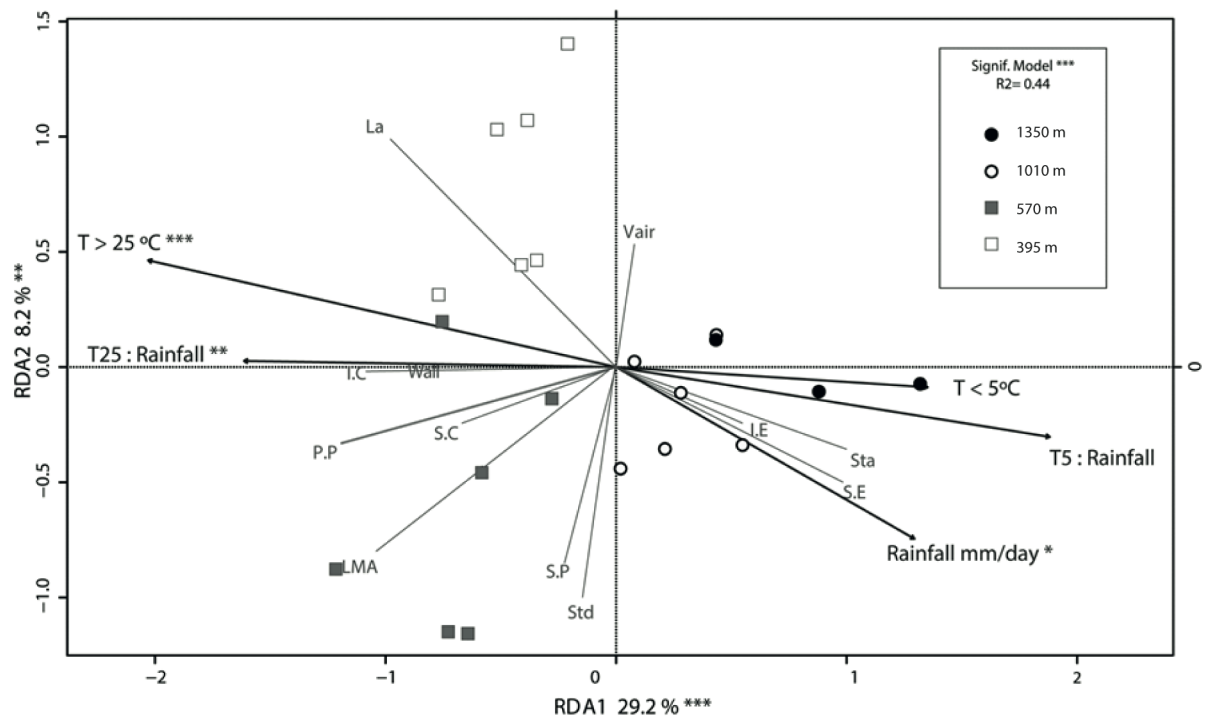


Figure 5

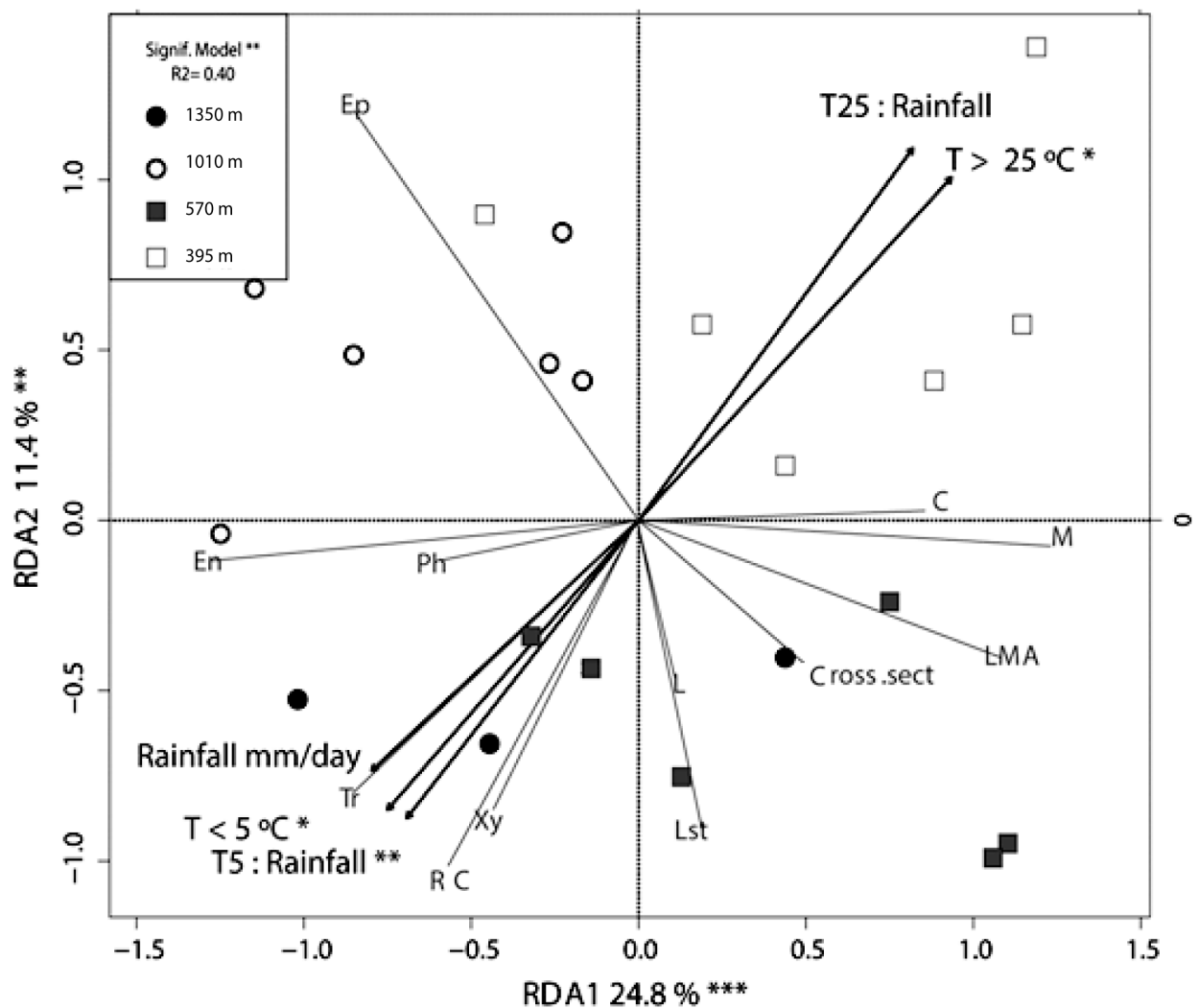
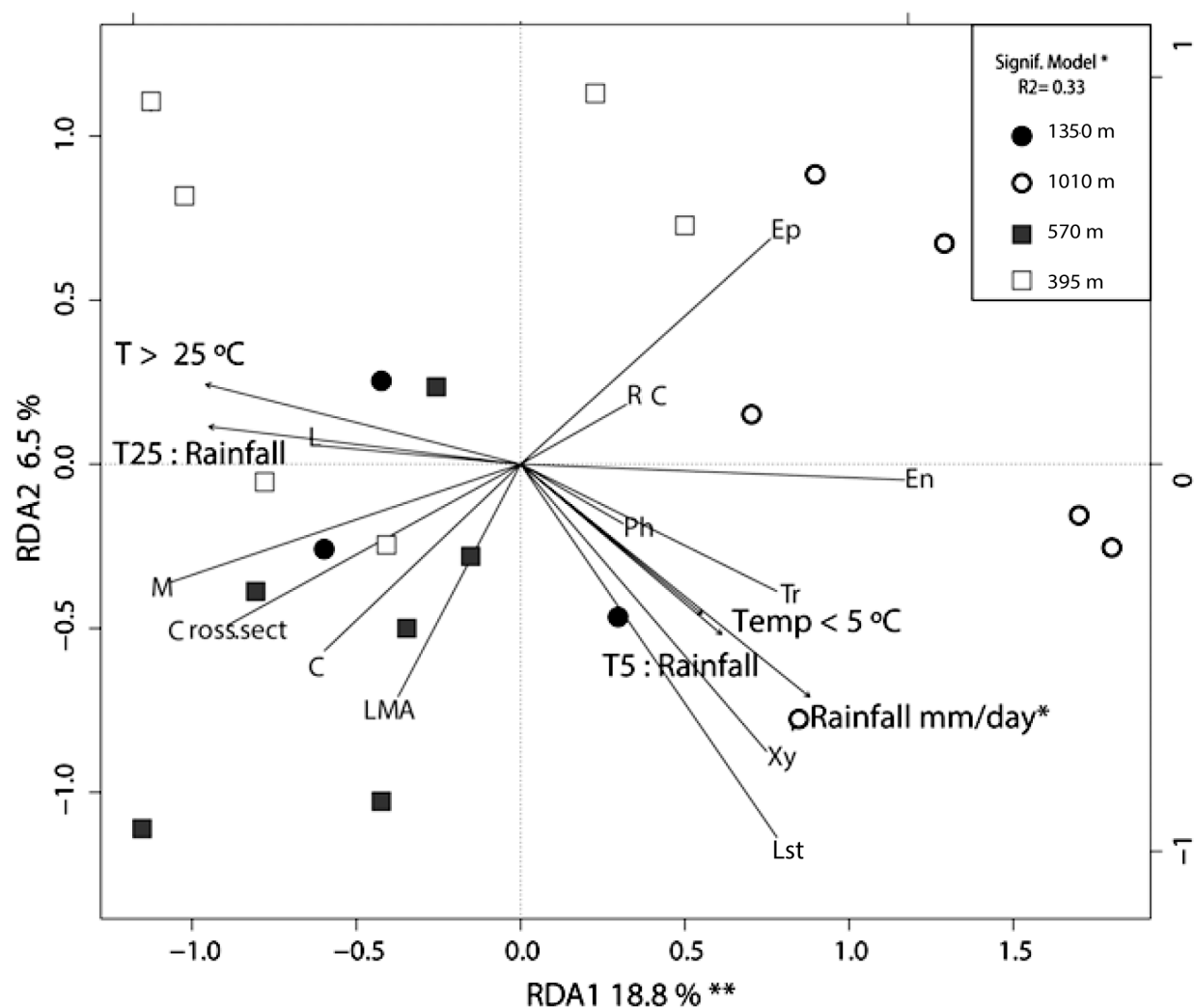


