



Université du Québec
à Rimouski

**RÉSOUTRE UNE ÉNIGME CENTENAIRE :
INTÉGRITÉ GÉNÉTIQUE DE L'ENDÉMIQUE
RARE *SALIX CHLOROLEPIS* FACE À L'INTROGRESSION
AVEC *S. BRACHYCARPA***

Mémoire présenté

dans le cadre du programme de maîtrise en biologie
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences

PAR

© ALICE ATIKESSÉ

Novembre 2023

Composition du jury :

France Dufresne, présidente du jury, Université du Québec à Rimouski

Guillaume de Lafontaine, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Luc Sirois, directeur de recherche, Université du Québec à Rimouski

Rémy J. Petit, examinateur externe, Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement

Dépôt initial le 3 juillet 2023

Dépôt final le 1^{er} novembre 2023

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, j'aimerais remercier chaudement mes codirecteurs Luc Sirois et Guillaume de Lafontaine pour leur soutien, mais surtout pour leur précieuse présence et disponibilité tout au long de cette aventure. Un grand merci à Luc pour ton appui et tes sages conseils qui ont su apaiser mes tourments de jeune scientifique en apprentissage et m'amener plus loin. Un grand merci également à Guillaume pour ta créativité contagieuse et la transmission enthousiaste de tes connaissances. Merci à vous deux d'avoir cru en moi et de m'avoir poussé plus loin. Quelle équipe nous avons formée! Laurier Collette, mon partenaire de vie, je te suis immensément reconnaissante pour ta générosité, ton aide et tes conseils dont j'ai bénéficié tout au long de mon projet. Merci pour ton support, tu m'as donné sans compter.

Je tiens aussi à remercier tous les bénévoles qui m'ont aidé sur le terrain au mont Albert à l'été 2020 et 2021; Laurier Collette, Samuel Harimanana, Ivan Pecl, Magali Couture, Chléo Pelletier, Marie Allard, Jérémy Mas et Kloé Chagnon-Taillon. Merci spécial à ma mère, Canelle Boulerice, qui est aussi venue échantillonner avec moi. L'échantillonnage fut une épreuve physique et mentale et ça n'aurait pas été possible sans l'aide précieuse des gens volontaires comme vous. Un merci tout aussi spécial à mon père, Georges Atikessé et ma belle-mère Mélanie Paquet, pour leur écoute et leur support, mais aussi leur chalet-retraite de rédaction! Quelle chance d'avoir eu droit à cet espace si paisible pour travailler.

Merci à Gay Austin, Jonathan Coop et Marc-André Parisien pour la collecte d'échantillons de *S. brachycarpa* au Colorado et en Alberta, qui serviront dans un projet de recherche futur. Pour finir, un merci particulier à Frédéric Coursol pour son aide dans le démarrage de ce projet. Grâce au transfert d'informations sur les occurrences des plants de *S. chlorolepis*, nous avons bénéficié d'une immense longueur d'avance dans la stratégie d'échantillonnage.

RÉSUMÉ

Lorsque M. L. Fernald découvrit l'endémique stricte *Salix chlorolepis* sur les hauts versants du mont Albert en 1905, il suggéra que cette espèce s'hybridait avec *S. brachycarpa*, une espèce boréale transcontinentale plus commune. Cette hypothèse, proposée sur la base d'observations de traits morphologiques intermédiaires aux espèces parentes présumées, n'a jamais été corroborée par des analyses moléculaires. Compte tenu du statut menacé à l'échelle canadienne de *S. chlorolepis*, il est impératif de savoir s'il y a hybridation introgressive entre les deux espèces pour la gestion de sa conservation. À l'aide d'une approche de génotypage-par-séquençage, notre étude vise à caractériser la variation génétique de *S. chlorolepis* sur la totalité de son aire de répartition, établir s'il y a effectivement introgression entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* et évaluer si le trait variable de la pilosité foliaire en est indicateur. Les résultats dévoilent un portrait génétique hétérogène de l'espèce endémique. Bien qu'une ascendance génétique commune persiste, les colonies de *S. chlorolepis* présentent quatre lignées génétiques, structurées en fonction de leur distribution dans les différents cirques glaciaires. *S. chlorolepis* montre également un faible niveau de diversité génétique ainsi que de la consanguinité sur la totalité de son aire de répartition. Nos analyses indiquent que des mélanges génétiques sont en cours, corroborant l'existence d'hybridation introgressive entre les deux taxa. Ce flux de gènes interspécifique est circonscrit à la zone de sympatrie entre les deux espèces, soit au sein des colonies de *S. chlorolepis*. Un sous-ensemble de 9 loci ont été identifiés comme étant à la fois fortement reliés au trait phénotypique de pilosité foliaire et à la sélection divergente entre les taxa. Malgré l'hybridation introgressive en cours, des allèles à ces loci 'imperméables' assurent un maintien de la barrière interspécifique ainsi qu'une différenciation phénotypique nette entre les deux espèces. Étant donné cette hétérogénéité génomique, le risque d'assimilation de l'espèce rare par l'espèce plus commune pourrait demeurer limité malgré la présence d'introgression. Un suivi de la trajectoire démographique de chaque colonie de *S. chlorolepis* devrait toutefois être maintenu, afin d'évaluer si des mesures de restauration génétique pourraient être nécessaires, étant donné la structure génétique existante et la faible diversité génétique au sein de chaque colonie.

Mots clés : Introgression, phénotype, espèces endémiques, espèce rare, flux de gènes, saules, *Salix*, dérive génétique, pilosité foliaire, génomique du paysage, DArTseq

ABSTRACT

When M. L. Fernald discovered the strict endemic *Salix chlorolepis* on the upper slopes of Mount Albert in 1905, he suggested that this species hybridized with *S. brachycarpa*, a more common transcontinental boreal species. This hypothesis, based on the observations of morphological traits intermediate to the presumed parent species, has never been corroborated by molecular analyses. Given the threatened status across Canada of *S. chlorolepis*, it is imperative to know if there is introgressive hybridization between the two species for conservation management. Using a genotyping-by-sequencing approach, our study aims to characterize the genetic variation of *S. chlorolepis* over its entire range, establish whether there is indeed introgression between *S. chlorolepis* and *S. brachycarpa* and assess whether variable level of leaf hair density is an indicative phenotypic trait. The results reveal a genetic heterogeneity across the range of the endemic species. Although a common genetic ancestry persists, colonies of *S. chlorolepis* show four genetic lineages, structured according to their distribution in the different glacial cirques. *S. chlorolepis* also shows a low level of genetic diversity as well as inbreeding over its entire range. Our analyzes indicate that genetic admixture is ongoing, corroborating the existence of introgressive hybridization between the two taxa. This interspecific gene flow is strictly limited to the sympatric zone between the two species, i.e. within the colonies of *S. chlorolepis*. A subset of 9 loci were identified as being both strongly associated with the phenotypic trait of leaf hair density and with divergent selection between taxa. Despite ongoing introgressive hybridization, alleles at these 'impermeable' loci ensure maintenance of the interspecific barrier as well as a clear phenotypic differentiation between the two species. Given this genomic heterogeneity, the risk of assimilation of the rare species by the more common species remains limited despite the presence of introgression. Monitoring of the demographic trajectory of each colony of *S. chlorolepis* should however be maintained, given the existing genetic structure and the low genetic diversity within each colony, in order to assess whether genetic restoration measures might be necessary.

Keywords: Introgression, phenotype, endemic species, rare species, gene flow, willows, *Salix*, genetic drift, leaf hair density, landscape genomics, DArTseq

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	v
RÉSUMÉ.....	vii
ABSTRACT	viii
TABLE DES MATIÈRES	x
LISTE DES TABLEAUX.....	xii
LISTE DES FIGURES.....	xiii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	xv
CHAPITRE 1 INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1 LE LEGS DE M. L. FERNALD	1
1.2 CARACTÉRISTIQUES GÉOMORPHOLOGIQUES ET FLORISTIQUES DU MONT ALBERT	3
1.3 PROBLÉMATIQUE DU PROJET	7
1.4 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE.....	11
1.5 SURVOL MÉTHODOLOGIQUE	12
CHAPITRE 2 RÉSOUDRE UNE ÉNIGME CENTENAIRE : INTÉGRITÉ GÉNÉTIQUE DE L'ENDÉMIQUE RARE <i>SALIX CHLOROLEPIS</i> FACE À L'INTROGRESSION AVEC <i>S. BRACHYCARPA</i>	13
2.1 RÉSUMÉ.....	14
2.2 INTRODUCTION.....	15
2.3 MATÉRIEL ET MÉTHODE	18
2.3.1 Secteur d'étude et identification morphologique.....	18
2.3.2 Plan d'échantillonnage.....	19
2.3.3 Analyse du phénotype.....	22
2.3.4 Extraction d'ADN et génotypage.....	23

2.3.5	Structure et diversité génétique	24
2.3.6	Associations multilocus avec l'environnement et le phénotype (T _{NORD} , T _{SUD} et grille)	25
2.3.7	Associations génotype-phénotype et analyses de loci aberrants	27
2.4	RÉSULTATS	30
2.4.1	Données génomiques, diversité et structure génétique.....	30
2.4.2	Associations génotype-phénotype-environnement.....	33
2.4.3	Signal de sélection génomique	36
2.5	DISCUSSION	40
2.5.1	Structure et diversité génétique de <i>S. chlorolepis</i>	40
2.5.2	Hybridation introgressive et flux de gènes	42
2.5.3	Pilosité foliaire et loci sous sélection	42
2.6	CONCLUSION.....	45
CHAPITRE 3 TABLEAUX ET FIGURES SUPPLÉMENTAIRES		47
3.1	TABLEAUX SUPPLÉMENTAIRES	47
3.2	FIGURES SUPPLÉMENTAIRES	49
CONCLUSION GÉNÉRALE		53
1.	PRINCIPAUX RÉSULTATS OBTENUS	53
2.	LIMITES DE L'ÉTUDE ET PERSPECTIVES FUTURES DE RECHERCHE.....	55
ANNEXE I.....		58
DÉTAILS DU PAS D'ÉCHANTILLONNAGE.....		58
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		60

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Traits phénotypiques distinctifs entre <i>Salix chlorolepis</i> et <i>S. brachycarpa</i> établis par Argus (1965) et repris par Coursol (2020).....	9
Tableau 2. Informations sur les jeux de données utilisés pour les analyses. n_{total} et n_{loci} représentent le nombre d'individus et de loci total retenus suite au processus de filtration. K correspond au nombre de groupes génétiques retenus suivant l'analyse SNMF.....	20
Tableau 3. Diversité et différenciation génétiques des six colonies de <i>Salix chlorolepis</i> et de <i>S. brachycarpa</i> au mont Albert, Canada.....	32
Tableau 4. Propriétés des modèles de dissimilarité généralisés (GDM) et importance relative des variables phénotypiques et environnementales.....	34
Tableau 5. Les neuf loci hautement validés, identifiés à au moins trois reprises sur un à deux transects et qui expriment rarement un phénotype au-delà d'un indice de pilosité foliaire de 20 % pour l'allèle mineur. Pour chaque SNP, les approches diagnostiques sont indiquées par T _{NORD} et/ou T _{SUD} selon le transect où le SNP a été identifié.....	37
Tableau S1. Valeurs des corrélations (r) obtenues avec les tests de Mantel partiels entre les différentes matrices de distances phénotypiques, environnementales et génétiques (en conditionnant pour l'effet de la distance géographique). Les valeurs en gras sont significatives et les valeurs de p sont entre parenthèses.....	47
Tableau S2. Propriétés des modèles de dissimilarité généralisés (GDM) et importance relative des variables phénotypiques, environnementales et géographiques.....	48

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Jonction entre la roche sédimentaire (à gauche) et la péridotite serpentinisée (à droite) qui est soulignée par un contraste marqué de la végétation.4
- Figure 2. Îlots d’affleurements de serpentine au nord et au sud de la région des Appalaches (Rajakaruna et al., 2009). La flèche rouge indique la localisation du mont Albert.6
- Figure 3. Occurrences des individus *S. chlorolepis* recensés sur le mont Albert (Coursol, 2020)8
- Figure 4. (Page précédente) Sites d’échantillonnage au mont Albert, Canada et structure génétique de *Salix chlorolepis* et *S. brachycarpa* obtenu à l’aide de SNMF. (a) Les diagrammes en pointes de tartes indiquent la proportion d’appartenance génétique à chaque groupe ($K_{colonies} = 4$) pour six colonies de *S. chlorolepis*. (b) Individus échantillonnés sur les transects (cercles) et la grille orthogonale (triangles) teintés d’un gradient de coloration RVB. La proportion des trois couleurs fusionnées représente le degré d’appartenance aux trois groupes génétiques ($K_{transects \& \text{ grille}} = 3$). (c) Grossissement du pas d’échantillonnage et des gradients de coloration RVB dans les transects Nord et Sud.22
- Figure 5. Images brutes (haut) converties en matrices de pixels noirs et blancs (bas) pour trois phénotypes de densités de poils foliaires ainsi que leurs proportions de pixels blancs associés.23
- Figure 6. Variation des coefficients d’ascendance (Q) obtenus séparément pour les transects T_{NORD} et T_{SUD} à l’aide de SNMF ($K = 2$) en fonction de la distance par rapport du centre de la colonie de *Salix chlorolepis*. La flèche indique la limite de la zone de sympatrie (145 m). $Q = 0$: *Salix chlorolepis* et $Q = 1$: *S. brachycarpa*.35
- Figure 7. Régressions segmentées de la variation de la pilosité foliaire en fonction du coefficient d’ascendance (Q) obtenu séparément pour les transects T_{NORD} et T_{SUD} à l’aide de SNMF ($K = 2$). La flèche indique le seuil maximal de pilosité foliaire atteint par les individus ayant un $Q \leq 0,5$ (20 %). $Q = 0$: *Salix chlorolepis* et $Q = 1$: *S. brachycarpa*.36
- Figure 8. Loci potentiellement sous sélection identifiés à l’aide de quatre méthodes de génomique des populations (OUTFLANK, LFMM, pRDA, PCADAPT)

pour les transects T_{NORD} et T_{SUD}. Haut : Les SNPs identifiés par une à quatre méthodes. Les triangles indiquent les neuf SNPs hautement validés qui expriment rarement un phénotype au-delà de 20% de pilosité foliaire pour l'allèle mineur. Bas : Diagrammes de Venn du nombre de loci identifiés par les quatre méthodes..... 38

Figure 9. Pilosité foliaire observée selon le génotype homozygote de l'allèle majeur (0), hétérozygote (1), homozygote de l'allèle mineur (2) pour neuf SNPs hautement validés, identifiés à au moins trois reprises sur un à deux transects et qui expriment rarement un phénotype au-delà de 20% de pilosité foliaire pour l'allèle mineur. Les triangles bourgognes identifient les individus de *Salix chlorolepis* ($Q \leq 0,1$), les cercles turquoises indiquent les hybrides introgressés ($0,1 < Q < 0,9$) et les losanges jaunes représentent *S. brachycarpa* ($Q \geq 0,9$). Les différentes lettres indiquent une pilosité foliaire significativement différente entre les génotypes. 39

Figure S1. *Salix chlorolepis* au mont Albert, Canada 49

Figure S2. *Salix brachycarpa* au mont Albert, Canada..... 49

Figure S3. Méthode d'échantillonnage de *Salix chlorolepis*, *S. brachycarpa* et leurs hybrides présumés avec détermination du pas d'échantillonnage systématique de *S. brachycarpa* selon les trois zones traversées le long de deux transects étudiés au mont Albert, Canada. 50

Figure S4 Résultats des analyses SNMF ($K = 2$ à $K = 5$) pour six colonies de *Salix chlorolepis* au mont Albert, Canada. Chaque barre représente la proportion d'assignation génétique de chaque individu ($n = 51$) à chacun des K groupes..... 51

LISTE DES ABRÉVIATIONS

CN	Colonie Nord
CS	Colonie Sud
T_{NORD}	Transect Nord
T_{SUD}	Transect Sud
<i>F_{ST}</i>	Indice de fixation
<i>F_{IS}</i>	Indice de consanguinité
Ar	Richesse allélique
<i>H_E</i>	Hétérozygotie attendue
<i>H_O</i>	Hétérozygotie obtenue
GDM	Modèles généralisés de dissimilarité
<i>Q</i>	Coefficients d'ascendance

CHAPITRE 1

INTRODUCTION GÉNÉRALE

1.1 LE LEGS DE M. L. FERNALD

Suite à une série d'expéditions menées par l'université de Harvard sur le massif gaspésien au début du 20^e siècle, Merritt Lyndon Fernald publia en 1925 son mémorable ouvrage « Plant Persistence in Unglaciated Areas of Boreal America » faisant état d'une diversité floristique exceptionnelle dans la région (Fernald, 1925). En effet, il y découvre des éléments endémiques, des espèces disjointes de la Cordillère américaine ainsi que des plantes d'affinité arctique-alpine absentes dans les habitats des hauts sommets de la Nouvelle-Angleterre (Fernald, 1925). Pour les géologues canadiens du début du 20^e siècle, l'absence de marques d'érosion glaciaire telles que des surfaces striées, cannelées ou lissées était suffisante pour proposer que le paysage alpin gaspésien avait été exempt de glace lors du dernier maximum glaciaire (Alcock, 1926; Coleman, 1922). En accord avec cette proposition et pour tenter d'expliquer l'origine de cette diversité floristique étonnement singulière, Fernald suggéra que la flore confinée sur les hauts sommets gaspésiens était bien plus ancienne que celle retrouvée dans la région des maritimes ou de la Nouvelle-Angleterre (Fernald, 1925). Il proposa que lors de la dernière période de glaciation, la région eût été dépourvue de glace, exerçant ainsi le rôle de refuge glaciaire pour une flore qui y aurait persisté (Fernald, 1925). Pourtant, la controverse accompagne cette théorie depuis presque ses débuts, alors que plusieurs botanistes la remettent fermement en question (Scoggan, 1950; Wynne-Edward, 1937).

Leur interprétation écarte l'éventualité des nunataks en soulignant unanimement la proposition de Wynne-Edward (1937), selon laquelle la flore d'Amérique du Nord d'affinité cordillérienne présentait jadis une répartition jointive qui allait être scindée en un groupe

oriental et un groupe occidental puis forcée vers le sud avec l'avancement de la glaciation du Wisconsinien. Le retrait des glaces aurait subséquemment permis la recolonisation des habitats propices alors que la disjonction des aires de répartition s'expliquerait par un processus d'expansion inachevé et par des barrières écologiques liées notamment aux propriétés chimiques des sols (Wynne-Edward, 1937). Bien qu'un consensus reste à ce jour difficile quant à l'histoire glaciaire complexe de la Gaspésie et à la nature de son recouvrement durant le dernier maximum glaciaire, l'hypothèse des sommets libres de glace a également été réfutée par plusieurs études récentes de géographie du Quaternaire (Dalton et al., 2020; Héту & Gray, 1985, 2000; Jetté & Richard, 1992; Olejczyk & Gray, 2007; Scoggan, 1950). Les cirques glaciaires émoussés ainsi que la présence de champs de roches moutonnées notamment à la surface des plus hauts plateaux comme le mont Albert signale explicitement le passage d'un glacier de type régional ou d'Islandsis (Alcock, 1935, 1944; Flint et al., 1942; Héту & Gray, 1985). Des datations d'horizons pédologiques au ^{14}C prises sur le mont Jacques-Cartier faisaient également état de matière organique vieille d'à peine 5000 ans (Payette & Boudreau, 1984). Outre les désaccords quant aux origines de la biodiversité singulière de la péninsule gaspésienne, il n'en demeure pas moins que le taux d'endémisme de la région est exceptionnel et que les sommets gaspésiens représentent un lieu de choix pour le développement des connaissances dans le domaine de la biogéographie (McMullin et Dorin, 2016; Sirois et al., 1988). Bien que la théorie des nunataks en Gaspésie soit maintenant réfutée, Fernald a laissé un incontestable héritage de connaissances sur la flore régionale et pavé la voie de la recherche en botanique dans les Chic-Chocs.

1.2 CARACTÉRISTIQUES GÉOMORPHOLOGIQUES ET FLORISTIQUES DU MONT ALBERT

Situé à l'extrémité orientale des Chic-Chocs, le mont Albert arbore une morphologie singulière qui se démarque du reste du paysage. Ses sommets nord et sud dressés, respectivement à 1066 m et 1123 m, sont les plus hauts après celui du mont Jacques-Cartier (1268 m) (Beaudin, 1977; Richard et Labelle, 1989). Contrairement aux monts environnants à sommets arrondis, le mont Albert se présente sous forme d'un plateau fortement érodé dont le pourtour rappelle un fer à cheval. Composé principalement de péridotite serpentinisée, un matériau généralement hostile pour une flore généraliste, le cœur du mont Albert se distingue géologiquement du reste du massif des Chic-Chocs, qui est composé principalement de roches méta-sédimentaires (Beaudin, 1977; Jones et Willey, 2018). Le plateau comprend des marges aux talus abrupts et friables qui peuvent aller jusqu'à 40° d'inclinaison sur certains versants (Beaudin, 1977). Le sol du mont Albert offre un habitat majoritairement instable à la végétation alors que son substrat montre des signes de cryoturbation et de nombreuses coulées en pente douce et éboulements en pentes plus aiguës.

Le réseau hydrographique radial du mont Albert se déverse dans plusieurs rivières environnantes, dont la rivière Sainte-Anne depuis le ruisseau du diable (Beaudin, 1977). La région est d'ailleurs connue pour ses précipitations abondantes tout au long de l'année (jusqu'à 1500 mm cumulés) dont 40% tombent sous forme de neige dans les hauts sommets des Chic-Chocs (Fortin et Héту, 2009). Un couvert de neige d'environ 200 jours est d'ailleurs présent annuellement dans les hauts sommets gaspésiens (Germain et Voiculescu, 2007). En effet, d'importantes combes à neige se créent en hiver dans les cirques glaciaires du mont Albert, notamment en raison des vents dominants qui soufflent vers le nord (Lemieux, 2007).



Figure 1. Jonction entre la roche sédimentaire (à gauche) et la péridotite serpentinisée (à droite) qui est soulignée par un contraste marqué de la végétation.

