

Université de Montréal

Mécanismes de propagation du roseau commun envahisseur au Québec

par
Arnaud ALBERT

Institut de recherche en biologie végétale (IRBV)
Département de sciences biologiques
Faculté des arts et des sciences

Thèse présentée à la Faculté des arts et des sciences
en vue de l'obtention du grade de Docteur en sciences biologiques

Janvier 2016

© Arnaud ALBERT 2016

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée :

Mécanismes de propagation du roseau commun envahisseur au Québec

Présentée par :

Arnaud ALBERT

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Pr. Simon Joly, président-rapporteur

Pr. Jacques Brisson, directeur de recherche

Pr. Claude Lavoie, co-directeur

Pr. Jacques Brodeur, membre du jury

Pr. Raphaël Proulx, examinateur externe

RÉSUMÉ

Les invasions biologiques sont considérées actuellement par la communauté scientifique comme des vecteurs de modification de la biodiversité et de changement des écosystèmes. La rapide invasion de la sous-espèce exotique du roseau commun (*Phragmites australis*) dans le nord-est de l'Amérique du Nord est un exemple spectaculaire d'envahissement végétal. Un programme de prévention et de contrôle de cette herbacée nécessite une connaissance adéquate de la biologie, de la génétique et de l'écologie de cette plante envahissante. Le but général de ma thèse de doctorat est d'améliorer le savoir sur la dynamique de dispersion du roseau commun envahisseur au Québec, en étudiant ses caractéristiques de reproduction biologique, de diversité génétique et de tolérance écologique qui favorisent son succès d'établissement au cours de la phase de propagation.

Le premier objectif est de déterminer la contribution relative des modes de reproduction sexuée et asexuée dans la dispersion à courte et longue distance, en utilisant des observations de terrain de nouveaux individus et des analyses de génétique des populations établies. Le deuxième objectif est de décrire la diversité génétique des populations par le biais de milliers de marqueurs nucléotidiques, en utilisant une meilleure résolution des génotypes et distinction des clones grâce à une nouvelle technologie de dernière génération, le génotypage-par-séquençage. Le troisième objectif est d'identifier le niveau de tolérance écologique du roseau et les facteurs environnementaux hostiles à sa prolifération, en utilisant des régressions logistiques binaires basées sur des données biotiques et abiotiques de sites envahis et non envahis par l'espèce.

Le premier volet confirme que le roseau s'établit majoritairement par graines sur de vastes territoires, et se propage latéralement par rhizomes et stolons à l'échelle locale. La fondation de nouvelles populations le long des routes est également assurée par la dissémination de fragments végétatifs. Le deuxième volet confirme que le roseau dispose d'une forte recombinaison génétique par reproduction sexuée qui lui permet d'acquérir un

potentiel évolutif et une adaptation rapide. La nouvelle approche de génotypage permet de réduire les imprécisions liées à l'utilisation d'un petit nombre de marqueurs microsatellites. Le troisième volet confirme que le roseau colonise des fossés de drainage ouverts exposés au soleil et dénués de végétation arborée. Cette espèce ne tolère pas la présence de ligneux et l'absence de lumière. En somme, cette thèse présente un portrait biologique, génétique et écologique des caractéristiques du roseau envahisseur qui influencent sa propagation au Québec.

Ces résultats justifient l'ensemencement d'herbacées indigènes et la plantation de haies arbustives pour restaurer les écosystèmes perturbés afin de prévenir l'existence de lits de germination propices à l'établissement par graines du roseau. Cependant, la gestion du roseau commun envahisseur dépend du contexte, puisque cette plante peut également rendre bon nombre de services écologiques.

Mots-clés : compétition végétale, dispersion, diversité génétique, fossés de drainage, génotypage-par-séquençage, perturbations, plante exotique envahissante, propagation végétative, reproduction sexuée, roseau commun.

ABSTRACT

Biological invasions are currently considered by the scientific community drivers of biodiversity and ecosystem change. The rapid invasion of the exotic subspecies of common reed (*Phragmites australis*) in the northeast of North America is a spectacular example of plant invasion. A prevention and control program of this grass requires adequate knowledge of biology, genetics and ecology of this invasive plant. The overall aim of my thesis is to improve knowledge on the dynamics of dispersal of the invasive common reed in Quebec, by studying its characteristics of biological reproduction, genetic diversity and ecological tolerance that promote its establishment success during the spread stage.

The first objective is to determine the relative contribution of sexual and asexual reproduction modes in the short and long distance dispersal, using field observations of new individuals and genetic analysis of established populations. The second objective is to describe the genetic diversity of populations through thousands of nucleotide markers, using higher resolution of genotypes and distinction of clones through a novel next-generation technology, the genotyping-by-sequencing. The third objective is to identify the level of ecological tolerance of common reed and the adverse environmental conditions to its proliferation, using binary logistic regression models based on biotic and abiotic data collected in invaded and non-invaded sites by the species.

The first project confirms that common reed mainly establishes by seeds over large areas, and laterally expands by rhizomes and stolons at the local scale. New populations are also founded along roads by the dispersal of vegetative fragments. The second project confirms that common reed has a high genetic recombination by sexual reproduction that allows to gain an evolutionary potential and rapid adaptation. The new genotyping approach reduces uncertainties associated with the use of a limited number of microsatellite markers. The third project confirms that common reed colonizes open drainage ditches exposed to sunlight and free of trees. This species does not tolerate the presence of wood and the absence of light. In summary, this thesis presents a biological,

genetic and ecological portrait of the characteristics of the invasive common reed that influence its spread in Quebec.

These results support the seeding of native herbaceous and the planting of shrub hedges to restore disturbed ecosystems in order to prevent the existence of seedbeds suitable for the establishment of the common reed by seeds. However, the management of invasive common reed depends on the context, since this plant can also provide many ecological services.

Key-words : common reed, disturbances, drainage ditches, genetic diversity, genotyping-by-sequencing, invasive alien plant, plant competition, sexual reproduction, spread, vegetative propagation.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	I
ABSTRACT.....	III
TABLE DES MATIÈRES.....	V
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES FIGURES	XII
LISTE DES ANNEXES.....	XIV
LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS	XV
REMERCIEMENTS	XVII
CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
1.1. Les invasions végétales.....	2
1.1.1. Les étapes et les filtres	2
1.1.2. Les composantes et les hypothèses	4
1.2. Le roseau commun.....	7
1.2.1. La génétique du roseau.....	8
1.2.2. La stratégie vitale de l'espèce	12
1.2.3. L'écologie de l'espèce.....	17
1.3. La problématique, les objectifs et les hypothèses.....	22
1.3.1. Les trois projets du doctorat.....	22
1.3.2. Les considérations générales.....	24

CHAPITRE II : STRATEGIES FOR A SUCCESSFUL PLANT INVASION : THE REPRODUCTION OF *PHRAGMITES AUSTRALIS* IN NORTH-EASTERN NORTH AMERICA 27

2.1. Summary 27

2.2. Introduction..... 28

2.3. Materials and methods 30

2.3.1. Study area 31

2.3.2. Establishment and survival of common reed individuals..... 32

2.3.3. Population genetics of common reed 34

2.4. Results..... 38

2.4.1. Establishment and survival of common reed individuals..... 38

2.4.2. Population genetics of common reed 39

2.5. Discussion 43

2.6. Conclusion 46

2.7. Acknowledgements..... 47

2.8. Data accessibility 47

2.9. References 47

2.10. Supporting information..... 52

CHAPITRE III : HIGH THROUGHPUT AND RAPID SNP GENOTYPING IN THE INVASIVE COMMON REED (*PHRAGMITES AUSTRALIS*) USING A GENOTYPING-BY-SEQUENCING (GBS) APPROACH..... 56

3.1. Abstract 56

3.2. Introduction..... 57

3.3. Materials and methods	60
3.3.1. Study area	60
3.3.2. Plant tissue sampling	61
3.3.3. DNA extraction, library preparation and read sequencing.....	62
3.3.4. UNEAK pipeline, SNP calling and filtering	63
3.3.5. Use of SSR microsatellite markers.....	64
3.3.6. Data analyses	64
3.4. Results.....	65
3.4.1. Use of identical individuals from the 16-plex library	65
3.4.2. Use of distinct individuals from the 96-plex library	68
3.4.3. Use of SSR microsatellite markers.....	70
3.5. Discussion	73
3.6. Acknowledgements.....	77
3.7. References.....	78
CHAPITRE IV : DO WOODY PLANTS PREVENT THE ESTABLISHMENT OF COMMON REED ALONG HIGHWAYS ? INSIGHTS FROM SOUTHERN QUEBEC.....	82
4.1. Abstract	82
4.2. Introduction.....	83
4.3. Materials and methods	85
4.3.1. Study area	85
4.3.2. Data sampling.....	88
4.3.3. Statistical analyses.....	89
4.4. Results and discussion	90

4.5. Management implications.....	95
4.6. Acknowledgments.....	95
4.7. Literature cited.....	95
CHAPITRE V : CONCLUSION GÉNÉRALE.....	100
5.1. Les conclusions de cette thèse sur les mécanismes de propagation du roseau commun envahisseur.....	100
5.2. Les apports théoriques de cette thèse sur les caractéristiques de dispersion des plantes exotiques envahissantes	103
5.3. Les retombées pratiques de cette thèse pour la gestion de l'envahissement du roseau	106
5.3.1. Explorer l'avenir du roseau par de meilleurs outils moléculaires	106
5.3.2. Comprendre la dispersion à longue distance de l'espèce	109
5.3.3. Prévenir l'établissement par la plantation d'herbacées et de ligneux.....	113
5.3.4. Gérer les nouvelles petites colonies au moment clé.....	115
5.4. Mots de la fin	117
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	120
ANNEXE I : DONNÉES DU CHAPITRE II	I
Annexe I - A : Échantillonnage des populations de roseau commun en bordure des autoroutes - génétique des populations.....	i
Annexe I - B : Échantillonnage des populations de roseau commun dans les marais - génétique des populations.....	ii
Annexe I - C : Génotypage des échantillons de roseau commun par des marqueurs microsatellites (SSRs).....	iii

ANNEXE II : DONNÉES DU CHAPITRE III IV

Annexe II - A : Génotypage des échantillons de roseau commun par des marqueurs nucléotidiques (SNPs)..... iv

ANNEXE III : DONNÉES DU CHAPITRE IV V

Annexe III - A : Caractéristiques des sites inventoriés..... v

LISTE DES TABLEAUX

CHAPITRE II : Strategies for a successful plant invasion : The reproduction of *Phragmites australis* in northeastern North America

Table 2.1. Number of new common reed (Phragmites australis) individuals discovered in two marshes of the St. Lawrence River (Îles-de-Boucherville National Park (IBNP)) and along the ditches of several highways (H) and national roads located in southern Quebec, and percentage of the individuals originating from seeds..... 39

CHAPITRE III : High throughput and rapid SNP genotyping in the invasive common reed (*Phragmites australis*) using a genotyping-by-sequencing (GBS) approach

Table 3.1. Total, average, minimum and maximum number of reads and the corresponding tags analyzed using the UNEAK pipeline..... 66

CHAPITRE IV : Do woody plants prevent the establishment of common reed along highways ? Insights from southern Quebec

Table 4.1. Results of the two binary logistic regression models, i.e., without or with a north/south component (+N/S), that were used to establish a link between the presence (or absence) of common reed populations and environmental characteristics along the drainage ditches of Highway 30 (Quebec, Canada) : a classification table comparing fitted probabilities and dichotomous outcomes 91

Table 4.2. Results of the two binary logistic regression models, i.e., without or with a north/south component (+N/S), that were used to establish a link between the presence (or absence) of common reed populations and environmental characteristics along the drainage ditches of Highway 30 (Quebec, Canada)..... 92

Table 4.3. Results of the two binary logistic regression models, i.e., without or with a north/south component (+N/S), that were used to determine the relationship between the presence (or absence) of common reed populations and some environmental characteristics along the drainage ditches of Highway 30 (Quebec, Canada) : spatial autocorrelation analyses among residuals, with a comparison between one, two, three, four, or five neighbors, for a cut-off criterion probability of 0.05..... 93

LISTE DES FIGURES

CHAPITRE II : Strategies for a successful plant invasion : The reproduction of *Phragmites australis* in northeastern North America

Figure 2.1. Location of the sites sampled in southern Quebec (Canada) for the evaluation of the genetic diversity of common reed (Phragmites australis) stands : Highway 20 (black line) and Îles-de-Boucherville National Park (black square)..... 32

Figure 2.2. Spatial distribution of the genotypic richness (R; SSR markers) of the common reed (Phragmites australis) stands sampled along Highway 20 (H20) in southern Quebec. 40

Figure 2.3. Representative distribution of genotypes (SSR markers) in three of the most diverse stands of common reed (Phragmites australis) sampled along Highway 20 in southern Quebec. 41

Figure 2.4. Principal coordinate analysis (PCoA) showing the two dimensional genetic relationships between individuals (shoots) of common reed (Phragmites australis) sampled in southern Quebec along Highway 20 and at the Îles-de-Boucherville National Park..... 43

CHAPITRE III : High throughput and rapid SNP genotyping in the invasive common reed (*Phragmites australis*) using a genotyping-by-sequencing (GBS) approach

Figure 3.1. Location of the sites sampled in southern Quebec (Canada) for the evaluation of the genetic diversity of common reed (Phragmites australis) stands : Highway 20 (black line) and Îles-de-Boucherville National Park (black square)..... 61

Figure 3.2. Number of SNPs retained using different parameter values on a PstI-MspI GBS library from 16 common reed (Phragmites australis) individuals sampled in southern Quebec (Canada)..... 68

Figure 3.3. Flow diagram of the different SNP calling and filtering steps, and optimal parameter values retained for the 96-plex GBS library. 70

Figure 3.4. Principal coordinate analysis (PCoA) showing the two dimensional genetic (A : SNP markers; B : SSR markers) relationships between individuals (shoots) of common reed (Phragmites australis) sampled in southern Quebec (Canada) along Highway 20 and at the Îles-de-Boucherville National Park..... 72

CHAPITRE IV : Do woody plants prevent the establishment of common reed along highways ? Insights from southern Quebec

Figure 4.1. Presence or absence of the common reed in front of the kilometer markers located on both sides of the Highway 30 (Quebec, Canada) in summer 2010..... 86

Figure 4.2. (a) Dense common reed population occupying the drainage ditch separating each roadway of Highway 30 (Quebec, Canada); (b) drainage ditch along the northern section of Highway 30 densely shaded by trees and shrubs from the forest located at the edge of the roadside; (c) destruction of shrub and tree hedges in 2011 along the Highway 40 (Quebec), such actions are likely to facilitate the establishment of new common reed populations in the disturbed roadside ditch because of the removal of woody plant competitors; (d) willows (Salix miyabeana Seemen) along a section of Highway 50 (Quebec), newly opened in 2011, that were planted to prevent the establishment or survival of common reed seedlings in the drainage ditches through competition for light and space. 87

LISTE DES ANNEXES

CHAPITRE II : Strategies for a successful plant invasion : The reproduction of *Phragmites australis* in northeastern North America

Table 2.S1. Genetic diversity (SSR markers) within stands of common reed (Phragmites australis) sampled in southern Quebec at the Îles-de-Boucherville National Park (IBNP) and in the ditches of Highway 20 (H20). 52

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

AFLP	Polymorphisme de longueur des fragments amplifiés
CRAD	Centre de recherche en aménagement et développement
CRSNG	Conseil de recherches en sciences naturelles et en génie
CSBQ	Centre de la science de la biodiversité du Québec
CTAB	Cétyltriméthylammonium bromure
FESP	Faculté des études supérieures et postdoctorales
G	Génotype
GBS	Génotypage par séquençage
GD	Diversité génétique
H	Autoroute
H20	Autoroute 20
H30	Autoroute 30
H35	Autoroute 35
I	Statistique de Moran
IBIS	Institut de biologie intégrative et des systèmes
IBNP	Parc national des Îles-de-Boucherville
IRBV	Institut de recherche en biologie végétale
mi	Mille terrestre
MinSum	Minimum de lectures soutenant l'appel d'un SNP
mnC	Taux minimum d'appel d'un allèle
mnMAF	Fréquence minimale de l'allèle minoritaire
N	Nord ou donnée manquante
NGS	Séquençage de nouvelle génération
NOx	Oxyde d'azote
P	Probabilité
PaGT	Marqueur microsatellite <i>Phragmites australis</i> guanine thymine
PCoA	Analyse en coordonnées principales
R	Richesse génotypique
RFLP	Polymorphisme de longueur des fragments de restriction
S	Sud
SD	Variance

SNP	Polymorphisme d'un seul nucléotide
SSR	Marqueur microsatellite
UNEAK	Universal network enabled analysis kit

REMERCIEMENTS

Mon doctorat a été parsemé de la rencontre d'une multitude de personnes. J'aimerais fortement les remercier en personne, mais dans l'impossibilité de mener cette mission à bien, j'espère que ces quelques mots pour chacune d'entre elles suffiront à leur témoigner toute ma gratitude et ma reconnaissance pour leur apport à différents degrés à mon doctorat.

Je dois avant tout remercier le Professeur Jacques Brisson, mon directeur de recherche, et le Professeur Claude Lavoie, mon co-directeur, pour leur recrutement, leur accueil, leur encadrement et leur confiance, ainsi que pour leurs bourses, leurs disponibilités, leurs compétences et leurs conseils. Je dois également remercier le Professeur François Belzile, mon superviseur en génétique, pour son expertise, son implication et son innovation dans les projets. Un grand, sincère et profond merci à tous les trois, tout précisément pour leur passion, leur expérience et leurs encouragements. Je tiens de même à remercier les Professeurs Jean Dubé, Julie Turgeon et Sylvie de Blois pour leurs collaborations et leurs commentaires au cours de ma thèse.

J'adresse aussi mes remerciements à Messieurs Yves Bédard et Martin France, du Ministère des Transports du Québec, pour leur responsabilité et leur subventionnement dans les études, ainsi qu'aux divers responsables des directions régionales et des centres de service (particulièrement Guy Bédard, Claude Brassard, Annie Duchesne, Jonathan Ménard, Marianne Métivier, Alexandre Morin, Marc-André Poulin, Louis-Philippe Roy, Nicolas Sainte-Marie). Je tiens à exprimer mes remerciements à Mesdames Danielle Chatillon et Nathalie Rivard, du Parc National des Îles-de-Boucherville, et à Mesdames Hélène Godmaire et Anaïs Boutin, du Conseil Québécois sur les Espèces Exotiques Envahissantes, pour leur soutien et leur sympathie.

Je remercie les Professeures Anne Bruneau et Stéphanie Pellerin, pour leur participation à mon comité-conseil, et les Professeurs Jacques Brodeur et Alain Cogliastro, pour leur évaluation de mon examen de synthèse. Je profite de ce chapitre pour remercier les

membres du jury de ma thèse et de ma soutenance. Je remercie aussi le Professeur Jacques Haury et le Maître de conférences Didier Le Coeur de m'avoir fait découvrir le domaine des plantes exotiques envahissantes en France à Agrocampus Ouest.

Je veux remercier les directeurs et directrices des divers instituts et centres de recherche auxquels j'ai été associé (IRBV - Institut de recherche en biologie végétale, CRAD - Centre de recherche en aménagement et développement, IBIS - Institut de biologie intégrative et des systèmes, CSBQ - Centre de la science de la biodiversité du Québec). Je veux également remercier l'ensemble du personnel, des professeurs, des chercheurs, des professionnels et des étudiants de ces organismes. Je tiens aussi à remercier le Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et en Génie du Canada (CRSNG) et la Faculté des Études Supérieures et Postdoctorales (FESP) de l'Université de Montréal pour leurs financements.

J'aimerais maintenant remercier mes amis-collègues de bureau que j'ai eu le bonheur de côtoyer durant ces quelques années dans diverses équipes, pour leur gentillesse, leur générosité et leur dévouement :

- avec Jacques Brisson : les professionnels de recherche (Patrick Boivin, Bastien Fontaine, Benoît Saint-Georges, Daniel Boudreau), les stagiaires postdoctorales (Margit Kõiv, Julie Vincent), les étudiants au doctorat (Vincent Gagnon, Chaeho Byun, Mariana Rodriguez, Anne-Laure Biang, Tristan Charles-Dominique, Zhanna Grebenshchykova), les étudiants à la maîtrise (Amélie Pérez, Emmanuelle Demers, Sam Karathanos, Karine Dubois, Valérie Teasdale), les stagiaires et assistants (Daniel A., Jacques B., Vincent B., Pierre-Olivier G., Jacinthe B., Audrey C., Marine Q., Solène B., Aurélie S., Raquel R., Séverine L., Zina K., Cristian B., Daria Z., Nicolas H., Marie-Lyne D., Simon L., Gabriel L., Sonia B., Lizeth O., Caroline C., Mylène P., Mathieu G., Ghislain V., Marie L., etc.).

- avec Claude Lavoie : les professionnelles de recherche (Annie Saint-Louis, Elisabeth Groeneveld), les stagiaires postdoctoraux (Siobhan Gorham, Manzoor Shah), les étudiants au doctorat (Geneviève Guay, Alexandre Bergeron, Isabelle Simard), les étudiantes à la maîtrise (Mélissa Larochelle, Noémie Gagnon-Lupien, Marie-Andrée

Tougas-Tellier, Myosotis Bourgon-Desroches, Anaïs Comperot, Marie-Claude Duquette, Marie-Pierre Beauvais), les stagiaires et assistantes (Laurie B., Noémie B.-F., Hélène R., etc.).

- avec François Belzile : les professionnels de recherche (Martine Jean, Suzanne Marchand, Isabelle Clermont, Mahamadou Sangaré), la stagiaire postdoctorale (Humira Sonah), les étudiants au doctorat (Maxime Bastien, Elmer Iquirá, Patricio Esteves, Aurélie Tardivel, André Passianotto, Semia Berraies), les étudiants à la maîtrise (Cuong N'Guyen, Kadidiatou Hassane Moumouni, Sébastien Bélanger, Olfá Ben Salem, Gabrielle Fortin, Mélanie Gauthier, Fausta Karaboneye), les stagiaires et assistants (Julie T., Julie B., Rémi M., Romain N., etc.).

Je voudrais remercier le groupe de recherche Phragmites et ses membres, notamment l'aide des étudiants d'autres universités comme Étienne Paradis, Benjamin Lelong, Sophie Taddeo, Jean-François Denis, Christie Lovat, Marie-Ève Bellavance. J'ai également une pensée pour les Amis du Jardin botanique de Montréal.