Figure 6

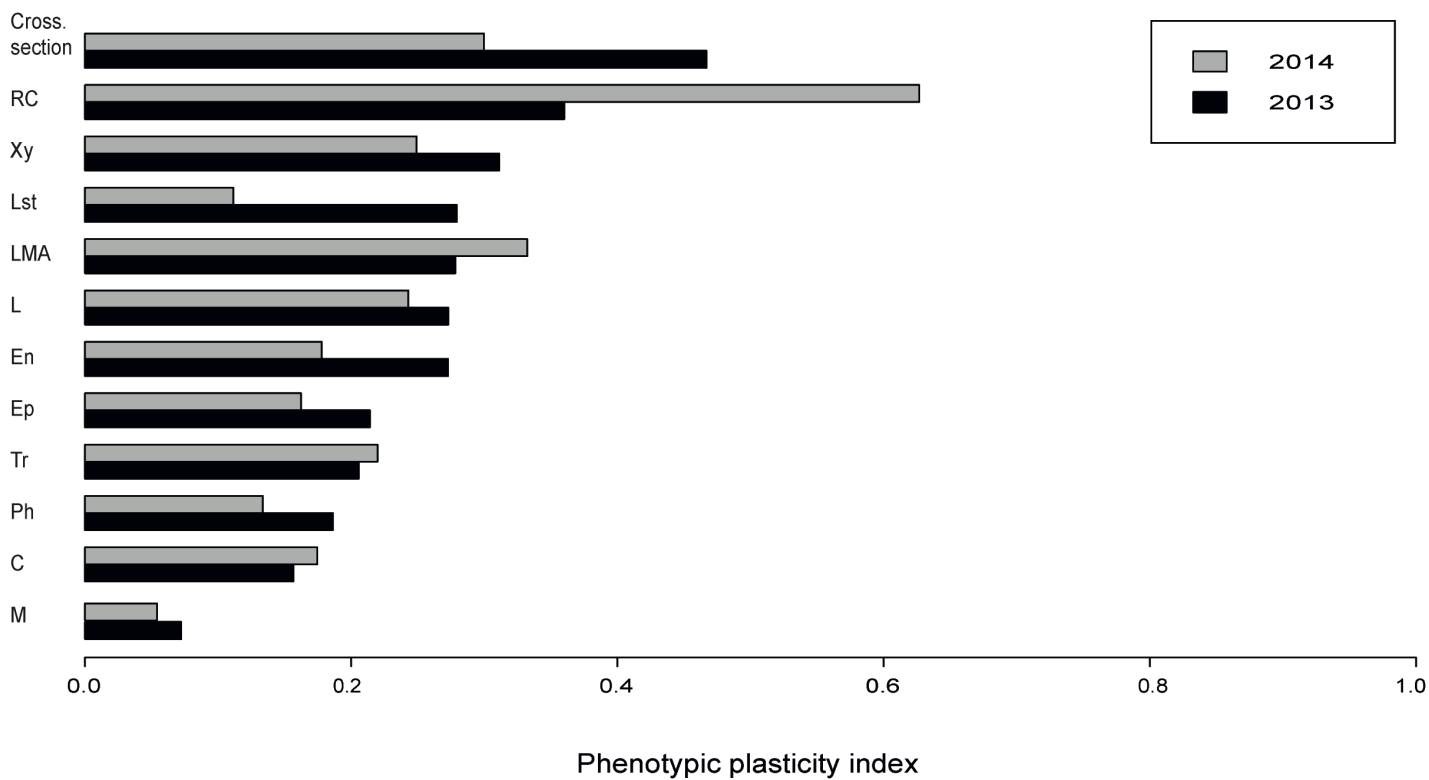
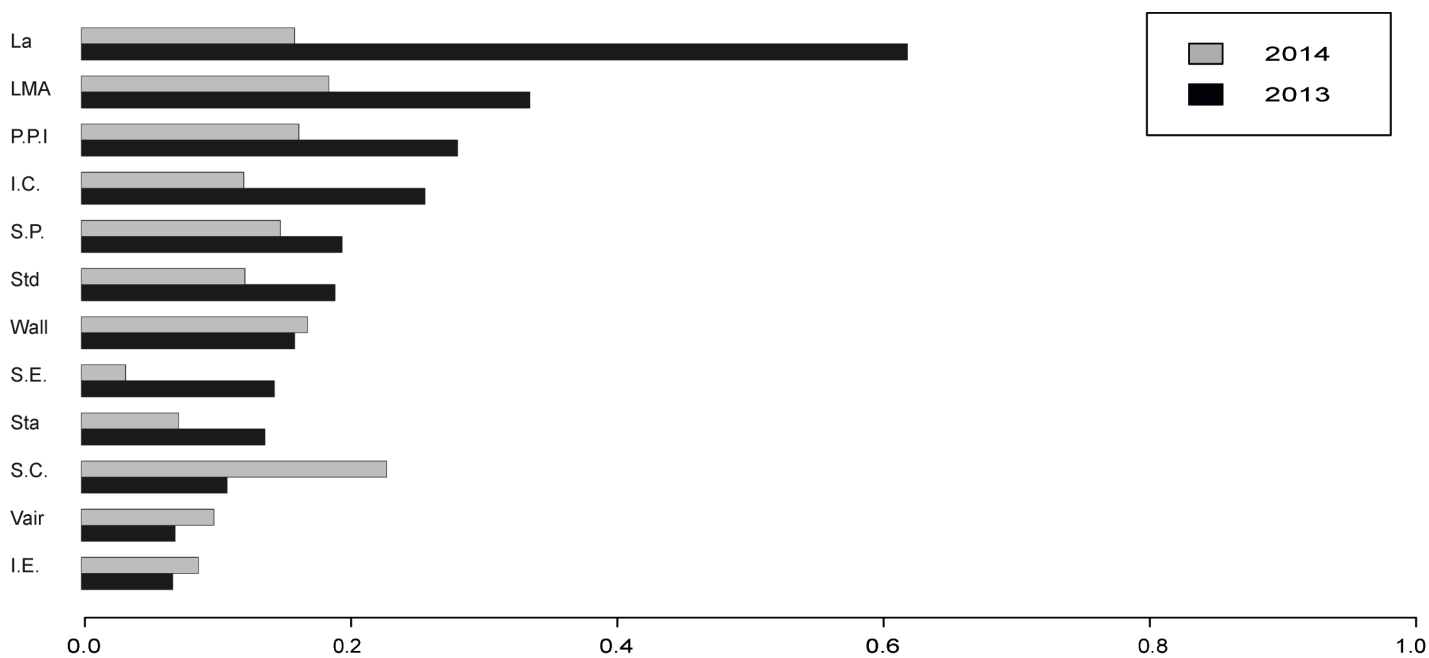


Figure 7

Supplementary Table S3 : F-values from ANOVA repeated measures of morpho-anatomical variables of beech leaves measured along the altitudinal gradient in two consecutive growing seasons (2013 and 2014). Degrees of freedom for the error is Df=16.

Variable	Acronym	Units	Source of variation						R ²
			Site (S) df=3	Watering treatment (T) df=1	Year (Y) df=1	S x T df=3	S x Y df=3	T x Y df=1	
Leaf mass per area	LMA	mg cm ⁻²	7.27**	0.11	32.2***	0.05	9.74***	0.02	0.58
Leaf area	La	cm ²	7.22**	0.00	9.4**	0.07	2.80	0.02	0.58
Intercellular space	Vair	%	2.14	0.42	64.1***	0.05	1.11	0.03	0.30
Vein network	Wall	%	6.87**	1.43	78.2***	2.870	0.85	0.06	0.66
Stomata density	Std	mm ⁻²	1.4	3.36	3.30	0.46	1.17	0.00	0.36
Stomata area	Sta	µm ²	2.99	0.43	1.17	1.80	0.92	0.56	0.48
Upper cuticle	S.C.	µm	4.03*	0.56	210.7***	0.48	1.21	0.87	0.47
Upper epidermis	S.E.	µm	1.87	2.59	298.3***	0.36	3.17	0.02	0.37
Palisade parenchyma (I + II)	P.P.	µm	4.25*	0.04	27.8***	2.96	16.3***	0.038	0.58
Spongy parenchyma	S.P.	µm	1.10	1.27	72.7***	0.31	5.94**	0.20	0.26
Lower epidermis	I.E.	µm	0.93	0.19	668.5***	0.92	4.73 *	3.48	0.65
Lower cuticle	I.C.	µm	8.03**	2.65	396.8***	0.77	6.04**	2.59	0.17