L'étage alpin du mont Albert est composé d'une flore de toundra composée de *krummholz* d'épinettes (*Picea glauca*, *Picea mariana*), de mélèzes laricin (*Larix laricina*) et de sapins baumier (*Abies balsamea*) disséminés sur le plateau (Richard et Labelle, 1989; Sirois et al., 1988). Sur le sommet nord on peut observer une ligne franche entre la pessière noire à sapin baumier et la végétation de toundra (Figure 1) qui correspond au contact géologique entre l'amphibolite, une roche métamorphique qui compose le versant Nord, et la serpentine, sur le plateau du mont Albert, (Beaudin, 1977; Jones et Willey, 2018). Fernald fut le premier de son époque à explorer les liens entre la flore et la composition des sols (Fernald, 1907). La serpentine du mont Albert est une roche ultramafique dérivée de la croûte océanique riche en métaux lourds avec une teneur élevée en magnésium et faible en calcium, ce qui rend les sols qui en sont dérivés hostiles pour la plupart de plantes (Brady et al., 2005; Jones et Willey, 2018; Sirois et al., 1988). Brady et al. (2005) fait d'ailleurs état de plusieurs traits communs qui caractérisent les sols serpentins, soit une faible productivité des sols,

un fort taux d'endémisme ainsi qu'un type de végétation qui diffère avec ceux des sols environnants (Brady et al., 2005). Le mont Albert s'accorde en tous points à cette description avec sa flore sommitale composée à 21% d'espèces arctiques-alpines et de plusieurs espèces à affinité serpentinicole, introuvables ailleurs dans la région comme *Arenaria marcescens*, *Adiantum pedatum* var. *aleuticum* ou *Polystichum mohrioides* (Fernald, 1907; Richard et Labelle, 1989; Sirois et al., 1988).

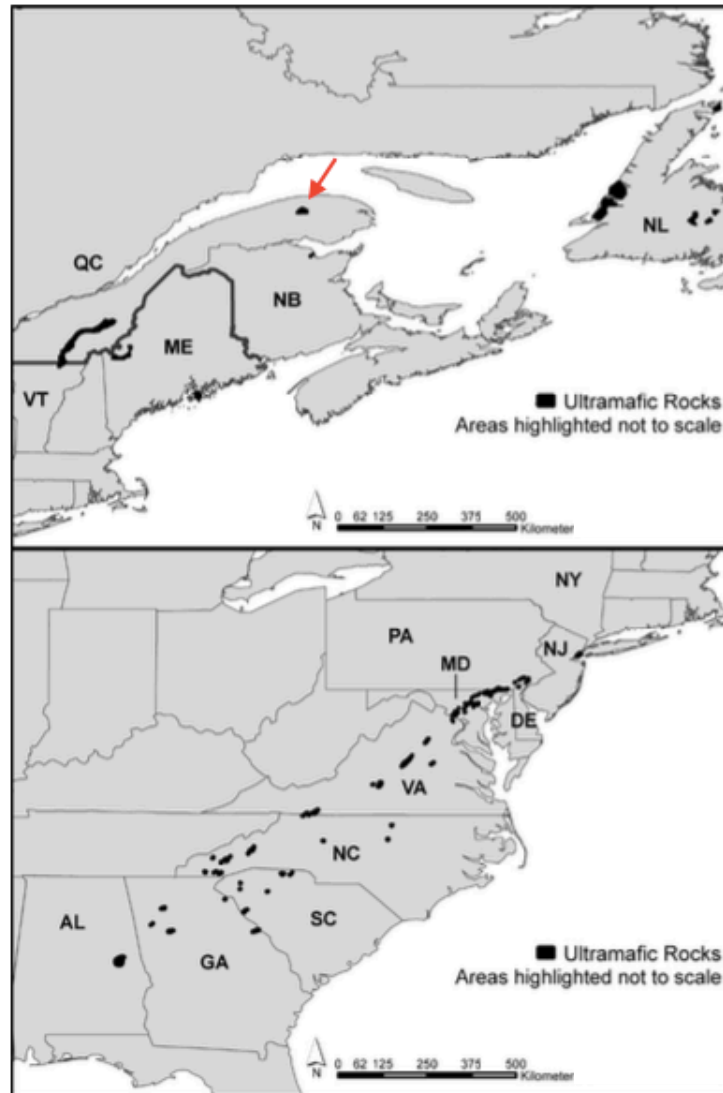


Figure 2. Îlots d’affleurements de serpentine au nord et au sud de la région des Appalaches (Rajakaruna et al., 2009). La flèche rouge indique la localisation du mont Albert.

Les affleurements de serpentine peuvent être écologiquement comparés à des écosystèmes insulaires (Figure 2), soit des « parcelles d’un habitat singulier entourées d’une matrice environnementale contrastée qui limite la dispersion des individus » (Brown, 1978). En effet, la périphérie des affleurements de serpentine est marquée par un gradient environnemental abrupt. Ces habitats isolés entravent la prolifération d’un grand nombre

d'espèces généralistes environnantes (Cartwright, 2019). Ceci permet aux espèces pré-adaptées, telles les plantes spécialistes, de coloniser ces habitats à distribution hétérogène dans le paysage (Cartwright, 2019). Les plantes endémiques et à distribution disjointe, qui se distinguent notamment par leurs tolérances à des conditions environnementales stressantes spécifiques à leur habitat, sont alors susceptibles de coloniser les écosystèmes serpentinisés. Les affleurements de serpentine présentent un intérêt scientifique particulier par leurs remarquables flores endémiques et leur niveau d'isolement écologique (Rajakaruna et al., 2009). Par exemple, le mont Albert abrite la verge d'or à bractées vertes (*Solidago simplex* var. *chlorolepis*) et le saule à bractées vertes (*Salix chlorolepis*), deux espèces de plantes rares aux statuts menacés et endémiques stricts à cet endroit sur Terre (Rajakaruna et al., 2009).

1.3 PROBLÉMATIQUE DU PROJET

Le saule à bractées vertes (*S. chlorolepis*) est une espèce arbustive endémique du mont Albert, strictement restreinte aux hauts des versants de l'habitat floristique de la Serpentine-du-Mont-Albert (Coursol, 2020; MELCCFP, 1995). Son habitat serait d'ailleurs fortement lié à l'altitude puisqu'on le retrouve uniquement entre des élévations de 825 à 1050 m, avec une majorité d'occurrences d'individus entre 925 à 950 m (Coursol, 2006, 2020). À ce jour, le saule à bractées vertes n'a été répertorié nulle part ailleurs (Argus, 2010b). Sa distribution globale se limite donc à quelques hauts de versants de cirques glaciaires du mont Albert, enclavés entre le haut des combes à neige et le dessus du plateau. L'espèce se classe parmi les plus menacées à l'échelle provinciale et canadienne avec un statut mondial « G1 » attribué par NatureServe (2020), qui la qualifie de « gravement en péril ». Avec un effectif estimé à environ 300 individus, le comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC) lui attribue le statut d'espèce « menacée » depuis 2006 (Figure 3; Coursol, 2006, 2020).

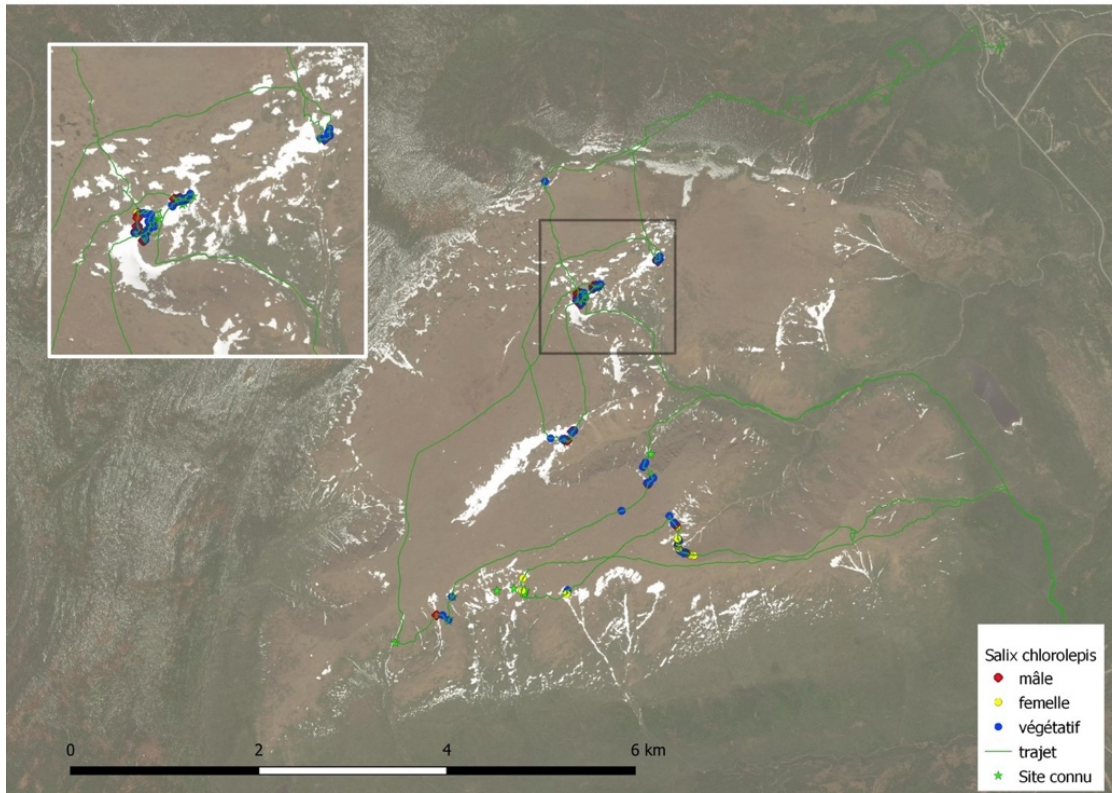


Figure 3. Occurrences des individus *S. chlorolepis* recensés sur le mont Albert (Coursol, 2020)

Quelques années après sa découverte par Fernald (1905), Schneider (1918) a avancé que le saule à bractées vertes pouvait s'hybrider avec le saule à fruit court (*Salix brachycarpa*), une espèce plus commune qui coexiste en sympatrie avec *S. chlorolepis* au mont Albert. *S. brachycarpa* est une espèce à distribution transcontinentale boréale qui s'étend jusqu'au Nouveau-Mexique, É-U. Or, ce saule n'a été répertorié sur nul autre sommet avoisinant le mont Albert. *S. brachycarpa* partage l'habitat de *S. chlorolepis* aux altitudes comprises entre 825 à 1050 m, tout en étant distribué assez uniformément sur le plateau et ses versants (Argus, 2010a). Par ailleurs, *S. chlorolepis* existe exclusivement en présence de *S. brachycarpa*. Argus (1965) proposa plusieurs décennies après sa découverte que *S. chlorolepis* serait une variante glabre de *S. brachycarpa*, puisque le feuillage mature du saule à bractées vertes est entièrement dépourvu de poils alors que le saule à fruit court arbore un phénotype

généralement pubescent, bien qu'à un degré variable (Tableau 1). Ces différentes propositions, émises sur la base de traits morphologiques intermédiaires aux espèces parentes présumées, n'ont jamais été testées par des analyses génétiques. Mon projet de recherche se penche alors sur une hypothèse présentée il y a plus d'une centaine d'années. Nous souhaitons éclaircir les questions entourant l'éventualité de l'hybridation et de l'introgession entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* pour clarifier la dynamique des échanges génétiques potentiels entre ces deux espèces. Une connaissance des caractéristiques génotypiques de ces deux taxa est également primordiale à la définition d'un statut de conservation juste et éclairé du saule à bractées vertes, alors que plusieurs instances se questionnent toujours sur l'éventualité d'une hybridation introgressive et ses conséquences potentielles sur cette espèce endémique rare (Coursol, 2020; NatureServe, 2020).

Tableau 1. Traits phénotypiques distinctifs entre *Salix chlorolepis* et *S. brachycarpa* établis par Argus (1965) et repris par Coursol (2020)

Saule à bractées vertes <i>Salix chlorolepis</i>	Saule à fruits courts <i>Salix brachycarpa</i>
rameaux et bourgeons glabres ou pruneux	rameaux et bourgeons glabres ou pruneux
feuilles glabres, sauf une frange marginale chez certains individus	feuilles densément velues
chaton comportant peu de fleurs	chaton comportant beaucoup de fleurs
bractées glabres et pruneuses (avec une floraison en surface)	bractées non pruneuses et velues
ovaires et capsules glabres	ovaires et capsules densément pubescents
style long et non divisé	style court et divisé
filet pubescent	filet glabre

Facilité par le séquençage de nouvelle génération, qui donne maintenant accès à l'analyse de dizaines de milliers de marqueurs génétiques, la génomique du paysage permet d'identifier des variations génétiques fortement liées à des facteurs environnementaux ou phénotypiques

(Rellstab et al., 2015). Cette discipline récente est employée pour répondre à un grand nombre de problématiques reliées notamment à l'éco-évolution dans une variété considérable d'écosystèmes terrestres et marins (Capblancq & Forester, 2021; Rellstab et al., 2015). Le recours aux outils moléculaires ainsi qu'aux analyses génomiques avancées telles que les tests d'association génotype-environnement permet dorénavant de déceler des signaux de sélection naturelle par l'entremise de l'identification de loci potentiellement adaptatifs (Vaux et al., 2023). Dans le cadre de notre étude, nous avons fait appel à des tests d'association génotype-phénotype afin d'éclaircir les bases génétiques de l'expression de la pilosité foliaire qui constitue le trait morphologique au centre de la problématique de l'hybridation entre les *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa*. Au même titre que les tests d'association génotype-environnement, les tests d'association entre le génotype et les traits phénotypiques signalent les loci présumément adaptatifs, dont les fréquences alléliques sont corrélées à un ou des phénotypes variables (ici la pilosité foliaire) entre les individus (Coop et al., 2010; Frichot et al., 2013; Rellstab et al., 2015). Il existe également les balayages génomiques de la structure génétique aberrante, qui détectent les loci qui se démarquent par leur fréquence allélique extrême par rapport au bruit de fond génomique, ce qui peut être interprété comme un indicateur de sélection spécifique (sélection liée à l'espèce, Luu et al., 2017; Whitlock et Lotterhos, 2015). Plusieurs facteurs peuvent faire varier la performance des méthodes employées en génomique du paysage et puisque toutes ces analyses impliquent plusieurs tests d'hypothèses, elles sont sensibles aux erreurs de type I (faux positifs). Ce type de biais est évité par l'utilisation de plusieurs tests d'association aux postulats statistiques différents (Rellstab et al., 2015; Vaux et al., 2023). Ainsi, les résultats obtenus peuvent être comparés et les loci identifiés par les différentes méthodes peuvent être retenus ou non selon leur récurrence et être employés pour des analyses supplémentaires. Cette approche sous forme de consensus permet l'indentification potentielle d'un signal génomique de sélection à la fois pour les facteurs environnementaux ou un certain phénotype que pour la spéciation.

1.4 OBJECTIFS ET HYPOTHÈSES DE RECHERCHE

Le projet de recherche proposé vise à déterminer la structure génétique de *S. chlorolepis* sur la totalité de son aire de répartition (marges du plateau du mont Albert) tout en élucidant les potentielles interactions génétiques avec *S. brachycarpa*, une espèce transcontinentale communément distribuée dans les étages alpins et subalpins du mont Albert. Plus spécifiquement, l'étude permettra de (i) définir les patrons de la diversité et de la différenciation génétique entre les colonies de *S. chlorolepis* à l'échelle de l'entièreté de son aire de répartition, (ii) valider la présence d'hybridation introgressive entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* tel que suggéré par Schneider (1918) à l'aide de critères moléculaires, de paramètres géographiques et environnementaux et du critère phénotypique de la pilosité foliaire, (iii) et enfin d'évaluer la part de variabilité de la pilosité foliaire attribuable à des facteurs environnementaux par rapport à la part attribuable aux génotypes de *S. brachycarpa*.

Il y a deux scénarios possibles quant à la structure génétique de la population de *S. chlorolepis* à l'échelle de son aire de répartition. On peut d'une part s'attendre à ce que la variabilité intraspécifique soit la même au sein de chaque colonie locale de *S. chlorolepis*, phénomène attribuable au flux de gènes par la dispersion du pollen ou de graines (Alsos et al., 2007). D'autre part, il pourrait exister différents groupements génétiques distincts, structurés selon les différents cirques glaciaires. On peut également envisager deux scénarios quant à la dynamique d'hybridation entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa*. Il est possible qu'il n'y ait pas d'hybridation introgressive entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa*, ce qui suggérerait qu'il n'y a pas de mélange génétique entre les deux taxa. Par ailleurs, il apparaît plus probable qu'il existe un mélange génétique dans la zone de sympatrie qui témoignerait de la présence d'introgression (Argus, 2010b; Coursol, 2006, 2020). Nous posons l'hypothèse que l'hybridation explique une part appréciable de la variation de pilosité foliaire des *S. brachycarpa* qui vivent à proximité des sous-populations de *S. chlorolepis*, mais que cette variabilité est aussi déterminée par certains facteurs écologiques pour les *S. brachycarpa* dispersés ailleurs dans l'habitat floristique de la Serpentine-du-Mont-Albert.

1.5 SURVOL MÉTHODOLOGIQUE

Pour vérifier ces hypothèses, nous avons fait appel à la technologie de réduction de la complexité DArTseq (Sansaloni et al., 2011) et effectué des analyses pour comprendre les variations du génome à l'échelle du paysage, des associations phénotypes-génotypes puis incorporé une dimension spatiale à ces dernières. Pour déterminer le nombre de lignées ancestrales présentes dans les différents cirques glaciaires, nous avons procédé à l'analyse de la structure génétique de six colonies de *S. chlorolepis*. Afin de répondre à la question de l'hybridation, nous avons focalisé nos efforts d'échantillonnage et analyses génétiques sur deux colonies de *S. chlorolepis* où les effectifs étaient plus importants et facilement accessibles. Une analyse à échelle fine du portrait génétique des deux espèces a été effectuée et transposée spatialement pour visualiser l'étendue du flux de gènes au-delà des limites des colonies de *S. chlorolepis*. Nous avons procédé à des tests d'association entre le génotype et le phénotype de pilosité foliaire des individus pour vérifier s'il y avait présence de corrélations significatives entre ces deux variables d'importance. Plus précisément, nous avons utilisé quatre méthodes qui reposaient sur des postulats statistiques différents et opté pour une approche par consensus permettant de vérifier si certains loci étaient à la fois sous sélection divergente entre les espèces et pour un phénotype diagnostique. Pour tester si l'environnement avait une part d'influence sur la pilosité foliaire, plusieurs variables environnementales ont été mesurées sur des individus identifiés comme *S. brachycarpa*, dispersés sur la surface du plateau du mont Albert à l'écart des colonies de *S. chlorolepis*. Des tests d'associations entre ces variables environnementales, la génomique des individus et leurs phénotypes ont alors été effectués pour tenter de partitionner les origines de la variabilité de pilosité foliaire chez *S. brachycarpa*.

CHAPITRE 2
RÉSOUTRE UNE ÉNIGME CENTENAIRE : INTÉGRITÉ GÉNÉTIQUE
DE L'ENDÉMIQUE RARE *SALIX CHLOROLEPIS* FACE À
L'INTROGRESSION AVEC *S. BRACHYCARPA*

2.1 RÉSUMÉ

Lorsque M. L. Fernald découvrit l'endémique stricte *Salix chlorolepis* sur les hauts versants du mont Albert en 1905, il suggéra que cette espèce s'hybridait avec *S. brachycarpa*, une espèce boréale transcontinentale plus commune. Cette hypothèse, proposée sur la base d'observations de traits morphologiques intermédiaires aux espèces parentes présumées, n'a jamais été corroborée par des analyses moléculaires. Compte tenu du statut menacé à l'échelle canadienne de *S. chlorolepis*, il est impératif de savoir s'il y a hybridation introgressive entre les deux espèces pour la gestion de sa conservation. À l'aide d'une approche de génotypage-par-séquençage, notre étude vise à caractériser la variation génétique de *S. chlorolepis* sur la totalité de son aire de répartition, établir s'il y a effectivement introgression entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* et évaluer si le trait variable de la pilosité foliaire en est indicateur. Les résultats dévoilent un portrait génétique hétérogène de l'espèce endémique. Bien qu'une ascendance génétique commune persiste, les colonies de *S. chlorolepis* présentent quatre lignées génétiques, structurées en fonction de leur distribution dans les différents cirques glaciaires. *S. chlorolepis* montre également un faible niveau de diversité génétique ainsi que de la consanguinité sur la totalité de son aire de répartition. Nos analyses indiquent que des mélanges génétiques sont en cours, corroborant l'existence d'hybridation introgressive entre les deux taxa. Ce flux de gènes interspécifique est circonscrit à la zone de sympatrie entre les deux espèces, soit au sein des colonies de *S. chlorolepis*. Un sous-ensemble de 9 loci ont été identifiés comme étant à la fois fortement reliés au trait phénotypique de pilosité foliaire et à la sélection divergente entre les taxa. Malgré l'hybridation introgressive en cours, des allèles à ces loci 'imperméables' assurent un maintien de la barrière interspécifique ainsi qu'une différenciation phénotypique nette entre les deux espèces. Étant donné cette hétérogénéité génomique, le risque d'assimilation de l'espèce rare par l'espèce plus commune pourrait demeurer limité malgré la présence d'introgression. Un suivi de la trajectoire démographique de chaque colonie de *S. chlorolepis* devrait toutefois être maintenu, afin d'évaluer si des mesures de restauration génétique pourraient être nécessaires, étant donné la structure génétique existante et la faible diversité génétique au sein de chaque colonie.