Je souhaiterais remercier mes amis du Département de sciences biologiques de l'Université de Montréal, par ordre alphabétique : Adriana A., Ahmed J., Alessandro D., Alexandre G.-P., Alice R.-B., Amy V., Annabelle L., Ariane C., Audrey L.-H., Aurélien L.-M., Aymeric Y., Bachir I., Boris D., Carole S., Caroline D., Catherine G., Charlotte M., Christelle L., Courtenay C., Cynthia S., Denis B., Dimitri D., Dominic D., Édeline G., Éric C., Eva B., Fanny M., Fanny R., François L., Gonzalo B., Guillaume B., Gwyneth M., Hermine A., Jade C., Jessica F., Joffrey M., Jonathan S., Josée D., Julie M., Julie M., Karina R., Laurence D., Léa B., Mahsa N., Manuel L., Marielle B., Marie-Hélène B., Mathieu B., Maude R.-L., Maxime L., Nicolas B., Paul A., Richard L., Rim K., Rima A., Samuel D., Sandrine N., Siham B., Sougata R., Stéphanie B., Steve D.-B., Sugir S., Tahiana A., Valentin J., Vanessa G., Yang L., Youssef C., etc. Mille mercis à tous!

Je désire remercier énormément mes autres amis de la Belle Province : Julie G., Marie-France B., Véronique B., Alexandra M., Élène V. et Marc-André G. de Montréal;

Alexandra L., Cédric T., Marie-Catherine D. et Sébastien B. de Québec; Marie H., Grégoire M. et Pauline L. de Sherbrooke; Mélissa C. de Trois-Rivières; Noémie N., Julien F. et Uku V. d'Europe; Marijo L., François C., Valérie C., Marie-Andrée B. et Gabrielle S., mes anciens colocataires.

Je compte remercier enfin toutes les personnes qui ont contribué fortement à l'accomplissement et au succès de cette aventure, je pense bien évidemment à mes parents, mes frères, mes belles-sœurs et toute ma famille, mais aussi mes amis et amies de France et d'ailleurs, particulièrement celles et ceux de la promotion 156 de l'École Nationale Supérieure d'Agronomie de Rennes.

Je n'oublie pas d'avoir une pensée pour l'ensemble des personnes qui ont eu un rôle de près ou de loin à mon doctorat, et dont j'ai dû omettre ou oublier le nom. Qu'elles considèrent ces quelques lignes comme mes remerciements.

Je vous remercie vous qui me lisez... Puissiez trouver dans cette thèse toutes les informations que vous recherchez.

Pour finir, un merci spécial à ce cher roseau d'exister et d'être si intrigant... Je souhaiterais par conséquent terminer avec une pensée pour tous les écologistes qui étudient les plantes exotiques envahissantes, notamment les chercheurs sur le roseau commun, comme Laura Meyerson, Karin Kettenring, Hans Brix, mais aussi les chercheurs de renommée mondiale, comme David Richardson, Marcel Rejmanek, Petr Pyšek, Philip Hulme, Ingo Kowarik, Franz Essl, que j'ai eu la chance de rencontrer.

CHAPITRE I : INTRODUCTION GÉNÉRALE

Les invasions biologiques sont considérées actuellement par la communauté scientifique comme des vecteurs de modification de la biodiversité et de changement des écosystèmes (Mooney & Hobbs 2000, McNeely 2001, Millennium Ecosystem Assessment 2005). Plus particulièrement, les espèces exotiques envahissantes, surtout animales, sont considérées comme la deuxième cause mondiale d'appauvrissement de la diversité biologique (Lodge 1993, Williamson 1996, Parker *et al.* 1999, Pyšek *et al.* 2012). Une espèce envahissante est une espèce qui acquiert un avantage compétitif à la suite de la levée d'obstacles naturels à sa prolifération, ce qui lui permet de s'étendre rapidement et de conquérir de nouveaux territoires, plus particulièrement au sein d'écosystèmes hôtes où elle forme une population dominante (Valéry *et al.* 2008, Valéry *et al.* 2013).

Pour comprendre et expliquer les phénomènes d'envahissement, plusieurs concepts et approches ont été employés au cours des dernières décennies.

D'une part, les notions d'étapes et de barrières ont été formulées. Une invasion est conceptualisée comme un processus-continuum à plusieurs phases spatio-temporelles (Colautti & MacIsaac 2004, Theoharides & Dukes 2007). Pour passer du statut d'espèce exotique introduite à celui d'espèce naturalisée envahissante, et évoluer ainsi au fil de ces processus, une plante doit franchir plusieurs filtres (Richardson *et al.* 2000, Lockwood *et al.* 2007, Catford *et al.* 2008). Ces phases de l'invasion sont perçues comme étant divisées par des obstacles, et les espèces doivent franchir ces filtres écologiques avant de progresser à l'étape suivante (Mitchell *et al.* 2006, Blackburn *et al.* 2011).

D'autre part, plusieurs facteurs-clés d'une invasion ont été élucidés. Deux principales composantes pour interpréter le succès d'invasion sont de connaître les traits fonctionnels et d'histoire de vie de l'espèce qui favorisent son potentiel envahisseur (« invasiveness »), et de connaître les conditions biotiques, abiotiques et humaines de l'environnement local qui le rendent vulnérables à l'envahisseur (« invasibility ») (Elton 1958, Baker 1965, Richardson & Pyšek 2006, Thuiller *et al.* 2006). La troisième composante est la pression

de diaspores (« propagule pressure »; traduction libre) (Lockwood *et al.* 2007, Simberloff 2009). Les plantes envahissantes doivent posséder des avantages dans leurs caractéristiques intrinsèques, et les habitats doivent leur être favorables tant dans leurs paramètres biologiques que physico-chimiques, mais les espèces doivent surtout s'établir dans ces milieux en quantité suffisante lors des multiples phases de dissémination dans le temps et dans l'espace, pour créer de nouvelles populations et ainsi induire l'envahissement (Colautti *et al.* 2006, Drake & Lodge 2006).

La rapide invasion de la présumée sous-espèce introduite du roseau commun (*Phragmites australis*) dans le nord-est de l'Amérique du Nord est un exemple spectaculaire d'envahissement végétal. Un programme de prévention et de contrôle de cette herbacée le long des corridors routiers nécessite une connaissance adéquate de la biologie de l'espèce, de la génétique du roseau et de l'écologie du milieu.

Le but général de mon projet de doctorat est d'améliorer le savoir sur les caractéristiques et la dynamique de dispersion du roseau commun envahisseur. Il a pour objectifs de déterminer la diversité génétique des populations de roseau, les stratégies reproductrices de l'espèce, et les paramètres limitants des fossés de drainage qui conditionnent le succès d'établissement au cours de la phase de propagation.

Dans cette introduction, je présenterai d'abord les principales théories sur les invasions végétales. Je m'attarderai ensuite sur les caractéristiques du roseau commun. Je poursuivrai enfin sur les objectifs de mon doctorat et les hypothèses de recherche associées.

1.1. Les invasions végétales

1.1.1. Les étapes et les filtres

La première étape d'une invasion concerne le transport et l'introduction. L'espèce « exotique » (sous formes de plants ou de diaspores) a été transportée au travers d'une importante barrière géographique, séparant l'aire naturelle d'origine de la nouvelle zone

d'introduction. Les modes d'importation des organismes envahisseurs sont parfois naturels (vent, eau, animaux...), mais sont souvent anthropiques (raisons ornementales, fourragères, alimentaires...). L'introduction, qui nécessite de parcourir une grande distance et de passer le filtre biogéographique, est généralement assistée par les humains, de manière accidentelle (ballasts des bateaux par exemple) ou volontaire (commerce international par exemple)(Meyerson & Mooney 2007, Hulme 2009, Lavoie *et al.* 2011).

La seconde étape concerne la naturalisation et la colonisation. Cette espèce nouvellement « introduite » doit d'abord survivre, s'établir et devenir « naturalisée », c'est-à-dire qu'elle se maintient et qu'elle se reproduit en nature sans assistance humaine. Une fois l'établissement initial réussi et durable (ou les établissements), celui-ci dépendant essentiellement de la pression de diaspores initialement exercée, la colonisation locale, permettant l'agrandissement de la première population pionnière, est contrôlée par deux autres filtres, l'habitat et la reproduction, qui sont régis principalement par les deux facteurs que sont le milieu et l'espèce (Levine *et al.* 2004, Pyšek & Richardson 2006, Milbau & Stout 2008).

La troisième étape concerne la propagation et la dispersion. L'espèce devient « envahissante » si elle se propage rapidement ensuite dans de nouveaux territoires en produisant de grandes populations denses. À partir de la population fondatrice (ou les populations), d'autres libérations de diaspores sont réalisées et doivent permettre l'établissement durable de nouvelles populations satellites en dehors de la première zone d'introduction (ou les zones). On passe d'une échelle locale à régionale. Le quatrième filtre est la dissémination de l'espèce et la connectivité des habitats (Richardson *et al.* 2000, Pyšek & Hulme 2005, Gurevitch *et al.* 2011). Elle est conduite par des pressions de diaspores successives dans le temps et dans l'espace, et dépend également des caractéristiques de l'espèce et du milieu.

La cinquième et dernière étape concerne l'impact et les effets. L'espèce peut devenir « nuisible » si elle porte préjudice aux espèces, aux écosystèmes, aux activités économiques ou à la santé humaine. Un des derniers filtres possibles concerne les perturbations naturelles et anthropiques (Pyšek & Richardson 2010), puisque l'influence

de l'envahisseur est notamment conditionnée par les opportunités de prolifération. La notion d'impact est basée sur la perception humaine et une vision anthropocentrique, et peut donc être subjective (Williamson 1996).

L'évolution des espèces exotiques dans les différents statuts exige par conséquent une réussite à franchir ces plusieurs étapes et filtres (Carlton 1985, Kolar & Lodge 2001). Beaucoup d'espèces introduites délibérément ou par inadvertance dans une nouvelle région échouent à survivre, et de celles qui se maintiennent et se naturalisent, beaucoup ne deviennent pas envahissantes. En raison de ce processus, le nombre d'espèces atteignant chaque étape diminue (Williamson 1996, Williamson & Fitter 1996, Levine *et al.* 2004). L'échec d'une invasion peut donc se produire à n'importe laquelle de ces étapes, et pour qu'une espèce introduite devienne envahissante, elle doit franchir toutes les étapes. Williamson (1996) soumet l'hypothèse que le pourcentage d'espèces exotiques à passer chaque processus est de 10% (« tens rule »).

Cette succession d'étapes peut prendre plus ou moins de temps selon les espèces. Le concept de « time lag » a été énoncé pour expliquer ces durées. Les temps requis par l'espèce pour franchir tous ces filtres expliquent dans bien des cas le phénomène de latence souvent observé au début d'une invasion biologique (Richardson *et al.* 2000, Sakai *et al.* 2001, Crooks 2005). Le phénomène de la pression de diaspores peut également expliquer quelques délais entre l'établissement de l'espèce exotique et sa dispersion (Simberloff 2009).

1.1.2. Les composantes et les hypothèses

Trois composantes théoriques conduisent les invasions écologiques et sont les déterminants du succès d'envahissement. Ces trois niveaux peuvent être dénommés « événement, espèce et milieu » (Lockwood *et al.* 2005). Ces facteurs directeurs constituent un cadre général des invasions biologiques mais agissent différemment au cours des étapes et barrières. Ils sont composés de plusieurs hypothèses (Alpert 2006, Catford *et al.* 2008). Une invasion peut être examinée comme une série d'hypothèses. Les preuves empiriques suggèrent que la plupart de ces hypothèses peuvent expliquer dans un

certain degré le succès de certains envahisseurs dans certaines circonstances. Le succès d'envahissement semble être dépendant du contexte et est dû à une combinaison de facteurs et de mécanismes (Catford *et al.* 2008).

Le premier facteur est l'espèce elle-même (van Kleunen *et al.* 2010a). Pour que l'envahissement soit réussi, l'espèce doit entre autres se reproduire et se disperser, sinon elle ne pourra pas établir des populations qui se perpétueront dans le temps et l'espace. La réussite de la propagation dépend essentiellement des caractéristiques intrinsèques de l'espèce. Ces caractéristiques de production, de viabilité et de dissémination des diaspores varient selon les espèces, et circonscrire les traits propres aux espèces végétales envahissantes n'est pas chose aisée. Il est difficile de faire ressortir des caractéristiques communes et universelles à toutes les espèces envahissantes (Pyšek & Richardson 2007). Les espèces qui sont de bons envahisseurs potentiels (« ideal weed ») sont des espèces qui, en général, ont une période juvénile courte et une croissance rapide, de longues périodes de floraison, une production importante de petites diaspores qui se disséminent facilement, une multiplication végétative connexe sans l'assistance d'individus de l'autre sexe, et une expansion clonale possible (Lodge 1993, Rejmanek & Richardson 1996, Williamson & Fitter 1996). Sinon, en plus d'avoir des qualités reproductrices, une espèce envahissante doit avoir des traits avantageux pour faire face à la compétition et améliorer sa résistance aux autres espèces (van Kleunen *et al.* 2010b), comme des composés chimiques allélopathiques, une surface foliaire importante, une grande hauteur de tiges (Sakai *et al.* 2001), mais doit également détenir une capacité forte d'adaptation et une résistance importante aux stress du milieu, comme grâce à une forte tolérance écologique, une grande plasticité phénotypique, une haute diversité génétique, etc.

Le second facteur est l'environnement local, avec la notion générale de site propice à l'établissement (« empty niche » et « available niche ») (Shea & Chesson 2002). Pour que l'envahissement soit réussi, les facteurs abiotiques et biotiques doivent être surmontés pour permettre la survie des populations introduites. Les individus d'une espèce nouvellement introduite doivent s'implanter et s'adapter – et donc survivre – aux conditions écologiques de la région réceptrice, celles-ci devant leur convenir et leur être

favorables. En général, le milieu devient susceptible à l'invasion. Ce facteur se compose principalement de deux paramètres : les conditions biologiques et les conditions physico-chimiques. Ces deux principales composantes ont été émises pour tenter de comprendre comment une plante peut devenir aussi compétitive dans ce nouveau milieu qui n'est pas le sien. D'une part, l'une concerne la compétition biologique et les interactions biotiques (Blossey & Notzold 1995, Keane & Crawley 2002, Mitchell & Power 2003, Torchin *et al.* 2003, Vilà *et al.* 2005), avec l'absence d'ennemis naturels ou la faible résistance des espèces indigènes (« enemy release hypothesis » et « biotic resistance », mais aussi « escape hypothesis », « evolution of increased competitive ability » et « novel weapons hypothesis »). D'autre part, l'autre concerne les contraintes abiotiques (Alpert *et al.* 2000, Davis *et al.* 2000, Bertness *et al.* 2002, Silliman & Bertness 2004, Catford *et al.* 2008), avec la présence d'une nouvelle ressource qui devient soudainement accessible et utilisable pour l'envahisseur (« increased resource availability » ou « fluctuating resources hypothesis », similaires ou associées à « opportunity windows » et « habitat heterogeneity »).

Le troisième facteur est la pression de diaspores (Lockwood *et al.* 2005). Pour que l'envahissement soit réussi, il doit d'abord être entamé, et pour débiter, il est essentiel qu'au moins une des diaspores introduites initialement parvienne à s'établir et à se maintenir, pour coloniser la première zone d'introduction, et par la suite pour se disperser et produire de nouvelles populations dans d'autres aires distantes. Pour permettre le succès d'au moins un établissement durable, l'espèce (ou ses diaspores) doit être introduite en quantité et en fréquence suffisantes pour exercer une pression de diaspores suffisamment importante. Plus la pression de diaspores (ou l'introduction) est forte, plus la probabilité d'établissement augmente, et avec elle le succès d'envahissement. Il y a un seuil, une masse critique, au-delà duquel l'effort d'introduction est suffisant pour permettre l'établissement des premiers individus introduits. Une fois la première population établie, d'autres pressions de diaspores successives doivent être exercées à partir de celle-ci, et doivent être suffisantes pour permettre l'établissement et la naturalisation d'au moins une diaspore dans d'autres territoires, entraînant l'envahissement avec l'implantation de nouvelles populations dans des aires distantes.

C'est ainsi qu'à chaque phase d'envahissement, il faut initialement un succès d'établissement.

Une invasion est essentiellement une combinaison et une interaction de la pression de diaspores, des propriétés de l'écosystème envahi et des caractéristiques de l'espèce envahissante, bien que leur influence n'est pas souvent égale et que leur importance est relative. Cette interaction entre les trois niveaux « événement, espèce et milieu » est souvent modulée par les humains et leurs activités. Ces facteurs directeurs des invasions agissent et interagissent différemment au cours des étapes et barrières. Comme ces facteurs fluctuent et changent dans le temps et l'espace, la chronologie, la distribution et le taux d'envahissement sont des variables dynamiques (Catford *et al.* 2008).

1.2. Le roseau commun

Pour mieux comprendre une partie de ces concepts sur les invasions biologiques, il semble important de se concentrer sur une espèce envahissante en particulier répondant déjà à un bon nombre de ces hypothèses établies. Le roseau commun (*Phragmites australis* [Cav.] Trin. ex Steud.) semble l'espèce végétale toute désignée pour ma thèse de doctorat puisque la présumée sous-espèce introduite (*Phragmites australis australis*) présente plusieurs caractéristiques d'un envahisseur à succès. Elle est relativement facile à étudier du fait de son abondance, est bien connue par la multitude des recherches déjà réalisées, et est globalement présente dans le monde entier. Néanmoins, comme de nombreuses plantes envahissantes, elle est une compétitrice redoutable grâce à l'ampleur et à la complexité de ses caractéristiques, notamment sa génétique et sa dispersion. Elle a ainsi de bons points sur lesquels s'appuyer pour échafauder des hypothèses et pour en faire les tests. Les leçons tirées seront applicables aux autres espèces envahissantes qui ont des exigences écologiques et des comportements similaires.

1.2.1. La génétique du roseau

1.2.1.1. Le contexte actuel de l'envahissement

Le roseau commun est une graminée vivace de grande taille. Il est la plante vasculaire la plus répandue dans le monde (Clevering & Lissner 1999), et probablement la plus envahissante du nord-est de l'Amérique du Nord (Lavoie 2008). Cette plante cosmopolite s'étend sur tous les continents, à l'exception de l'Antarctique, et dans presque tous les biomes, à l'exception de la toundra arctique et des forêts équatoriales pluvieuses (Mal & Narine 2004). Au Québec, deux présumées sous-espèces de roseau existent (Saltonstall 2002) : le roseau indigène provenant d'Amérique du Nord (*Phragmites australis americanus*) et le roseau exotique provenant d'Eurasie (*Phragmites australis australis*). Le statut de « sous-espèce » n'a pas encore été clairement démontré. Les analyses génétiques ont dévoilé cette nature anciennement cryptique de l'envahissement sur le continent nord-américain, avec l'existence d'au moins onze haplotypes de la lignée indigène et six haplotypes de la lignée exotique dans leurs régions naturelles respectives (Meyerson *et al.* 2012). Cependant, parmi les exotiques, il paraissait qu'un seul haplotype européen, dit M, ait été introduit dans la nouvelle région d'accueil, et il serait grandement associé aux invasions observées (Saltonstall 2002). Cet haplotype particulièrement agressif et vigoureux aurait probablement été importé accidentellement au Québec par les ballasts de bateaux au début du 20^e siècle. Ce roseau exotique, plus envahissant que son congénère indigène, constitue de nos jours 95% des populations de roseau de la province (Lelong *et al.* 2007). Néanmoins, une étude récente effectuée sur des colonies de roseau de La Pocatière et Rivière-du-Loup a identifié un nouvel haplotype exotique, dit L1, qui côtoierait l'haplotype M (Meyerson & Cronin 2013). Cette découverte suggère que plusieurs introductions de roseau commun se seraient produites sur le continent. Enfin, des cas d'hybridation intraspécifique (Saltonstall *et al.* 2014) et interspécifique (Lambertini *et al.* 2012a) ont été rapportés chez le roseau. Le caractère envahissant de ces lignées n'est toutefois pas encore déterminé.

1.2.1.2. Les analyses moléculaires et l'invasion par le roseau

L'envahissement par le roseau a intrigué pendant longtemps puisque les chercheurs ne comprenaient pas pourquoi une espèce végétale présente depuis des milliers d'années sur le continent devenait soudainement envahissante. Parallèlement à des changements environnementaux majeurs provoqués par les humains et responsables en partie de l'envahissement (comme le développement du réseau routier québécois dans les années 1960-1970), il a été découvert seulement en 2002 que deux présumées sous-espèces de roseau existaient et que la lignée exotique était responsable de l'invasion (Saltonstall 2002). Dès lors, une détection systématique des deux congénères a été nécessaire. Cette révélation de premier ordre était liée à l'avancée des technologies moléculaires de génotypage (Saltonstall 2002). C'est à cette époque que la génétique est devenue un outil indispensable pour mieux comprendre les phénomènes d'invasion. Le nombre d'envahisseurs était sous-estimé à cause de l'existence d'envahisseurs cryptiques, c'est-à-dire des espèces difficilement identifiées et/ou classées comme indigènes ou exotiques (Carlton 1996).

Au cours de la dernière décennie, l'utilisation de techniques de génotypage avec l'amplification de polymérase en chaîne de séquences nucléotidiques courtes précises, appelées marqueurs génétiques, s'est répandue pour le roseau commun, démontrant des différences moléculaires entre les individus introduits et non-introduits, plus évidentes que leurs différences morphologiques (taille des panicules, couleur des tiges, largeur des feuilles...). Au niveau spécifique, entre les deux présumées sous-espèces, la distinction est réalisée à partir d'ADN chloroplastique avec des marqueurs RFLP (polymorphisme de longueur des fragments de restriction), l'utilisation d'enzymes de restriction et le séquençage de deux régions non-codantes (Saltonstall 2003). Au sein de l'haplotype exotique, il est néanmoins extrêmement difficile de reconnaître les divers génotypes de manière morphologique. Les outils moléculaires sont donc indispensables pour différencier les individus, mais aussi comprendre la génétique et la structure des populations du roseau envahisseur. Au niveau individuel, la distinction entre les clones a recours à plusieurs marqueurs avec de l'ADN nucléaire. Les marqueurs microsatellites

ont cependant été les plus utilisés pour la diversité génétique (McCormick *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011); ces petites séquences sont très polymorphes et sont réparties sur tout le génome (Saltonstall 2002).

Néanmoins, chaque technique moléculaire a des limites et des désavantages – notamment le nombre de marqueurs utilisés, corrélé au coût et au temps –, mais elles sont sans cesse en constante amélioration. Une nouvelle technologie de caractérisation très efficace des génotypes, le génotypage-par-séquençage, vient de faire son apparition dans la dernière génération (Elshire *et al.* 2011). Elle s'appuie sur la découverte, l'identification et la validation de SNPs (marqueurs nucléotidiques). Dans le monde du végétal, elle est pour l'instant employée généralement pour des plantes cultivées, mais son potentiel pourrait facilement s'élargir à d'autres applications, comme les plantes envahissantes, malgré leur caractère naturalisé et complexe.