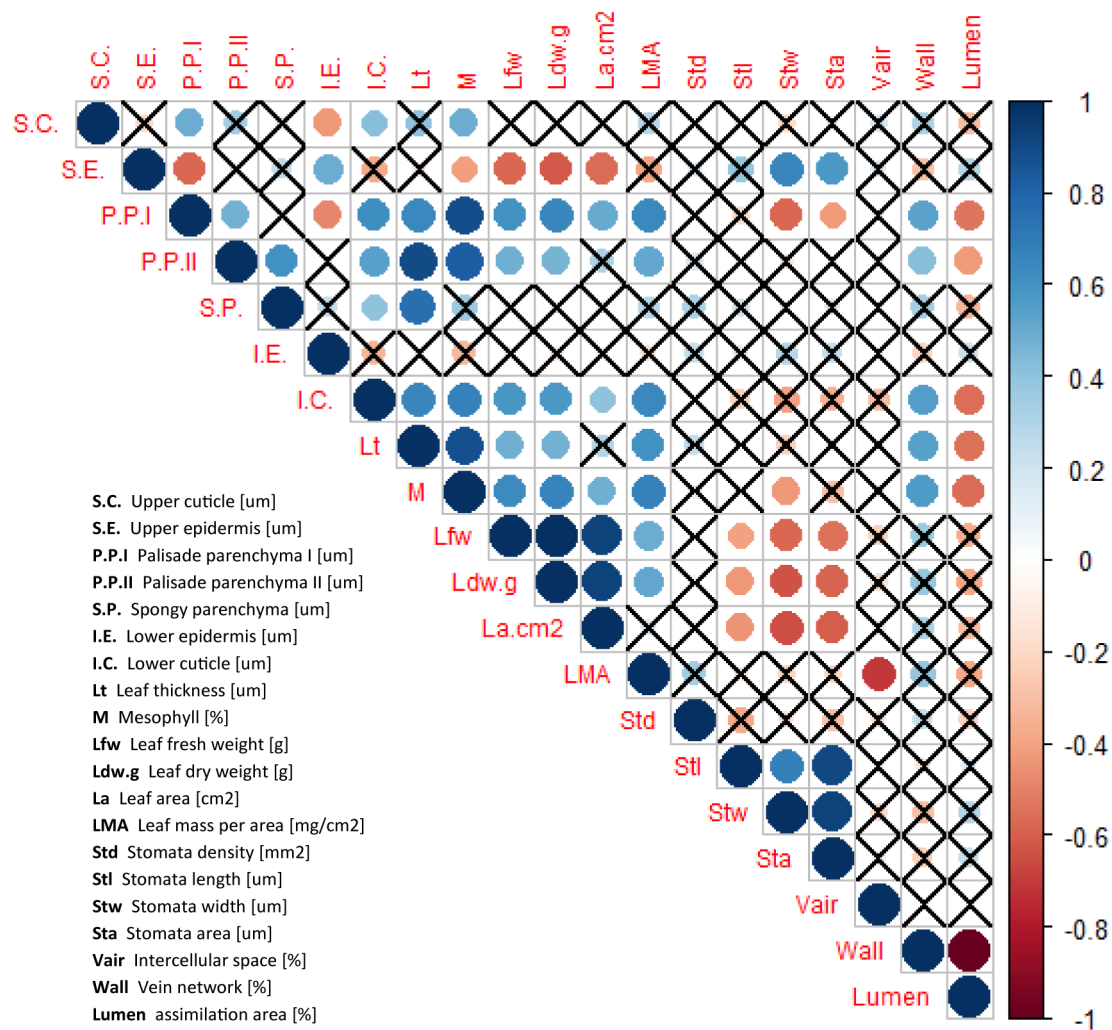
Signif. Codes: 0 "****" 0.001 "***" 0.01 "**" 0.05 " "

Supplementary Table S4 : F-values from ANOVA repeated measures of spruce needle variables measured along the altitudinal gradient in two consecutive growing seasons (2013 and 2014). Degrees of freedom for the error is Df=16

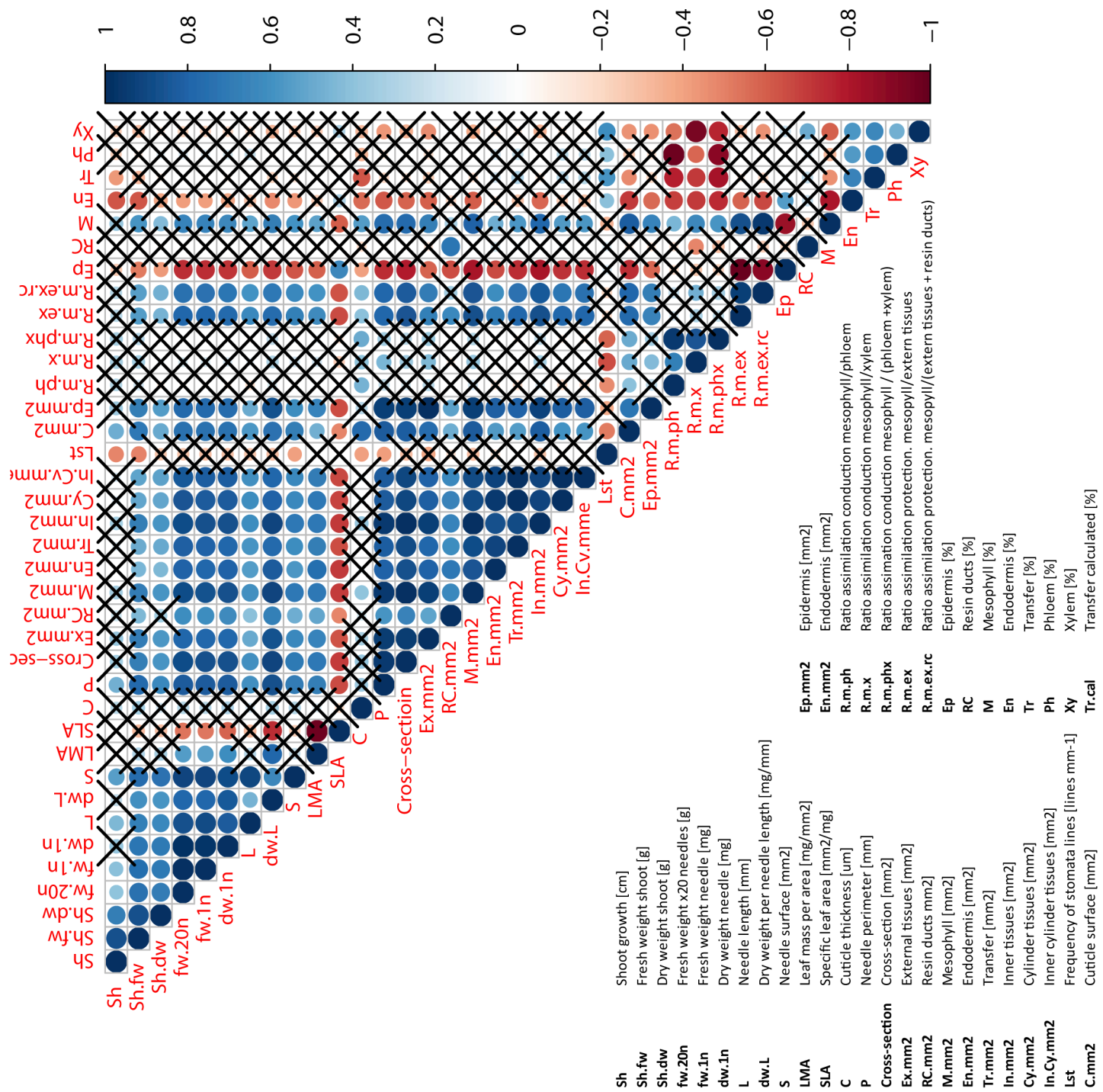
Variable	Acronym	Units	Source of variation						R ²
			Site (S) df=3	Watering treatment (T) df=1	Year (Y) df=1	S x T df=3	S x Y df=3	T x Y df=1	
Leaf mass area	LMA	mg mm ⁻²	9.42***	0.06	32.01***	0.99	1.00	0.12	0.64
Needle length	L	mm	4.88*	0.63	0.95	3.52*	0.78	0.00	0.62
Frequency of stomata lines	Lst	Lines mm ⁻¹	4.44*	0.06	1.50	0.24	5.18*	0.01	0.47
Cross section	Cross.sect.	mm ²	8.62**	0.01	43.22***	0.50	1.47	0.09	0.63
Cuticle thickness	C	um	3.01	1.85	12.39**	0.64	0.92	0.15	0.44
Epidermis	Ep	%	15.80***	0.25	23.58***	0.43	0.40	0.31	0.75
Resin ducts	RC	%	2.85	0.08	3.73	0.04	3.96*	0.47	0.35
Mesophyll	M	%	8.21**	0.05	43.16***	0.10	3.82*	0.18	0.61
Endodermis	En	%	8.38**	2.17	21.12***	0.49	2.55	1.02	0.64
Transfer	Tr	%	3.79*	2.01	0.36	0.31	1.96	0.11	0.47
Phloem	Ph	%	3.38*	5.66*	6.57*	1.07	0.81	0.07	0.54
Xylem	Xy	%	3.06	0.97	2.00	0.72	6.40**	3.19	0.44

Signif. Codes: 0 "****" 0.001 "***" 0.01 "**" 0.05 " "

Supplementary Figure S1



Supplementary Figure S2



The impact of warmer or cooler winter on European beech phenology lasts beyond spring

Constant Signarbieux¹⁻², Ester Toledano¹⁻²⁻³, Paula Sanginés¹⁻², Yongshuo H. Fu⁴⁻⁵, Rodolphe Schlaepfer¹, Alexandre Buttler¹⁻², Yann Vitasse³⁻⁴

¹École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Laboratory of Ecological Systems (ECOS), Lausanne, Switzerland,

²Swiss Federal Institute for Forest, Snow and Landscape Research, Switzerland, ³Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, Spain, ⁴Department of Biology, University of Antwerp, Wilrijk, Belgium, ⁵College of Urban and Environmental Sciences, Peking University, Beijing, China. ⁶ University of Neuchatel, Institute of Geography, Neuchatel, Switzerland, ⁵

• Abstract:

Phenology of trees of temperate regions has become an important research topic for global change issues over the last two decades because of its major role in regulating ecosystems processes such as carbon cycle and species interactions. While spring phenology has often been studied, autumn phenology is still poorly understood. Most of the studies focus on specific phenophases, such as budburst or flowering, and generally do not consider the carry over effect of a phenophase on following ones during the same annual cycle (e.g. budburst and bud set). Using beech saplings in a reciprocal transplanting experiment between two elevations in the Swiss Jura, we hypothesized that: (i) cooler or warmer winter conditions would affect the following spring and autumn phenophases, as well as the spring phenology of the following year. (ii) These changes could be related to non-structural carbohydrates (NSC) storage and/or to a shift in the dormancy release driven by chilling and forcing temperature requirements. Our results showed that the advance and the delay of budburst timing induced by warmer and cooler winter conditions, respectively, has impacted the following autumn phenology: an advanced spring budburst has led to an earlier autumn bud set. This suggests that the potential delay in senescence processes due to global warming might be smaller than expected and that the assumption of longer growing season does not necessarily apply. The dependency of these two phenophases might be explained by the building up of the NSC storage. Furthermore, no carry over effect was found between the advanced or the delayed budburst timing in 2014 and the spring phenology of 2015, indicating that the following year, the current climatic variables were the dominant drivers of spring phenology. Adapting phenological models to the whole annual phenological cycle would improve predictions of tree phenology under future climate warming conditions.