2.2 INTRODUCTION

On reconnaît désormais le rôle prépondérant de l'hybridation dans les processus évolutifs et la spéciation des plantes (Arnold, 2015; Goulet et al., 2017; Mallet, 2005, 2007). L'accessibilité croissante des outils moléculaires et le développement d'analyses génomiques avancées permettent l'étude de l'hybridation naturelle à l'échelle du génome complet et offrent un cadre d'analyse sans précédent pour comprendre l'origine des espèces et le maintien de leur intégrité (Seehausen et al., 2014). Au moins trois scénarios peuvent survenir dans un contexte d'hybridation potentielle entre des espèces (Abbott et al., 2013): (1) une résistance croissante du génome à l'introgession et un renforcement de l'isolement reproductif interspécifique (Wu, 2001), (2) une divergence adaptative entre les populations par la spéciation hybride homoploïde (Buerkle et al., 2000; Gross & Rieseberg, 2005; Mavárez et al., 2006) ou allopolyploïde (Mallet, 2007) et (3) une balance entre la sélection et l'hybridation, où seulement certaines régions du génome sont soumises à l'introgession (i.e. hétérogénéité génomique; De La Torre et al., 2014; de Lafontaine et al., 2015; Fitzpatrick, 2013; Harrison & Larson, 2014, 2016; Payseur, 2010; Pfennig, 2021; Wu, 2001). En effet, la transmission de certaines variations génétiques lors de l'hybridation introgressive peut mener à un transfert de gènes adaptatifs déjà filtrés par la sélection naturelle (i.e. introgression adaptative, Abbott et al., 2013; Shaw et Mullen, 2011). À l'inverse, certains allèles peu ou pas soumis à l'introgession contribuent à maintenir la différence interspécifique en accumulant des divergences génétiques qui peuvent ultimement se refléter dans la détermination de phénotypes distincts (Shaw et Mullen, 2011). Autrefois, l'identification des espèces végétales était uniquement réalisée sur la base de critères morphologiques, limitant ainsi l'habileté à distinguer de manière formelle les hybrides et les formes introgressives de leurs espèces parentales (Hardig et al., 2000; Rieseberg et al., 1993). Nous avons à présent l'opportunité d'étudier ces caractères phénotypiques discriminants à l'échelle moléculaire (Bersweden et al., 2021; Pérez-Pedraza et al., 2021; Pinheiro et al., 2016) et même d'identifier des gènes impliqués dans la spéciation (Orr et al., 2004; Rieseberg & Blackman, 2010).

L'évolution des saules (*Salix*, Salicaceae) est étroitement liée à l'hybridation et l'introgession (Brunsfield et al., 1992; Fogelqvist et al., 2015; Marinček et al., 2023; Wagner et al., 2021). Ce vaste genre (de 400 à 500 espèces) occupe majoritairement l'hémisphère Nord dont 113 espèces de *Salix* en Amérique du Nord (Argus, 2010c). Les structures florales réduites, la reproduction dioïque et la forte variabilité morphologique des saules, exacerbée par l'hybridation, l'introgession et la polyploïdie, rendent leur identification particulièrement laborieuse (Argus, 2006; Azuma et al., 2000) et génère de nombreux contentieux. Il existe plusieurs formes de barrières à la reproduction interspécifique au sein du genre tel que l'asynchronisme des périodes de reproduction (Mosseler & Papadopol, 1989), l'incompatibilité des structures reproductives mâles et femelles (Mosseler, 1989) et la non-viabilité des hybrides de première génération (Argus, 2006). Malgré cela, quelques 120 taxa issus de l'hybridation ont été reconnus en Amérique du Nord (Argus, 2006). Il en résulte une délimitation floue entre plusieurs espèces de saules (Wagner et al., 2021).

Le saule à bractées vertes (*Salix chlorolepis* Fernald) est un arbuste endémique strictement confiné à l'habitat serpentineux du mont Albert dans l'est du Canada. Découvert au début du 20^e siècle par Merritt Lyndon Fernald (Fernald, 1905), *S. chlorolepis* colonise essentiellement les combes à neige entre 900-1000 m d'altitude (Coursol, 2006, 2020). Il existe exclusivement en sympatrie avec le saule à fruits courts (*Salix brachycarpa* Nutt.), une espèce boréale américaine transcontinentale (Argus, 2010a; Schneider, 1918) répartie de manière ubiquiste dans les étages alpin et subalpin du mont Albert. *S. brachycarpa* arbore une pubescence foliaire qui va de forte à modérée alors que *S. chlorolepis* est complètement glabre. Peu après la découverte de *S. chlorolepis* (Fernald, 1905), Schneider (1918) avança que l'espèce pouvait s'hybrider avec *S. brachycarpa*. Le présumé hybride qui en résulte (*Salix* × *gaspeensis* Schneider) ressemble à *S. brachycarpa*, mais porte un feuillage partiellement pubescent et des ovaires glabres à pruineux (Argus, 1965). Cette hypothèse d'hybridation, proposée sur la base de traits morphologiques intermédiaires entre les espèces

parentales présumées, n'a jamais été évaluée par des analyses moléculaires. La population totale de *S. chlorolepis* est estimée à *c.* 300 individus (Coursol, 2006, 2020) et cette espèce rare est de surcroît sous-représentée à l'échelle de son aire de répartition par rapport à *S. brachycarpa*, qui est beaucoup plus commun. Cette endémique locale se classe parmi les plus menacées à l'échelle canadienne et possède un statut mondial « G1 » attribué par NatureServe (2020), qui la qualifie de « gravement en péril ». Compte tenu de sa précarité démographique, il importe de clarifier sa propension à s'hybrider avec *S. brachycarpa* et évaluer le risque que cela pose pour le maintien de son intégrité spécifique (Coursol, 2020; Environnement Canada, 2015).

Cette étude vise à caractériser la variation génétique de *S. chlorolepis* sur la totalité de son aire de répartition ainsi que les potentielles interactions génétiques avec *S. brachycarpa*. À cette fin, nous avons établi les objectifs suivants: (i) définir le patron de la diversité génétique entre les différentes colonies de *S. chlorolepis* à l'échelle de son aire de répartition, (ii) valider l'existence d'hybridation introgressive entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* tel que suggéré par Schneider (1918) à l'aide d'outils génomiques, de paramètres environnementaux et phénotypiques et enfin (iii) évaluer la part de variabilité phénotypique attribuable à des facteurs environnementaux par rapport à la part potentiellement induite par le phénomène d'hybridation. L'aire de répartition géographique de *S. chlorolepis* restreinte à 7,9 km² a permis de recueillir des informations à haute résolution spatiale sur la dynamique éco-évolutive liée au processus d'hybridation dans l'habitat hautement sélectif des sols serpentineux (Pillon et al., 2019). Dans le contexte où les phénomènes d'hybridation et d'assimilation génétique suscitent encore de nombreuses questions pour la conservation de la biodiversité (Pfennig et al., 2016; Vallejo-Marín & Hiscock, 2016), les résultats de cette étude offrent un éclairage original sur le statut génétique d'une espèce endémique rare et l'architecture génomique de son principal phénotype diagnostique.

2.3 MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.3.1 Secteur d'étude et identification morphologique

L'aire d'étude comprend le plateau sommital et les hauts-versants du mont Albert, un massif ophiolitique culminant à 1166 m d'altitude dans l'est du Canada (48,9°N, 66,2°O) qui fut englacé jusqu'au Wisconsinien supérieur il y a 10 400 ans (Richard et al., 1997). L'effectif total de *S. chlorolepis* (258 individus confirmés) est réparti en 11 colonies de 1 à 136 individus (Coursol, 2020). *S. chlorolepis* est une espèce arbustive endémique dont l'habitat est restreint aux combes à neige situées dans le haut de pentes abruptes généralement formées d'éboulis rocheux situés aux marges du plateau du mont Albert (Québec, Canada). Ce saule spécialiste des sols serpentineux, lesquels sont généralement toxiques pour les plantes généralistes (Alexander et al., 2007), débouresse tardivement au printemps suite à la fonte des importantes accumulations de neige dans son habitat. Les individus typiques de l'espèce sont décrits comme arborant une coloration de rameaux rouge brique, un feuillage vert, glabre et luisant, une bractée involucrelle verte ainsi que des ovaires glabres (Figure S1). Ils sont aussi connus pour avoir une floraison de juillet à début août (Argus, 2010b).

S. brachycarpa est une espèce à distribution boréale transcontinentale qui s'étend jusque sur le sommet du mont Albert. Bien que ce saule soit globalement et localement plus commun que *S. chlorolepis*, il n'a jamais été répertorié sur les autres sommets de la région. *S. brachycarpa* arbore une pilosité foliaire variable ce qui lui confère une allure argentée lorsque fortement pubescent (Figure S2). *S. brachycarpa* se trouve en sympatrie avec *S. chlorolepis* aux altitudes comprises entre 825 à 1050 m, tout en étant distribué assez uniformément en allopatrie sur le plateau et ses multiples versants jusqu'à de plus basses altitudes (Argus, 2010a).

Puisque la délimitation formelle des taxa et des hybrides présumés demeure incertaine *a priori*, nous avons employé une approche agnostique lors de l'échantillonnage. À des fins de clarté, les individus morphologiquement décrits plus haut comme *S. chlorolepis* seront

nommés comme tels. Nous ferons référence à *S. brachycarpa* pour tout individu portant les caractéristiques détaillées plus haut pour cette espèce. Les individus s'apparentant en tous points à *S. chlorolepis* à l'exception d'une faible pilosité située sur les ovaires et occasionnellement sur la face abaxiale des feuilles sont qualifiés d'hybrides présumés.

2.3.2 Plan d'échantillonnage

Nous avons collecté des échantillons destinés aux analyses morphologiques et génomiques sur un total de 258 individus identifiés comme *S. chlorolepis*, *S. brachycarpa* ou leurs hybrides présumés sur le mont Albert (Tableau 2). À chaque individu échantillonné, 2-3 feuilles furent récoltées à partir du 4^e nœud de l'apex des rameaux, puis séchées et conservées à plat pour l'analyse phénotypique. Aussi, jusqu'à 8 feuilles juvéniles (ou de bourgeons) par individu ont été collectées, conservées dans du silicagel et entreposées dans un congélateur à -20°C jusqu'à l'extraction d'ADN pour les analyses génomiques. Enfin, à chaque individu échantillonné, une série de données environnementales ont été recueillies incluant l'altitude, l'inclinaison et l'orientation de la pente, le pourcentage de recouvrement des strates lichénique, muscinale, herbacée et arbustive, l'épaisseur de la couche organique et la hauteur du couvert végétal.

Jusqu'à 10 individus identifiés comme *S. chlorolepis* ont été échantillonnés dans six colonies (total = 51 individus) pour l'analyse de la structure génétique de l'espèce (Tableau 2, Figure 4a). Les faibles effectifs de l'espèce justifient une collecte exhaustive totalisant moins de 10 individus de *S. chlorolepis* dans certaines colonies. Pour évaluer la présence d'hybridation introgressive entre les deux espèces, un échantillonnage dans les secteurs où *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* coexistent en sympatrie a été réalisé. La récolte s'est effectuée en ciblant les deux colonies de *S. chlorolepis* avec les effectifs les plus importants (colonie Nord [CN] et colonie Sud [CS]; Figure 4a). À partir du centre de chacune de ces deux colonies, nous avons systématiquement échantillonné le long d'un transect orienté vers le haut du plateau du mont Albert (Figure 4b, c). À chaque transect (transect Nord [T_{NORD}]

et transect Sud [T_{SUD}]), un pas d'échantillonnage régulier a été appliqué pour la collecte de 15 individus identifiés comme *S. brachycarpa* dans la zone de sympatrie, puis au-delà pour c. 30 individus additionnels dans la zone d'allopatrie où *S. brachycarpa* existe en absence de *S. chlorolepis* (Tableau 2, Figure S3, Annexe I). Un échantillonnage d'hybrides présumés ($n = c. 20$ individus/transect) a également été réalisé dans la zone de sympatrie (aucun hybride présumé n'a été répertorié en dehors de cette zone). Finalement, afin de distinguer les facteurs génétiques et écologiques associés aux variations de pilosité foliaire chez *S. brachycarpa*, nous avons échantillonné 72 individus supplémentaires répartis le plus près de 100 points d'intersection d'une grille orthogonale systématique couvrant l'entièreté du plateau (Figure 4b). Lorsqu'il y avait absence de spécimen à < 20 m du point d'intersection de la grille, aucun individu n'a été échantillonné.

Tableau 2. Informations sur les jeux de données utilisés pour les analyses. n_{total} et n_{loci} représentent le nombre d'individus et de loci total retenus suite au processus de filtration. K correspond au nombre de groupes génétiques retenus suivant l'analyse SNMF.

Jeux de données	n_{total}	n_{loci}	K	Espèces échantillonnées
Grille	72	14 109	1	<i>S. brachycarpa</i>
Transect Nord (T _{NORD})	69	13 263	2	<i>S. chlorolepis</i> ($n = 10$) <i>S. brachycarpa</i> ($n = 32$) hybrides présumés ($n = 27$)
Transect Sud (T _{SUD})	78	13 203	2	<i>S. chlorolepis</i> ($n = 10$) <i>S. brachycarpa</i> ($n = 45$) hybrides présumés ($n = 23$)
T _{NORD} + T _{SUD} + Grille	219	12 651	3	<i>S. chlorolepis</i> ($n = 20$) <i>S. brachycarpa</i> ($n = 149$) hybrides présumés ($n = 50$)
Six colonies de <i>S. chlorolepis</i>	51	14 046	4	
C1	6			<i>S. chlorolepis</i>
C2	9			<i>S. chlorolepis</i>
CS (colonie Sud)	10			<i>S. chlorolepis</i>
CN (colonie Nord)	10			<i>S. chlorolepis</i>
C5	10			<i>S. chlorolepis</i>
C6	6			<i>S. chlorolepis</i>

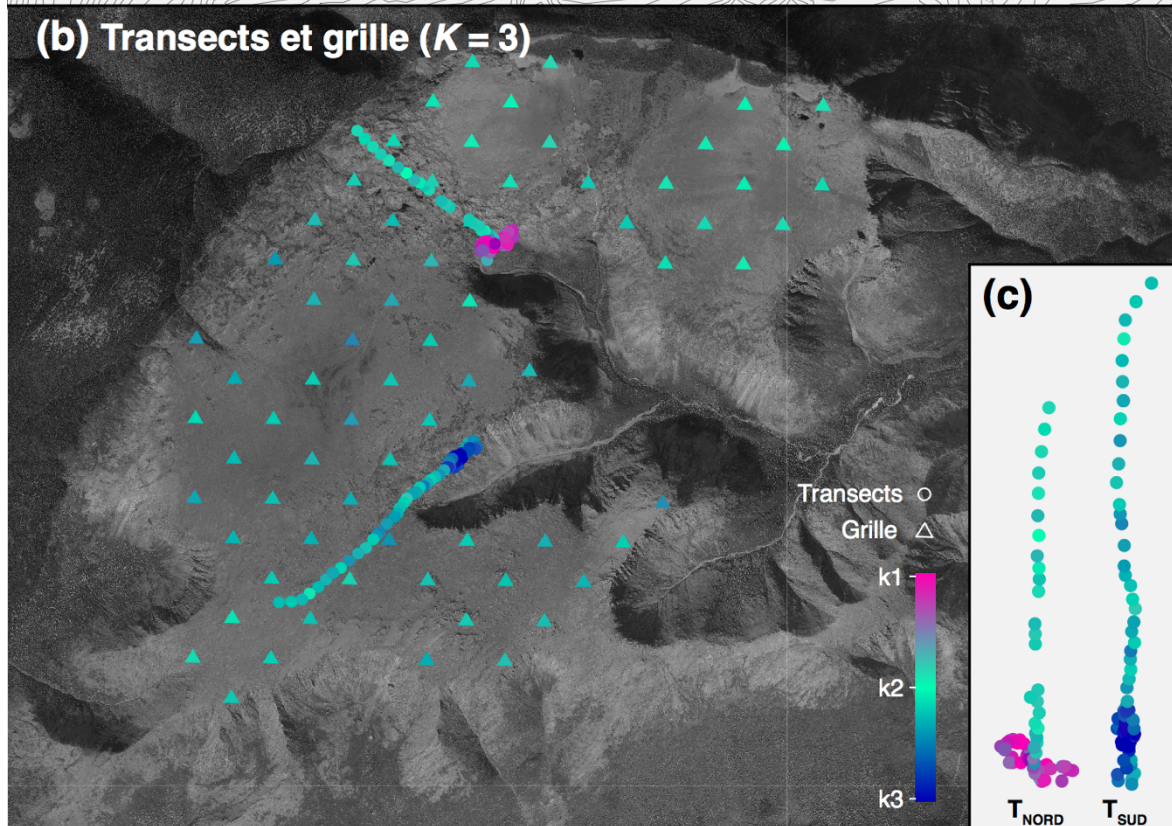
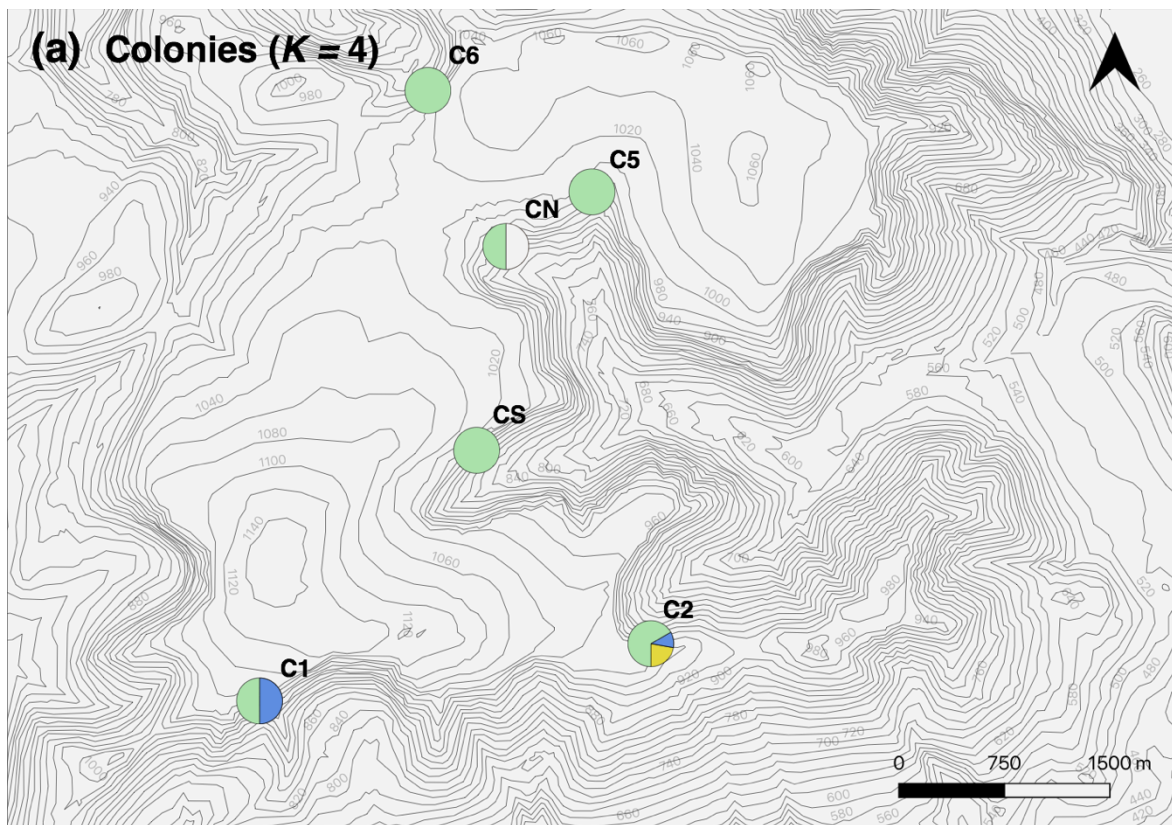


Figure 4. (Page précédente) Sites d'échantillonnage au mont Albert, Canada et structure génétique de *Salix chlorolepis* et *S. brachycarpa* obtenu à l'aide de SNMF. (a) Les diagrammes en pointes de tartes indiquent la proportion d'appartenance génétique à chaque groupe ($K_{colonies} = 4$) pour six colonies de *S. chlorolepis*. (b) Individus échantillonnés sur les transects (cercles) et la grille orthogonale (triangles) teintés d'un gradient de coloration RVB. La proportion des trois couleurs fusionnées représente le degré d'appartenance aux trois groupes génétiques ($K_{transects \& grille} = 3$). (c) Grossissement du pas d'échantillonnage et des gradients de coloration RVB dans les transects Nord et Sud.

2.3.3 Analyse du phénotype

Un indice de pilosité foliaire a été conçu à l'aide d'une méthode d'analyse d'image tirée de Nielsen et al. (2014) ajustée à notre étude. La fonction 'Threshold Color' du logiciel ImageJ version 1.53a (Schneider et al., 2012) a été employée comme outil de mesure de la pilosité foliaire. Chaque feuille, préalablement conservée à plat, a été photographiée à l'aide d'une caméra (Leica IC90 E, Wetzlar, Allemagne) intégrée à une loupe binoculaire (Leica M60, Wetzlar, Allemagne) avec un grossissement de 32×, sous un éclairage constant réglé au maximum. La face adaxiale de chaque feuille occupait la pleine largeur de l'image et la nervure principale était centrée par rapport au cadrage. Dans la fonction 'Threshold Color', nous avons sélectionné le modèle 'HSB colour' en mode 'Threshold' en utilisant les valeurs suivantes : hue 53-122, saturation 0-255, luminosité 0-255. Les images ont été converties en matrices de pixels noirs ou blancs (Figure 5). Le pourcentage de pixels blancs (pixels correspondant à du poil) par rapport au nombre total de pixels de la feuille est l'indice employé pour estimer la variabilité phénotypique de la pilosité foliaire.

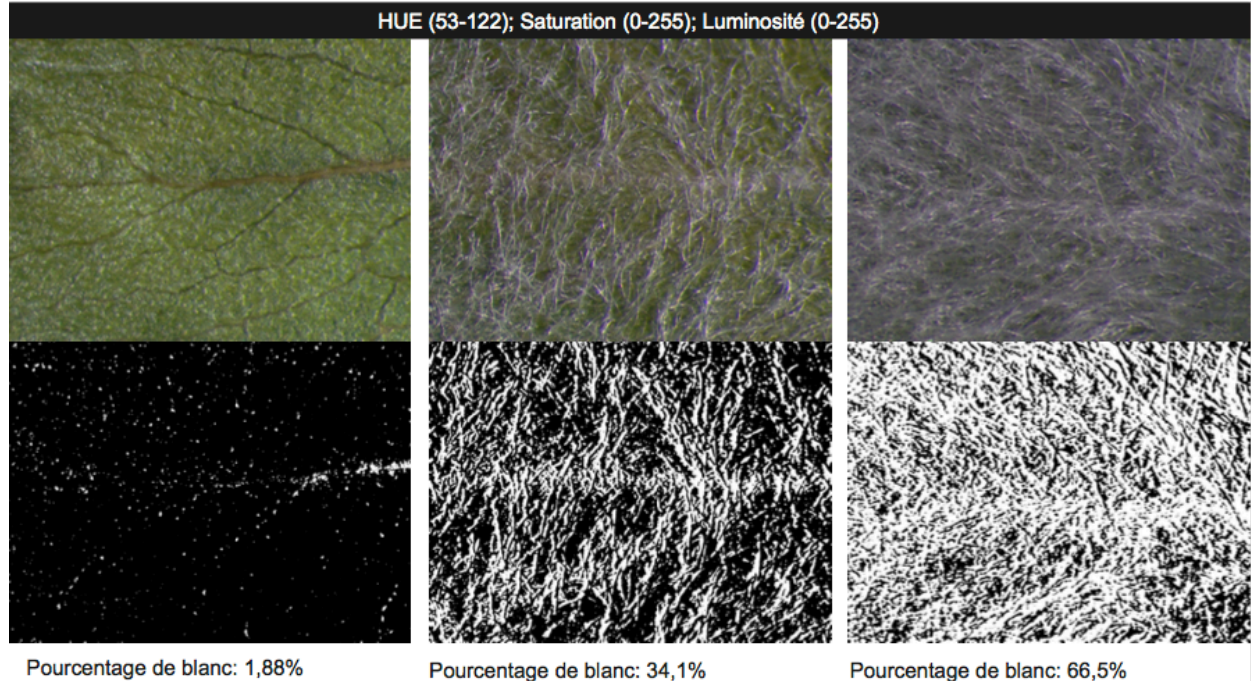


Figure 5. Images brutes (haut) converties en matrices de pixels noirs et blancs (bas) pour trois phénotypes de densités de poils foliaires ainsi que leurs proportions de pixels blancs associés.