1.2.1.3. Les liens entre génétique, reproduction et envahissement

Le succès d'invasion est fortement influencé par la production, la dispersion et la constitution des diaspores (García-Ramos & Rodríguez 2002, Kinlan & Hastings 2005). Ces traits d'histoire de vie d'une espèce sont largement gouvernés par les modes de reproduction de l'espèce. Les ingrédients-clés pour une réussite de l'établissement et de la propagation impliquent donc la reproduction. Les plantes vasculaires peuvent exhiber une diversité considérable dans leurs stratégies reproductrices avec une variation dans l'importance relative de la reproduction sexuée versus végétative (Barrett *et al.* 2008). Cette variabilité a le potentiel d'influencer divers aspects de la dynamique d'une invasion, c'est pourquoi la connaissance sur les mécanismes de reproduction est essentielle pour comprendre la biologie d'une plante envahissante.

La reproduction influence d'importants paramètres de génétique des populations, comme la recombinaison génétique, le flux de gènes, le partitionnement de la diversité génétique au sein des populations, la différenciation génétique entre les populations (Barrett *et al.* 2008). La génétique des populations est affectée par les traits d'histoire de vie de la plante et est influencée par les caractéristiques de reproduction de l'espèce. Par conséquent, les

systèmes reproductifs d'un envahisseur peuvent entre autres être élucidés d'une manière indirecte par les analyses moléculaires et les marqueurs génétiques (Bossdorf *et al.* 2005, Novak & Mack 2005). La diversité génétique et la structure génétique sont une fonction du degré de la reproduction sexuée versus asexuée. La dispersion est un facteur qui lui influence la distribution de la variation génétique (Ouborg *et al.* 1999); son évaluation peut donc se faire par l'interprétation des résultats de diversité génétique.

Une haute diversité génétique déterminée à une échelle régionale est généralement considérée comme associée à la reproduction sexuée, qui peut faciliter une rapide adaptation évolutive. Une faible diversité génétique est généralement associée à la reproduction asexuée, qui est souvent compensée par une plasticité phénotypique élevée et une grande tolérance écologique. Dans le cas du roseau, compte tenu du caractère récent de l'invasion au Canada et d'une introduction probablement en petit nombre au cours du 20^e siècle avec quelques génotypes seulement, une grande diversité génétique est probablement associée *a posteriori* à une recombinaison sexuée plutôt qu'à un haut taux de mutation. La différenciation génétique réfère quant à elle au degré de différence génétique entre deux populations, et permet ainsi de faire référence au flux de gènes et à l'isolation génétique. Ces deux paramètres génétiques sont d'une grande utilité pour déterminer de manière globale la reproduction d'une plante, notamment celle du roseau, qui est compliquée.

Le succès d'invasion est également fortement influencé par le degré de diversité génétique au sein de l'invasion d'une plante. La diversité génétique est un facteur qui peut jouer un rôle dans le succès ou l'échec d'une introduction (Lavergne & Molofsky 2007). Il a été longtemps pensé que les introductions conduisent à une perte de diversité génétique dans l'aire d'accueil, à cause des effets fondateurs, des goulots d'étranglements et des dérives génétiques (Novak & Mack 2005). Une faible diversité génétique réduit le potentiel évolutif et une adaptation rapide aux nouveaux environnements et aux conditions locales. Cependant, il a été montré que les plantes envahissantes sont souvent génétiquement diversifiées (Bossdorf *et al.* 2005). Une diversité génétique accrue est le résultat à la fois d'une adaptation pré-introduction et d'évolution post-introduction. De par

ces deux mécanismes, elle peut être partiellement due à de multiples introductions dans le nouveau territoire (Roman & Darling 2007), au niveau initial de polyplœidie (te Beest *et al.* 2012), à l'hybridation interspécifique et au brassage intraspécifique (Ellstrand & Schierenbeck 2006), et/ou à de nouvelles mutations bénéfiques (seule force à créer de la variation génétique), mais est aussi affectée par les traits d'histoire de vie de la plante tels que les mécanismes de reproduction et de dispersion (Barrett *et al.* 2008). Une haute diversité génétique d'une plante exotique peut donc être présente dès l'introduction ou obtenue pendant l'invasion. Le roseau exotique serait pré-adapté à être envahissant avant même son introduction, et son invasion nord-américaine aurait par la suite été stimulée par une évolution rapide post-introduction, aboutissant à plusieurs traits écophysiologiques et morphologiques avantageux (Guo *et al.* 2014).

La diversité génétique et les caractéristiques reproductrices peuvent donc jouer un rôle important dans une invasion (Saltonstall *et al.* 2010). Pour les espèces végétales qui se reproduisent à la fois sexuellement et asexuellement, de nouveaux génotypes peuvent émerger par recombinaison sexuée et les génotypes gagnants peuvent se maintenir par expansion clonale. Les plantes envahissantes qui se reproduisent à la fois sexuellement et clonalement peuvent par conséquent avoir un avantage puisqu'elles peuvent rapidement coloniser de nouveaux et nombreux territoires sur toutes les distances (Stepien *et al.* 2005, Schierenbeck & Ellstrand 2009).

1.2.2. La stratégie vitale de l'espèce

1.2.2.1. Les modes de reproduction

Le roseau exotique est capable de reproduction sexuée. La production annuelle de graines est importante à partir de l'âge de 2-3 ans et se fait tard à la fin de la saison estivale (200 à 1400 graines par hampe selon McKee & Richards 1996, 350 à 800 graines par inflorescence selon Maheu-Giroux & de Blois 2007), même si seulement 0 à 5% des fleurs monoïques donnent une graine en septembre et octobre (Gervais *et al.* 1993). Le taux de viabilité des graines est très faible au Québec et varierait entre 3 et 7% (Gervais *et al.* 1993, Maheu-Giroux & de Blois 2007), mais il varie de 0 à 60% aux États-Unis en

nature (Kettenring *et al.* 2010). Une viabilité nulle a même été suggérée dans les régions où il est introduit (Dore & McNeill 1980, Tucker 1990). La germination des graines doit se faire tôt au printemps mais elle est faible, bien qu'il y ait de grandes variations en conditions contrôlées (Meyerson *et al.* 2010). Elle dépend entre autres de nombreux facteurs. Le sol doit être humide, mais ne doit pas être recouvert de plus de quelques centimètres d'eau. La température optimale doit osciller entre 20 et 35°C (Haslam 1972, Gorai *et al.* 2006). L'ombre doit être absente, ainsi que la végétation, avec un sol nu. Il est à noter qu'il vient d'être découvert que quelques graines sont dormantes à maturité (Kettenring & Whigham 2009), ce qui rend possible l'existence de banque de graines dans le sol, qui germeraient quelques années plus tard. À propos de la viabilité des plantules, peu se maintiennent après la première période hivernale. En effet, la durée et la quantité de chaleur reçues jouent sur la taille et la quantité de ressources des graines de roseau qui sont corrélées positivement à la survie des plantules (Haslam 1975, Weisner & Ekstam 1993). La saison de croissance est trop courte au Québec, et la saison de froid est trop longue. Bien que les pourcentages de réussite soient faibles au fur et à mesure des différentes étapes de l'obtention d'une plante (Mal & Narine 2004), il est forcé de constater qu'au final, une seule plante de roseau peut aboutir à l'établissement de plusieurs nouveaux individus par la reproduction sexuée. En effet, le roseau a la stratégie de produire des semences petites et légères à faible réserve nutritive, mais en très grandes quantités et facilement disséminées.

Le roseau commun est également capable de multiplication végétative par l'entremise de trois parties d'une plante : les rhizomes, les stolons et les tiges. Il dispose en effet d'un réseau très dense et vaste de rhizomes, de stolons et de tiges qui lui procure un avantage compétitif incontestable. Le roseau forme des monocultures de 100 à 200 tiges par mètre carré en moyenne, pouvant mesurer jusqu'à 6 m de hauteur (Haslam 1972). Il possède également de forts rhizomes souterrains pouvant atteindre une distance de 2 m de profondeur et des stolons très vigoureux rampants à la surface du sol pouvant mesurer jusqu'à 10 m de longueur. C'est une plante dite rhizomateuse et stolonifère. Ces diverses parties d'une plante peuvent être fracturées et créer des fragments. Ces derniers peuvent être disséminés et semblent avoir une grande capacité de régénération, produisant de

nouveaux individus (Bart *et al.* 2006), clones du parent dont ils sont issus. Ce phénomène est similaire à du bouturage. Le développement et l'enracinement des fragments sont conditionnés par plusieurs facteurs, comme un bon drainage et une faible salinité (Bart & Hartman 2003). La survie des individus issus de sections végétatives est très élevée, et elle l'est d'autant plus si les fragments sont grands (forte biomasse initiale) ou tardifs (sectionnés à l'automne), du fait de plus grandes ressources accumulées (Juneau & Tarasoff 2013).

À propos de la contribution relative des deux modes pour la dispersion à longue distance, il est généralement accepté que le roseau s'établit principalement en Amérique du Nord par le transport et l'enfouissement de fragments de plante, car le succès de la reproduction sexuée avec l'établissement de plantules viables vient seulement d'être découvert (Chambers *et al.* 1999, Alvarez *et al.* 2005, Bart *et al.* 2006). En effet, des populations de roseau récemment établies au Québec ont une très grande variabilité génétique, suggérant ainsi que la reproduction sexuée serait pour ces populations le mode prépondérant de dissémination de la plante et que le roseau est bel et bien capable de se reproduire de manière sexuée dans la province (Belzile *et al.* 2010). De hautes variabilités génotypiques entre populations ont été repérées dans d'autres régions aux États-Unis (Kettenring *et al.* 2010, McCormick *et al.* 2010). En plus des données moléculaires, l'observation de plantules de roseau dans des fossés de drainage routiers du Québec (Brisson *et al.* 2008) suggère fortement que le roseau se propage d'un endroit à l'autre grâce à la production de graines viables qui germent sur un sol fraîchement perturbé, humide et dénudé de végétation, conditions jugées essentielles pour cette réussite; ces plantules avaient survécu à la première saison hivernale. En conditions contrôlées, plusieurs études montrent un succès dans la germination des graines et/ou dans la survie et la croissance des plantules (Harris & Marshall 1960, Gervais *et al.* 1993, Wijte & Gallagher 1996, Lissner & Schierup 1997, Saltonstall & Stevenson 2007, Maheu-Giroux & de Blois 2007, Meyerson *et al.* 2010). Enfin, la nature exponentielle et rapide de la progression de l'invasion suggérerait plutôt une dissémination par voie sexuée; la multiplication végétative ne peut expliquer à elle-seule cette prolifération du roseau. Il n'en demeure pas moins que la véritable contribution relative des deux modes

de propagation, sexuée ou végétative, reste entièrement inconnue, que ce soit pour la dispersion à courte ou longue distance, notamment le long des routes et dans les marais d'eau douce.

1.2.2.2. Les vecteurs de dissémination

Les graines se disséminent principalement par le vent (anémochorie) et l'eau (hydrochorie), jusqu'à 10 km (Wilcox *et al.* 2003, Hudon *et al.* 2005, Fer & Hroudova 2009). Les fragments de roseau ont des modes de dissémination naturels tout aussi variés, l'eau constituant un vecteur important, notamment pour des fragments de tige (Minchinton 2006). La fonte des neiges au Québec peut notamment créer des radeaux de tiges. Les animaux, comme les rongeurs ou les oiseaux, prennent probablement part également à la dissémination des fragments (zoochorie), comme par exemple pour la construction de leurs refuges ou nids.

À propos des facteurs humains, le mouvement des véhicules, par exemple le vent provoqué par le trafic, peut agir comme vecteur de dissémination pour des graines de roseau comme pour celles d'autres espèces (Hodkinson & Thompson 1997, Gelbard & Belnap 2003, Zwaenepoel *et al.* 2006, Von der Lippe & Kowarik 2007, Brisson *et al.* 2008). De même, les machines de fauche, en coupant les fleurs, peuvent faciliter la dissémination des graines de roseau. Enfin, des graines peuvent se coller aux machines pour certaines espèces (Zwaenepoel *et al.* 2006, Vitalos & Karrer 2009). Pour les fragments (rhizomes, stolons et tiges), il est probable qu'ils soient disséminés involontairement par les machines d'excavation (lors du creusage ou du rafraîchissement des fossés de drainage, par exemple) et par le déplacement de terre contaminée et l'utilisation de remblais végétal (Keller 2000a, Bart & Hartman 2003). Des fragments peuvent se coincer et être déplacés par les roues des véhicules travaillant dans des colonies de roseau (Ailstock *et al.* 2001).

1.2.2.3. La croissance clonale

Quelque soit le mode de dispersion, végétatif ou sexué, l'expansion locale des populations établies de roseau se fait selon toute vraisemblance grâce à une forte propagation végétative (Douhovnikoff & Hazelton 2014), une notion à distinguer de la multiplication végétative. Cette expansion clonale se réaliserait dès la deuxième année d'établissement (Alvarez *et al.* 2005) et représenterait 80 à 90% de l'extension spatiale d'une population (Hudon *et al.* 2005). Une fois installé, le roseau se propagerait latéralement, localement et essentiellement de manière végétative (croissance clonale) par le biais de rhizomes (sous le sol) et de stolons (sur le sol ou à la surface de l'eau)(Amsberry *et al.* 2000, Bart *et al.* 2006). Les rhizomes et stolons qui se développent produisent, à intervalles réguliers et aux noeuds, de nouvelles tiges qui s'enracinent et poussent rapidement (Engloner 2009). Si les conditions lui sont favorables, le roseau peut donc envahir très rapidement une grande superficie et former des colonies monospécifiques particulièrement denses pouvant atteindre 325 tiges par mètre carré (Mal & Narine 2004). La biomasse aérienne est donc volumineuse, mais elle l'est tout autant et même plus pour la biomasse souterraine. Le taux d'expansion dans les milieux humides est rapide mais varie selon les années et les sites, avec une progression moyenne d'environ 2 à 7 m par année. Il est à noter que cette croissance clonale est linéaire dans les fossés le long des autoroutes, mais semble être circulaire dans les marais, d'après les observations de terrain et quelques recherches (Lathrop *et al.* 2003). Le roseau s'épand généralement des zones les plus favorables aux zones les moins favorables, pour explorer, capturer et partager les ressources disponibles grâce à l'imposant réseau de rhizomes et de racines (Amsberry *et al.* 2000).

Cette propagation végétative locale est supposée conduire à la production de populations uniformes et monoclonales, avec des tiges génétiquement identiques issues d'un seul individu. La diversité génétique dans les populations installées évoluerait toutefois au cours du temps (Koppitz & Kühn 2000). Après les phases d'établissement et de propagation locale de plusieurs génotypes en un site, la phase stationnaire conduirait à une intense compétition entre les clones variés. Les clones les mieux adaptés

domineraient la station au cours du temps, ce qui résulte finalement en une diminution dans la diversité génétique telle que les stations longuement établies de roseau tendent à n'être composées que d'un ou quelques clones (Koppitz *et al.* 1997). De plus, la reproduction sexuée, qui conduirait à un recrutement externe de graines et à une augmentation de la diversité, est limitée dans une population installée, du fait de la litière accumulée annuellement qui se décompose lentement (Haslam 1972); cette litière de tiges mortes et sèches bloque l'accès au sol et à la lumière pour les semences. De même, une reproduction sexuée interne au sein même d'une population installée, qui mènerait à des génotypes identiques par le processus d'auto-pollinisation, semble difficile par la présence épaisse de cette litière et de cette canopée; la monoclonalité est bien un phénomène de croissance végétative. Néanmoins, la distribution clonale au sein des colonies reste controversée : l'évolution vers une monoclonalité ou le maintien d'une polyclonalité semblent dépendre des conditions environnementales locales, notamment du degré de développement anthropique et de la disponibilité en nutriments eutrophiques (Bertness *et al.* 2002, Minchinton & Bertness 2003, Silliman & Bertness 2004). Il paraît important de résoudre cette énigme avec la situation particulière du Québec.

1.2.3. L'écologie de l'espèce

1.2.3.1. L'écologie générale du roseau

En Amérique du Nord, le roseau est abondant dans les milieux naturels, surtout dans les zones humides, vaseuses ou inondées autour des marais, des lacs, des étangs, des fleuves, des fossés de drainage et autres voies d'eau à faible débit (Hudon *et al.* 2005, Maheu-Giroux & de Blois 2007). Il connaît depuis une centaine d'années une expansion particulièrement prononcée le long des milieux humides saumâtres de la côte est américaine (Chambers *et al.* 1999, Lathrop *et al.* 2003). Il se fait également de plus en plus présent dans la région des Grands Lacs (Tulbure *et al.* 2007, Tulbure & Johnston 2010, Wilcox 2012), ainsi que le long du fleuve Saint-Laurent et les marais d'eau douce québécois (Hudon *et al.* 2005, Jodoin *et al.* 2008).

La prolifération des infrastructures linéaires avec la construction de routes, de voies ferrées, de fossés de drainage et de canaux agricoles crée de nouveaux habitats qui fournissent un vaste réseau de niches vides et disponibles exploitables par les plantes envahissantes. Les conditions écologiques dans ces milieux (site ouvert, humide, nu, sans végétation et contaminé) diffèrent souvent de celles trouvées dans les habitats naturels et sont favorables aux plantes envahissantes, notamment le roseau (Ailstock *et al.* 2001, Mauchamp *et al.* 2001, Mal & Narine 2004). Le développement et l'intensification du réseau autoroutier dans les années 1960-1970 au Québec est corrélé positivement avec la présence et l'expansion du roseau (Jodoin *et al.* 2008); les corridors routiers jouent le rôle de vecteurs de propagation et de voies de pénétration (Floerl & Inglis 2005, Joly *et al.* 2011). Les routes, surtout si elles sont larges et bien éclairées naturellement, constituent en effet les principaux corridors le long desquels le roseau se propage au Québec (Jodoin *et al.* 2008). La mise-en-place, l'utilisation et l'entretien de routes et de leurs fossés associés engendrent tout un lot de perturbations susceptibles d'initier ou de faciliter l'expansion d'espèces exotiques au sein du paysage d'une région (Hansen & Clevenger 2005, Hulme *et al.* 2008). Le roseau exotique est maintenant largement distribué le long du réseau routier du sud du Québec, et son expansion se poursuit dans les milieux adjacents.

Ces corridors linéaires ont également la particularité qu'ils sont connectés entre eux et qu'ils connectent les écosystèmes, les paysages, et les régions, contribuant fortement à une invasion. Des milieux humides naturels peuvent ainsi devenir connectés et avoir un risque accru d'invasion, puisque le roseau s'échappe facilement des emprises. À partir de nouveaux sites colonisés, d'autres habitats naturels et protégés peuvent être envahis, car une fois installé en un endroit, rien empêche la prolifération du roseau commun, et il est fréquent que les routes croisent des zones humides hautement susceptibles d'être colonisées (Lelong & Lavoie 2014).

Le roseau commun exotique est par conséquent considéré comme l'une des plantes les plus problématiques sur le continent (Catling 2005). Il constitue une menace importante pour la biodiversité.

1.2.3.2. Les paramètres abiotiques

À une échelle locale, plusieurs facteurs physico-chimiques jouent sur l'implantation du roseau, qui a une large amplitude écologique et une importante plasticité phénotypique. Le roseau est une espèce héliophile (Haslam 1972) qui est intolérante à l'ombre (Havens *et al.* 2003). La plante tolère très bien les fluctuations du niveau d'eau (Hudon *et al.* 2005), mais n'apprécie pas les milieux où le niveau d'eau dépasse 1 m au-dessus de la surface du sol (Haslam 1972, Coops *et al.* 1994, Schmieder *et al.* 2002); elle peut néanmoins croître sur sol sec, c'est une espèce amphibie. Cet haplotype supporte des niveaux de salinité beaucoup plus élevés que son congénère indigène nord-américain (Vasquez *et al.* 2005, League *et al.* 2006); elle tolère bien des niveaux de salinité modérés inférieurs à 25‰, avec un optimum entre 5 et 10‰ (Meyerson *et al.* 2000, Mauchamp *et al.* 2001, Asaeda *et al.* 2003). Cette herbacée peut pousser à la fois sur sol minéral (surtout argileux) ou organique (avec un contenu organique de 1 à 97%) (Serag 1996). Elle croît d'ordinaire sur des sols avec pH de 5,5 à 8,1 (Hocking *et al.* 1983). De plus, la lignée exotique est très tolérante à un grand nombre de polluants et de métaux lourds (Tanner 1996, Hronec & Hajduk 1998). Une quantité accrue de polluants dans le sol et de hauts niveaux de nutriments sont un important facteur dans le succès de l'invasion du roseau. Le lessivage des fertilisants de l'agriculture adjacente avantage localement le roseau par rapport à des espèces plus sensibles (Bertness *et al.* 2002), ainsi que l'azote des émissions en NOx des véhicules ou l'épandage hivernal de sels de déglacage le long des routes (Cale & Hobbs 1991, Angold 1997, Rickey & Anderson 2004, Ravit *et al.* 2007). C'est pourquoi le roseau est souvent utilisé dans les marais filtrants artificiels pour le traitement des eaux enrichies en azote (Brisson & Chazarenc 2009). La plante est en mesure d'extraire du sol de grandes quantités d'éléments nutritifs et de les emmagasiner dans ses tissus.

À une échelle du paysage, plus régionale, le roseau préfère les régions avec un nombre de degrés-jours de croissance supérieur à 1885 (Jodoin *et al.* 2008), le facteur climatique étant, de loin, le meilleur prédicteur de la présence du roseau.

1.2.3.3. Les paramètres biotiques

Il est généralement admis que le roseau a de grandes conséquences sur la végétation locale et que son envahissement a un effet dommageable sur la flore indigène (Meyerson *et al.* 2000, Keller 2000b, Silliman & Bertness 2004). L'envahisseur aurait un impact négatif à la fois sur la richesse, la diversité ou la biomasse des autres plantes vasculaires. L'haplotype M remplace notamment ses congénères indigènes et poursuit actuellement son avancée sur le continent (Lambertini *et al.* 2012b).