• INTRODUCTION:

Phenology of temperate and boreal trees play a considerable role in ecosystems functioning and an advance or a short delay in the beginning or end of tree activity may considerably impact on the global climate as well as on several biogeochemical cycles (Cleland et al. 2007; Richardson et al. 2013). For instance, increasing temperatures has extended the growing season in temperate and boreal trees and resulted in a larger carbon uptake (Keenan et al. 2014). Phenology also influences the overall latent heat fluxes, playing an important role in the atmospheric circulation, ecosystems water budget (Peñuelas et al. 2009) and albedo (Bonan 2008; Pitman 2003). In addition, because phenological response to temperature and photoperiod was shown to highly differ among coexisting species, climate change will likely affect the competition among species (Vitasse et al. 2011) and ultimately lead to shifts in species distributions (Chuine 2010). Long-term phenological observations showed that plant phenology not only depends on warming effects but on a balance between warming and cooling (Menzel et al. 2011; Wolkovich et al. 2012). Understanding how plant phenology will respond to warmer and cooler conditions is essential to predict the overall effect of ongoing climate change on plants.

Many studies have demonstrated tree phenology as sensitive to the ongoing climate warming (Menzel et al. 2006; Menzel & Fabian 1999; Fu et al. 2014) and as the most visual effect of climate change on the ecology of plant species (Rosenzweig et al. 2007). Over the last fifty years, the dates of spring leaf phenology have advanced by 6 to 19 days in Europe and North America, respectively (Fu et al. 2015). Warmer climate may not necessarily induce earlier leaf-out in spring (Chuine 2010) because temperature has a dual role that affects both dormancy release in winter (chilling temperatures) and the initiation of bud development in spring (forcing temperatures) (Harrington & Gould 2015). It has been recently reported that warmer temperature recorded during the last two decades over the Northern Hemisphere has resulted in an increase in forcing requirement for budburst, likely to compensate the insufficient chilling requirement for a full dormancy release (Fu et al. 2015a). In agreement, another recent study suggests that the “apparent” phenological sensitivity of trees to spring temperature has declined over the last decade, as a result of chilling decrease, or photoperiod limitation (Fu et al. 2015b). In some temperate tree species, such as *Fagus sylvatica* L. (European beech), photoperiod also plays an important role in regulating the timing of budburst, which then limits the extent of the phenological response to global warming (Basler & Körner 2012; Vitasse & Basler 2013). The complex interaction between all the

environmental factors involved in bud dormancy is probably the reason why numerous questions remain still open and need to be resolved. For instance, there is no agreement about how the decrease of chilling will affect the budburst timing; which range of chilling temperatures are efficient to break the bud dormancy, and how much spring phenology is dependent from previous spring or autumn phenology (Keenan & Richardson 2015)? Moreover, many studies focus on a single phenophase and therefore do not consider any potential carryover effect on phenophases belonging to the same annual cycle (Delpierre et al. 2015). Yet, the different phenophases are not independent from each other (Delpierre et al. 2015; Keenan & Richardson 2015; Fu et al. 2014). Based on a manipulative warming experiment, Fu et al. (2014) hypothesized a carry-over effect of one phenophase to the following one or even to the next year phenology. Using phenological observations over 24 years in 3 temperate species growing in Harvard forest (USA), Keenan and Richardson (2015) confirms the interaction between spring and autumn phenology. Then, experimental efforts based on nature conditions are still extremely needed to explore this carryover effect. In contrast to spring phenology, bud set and leaf senescence in temperate trees have received fewer attention and the environmental cues that influence leaf senescence are poorly understood (Panchen et al. 2015). Photoperiod and temperature are considered as the main drivers of leaf senescence (Körner & Basler 2010), but other environmental factors may also play a role (Panchen et al. 2015). In addition, internal physiological factors, such as sugar and starch content (Non-Structural Carbohydrates, NSC) may also regulate leaf senescence processes (Fu et al. 2014).

While most experiments have been performed in climate chambers by manipulating temperature and photoperiod (Chung et al. 2013; Sherry et al. 2007; Fu et al. 2014; Fu et al. 2013; Basler & Körner 2012), we conducted a reciprocal transplanting experiment between two altitudes (1340 m a.s.l. vs. 371 m a.s.l.) in the Swiss Jura mountains. Thereby, we simulated cooler or warmer temperatures during winter and early spring, and tested its effects on the phenology of *Fagus sylvatica* L. during the following seasonal growth as well as during the next spring. In details, we aimed to answer the following questions: (i) Does a shift in the timing of budburst lead to significant changes in the date of bud set/leaf senescence and in the following budburst? (ii) If so, are these changes related to the build up of non-structural carbohydrates (NSC) storage and/or a shift of the dormancy release driven by chilling and forcing temperature requirements? (iii) Does a warmer or cooler winter affect saplings' growth and bud morphology?

• MATERIAL AND METHODS

Site description and experimental design:

The experiment consisted on a reciprocal transplantation between two sites located at low and high elevations in the Swiss Jura mountains (see Figure 1). It aimed to simulate warmer (transplant from top to bottom) and cooler (transplant from bottom to top) conditions through an altitudinal gradient. The high elevation site (Alpage des Amburnex: N46°54', E6°23') is located at 1340m a.s.l. and has a mean annual rainfall of about 1300 mm and a mean annual temperature of 7.2°C. The low elevation site (Bois Chamblard: N46°27', E6°24') is situated at 371m a.s.l. and has a mean annual rainfall of 500 mm with a mean annual temperature of 11.7°C. Hereafter, these two sites are referred as "High site" and "Low site" according to their elevation.

Six years old saplings of *Fagus sylvatica* L. (European beech) with similar characteristics were used (diameter of 7 to 9 mm and height of 70 to 80 cm). In early September 2013, 60 saplings were collected from two donor forests in the vicinity of the two transplant sites (30 saplings from each surrounding forest). Then, saplings were planted in pots (22 liters, 35 cm of diameter and 40 cm depth) filled with their local soil. Saplings only received water from natural rainfall and at the low site they were treated with pesticide at the beginning of spring 2014 and 2015 in order to prevent insect attacks and damage to the leaves. All saplings, but two, survived the whole experimental period up to spring 2015.

Transplantation

In mid-September 2013, at the low site 15 saplings over 30 served as a control of the cooling treatment and were kept there during the whole experiment. The other 15 saplings were moved to the high site, to simulate a cooling scenario. At the high site, 15 saplings over 30 served as a control of the warming treatment and spent there the whole experiment. The other 15 individuals were moved to the low site to simulate a warming scenario. Pots were buried underground and placed in open area near the donor forest. All saplings were left at these elevations during the winter 2013-2014. We monitored bud development in spring 2014 in each site, and around two weeks after budburst all the transplanted trees were moved back to their original sites. In autumn 2014, the timing of bud set and leaf senescence were monitored for all saplings. With this procedure, treatments and controls were under the same environmental conditions over the growing season and only differed in budburst timing. It is

also noteworthy that the altitudinal gradient allows to induce contrasting temperature regime (+/- 4.5 °C) while keeping similar day length between the two sites.

Phenological observations

During spring 2014 and 2015 we recorded 4 distinct stages of bud development: dormant (0), swollen (1), budburst (2), leaves folded in a single plan (3) and at least one leaf fully unfolded (4). The measures were taken on apical bud in each site by the same observer 3 times a week from the 1st of April until all saplings reach the stage 4. For the autumn phenology, we differentiated 3 stages: ongoing leaf development (0), new formed green and soft bud (1), small and brown bud (2), elongated (>1cm) and brown bud (3). Likewise, we monitored the timing of bud set from 1st August till the stage 3 and three times a week. We considered stage 3 as the stage of bud set and was taken as a proxy for the end of the growing season. Moreover, leaf coloration and leaf fall were monitored and we considered individual sapling as senescent when 50% of its leaves were colored or fallen according to the methodology employed in Vitasse et al. (2009).

Interestingly, for saplings situated in the lowest site the apical buds were the first ones that started to budburst. In contrast, an opposite pattern was observed at the high site where the apical buds were the last ones in budburst. This site is characterized by a snow cover of about 1 meter from November to March and in spring we observed a mean of 17 dead apical buds without significant difference between control and treatment. This might be because they were always the first ones out of snow in spring and negative temperature during night may have damaged them. In the case they are still alive, this pattern could be because they have less chilling above the snow. For this reason, sometimes more than 50% of the buds were at stage 2 but not the apical ones. In this case the date of 50% bud budburst was taken.

Climatic measurements

Humidity, soil and air temperature were recorded every hour in each site using EM50 data-loggers (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA). Air temperature sensors (VP3. Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, USA) were placed at the average height of the saplings (i.e. 60 cm from the ground). In order to assess the importance of chilling and forcing temperatures for budburst, we calculated chilling hours (Ch) and forcing (F), respectively. We recorded the Ch received from the 16th October until budburst both 2014 and 2015. Although most studies take the range for chilling temperatures between 0 and +5 °C we considered temperatures between -1 and +5 °C as efficient for chilling because under the snow the

temperature was slightly below 0°C. To evaluate the forcing temperatures requirement to budburst, every hour above 5°C were accumulated from the 1st February to budburst date in 2014 and 2015.

Growth and bud measurements

Morphology of buds and growth parameters were measured at the beginning and at the end of the growing season 2014, at both elevations.

For each sapling, we measured the stem apical diameter (mm), stem basal diameter at 3 cm from the ground, (mm) and the stem length (cm). The four longest branches were labelled by colored strings, and their diameter and length were measured. Measurements of the length and diameter of 5 buds were performed for each sapling including the apical and four other surrounded buds. The diameter of the buds was measured at one-third of the bud length from the base. All diameter, as well as bud length measurements were done with a digital caliper (MarCal 16 EWR, accuracy 0.01 mm) and the stem length and main branches were measured with a tape (accuracy 0.1 cm). We calculated the volume of the stem and branches assuming they have the shape of a truncated cone which is often used for young trees:

$$V_i = \pi * \frac{D^2 + D * d + d^2}{12} (mm^3)$$

where “D” is the basal diameter of the stem and “d” is the apical diameter of the stem.