2.3.4 Extraction d'ADN et génotypage

Les échantillons (10-12 mg) ont été immergés dans l'azote liquide puis pulvérisés à l'aide de billes de carbure de tungstène de 3 mm dans un TissueLyser II (Qiagen, Mississauga, Canada) avant l'extraction. L'ADN total a été extrait avec la trousse DNeasy 96 Plant Kit (Qiagen, Mississauga, Canada). Les concentrations d'ADN ont été quantifiées à l'aide d'un fluoromètre Qubit 4 (Invitrogen, Carlsbad, États-Unis) et d'un spectrophotomètre BioDrop μ LITE (Biochrom Ltd, Cambridge, Royaume-Uni) puis les solutions d'ADN ont été ajustées à 15-75 ng μ l⁻¹ dans un volume minimal de 35 μ l. Les échantillons dont la concentration initiale était plus faible que 15 ng μ l⁻¹ ont été concentrés par évaporation pour atteindre ce seuil minimal. Le génotypage des échantillons fut réalisé par l'approche de réduction de la complexité DArTseq au laboratoire *Diversity Arrays Technology Pty Ltd* (DArT) à l'Université de Canberra, Australie (Sansaloni et al., 2011).

Les enzymes PstI/MseI ont été sélectionnées pour la digestion des solutions d'ADN (Kilian et al., 2012). Chaque fragment d'ADN obtenu a un maximum de 69 paires de bases et la profondeur moyenne de lecture était de 10×. Les marqueurs (polymorphismes nucléotidiques; SNPs) ont été obtenus à la suite de la procédure bioinformatique brevetée par DArTseq et les étapes de séquençage à haute densité ont été effectuées à l'aide de la plateforme Illumina NovaSeq 6000.

Pour retenir les SNPs les plus informatifs, une série de filtres a été appliquée avec la librairie DARTR version 2.0.4 (Gruber et al., 2018) dans R version 4.1.2 (R Core Team, 2021). La procédure analytique de DArTseq comprend d'emblée une étape de contrôle de la qualité impliquant le re-séquençage d'environ 25% des échantillons offrant une valeur de reproductibilité pour chaque locus. Ainsi, les SNPs ayant une reproductibilité < 0,99 ont été éliminés. Nous avons également appliqué une série de filtres permettant de: (a) supprimer les SNPs monomorphes ainsi que ceux ayant une fréquence d'allèle mineur (MAF) < 1% ; (b) retenir seulement les loci avec < 10% de données manquantes; et (c) de retenir seulement les individus ayant < 5% de données manquantes. Les étapes de filtration ont été exécutées indépendamment pour chacun des jeux de données suivants : (1) les six colonies de *S. chlorolepis* aux marges du mont Albert, (2) l'ensemble des transects T_{NORD}, T_{SUD} et de la grille, (3) T_{NORD} seul, (4) T_{SUD} seul et (5) la grille seule. (Tableau 2). Un jeu de données comprenant les six colonies de *S. chlorolepis* et la grille a aussi été filtré et utilisé pour comparer la diversité génétique entre les deux espèces.

2.3.5 Structure et diversité génétique

L'indice de fixation (F_{ST}), employé pour estimer la différence génétique par paire entre les six colonies de *S. chlorolepis* et entre les colonies et *S. brachycarpa* (grille), a été calculé selon la méthode de Weir et Cockerham (1984) avec la fonction *gl.fst.pop* de la librairie DARTR. L'intervalle de confiance de 95% a été estimé à l'aide de 1000 répliqués de type « *bootstrap* ». Pour chaque colonie et la grille, la richesse allélique (A_r), l'indice de

consanguinité (F_{IS}) et les indices de diversité génétique (hétérozygotie observée [H_O] et hétérozygotie attendue [H_E]) ont été obtenus à l'aide de la librairie R HIERFSTAT v.0.5-11 (Goudet, 2005). L'équilibre Hardy-Weinberg a été testé avec la librairie PEGAS v.1.1 (Paradis, 2010). Pour estimer le nombre de lignées ancestrales, nous avons employé la méthode de factorisation matricielle non négative parcimonieuse (SNMF; Frichot et al., 2014) de la librairie R LEA version 3.8.0 (fonction *snmf*; Frichot et François, 2015). Les jeux de données comprenant (1) les six colonies de *S. chlorolepis*, (2) l'ensemble des transects T_{NORD} , T_{SUD} et de la grille, (3) T_{NORD} seul, (4) T_{SUD} seul et (5) la grille seule ont été analysés indépendamment. Le nombre de groupes génétiques (K) testés a été ajusté de $K = 1$ à $K = 10$ et 10 répétitions ont été appliquées pour chaque valeur de K . Le choix de la valeur de K a été établi par le critère d'entropie croisée (Frichot et al., 2014) et une inspection visuelle de la cohérence des K groupes génétiques selon leur disposition géographique. Puisque les colonies de *S. chlorolepis* CN et CS appartiennent à deux lignées distinctes (voir résultats), les transects T_{NORD} et T_{SUD} ont été analysés indépendamment (traités comme transects duplicatas) pour toutes les analyses subséquentes.

2.3.6 Associations multilocus avec l'environnement et le phénotype (T_{NORD} , T_{SUD} et grille)

Des tests de Mantel partiels ont été complétés pour T_{NORD} , T_{SUD} et la grille à l'aide de la librairie R VEGAN version 2.6-2 (Oksanen et al., 2019) afin de vérifier l'existence de corrélations entre l'environnement, la pilosité foliaire, et le génotype multilocus des individus en conditionnant pour l'effet de la distance géographique. À la suite de l'imputation de leurs données manquantes (librairie R MISSMDA; Josse et Husson, 2016), toutes les variables environnementales ont été réduites au premier axe d'une analyse en composantes principales (PC1). Les matrices de distance euclidienne de l'environnement (PC1), de pilosité foliaire et de la position géographique ont été calculées avec la fonction *dist* dans VEGAN alors que les distances génétiques ont été calculées avec la fonction *gl.dist.ind* de la librairie DARTR. L'autocorrélation spatiale présente entre les variables environnementales,

phénotypiques et génotypiques a été contrôlée et le jeu de données a été soumis à 999 permutations avant de calculer les coefficients de corrélation de Pearson et de Spearman, à des fins de comparaison.

Pour aborder individuellement l'influence de chaque variable environnementale, du phénotype et de la position géographique sur les génotypes multilocus de T_{NORD} , de T_{SUD} et de la grille, nous avons employé les modèles généralisés de dissimilarité (GDM ; Ferrier et al., 2007; Fitzpatrick et Keller, 2015). Les matrices de distance génétique calculées pour les tests de Mantel partiels ont également été utilisées pour les GDM. Les variables environnementales, la pilosité foliaire et la position géographique des individus ainsi que la variable réponse (c.-à-d. distances génétiques), ont été intégrées dans un modèle GDM à l'aide de la librairie R GDM version 1.5.0-3 (Fitzpatrick et al., 2021; Mokany et al., 2022). Deux modèles (un avec- et l'autre sans- l'effet de la position géographique) ont été testés pour chaque jeu de données avec 500 permutations. Cette procédure GDM a permis d'obtenir l'importance relative de chaque variable retenue avec sa probabilité (valeur- p), ainsi que la déviance expliquée par chaque modèle évalué.

Pour T_{NORD} et T_{SUD} , la proportion du mélange génétique appartenant à *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* a été estimée avec la valeur des coefficients d'ascendance (Q) avec $K = 2$ populations ancestrales (fonction *snmf*). À chaque transect, les coefficients d'ascendance, qui indiquent la probabilité de chaque individu d'appartenir à l'un ou l'autre des $K = 2$ groupes, ont été mis en relation avec la distance des individus par rapport au centre de la colonie de *S. chlorolepis*. Cette analyse permet d'évaluer si les individus échantillonnés *a priori* sur une base morphologique sont effectivement assignés *a posteriori* à deux groupes génétiques distincts correspondant aux deux taxa, avec des individus introgressés ayant une ascendance mélangée. Étant donné la grande variabilité de pilosité foliaire observée sur le terrain, l'indice de pilosité a également été mis en relation avec les coefficients d'ascendance. La librairie R SEGMENTED version 1.6-0 (Muggeo, 2008) a été utilisée pour modéliser cette relation afin d'en extraire le point d'inflexion ainsi que la probabilité (valeur- p) associée à chaque segment de droite.

2.3.7 Associations génotype-phénotype et analyses de loci aberrants

Pour éclaircir les bases génétiques de l'expression de la pilosité foliaire entre les deux taxa, nous avons procédé à des tests d'association génotype-phénotype à l'échelle du génome ainsi qu'à des balayages génomiques de la structure génétique aberrante pour identifier les loci potentiellement sous sélection. D'une part, les tests d'association entre le génotype et les traits phénotypiques signalent les loci présumément adaptatifs, dont les fréquences alléliques sont corrélées à un ou des phénotypes variables (ici la pilosité foliaire) entre les individus (Coop et al., 2010; Frichot et al., 2013; Rellstab et al., 2015). D'autre part, les balayages génomiques de la structure génétique aberrante détectent les loci qui se démarquent par leur fréquence allélique extrême par rapport au bruit de fond génomique, ce qui peut être interprété comme un indicateur de sélection (Luu et al., 2017; Whitlock et Lotterhos, 2015). Puisque toutes ces analyses impliquent plusieurs tests d'hypothèses, elles sont sensibles aux erreurs de type I (faux positifs). Pour pallier ce biais potentiel, plusieurs méthodes aux postulats différents ont été employées de manière complémentaire, tel que recommandé (Rellstab et al., 2015; Vaux et al., 2023). Chacune des analyses détaillées ci-après a été effectuée indépendamment sur T_{NORD} , T_{SUD} et la grille. Les approches du modèle mixte à facteur latent (LFMM, Frichot et al., 2013) ainsi que l'analyse de redondance partielle (Capblancq et Forester, 2021) ont été employées comme méthodes d'association phénotype-génotype tandis que les approches PCADAPT (Luu et al., 2017) et OUTFLANK (Whitlock et Lotterhos, 2015) ont été utilisées pour les balayages génomiques de la structure génétique aberrante.

Le modèle mixte à facteur latent (LFMM) est une approche linéaire univariée implémentée dans la fonction *lfmm2* de la librairie R LEA version 3.8.0 (Caye et al., 2019). Cette approche utilise un facteur de correction (facteur latent) généralement attribué à la structure génétique de la population, afin de corriger les potentiels effets confondants y étant associés lors de l'identification de loci sous sélection (Frichot et al., 2013, 2014; Frichot et François, 2015). Les données manquantes ont été imputées avec la fonction *impute* de la même librairie et le facteur latent de correction (K) a été extrait à l'étape d'analyse de la

structure génétique (fonction *snmf*). Les loci associés à la pilosité foliaire ont été retenus comme potentiellement sous sélection lorsque leur probabilité (valeur-*p*) était sous le seuil de 1%.

La seconde approche pour détecter des loci en association avec le phénotype est l'analyse de redondance partielle (pRDA, Forester et al., 2018). En utilisant le génome comme variable réponse et l'environnement ou le phénotype comme prédicteur, les axes contraints d'ordination de la RDA deviennent la représentation des loci qui co-varient avec l'environnement multivarié et/ou le phénotype (Capblancq & Forester, 2021; Rellstab et al., 2015). Afin d'éviter l'obtention de faux positifs dus à la structure génétique neutre des populations (Excoffier et al., 2009), une RDA partielle (pRDA) a été effectuée avec la librairie VEGAN version 2.6-2. Cette approche implique l'ajout des matrices de conditionnement de la variance constituants (1) les coordonnées géographiques ainsi que (2) les coefficients d'ascendance (*Q*) issus de l'analyse SNMF. Nous avons considéré les loci avec des scores d'écart-type ≥ 2.5 (valeur-*p* = 0,012) sur les axes sélectionnés à l'aide d'un diagramme d'éboulis (*scree plot*), comme étant significativement associés à la pilosité foliaire et potentiellement sous sélection (Forester et al., 2018).

Pour cibler les loci potentiellement sous sélection sans tenir compte du phénotype, nous avons généré des analyses en composantes principales (ACP) à l'aide de la librairie R PCADAPT version 4.3.3 (Luu et al., 2017). Cette approche multivariée prévoit que les SNPs ayant une association excessive avec la structure génétique des deux taxa analysés se qualifient comme présumément soumis à la sélection divergente. La fonction *pcadapt* a été exécutée une première fois avec un $K = 20$ et le nombre de composantes approprié a été choisi à l'aide de la règle de Cattell (Cattell, 1966) pour interpréter le diagramme d'éboulis. L'ACP a été effectuée une seconde fois avec le nombre de composantes ajusté et le taux de fausses découvertes (FDR) a été fixé à un seuil de 0,05. Les loci sous ce seuil ont été identifiés comme des marqueurs « imperméables » à l'introgession, potentiellement soumis à la sélection divergente qui maintient la différence entre les espèces en présence d'introgession.

La démarche de la librairie R OUTFLANK s'appuie sur une distribution chi-carré neutre des F_{ST} associés aux loci exempts de sélection spatiale hétérogène dans la population (Whitlock & Lotterhos, 2015). Cette approche modifiée de Lewontin et Krakauer (1973) prévoit que les loci sous sélection possèdent des F_{ST} plus élevés que l'ensemble du bruit de fond génomique en se situant aux extrémités de la distribution. Deux sous-ensembles d'individus purs pour chacune des deux espèces ont été sélectionnés indépendamment dans T_{NORD} et T_{SUD} sur la base des coefficients d'ascendance ($Q > 0,85$ comme pur *S. brachycarpa* et $Q < 0,15$ comme pur *S. chlorolepis*). OUTFLANK version 0.2 a été exécuté avec une tranche gauche et une tranche droite de 6% et 5% respectivement, et un seuil d'hétérozygotie attendue ajusté à 0,1. Pour obtenir un nombre minimal de loci potentiellement sous sélection divergente (c.-à-d. pour le maintien des différences interspécifiques en présence d'introgession), nous avons retenu 1% des loci de la distribution possédant les probabilités (valeurs- p) les plus faibles. Le niveau de différenciation interspécifique à ces loci est aberrant par rapport à la structure observée sur l'ensemble du génome.

2.4 RÉSULTATS

2.4.1 Données génomiques, diversité et structure génétique

La technologie de génotypage DArTseq a produit un jeu de données totalisant 99 736 SNPs pour les 258 individus séquencés. À la suite de l'ensemble des étapes de filtration, les jeux de données finaux incluent : les six colonies de *S. chlorolepis* (14 046 SNPs et 51 individus), T_{NORD} (13 263 SNPs et 69 individus), T_{SUD} (13 203 SNPs et 78 individus), et la grille (14 109 SNPs et 72 individus) (Tableau 2). Dans les six colonies de *S. chlorolepis*, les valeurs de richesse allélique varient entre 1,210 et 1,234, l'hétérozygotie observée (H_O) se situe entre 0,180 à 0,223, alors que l'hétérozygotie attendue (H_E) est de 0,212 à 0,235 (Tableau 3). Les colonies sont toutes à l'équilibre Hardy-Weinberg, ce qui supporte une identification adéquate des unités populationnelles sur le mont Albert. La colonie C1 (au sud-ouest du plateau) présente les valeurs de diversité génétique les plus faibles alors qu'elles sont les plus élevées à la colonie C2 (au sud-est du plateau). Les valeurs de l'indice de consanguinité (F_{IS}) sont toutes positives et significatives et se situent entre 0,041 et 0,145 tandis que les valeurs de l'indice de fixation (F_{ST}) pairés affichent des valeurs entre 0,021 et 0,067 (Tableau 3). En moyenne, les colonies C1 et CN sont les plus différenciées (valeur des F_{ST} les plus élevées) alors que les colonies C2 et CS sont les moins différenciées (F_{ST} plus faibles). Au sein de la grille, la richesse allélique de *S. brachycarpa* atteint 1,229, les valeurs de H_O et H_E sont respectivement de 0,187 et 0,229 et le F_{IS} de 0,180 est positif et significatif. Les moyennes des indices F_{ST} pairés entre *S. brachycarpa* et les colonies de *S. chlorolepis* varient entre 0,08 et 0,035 et sont donc généralement plus faibles que celles estimées entre les colonies de *S. chlorolepis*. L'ensemble de la grille n'est pas à l'équilibre Hardy-Weinberg et exhibe un déficit d'hétérozygotes. Le critère d'entropie croisée obtenu par l'analyse SNMF suggère l'existence de trois lignées génétiques ancestrales. Néanmoins, il apparaît plus juste de retenir $K = 4$ groupes étant donné sa cohérence avec la structure géographique présente au sein des colonies de *S. chlorolepis* distribuées aux marges du plateau (Figure 4a, Figure S4). Les colonies CN et C1 se démarquent du reste des colonies par la coexistence de deux

groupes génétiques distincts (vert et bleu à C1 et vert et blanc à CN; Figure 4a), ce qui est appuyé par les valeurs de F_{ST} relativement plus élevées à ces colonies. La colonie C2, qui se rapproche génétiquement de C1, se distingue des autres colonies situées plus au nord (CN, CS, C5, C6). En effet, certains individus de cette colonie sont assignés aux mêmes deux groupes que C1 (vert et bleu; Figure 4a) bien que d'autres individus soient assignés au quatrième groupe génétique (jaune, Figure 4a). Lorsque considérés tous ensemble par SNMF, les individus génotypés dans T_{NORD} , T_{SUD} et la grille se répartissent en deux groupes génétiques selon le critère d'entropie croisée. Or, le scénario à $K = 3$ est cohérent avec la structure géographique (Figure 4b) où deux des trois groupes sont strictement limités aux emplacements géographiques des colonies de *S. chlorolepis* CN et CS alors que le troisième groupe inclut les individus identifiés comme *S. brachycarpa* répartis sur l'ensemble du plateau (grille et zone allopatrique des transects). Plusieurs individus des transects, situés au sein des colonies de *S. chlorolepis*, exhibent un certain degré de mélange génétique (Figure 4b,c). Lorsqu'analysés individuellement par SNMF, T_{NORD} et T_{SUD} comprennent chacun deux lignées génétiques correspondant spatialement à la transition de *S. chlorolepis* vers *S. brachycarpa* (Tableau 2). L'analyse de la grille par SNMF indique une seule lignée génétique sur le plateau sommital (Tableau 2).

Tableau 3. Diversité et différenciation génétiques des six colonies de *Salix chlorolepis* et de *S. brachycarpa* au mont Albert, Canada.

Colonies	<i>n</i>	<i>Ar</i>	<i>H_O</i>	<i>H_E</i>	<i>F_{IS}</i>	HWE	<i>F_{ST}</i> - pairés					
							C1	C2	CS	CN	C5	C6
<i>S. chlorolepis</i>												
C1	6	1,210 ^a	0,186 ^{ab}	0,212 ^a	0,091 ^b	E	-	0,038	0,045	0,067	0,057	0,061
C2	9	1,234 ^c	0,223 ^c	0,235 ^c	0,041 ^a	E	0,038	-	0,021	0,045	0,033	0,036
CS	10	1,224 ^{cd}	0,186 ^{ab}	0,226 ^{cd}	0,145 ^c	E	0,045	0,021	-	0,035	0,025	0,028
CN	10	1,218 ^b	0,184 ^{ab}	0,220 ^b	0,130 ^{cd}	E	0,067	0,045	0,035	-	0,044	0,048
C5	10	1,218 ^{cd}	0,180 ^a	0,220 ^{bc}	0,144 ^{de}	E	0,057	0,033	0,025	0,044	-	0,036
C6	6	1,221 ^{bc}	0,188 ^b	0,224 ^{bcd}	0,116 ^c	E	0,061	0,036	0,028	0,048	0,036	-
<i>F_{ST}</i> moyens							0,054	0,034	0,031	0,048	0,039	0,042
<i>S. brachycarpa</i>	72	1,229 ^{de}	0,187 ^b	0,229 ^d	0,180 ^f	DH	0,035	0,015	0,008	0,030	0,017	0,017

Ar: Richelle allélique; *H_O*: Hétérozygotie observée; *H_E*: Hétérozygotie attendue; HWE : Équilibre Hardy-Weinberg (E : Population à l'équilibre, DH : Déficit d'hétérozygotes); *F_{IS}*: Indice de consanguinité; *F_{ST}* - pairés: matrice symétrique des *F_{ST}* pairés pour les colonies de *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa*.. Les lettres associées aux différents indices de diversités indiquent les groupements significativement différents.

2.4.2 Associations génotype-phénotype-environnement

Les tests de Mantel partiels indiquent des corrélations significatives entre la génétique et la pilosité foliaire, la pilosité et l'environnement ainsi que la génétique et l'environnement en conditionnant pour l'effet de la distance géographique, le long des transects T_{NORD} et T_{SUD} (Tableau S1). Aucune corrélation significative n'est toutefois détectée pour les *S. brachycarpa* de la grille. La déviance (c.-à-d., la variation allélique) expliquée par les GDM contrôlant l'effet de l'autocorrélation spatiale sont de 13,2% pour T_{NORD}, 9,8% pour T_{SUD} et 7,3% pour la grille (Tableau 4). À l'inverse du GDM de la grille qui n'a pas de support statistique ($P = 0,112$), les modèles des deux transects sont statistiquement significatifs ($P < 0,0001$). La pilosité foliaire représente l'indicateur le plus important dans les modèles de T_{NORD} et T_{SUD}, qui englobent la transition des colonies de *S. chlorolepis* vers *S. brachycarpa*. En comparaison, la pilosité a peu d'importance dans le GDM de la grille, qui n'inclut que des individus de *S. brachycarpa*. Les GDM qui prennent en compte les coordonnées géographiques sont tous statistiquement significatifs, ce qui corrobore l'autocorrélation spatiale détectée par les tests de Mantel (Tableau S2). Ces modèles affichent des déviations légèrement supérieures aux modèles précédents. La distance géographique et la pilosité foliaire sont des indicateurs importants dans T_{NORD} et T_{SUD} alors que les variables environnementales ont des importances relatives généralement faibles. La pilosité foliaire est l'indicateur retenu le moins important dans la grille (Tableau S2).