La germination et la croissance des plantules sont lentes et requièrent des sols nus, sans couvert végétal (Amsberry *et al.* 2000). Le roseau colonise d'abord des habitats qui lui sont très favorables (sol nu sans couvert), et il s'étend ensuite vers des milieux moins favorables végétalisés (Amsberry *et al.* 2000). Dès qu'un couvert végétal compétitif s'établit, la germination de nouvelles plantules de roseau semble être inhibée, tandis que celles déjà implantées assureront néanmoins l'établissement de l'espèce grâce à leur forte croissance végétative. En conséquence, une couverture végétale dense dès le début gêne l'établissement des plantules. L'ivraie multiflore et le bident penché seraient deux espèces herbacées à fort potentiel pour contrer le roseau (Byun *et al.* 2013). Une fois le roseau installé, il y a peu de preuves que d'autres plantes herbacées de milieux humides puissent ralentir son expansion végétative trop puissante (Keller 2000b). La quenouille (*Typha* spp.), une espèce abondante dans les zones humides, ne lui résisterait pas (Paradis 2008, Bellavance & Brisson 2010). Par contre, le sol à nu n'est pas nécessaire pour l'établissement de portions végétatives.

Les interactions avec d'autres espèces végétales peuvent sinon empêcher, ou du moins ralentir, l'établissement du roseau en agissant sur les facteurs abiotiques favorables au roseau, comme la disponibilité de ressources (lumière et espace notamment). Il est généralement constaté que les milieux fermés et les secteurs boisés sont très peu colonisés, donc la présence d'une forêt près d'un site diminue fortement le risque d'invasion. Le roseau est reconnu pour son affinité envers les milieux humides non boisés. Par conséquent, une végétation initiale ou une bordure boisée est souhaitable pour

limiter le roseau. Des preuves empiriques et des expérimentations sont requises pour confirmer ces méthodes de lutte écologiques.

1.2.3.4. Les perturbations humaines

Les principaux besoins pour l'établissement du roseau sont un milieu ouvert, peu ombragé et humide, si possible avec un apport de nutriments par les activités humaines. Trois facteurs (sol nu, site ensoleillé, plus d'azote et de sel) sont généralement dus à des perturbations et provoqués par de grands travaux (Bertness *et al.* 2002, Silliman & Bertness 2004). Les fréquentes perturbations des milieux combinées à de hauts niveaux de nutriments issus du voisinage et à diverses conditions stressantes sont des situations de plus en plus rencontrées en nature (Brisson *et al.* 2010).

L'envahissement par le roseau serait davantage une conséquence qu'une cause d'un problème environnemental, et le symptôme de maux plus graves. Il résulterait de perturbations, de stress et d'activités anthropiques comme la destruction des habitats, la pollution, l'expansion agricole, l'utilisation de remblais, les changements dans les régimes hydriques, l'eutrophisation, etc. (Marks *et al.* 1994). Le roseau est clairement dépendant des perturbations dont il a besoin et dont il tire fortement profit. Les perturbations lèvent des obstacles naturels à la prolifération et fournissent un habitat favorable à des invasions végétales (Shea & Chesson 2002), notamment le roseau exotique. Enfin, une fois établies et installées, les populations de roseau démontrent une bonne résilience voire expansion lorsqu'elles sont soumises à différents facteurs de stress et de perturbation (fauchage, baisse du niveau d'eau, etc.).

Mais de plus grands facteurs naturels conditionnent ces conditions locales : le climat doit être correct et les paramètres du sol favorables. En effet, les stations tendent à être réduites dans les régions les plus froides du Québec ou quand les conditions édaphiques sont moins propices à l'espèce (Jodoin *et al.* 2008). Au Québec, le roseau est à sa limite septentrionale de répartition dans l'est du continent nord-américain.

1.3. La problématique, les objectifs et les hypothèses

1.3.1. Les trois projets du doctorat

Cette thèse de doctorat est constituée de trois chapitres qui correspondent à trois problématiques distinctes. Ces trois projets se focalisent sur l'amélioration du savoir sur les caractéristiques (titre « mécanismes ») des plantes exotiques envahissantes (composante « espèce »), en se basant sur un cas d'étude précis (le roseau commun) et en étudiant ses compétences (« invasiveness ») de reproduction biologique (premier volet), de diversité génétique (deuxième volet) et de tolérance écologique (troisième volet) qui expliquent son succès et sa dynamique de propagation (étape « dispersion »).

1.3.1.1. La contribution relative des modes de reproduction du roseau

Bien que le roseau exotique puisse se disperser à longue distance à la fois par la multiplication végétative et par la reproduction sexuée, la contribution de chacun de ces modes est inconnue le long des fossés de drainage routiers et dans les milieux humides d'eau douce, les deux principaux habitats de la plante au Québec.

Le premier objectif est d'évaluer la participation relative des mécanismes de reproduction et des types de diaspores dans l'établissement de nouvelles populations de cet envahisseur.

L'hypothèse associée est que le roseau commun utilise majoritairement les graines pour établir des populations sur de vastes territoires, et principalement les rhizomes et les stolons pour étendre localement et durablement ces populations.

Pour répondre à cet objectif, des observations morphologiques directes de terrain de nouvelles plantules et des analyses indirectes de génétique de populations déjà installées ont été menées à plusieurs échelles pour confirmer cette double stratégie de reproduction. Le déroulement de cette étude est traité dans le chapitre 2.

1.3.1.2. L'approfondissement de la diversité génétique de l'espèce

Bien que le roseau commun ait une caractérisation de plus en plus complète de sa génétique par l'utilisation de quelques marqueurs moléculaires classiques, l'identité des haplotypes, la diversité des génotypes et l'authentification de l'hybridation nécessitent par exemple des améliorations technologiques permanentes et la levée de limitations méthodologiques.

Le second objectif est de décrire exhaustivement la diversité génétique de cette espèce, notamment pour comprendre sa reproduction, par les résultats et les avancées apportés par une nouvelle approche, le génotypage-par-séquençage.

L'hypothèse associée est que le roseau commun a une importante diversité génétique mieux décrite grâce à la résolution fournie par le génotypage nouvelle génération qui apporte des renseignements supplémentaires sur le roseau commun grâce à des milliers de SNPs, notamment la distinction des clones.

Pour évaluer cet apport, les résultats de diversité génétique de deux techniques moléculaires ont été comparés avec l'utilisation des mêmes échantillons de roseau. Les aboutissements de cet ouvrage sont présentés dans le chapitre 3.

1.3.1.3. Les contraintes écologiques des fossés de drainage

Bien que le roseau exotique soit abondant le long des corridors autoroutiers, des sections apparemment favorables à l'établissement restent toutefois particulièrement résistantes à l'invasion et sont exemptes de colonisation, même dans des régions très envahies par la plante.

Le troisième objectif est d'identifier la nature des conditions environnementales hostiles à cette herbacée réduisant ainsi ses zones d'établissement.

L'hypothèse associée est que le roseau commun est absent de quelques bords de routes du fait des conditions biologiques comme la présence d'arbres et de buissons dans les fossés de drainage qui réduisent la lumière et l'espace disponibles, et non du fait d'une colonisation en cours avec des tronçons encore non envahis.

Pour tester cette hypothèse, des modèles statistiques basés sur des données biotiques et abiotiques ont été développés pour prédire la présence ou l'absence de la plante le long d'une autoroute présentant une distribution contrastée de l'espèce. Le développement de ce travail est l'objet du chapitre 4.

1.3.2. Les considérations générales

Le roseau envahisseur a des caractéristiques déjà bien connues d'après la revue de son autécologie, et ses milieux d'envahissement le sont également selon les connaissances de l'écologie, mais des questions portant sur la diversité génétique de l'espèce, les stratégies reproductrices de la plante et les contraintes inhibitrices des fossés de drainage ne sont pas bien maîtrisées pour cet envahisseur. Mon projet de doctorat a principalement pour objectif d'élucider ces trois interrogations. Ma thèse apporte des précisions sur quelques mécanismes concernant les traits biologiques et génétiques des espèces envahissantes et les conditions biotiques et abiotiques des milieux colonisés, deux grandes approches des phénomènes d'envahissement. L'originalité de cette étude vient donc du fait d'une approche tri-dimensionnelle (génétique, biologie, écologie) pour améliorer les connaissances sur les caractéristiques du roseau qui favorisent son succès d'établissement et sa dynamique de dispersion.

Bien que les trois inconnues soient étudiées selon les deux grandes composantes des invasions (l'espèce et le milieu), déterminer plus précisément les particularités de ces facteurs lors des nouveaux établissements du roseau apporte également des éclaircissements sur la pression de diaspores au cours de la phase de propagation de cette espèce. Ces découvertes se concentrent sur des paramètres corrélés à la pression de diaspores. Chez les plantes, il est très difficile de mesurer la pression de diaspores en elle-même, peu d'études de terrain ont caractérisé numériquement cette pression, uniquement

des expérimentations de manipulation permettent de telles découvertes. Néanmoins, préciser les paramètres du succès d'établissement reste possible par le biais des deux autres composantes d'une invasion végétale. La pression de diaspores étant un élément-clé du succès d'envahissement, il faut connaître les paramètres qui l'améliorent. Mon sujet de recherche a également pour but d'établir les caractéristiques qui contribuent à la pression de diaspores de cette plante au cours des étapes successives de la propagation. Le roseau étant déjà très abondant et envahissant, il faut tout particulièrement s'intéresser aux phases de dispersion.

Répondre aux lacunes sur le roseau commun exotique permet par conséquent d'aborder des concepts de base sur les processus d'envahissement et d'apporter des exemples concrets supplémentaires à la validation de quelques hypothèses. Le roseau est ainsi utilisé comme plante modèle dans un contexte québécois et comme moyen pour arriver à nos fins. Ces découvertes auront également des résultats pratiques et des bénéfices applicables sur le roseau en permettant aux gestionnaires, aux ministères et aux municipalités de développer de nouvelles méthodes efficaces dans la prévention ou la lutte contre le roseau exotique envahisseur. Il est crucial de définir les modes de reproduction, les conditions d'établissement et la distribution des individus afin de cibler les sites sensibles à la colonisation et de protéger les sites pas encore colonisés. Ces mesures de gestion reposeront sur des bases scientifiques solides en écologie et adaptées au contexte québécois.

En somme, l'hypothèse générale testée est que le roseau exotique connaît un brassage génétique et se disperse effectivement au Québec par graines dans des fossés de drainage ouverts exposés au soleil et dénués de végétation arborée.

Les chapitres 2-3-4 constituent le corps principal de la thèse et relatent les principaux résultats des recherches sous forme de trois articles scientifiques. Les premières versions de ces trois chapitres de recherche ont été en totalité élaborées, produites et écrites par le postulant au Doctorat. Les coauteurs ont tous contribué à des révisions de ces manuscrits, et ont donné leur accord pour l'inclusion de ces versions des articles dans la thèse. Enfin, les directeurs du doctorat ont fourni pour les projets l'aide intellectuelle, expérimentale et

morale nécessaire pour la planification, l'exécution, l'analyse, la rédaction et la réussite des recherches.

CHAPITRE II : STRATEGIES FOR A SUCCESSFUL PLANT INVASION : THE REPRODUCTION OF *PHRAGMITES AUSTRALIS* IN NORTH-EASTERN NORTH AMERICA

Arnaud Albert, Jacques Brisson, François Belzile, Julie Turgeon, Claude Lavoie

Ce manuscrit a fait l'objet de la publication scientifique suivante :

Albert, A., Brisson, J., Belzile, F., Turgeon, J., and Lavoie, C. 2015. Strategies for a successful plant invasion : The reproduction of *Phragmites australis* in north-eastern North America. *Journal of Ecology*, 103, 1529-1537.

2.1. Summary

1. Knowing the relative contribution of vegetative propagation and sexual reproduction to the dispersal and establishment of exotic plants is crucial for devising efficient control strategies. This is particularly true for the common reed (*Phragmites australis*), one of the most invasive species in North America.
2. For the first time, we combined *in situ* field observations and genetic evidence, based on two genotyping techniques, that is microsatellite markers (SSR) and genotyping by sequencing (GBS), to determine the propagation strategies of this invader at its northern distribution limit in North America and especially in roadside ditches.
3. Field observations revealed that, in a region where the common reed is already abundant, both seeds and plant fragments contributed to the establishment of new populations. Newly established individuals originated mostly (84%) from seeds rather than fragments, but a larger proportion of individuals originating from fragments survived the second year compared to seedlings.

4. High genetic diversity among marsh and roadside common reed stands indicated the prime role of sexual reproduction for dispersal. The vast majority of genotypes were found in only one stand; such high genetic variability can only be explained by sexual reproduction. Half the surveyed stands comprised a single clone, suggesting that local expansion mainly occurred vegetatively. As the small proportion of SSR genotypes initially thought to be common between distant stands proved to be distinct (as revealed by GBS data), it is likely that all the stands examined were initially founded by genetically distinct individuals.

5. *Synthesis*. Our study suggests that long-distance dispersal by seeds is important for the common reed, in marshes and roadsides, while both seeds and plant fragments contribute to short-distance dispersal along roads, at least in regions where the species is already abundant. The success of this invader in North America seems to be attributable to a reproduction strategy combining the advantages of sexuality with those of vegetative propagation. Moreover, this study shows that the GBS approach strongly reduces uncertainties associated with the use of a limited number of markers. This approach is especially valuable for ecologists dealing with an ever-increasing number of invaders, of which few have identified microsatellite markers.

Key words : biological invasion, common reed, dispersal, freshwater wetlands, genotyping by sequencing, invasion ecology, road ecology, sexual reproduction, vegetative propagation.

2.2. Introduction

Invasive plants can use different reproductive strategies to colonize new areas. Ramets from vegetative propagation have higher growth and survival rates than seedlings from sexual reproduction, but their dispersal is generally restricted to short distances (Holsinger 2000, Barrett *et al.* 2008). Seeds may be produced in great numbers and are usually more effective for rapidly initiating new populations, especially far from the parental plants (Barrett 2011a). However, invasive plants using mainly sexual

reproduction for establishing new populations are subject to several constraints, such as the absence of pollination or dispersal vectors, adverse climatic conditions preventing seed maturation, or a scarcity of suitable sites for seed germination; all these constraints can slow the spread of the plants (Barrett 2011b). Consequently, exotic species using both strategies (vegetative propagation and sexual reproduction) may have a higher invasion success than others (Winkler & Fischer 2002). Knowing the relative contribution of each reproduction mode to the propagation of an invasive species is crucial for devising efficient control strategies. Control methods based on a misunderstanding of dispersal mechanisms risk failure because such efforts do not target plant parts from which new populations arise.

The common reed *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. (Poaceae) is an invasive plant for which understanding dispersal mechanisms is important for a better control. The haplotype M of this species was accidentally introduced in North America from Eurasia at one or more coastal ports along the Atlantic coast, potentially as early as the first half of 19th century (Saltonstall 2002). This haplotype M has become very abundant in coastal tidal marshes (Rice *et al.* 2000, Warren *et al.* 2001, Philipp & Field 2005, Chambers *et al.* 2008) and, more recently, in freshwater wetlands of the Great Lakes – St. Lawrence River system (Wilcox *et al.* 2003, Hudon *et al.* 2005, Trebitz & Taylor 2007, Tulbure *et al.* 2007). The plant used road drainage ditches for spreading inland (Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009, Brisson *et al.* 2010). The chloroplast haplotype M represents 95% of all common reed populations of the province of Quebec (Canada) and is consequently much more common than the native haplotypes (Lelong *et al.* 2007).

Since the common reed is abundant in roadside ditches, and these ditches are frequently disturbed through maintenance, it was previously hypothesized that stem or rhizome fragments, accidentally carried over short or long distances by mechanical diggers, were responsible for the spread of the plant (Bart & Hartman 2003, Mal & Narine 2004, Catling & Mitrow 2011). Moreover, at the northern distribution limit of the species, low seed viability rates resulting from short growing seasons were assumed to preclude seedling establishment (Gervais *et al.* 1993, Maheu-Giroux & de Blois 2007). However,

the recent rapid spread of the common reed over large areas (Lelong *et al.* 2007), and the development of vast populations over very short periods (Hudon *et al.* 2005, Maheu-Giroux & de Blois 2007, LeBlanc *et al.* 2010), challenged the assumption that plant fragments were the only effective diaspore. Common reed seedlings found in freshly dug roadside ditches in Quebec indicated that sexual reproduction also contributed, at least locally, to the spread of the plant (Brisson *et al.* 2008). Moreover, high levels of genetic diversity in common reed populations from eastern Canada (Belzile *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011) and the eastern coast of the United States (McCormick *et al.* 2010a,b) strongly supported the role of seeds in the establishment of new populations.

Direct evidence of successful sexual reproduction for the invasive common reed, such as seedlings, is nevertheless scarce, and the relative contribution of sexual reproduction and vegetative propagation to the short and long-distance dispersal of the plant remains unknown. It is likely that the common reed uses seeds for establishing populations over large distances and vegetative structures (rhizomes, stolons) for locally (within a few metres) expanding populations, but this hypothesis remained to be substantiated with large-scale field data. Here, we combine for the first time *in situ* field observations and genetic evidence to show that the common reed uses this double strategy to successfully invade new sites and establish populations at its north-eastern distribution limit in North America.

2.3. Materials and methods

Two approaches were used to assess the relative importance of vegetative and sexual reproduction for the common reed. First, we used field observations to determine the relative frequency and survival rate of new individuals (physically distinct, physiologically independent units) originating from seeds or plant fragments. Secondly, we examined small- and large-scale spatial patterns of genetic diversity and structure within and between common reed stands. Vegetative reproduction should result in low genetic diversity, and we expected clonal genotypes to be found only in close proximity within stands or in nearby stands. Sexual reproduction should result in high genetic

diversity within and between stands, and natural limits to the dispersal and establishment of seeds should lead to greater genetic similarity in spatially proximate stands.

2.3.1. Study area

The study area is located in the St. Lawrence River valley, southern Quebec, eastern Canada (Figure 2.1). These fertile lowlands are mostly occupied by large agricultural fields (corn, soya bean) and crossed by roads and several rivers. The two main urban centres are Montreal and Quebec, which are linked by a four-lane highway (H20) on the south shore of the St. Lawrence River. The climate is humid continental, with short, warm and humid summers and long, cold and dry winters. Average mean temperatures in July and January range from 19 (Quebec) to 21°C (Montreal), and from -10 (Montreal) to -13°C (Quebec), respectively. Mean annual precipitation totals 1000 (Montreal) and 1190 mm (Quebec; Environment Canada 2014).

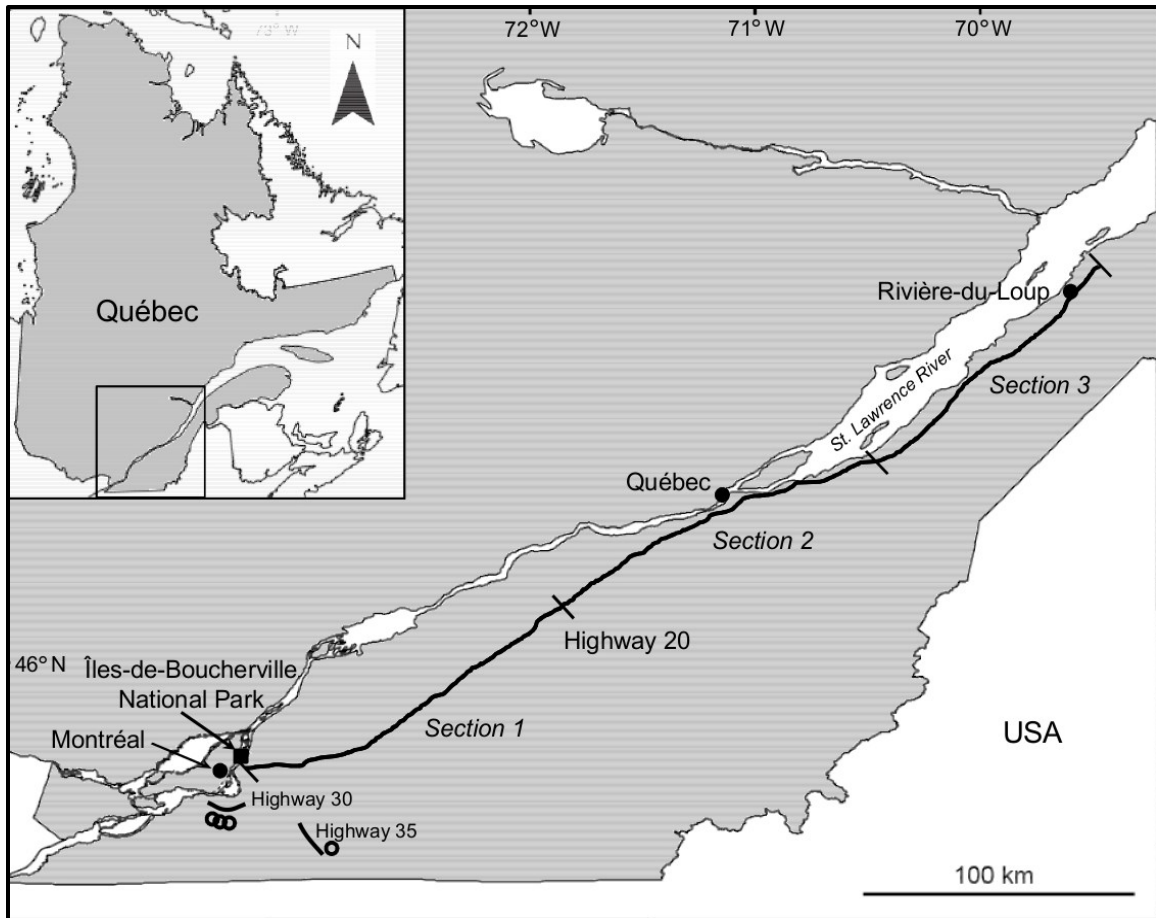


Figure 2.1. Location of the sites sampled in southern Quebec (Canada) for the evaluation of the genetic diversity of common reed (*Phragmites australis*) stands : Highway 20 (black line) and Îles-de-Boucherville National Park (black square). The locations of Highway 30, Highway 35 and of the national roads (grouped into four sectors, each corresponding to an open circle) sampled for field observation of new common reed individuals are also indicated, along with the other place names cited in the text.

2.3.2. Establishment and survival of common reed individuals

Newly created roadside ditches represent *a priori* excellent sites to test the relative success of vegetative versus sexual reproduction for establishing new common reed stands. There is a high probability that plant fragments found on such sites were inadvertently transported by machinery or contained in fill. Roadside ditches also offer

the bare, wet and unshaded grounds propitious for seed germination and seedling establishment. An exhaustive search for appropriate study sites was undertaken by visiting all roadwork projects underway in the summers of 2010 and 2011 on highways and national roads in the Montérégie region in southern Quebec, a region where the common reed invasion is well advanced (Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009). We located four sections along two nearly completed highways (H30 and H35) with newly excavated ditches that were not yet colonized by the common reed, but were bordered by common reed stands, and 14 additional sections along national roads (Figure 2.1), for a total of 9650 m of ditches.