The total volume of one individual sapling is then calculated as the sum of the volumes of the stem and the four main branches.

$$V_{tot} = V_{Stem} + V_{Branch1} + V_{Branch2} + V_{Branch3} + V_{Branch4} (mm^3)$$

The growth in the stem length and total volume was calculated as the difference between measurements conducted at the end (EGS) and at the beginning (BGS) of the growing season.

$$\Delta V = V_{EGS-2014} - V_{BGS-2014} (mm^3)$$

$$\Delta SL = SL_{EGS-2014} - SL_{BGS-2014} (mm^3)$$

where “ΔV” is the total volume growth and “ΔSL” is the stem length growth.

Non-Structural Carbohydrates (NSC) analysis

The NSC are defined as low molecular weight sugars (glucose, fructose and sucrose) plus starch. In November 2014, when all saplings were senescent, we collected one woody twig from each sapling (6 cm) corresponding to the tissue produced in 2014 (i.e. 58 samples). NSC were analyzed as described in Hoch et al. (2002) using an enzymatic digest technique with subsequent spectrophometric glucose tests (Li et al. 2002). Samples were boiled in distilled water and after centrifugation, treated with invertase and isomerase to convert fructose and sucrose into glucose. Glucose was converted to gluconate-6-phosphate using a Hexokinase reaction kit (Sigma Diagnostics, St. Louis, Mo., USA). The insoluble material was kept at 40°C with the dialyzed crude enzyme Clarase from *Aspergillus oryzae* to break down starch to glucose. Starch and sugar standards as well as laboratory standard of plant powder were used as controls for analyses. Finally, sugar, starch and NSC concentrations (%) were calculated on a dry matter basis.

Data analysis

The experiment follows a one factor design with repeated measurements. The studied factor consisted in 4 treatments: C = Cooling, CC= Control Cooling, W= Warming, CW=Control Warming. For the analysis of budburst, chilling and forcing hours, each plant was observed twice: on year 1 and on year 2. Year is therefore a within factor and is considered in the analysis as a split-plot factor. For the remaining variables only one year is considered. The design is slightly unbalanced: treatments C and CC n=15, treatment CW n=12 pots and treatment W n=14 pots. We used Tukey test adapted for Split-Plot designs using the R "easynova" (Arnold, E. 2013). The relation between chilling and forcing was analyzed with a linear regression, both through the means of the different treatments (n=4) and through the individual sapling data. Finally, in order to know the contribution of buds morphology variables to the total volume growth, the technique of marginal contribution was used.

• RESULTS:

Budburst 2014 and 2015

The mean budburst date across the saplings in 2014 in the cooling treatment was significantly later than in the control and occurred on the day of the year (DOY) 141, i.e. 45 days later than the controls (saplings in the cooling treatment were transplanted from the low site to the high

site, and saplings in the cooling control were kept at the low site during the experiment (Figure 2). On the other hand, mean budburst date across saplings in the warming treatment in 2014 was significantly advanced and occurred on DOY 104, ie. 38 days earlier than in the control (saplings from the warming treatment were at this time at the lowest site and control at the highest one) (Figure 2). The budburst timing of saplings at the high site between the control warming and cooling treatment was very similar, i.e. DOY: 141 vs. 142. However, the timing of budburst saplings between the control cooling and the warming treatment at the low site were significant different ($p<0,001$) with a mean mean difference 8 days. Moreover, the magnitude of the impact for warming and cooling treatments for the timing of budburst was not the same. Cooling treatment showed 10 days of delay every one degree decrease, whereas warming treatment showed 8 days of advance every one degree increase (Figure 2).

In spring 2015, i.e. one year after the plants were moved back to their original sites, we did not found differences between the cooling treatment and its control. However, we found a slight advance of 4 days budburst timing in the warming treatment compared to its control, but the shift was not significant ($p = 0.16$) (Figures 3 and 4).

Chilling and forcing

The amount of forcing hours required to budburst was highly correlated to the amount of chilling hours experienced by the saplings ($R^2=0.89$ linear correlation). The more chilling experienced by the saplings, the less forcing was required to bud burst (Figure 5).

During the winter 2014 cooling control and warming treatment were at the high site. Although they experienced similar duration of chilling, with 2051 and 2055 hours, respectively, warming saplings required 189 forcing hours more to budburst than saplings of the cooling control (Figure 2). Saplings of the cooling treatment and warming control at the low site but they required almost the same amount of forcing hours to budburst (560 and 566 hours, respectively) (Figure 2). During the winter 2015, only a weak difference appears between the warming treatment and the control warming (placed both at the high site), with the former requiring 68 forcing hours less than the control (Figure 4). Between cooling treatment and cooling control (placed at the low site), we did not found difference in the forcing requirement (1041 and 1053 hours) (Figure 3).

Bud set and leaf senescence in 2014

The cooling treatment in winter 2013 induced a significant delay of 31 days in bud set and the warming treatment induced an advance of 10 days compared to the control (Figures 3 and 4). In details, we found that one day delay in spring budburst was associated with 0.68 day delay in bud set for the cooling treatment whereas, one day advance in budburst lead to an advance of 0.26 days.

Growth parameters and bud morphology

Stem length increment and total volume growth during the growing season were found to be affected by the warming-cooling treatments induced in the previous winter (Table 1). Cooling treatment has a negative impact for both parameters. Although saplings in the cooling treatment spent the growing season at the low site, the cooler conditions has decreased significantly their growth comparing to saplings of cooling control ($p < 0.001$).

Saplings from the cooling treatment have less and smaller buds, in length and diameter, than those from the control treatment. On the contrary, saplings from the warming treatment have longer buds. No significant increase in the number and diameter of buds was found compared to the control. The number of buds, bud diameter and bud length explain 53% of the total volume growth. When bud length is changing by 1 mm, and when the other explanatory variables are kept constant, the total volume growth is changing by 0.58 cm³. When bud diameter is changing by 1 mm, and when the other explanatory variables are kept constant, the total volume growth is changing by 10.32 cm³. When bud number is changing by 1 unit, and when the other explanatory variables are kept constant, the total volume growth is changing by 0.09 cm³.

Non-Structural Carbohydrates

The NSC quantity did not show significant differences between treatments and controls. The small differences seem root more the in the origin of saplings (donor site) rather than the result of the treatments. Saplings coming from the lower forest tended to have higher concentrations of total NSC and greater starch content compared to sugar. Only saplings from the warming treatment produced as much sugars as starch showing a significant increment in the quantity of sugar ($p < 0.001$) (Figure 6 and table 2).

• DISCUSSION:

We showed that warmer or cooler winter affects the subsequent date of budburst and carryover impacts the timing of growth cessation but we did not find a significant effect on next year spring phenology. Our findings confirm that one phenophase could affect all subsequent phenophases, as expected when considering the phenology of trees as a cycle (Delpierre et al. 2015; Keenan & Richardson 2015; Fu et al. 2014). Shifts in the forcing requirement to budburst may mean an alteration in the sensitivity to temperature, whereas no significant difference on NSC concentration was found and neither a correlation between the quantity of NSC and the growing season length.

The relationship between spring and bud set or autumn phenology might be explained by the effect of NSC storage (Fu et al. 2014). In agreement with Fu et al. (2014), no significant difference in the NSC concentration was found between the treatments and their respective controls, although saplings in control and treatment were under the same environmental conditions during the whole growing season. This does not necessary mean that the NSC storage does not affect the bud set / senescence process, but, trees may have a specific amount requirement of NSC storage that would inhibit growth and promote bud set (which might be slightly different among the two provenances) (Herold 1980). A possible explanation is that once the trees fulfill their NSC requirement (storage capacity) they start the senescence process, because an excess of NSC may inhibit photosynthesis (Seginer & Gent 2014; Gent 2012). Thus, in the warming treatment, an earlier budburst of beech saplings lead to fulfill their NSC requirement earlier, and subsequently results in an earlier bud set and leaf senescence, comparing to the sapling in the controls or in the cooling treatment.

Our study also demonstrated that the more chilling the beech saplings experienced, the less forcing they required to bud burst. Even if the number of chilling hours is quite high (around 2700 h) at the high site, trees required a certain amount of forcing (around 550 hours) to budburst which is supposed to be a minimum heat requirement when chilling exceed requirement for a full dormancy break. The opposite happens at the low site for which 550 forcing hours were not enough and budburst occurred only after around 1000 forcing hours. The low number of chilling hours received compared to the ones places at the high elevation site (around 1800 hours compared to 2700 hours) together with the short photoperiod during early spring may have enhanced the forcing requirement to budburst. This control of chilling and photoperiod has been seen as a mechanism to avoid a too early flushing when late winter temperatures get warmer and therefore limit the risk of young leaves to be exposed to late

spring frost (Vitasse et al. 2014). This is particularly important because emerging leaves are the most sensitive stage to freezing temperatures (Lenz et al. 2013).

Saplings that grew during two years at the two different sites showed changes in the requirement of forcing hours depending on the chilling hours received. Interestingly, we found that the first spring (2014), saplings in warming treatment required 189 forcing hours more than the control cooling in spite they were under the same conditions during winter (they received the same amount of chilling hours). This may be caused by a carry-over effect from the previous growing season since warming saplings came from a forest located at higher elevation. It could also mean a decreasing sensitivity to temperature with warmer temperatures. The second spring (2015), this carry-over effect persisted but was much weaker. Probably, this small difference is due to the cold weather that occurs just after the first signs of budburst buffering the potential differences between the treatments. At the beginning of the spring, saplings of warming treatment tended to budburst earlier but frost events that occurred shortly after the very first signs of budburst may have limited bud development for all saplings (Figure 7). Indeed we determined the budburst following the apical buds (except for the saplings with more than 50% of buds budburst but not the apical). Using the very first bud that gets open (instead of the 50%) would likely have enhanced the difference between the two treatments at high elevations. Then when temperatures were becoming warmer all trees may have fulfilled their chilling requirement reducing the potential difference in their timing of budburst.