Tableau 4. Propriétés des modèles de dissimilarité généralisés (GDM) et importance relative des variables phénotypiques et environnementales.

	T _{NORD}	T _{SUD}	Grille
Deviance	3,239	2,126	0,909
% deviance expliquée	13,160	9,821	7,272
Valeur- <i>p</i> du modèle	<0,0001	<0,0001	0,112
	Importance	Importance	Importance
pilosité	12,215	14,911	4,396
épais. couche organique	0,680	2,312	NA
inclinaison pente	7,734	2,175	NA
orientation pente	3,551	NA	NA
recouv. lichen	0,412	2,976	5,928
recouv. mousse	0,381	0,612	10,097
recouv. herbacée	4,435	14,990	21,601
recouv. arbustes	2,453	1,635	24,793
recouv. sol nu	0,364	NA	NA
hauteur du couvert	0,751	2,184	3,963
altitude	11,392	6,930	3,736
<i>n</i> _{SNPs}	13 263	13 203	14 109
<i>n</i>	69	78	72

L'auto-corrélation spatiale a été contrôlée.

Dans les deux transects (T_{NORD} et T_{SUD}), les coefficients d'ascendance (*Q*) varient entre 0 et 1 seulement pour les individus situés à moins de 145 m du centre de la colonie de *S. chlorolepis* (Figure 6 ; T_{NORD} : Test de $F = 17,2$, $P < 0,0001$; T_{SUD} : Test de $F = 9,10$, $P < 0,0001$). Au-delà de cette distance-seuil, les valeurs de *Q* sont élevées (> 0.75) et peu variables (ce patron est dupliqué aux deux transects mais exacerbé dans T_{NORD}). La relation entre l'indice de pilosité foliaire et le coefficient d'ascendance est clairement segmentée en deux relations linéaires distinctes (Figure 7 ; T_{NORD} : Test de $F = 0,015$, $P < 0,0001$; T_{SUD} : Test de $F = 0,050$, $P < 0,0001$). La pilosité est relativement constante et faible jusqu'à un

seuil de mélange génétique entre les lignées ancestrales de $Q = 0,61$ à T_{NORD} et $Q = 0,42$ à T_{SUD} , soit une moyenne de $Q = 0,5$ ($T_{\text{NORD}} : F_{1,35} = 0,07, P = 0,79$; $T_{\text{SUD}} : F_{1,28} = 1,53; P = 0,22$). Avant ce point d'inflexion, la pilosité foliaire des individus n'excède pas 20%. Au-delà de ce seuil Q , cette dernière varie davantage et augmente linéairement avec la valeur du coefficient d'ascendance ($T_{\text{NORD}} : F_{1,28} = 12,41, P = 0,0015$; $T_{\text{SUD}} : F_{1,46} = 11,37; P = 0,0015$).

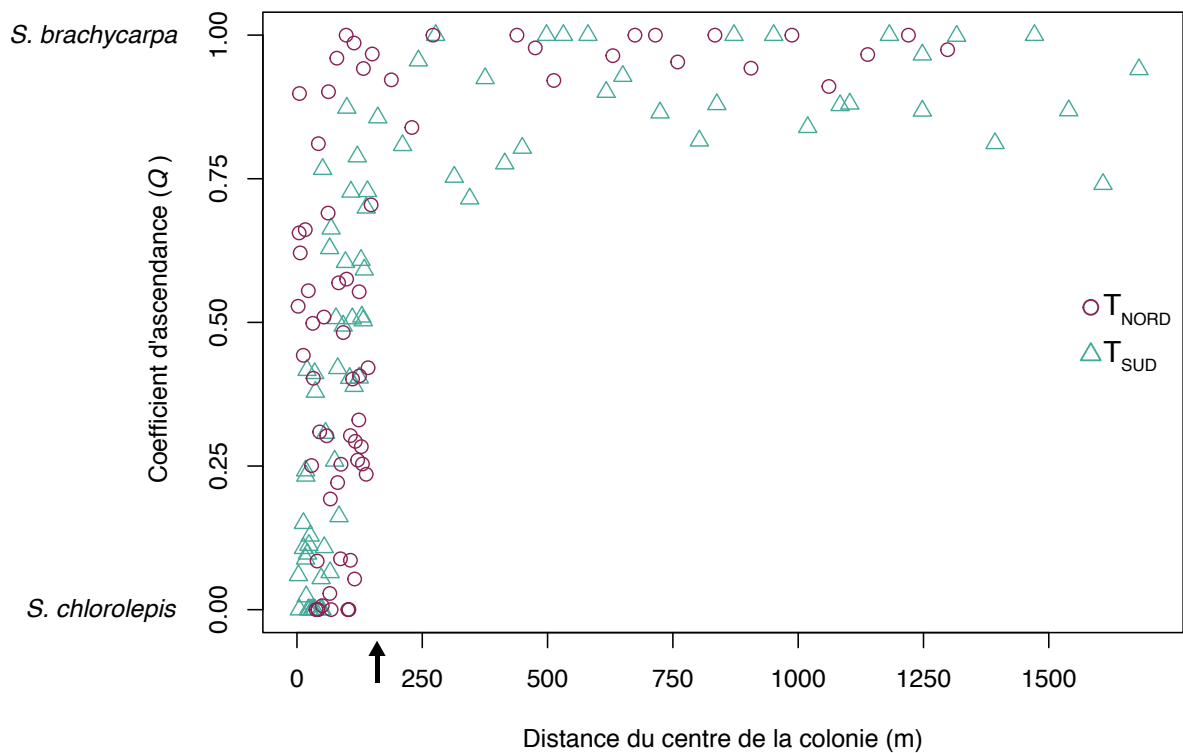


Figure 6. Variation des coefficients d'ascendance (Q) obtenus séparément pour les transects T_{NORD} et T_{SUD} à l'aide de SNMF ($K = 2$) en fonction de la distance par rapport du centre de la colonie de *Salix chlorolepis*. La flèche indique la limite de la zone de sympatrie (145 m). $Q = 0$: *Salix chlorolepis* et $Q = 1$: *S. brachycarpa*.

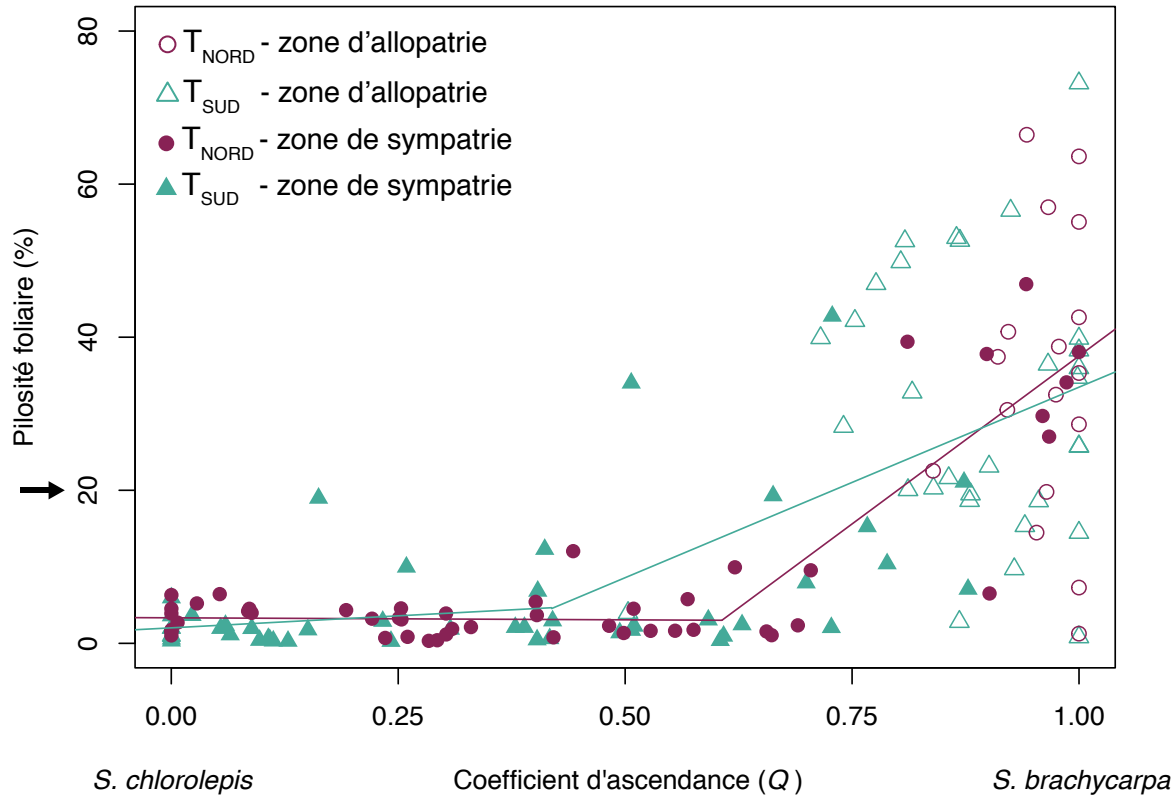


Figure 7. Régressions segmentées de la variation de la pilosité foliaire en fonction du coefficient d'ascendance (Q) obtenu séparément pour les transects T_{NORD} et T_{SUD} à l'aide de SNMF ($K = 2$). La flèche indique le seuil maximal de pilosité foliaire atteint par les individus ayant un $Q \leq 0,5$ (20 %). $Q = 0$: *Salix chlorolepis* et $Q = 1$: *S. brachycarpa*.

2.4.3 Signal de sélection génomique

Un total de 1075 loci potentiellement soumis à la sélection ont été identifiés par une ou l'autre des quatre méthodes employées, pour l'ensemble des jeux de données des transects (T_{NORD} et T_{SUD}) et de la grille. De ces loci, 107 SNPs coïncident pour un minimum de deux approches (en moyenne 2,3; $CV = 0,31$), sans que ces dernières soient systématiquement répliquées sur les deux transects ou la grille (Figure 8). L'analyse LFMM a retenu 134, 137

et 165 loci associés à la pilosité foliaire pour T_{NORD} , T_{SUD} , et la grille, respectivement. Les tests de pRDA ont identifié 34, 181 et 20 loci associés à la pilosité foliaire pour T_{NORD} , T_{SUD} et la grille, respectivement. PCADAPT a sélectionné 296, 99 et 2 loci ayant une association excessive avec la structure génétique pour T_{NORD} , T_{SUD} et la grille, respectivement. OUTFLANK a identifié 119 et 122 loci dont les F_{ST} sont aberrants par rapport à la différence observée sur l'ensemble du bruit de fond génomique entre *S. brachycarpa* et *S. chlorolepis* pour T_{NORD} et T_{SUD} , respectivement (Figure 8). Finalement, 15 SNPs ont été identifiés à au moins trois reprises sur un à deux transects et neuf d'entre eux expriment rarement un phénotype au-delà d'un indice de pilosité foliaire de 20% pour l'allèle mineur (Figures 8 et 9; Tableau 5). En revanche, les individus homozygotes de l'autre allèle peuvent exprimer tout l'éventail des phénotypes de pilosité observés.

Tableau 5. Les neuf loci hautement validés, identifiés à au moins trois reprises sur un à deux transects et qui expriment rarement un phénotype au-delà d'un indice de pilosité foliaire de 20 % pour l'allèle mineur. Pour chaque SNP, les approches diagnostiques sont indiquées par T_{NORD} et/ou T_{SUD} selon le transect où le SNP a été identifié.

loci	LFMM	pRDA	PCADAPT	OUTFLANK
62676131-35-C/T	T_{SUD} T_{NORD}	T_{NORD}	T_{NORD}	T_{SUD} T_{NORD}
14574545-20-T/A	T_{NORD}	T_{NORD}	T_{NORD}	T_{SUD} T_{NORD}
3318520-66-A/G		T_{SUD} T_{NORD}	T_{NORD}	T_{NORD}
53604372-62-A/G	T_{SUD} T_{NORD}		T_{NORD}	T_{SUD} T_{NORD}
3331702-47-T/A		T_{NORD}	T_{NORD}	T_{NORD}
14575867-19-C/T		T_{SUD}	T_{NORD}	T_{NORD}
3311384-38-C/T	T_{SUD} T_{NORD}			T_{SUD} T_{NORD}
3315228-25-A/G	T_{NORD}		T_{NORD}	T_{NORD}
14574952-30-A/G		T_{NORD}	T_{NORD}	T_{NORD}

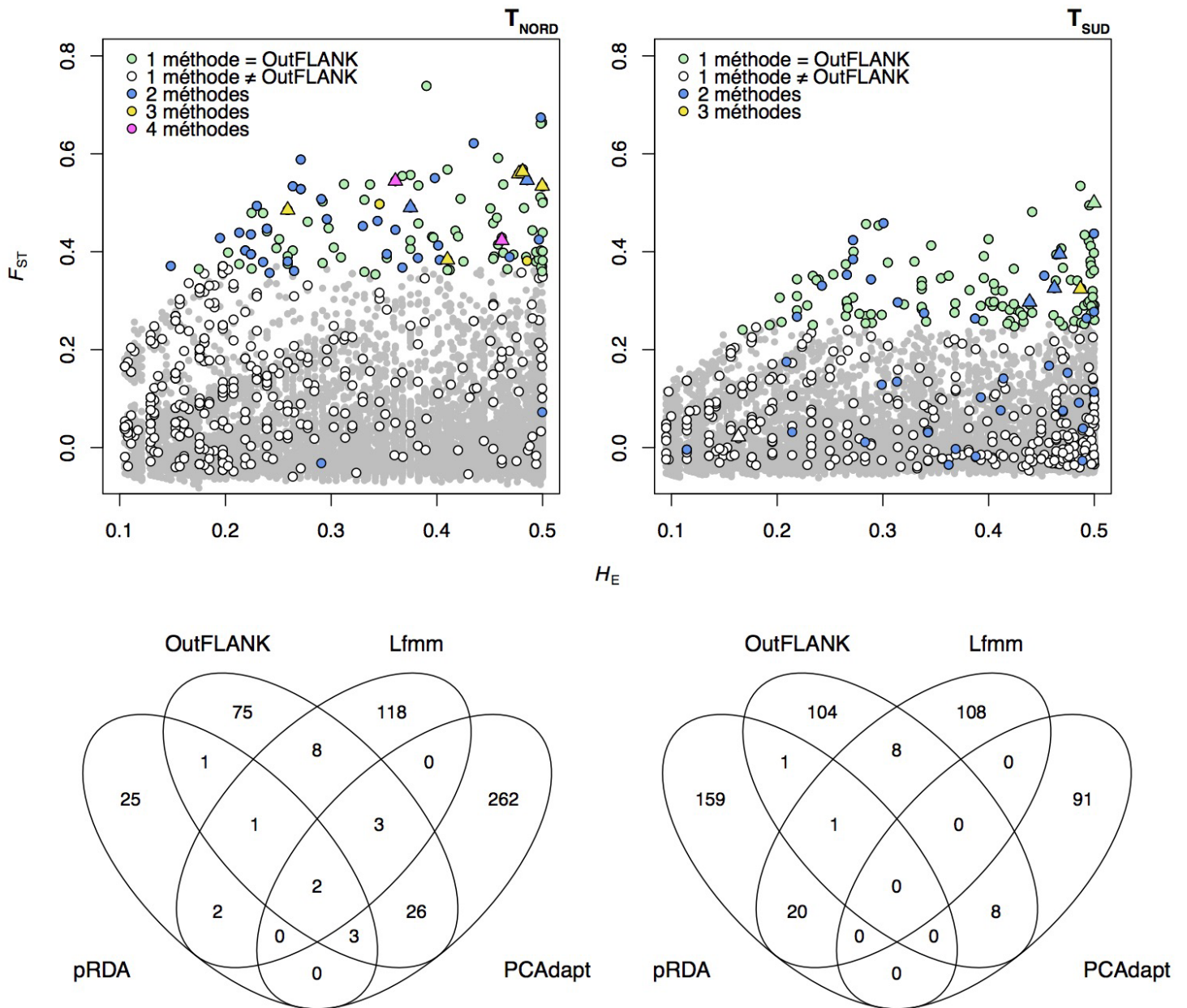


Figure 8. Loci potentiellement sous sélection identifiés à l'aide de quatre méthodes de génomique des populations (OUTFLANK, LFMM, pRDA, PCADAPT) pour les transects T_{NORD} et T_{SUD} . Haut : Les SNPs identifiés par une à quatre méthodes. Les triangles indiquent les neuf SNPs hautement validés qui expriment rarement un phénotype au-delà de 20% de pilosité foliaire pour l'allèle mineur. Bas : Diagrammes de Venn du nombre de loci identifiés par les quatre méthodes.

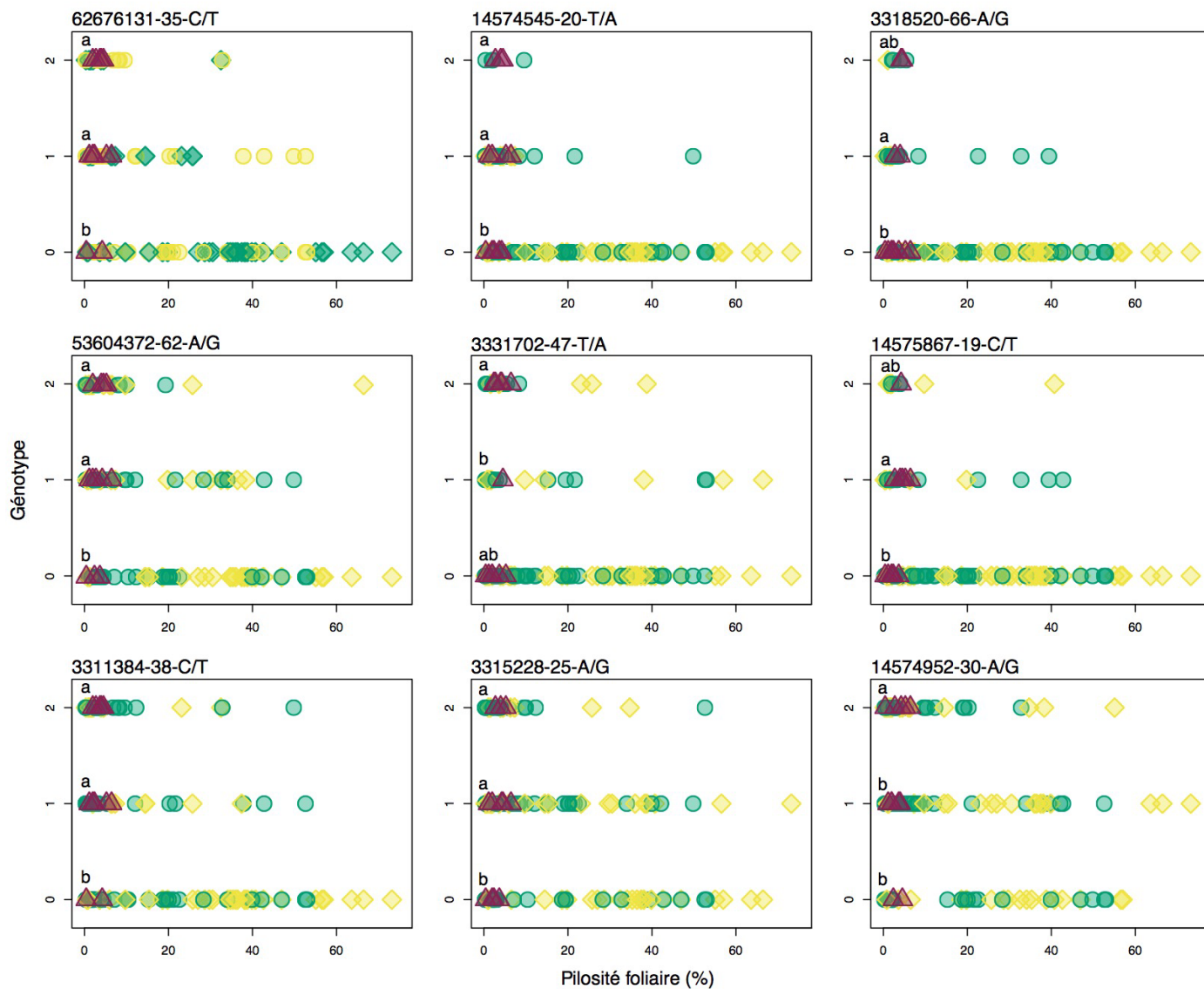


Figure 9. Pilosité foliaire observée selon le génotype homozygote de l'allèle majeur (0), hétérozygote (1), homozygote de l'allèle mineur (2) pour neuf SNPs hautement validés, identifiés à au moins trois reprises sur un à deux transects et qui expriment rarement un phénotype au-delà de 20% de pilosité foliaire pour l'allèle mineur. Les triangles bourgognes identifient les individus de *Salix chlorolepis* ($Q \leq 0,1$), les cercles turquoise indiquent les hybrides introgressés ($0,1 < Q < 0,9$) et les losanges jaunes représentent *S. brachycarpa* ($Q \geq 0,9$). Les différentes lettres indiquent une pilosité foliaire significativement différente entre les génotypes.

2.5 DISCUSSION

2.5.1 Structure et diversité génétique de *S. chlorolepis*

Un même groupe génétique est partagé, de manière variable, par toutes les colonies de *S. chlorolepis*, suggérant une ascendance génétique commune (lignée verte; Figure 4a). Ceci pourrait témoigner d'une répartition de *S. chlorolepis* autrefois moins fragmentée et couvrant plus largement les marges ainsi que le plateau du massif serpentineux du mont Albert (Finger et al., 2023). Un retrait progressif de *S. chlorolepis* vers les combes à neige aurait pu se produire en réponse aux changements climatiques à l'Holocène, tel qu'observé dans les Alpes, où plusieurs taxa ont été contraint de se déplacer suite à la modification de leurs niches écologiques (Tinner et Kalteneder, 2005; Wagner et al., 2021). Or, le maintien de la connectivité génétique peut également être assuré par un flux de gènes grâce à la dispersion du pollen et/ou des graines entre les colonies (Alsos et al., 2007; Finger et al., 2014, 2023; González-Robles et al., 2021; Jabis et al., 2011).