Marshes near the shores of the Îles-de-Boucherville National Park (hereafter IBNP), a protected group of islands in the middle of the St. Lawrence River close to Montreal (Figure 2.1), were also scouted for new common reed individuals. The largest (86 ha) complex of common reed stands in the St. Lawrence River is located in the marshes and along the shores of this park; the area covered by the stands has increased by 20% each year since the beginning of the 1990s (Tougas-Tellier 2013). The water level of the river was exceptionally low in 2010, exposing mudflats and thus creating potential establishment sites for new individuals of the common reed (Weisner & Ekstam 1993, Coops & van der Velde 1995, Tulbure & Johnston 2010). We found two small marshes that were easily accessible and presumably suitable for the establishment of common reed stands. Their total area was about 800 m². They were also in close proximity to existing common reed stands.

Study sites were scouted for new common reed individuals at the end of the summer (August) in 2010 (roads, marshes) and 2011 (roads). New individuals were georeferenced with a global positioning system. Those emerging from a seed (very thin) or from a stem or rhizome fragment (very robust) were easily distinguished *in situ* (see Brisson *et al.* 2008 for details).

While the survival rate of new individuals established from plant fragments is assumed to be high beyond the first growing season (Juneau & Tarasoff 2013), seedlings require a sufficiently long growing season to reach a critical size and accumulate enough resources

in their storage organs to survive their first winter (Haslam 1975). To investigate the respective survival rates of individuals emerging from seeds versus plant fragments, we resurveyed in 2011 the central section of H30 (4.2 km long) where the largest number of new individuals had been detected in 2010 (over 3700), and relocated all surviving individuals using the global positioning system.

2.3.3. Population genetics of common reed

2.3.3.1. Sampling scheme

Leaves of common reed were sampled in summer 2009 along a 416-km stretch of H20, from Montreal to Rivière-du-Loup (Figure 2.1). H20 is a split highway, with two parallel lanes for each travel direction (east and west). For sampling purposes, H20 was divided into three sections which differed in size and density of common reed stands, according to a survey carried out in 2003 (Jodoin *et al.* 2008). In the first and southernmost section (130 km), constructed between 1964 and 1966, the common reed forms nearly continuous hedges in the drainage ditches. In the second section (150 km), constructed between 1964 and 1970, stands are less abundant, and about 5–20% of the length of the ditches are occupied by the common reed. In the third and northernmost section (136 km), constructed in 1972, common reed stands are scattered, and less than 5% of the length of ditches are invaded by the plant.

A total of 99 official kilometre markers (33 in each of the three sections of H20) were randomly selected, and the common reed stand located in front of a selected marker was used for sampling leaf tissues. If no stand was located in front of the marker, the next closest stand was used. Leaf tissues were collected at three different spatial levels. A sample was collected from a shoot located at the centre of each stand, or in front of the kilometre marker in the case of very large stands, in the middle of the drainage ditch (level 1). Eight additional samples were collected from shoots at 3-m intervals (four towards the west and four towards the east) along the drainage ditch (level 2, $N = 9$). Some stands were very short (< 12 m, especially in the northeasternmost section of H20), and they were sampled only if at least five shoots could be collected at level 2; otherwise,

another stand (the next one) was selected. Following a first round of genetic characterization with microsatellites, the five most diverse stands within each highway section were revisited for a more detailed characterization. Four additional samples were collected 1 m from each of the nine shoots sampled at level 2, one in each cardinal direction (level 3, $N = 45$).

The marshes located in the IBNP were also sampled. Several circular stands of common reed were clearly visible on aerial photographs of the marshes, suggesting clonal (vegetative) expansion. Ten distinct circular common reed stands were randomly selected for sampling. As for H20, three sampling levels were used. One shoot was sampled at the centre of the stand (level 1). Eight other shoots were collected in each cardinal direction, four positioned at the margin of the stand and four others located at the mid-point between the margin and the central point (level 2, $N = 9$). Finally, four additional samples were collected in the immediate vicinity (1 m) of each of the nine previously sampled shoots in each cardinal direction (level 3, $N = 45$).

2.3.3.2. Genetic characterization

Fresh leaf samples (1 cm²) were collected in tubes with desiccant, kept at ambient temperature and protected from light. DNA was extracted from dried leaves using the procedure of Wenzl *et al.* (2004). Two different genotyping techniques were used and compared. First, genotyping was performed with a set of six polymorphic microsatellite (SSR) markers (Saltonstall 2003) that were suitable for analysis in multiplex : PaGT-4, PaGT-8, PaGT-9, PaGT-11, PaGT-13 and PaGT-16. Amplifications and electrophoresis were performed (see Belzile *et al.* 2010 for details). Results were visualized and analysed with SAGA^{GT} microsatellite analysis software (LI-COR Biosciences 2013). Given the uncertainty about ploidy levels and di- or tetrasomic inheritance, no attempt was made to estimate the copy number of each allele. Following the approach used in previous studies (McCormick *et al.* 2010b, Kirk *et al.* 2011), alleles at each SSR locus were scored as present (1) or absent (0) and used to define allelic genotypes (hereafter ‘SSR genotypes’).

Secondly, single nucleotide polymorphisms (SNPs), developed by genotyping by sequencing (GBS), were used to evaluate whether identical SSR genotypes were truly identical and whether a finer evaluation of clonal identity affected genetic diversity estimates. As the resolution of the SSR analysis was likely limited by the small number of loci, it was hypothesized that individuals sharing the same multilocus SSR genotype were not truly identical genomewide. A single shoot from 79 stands along H20 (18 in section 1, 31 in section 2 and 30 in section 3, respectively), and from nine stands of the IBNP, was analysed. An 88-plex *PstI/MspI* GBS library was produced using the protocol of Poland *et al.* (2012) at the Plate-forme d'analyses génomiques (Université Laval, Quebec, Canada) and sequenced on a single lane of an Illumina HiSeq2000 (McGill University – Génome Quebec Innovation Center, Montreal, Canada). After sequencing, the UNEAK pipeline (Universal Network Enabled Analysis Kit; Lu *et al.* 2013) was used to call SNPs. Initial filtering was performed using a minimum minor allele frequency (mnMAF) of 0.05 and a minimum call rate (mnC) of 0.8. An in-house Python script was used to more stringently filter genotype calls in the context of a tetraploid. A minimum of 11 reads supporting a genotype call was required; genotypes supported by fewer reads were replaced with an N (missing data). If all reads for an individual were identical, it was deemed homozygous. If two alleles were detected, the frequency of reads corresponding to the minor allele (i.e. the less frequent of the two) had to be ≥ 0.15 ; if lower than this, the individual was called homozygous. This was implemented to correct the propensity of UNEAK to falsely call heterozygotes based on highly unbalanced read counts supporting two alleles (e.g. 1A:60G). Following this correction, SNPs were again filtered for mnMAF (0.05) and mnC (0.8) in TASSEL (Bradbury *et al.* 2007). In addition, we wished to verify that shoots from stands considered monoclonal based on SSR markers truly shared an identical genotype. We thus compared pairs of samples taken in seven monoclonal stands (three along H20 and four from IBNP). A 14-plex *PstI/MspI* GBS library was sequenced on one-sixth of a sequencing lane, and SNP calling and filtering was performed as described above.

As a complement, RFLP analysis of chloroplast DNA (see Lelong *et al.* 2007 for details) was conducted on all samples to confirm that they corresponded to the exotic common

reed haplotype M. In addition, the recent discovery of a new exotic common reed haplotype (L1) in eastern Quebec (Meyerson & Cronin 2013) led us to verify whether some of the sampled stands were colonized by this haplotype, especially in the northeasternmost section of H20 that is very close to the two L1 populations that have been found. The six H20 stands closest to these populations and six other stands (randomly selected) from the two other H20 sections were tested for the presence of haplotype L1 using the method described in Meyerson & Cronin (2013).

2.3.3.3. Genetic diversity

Genetic diversity within common reed stands was described using the number of different multilocus SSR genotypes (G) and an index of genotypic richness ($R = [G - 1] / [n - 1]$; see Dorken & Eckert 2001 for details). Identical genotypes were initially assumed to represent clones resulting from vegetative reproduction, and unique genotypes were interpreted as probable evidence of sexual reproduction. All comparisons between stands were performed with a reduced data set including only one representative of each genotype per stand.

Pairwise genetic distances between genotypes were estimated for both SSRs and SNPs. For SSRs, a binary (0/1) score was used for each allele at each locus, and the resulting matrix was used to calculate genetic distances with TASSEL (Bradbury *et al.* 2007). For SNPs, the DNADIST application in PHYLIP (Felsenstein 1989) was used to produce a distance matrix (F84 and neighbor-joining methods). Mantel's test was conducted with the XLSTAT package (Addinsoft, 2014) to evaluate the correlation between the two resulting genetic distance matrices. The genetic similarity between stands was analysed with SNP data (more accurate than SSR data for this purpose) and using a model-free principal coordinate analysis (PCoA; Gower 1966). The analysis was implemented in GENALEX (Peakall & Smouse 2006, 2012) using Euclidean genetic distance matrix converted to standardized covariance.

2.4. Results

2.4.1. Establishment and survival of common reed individuals

New common reed individuals were observed at all roadside sites visited in 2010 and 2011. A total of 5340 new individuals were found over a distance of about 9.7 km of drainage ditches (Table 2.1). Most (84%, all roadside ditches) had emerged from seeds; this proportion differed between sites, but was never below 50%. The other individuals were sprouts from rhizome fragments. Most seedlings were observed on soils that had been left bare during the winter and not disturbed the following spring and summer. The two marshes of the IBNP had a few seedlings; no individuals from plant fragments were discovered (Table 2.1).

In the follow-up survey performed in the central section of H30, only 50 of the 3727 new individuals found in 2010 were still present in 2011. Among the surviving individuals, those originating from plant fragments survived in greater proportion (31 out of 215; 14.4%) than those that emerged from seeds (19 out of 3512; 0.5%).

Table 2.1. Number of new common reed (*Phragmites australis*) individuals discovered in two marshes of the St. Lawrence River (Îles-de-Boucherville National Park (IBNP)) and along the ditches of several highways (H) and national roads located in southern Quebec, and percentage of the individuals originating from seeds.

Site	Year	Area (marsh) or length (ditch) covered	N shoots	Shoot density	Seedlings (%)
IBNP	2010	800 m ²	16	200/ha	100
H30, eastern section	2011	950 m	69	73/km	64
H30, central section	2010	4220 m	3727	883/km	94
H30, western section	2011	545 m	753	1382/km	50
H35	2011	2535 m	346	137/km	81
National roads	2011	1400 m	445	318/km	66
All (road ditches only)		9650 m	5340	553/km	84

2.4.2. Population genetics of common reed

The analysis of chloroplast DNA (level 1) indicated that all but two samples corresponded to the exotic common reed haplotype M; the two distinct samples corresponded to the native common reed. In addition, the haplotype L1, documented by Meyerson & Cronin (2013), was not found in the 12 shoots analysed. Summed over all six microsatellite loci, 27 different alleles were identified (PaGT-4 : 5 alleles; PaGT-8 and PaGT-13 : 2 alleles each; PaGT-9, PaGT-11 and PaGT-16 : 6 alleles each). The number of genotypes detected (H20 and IBNP combined) with SSR markers was high at all sampling levels, with 91 ($N = 106$ samples), 184 ($N = 818$) and 251 ($N = 1451$) unique genotypes identified at levels 1, 2 and 3, respectively. At every level, about 85% of the documented genotypes were found at a single reed stand.

Genotypic richness within stands was variable but generally low with SSR markers. At level 2, nearly half (49%) the stands comprised a single genotype, and only 10% comprised five or more; however, up to 28 distinct genotypes were found at one H20 site

(level 3, $N = 37$, $R = 0.75$; Table 2.S1 in Supporting Information). Genotypic richness also varied spatially. It was very low at IBNP, where nine out of the ten sampled stands were monoclones, while the other stand comprised only two genotypes. Along H20, monoclones were interspersed with genetically diverse stands, but there were no marked differences in genetic diversity among sections or any suggestion of a gradient along the highway (Figure 2.2). Sampling more shoots per stand (level 3 versus 2) resulted in apparent lower genotypic richness as measured by the index used (one-sided paired t-test on 15 values of R : $P < 0.0001$; Table 2.S1).

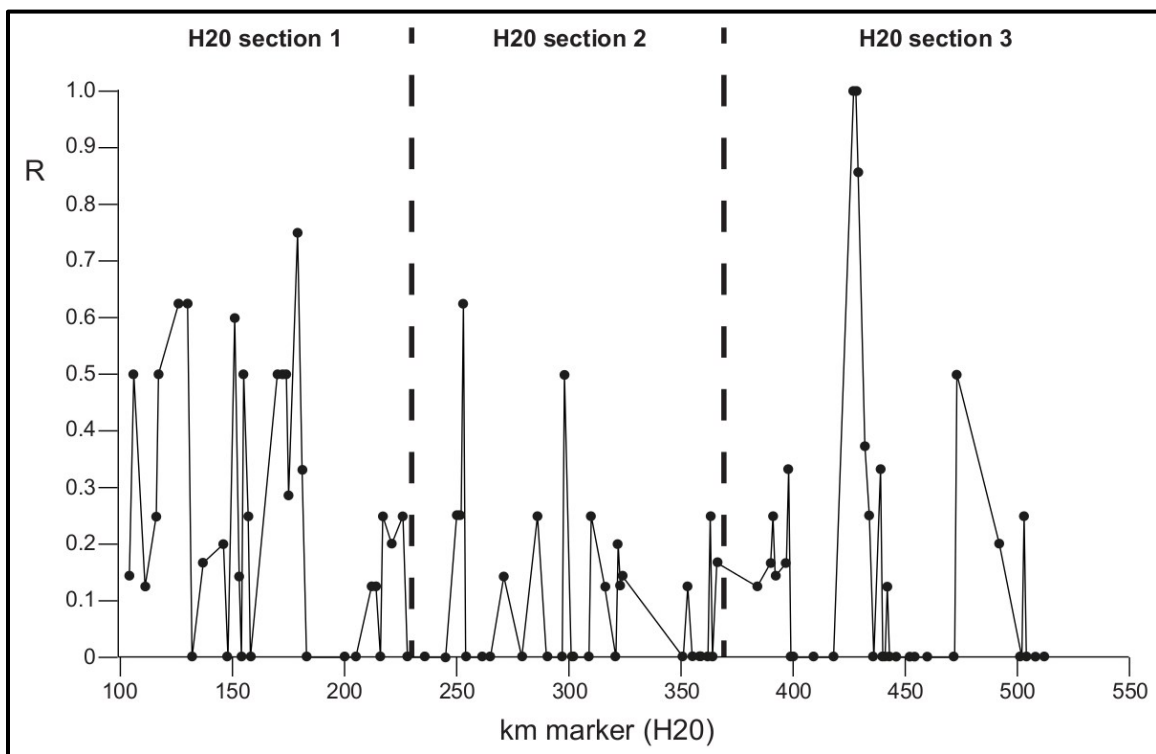


Figure 2.2. Spatial distribution of the genotypic richness (R ; SSR markers) of the common reed (*Phragmites australis*) stands sampled along Highway 20 (H20) in southern Quebec. R values were calculated for sampling level 2, i.e., with a maximum of nine samples (shoots) per stand (see text for details). The borders between the different sections of H20 are indicated with dotted lines.

The distribution of samples with identical SSR genotypes was spatially clustered within and between stands. Within stands, identical genotypes found in genetically diverse

stands tended to be located near each other, as expected from clonal growth (Figure 2.3). Between stands, identical genotypes also exhibited some spatial clustering (data not shown). Along H20, 31 identical multilocus SSR genotypes were found at more than one site (50 sites in total).

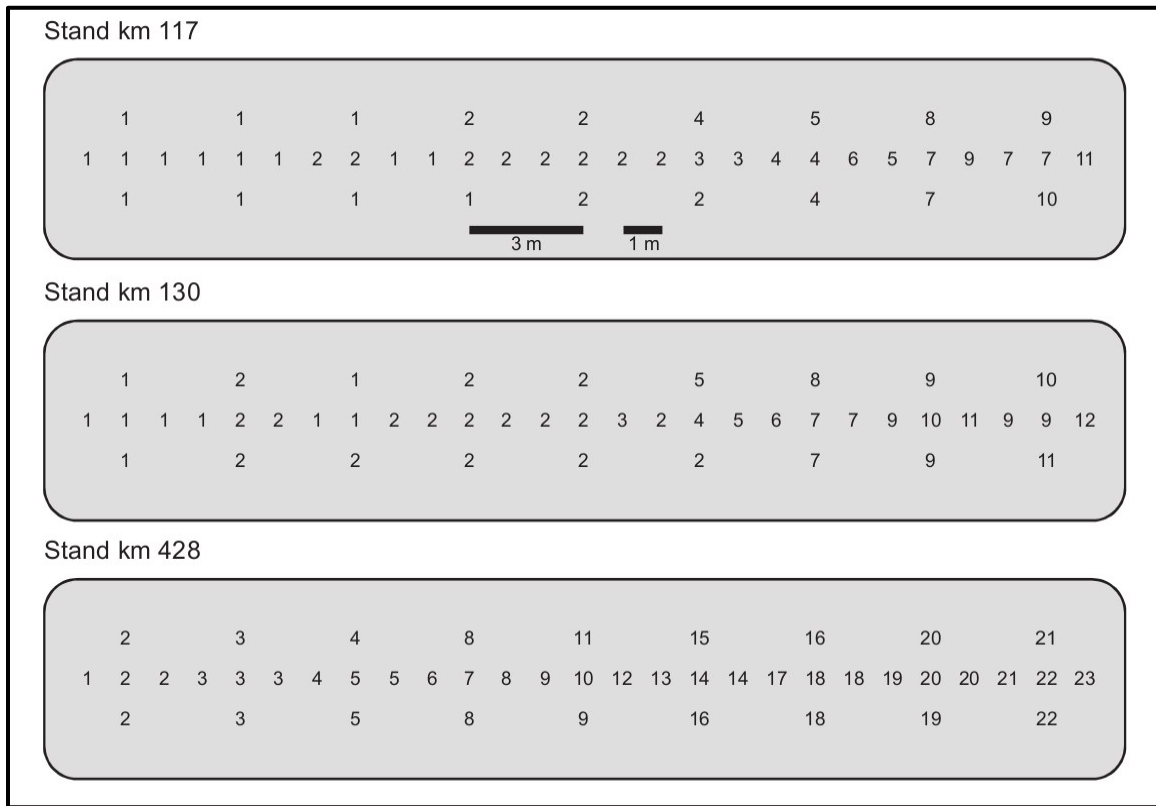


Figure 2.3. Representative distribution of genotypes (SSR markers) in three of the most diverse stands of common reed (*Phragmites australis*) sampled along Highway 20 in southern Quebec. Within each stand, identical Arabic numerals represent plant shoots belonging to the same genotype (numbered arbitrarily).

Genotyping by sequencing clearly showed that shoots with the same SSR genotype were genetically different when located in different stands, but truly identical when sampled in the same stand. Among the 88 samples from different stands, a total of 75 different genotypes were distinguished using SSRs (65 singletons, 7 duos and 3 trios). In contrast, based on the catalogue of 5538 biallelic SNPs, all 88 shoots proved to have distinct SNP genotypes. However, duplicate stand samples with identical SSR genotypes also had

identical SNP genotypes at all loci for which a genotype could be called in both pair members (90.5% of all loci on average).

Although GBS provided a better resolution for identifying clones, it appears that genetic similarity between genotypes was nevertheless correctly assessed with SSRs. Distance matrices based on SSRs and SNPs were lowly but significantly correlated ($r = 0.62$, $P < 0.0001$), indicating that both sets of markers yielded similar estimates of genetic distances. Samples that shared identical SSR genotypes (i.e. with a genetic distance of 0) exhibited small but measurable genetic distances based on SNPs (mean = 0.106). Overall, genetic distances ranged between 0 and 0.630 with SSRs and between 0.003 and 0.430 with SNPs.

PCoA calculated with SNP data indicated that common reed shoots sampled from H20 section 3 almost formed a distinct genetic group (Figure 2.4). The first multivariate axis explained 28% of the genetic variation, and clearly separated most of genotypes found in H20 section 3 (negative values on axis 1) from all other genotypes (positive values on axis 1). Five H20 section 3 subgroups, geographically clustered, were also grouped by the PCoA along the second multivariate axis.

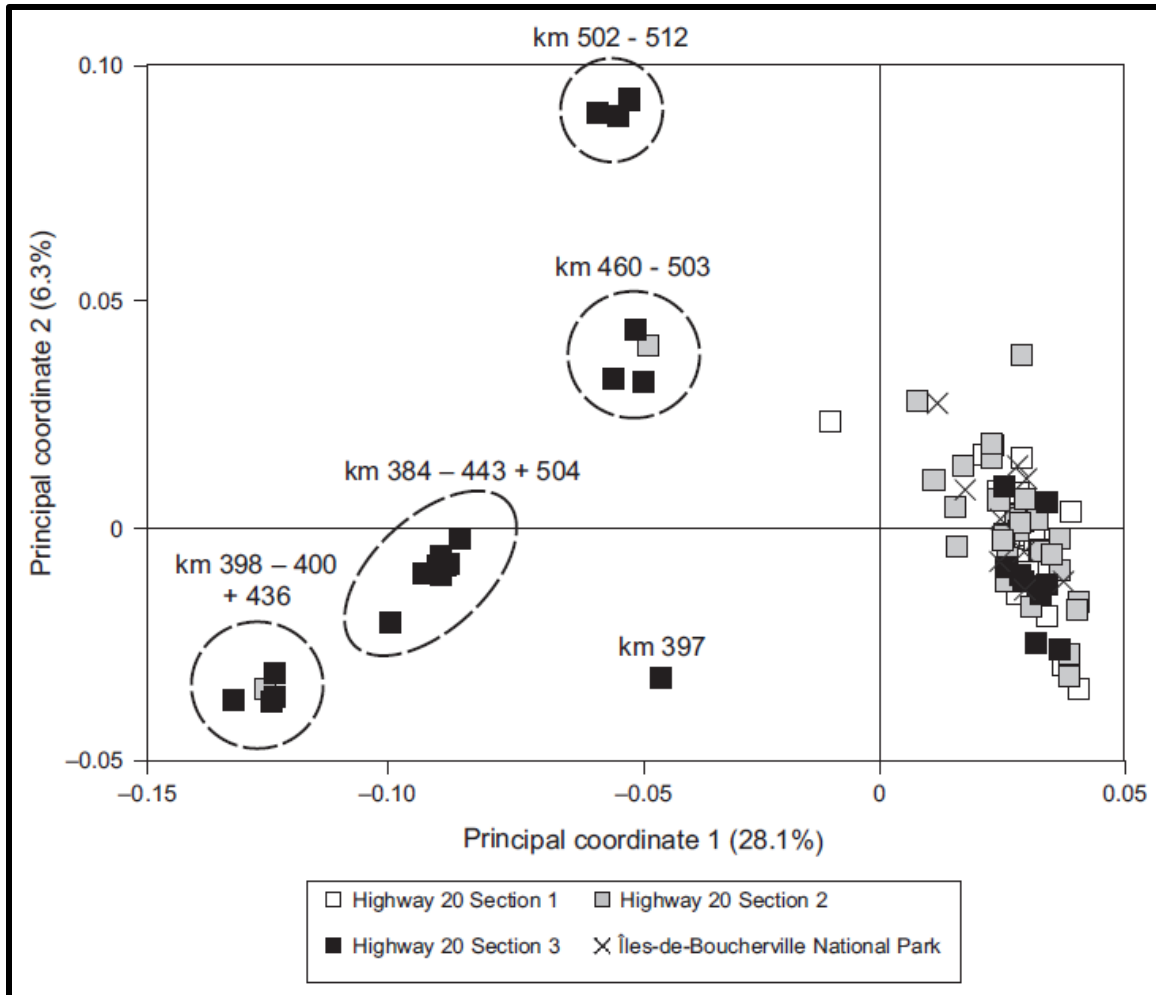


Figure 2.4. Principal coordinate analysis (PCoA) showing the two dimensional genetic relationships between individuals (shoots) of common reed (*Phragmites australis*) sampled in southern Quebec along Highway 20 and at the Îles-de-Boucherville National Park.