Finally, we tested that the impact of a warmer or cooler winter has not the same magnitude. It seems that the effect of cooler temperatures during winter has more important consequences than the effect of warmer temperatures. While a cooler winter reduces considerably the total volume growth for the following growing season, a warmer winter does not promote it. Moreover, the carryover effect on phenology might be also greater for cooler temperatures. As said above, during the spring 2014 saplings in the warming treatment (that come from the high forest, i.e. they grew up under cold temperatures) needed 189 hours more than saplings in the cooling control, whereas cooling saplings (which grew up in the low forest) required the same amount of forcing hours than the warming control. This could mean that “the memory effect” of a cold winter should be greater than for a warmer winter. It could be related to the fact that the memory effect in the bud set is also more important for cooling treatment. One day delay in spring budburst due to low temperatures involves greater shift in bud set (0.68 day delay in bud set for the cooling treatment whereas, one day advance in budburst leads to an advance of 0.26 days for the warming treatment). Nevertheless, this

effect seems to disappear for the next year, while saplings in the warming treatment tended to advance again the budburst.

- LIMITS AND CONCLUSION:

Although the phenology of young saplings may not represent the phenology of adult trees (Vitasse 2013), they are relevant to study because the next generation of mature forest depends on the success of . Our results suggest that the potential delay in senescence processes due to global warming might be smaller than expected because a shift in the budburst timing feedbacks in the autumn phenology, as clearly demonstrated here within the same year in a recent study (Keenan & Richardson 2015). (i) A certain amount of NSC storage may trigger bud set and/or the beginning of the leaf senescence process. (ii) a carryover effect could modify the temperature sensitivity of the buds, ie. changing the chilling and forcing requirement for dormancy break and initiation of bud development, respectively. Further experimental studies under controlled conditions could help to elucidate the involved mechanism, especially because in situ experiment does not allow to control all climatic parameters. Overall, we found that, the lengthening of the growing season in response to global warming might be likely shorter than previously expected. Adapting phenological models represents the future challenge to improve predictions of tree phenology under the ongoing climate change (Delpierre et al. 2015).

371 References:

- 372 Basler, D. & Körner, C., 2012. Photoperiod sensitivity of bud burst in 14 temperate forest tree
373 species. *Agricultural and Forest Meteorology*, 165, pp.73–81.
- 374 Basler, D. & Körner, C., 2014. Photoperiod and temperature responses of bud swelling and bud burst
375 in four temperate forest tree species. *Tree Physiology*, 34(iii), pp.377–388.
- 376 Bonan, G.B., 2008. Forests and climate change: forcings, feedbacks, and the climate benefits of
377 forests. *Science (New York, N.Y.)*, 320(5882), pp.1444–1449.
- 378 Chuine, I., 2010. Why does phenology drive species distribution? *Philosophical transactions of the*
379 *Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 365(1555), pp.3149–3160.
- 380 Chung, H. et al., 2013. Experimental warming studies on tree species and forest ecosystems: A
381 literature review. *Journal of Plant Research*, 126(4), pp.447–460.
- 382 Cleland, E.E. et al., 2007. Shifting plant phenology in response to global change. *Trends in Ecology and*
383 *Evolution*, 22(7), pp.357–365.
- 384 Delpierre, N. et al., 2015. Temperate and boreal forest tree phenology: from organ-scale processes to
385 terrestrial ecosystem models. *Annals of Forest Science*.
- 386 Estrella, N. & Menzel, A., 2006. Responses of leaf colouring in four deciduous tree species to climate
387 and weather in Germany. *Climate Research*, 32(3), pp.253–267.
- 388 Fu, Y.H. et al., 2013. Sensitivity of leaf unfolding to experimental warming in three temperate tree
389 species. *Agricultural and Forest Meteorology*, 181, pp.125–132.
- 390 Fu, Y.H. et al., 2014a. Recent spring phenology shifts in western Central Europe based on multiscale
391 observations. *Global Ecology and Biogeography*, p.n/a–n/a.
- 392 Fu, Y.H. et al., 2014b. Unexpected role of winter precipitation in determining heat requirement for
393 spring vegetation green-up at northern middle and high latitudes. *Global change biology*, pp.1–
394 13.
- 395 Fu, Y.H. et al., 2014c. Variation in leaf flushing date influences autumnal senescence and next year's
396 flushing date in two temperate tree species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of*
397 *the United States of America*, 111(20), pp.7355–60.

398 Fu, Y.H. et al., 2015. Increased heat requirement for leaf flushing in temperate woody species over
399 1980-2012: effects of chilling, precipitation and insolation. *Global Change Biology*, p.n/a–n/a.

400 Fu Y.H. et al., 2015. Declining global warming effects on the phenology of spring leaf unfolding. In
401 press. *Nature*

402 Gent, M., 2012. Vegetative Growth Response to Light and Temperature, Interpreted by
403 Carbohydrate-Pool Dynamics. , (1), pp.231–238.

404 Harrington, C. A. & Gould, P.J., 2015. Tradeoffs between chilling and forcing in satisfying dormancy
405 requirements for Pacific Northwest tree species. *Frontiers in Plant Science*, 6(March), pp.1–12.

406 Herold, a, 1980. Regulation of photosynthesis by sink activity - the missing link. *New Phytologist*, 86,
407 pp.131–144.

408 Hoch, G., Popp, M. & Körner, C., 2002. Altitudinal increase of mobile carbon pools in *Pinus cembra*
409 suggests sink limitation of growth at the Swiss treeline. *Oikos*, 98(March), pp.361–374.

410 Keenan, T., Gray, J. & Friedl, M., 2014. Net carbon uptake has increased through warming-induced
411 changes in temperate forest phenology. *Nature Climate Change*, 4(June), pp.598–604.

412 Keenan, T.F. & Richardson, A.D., 2015. The timing of autumn senescence is affected by the time of
413 spring phenology: implications for predictive models. In press. *Global Change Biology*.

414 Körner, C. & Basler, D., 2010. Plant science. Phenology under global warming. *Science (New York,*
415 *N.Y.)*, 327(5972), pp.1461–1462.

416 Lenz, A. et al., 2013. European deciduous trees exhibit similar safety margins against damage by
417 spring freeze events along elevational gradients. *New Phytologist*, 200, pp.1166–1175.

418 Li, M., Hoch, G. & Körner, C., 2002. Source/sink removal affects mobile carbohydrates in *Pinus*
419 *cembra* at the Swiss treeline. *Trees - Structure and Function*, 16(4-5), pp.331–337.

420 Menzel, a & Fabian, P., 1999. Growing season extended in Europe. *Nature*, 397(6721), p.659.

421 Menzel, A. et al., 2006. European phenological response to climate change matches the warming
422 pattern. *Global Change Biology*, 12(10), pp.1969–1976.

423 Menzel, A., Seifert, H. & Estrella, N., 2011. Effects of recent warm and cold spells on European plant
424 phenology. *International Journal of Biometeorology*, 55(6), pp.921–932.

425 Panchen, Z. a. et al., 2015. Substantial variation in leaf senescence times among 1360 temperate
426 woody plant species: implications for phenology and ecosystem processes. *Annals of Botany*.

427 Peñuelas, J., Rutishauser, T. & Filella, I., 2009. Ecology. Phenology feedbacks on climate change.
428 *Science (New York, N.Y.)*, 324(5929), pp.887–888.

429 Pitman, a. J., 2003. The evolution of, and revolution in, land surface schemes designed for climate
430 models. *International Journal of Climatology*, 23(5), pp.479–510.

431 Richardson, A.D. et al., 2013. Climate change, phenology, and phenological control of vegetation
432 feedbacks to the climate system. *Agricultural and Forest Meteorology*, 169, pp.156–173.

433 Seginer, I. & Gent, M.P.N., 2014. Short and long term vegetative growth response to temperature,
434 interpreted by the dynamics of a carbohydrate storage. *Scientia Horticulturae*, 171, pp.14–26.

435 Sherry, R. a et al., 2007. Divergence of reproductive phenology under climate warming. *Proceedings*
436 *of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(1), pp.198–202.

437 Vitasse, Y. et al., 2009. Leaf phenology sensitivity to temperature in European trees: Do within-
438 species populations exhibit similar responses? *Agricultural and Forest Meteorology*, 149(5),
439 pp.735–744.

440 Vitasse, Y. et al., 2011. Assessing the effects of climate change on the phenology of European
441 temperate trees. *Agricultural and Forest Meteorology*, 151(7), pp.969–980.

442 Vitasse, Y., 2013. Ontogenic changes rather than difference in temperature cause understory trees to
443 leaf out earlier. *New Phytologist*, 198, pp.149–155.

444 Vitasse, Y. & Basler, D., 2013. What role for photoperiod in the bud burst phenology of European
445 beech. *European Journal of Forest Research*, 132(1), pp.1–8.

446 Vitasse, Y., Lenz, A. & Körner, C., 2014. The interaction between freezing tolerance and phenology in
447 temperate deciduous trees. , 5, pp.1–12.

448 Wolkovich, E.M. et al., 2012. Warming experiments underpredict plant phenological responses to
449 climate change. *Nature*, 485(7399), pp.494–497.

1 TABLES

2 Table 1: Growth and bud morphology parameters measured at the beginning and at the end
 3 of the growing season in 2014 classified by provenances and treatments. Data represents
 4 mean $\pm$ 1 SE with n=10)

2014	Treatment	Total volume	Stem growth	Number of	Bud length	Bud
		growth (cm ³)	(mm)	buds	(mm)	diameter (mm)
Low	cooling	3.68 $\pm$ 0.8	2,54 $\pm$ 0,8	46 $\pm$ 8	11,2 $\pm$ 0,6	1,9 $\pm$ 0,10
	control cooling	23.22 $\pm$ 3.4	14,07 $\pm$ 2,4	68 $\pm$ 8	17.9 $\pm$ 0,8	2,7 $\pm$ 0,13
High	warming	5.01 $\pm$ 0,9	7,12 $\pm$ 0,9	78 $\pm$ 10	9,2 $\pm$ 0,4	1,8 $\pm$ 0,05
	Control warming	7.78 $\pm$ 1,4	3,80 $\pm$ 0,5	76 $\pm$ 8	7.9 $\pm$ 0,3	1,6 $\pm$ 0,06

8 Table 2: Non-structural carbohydrates (NSC), sugar and starch content in twigs of beech
9 saplings in autumn 2014. Data represents means $\pm$ 1 SE with n=10).