Bien qu'une ascendance génétique commune persiste au sein de l'espèce, il existe par ailleurs une structure génétique qui reflète sa répartition spatiale actuellement fragmentée, et ce, malgré la superficie restreinte de l'aire de répartition (7,9 km²; Coursol, 2020). Ce degré de différenciation génétique, conjugué à une faible diversité génétique (H_O entre 0,18 et 0,22), reflète vraisemblablement l'impact de la dérive génétique sur ces colonies de très faible effectif et spatialement isolées les unes des autres. L'habitat de combes à neige auquel sont inféodées les différentes colonies de *S. chlorolepis* pourrait exacerber l'isolement entre les colonies en provoquant un décalage phénologique de floraison propre à chaque colonie, selon la vitesse de fonte de la neige (Cooper et al., 2011; Kudo, 2020). Un temps de fonte prolongé pourrait constituer une barrière physique à la pollinisation par les individus en fleur des colonies voisines déjà dégagées. Par exemple, l'orientation nord-ouest des vents dominants hivernaux (Lemieux, 2007) ainsi que la faible pente de la colonie CN engendrent une accumulation de neige qui persiste plus tard au printemps que dans ses colonies voisines (CS, C5, C6). Ainsi, le maintien d'une structure génétique entre les colonies pourrait en partie être

expliqué par un asynchronisme de floraison causé par des dates de déneigement variables, à l'exemple de la colonie CN qui exhibe une différence génétique accrue (Hirao et Kudo, 2008; Shimono et al., 2009; Yamagishi et al., 2005).

Les plantes endémiques sont souvent en proie à une perte de diversité génétique dans des habitats fragmentés (Ellstrand et Elam, 1993; Hedrick et Kalinowski, 2000). *S. chlorolepis*, montre effectivement un faible niveau de diversité génétique ainsi que la présence de consanguinité sur la totalité de son aire de répartition. Un patron de diversité comparable est également rapporté pour *S. brachycarpa*. Ces résultats témoignent du caractère géographiquement isolé et du milieu écologiquement restreint dans lequel évoluent les deux espèces, propice à la dérive génétique sur l'ensemble du système étudié. De plus, l'effectif réduit (population totale de *S. chlorolepis* estimée à un maximum de *c.* 300 individus ; Coursol, 2020), la stratégie de reproduction dioïque et le sexe-ratio habituellement biaisé chez les saules (Ueno et al., 2007) contribuent à expliquer la faible de diversité génétique. Or, puisqu'une faible diversité génétique augmente considérablement les risques d'extinction (Spielman et al., 2004), la perte d'une seule colonie de *S. chlorolepis* pourrait réduire de manière substantielle la diversité génétique totale au sein de l'espèce, la rendant encore plus vulnérable. Ce risque est exacerbé par l'existence d'une structure génétique au sein de l'espèce qui implique des différences génétiques entre les colonies, mettant en lumière le caractère unique de chacune. En effet, les indices F_{ST} pairés indiquent des différences génétiques entre les colonies *S. chlorolepis* plus élevées que la différence entre les colonies et *S. brachycarpa*, ce qui met en lumière la particularité génétique de chaque colonie. Ainsi, les efforts de conservation devraient viser le maintien de l'intégrité génétique de chacune des colonies actuelles et non seulement suivre l'effectif total de l'espèce. À cette fin, un suivi de la trajectoire démographique de chaque colonie devrait être maintenu pour évaluer si des mesures de restauration génétique pourraient éventuellement devenir nécessaires (Finger et al., 2023; Frankham, 2015).

2.5.2 Hybridation introgressive et flux de gènes

Les analyses moléculaires corroborent l'hypothèse séculaire d'hybridation introgressive entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* (Schneider, 1918). La grande variabilité des coefficients d'ascendance franchement circonscrite à l'intérieur des colonies signale la présence d'un flux de gènes interspécifique au sein des zones de sympatrie entre *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* (Figure 4c ; Figure 6). Ce processus d'introgession demeure toutefois largement limité aux zones de sympatrie avec aucune évidence d'hybridation de première génération hors des colonies de *S. chlorolepis*. Néanmoins, nous n'excluons pas qu'un flux de gènes de *S. chlorolepis* puisse atteindre les individus de *S. brachycarpa* du plateau sommital, puisque les saules sont aptes à la dispersion sur de longues distances (Alsos et al., 2007), qu'ils sont pollinisés à la fois par le vent et les insectes (Peeters et Totland, 1999; Sacchi et Price, 1988; Tamura et Kudo, 2000). En effet, les valeurs des F_{ST} pairés indiquent une différence génétique généralement plus faible entre les deux espèces qu'entre les colonies de *S. chlorolepis*, ce qui témoigne d'un flux de gène interspécifique accru par rapport au flux de gène entre les colonies. Le déficit d'hétérozygotie observé sur l'ensemble de la grille pourrait donc refléter un effet de Walhund au sein de la grille, potentiellement lié à un flux de gène provenant des colonies de *S. chlorolepis*. Par exemple, les individus du plateau exhibent un léger mélange génétique (Figure 4b ; Figure 6) qui suggère un flux de gènes provenant notamment de la colonie CS. Ceci est également indiqué par des coefficients d'ascendance qui témoignent d'une légère introgession par *S. chlorolepis* ($0.75 < Q < 1$) chez certains individus dans la zone allopatrique de T_{SUD} (Figure 6).

2.5.3 Pilosité foliaire et loci sous sélection

Nous avons vérifié avec des approches multilocus (tests de Mantel partiels, GDM) si des facteurs environnementaux, indépendants de l'hybridation, pouvaient influencer

l'expression de la pilosité foliaire chez *S. brachycarpa*. Les tests de Mantel partiels indiquent la présence d'associations significatives entre le phénotype, l'environnement et la génétique uniquement lorsque le jeu de données analysé comprend *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* (T_{SUD} et T_{NORD}). Aucune association n'est toutefois détectée lorsqu'il s'agit uniquement de l'espèce *S. brachycarpa* (grille). Les associations entre le phénotype, l'environnement et la génétique apparaissent donc effectivement reliées à l'introggression, puisqu'aucune association n'est observée en considérant seulement l'espèce exhibant toute la variabilité du phénotype et de l'environnement. Pour les GDM, le phénotype de pilosité foliaire se démarque des autres prédicteurs environnementaux de manière répliquée dans les transects T_{SUD} et T_{NORD} alors que la pilosité n'a pas de support statistique chez *S. brachycarpa* de la grille. Ces résultats indiquent d'une part que l'environnement n'a pas d'incidence significative sur la pilosité de *S. brachycarpa* hors de la zone de sympatrie avec *S. chlorolepis*. D'autre part, les résultats suggèrent que la pilosité foliaire est un facteur clé associé à la variation allélique, indépendamment de l'environnement, lorsque les deux espèces sont considérées. Ces résultats justifient donc d'exclure les facteurs environnementaux de la suite des analyses afin d'examiner en détail les interactions entre la pilosité foliaire et la génomique des deux espèces, à l'échelle des loci individuels.

Plusieurs facteurs peuvent faire varier la performance des méthodes employées en génomique des populations, notamment le choix du design expérimental, les contextes biogéographique et démographique ainsi que la taille de l'échantillon (Lotterhos et Whitlock, 2015). Les limites propres à ces différentes méthodes sont bien documentées (Bragg et al., 2015; de Villemereuil et al., 2014; Rellstab et al., 2015; Strasburg et al., 2012; Vaux et al., 2023). Afin d'identifier les bases génétiques de l'expression de la pilosité foliaire et les loci potentiellement sous sélection divergente entre les deux taxa, nous avons opté pour une approche robuste par consensus où chacune des quatre méthodes employées repose sur des hypothèses statistiques indépendantes ainsi que sur son propre modèle pour contrôler la structure génétique neutre (De Mita et al., 2013; Rellstab et al., 2015), et ce, de manière dupliquée sur deux transects. Les résultats révèlent qu'il existe, chez *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa*, un signal génomique de sélection à la fois pour le phénotype pubescent

(LFMM, pRDA) et pour la spéciation (PCADAPT, OUTFLANK) pour 15 loci identifiés à au moins trois reprises sur un à deux transects. Pour 9 de ces loci, le génotype homozygote de l'allèle mineur correspond presque invariablement au caractère glabre du feuillage (< 20% de pilosité foliaire), soit le critère principal d'identification de l'espèce *S. chlorolepis* (Figure 7 et Figure 9). Ce phénotype propre à *S. chlorolepis* est également diagnostique à l'échelle multilocus. En effet, les valeurs de coefficient d'ascendance montrent que la pilosité foliaire tend à augmenter au-delà du seuil de 20% seulement lorsque les individus sont majoritairement apparentés à *S. brachycarpa* ($Q > 0,5$). De fait, les phénotypes fortement pubescents sont principalement localisés hors de la zone de sympatrie, en absence de *S. chlorolepis* (Figure 4). Sur cette base, les empreintes génétiques sont cohérentes avec les critères morphologiques établis et sont effectivement diagnostiques des deux espèces. Par ailleurs, l'existence d'individus de *S. brachycarpa* glabres en zone d'allopatric ($Q > 0,9$; pilosité foliaire < 20%) illustre le large spectre d'expression phénotypique pour ce trait chez *S. brachycarpa* (mais pas chez *S. chlorolepis*).

En outre, les mêmes neuf loci hautement validés semblent être impliqués à la fois dans l'expression (ou non) de la pilosité foliaire, le principal trait diagnostique de ces taxa, et dans le maintien de l'intégrité des espèces parentales face à l'introgession (Tableau 5, Figure 8). Malgré l'hybridation introgressive en cours, il existerait donc des allèles soumis à la sélection divergente qui assurent à la fois un niveau de préservation de la barrière interspécifique ainsi qu'une distinction phénotypique nette entre les deux espèces (Seehausen et al., 2014; Shaw et Mullen, 2011). Étant donné que les frontières interspécifiques sont généralement semi-perméables (Strasburg et al., 2012; Wu, 2001), en particulier chez les saules, cette hétérogénéité génomique pourrait donc indiquer l'existence d'une introgression différentielle au niveau génomique (Harrison et Larson, 2014, 2016). Ce mécanisme, bien documenté dans les zones hybrides, implique que certaines régions du génome introgressent plus aisément que d'autres (de Lafontaine et al., 2015; Hamilton et al., 2013; Larson et al., 2013; Mostert-O'Neill et al., 2021; Rifkin et al., 2019). Une telle hétérogénéité génomique face à l'introgession pourrait ainsi atténuer les risques d'une assimilation génétique de l'espèce

rare par l'espèce plus commune (Burgess et al., 2005; Ellstrand & Elam, 1993; Levin et al., 1996).

Or, l'introggression implique forcément l'échange interspécifique des allèles ailleurs dans le génome. *S. brachycarpa* est une espèce généraliste qui colonise un vaste spectre de conditions écologiques allant des forêts subalpines ouvertes aux habitats alpins et des milieux humides à mésiques. À l'inverse, *S. chlorolepis* est restreint aux combes à neiges des sols serpentineux du mont Albert, ce qui suggère que cette espèce a un spectre de tolérance plus étroit. Il est possible que la persistance de *S. brachycarpa* en sol serpentineux soit permise par le transfert d'adaptations héritées d'évènements d'hybridation introgressive avec *S. chlorolepis*. Ce patron de rétention d'allèles favorables à travers des mélanges génétiques interspécifiques (introgression adaptative) a été répertorié chez d'autres espèces de plantes (Arnold et al., 2012; Rieseberg et al., 2003) et a récemment été suggéré pour les saules européens *S. walsteiniana* et *S. foetida* (Marinček et al., 2023). À notre connaissance, *S. brachycarpa* n'a été répertorié en sol serpentineux qu'en présence de *S. chlorolepis*, soit uniquement au mont Albert, ce qui suggère son affinité habituellement faible pour cet environnement édaphique.

2.6 CONCLUSION

Notre étude a permis de répondre au besoin essentiel de clarifier le portrait génétique jusqu'ici inconnu d'une espèce au statut menacé au Canada. Nous avons constaté que plusieurs marqueurs génétiques résistaient au flux de gènes interspécifiques, assurant ainsi à *S. chlorolepis* une intégrité génétique malgré l'introggression. Ces mêmes loci seraient également responsables de la ségrégation du principal phénotype diagnostique entre les deux espèces. La cohérence des résultats qui combinent à la fois des données géographiques, phénotypiques, environnementales et génomiques a ainsi permis de confirmer les observations terrain effectuées il y a plus d'un siècle.

CHAPITRE 3

TABLEAUX ET FIGURES SUPPLÉMENTAIRES

3.1 TABLEAUX SUPPLÉMENTAIRES

Tableau 6. Valeurs des corrélations (r) obtenues avec les tests de Mantel partiels entre les différentes matrices de distances phénotypiques, environnementales et génétiques (en conditionnant pour l'effet de la distance géographique). Les valeurs en gras sont significatives et les valeurs de p sont entre parenthèses.

	T _{NORD}	T _{SUD}	Grille
Pilosité × PC1-env	0,327 (0,001)	0,091 (0,018)	0,031 (0,265)
	0,360 (0,001)	0,155 (0,004)	0,043 (0,261)
SNPs × Pilosité	0,151 (0,004)	0,145 (0,002)	0,029 (0,294)
	0,144 (0,001)	0,174 (0,001)	0,036 (0,289)
SNPs × PC1-env	0,127 (0,019)	0,079 (0,028)	0,083 (0,092)
	0,132 (0,005)	0,127 (0,002)	0,091 (0,091)
n_{SNPs}	13 203	13 206	14 109
n	78	69	72
			Haut : r spearman (rang)
			Bas : r pearson (valeur)

L'auto-corrélation spatiale a été contrôlée.

Tableau 7. Propriétés des modèles de dissimilarité généralisés (GDM) et importance relative des variables phénotypiques, environnementales et géographiques.

	T _{NORD}	T _{SUD}	Grille
Deviance	3,005	2,099	0,894
% deviance expliquée	19,438	10,981	8,792
valeur- <i>p</i> du modèle	<0,0001	<0,0001	0,026
	Importance	Importance	Importance
distance géographique	32,226	10,448	17,193
pilosité	7,448	7,757	3,651
épais. Couche organique	0,360	1,431	NA
pendage pente	3,140	1,116	NA
orientation pente	0,595	NA	NA
recouv. Lichen	0,459	2,449	5,262
recouv. Mousse	0,134	1,016	6,509
recouv. Herbacée	1,453	10,406	21,638
recouv. Arbustes bas	2,019	0,825	21,973
recouv. Sol nu	0,620	0,901	NA
hauteur du couvert	0,369	1,321	3,848
altitude	1,493	4,373	NA
<i>n</i> _{SNPs}	13 263	13 203	14 109
<i>n</i>	69	78	72

L'auto-corrélation spatiale n'a pas été contrôlée

3.2 FIGURES SUPPLÉMENTAIRES



Figure 10. *Salix chlorolepis* au mont Albert, Canada



Figure 11. *Salix brachycarpa* au mont Albert, Canada

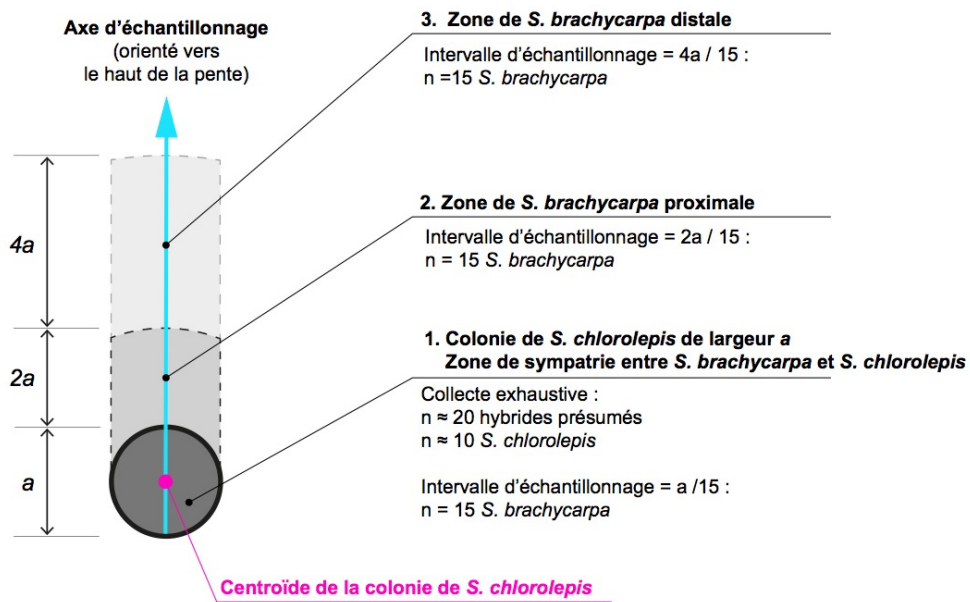


Figure 12. Méthode d'échantillonnage de *Salix chlorolepis*, *S. brachycarpa* et leurs hybrides présumés avec détermination du pas d'échantillonnage systématique de *S. brachycarpa* selon les trois zones traversées le long de deux transects étudiés au mont Albert, Canada.

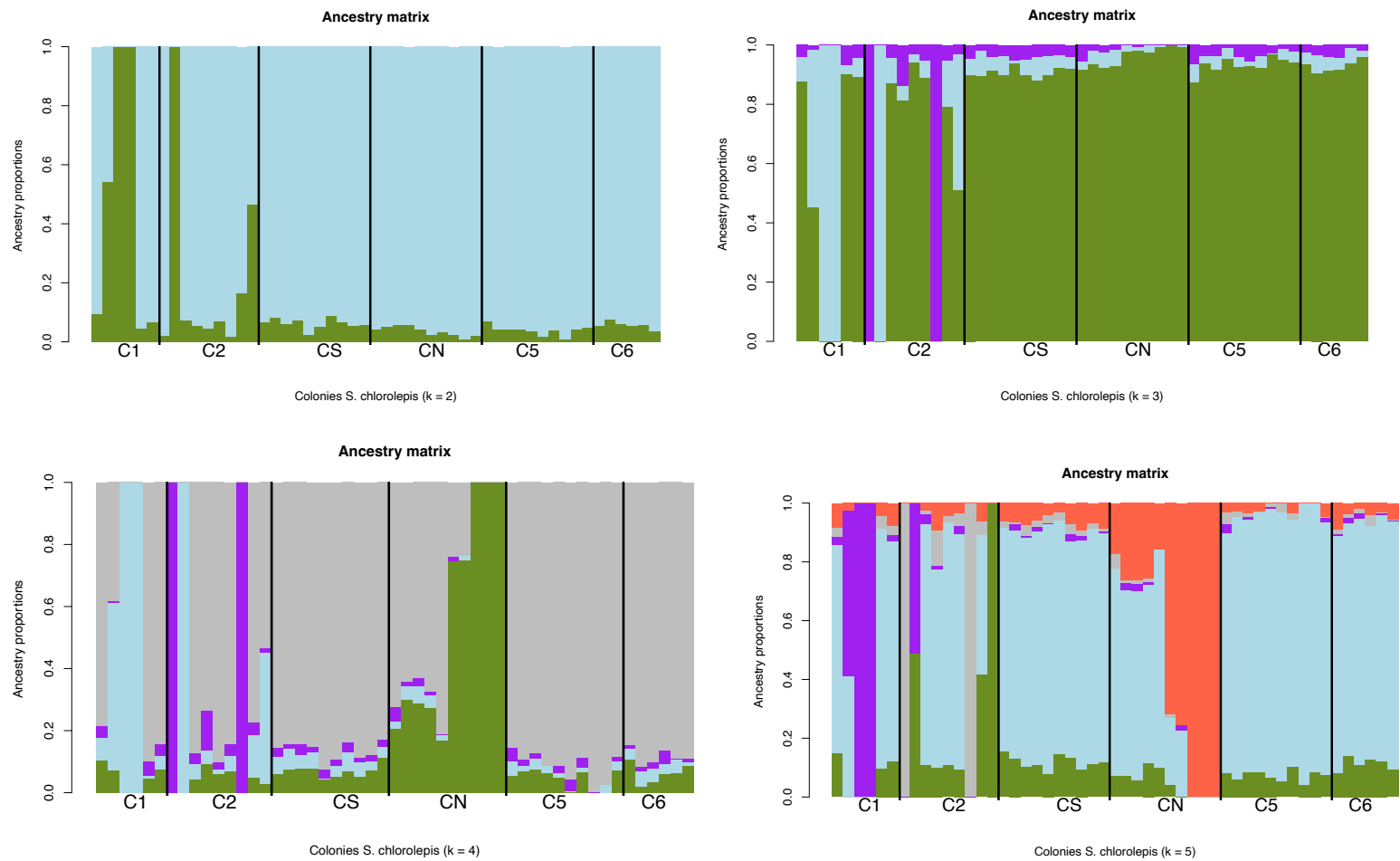


Figure 13. Résultats des analyses SNMF ($K = 2$ à $K = 5$) pour six colonies de *Salix chlorolepis* au mont Albert, Canada. Chaque barre représente la proportion d'assignation génétique de chaque individu ($n = 51$) à chacun des K groupes.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ce projet de recherche apporte un lot de connaissances considérable sur l'endémique strict *S. chlorolepis* et sur son patron d'hybridation avec *S. brachycarpa*, une espèce plus commune dans le territoire étudié. Dans le contexte global actuel où la perte de la biodiversité est un phénomène omniprésent (Pacifiçi et al., 2015; Parmesan et Yohe, 2003), une attention particulière doit être portée aux espèces rares à statut menacé. Plus de cent ans après sa découverte par Fernald sur le mont Albert, nous avons finalement pu faire la lumière sur la structure génétique de *S. chlorolepis* et sur ses interactions avec *S. brachycarpa*, une espèce à distribution transcontinentale.