2.5. Discussion

In situ field observations revealed that both sexual and vegetative reproduction modes contribute to the establishment of new stands of common reed along roads in southern Quebec. The relative contribution of each was quite variable between sites, but overall, new common reed individuals originated mostly (84%) from seeds rather than plant

fragments. The environmental characteristics suitable for the germination of seeds – a bare and wet soil free from plant competition (Mal & Narine 2004, Saltonstall *et al.* 2010) – were present in the bottom of newly excavated ditches.

Mortality following the first winter may reduce the proportion of new common reed individuals arising from seed. Along H30, a low proportion (0.5%) of the seedlings found in year one (2010) were still alive in year two (2011), whereas a greater proportion of sprouts (14.4%) from fragments survived the winter and roadside management. In a previous survey also conducted in southern Quebec, the 2-year survival rate for 38 seedlings established in an undisturbed roadside ditch was 29% (Brisson *et al.* 2008). This suggests that along H30, most of the common reed mortality was caused by human activities rather than by natural factors. It also indicates that sprouts from plant fragments may be more resistant to disturbances than seedlings.

Despite the high mortality rate of common reed along H30, 19 individuals from seedlings and 31 from plant fragments were recovered over the 4.2 km of roadside ditches surveyed in year two, and all of them initiated local vegetative propagation with rhizomes and stolons : they thus also contributed to the spread of the plant. This could be particularly true in a region where common reed stands are already abundant (which is the case for H30) : established stands generate a dense seed rain but are also potential sources of vegetative fragments that may be accidentally transported through soil fill or machinery used for roadworks.

While short-term surveys indicate the relative contribution of each diaspore type, genetic diversity of established populations provides a long-term account of establishment modes. The very high genetic diversity observed among highway stands indicates the prime role of sexual reproduction in the dispersal of common reed, at least in a context where reed stands were initially not very abundant in the landscape (H20 was built from 1964 to 1972, when common reed density was much lower). SSR markers strongly suggested, and SNPs further confirmed, that separate stands rarely, if ever, share genotypes. Such a high level of genetic variability can only be explained by the dispersal of sexually produced seeds over extensive areas (Holsinger 2000, McCormick *et al.*

2010b, Kirk *et al.* 2011). It is likely that a large majority, if not all stands examined in this work, were initially founded by genetically distinct individuals. This finding is in agreement with other recent studies on this species in eastern Canada (Belzile *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011) and the United States (McCormick *et al.* 2010a,b). Our results also suggest that vegetative reproduction is very important for the local spread of common reed (see also Douhovnikoff & Hazelton 2014). Half the surveyed stands comprised a single clone, suggesting that local expansion occurs by means of stolons or rhizomes forming new shoots. This expansion often extends over at least 26 m (sampled length of H20 stands) or 100 m (IBNP).

Our sampling along more than 400 km of highway corridor confirmed that long-distance dispersal by seeds is very important, but spatial genetic clustering along the highway also suggests that gene flow by seeds is constrained. In the northeasternmost section of H20 (section 3), many stands comprised a distinct group of genotypes compared to the other sections of H20 and IBNP. This suggests that each group of genotypes has great difficulty to establish in the territory occupied by the other group. Given the apparent continuity in ecological conditions along H20 sections, this genetic discontinuity may be the result of the colonization of H20 section 3 by a distinct lineage. Dense stands already established in the other H20 sections may have prevented the establishment of rare long-distance seeds dispersed westward. Physical limits to the dispersal and establishment of seeds have also apparently played a role at a smaller spatial scale. Within H20 section 3, distinct subgroups of genotypes spanned over separate stretches of the highway but did not mix. This suggests that patches, once established, are not easily invaded by other genotypes.

In the studied marshes (IBNP), the unique genotype found in each common reed (with one exception) stand suggests that dispersal and establishment happen by seeds. Lateral expansion is wholly attributable to vegetative reproduction resulting in monoclonal stands. Although the number of sampled stands is small, our results contrast with those found in brackish wetlands of Maryland by McCormick *et al.* (2010b). These authors also found that seeds likely initiated stands, but virtually no stands were monoclonal. Possible

explanations include that seed production and/or seedling survival were much higher in their wetland area, which is probable considering its more southern location (warmer climate). Also, samples were taken from shoots at the periphery of very large stands that may have arisen from the aggregation of several smaller patches established by distinct genotypes.

2.6. Conclusion

Field and genetic data suggest that the invasive haplotype M of the common reed disperses predominantly by seed, in all environments studied to date (lakes : Belzile *et al.* 2010; brackish wetlands : McCormick *et al.* 2010a,b; freshwater wetlands : this study, Kirk *et al.* 2011; highways : this study, Kirk *et al.* 2011). However, in a region already highly invaded by the plant, accidental transport of fragments over short distances during road construction or maintenance can also be a source of new individuals. Once initiated, either from seedling or fragments, local expansion occurs through vegetative growth. Our study focused on roadside ditches, and additional data are needed for marshes, but since the common reed essentially spreads along roads in north-eastern North America for expanding its range (Lelong *et al.* 2007, Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009), the phenomenon described here is important for a better understanding of the dispersal of the invader.

Microsatellite (SSR) markers provided useful information on genetic diversity within and among stands, but SNPs resolved clone identity. With only SSR markers, we would have erroneously concluded that a substantial number of common reed stands resulted from the dispersal of plant fragments over distances as long as 250 km along highways. The GBS approach strongly reduces uncertainties associated with the use of a limited number of markers. This approach is especially valuable for ecologists dealing with an ever-increasing number of invaders, of which few have identified microsatellite markers.

Some practical management considerations and preventive strategies can be drawn from these findings, at least for roads. We showed the high occurrence of common reed

establishment through seeds. Environmental managers should reduce the size and number of suitable germination beds by promoting the rapid establishment of a dense plant cover on bare disturbed roadsides. Species seeded should include fast-growing highly competitive native grasses : they will suppress common reed seedlings, which are poor competitors (Byun *et al.* 2013). Planting shrub hedges on roadside banks also generate shade that would be unfavourable to this invader (Albert *et al.* 2013). Our study also confirmed the occurrence of accidental rhizome transport during road construction or maintenance over short distances. In regions widely invaded, no soil suspected of containing common reed fragments should be used as fill, and road machinery should be inspected and washed if they carry plant fragments. The dual capacity (seeds, fragments) of the haplotype M of the common reed for establishment and spread is certainly one of the reasons for its remarkable invasion success in North America.

2.7. Acknowledgements

This research was supported financially by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, the Canadian Wildlife Service and by the Ministère des Transports du Québec. We are grateful to Patrick Boivin, Emmanuelle Demers, Martine Jean and Benjamin Lelong for field and laboratory assistance. We also thank Alessandro Dieni for his help with population genetics analyses, and Peter Alpert, Elisabeth Groeneveld, and anonymous referees for comments on an earlier draft.

2.8. Data accessibility

Albert, A., Brisson, J., Belzile, F., Turgeon, J. & Lavoie, C. Data from : Strategies for a successful plant invasion : the reproduction of *Phragmites australis* in north-eastern North America. *Dryad Digital Repository*, doi:10.5061/dryad.rp77j.

2.9. References

Addinsoft. 2014. *Xlstat package*. Addinsoft, Paris, France.

- Albert, A., Brisson, J., Dubé, J., and Lavoie, C. 2013. Do woody plants prevent the establishment of common reed along highways ? Insights from southern Quebec. *Invasive Plant Science and Management*, 6, 585-592.
- Barrett, S.C.H. 2011a. Reproductive systems : Plant. pp. 584-590 *In* Simberloff, D., and Rejmánek, M. Encyclopedia of biological invasions. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, C.A. 792 p.
- Barrett, S.C.H. 2011b. Why reproductive systems matter for the invasion biology of plants. pp. 195-210 *In* Richardson, D.M. Fifty years of invasion ecology : The legacy of Charles Elton. Wiley-Blackwell, Oxford, U.K. 456 p.
- Barrett, S.C.H., Colautti, R.I., and Eckert, C.G. 2008. Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology*, 17, 373-383.
- Bart, D., and Hartman, J.M. 2003. The role of large rhizome dispersal and low salinity windows in the establishment of common reed, *Phragmites australis*, in salt marshes : New links to human activities. *Estuaries*, 26, 436-443.
- Belzile, F., Labbé, J., LeBlanc, M.-C., and Lavoie, C. 2010. Seeds contribute strongly to the spread of the invasive genotype of the common reed (*Phragmites australis*). *Biological Invasions*, 12, 2243-2250.
- Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y., and Buckler, E.S. 2007. TASSEL : Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23, 2633-2635.
- Brisson, J., de Blois, S., and Lavoie, C. 2010. Roadsides as invasion pathway for common reed (*Phragmites australis*). *Invasive Plant Science and Management*, 3, 506-514.
- Brisson, J., Paradis, É., and Bellavance, M.-È. 2008. Evidence of sexual reproduction in the invasive common reed (*Phragmites australis* subsp. *australis*; Poaceae) in eastern Canada : A possible consequence of global warming ? *Rhodora*, 110, 225-230.
- Byun, C., de Blois, S., and Brisson, J. 2013. Plant functional group identity and diversity determine biotic resistance to invasion by an exotic grass. *Journal of Ecology*, 101, 128-139.
- Catling, P.M., and Mitrow, G. 2011. The recent spread and potential distribution of *Phragmites australis* subsp. *australis* in Canada. *Canadian Field-Naturalist*, 125, 95-104.
- Chambers, R.M., Havens, K.J., Killeen, S., and Berman, M. 2008. Common reed *Phragmites australis* occurrence and adjacent land use along estuarine shoreline in Chesapeake Bay. *Wetlands*, 28, 1097-1103.
- Coops, H., and van der Velde, G. 1995. Seed dispersal, germination and seedling growth of six helophyte species in relation to water-level zonation. *Freshwater Biology*, 34, 13-20.

- Dorken, M.E., and Eckert, C.G. 2001. Severely reduced sexual reproduction in northern populations of a clonal plant, *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Journal of Ecology*, 89, 339-350.
- Douhovnikoff, V., and Hazelton, E.L.G. 2014. Clonal growth : Invasion or stability ? A comparative study of clonal architecture and diversity in native and introduced lineages of *Phragmites australis* (Poaceae). *American Journal of Botany*, 101, 1577-1584.
- Environment Canada. 2014. *Canadian climate normals 1981–2010*. [http://climate.weather.gc.ca/climate_normals/index_e.html, accessed April 2014].
- Felsenstein, J. 1989. PHYLIP : Phylogeny Inference Package (version 3.2). *Cladistics*, 5, 164-166.
- Gervais, C., Trahan, R., Moreno, D., and Drolet, A. M. 1993. Le *Phragmites australis* au Québec : distribution géographique, nombres chromosomiques et reproduction. *Canadian Journal of Botany*, 71, 1386-1393.
- Gower, J.C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53, 325-338.
- Haslam, S.M. 1975. The performance of *Phragmites communis* Trin. in relation to temperature. *Annals of Botany*, 39, 881-888.
- Holsinger, K.E. 2000. Reproductive systems and evolution in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 7037-7042.
- Hudon, C., Gagnon, P., and Jean, M. 2005. Hydrological factors controlling the spread of common reed (*Phragmites australis*) in the St. Lawrence River (Quebec, Canada). *Ecoscience*, 12, 347-357.
- Jodoin, Y., Lavoie, C., Villeneuve, P., Theriault, M., Beaulieu, J., and Belzile, F. 2008. Highways as corridors and habitats for the invasive common reed *Phragmites australis* in Quebec, Canada. *Journal of Applied Ecology*, 45, 459-466.
- Juneau, K.J., and Tarasoff, C.S. 2013. The seasonality of survival and subsequent growth of common reed (*Phragmites australis*) rhizome fragments. *Invasive Plant Science and Management*, 6, 79-86.
- Kirk, H., Paul, J., Straka, J., and Freeland, J.R. 2011. Long-distance dispersal and high genetic diversity are implicated in the invasive spread of the common reed, *Phragmites australis* (Poaceae), in northeastern North America. *American Journal of Botany*, 98, 1180-1190.
- LeBlanc, M.-C., de Blois, S., and Lavoie, C. 2010. The invasion of a large lake by the Eurasian genotype of common reed : The influence of roads and residential construction. *Journal of Great Lakes Research*, 36, 554-560.
- Lelong, B., Lavoie, C., Jodoin, Y., and Belzile, F. 2007. Expansion pathways of the exotic common reed (*Phragmites australis*) : A historical and genetic analysis. *Diversity and Distributions*, 13, 430-437.

- Lelong, B., Lavoie, C., and Thériault, M. 2009. Quels sont les facteurs qui facilitent l'implantation du roseau commun (*Phragmites australis*) le long des routes du sud du Québec ? *Écoscience*, 16, 224-237.
- LI-COR Biosciences. 2013. Saga^{GT} microsatellite analysis software. LI-COR Biosciences, Lincoln, N.E, USA.
- Lu, F., Lipka, A.E., Glaubitz, J., Elshire, R., Cherney, J.H., Casler, M.D., Buckler, E.S., and Costich, D.E. 2013. Switchgrass genomic diversity, ploidy, and evolution : Novel insights from a network-based SNP discovery protocol. *PLoS Genetics*, 9, e1003215.
- Maheu-Giroux, M., and de Blois, S. 2007. Landscape ecology of *Phragmites australis* invasion in networks of linear wetlands. *Landscape Ecology*, 22, 285-301.
- Mal, T.K., and Narine, L. 2004. The biology of Canadian weeds. 129. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *Canadian Journal of Plant Science*, 84, 365-396.
- McCormick, M.K., Kettenring, K.M., Baron, H.M., and Whigham, D.F. 2010a. Extent and reproductive mechanisms of *Phragmites australis* spread in brackish wetlands in Chesapeake Bay, Maryland (USA). *Wetlands*, 30, 67-74.
- McCormick, M.K., Kettenring, K.M., Baron, H.M., and Whigham, D.F. 2010b. Spread of invasive *Phragmites australis* in estuaries with differing degrees of development : Genetic patterns, Allee effects and interpretation. *Journal of Ecology*, 98, 1369-1378.
- Meyerson, L.A., and Cronin, J.T. 2013. Evidence for multiple introductions of *Phragmites australis* to North America : Detection of a new non-native haplotype. *Biological Invasions*, 15, 2605-2608.
- Peakall, R., and Smouse, P.E. 2006. GenAlEx 6 : Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Peakall, R., and Smouse, P.E. 2012. GenAlEx 6.5 : Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Philipp, K.R., and Field, R.T. 2005. *Phragmites australis* expansion in Delaware Bay salt marshes. *Ecological Engineering*, 25, 275-291.
- Poland, J.A., Brown, P.J., Sorrells, M.E., and Jannink, J.-L. 2012 Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS One*, 7, e32253.
- Rice, D., Rooth, J., and Stevenson, J.C. 2000. Colonization and expansion of *Phragmites australis* in upper Chesapeake Bay tidal marshes. *Wetlands*, 20, 280-299.
- Saltonstall, K. 2002. Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 2445-2449.
- Saltonstall, K. 2003. Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis*. *Molecular Ecology*, 12, 1689-1702.
- Saltonstall, K., Lambert, A., and Meyerson, L.A. 2010. Genetics and reproduction of common (*Phragmites australis*) and giant reed (*Arundo donax*). *Invasive Plant Science and Management*, 3, 495-505.

- Tougas-Tellier, M.-A. 2013. Impact des changements climatiques sur l'expansion du roseau envahisseur dans le fleuve Saint-Laurent. Mémoire M. ATDR., Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Trebitz, A.S., and Taylor, D.L. 2007. Exotic and invasive aquatic plants in Great Lakes coastal wetlands : Distribution and relation to watershed land use and plant richness and cover. *Journal of Great Lakes Research*, 33, 705-721.
- Tulbure, M.G., and Johnston, C.A. 2010. Environmental conditions promoting non-native *Phragmites australis* expansion in Great Lakes coastal wetlands. *Wetlands*, 30, 577-587.
- Tulbure, M.G., Johnston, C.A., and Auger, D.L. 2007. Rapid invasion of a Great Lakes coastal wetland by non-native *Phragmites australis* and *Typha*. *Journal of Great Lakes Research*, 33, 269-279.
- Warren, R.S., Fell, P.E., Grimsby, J.L., Buck, E.L., Rilling, G.C., and Fertik, R.A. 2001. Rates, patterns, and impacts of *Phragmites australis* expansion and effects of experimental *Phragmites* control on vegetation, macroinvertebrates, and fish within tidelands of the lower Connecticut River. *Estuaries*, 24, 90-107.
- Weisner, S.E.B., and Ekstam, B. 1993. Influence of germination time on juvenile performance of *Phragmites australis* on temporarily exposed bottoms - Implications for the colonization of lake beds. *Aquatic Botany*, 45, 107-118.
- Wenzl, P., Carling, J., Kudma, D., Jaccoud, D., Huttner, E., Kleinhofs, A., and Kilian, A. 2004. Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101, 9915-9920.
- Wilcox, K.L., Petrie, S.A., Maynard, L.A., and Meyer, S.W. 2003. Historical distribution and abundance of *Phragmites australis* at Long Point, Lake Erie, Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 29, 664-680.
- Winkler, E., and Fischer, M. 2002. The role of vegetative spread and seed dispersal for optimal life histories of clonal plants : A simulation study. *Evolutionary Ecology*, 15, 281-301.

2.10. Supporting information

Table 2.S1. Genetic diversity (SSR markers) within stands of common reed (*Phragmites australis*) sampled in southern Quebec at the Îles-de-Boucherville National Park (IBNP) and in the ditches of Highway 20 (H20). For each stand sampled, the number of different multilocus genotypes (G) and the index of genotypic richness (R) are indicated for two levels of sampling intensity (see text for details).

Stand number (km marker for H20)	Location	Level 2			Level 3			Levels 2 and 3
		<i>n</i>	G	R	<i>n</i>	G	R	R
1	IBNP	9	1	0				0
2	IBNP	9	1	0				0
3	IBNP	9	1	0				0
4	IBNP	9	1	0	45	1	0	0
5	IBNP	9	1	0				0
6	IBNP	9	1	0				0
7	IBNP	9	2	0.125	45	2	0.023	0.023
8	IBNP	9	1	0				0
9	IBNP	9	1	0	45	1	0	0
10	IBNP	9	1	0	45	1	0	0
104	H20 section 1	8	2	0.143				0.143
106	H20 section 1	9	5	0.500	41	16	0.375	0.375
111	H20 section 1	9	2	0.125				0.125
116	H20 section 1	9	3	0.250				0.250
117	H20 section 1	9	5	0.500	45	11	0.227	0.227
126	H20 section 1	9	6	0.625	44	13	0.279	0.279
130	H20 section 1	9	6	0.625	45	12	0.250	0.250
132	H20 section 1	7	1	0				0
137	H20 section 1	7	2	0.167				0.167
146	H20 section 1	6	2	0.200				0.200
148	H20 section 1	8	1	0				0
151	H20 section 1	6	4	0.600				0.600
153	H20 section 1	8	2	0.143				0.143

154	H20 section 1	9	1	0				0
155	H20 section 1	9	5	0.500				0.500
157	H20 section 1	5	2	0.250				0.250
158	H20 section 1	6	1	0				0
170	H20 section 1	9	5	0.500				0.500
172	H20 section 1	9	5	0.500				0.500
174	H20 section 1	7	4	0.500				0.500
175	H20 section 1	8	3	0.286				0.286
179	H20 section 1	9	7	0.750	45	21	0.455	0.455
181	H20 section 1	4	2	0.333				0.333
183	H20 section 1	8	1	0				0
200	H20 section 1	8	1	0				0
205	H20 section 1	5	1	0				0
212	H20 section 1	9	2	0.125				0.125
214	H20 section 1	9	2	0.125				0.125
216	H20 section 1	9	1	0				0
217	H20 section 1	9	3	0.250				0.250
221	H20 section 1	6	2	0.200				0.200
226	H20 section 1	9	3	0.250				0.250
228	H20 section 2	6	1	0				0
236	H20 section 2	8	1	0				0
245	H20 section 2	9	1	0				0
250	H20 section 2	9	3	0.250	45	3	0.045	0.045
252	H20 section 2	9	3	0.250	45	3	0.045	0.045
253	H20 section 2	9	6	0.625	43	9	0.190	0.190
254	H20 section 2	7	1	0				0
261	H20 section 2	7	1	0				0
265	H20 section 2	5	1	0				0
271	H20 section 2	8	2	0.143				0.143
279	H20 section 2	6	1	0				0
286	H20 section 2	5	2	0.250				0.250
290	H20 section 2	8	1	0				0
297	H20 section 2	3	1	0				0
298	H20 section 2	5	3	0.500	25	4	0.125	0.125
301	H20 section 2	7	1	0				0
302	H20 section 2	6	1	0				0
309	H20 section 2	9	1	0				0
310	H20 section 2	5	2	0.250				0.250
316	H20 section 2	9	2	0.125				0.125
321	H20 section 2	9	1	0				0

322	H20 section 2	6	2	0.200				0.200
323	H20 section 2	9	2	0.125				0.125
324	H20 section 2	8	2	0.143				0.143
351	H20 section 2	5	1	0				0
353	H20 section 2	9	2	0.125				0.125
355	H20 section 2	7	1	0				0
358	H20 section 2	9	1	0				0
359	H20 section 2	7	1	0				0
362	H20 section 2	6	1	0				0
363	H20 section 2	5	2	0.250	25	2	0.042	0.042
364	H20 section 2	9	1	0				0
366	H20 section 2	7	2	0.167				0.167
384	H20 section 3	9	2	0.125				0.125
390	H20 section 3	7	2	0.167				0.167
391	H20 section 3	9	3	0.250				0.250
392	H20 section 3	8	2	0.143				0.143
397	H20 section 3	7	2	0.167				0.167
398	H20 section 3	7	3	0.333				0.333
399	H20 section 3	5	1	0				0
400	H20 section 3	6	1	0				0
409	H20 section 3	7	1	0				0
418	H20 section 3	7	1	0				0
427	H20 section 3	9	9	1.000	37	28	0.750	0.750
428	H20 section 3	9	9	1.000	45	23	0.500	0.500
429	H20 section 3	8	7	0.857	40	12	0.282	0.282
432	H20 section 3	9	4	0.375	45	6	0.114	0.114
434	H20 section 3	9	3	0.250	45	3	0.045	0.045
436	H20 section 3	8	1	0				0
439	H20 section 3	7	3	0.333				0.333
440	H20 section 3	5	1	0				0
441	H20 section 3	9	1	0				0
442	H20 section 3	9	2	0.125				0.125
443	H20 section 3	7	1	0				0
446	H20 section 3	6	1	0				0
452	H20 section 3	5	1	0				0
454	H20 section 3	6	1	0				0
460	H20 section 3	9	1	0				0
472	H20 section 3	5	1	0				0
473	H20 section 3	5	3	0.500				0.500
492	H20 section 3	6	2	0.200				0.200

502	H20 section 3	8	1	0	0
503	H20 section 3	5	2	0.250	0.250
504	H20 section 3	8	1	0	0
508	H20 section 3	9	1	0	0
512	H20 section 3	8	1	0	0

CHAPITRE III : HIGH THROUGHPUT AND RAPID SNP GENOTYPING IN THE INVASIVE COMMON REED (*PHRAGMITES AUSTRALIS*) USING A GENOTYPING-BY- SEQUENCING (GBS) APPROACH

Arnaud Albert

Ce manuscrit est en cours de rédaction.