10

11

Treatment	Sugar (%)	Starch (%)	NSC (%)
cooling	3,22 $\pm$ 0,12	11,33 $\pm$ 0,40	14,56 $\pm$ 0,47
control cooling	3,99 $\pm$ 0,26	9,34 $\pm$ 0,65	13,32 $\pm$ 0,59
warming	5,52 $\pm$ 0,22	5,41 $\pm$ 0,71	10,93 $\pm$ 0,63
control warming	3,78 $\pm$ 0,26	7,34 $\pm$ 0,65	11,13 $\pm$ 0,82

12 Table 3: Time-lag between the date of bud set and the date of senescence for the four
13 treatments. Data are means $\pm$ 1 SE with n=10.

Treatment	Senescence - Bud set	
control cooling	27	3.94
cooling	33	5.41
control warming	2	3.50
warming	6	2.42

14

15

16

FIGURE CAPTIONS

Figure 1: Experimental design of the reciprocal transplantation along an elevation gradient in the Swiss Jura mountains. Bois Chamblard represents the low site and Amburnex the high site.

Figure 2: Date of budburst 2014 of European beech and number of growing degree hours (G) and chilling hours (C) required to budburst classified by treatments and common garden (low and high). Bars represent the mean values ± 1 SE.

Figure 3: Date of bud set 2014 and date of budburst 2015 (day 100 of the year is 10th of April) of control cooling and cooling treatment and number of growing degree hours (G) and chilling (C) hours required to budburst. Bars represent the mean ± 1 SE.

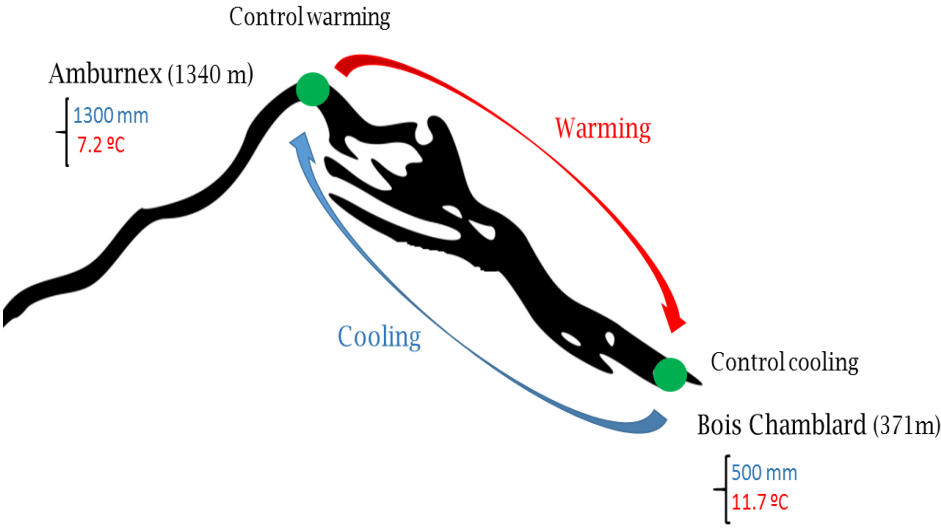
Figure 4: Bud set 2014 (day 250 of the year is 7th of September) and date of budburst 2015 of control warming and warming treatment and number of growing degree hours (G) and chilling (C) hours required to budburst. Bars represent the mean values ± 1 SE.

Figure 5: Correlation between the number of chilling hours received and the number of growing degree hours required to budburst for each treatment in 2014 and 2015 (linear regression).

Figure 6: Percentage of non-structural carbohydrates (sugar and starch) and growing season length (2014) of each treatment classified by provenance (low and high). Bars represent the mean values with the SE.

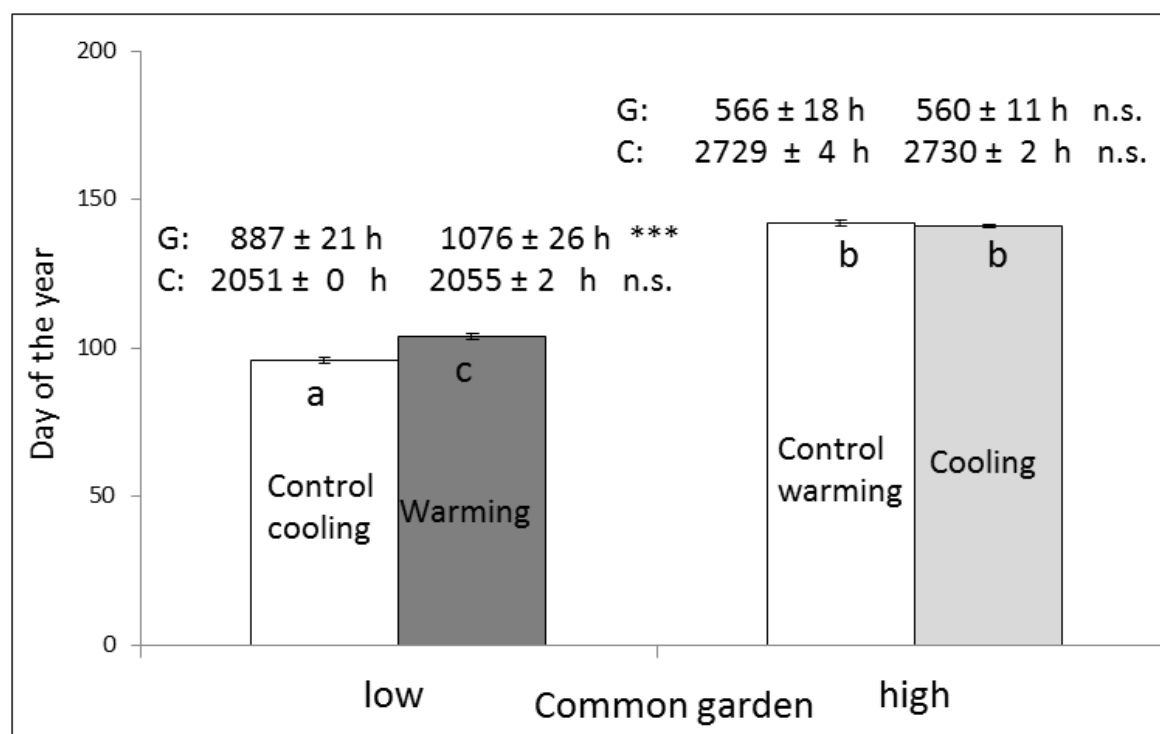
Figure 7: Air temperature and cumulative number of trees that have reached the budburst for warming treatment and control warming in spring 2015 at the high site.

Figure 1:



49 Figure 2:

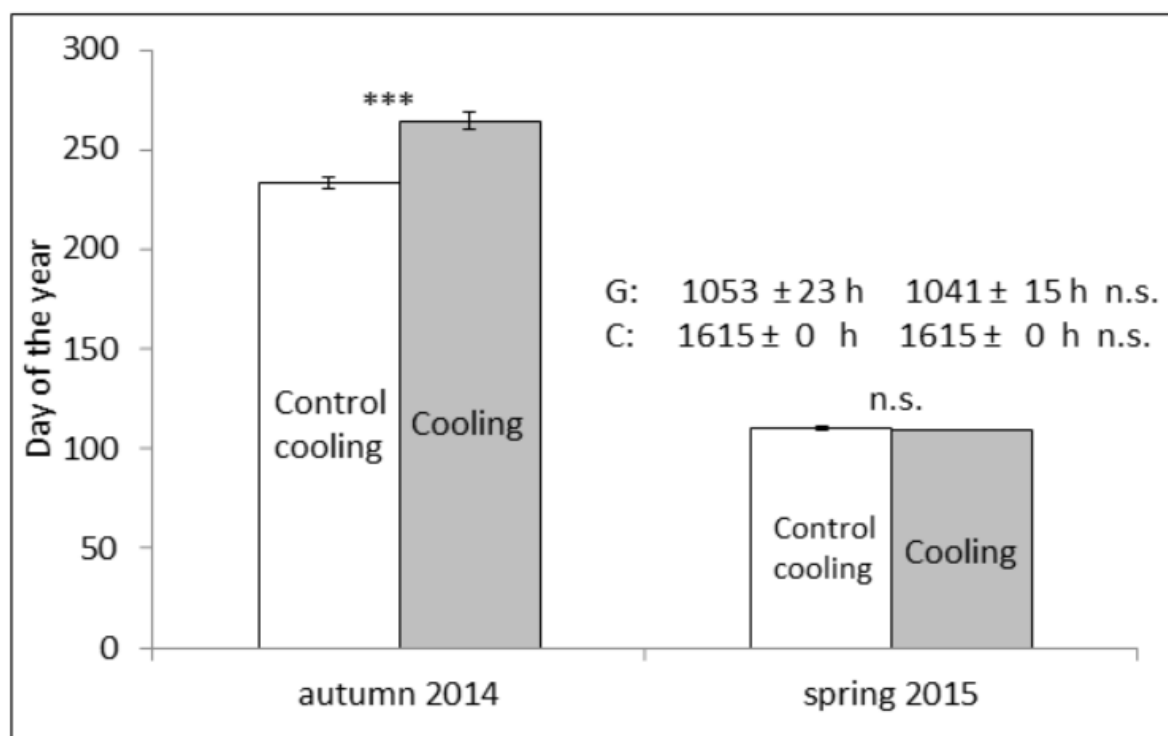
50



51

52 Figure 3:

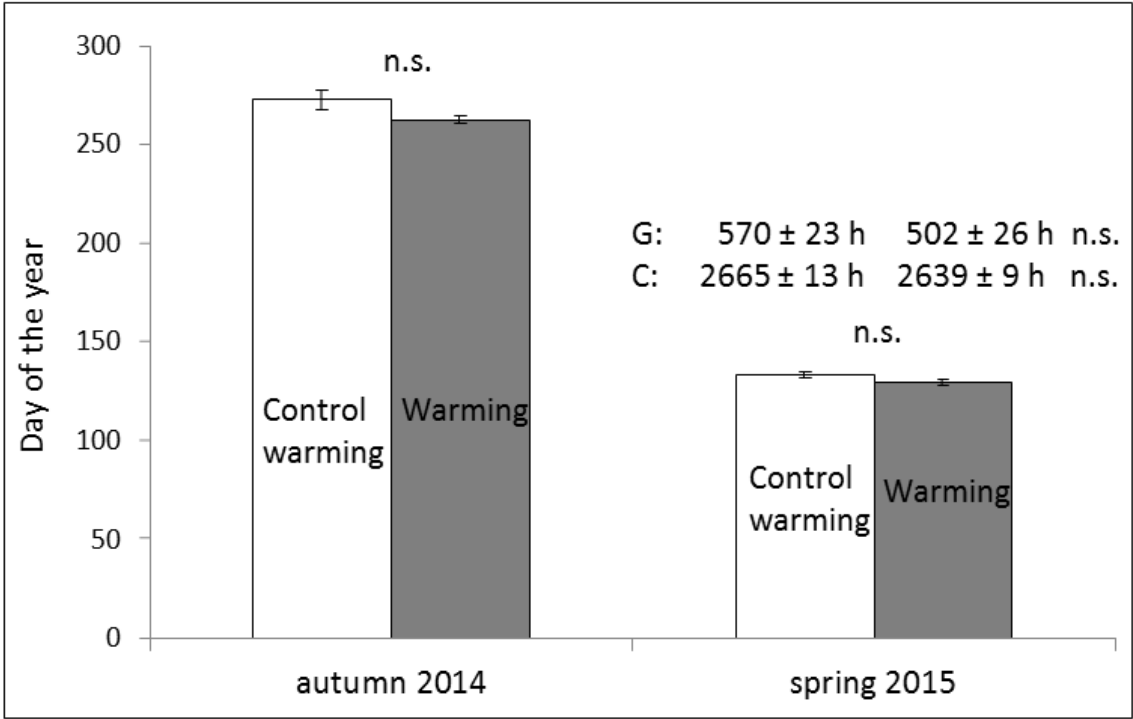
53



54

55

56 Figure 4:

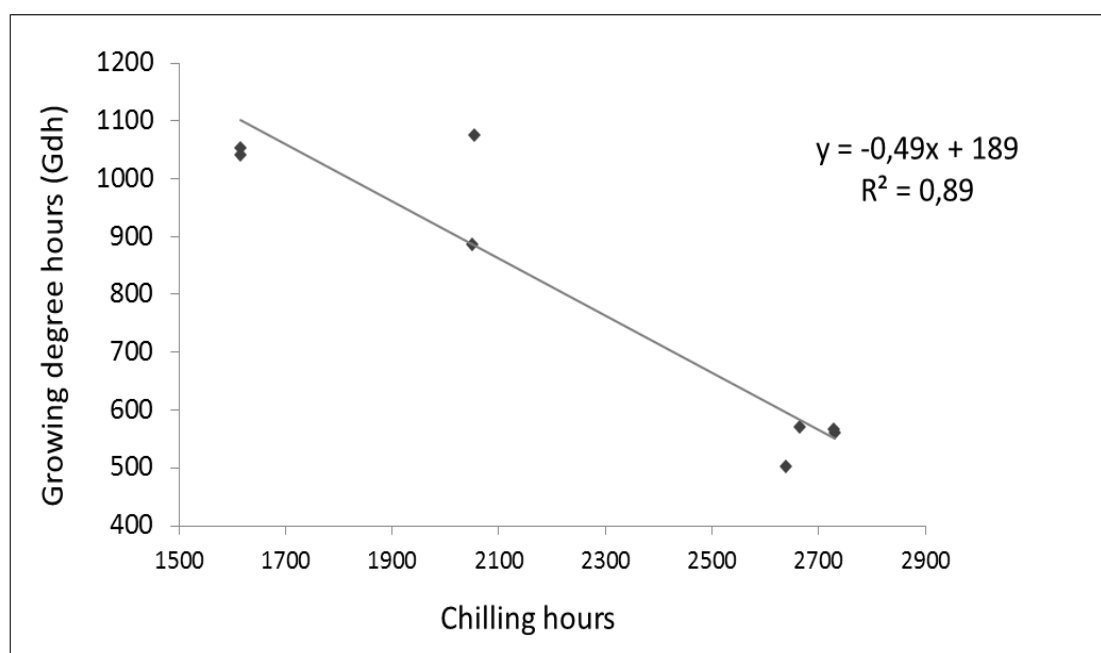


57

58

59 Figure 5:

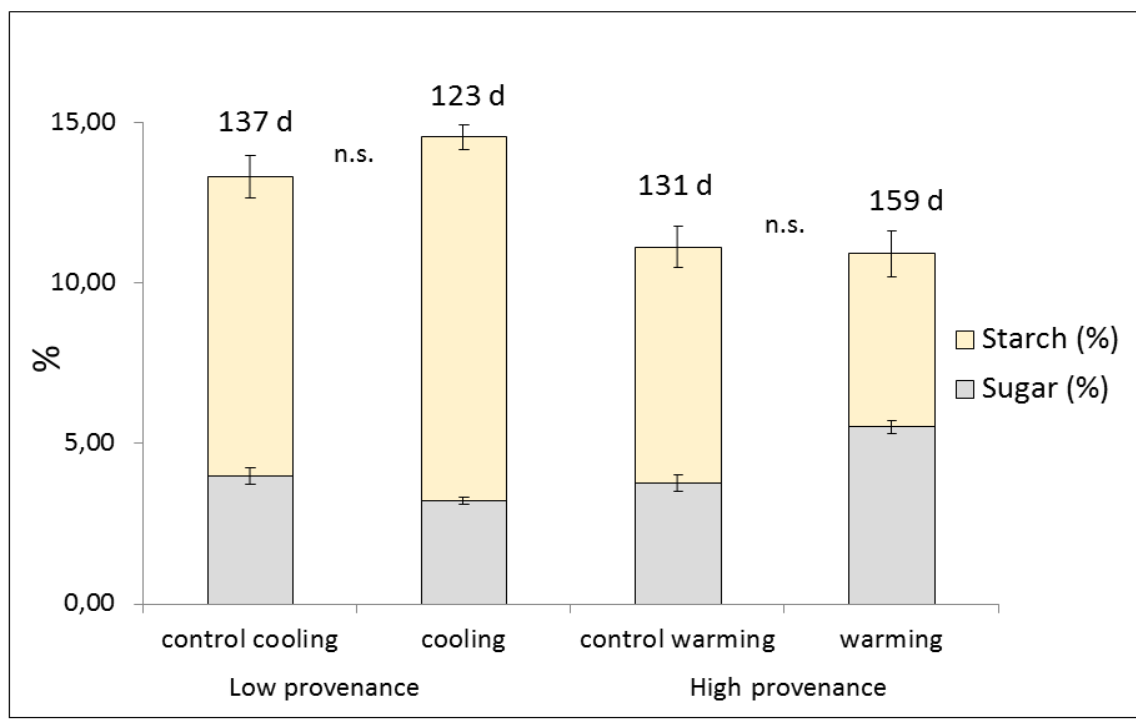
60



61

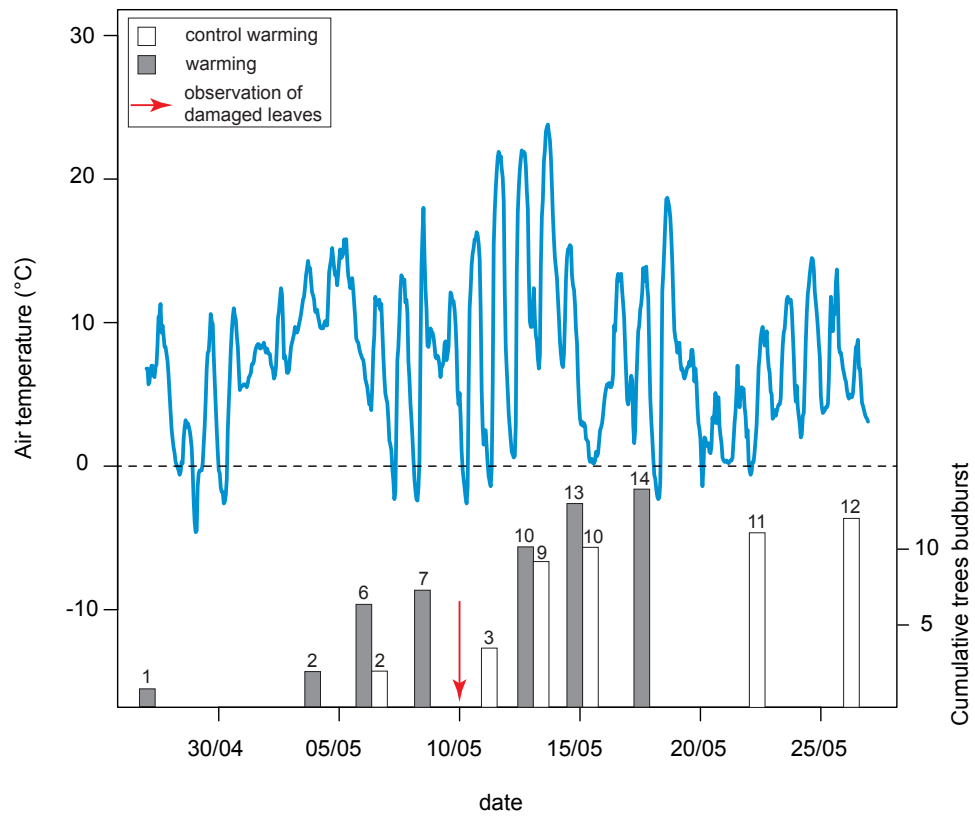
62

Figure 6:



67 Figure 7 :

68



69