1. PRINCIPAUX RÉSULTATS OBTENUS

Globalement, cette étude dévoile le portrait génétique de l'endémique *S. chlorolepis* sur la totalité de son aire de répartition. Bien qu'elles témoignent toutes d'une ascendance génétique commune, les colonies distribuées sur les différents cirques glaciaires présentent des signes de divergence. Celle-ci s'exprime par une structure génétique définie en partie selon la disposition spatiale des colonies de *S. chlorolepis*. En effet, malgré la taille réduite de l'aire de répartition de *S. chlorolepis* (7,9 km²), les résultats indiquent la présence de plusieurs lignées génétiques distinctes structurées en fonction des cirques glaciaires. Ce portrait suggère la présence de dérive génétique à l'intérieur des petites colonies isolées, possiblement liée à l'habitat particulier de combes à neige auxquelles l'espèce est étroitement inféodée (Cooper et al., 2011; Kudo, 2020). Le décalage phénologique causé par le couvert de neige persistant engendre une émergence variable entre les colonies qui pourrait occasionner un asynchronisme de floraison entre ces dernières, amplifiant ainsi l'effet d'isolement spatial des colonies (Hirao & Kudo, 2008; Shimono et al., 2009; Yamagishi et al., 2005). Étant donné que les colonies de *S. chlorolepis* sont en situation de faible diversité génétique et de consanguinité, le suivi étroit de la démographie des effectifs de chaque

colonie individuelle devrait être fermement maintenu par le COSÉPAC. Ceci permettra de détecter rapidement si une décroissance du nombre d'individus survient à l'intérieur d'une colonie et d'évaluer si des mesures de restauration génétique sont nécessaires (Finger et al., 2023; Frankham, 2015). La détection d'une structure génétique au sein de l'espèce implique qu'il est nécessaire de préserver chacune des colonies, puisqu'elles contribuent individuellement à la diversité génétique globale de l'espèce. Les efforts de conservation devraient donc se focaliser à l'échelle des colonies individuelles plutôt que de considérer l'espèce comme un ensemble homogène.

Nos travaux indiquent que des mélanges génétiques sont en cours entre l'espèce *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* témoignant clairement de la présence d'hybridation introgressive. Le flux de gènes interspécifique est circonscrit de manière franche à la zone de sympatrie, soit au sein des colonies de *S. chlorolepis*. L'hypothèse émise il y plus d'un siècle sur la base de traits morphologiques (Schneider, 1918) est maintenant corroborée et appuyée par des données moléculaires. Les tests d'associations entre le génotype et le phénotype ont pour leur part révélé un lien étroit entre ces deux variables. En effet, il existe à la fois un signal de sélection pour le phénotype utilisé pour diagnostiquer les deux taxa, et pour la sélection divergente entre les espèces. Les quatre approches indépendantes de génomique des populations ont identifié un sous-ensemble de neuf loci responsables à la fois de l'expression du phénotype (ou non) de la pilosité foliaire et du maintien de la barrière interspécifique des espèces parentales. Ceci indique d'une part que les critères morphologiques d'identification de *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa* sont effectivement diagnostiques des espèces. D'autre part, ces résultats montrent que ces loci imperméables à l'introgression sont également impliqués dans le maintien de l'intégrité génétique entre les deux saules. Ces résultats suggèrent que le risque d'assimilation de l'espèce rare par l'espèce plus nombreuse demeure relativement limité (Burgess et al., 2005; Ellstrand & Elam, 1993; Levin et al., 1996).

Nous avons également tenté de vérifier si des facteurs indépendants de l'hybridation pouvaient jouer un rôle dans la variation du phénotype de pilosité foliaire chez *S. brachycarpa*. Les analyses d'associations entre le phénotype des individus du plateau et les variables environnementales n'ont toutefois pas soulevé de lien concluant entre les variables testées. Ainsi, ces résultats nous ont permis d'exclure les variables environnementales mesurées comme facteurs d'influence dans la variabilité phénotypique chez *S. brachycarpa*.

2. LIMITES DE L'ÉTUDE ET PERSPECTIVES FUTURES DE RECHERCHE

Malgré les importantes connaissances acquises sur *S. chlorolepis*, il faut faire mention de certaines limites de nos travaux de recherche. D'abord, *S. chlorolepis* est distribué strictement au mont Albert où il n'existe exclusivement qu'en présence de *S. brachycarpa*. Il nous a donc été impossible d'obtenir le portrait génétique d'une colonie de *S. chlorolepis* en allopatrie, comme il est généralement recommandé de le faire dans les études qui traitent d'hybridation. Nous n'avons alors pas accès à l'identité génétique d'individus de l'espèce *S. Chlorolepis* où nous sommes certains de n'avoir aucune influence génétique de *S. Brachycarpa* étant donné que cette situation n'existe pas. Aucune comparaison entre d'hypothétiques colonies allopatriques et sympatriques n'a donc pu être effectuée afin de visualiser la pureté génétique des individus génotypés sur le mont Albert. Ensuite, nos recherches ne tiennent pas compte des autres espèces de saules présentes sur le mont Albert. En effet, le territoire abrite plusieurs autres espèces de *Salix* telles que *S. uva-ursi*, *S. herbacea*, *S. arctica*, *S. Hebecarpa*, *S. Discolor*, *S. Cordifolia var callicarpaea*, *S. Pedicellaris* et *S. Planifolia* (Scoggan, 1950). Il n'est pas exclu que ces dernières puissent également s'hybrider avec l'une ou l'autre des espèces à l'étude. Quelques spécimens de *S. chlorolepis* au phénotype singulier et potentiellement hybridés avec d'autres espèces que *S. brachycarpa* ont pu être observés sur le terrain. Cependant, le nombre de ces observations fut faible relativement à celles révélant une morphologie intermédiaire à *S. chlorolepis* et *S. brachycarpa*. Pour les raisons énumérées

ici, il est possible que la dynamique éco-évolutive soit plus complexe que ce que nos résultats exposent, sans toutefois invalider nos conclusions.

Pour poursuivre vers des travaux futurs concernant *S. chlorolepis*, une prochaine étape serait d'acquérir des connaissances quant à son historique démographique afin d'avoir une idée approximative de ses effectifs passés permettant de mieux comprendre les dynamiques qui ont mené à sa répartition fragmentée dans le paysage du mont Albert. À ce titre, il serait intéressant d'évaluer si les différences phénologiques entre les individus (date d'émergence, floraison) et les sexes seraient associées avec le patron de structure génétique des colonies de *S. chlorolepis*.

Il serait également pertinent de s'intéresser plus étroitement à la relation phylogénétique de *S. chlorolepis* par rapport à *S. brachycarpa* pour éclaircir l'origine des deux espèces sur le mont Albert. Ces investigations pourraient notamment aborder l'hypothèse d'Argus (1965) selon laquelle *S. chlorolepis* serait une forme glabre de *S. brachycarpa*. Ceci permettrait également de mieux comprendre l'origine de la présence de *S. brachycarpa* sur le mont Albert puisque cette espèce a généralement peu d'affinité pour les sols ultramafiques dans le reste de son aire de répartition. L'hypothèse d'Argus pourrait s'avérer juste puisque les allèles majeurs de l'ensemble des neuf loci expriment toutes les formes phénotypes de pilosités foliaires tandis que les allèles mineurs (dérivés, et souvent portés par *S. chlorolepis*) n'en expriment seulement qu'un fragment, soit le phénotype glabre.

Les conclusions générales de cette étude ainsi que l'identification de ces loci conduisent effectivement vers de nouvelles questions d'ordre évolutif. Quels sont les avantages à la sélection des neuf loci identifiés comme potentiellement adaptatifs ? Seraient-ils associés à d'autres fonctions ou mécanismes outre l'expression du phénotype glabre des feuilles ? Tel que brièvement abordé dans la discussion du chapitre 2, la possibilité d'une introgression asymétrique adaptative vers *S. brachycarpa* n'est pas exclue. Si cette hypothèse était supportée, cela démontrerait qu'une espèce rare d'effectif réduit, comme *S. chlorolepis*, pourrait exercer une influence réelle sur le maintien d'une espèce plus commune, comme *S. brachycarpa*, dans un environnement hostile et peu accessible aux plantes généralistes. Est-

ce que ces loci pourraient alors être à la fois responsables du maintien des saules sur un sol ultramafique comme la serpentine du mont Albert ? Si ces propositions s'avéraient justes, le système étudié deviendrait un cas exemple où une espèce rare et au statut menacé pourrait avoir un impact sur le fonctionnement de sa communauté.

Pour finir, il serait tout aussi pertinent de se pencher sur l'espèce plus commune *S. brachycarpa*. Bien que l'espèce soit transcontinentale, sa répartition particulière au Québec prend la forme d'une occurrence isolée au mont Albert sur sol serpentineux. Une étude transcontinentale abordant la structure génétique de l'espèce à l'échelle de l'ensemble son aire de répartition pourrait potentiellement réserver des découvertes étonnantes. Considérant le niveau d'isolement et de fragmentation des populations de *S. brachycarpa* sur son aire de répartition transcontinentale ainsi que la propension des saules à s'hybrider (Argus, 2006; Wagner et al., 2021), il est possible que ses populations soient fortement contrastées à l'échelle de l'Amérique du Nord. L'hybridation interspécifique locale entre saules pourrait également donner lieu à des divergences génétiques importantes au sein de *S. brachycarpa*, tel que rapporté chez les bouleaux arbustifs qui forment un syngaméon (Touchette, 2023). Ceci pourrait notamment donner lieu à une réinterprétation de l'espèce pour certaines populations de *S. brachycarpa*, telle que celle du mont Albert qui s'introgresse avec *S. chlorolepis*.

ANNEXE I

DÉTAILS DU PAS D'ÉCHANTILLONNAGE

À chaque transect étudié, **la zone de sympatrie correspond à l'ensemble d'une colonie de *S. chlorolepis* et le centroïde de cette zone circulaire correspond à son centre géographique (Figure S3)**. À l'intérieur de la zone de sympatrie, nous avons récolté un maximum de 8 feuilles chez ≥ 10 individus de *S. chlorolepis* et *c.* 20 hybrides présumés. Un total de 15 *S. brachycarpa* ont été échantillonnés de manière systématique dans la zone de sympatrie, le long d'un transect orienté vers le haut de la pente. Un pas d'échantillonnage de $a/15$ où a correspond à la longueur (en mètres) du diamètre de la zone de sympatrie a été établi pour la récolte. **La zone de parapatric est définie comme la zone directement adjacente à la colonie de *S. chlorolepis* mais qui n'inclut aucun *S. chlorolepis* (Figure S3)**. Cette zone de parapatric est définie par une longueur de $2a$ et une récolte de 15 *S. brachycarpa* à un intervalle d'échantillonnage de $2a/15$ y a été réalisée. Enfin, **la zone de péripatric est adjacente à la zone de parapatric et est également exempte de *S. chlorolepis* (Figure S3)**. Cette zone de péripatric est échantillonnée sur une longueur de $4a$, où 15 *S. brachycarpa* sont collectés selon un intervalle de $4a/15$.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, R., Albach, D., Ansell, S., Arntzen, J. W., Baird, S. J. E., Bierne, N., Boughman, J., Brelsford, A., Buerkle, C. A., Buggs, R., Butlin, R. K., Dieckmann, U., Eroukhmanoff, F., Grill, A., Cahan, S. H., Hermansen, J. S., Hewitt, G., Hudson, A. G., Jiggins, C., ... Zinner, D. (2013). Hybridization and speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, 26(2), 229–246. <https://doi.org/10.1111/j.1420-9101.2012.02599.x>
- Alcock, F. J. (1935). *Geology of Chaleur Bay region* (No. 183; Geological Survey of Canada Memoir, pp. 1–146). Department of Mines.
- Alcock, F. J. (1944). Further information on glaciation in Gaspé. *Transactions of the Royal Society of Canada, Serial 3*, 38(Section IV), 15–21.
- Alcock, F. J. (1926). Mount Albert Map-area, Quebec. *Department of Mines*, 1–75.
- Alexander, E. A., Coleman, R. G., Keeler-Wolf, T., & Harrison, S. P. (2007). *Serpentine geoecology of western North America*. Oxford University Press.
- Alsos, I. G., Eidesen, P. B., Ehrich, D., Skrede, I., Westergaard, K., Jacobsen, G. H., Landvik, J. Y., Taberlet, P., & Brochmann, C. (2007). Frequent Long-Distance Plant Colonization in the Changing Arctic. *Science*, 316(5831), 1606–1609. <https://doi.org/10.1126/science.1139178>
- Argus, G. W. (1965). The taxonomy of the *Salix glauca* Complex in North America. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University*, 196, 1–142. <https://doi.org/10.5962/p.336415>
- Argus, G. W. (2006). Guide to *Salix* (Willow) in the Canadian Maritime Provinces (New Brunswick, Nova Scotia, and Prince Edward Island), *Canadian Museum of Nature, Ottawa, Canada*. 49.
- Argus, G. W. (2010a). *Salix brachycarpa* Nuttall var. *Brachycarpa*. In *Flora of North America Editorial Committee* (1993+, Vol. 7, p. 87). Flora of North America North of Mexico.
- Argus, G. W. (2010b). *Salix chlorolepis* Fernald. In *Flora of North America Editorial Committee* (1993+, Vol. 7, p. 85). Flora of North America North of Mexico.

- Argus, G. W. (2010c). *Salix* Linnaeus. In *Flora of North America Editorial Committee* (1993+, Vol. 7, p. 23). Flora of North America North of Mexico.
- Arnold, M. L. (2015). *Divergence with genetic exchange*. Oxford University Press.
- Arnold, M. L., Ballerini, E. S., & Brothers, A. N. (2012). Hybrid fitness, adaptation and evolutionary diversification: Lessons learned from Louisiana Irises. *Heredity*, *108*(3), 159–166. <https://doi.org/10.1038/hdy.2011.65>
- Azuma, T., Kajita, T., Yokoyama, J., & Ohashi, H. (2000). Phylogenetic relationships of *Salix* (Salicaceae) based on *rbc L* sequence data. *American Journal of Botany*, *87*(1), 67–75. <https://doi.org/10.2307/2656686>
- Beaudin, J. (1977). *Géologie de la région du mont Albert (comté de Matane)* (Exploration Géologique, p. 37) [Rapport intermédiaire]. Gouvernement du Québec.
- Bersweden, L., Viruel, J., Schatz, B., Harland, J., Gargiulo, R., Cowan, R. S., Calevo, J., Juan, A., Clarkson, J. J., Leitch, A. R., & Fay, M. F. (2021). Microsatellites and petal morphology reveal new patterns of admixture in *Orchis* hybrid zones. *American Journal of Botany*, *108*(8), 1388–1404. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1710>
- Brady, K. U., Kruckeberg, A. R., & Bradshaw Jr., H. D. (2005). Evolutionary Ecology of Plant Adaptation to Serpentine Soils. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, *36*(1), 243–266. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.35.021103.105730>
- Bragg, J. G., Supple, M. A., Andrew, R. L., & Borevitz, J. O. (2015). Genomic variation across landscapes: Insights and applications. *New Phytologist*, *207*(4), 953–967. <https://doi.org/10.1111/nph.13410>
- Brown, J. H. (1978). The theory of insular biogeography and the distribution of boreal birds and mammals. *Great Basin Naturalist Memoirs*, *2*, 209–227.
- Brunsfeld, S. J., Soltis, D. E., & Soltis, P. S. (1992). Evolutionary Patterns and Processes in *Salix* Sect. Longifoliae: Evidence from Chloroplast DNA. *Systematic Botany*, *17*(2), 239. <https://doi.org/10.2307/2419520>
- Buerkle, C. A., Morris, R. J., Asmussen, M. A., & Rieseberg, L. H. (2000). The likelihood of homoploid hybrid speciation. *Heredity*, *84*(4), 441–451. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2000.00680.x>

- Burgess, K. S., Morgan, M., Deverno, L., & Husband, B. C. (2005). Asymmetrical introgression between two *Morus* species (*M. alba*, *M. rubra*) that differ in abundance. *Molecular Ecology*, *14*(11), 3471–3483. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02670.x>
- Capblancq, T., & Forester, B. R. (2021). Redundancy analysis: A Swiss Army Knife for landscape genomics. *Methods in Ecology and Evolution*, *12*(12), 2298–2309. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.13722>
- Cartwright, J. (2019). Ecological islands: Conserving biodiversity hotspots in a changing climate. *Frontiers in Ecology and the Environment*, *17*(6), 331–340. <https://doi.org/10.1002/fee.2058>
- Cattell, R. B. (1966). The Scree Test For The Number Of Factors. *Multivariate Behavioral Research*, *1*(2), 245–276. https://doi.org/10.1207/s15327906mbr0102_10
- Caye, K., Jumentier, B., Lepeule, J., & François, O. (2019). LFMM 2: Fast and Accurate Inference of Gene-Environment Associations in Genome-Wide Studies. *Molecular Biology and Evolution*, *36*(4), 852–860. <https://doi.org/10.1093/molbev/msz008>
- Coleman, A. P. (1922). *Physiography and glacial geology of Gaspé peninsula, Quebec*. (No. 34; Geological Survey of Canada, Museum Bulletin, p. 52).
- Coop, G., Witonsky, D., Di Rienzo, A., & Pritchard, J. K. (2010). Using Environmental Correlations to Identify Loci Underlying Local Adaptation. *Genetics*, *185*(4), 1411–1423. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.114819>
- Cooper, E. J., Dullinger, S., & Semenchuk, P. (2011). Late snowmelt delays plant development and results in lower reproductive success in the High Arctic. *Plant Science*, *180*(1), 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.09.005>
- Coursol, F. (2006). *Évaluation et rapport de situation du COSEPAC sur le saule à bractées vertes, Salix chlorolepis, au Canada*. Comité sur la situation des espèces en péril au Canada.
- Coursol, F. (2020). *Évaluation et rapport de situation du COSEPAC sur le saule à bractées vertes, Salix chlorolepis, au Canada*. COSEPAC, Comité sur la situation des espèces en péril au Canada.

- Dalton, A. S., Margold, M., Stokes, C. R., Tarasov, L., Dyke, A. S., Adams, R. S., Allard, S., Arends, H. E., Atkinson, N., Attig, J. W., Barnett, P. J., Barnett, R. L., Batterson, M., Bernatchez, P., Borns, H. W., Breckenridge, A., Briner, J. P., Brouard, E., Campbell, J. E., ... Wright, H. E. (2020). An updated radiocarbon-based ice margin chronology for the last deglaciation of the North American Ice Sheet Complex. *Quaternary Science Reviews*, 234, 106223. <https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2020.106223>
- De La Torre, A. R., Roberts, D. R., & Aitken, S. N. (2014). Genome-wide admixture and ecological niche modelling reveal the maintenance of species boundaries despite long history of interspecific gene flow. *Molecular Ecology*, 23(8), 2046–2059. <https://doi.org/10.1111/mec.12710>
- de Lafontaine, G., Prunier, J., Gérardi, S., & Bousquet, J. (2015). Tracking the progression of speciation: Variable patterns of introgression across the genome provide insights on the species delimitation between progenitor-derivative spruces (*Picea mariana* × *P. rubens*). *Molecular Ecology*, 24(20), 5229–5247. <https://doi.org/10.1111/mec.13377>
- De Mita, S., Thuillet, A.-C., Gay, L., Ahmadi, N., Manel, S., Ronfort, J., & Vigouroux, Y. (2013). Detecting selection along environmental gradients: Analysis of eight methods and their effectiveness for outbreeding and selfing populations. *Molecular Ecology*, 22(5), 1383–1399. <https://doi.org/10.1111/mec.12182>
- de Villemereuil, P., Frichot, É., Bazin, É., François, O., & Gaggiotti, O. E. (2014). Genome scan methods against more complex models: When and how much should we trust them? *Molecular Ecology*, 23(8), 2006–2019. <https://doi.org/10.1111/mec.12705>
- Ellstrand, N. C., & Elam, D. R. (1993). Population Genetic Consequences of Small Population Size: Implications for Plant Conservation. 24, 217–242.
- Environnement Canada. (2015). *Plan d'action pour le saule à bractées vertes (Salix chlorolepis) au Canada* (No. En3-4/91-2015F-PDF; pp. 1–13).
- Excoffier, L., Hofer, T., & Foll, M. (2009). Detecting loci under selection in a hierarchically structured population. *Heredity*, 103(4), 285–298. <https://doi.org/10.1038/hdy.2009.74>
- Fernald, M. L. (1905). An anomalous alpine willow. *Rhodora*, 7(82), 185–186.
- Fernald, M. L. (1907). Contributions from the gray herbarium of Harvard University—New series, no. XXXV. The soil preferences of certain alpine and subalpine plants. *Rhodora*, 9(105), 149–193.