3.1. Abstract

For an alien invasive plant, classic molecular markers usually provide descriptions of colonization patterns, potential for evolution, and invasion success. However, a small number of SSRs may be insufficient to fully distinguish the most closely-related individuals. Here, we show that high-throughput SNP discovery by the novel genotyping-by-sequencing (GBS) approach would provide a more detailed picture of the genetic diversity of the common reed (*Phragmites australis*), one of the most invasive vascular plants in northeastern North America. This paper reports the analytical and technical process used to obtain an optimal number of SNPs. The final number of SNPs identified by the GBS approach was largely dependent on different parameter values used for calling and filtering. GBS requires significant investment in analyses and a tolerance for incomplete data; such manipulations require more time and cost, while discarding a lot of data. Nevertheless, this new technology brings richer information for determining genetic diversity. This reference-free, restriction-enzyme-based and high-sample-multiplexed GBS approach has great potential for future genetics research of complex genomes and could be applied to a variety of other species. Our study represents, to our knowledge, one of the first applications of the GBS approach to invasive plant species.

Key words : common reed, genetic diversity (GD), genotyping-by-sequencing (GBS), invasion genetics, microsatellite markers (SSRs), single-nucleotide polymorphisms (SNPs).

3.2. Introduction

For an alien invasive plant, basic taxonomic, genetic and population information is required to generate an effective control program (Shaw *et al.* 2010). Molecular tools can be useful in different ways to understand the invasion phenomenon for a given species. Molecular studies help to determine the taxonomy of the invader, relationships to other taxa (Bickford *et al.* 2007), common genotypes or haplotypes (Saltonstall 2003a), and ploidy levels (te Beest *et al.* 2012). Moreover, molecular investigations are yielding insights into the origin, introduction and invasion histories (Simberloff 2003). Molecular analyses can also elucidate invasion processes like reproduction pathways, as well as genetic variation and population structure within an invasion (Barrett *et al.* 2008). Furthermore, molecular ecology can clarify cryptic hybridization (Schierenbeck & Ellstrand 2009). All these results can guide researchers in the implementation and fine-tuning of successful management strategies of invasive plants, in addition to avoiding non-target effects or eventual failures (Cox 2004, Prentis *et al.* 2008, Richardson *et al.* 2010). Classic and traditional molecular markers usually provide such descriptions of colonization patterns, potential for evolution, and invasion success (Wares *et al.* 2005).

These genetic outputs were notably significant for the common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. (Poaceae), one of the most invasive vascular plants in northeastern North America (Saltonstall 2002, Mal & Narine 2004, Catling & Mitrow 2011). Chloroplast haplotype M of the exotic common reed was accidentally introduced on this continent from Eurasia at the beginning of the 19th century (Saltonstall 2002). This competitive lineage has become very abundant in tidal marshes along the Atlantic Coast (Lathrop *et al.* 2003, Philipp & Field 2005), in freshwater wetlands of the Great Lakes – St. Lawrence River system (Hudon *et al.* 2005, Tulbure *et al.* 2007), and also in road, highway and agricultural drainage ditches (Maheu-Giroux & de Blois 2007, Jodoin

et al. 2008, Lelong *et al.* 2009, Brisson *et al.* 2010). Several genetic surveys were conducted on this alien perennial grass, and they particularly helped to determine the reproductive strategies used by this invasive species, through the assessment of genetic diversity (GD). Genetics of this plant were mainly described with the use of isozymes, RFLPs (restriction fragment length polymorphisms; Saltonstall 2003b), AFLPs (amplified fragment length polymorphisms; Lambertini *et al.* 2006), RAPDs (randomly amplified polymorphic DNAs; Engloner *et al.* 2010) and SSRs (simple sequence repeats; Belzile *et al.* 2010, McCormick *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011, Albert *et al.* 2015). Each method has advantages and inconveniences, even though no detailed comparison has been given yet for the common reed. However, all of these current and various technologies are limited in their availability and density, are time-consuming, relatively expensive, and hardly applicable on a large scale. Microsatellite markers (aka SSRs) were the most commonly used for diversity analyses because these short sequences are very polymorphic and distributed all over the genome (Saltonstall 2002). Most of the genetic findings on common reed reproduction were obtained in a few papers with the use of a small number of microsatellite markers within the exotic haplotype (Kirk *et al.* 2011, Kettenring & Mock 2012). However, the downside of the use of a few SSR markers is the low level of resolution in the study of genetic diversity. Some results still remain imprecise, particularly the distinction between clones thought to be relatively close genetically, both between and within populations. A small number of SSR markers may be insufficient to fully distinguish the most closely-related individuals. These pitfalls are surmountable in the analyses, but they could be improved thanks to breakthroughs in molecular technologies.

Recent and remarkable advances in next-generation sequencing (NGS) technologies have improved the accessibility, performance and resolution of the molecular examination of any species (Elshire *et al.* 2011) to the point that genotyping-by-sequencing (GBS) could now become a useful tool for invasion biology. This new approach is not often used for invasive and wild plants, but it is gaining interest, success and popularity in crop species because it is simple, quick, extremely specific, highly reproducible and offers a broad genome coverage with a large number of single-nucleotide polymorphisms (SNPs).

These genetic markers are considered the ideal and preferred polymorphisms because they are abundant, widespread, relatively stable and have proven to be effective in molecular studies, on a wide range of scales (Patel *et al.* 2015, Sonah *et al.* 2010). The first use of GBS-derived SNPs to analyze the genetic diversity in the invasive common reed in view of shedding light on its preferred mode of reproduction was recently published by Albert *et al.* (2015). These results showed that clones observed between populations with SSRs were in fact not clones with SNPs, whereas clones observed within populations with SSRs were actually also clones with SNPs. However, the determination of the number of SNPs required to obtain a better resolution of the genetic diversity was the crucial task in the use of the GBS approach, because any standardized protocol existed to estimate an effective number of SNPs, and because a limited number of SNPs could underestimate the genetic variation. Thus, the definition of a number of SNPs considered optimal in the study allowed to increase the resolution of genetic diversity.

This paper reports the analytical and technical process used to obtain this optimal number of SNPs in the paper of Albert and collaborators through the GBS approach for population genetics analyses. Several populations of common reed were sampled in freshwater wetlands and along road drainage ditches, the two main habitats of the plant in southern Quebec (eastern Canada), its northeastern distribution limit in North America. We evaluated the characteristics of thousands of SNPs and the accuracy of the GBS approach, while validating and comparing these results with SSR data obtained on the same individuals as part of the work of Albert *et al.* (2015).

Here, we show that GBS can be a revolutionary profiling technique to increase the knowledge on invasive plants. We hypothesized that GBS could yield significant additional information on the genetic diversity of the common reed through the optimization and validation of an appropriate number of quality SNPs. High-throughput SNP discovery by GBS would provide a more detailed picture of the genetic diversity of the common reed, while reducing time and cost. Precisely recognizing the substantial

benefits of the GBS platform could change the way to do in the near future in the field of invasion ecology.

3.3. Materials and methods

3.3.1. Study area

The study area is located in the St. Lawrence River valley, southern Quebec, eastern Canada (Figure 3.1).

Highway 20 (H20) forms a linear corridor from Montreal to Rivière-du-Loup over a distance of 416 km on the south shore of the river. H20 is a split highway, with two parallel lanes for each travel direction (east, west). For sampling purposes, H20 was divided into three continuous sections differing in size and density of common reed stands, according to a survey carried out in 2003 (Jodoin *et al.* 2008; see Albert *et al.* 2015 for details).

The Îles-de-Boucherville National Park (IBNP) is a protected group of islands in the middle of the St. Lawrence River close to Montreal, the main urban center of the province. The largest (86 ha) complex of common reed stands in the St. Lawrence River is located in the marshes and along the shores of this park; the area covered by the stands has increased by 20% each year since the beginning of the 1990s (Tougas-Tellier 2013).

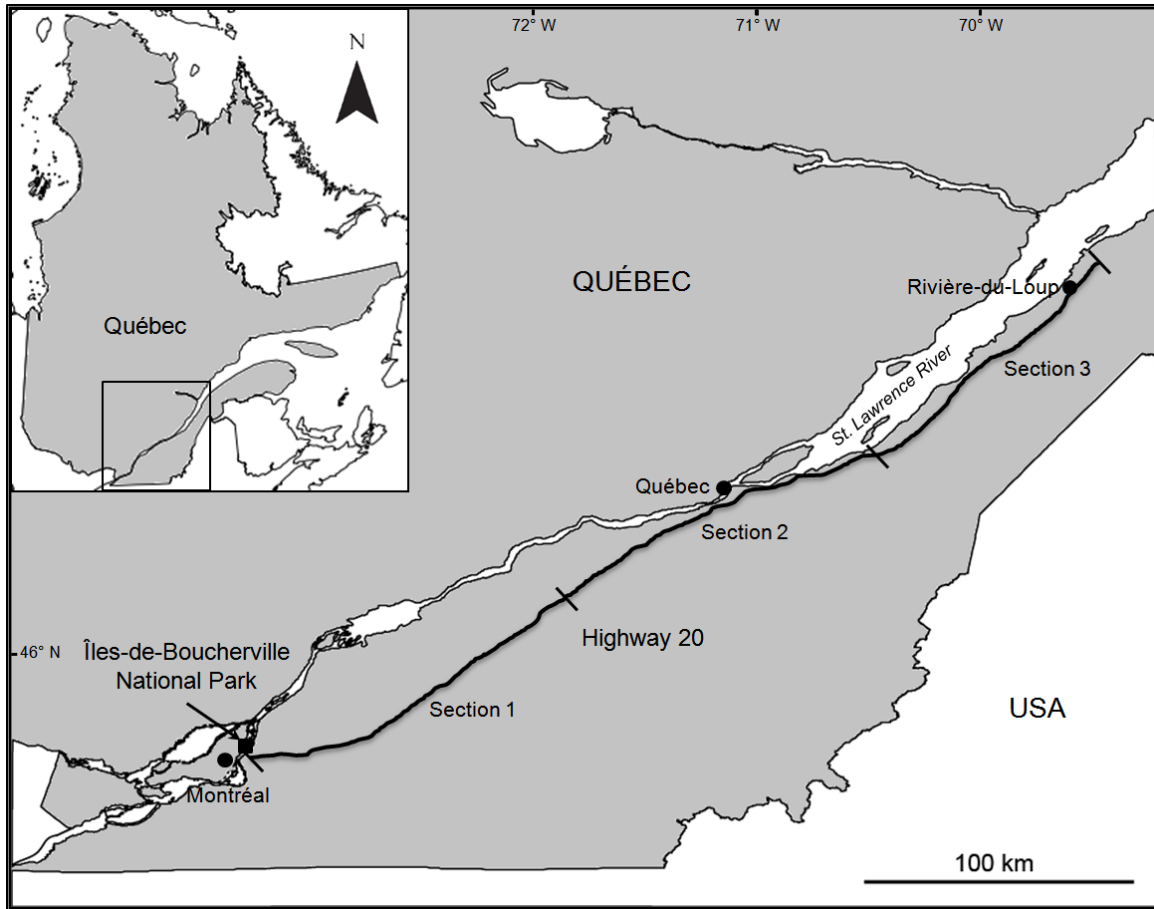


Figure 3.1. Location of the sites sampled in southern Quebec (Canada) for the evaluation of the genetic diversity of common reed (*Phragmites australis*) stands : Highway 20 (black line) and Îles-de-Boucherville National Park (black square). Other place names cited in the text are also indicated.

3.3.2. Plant tissue sampling

Leaves from non-native common reed were sampled in summer 2009 at the regional scale in 96 stands located along the highway ditches and in the freshwater marsh. H20 had its two travel directions divided into 1 km long segments ($N = 832$) corresponding to official kilometer markers positioned along the highway. A total of 87 segments (24, 32 and 31 in each of three sections) were randomly selected, and the common reed stand located in front of a selected kilometer marker was used for sampling leaf tissues. If no stand was located in front of the marker, the next closest stand in the travelling direction

(either east or west, depending on the selected marker) was used. A single sample was collected from a shoot located at the center of each stand, or in front of the kilometer marker in the case of very large stands, in the middle of the drainage ditch. The IBNP marsh had several circular stands of common reed clearly visible on aerial photographs, suggesting clonal (vegetative) expansion. Nine distinct circular common reed stands were randomly selected for sampling leaf tissues. As for H20, one shoot was sampled at the center of the stand.

Leaves were also sampled at the local scale within some particular stands. In the previous and extended study with SSRs of Albert *et al.* (2015), more samples within these 96 selected stands were analyzed (between five and nine samples). Among the monoclonal stands observed with SSRs, four were chosen along the highway and four within the marsh to test the GBS approach. For technical validation, pairs of closely-spaced samples from these stands, and previously determined to exhibit identical genotypes, were used and compared.

3.3.3. DNA extraction, library preparation and read sequencing

Fresh leaf samples (1 cm²) were collected in tubes with desiccant, kept at ambient temperature and protected from light. High molecular weight DNA was extracted from small quantities of dried leaves using the procedure of Wenzl *et al.* (2004) and a standard cetyl trimethyl ammonium bromide (CTAB) protocol (Doyle & Doyle 1987). Genomic DNA was checked and quantified on a 1% agarose gel using a mass loading dye (MassRuler DNA Ladder Thermo Scientific, Burlington, Canada) and image analysis software (Image Lab Software Bio-Rad, Hercules, USA).

DNA concentrations of the extraction products were normalized to 20 ng/μl in 10 μl. Two GBS libraries were prepared at the Plate-forme d'analyses génomiques (Université Laval, Quebec, Canada) following the protocol described by Poland *et al.* (2012) and using the restriction enzyme combination *PstI-MspI*. An initial 16-plex library comprised pairs of clones sampled from eight monoclonal stands; each stand genetically different from the other but all individual plants from a stand known to be identical (Albert *et al.*

2015). This library was sequenced using 1/6 of the sequencing capacity of a single Illumina HiSeq lane and the resulting reads were used to perform the initial optimization and validation of SNP calling and filtering. A subsequent 96-plex library was composed of the entire set of samples collected at the regional scale described above (1 sample from each of 96 different stands); each stand genetically distinct from the other using SNP markers (Albert *et al.* 2015). This library was sequenced on an entire HiSeq lane and was used to validate the retained filtering parameter values and the final number of chosen SNPs. Sequencing of all reads was performed on an Illumina HiSeq2000 (McGill University - Génome Quebec Innovation Center, Montreal, Canada).

3.3.4. UNEAK pipeline, SNP calling and filtering

After sequencing, the two resulting sets of reads were run in UNEAK (Universal Network Enabled Analysis Kit; Lu *et al.* 2013). This pipeline was used to call a large number of SNPs *de novo* without a reference genome (Glaubitz *et al.* 2014). All reads were trimmed back to 64 bp, and an error tolerance rate of 0.03 was chosen to eliminate sequencing errors. In a first exploratory phase aiming to optimize the number and reliability of SNP genotype calls, filtering of SNPs was performed at different values of minimum minor allele frequency (mnMAF = 0.01, 0.05, 0.10 or 0.15) and minimum call rate (mnC = 0.7, 0.8, 0.9 or 1.0). It is important to note here that UNEAK measures allele frequency based on the actual read counts for each allele in the metapopulation and not based on the inferred genotype of each individual in the metapopulation.

In addition to these basic filters available in UNEAK, further filtering and genotype corrections were performed using an in-house python script (Bioinformatics Unit, Institut de biologie intégrative et des systèmes, Quebec, Canada). This script was used to more stringently filter genotype calls in the context of a tetraploid. A minimum of 11 reads supporting a SNP call was required (MinSum); genotypes supported by fewer reads per individual were replaced by missing data (N). If all reads for an individual were identical, it was deemed homozygous. If two alleles were detected, the frequency of reads corresponding to the minor allele (MAF) had to be ≥ 0.15 ; if lower than this, the individual was called homozygous for the major allele. This was implemented to correct

the propensity of UNEAK to falsely call heterozygotes based on highly unbalanced read counts supporting two alleles (e.g., 1A:60G).

Finally, additional corrections and quality controls were carried out in TASSEL to stringently filter SNPs again (Bradbury *et al.* 2007), using different values of mnMAF (0.01, 0.05, 0.10 or 0.15) and mnC (0.7, 0.8, 0.9 or 1.0). Here, the assessment of minor allele frequency is conducted using allele counts based on the genotype called at each locus for each individual (contrary to the mnMAF calculated in UNEAK). Finally, each sample was characterized by a genotype composed of thousands of SNPs. These nucleotide markers data were represented by IUPAC nucleotide codes.

3.3.5. Use of SSR microsatellite markers

In addition to SNPs, the same samples were analyzed with a set of six polymorphic microsatellite loci (PaGT-4, -8, -9, -11, -13 and -16). Amplifications and electrophoresis were performed (see Belzile *et al.* 2010 for details). Results were visualized and analyzed with SAGA^{GT} microsatellite analysis software (LI-COR Biosciences). Given the uncertainty about ploidy levels and di- or tetrasomic inheritance, no attempt was made to estimate the copy number of each allele. Finally, following the approach used in previous studies (McCormick *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011), alleles at each SSR locus were called as present (1) or absent (0); these allelic genotypes formed a binary matrix of zeros and ones. In this context, two individuals with the same alleles but different numbers of copies of each allele would appear identical.

3.3.6. Data analyses

To validate the optimal combination of different parameter values, results of genetic distances obtained with SNPs had to respect two conditions : suspected clones within stands in the 16-plex library had to be genetically similar, and all samples between stands in the 96-plex library had to be genetically distinct. Using a high number of quality SNPs, we hypothesized that sexual reproduction would be the strategy for the common reed in the long-distance dispersal (unique genotypes at the regional scale) and that vegetative

propagation would be the mechanism in the short-distance expansion (identical genotypes at the local scale).

Pairwise genetic distances between genotypes were estimated for both SSRs and SNPs. For SSRs, the binary (0/1) matrix containing the score for each allele at each locus was used to calculate genetic distances with TASSEL (Bradbury *et al.* 2007). For SNPs, the DNADIST application in PHYLIP (Felsenstein 1989) was used to produce a distance matrix (F84 and neighbour-joining methods). Mantel's test was conducted with the XLSTAT package (Addinsoft 2014) to evaluate the correlation between the two resulting genetic distance matrices.

Genetic similarity between stands was also analyzed using a model-free principal coordinate analysis (PCoA; Gower 1966). The clustering method was implemented in GENALEX (Peakall & Smouse 2006, 2012) using a Euclidean genetic distance matrix converted to standardized covariance.

3.4. Results

3.4.1. Use of identical individuals from the 16-plex library

The final number of SNPs identified by the GBS approach was largely dependent on different parameter values used for calling and filtering. The significant impact of the different parameter values on the final number of SNPs was determined through the use of the 16-plex library. High-throughput sequencing of this library generated 35.99M reads (good barcoded reads; Table 3.1), producing between 1.14M and 3.60M reads per sample, for an average of $2.25\text{M} \pm 0.62$ reads per sample. A total of 23,016 possible SNPs were found.

Table 3.1. Total, average, minimum and maximum number of reads and the corresponding tags analyzed using the UNEAK pipeline.

	Number of reads (16-plex library)	Number of reads (88-plex library)	Number of tags (both libraries)
Total	35,991,800	150,120,993	8,436,076
Average	2,249,488	1,705,920	224,280
Minimum	1,143,843	818,719	129,479
Maximum	3,603,768	3,859,410	537,228

Two key parameters were explored : the minimum call rate (mnC) and the minimum minor allele frequency (mnMAF). The mnC represented the maximum amount of missing data allowed to accept a SNP. The mnMAF represented the minimum frequency allowed to accept a different allele for a SNP. The minimum number of reads at a given locus in each individual required to accept a SNP (MinSum) was fixed at 11; it has previously been shown that this number was the most appropriate to eliminate low-quality and unreliable markers (default value established by the Bioinformatics Unit in the in-house python script). The effects of the parameter values on SNP statistics are summarized in Figure 3.2. Firstly, the increase of mnC reduced the number of SNPs retained. At a mnMAF of 0.05 (default value), the number of SNPs increased from 3,172 (mnC = 1.0; 0% missing data) to 11,068 (mnC = 0.7; 30% missing data). At other mnMAF values, the number of SNPs similarly increased while decreasing mnC. Selecting an outcome of no missing data considerably lowered the number of SNPs at an average of only 2,867, whereas a criterion of 20% of missing data obtained a reasonable number of SNPs with an average of 8,841. Secondly, the increase of mnMAF altered the number of SNPs retained. At a mnC of 1.0 (extreme value), the number of SNPs varied on average between 6,670 (mnMAF = 0.15) and 10,350 (mnMAF = 0.01). At a mnC of 0.8, the number of SNPs increased from 6,813 (mnMAF = 0.15) to 10,566 (mnMAF = 0.01). At this mnC, the default value of 0.05 for mnMAF obtained a reasonable number of 9,768 SNPs. Moreover, even though the selected SNPs might have a maximum amount of missing data to be retained, the actual mean proportion of missing data was around 3.48% (mnC = 10%), 6.62% (mnC = 20%) and 9.81% (mnC = 30%) per SNP, for all mnMAF

values considered. The selected mnC of 0.8 finally tolerated a lower amount of incomplete data than expected.