- Fernald, M. L. (1925). Persistence of Plants in Unglaciaded Areas of Boreal America. *Memoirs of the American Academy of Arts and Sciences*, 15(3), 239. <https://doi.org/10.2307/25058128>
- Ferrier, S., Manion, G., Elith, J., & Richardson, K. (2007). Using generalized dissimilarity modelling to analyse and predict patterns of beta diversity in regional biodiversity assessment. *Diversity and Distributions*, 13(3), 252–264. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00341.x>
- Finger, A., Kaiser-Bunbury, C. N., Kettle, C. J., Valentin, T., & Ghazoul, J. (2014). Genetic Connectivity of the Moth Pollinated Tree *Glionnetia sericea* in a Highly Fragmented Habitat. *PLoS ONE*, 9(10), e111111. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111111>
- Finger, A., Rao, S., Cowie, N., MacDonell, T., Beck, A., & Denny, B. (2023). Conservation genetics of montane willow populations in Scotland—Limited natural recovery despite long-distance gene flow and high genetic diversity. *Environmental Research: Ecology*, 2(1), 015001. <https://doi.org/10.1088/2752-664X/ac9682>
- Fitzpatrick, B. M. (2013). Alternative forms for genomic clines. *Ecology and Evolution*, 3(7), 1951–1966. <https://doi.org/10.1002/ece3.609>
- Fitzpatrick, M. C., & Keller, S. R. (2015). Ecological genomics meets community-level modelling of biodiversity: Mapping the genomic landscape of current and future environmental adaptation. *Ecology Letters*, 18(1), 1–16. <https://doi.org/10.1111/ele.12376>
- Fitzpatrick, M., Mokany, K., Manion, G., Nieto-Lugilde, D., & Ferrier, S. (2021). *Gdm: Generalized dissimilarity modeling. R package version 1.5.0-1*. <https://CRAN.R-project.org/package=ghdm>
- Flint, R. F., Demorest, M., & Washburn, A. L., 1911-2007. (1942). Glaciation of Shickshock Mountains, Gaspe Peninsula. *Bulletin of the Geological Society of America*, 53(8), 1211–1230.
- Fogelqvist, J., Verkhovzina, A. V., Katyshev, A. I., Pucholt, P., Dixelius, C., Rönnberg-Wästljung, A. C., Lascoux, M., & Berlin, S. (2015). Genetic and morphological evidence for introgression between three species of willows. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1), 193. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0461-7>
- Forester, B. R., Lasky, J. R., Wagner, H. H., & Urban, D. L. (2018). Comparing methods for detecting multilocus adaptation with multivariate genotype-environment associations. *Molecular Ecology*, 27(9), 2215–2233. <https://doi.org/10.1111/mec.14584>

- Fortin, G., & Héту, B. (2009). Les extrêmes météorologiques hivernaux et leurs influences sur la couverture neigeuse dans les monts Chic-Chocs, Gaspésie, Canada. *Geographia Technica, numéro spécial*, 181–186.
- Frankham, R. (2015). Genetic rescue of small inbred populations: Meta-analysis reveals large and consistent benefits of gene flow. *Molecular Ecology*, 24(11), 2610–2618. <https://doi.org/10.1111/mec.13139>
- Frichot, E., & François, O. (2015). LEA: An R package for landscape and ecological association studies. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(8), 925–929. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12382>
- Frichot, E., Mathieu, F., Trouillon, T., Bouchard, G., & François, O. (2014). Fast and Efficient Estimation of Individual Ancestry Coefficients. *Genetics*, 196(4), 973–983. <https://doi.org/10.1534/genetics.113.160572>
- Frichot, E., Schoville, S. D., Bouchard, G., & François, O. (2013). Testing for Associations between Loci and Environmental Gradients Using Latent Factor Mixed Models. *Molecular Biology and Evolution*, 30(7), 1687–1699. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst063>
- Germain, D., & Voiculescu, M. (2007). Les avalanches de neige dans les Chic-Chocs (Canada) et les Carpates Méridionales (Roumanie) Bilan des connaissances et perspectives futures. *Revista de geomorfologie*, 9, 17–31.
- González-Robles, A., García, C., Salido, T., Manzaneda, A. J., & Rey, P. J. (2021). Extensive pollen-mediated gene flow across intensively managed landscapes in an insect-pollinated shrub native to semiarid habitats. *Molecular Ecology*, 30(14), 3408–3421. <https://doi.org/10.1111/mec.15950>
- Goudet, J. (2005). Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular ecology notes*, 5(1), 184–186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Goulet, B. E., Roda, F., & Hopkins, R. (2017). Hybridization in Plants: Old Ideas, New Techniques. *Plant Physiology*, 173(1), 65–78. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01340>
- Gross, B. L., & Rieseberg, L. H. (2005). The Ecological Genetics of Homoploid Hybrid Speciation. *Journal of Heredity*, 96(3), 241–252. <https://doi.org/10.1093/jhered/esi026>
- Gruber, B., Unmack, P. J., Berry, O. F., & Georges, A. (2018). dartr: An r package to facilitate analysis of SNP data generated from reduced representation genome sequencing. *Molecular Ecology Resources*, 18(3), 691–699. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12745>

- Hamilton, J. A., Lexer, C., & Aitken, S. N. (2013). Differential introgression reveals candidate genes for selection across a spruce (*Picea sitchensis* × *P. Glauca*) hybrid zone. *New Phytologist*, 197(3), 927–938. <https://doi.org/10.1111/nph.12055>
- Hardig, T. M., Brunsfeld, S. J., Fritz, R. S., Morgan, M., & Orians, C. M. (2000). Morphological and molecular evidence for hybridization and introgression in a willow (*Salix*) hybrid zone. *Molecular Ecology*, 9(1), 9–24. <https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2000.00757.x>
- Harrison, R. G., & Larson, E. L. (2014). Hybridization, Introgression, and the Nature of Species Boundaries. *Journal of Heredity*, 105(S1), 795–809. <https://doi.org/10.1093/jhered/esu033>
- Harrison, R. G., & Larson, E. L. (2016). Heterogeneous genome divergence, differential introgression, and the origin and structure of hybrid zones. *Molecular Ecology*, 25(11), 2454–2466. <https://doi.org/10.1111/mec.13582>
- Hedrick, P. W., & Kalinowski, S. T. (2000). Inbreeding Depression in Conservation Biology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31(1), 139–162. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.139>
- Hétu, B., & Gray, J. T. (1985). Le modelé glaciaire du centre de la Gaspésie septentrionale, Québec. *Géographie Physique et Quaternaire*, 39(1), 47–66. <https://doi.org/10.7202/032584ar>
- Hétu, B., & Gray, J. T. (2000). Les étapes de la déglaciation dans le nord de la Gaspésie (Québec): Les marges glaciaires des dryas ancien et récent. *Géographie Physique et Quaternaire*, 54(1), 5–40. <https://doi.org/10.7202/004831ar>
- Hirao, A. S., & Kudo, G. (2008). The effect of segregation of flowering time on fine-scale spatial genetic structure in an alpine-snowbed herb *Primula cuneifolia*. *Heredity*, 100(4), 424–430. <https://doi.org/10.1038/hdy.2008.1>
- Jabis, M. D., Ayers, T. J., & Allan, G. J. (2011). Pollinator-mediated gene flow fosters genetic variability in a narrow alpine endemic, *Abronia alpina* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*, 98(10), 1583–1594. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000515>
- Jetté, H., & Richard, P. J. H. (1992). Contribution à l’histoire postglaciaire de la végétation en Gaspésie méridionale, Québec. *Géographie Physique et Quaternaire*, 46(3), 273–284. <https://doi.org/10.7202/032914ar>
- Jones, M., & Willey, L. (Eds.). (2018). *Eastern Alpine Guide: Natural History and Conservation of Mountain Tundra East of the Rockies*. University Press of New England. <https://doi.org/10.2307/j.ctv1xx9jdz>

- Josse, J., & Husson, F. (2016). MissMDA: A Package for Handling Missing Values in Multivariate Data Analysis. *Journal of Statistical Software*, 70(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v070.i01>
- Kilian, A., Wenzl, P., Huttner, E., Carling, J., Xia, L., Blois, H., Caig, V., Heller-Uszynska, K., Jaccoud, D., Hopper, C., Aschenbrenner-Kilian, M., Evers, M., Peng, K., Cayla, C., Hok, P., & Uszynski, G. (2012). Diversity Arrays Technology: A Generic Genome Profiling Technology on Open Platforms. In F. Pompanon & A. Bonin (Eds.), *Data Production and Analysis in Population Genomics*, 888, 67–89. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-870-2_5
- Kudo, G. (2020). Dynamics of flowering phenology of alpine plant communities in response to temperature and snowmelt time: Analysis of a nine-year phenological record collected by citizen volunteers. *Environmental and Experimental Botany*, 170, 103843. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103843>
- Larson, E. L., Andrés, J. A., Bogdanowicz, S. M., & Harrison, R. G. (2013). Differential introgression in a mosaic hybrid zone reveals candidate barrier genes: Brief communication. *Evolution*, 67(12), 3653–3661. <https://doi.org/10.1111/evo.12205>
- Lemieux, S.-C. (2007). *Cartographie et classification du terrain a potentiel avalancheux des Chic-Chocs, Quebec, Canada, à l'aide d'un système d'information géographique* [Mémoire]. Université de Sherbrooke.
- Levin, D. A., Francisco-Ortega, J., & Jansen, R. K. (1996). Hybridization and the Extinction of Rare Plant Species. *Conservation Biology*, 10(1), 10–16. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10010010.x>
- Lewontin, R. C., & Krakauer, J. (1973). Distribution of gene frequency as a test of the theory of the selective neutrality of polymorphisms. *Genetics*, 74(1), 175–195. <https://doi.org/10.1093/genetics/74.1.175>
- Lotterhos, K. E., & Whitlock, M. C. (2015). The relative power of genome scans to detect local adaptation depends on sampling design and statistical method. *Molecular Ecology*, 24(5), 1031–1046. <https://doi.org/10.1111/mec.13100>
- Luu, K., Bazin, E., & Blum, M. G. B. (2017). pcadapt: An R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources*, 17(1), 67–77. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12592>
- Mallet, J. (2005). Hybridization as an invasion of the genome. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.010>
- Mallet, J. (2007). Hybrid speciation. *Nature*, 446(7133), 279–283. <https://doi.org/10.1038/nature05706>

- Marinček, P., Pittet, L., Wagner, N. D., & Hörandl, E. (2023). Evolution of a hybrid zone of two willow species (*Salix* L.) in the European Alps analyzed by RAD-seq and morphometrics. *Ecology and Evolution*, 13(1).
<https://doi.org/10.1002/ece3.9700>
- Mavárez, J., Salazar, C. A., Bermingham, E., Salcedo, C., Jiggins, C. D., & Linares, M. (2006). Speciation by hybridization in *Heliconius* butterflies. *Nature*, 441(7095), 868–871. <https://doi.org/10.1038/nature04738>
- McMullin, R. T., & Dorin, B. C. (2016). The Chic-Choc Mountains are the last southern refuge for Arctic lichens in eastern North America. *Arctic Science*, 2(4), 183–193. <https://doi.org/10.1139/as-2015-0024>
- MELCCFP. (1995). *Saule à bractées vertes*. Ministère de l'Environnement, de la Lutte contre les changements climatiques, de la Faune et des Parcs.
<https://www.environnement.gouv.qc.ca/biodiversite/habitats/serpentine-mont-albert/index.htm#:~:text=Ce%20tr%C3%A8s%20vaste%20habitat%20floristique,de%20550%20m%C3%A8tres%20d'altitude.>
- Mokany, K., Ware, C., Woolley, S. N. C., Ferrier, S., & Fitzpatrick, M. C. (2022). A working guide to harnessing generalized dissimilarity modelling for biodiversity analysis and conservation assessment. *Global Ecology and Biogeography*, 31(4), 802–821. <https://doi.org/10.1111/geb.13459>
- Mosseler, A. (1989). Interspecific pollen–pistil incongruity in *Salix*. *Canadian Journal of Forest Research*, 19(9), 1161–1168. <https://doi.org/10.1139/x89-175>
- Mosseler, A., & Papadopol, C. S. (1989). Seasonal isolation as a reproductive barrier among sympatric *Salix* species. *Canadian Journal of Botany*, 67(9), 2563–2570. <https://doi.org/10.1139/b89-331>
- Mostert-O'Neill, M. M., Reynolds, S. M., Acosta, J. J., Lee, D. J., Borevitz, J. O., & Myburg, A. A. (2021). Genomic evidence of introgression and adaptation in a model subtropical tree species, *Eucalyptus grandis*. *Molecular Ecology*, 30(3), 625–638. <https://doi.org/10.1111/mec.15615>
- Muggeo, V. M. R. (2008). *segmented: An R Package to Fit Regression Models with Broken-Line Relationships*. 8.
- NatureServe. (2020). *Salix chlorolepis* (Green scale willow). NatureServe.
https://explorer.natureserve.org/Taxon/ELEMENT_GLOBAL.2.151511/Salix_chlorolepis

- Nielsen, T. G., Kjellerup, S., Smolina, I., Hoarau, G., & Lindeque, P. (2014). Live discrimination of *Calanus glacialis* and *C. finmarchicus* females: Can we trust phenological differences? *Marine Biology*, *161*(6), 1299–1306. <https://doi.org/10.1007/s00227-014-2419-5>
- Oksanen, J., Blanchet, F. G., Friendly, M., Kindt, R., Legendre, P., McGlinn, D., Minchin, P. R., O'hara, R. B., Simpson, G. L., & Solymos, P. (2019). Package 'vegan.' *Community Ecology Package*, *2*(9).
- Olejczyk, P., & Gray, J. T. (2007). The relative influence of Laurentide and local ice sheets during the last glacial maximum in the eastern Chic-Chocs Range, northern Gaspé Peninsula, Quebec. *Canadian Journal of Earth Sciences*, *44*(11), 1603–1625. <https://doi.org/10.1139/e07-039>
- Orr, H. A., Masly, J. P., & Presgraves, D. C. (2004). Speciation genes. *Current Opinion in Genetics & Development*, *14*(6), 675–679. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2004.08.009>
- Pacifici, M., Foden, W. B., Visconti, P., Watson, J. E. M., Butchart, S. H. M., Kovacs, K. M., Scheffers, B. R., Hole, D. G., Martin, T. G., Akçakaya, H. R., Corlett, R. T., Huntley, B., Bickford, D., Carr, J. A., Hoffmann, A. A., Midgley, G. F., Pearce-Kelly, P., Pearson, R. G., Williams, S. E., ... Rondinini, C. (2015). Assessing species vulnerability to climate change. *Nature Climate Change*, *5*(3), 215–224. <https://doi.org/10.1038/nclimate2448>
- Paradis, E. (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated–modular approach. *Bioinformatics*, *26*(3), 419–420. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp696>
- Parmesan, C., & Yohe, G. (2003). A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature*, *421*(6918), 37–42. <https://doi.org/10.1038/nature01286>
- Payette, S., & Boudreau, F. (1984). Évolution postglaciaire des hauts sommets alpins et subalpins de la Gaspésie. *Canadian Journal of Earth Sciences*, *21*(3), 319–335. <https://doi.org/10.1139/e84-034>
- Payseur, B. A. (2010). Using differential introgression in hybrid zones to identify genomic regions involved in speciation. *Molecular Ecology Resources*, *10*(5), 806–820. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02883.x>
- Peeters, L., & Totland, Ø. (1999). Wind to insect pollination ratios and floral traits in five alpine *Salix* species. *Canadian Journal of Botany*, *77*(4), 556–563. <https://doi.org/10.1139/b99-003>

- Pérez-Pedraza, A., Rodríguez-Correa, H., Valencia-Ávalos, S., Torres-Miranda, C. A., Arenas-Navarro, M., & Oyama, K. (2021). Effect of hybridization on the morphological differentiation of the red oaks *Quercus acutifolia* and *Quercus grahamii* (Fagaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 307(3), 37. <https://doi.org/10.1007/s00606-021-01757-0>
- Pfennig, K. S. (2021). Biased Hybridization and Its Impact on Adaptive Introgression. *Trends in Ecology & Evolution*, 36(6), 488–497. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2021.02.010>
- Pfennig, K. S., Kelly, A. L., & Pierce, A. A. (2016). Hybridization as a facilitator of species range expansion. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 283(1839), 20161329. <https://doi.org/10.1098/rspb.2016.1329>
- Pillon, Y., González, D. A., Randriambanona, H., Lowry, P. P., Jaffré, T., & Merlot, S. (2019). Parallel ecological filtering of ultramafic soils in three distant island floras. *Journal of Biogeography*, 46(11), 2457–2465. <https://doi.org/10.1111/jbi.13677>
- Pinheiro, F., Zanfra de Melo e Gouveia, T. M., Cozzolino, S., Cafasso, D., Cardoso-Gustavson, P., Suzuki, R. M., & Palma-Silva, C. (2016). Strong but permeable barriers to gene exchange between sister species of *Epidendrum*. *American Journal of Botany*, 103(8), 1472–1482. <https://doi.org/10.3732/ajb.1600064>
- R Core Team. (2021). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing. <https://www.R-project.org/>.
- Rajakaruna, N., Harris, T. B., & Alexander, E. B. (2009). Serpentine Geocology of Eastern North America: A Review. *Rhodora*, 111(945), 21–108. <https://doi.org/10.3119/07-23.1>
- Rellstab, C., Gugerli, F., Eckert, A. J., Hancock, A. M., & Holderegger, R. (2015). A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics. *Molecular Ecology*, 24(17), 4348–4370. <https://doi.org/10.1111/mec.13322>
- Richard, P. J. H., & Labelle, C. (1989). Histoire postglaciaire de la végétation au lac du Diable, mont Albert, Gaspésie, Québec. *Géographie Physique et Quaternaire*, 43(3), 337–354. <https://doi.org/10.7202/032787ar>
- Richard, P. J. H., Veillette, J. J., Larouche, A. C., Héту, B., Gray, J. T., & Gangloff, P. (1997). Chronologie de la déglaciation en Gaspésie: Nouvelles données et implications. *Géographie Physique et Quaternaire*, 51(2), 163–184. <https://doi.org/10.7202/033116ar>
- Rieseberg, L. H., & Blackman, B. K. (2010). Speciation genes in plants. *Annals of Botany*, 106(3), 439–455. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq126>

- Rieseberg, L. H., Ellstrand, N. C., & Arnold, M. (1993). What Can Molecular and Morphological Markers Tell Us About Plant Hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences*, 12(3), 213–241. <https://doi.org/10.1080/07352689309701902>
- Rieseberg, L. H., Raymond, O., Rosenthal, D. M., Lai, Z., Livingstone, K., Nakazato, T., Durphy, J. L., Schwarzbach, A. E., Donovan, L. A., & Lexer, C. (2003). Major Ecological Transitions in Wild Sunflowers Facilitated by Hybridization. *Science*, 301(5637), 1211–1216. <https://doi.org/10.1126/science.1086949>
- Rifkin, J. L., Castillo, A. S., Liao, I. T., & Rausher, M. D. (2019). Gene flow, divergent selection and resistance to introgression in two species of morning glories (*Ipomoea*). *Molecular Ecology*, 28(7), 1709–1729. <https://doi.org/10.1111/mec.14945>
- Sacchi, C. F., & Price, P. W. (1988). Pollination of the Arroyo Willow, *Salix lasiolepis*: Role of Insects and Wind. *American Journal of Botany*, 75(9), 1387–1393. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1988.tb14200.x>
- Sansaloni, C., Petroli, C., Jaccoud, D., Carling, J., Detering, F., Grattapaglia, D., & Kilian, A. (2011). Diversity Arrays Technology (DArT) and next-generation sequencing combined: Genome-wide, high throughput, highly informative genotyping for molecular breeding of Eucalyptus. *BMC Proceedings*, 5(7), 1–2. <https://doi.org/10.1186/1753-6561-5-S7-P54>
- Schneider, C. (1918). Notes on American Willows. II. The Species Related to *Salix glauca* L. *Botanical Gazette*, 66(4), 318–353. <https://doi.org/10.1086/332347>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Scoggan, H. J. (1950). *The Flora of Bic and the Gaspé Peninsula, Quebec*. National Museum of Canada.
- Seehausen, O., Butlin, R. K., Keller, I., Wagner, C. E., Boughman, J. W., Hohenlohe, P. A., Peichel, C. L., Saetre, G.-P., Bank, C., Brännström, A., Brelsford, A., Clarkson, C. S., Eroukhmanoff, F., Feder, J. L., Fischer, M. C., Foote, A. D., Franchini, P., Jiggins, C. D., Jones, F. C., ... Widmer, A. (2014). *Genomics and the origin of species*. <https://doi.org/10.5167/UZH-93263>
- Shaw, K. L., & Mullen, S. P. (2011). Genes versus phenotypes in the study of speciation. *Genetica*, 139(5), 649–661. <https://doi.org/10.1007/s10709-011-9562-4>

- Shimono, Y., Watanabe, M., Hirao, A. S., Wada, N., & Kudo, G. (2009). Morphological and genetic variations of *Potentilla matsumurae* (Rosaceae) between fellfield and snowbed populations. *American Journal of Botany*, *96*(4), 728–737. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800242>
- Sirois, L., Lutzoni, F., & Grandtner, M. M. (1988). Les lichens sur serpentine et amphibolite du plateau du mont Albert, Gaspésie, Québec. *Canadian Journal of Botany*, *66*(5), 851–862. <https://doi.org/10.1139/b88-124>
- Spielman, D., Brook, B. W., & Frankham, R. (2004). Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *101*(42), 15261–15264. <https://doi.org/10.1073/pnas.0403809101>
- Strasburg, J. L., Sherman, N. A., Wright, K. M., Moyle, L. C., Willis, J. H., & Rieseberg, L. H. (2012). What can patterns of differentiation across plant genomes tell us about adaptation and speciation? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *367*(1587), 364–373. <https://doi.org/10.1098/rstb.2011.0199>
- Tamura, S., & Kudo, G. (2000). Wind pollination and insect pollination of two temperate willow species, *Salix miyabeana* and *Salix sachalinensis*. *Plant Ecology*, *147*(2), 185–192. <https://doi.org/10.1023/A:1009870521175>
- Tinner, W., & Kaltenrieder, P. (2005). Rapid responses of high-mountain vegetation to early Holocene environmental changes in the Swiss Alps. *Journal of Ecology*, *93*(5), 936–947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2005.01023.x>
- Touchette, L. (2023). *De chercheurs à détectives: Au bouleau! Une approche multicritère pour comprendre le succès d'un syngaméon de bouleaux arbustifs d'Amérique du Nord face aux changements climatiques en régions subarctiques* [Mémoire]. Université Laval.
- Ueno, N., Suyama, Y., & Seiwa, K. (2007). What makes the sex ratio female-biased in the dioecious tree *Salix sachalinensis*? *Journal of Ecology*, *95*(5), 951–959. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2007.01269.x>
- Vallejo-Marín, M., & Hiscock, S. J. (2016). Hybridization and hybrid speciation under global change. *New Phytologist*, *211*(4), 1170–1187. <https://doi.org/10.1111/nph.14004>
- Vaux, F., Dutoit, L., Fraser, C. I., & Waters, J. M. (2023). Genotyping-by-sequencing for biogeography. *Journal of Biogeography*, *50*(2), 262–281. <https://doi.org/10.1111/jbi.14516>

- Wagner, N. D., He, L., & Hörandl, E. (2021). The Evolutionary History, Diversity, and Ecology of Willows (*Salix* L.) in the European Alps. *Diversity*, *13*(4), 146. <https://doi.org/10.3390/d13040146>
- Weir, B. S., & Cockerham, C. C. (1984). Estimating *F*-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution*, *38*(6), 1358. <https://doi.org/10.2307/2408641>
- Whitlock, M. C., & Lotterhos, K. E. (2015). Reliable Detection of Loci Responsible for Local Adaptation: Inference of a Null Model through Trimming the Distribution of *F*_{st}. *The American Naturalist*, *186*(S1), S24–S36. <https://doi.org/10.1086/682949>
- Wu, C.-I. (2001). The genic view of the process of speciation: Genic view of the process of speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, *14*(6), 851–865. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.2001.00335.x>
- Wynne-Edward, V. C. (1937). Isolated arctic-alpine floras in Eastern North America: A discussion of their glacial and recent history. *Transactions of the Royal Society of Canada*, *31*, 1–26.
- Yamagishi, H., Allison, T. D., & Ohara, M. (2005). Effect of snowmelt timing on the genetic structure of an *Erythronium grandiflorum* population in an alpine environment. *Ecological Research*, *20*(2), 199–204. <https://doi.org/10.1007/s11284-004-0032-7>