The combination of different parameter values had to respect the condition that suspected clones within stands had to be genetically similar with SNP markers. The measure of the pairwise genetic distance within the eight pairs of biological replicates was used to evaluate the quality of the catalogs of SNPs. For all combinations of mnC and mnMAF, the genetic distance was totally null (100% of similarity), validating the condition. Therefore, a mnC of 0.8 (20% of missing data) and a mnMAF of 0.05 (default value) seemed to be a good compromise for an optimal number of quality SNPs. A large portion (58.3%; 13,428 out of 23,016) of SNPs was discarded because they were found to have a $MAF < 5\%$ and more than 20% missing data. These parameter values allowed to recuperate 1,913 SNPs ($10\% < N < 20\%$) compared with a mnC of 0.9. Missing data had to be allowed, because only a little portion (13.8%; 3,172 out of 23,016) of SNPs had no missing.

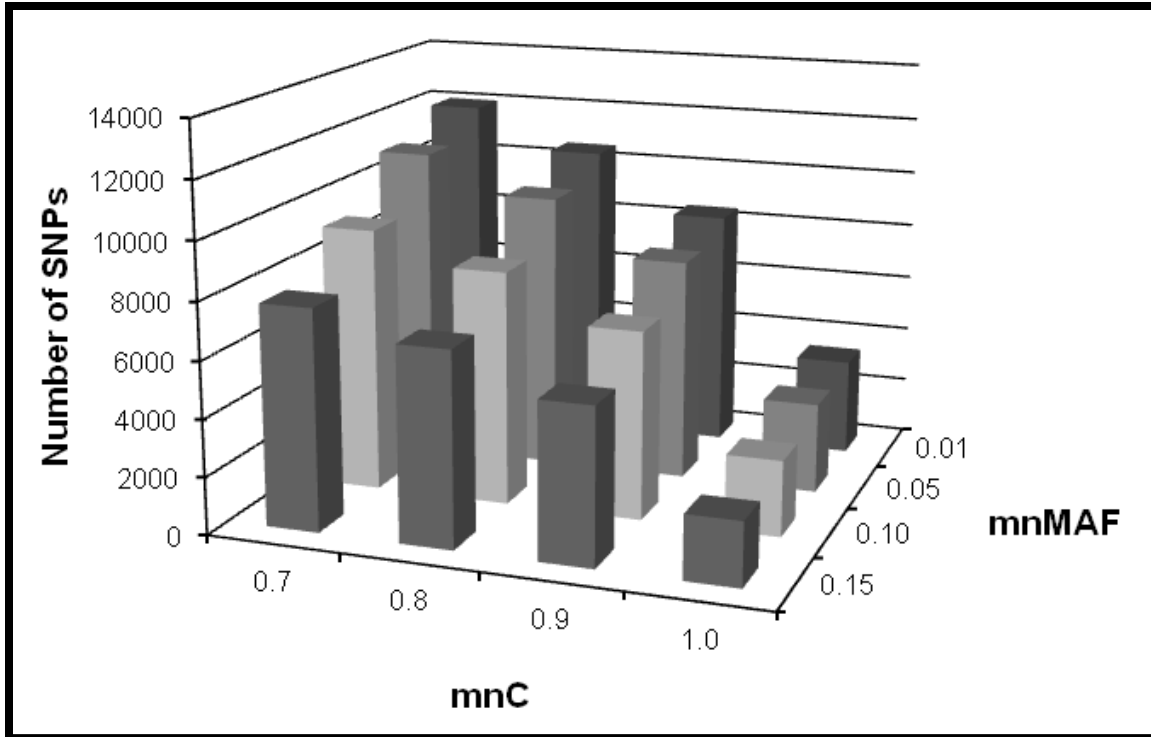


Figure 3.2. Number of SNPs retained using different parameter values on a PstI-MspI GBS library from 16 common reed (*Phragmites australis*) individuals sampled in southern Quebec (Canada). 'mnMAF' is the minimum minor allele frequency; 'mnC' is the minimum call rate.

3.4.2. Use of distinct individuals from the 96-plex library

The retained optimal parameter values were examined through the use of the 96-plex library on a large scale of multiple different stands. Eight samples were unusable and thus removed (not enough reads, low read coverage); 88 samples were used for analyses. High-throughput sequencing of this library generated 150.12M reads (good barcoded reads; Table 3.1), producing between 0.82M and 3.86M reads per sample, for an average of $1.71\text{M} \pm 0.53$ reads per sample. A total of 43,999 possible SNPs were found.

The UNEAK pipeline initially called a set of 13,426 SNPs using a mnMAF of 0.05 and a mnC of 0.8. This catalog was subsequently rescored using the in-house correction script to remove poorly supported genotype calls (based on less than 11 reads) and false

heterozygotes (with a very rare minor allele taken to be a sequencing error). These corrected SNP genotypes were further filtered in TASSEL using a mnMAF of 0.05 and a mnC of 0.8 to obtain 5,311 high-quality SNPs. In summary, approximately 5% of reads, 80% of the tags and 88% of SNPs were discarded during these genotype calling and filtering steps (Figure 3.3).

The retained optimal parameter values (mnC = 0.8, mnMAF = 0.05, MinSum = 11) were used to evaluate whether the results of genetic diversity respected or not the condition that all samples between stands had to be genetically distinct with SNP markers. Among the 88 samples representative of as many stands, all had a unique genotype based on the analysis of 5,311 SNPs, validating the condition. In contrast, only 75 different multilocus genotypes were previously observed with six SSRs, as seven pairs and three trios of samples shared identical SSR genotypes. These genotypes were separated by a mean distance of 62.25 ± 49.84 km. These apparently SSR clones between stands were clearly distinct based on their SNP genotypes, although these false identical samples did exhibit small genetic distances (mean = 0.106).

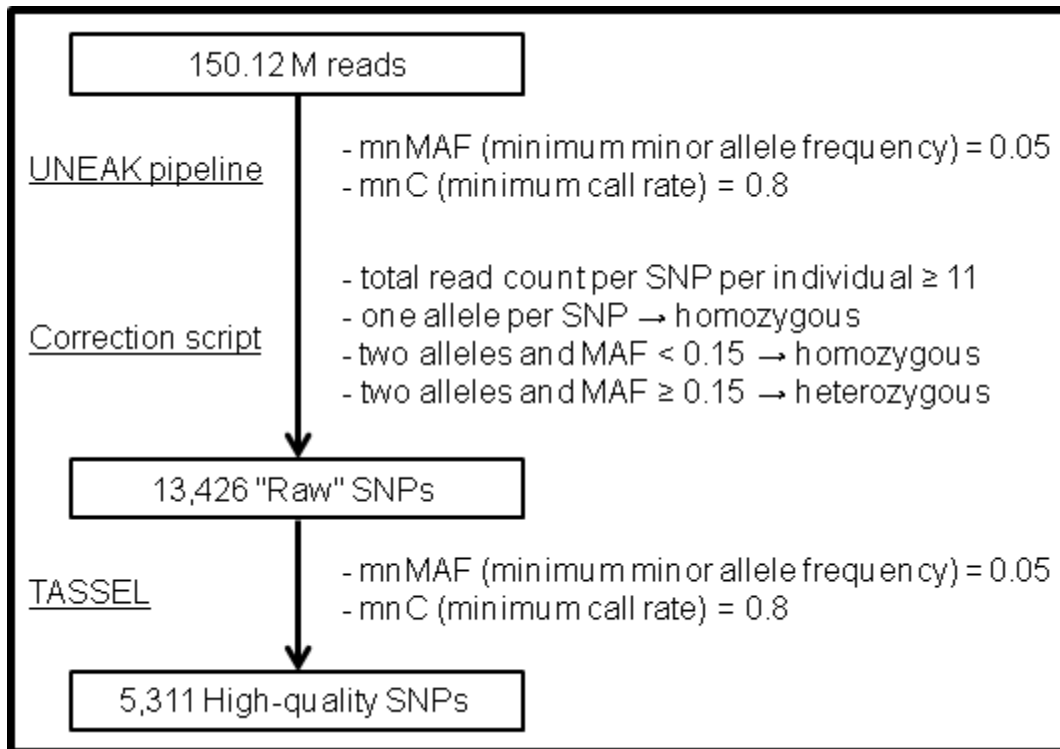


Figure 3.3. Flow diagram of the different SNP calling and filtering steps, and optimal parameter values retained for the 96-plex GBS library.

Therefore, the retained parameter values and the optimal number of SNPs increased the resolution of the genetic diversity and confirmed the robustness of the genotyping technique. A too big loss of genetic markers and a too small number of remaining markers might have been insufficient to distinguish all genotypes. A sufficient resolution is required for the study of genetic diversity for multiple populations. Nevertheless, the selected SNPs have to be of quality, thus many SNPs may be discarded or may contain an accepted level of incomplete data.

3.4.3. Use of SSR microsatellite markers

Finally, the impact of using such SNP dataset in population genetics analyses was examined and checked through the use of microsatellite markers. Overall, nucleotide markers provided a catalog of 5,311 different biallelic single-nucleotide polymorphisms. Microsatellite markers identified 27 different alleles (PaGT-4 : 5 alleles; PaGT-8 and -13

: 2 alleles each; PaGT-9, -11 and -16 : 6 alleles each). All the alleles were used for SSRs, whereas only high-quality polymorphisms were used for SNPs.

Pairwise genetic distances were compared within this set of samples using either SNPs or SSRs. Overall, genetic distances ranged between 0.003 and 0.430 with SNPs and between 0 and 0.630 with SSRs. Mantel's test revealed a low but significant correlation between genetic distance matrices based on SNPs and SSRs; the r statistic had a value of 0.62 ($P < 0.0001$) indicating that both sets of markers yielded similar estimates of genetic distances. A PCoA revealed the existence of two groups of populations, almost exactly the same between the two techniques (Figure 3.4). There was a clear correspondence between the two methods. The first multivariate axis respectively explained 28% or 25% of the genetic variation with SNPs or SSRs, and clearly separated genotypes mostly found in H20 section 3 (negative values on Axis 1) from all other genotypes (positive values on Axis 1).

Therefore, using such SNP data was correct and made sense for pertinent population genetics studies. In this study, SNP results were coherent with previous genetic knowledge, such as SSR results.

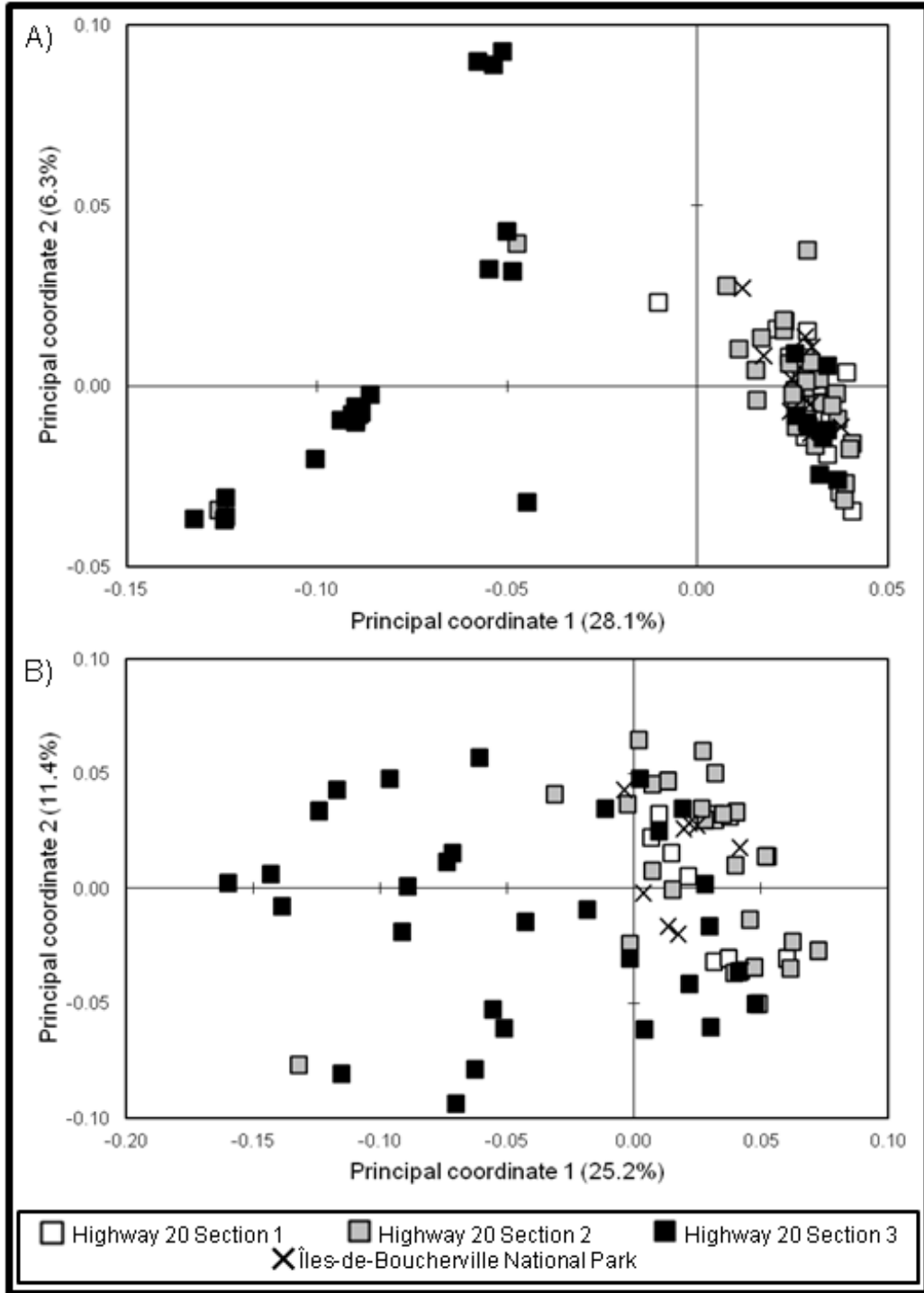


Figure 3.4. Principal coordinate analysis (PCoA) showing the two dimensional genetic (A : SNP markers; B : SSR markers) relationships between individuals (shoots) of common reed (*Phragmites australis*) sampled in southern Quebec (Canada) along Highway 20 and at the Îles-de-Boucherville National Park.

3.5. Discussion

Genetic diversity between plant individual genomes is one of the most used approaches to determine the propagation modes of an invader. However, obtaining high and precise resolution is not an easy task, and this preferentially requires quality, fast and cheap tools. We propose in this paper a novel molecular technique to quickly gain insight about invasion genetics in a cost-efficient manner. The low-cost GBS technology has allowed to simultaneously discover, identify, validate and genotype thousands of high-resolution SNPs in the common reed genome in one single step, in order to characterize multiple individuals and to differentiate closely-related samples. In this study, this technique was used to obtain an appropriate number of high-quality and high-confidence SNPs, in order to provide a more detailed picture of the genetic diversity of the common reed. Several different interacting components can be changed to adapt, customize and optimize the number of SNPs for a given number of samples for this species.

The number of SNPs identified by the GBS approach is largely dependent on the genome size of the species, the chosen sequencing platform and the sample multiplexing level. Thus experimental design must be considered with attention to ensure good results and population genetic estimations for a given experiment (Mimee *et al.* 2015). Moreover, the number of SNPs identified with the UNEAK pipeline is strongly impacted by the choice of the restriction enzyme used for library preparation, which is also a key factor in determining the degree of complexity reduction that is achieved (Sonah *et al.* 2013). Here the protocol was originally developed using one restriction enzyme (*ApeKI*), but was subsequently modified to use two restriction enzymes (*PstI* and *MspI*), a rare cutter and a frequent cutter, in order to generate greater and uniform complexity reduction. Finally, the number of SNPs identified for a given study is highly based on the pipeline used for the read analysis. Here the protocol was developed using UNEAK, a pipeline designed to call SNPs *de novo*, that is without using a reference genome (Lu *et al.* 2013). In this study, these three components were fixed, no comparisons were tested. Indeed, the sequencing platform (Illumina), the restriction enzymes (*PstI-MspI*) and the analysis pipeline (UNEAK) are currently recognized as good tools.

The initial SNPs called are raw, sparse and prone to error. A substantial amount of missing data (high percentage of uncalled alleles per individual), some errors of genotyping (calling false heterozygotes for instance) and a non-uniform distribution of sequence reads across loci and among samples (read depth and genome coverage) are frequently encountered. These weaknesses may partially be overcome by the incorporation of numerous imputation algorithms, error corrections steps, and statistical analysis. These tools are in development, publicly available, open-source and able to run on modest resources such as laptop machines (Beissinger *et al.* 2013, Glaubitz *et al.* 2014). Therefore, GBS requires significant investment in analyses, intense bioinformatics efforts and operational skills (to resolve technical issues and build manually in-house scripts), an awareness of the need to filter and format data (minor allele frequency MAF, minimum call rate mnC and percent missing values PMV for instance), and a tolerance for incomplete data (Mimee *et al.* 2015). Such manipulations require more time and cost, while discarding a lot of data.

The final number of SNPs depends on the different parameter values used for filtering. Increasing the stringency of the analysis by incrementing the value of any of the various filters significantly reduces the final number of SNPs (Mimee *et al.* 2015). In this study, selected markers had to have less than 20% of missing data, a minor allele frequency of 0.05 and a minimum read coverage of 11 per locus and per individual. Around 12% of the possible SNP markers (5,311 of 43,999) were finally used for analysis. The final retained parameter values represented a fine, standard and optimal combination for this work. Correction filters were used to keep the highest quantity (from a pool of tens of thousands of SNPs) and quality (with an acceptable number of missing data) of nucleotide markers.

The optimal number of SNPs allowed increasing the resolution of GD. As revealed in Albert *et al.* (2015), the optimal number of SNPs had sufficient resolution to determine whether plants with seemingly identical SSR genotypes had really come from the same clone or not. A large number of markers (like SNPs) scored accurately is desirable to ensure population genetic parameters are estimated precisely. Selection of a restricted

collection of markers (like SSRs) often misses a substantial portion of the genetic variation and limits the resolution for a clear assessment of the genetic diversity. This work used a refined set of over 5,300 informative SNPs, this is much more than previous works in common reed that employed between six and nine SSRs (Belzile *et al.* 2010, McCormick *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011).

Furthermore, GBS is highly time and cost effective. Microsatellite markers could actually reach the same performance through the use of a greater number of loci, because the resolution of diversity and the number of genotypes are positively correlated to the number of loci considered, but this protocol would be a labor intensive and economically costly process. In the opposite, the recent developments in high-throughput technologies now offer the opportunity to considerably, fastly and easily increase the number of molecular markers and the discovery of SNPs. Therefore, the genotyping-by-sequencing approach relying on NGS allowed discovering a high number of SNPs for this genome. This tool characterizes efficiently, rapidly, and economically the genetic diversity of the invasive common reed in Quebec through the huge amount of quality genetic information that can be gathered for the genome of this species.

Meanwhile being powerful, the GBS technology is also robust and reproducible. In this study, technical replicates and biological clones were perfectly (or almost) identical through GBS. Samples sequenced from several independent libraries but used for the same given study have to be run and filtered together in the pipeline to detect the same SNPs and to avoid run-to-run variation. Nevertheless, within each library, a low sample-to-sample variation in the number of reads existed and might be sample-dependant. The DNA quantity and quality of the samples were likely to be the main contributing factor to the observed variation. DNA quantity was variable between samples after extraction but was adjusted for GBS library preparation. GBS approach only requires small amount of genomic DNA. DNA quality was finally good and high, sufficiently for GBS sequencing.

Moreover, the GBS technology is also reliable and credible. In this study, SNP results were coherent with previous genetic knowledge, such as SSR results. Distance matrices based on SNPs and SSRs were significantly correlated, and population structure revealed

by PCoA was similar between the two methods. In fact, GBS provided a better resolution of the genetic diversity (identifying clones) and a realistic segregation of genotyped individuals (identifying clusters). These sequence-based markers are inherently able to capture vast amounts of variation at single-base resolution, making them particularly useful for the detection of perfect markers of choice (Patel *et al.* 2015).

Besides, the GBS technology may be used on a large population scale, on a large number of individuals, which is especially helpful for genetic diversity studies. Indeed, it involves a greatly simplified library production procedure, a barcoded samples multiplexing strategy, and a small amount of quality genomic DNA in samples. It also involves a direct sequencing on small well-defined fractions of the entire genome, because GBS collects millions of short-read sequences for every individual, and is a form of reduced genome representation sequencing using restriction enzyme digested samples. However, using a large panel of samples decreases the genome coverage and the read depth, while obtaining a relatively large but lower amount of markers (Gorjanc *et al.* 2015), which is generally sufficient for most of population-level analyses. A trade-off and balance have to be achieved between the number of individual samples, quantity and quality of genetic markers, and depth of sequence at each particular locus. Indeed, approximately 200 million reads are generated per sequencing lane, whatever the number of samples. The accuracy of genotyping is nevertheless improved by increasing and maximizing the number of samples at low-coverage. As it has been shown, high-coverage sequencing on multiple samples is finally obtained by using sequence data pipelines that filter out individual base reads with low quality and use probabilistic methods to call alleles (Gorjanc *et al.* 2015).

To conclude, this reference-free, restriction-enzyme-based and high-sample-multiplexed GBS approach has great potential for future genetics research of complex genomes and could be applied to a variety of other invasive plant species, without preliminary knowledge of the species, without a reference genome, without any prior sequence work, and even without identification and characterization of markers or polymorphisms. Reference genome and sequence map are helpful, but not required. Nevertheless, this

kind of tool still has difficulties in working with polyploid species. The most interesting feature of GBS is the method's universality to genotype model and non-model organisms and species (Chen *et al.* 2013). Moreover, the extreme scalability, flexibility and versatility of GBS make this an excellent, competitive and attractive tool for many valuable applications and research questions in plant science, for almost all species. Change of focus within the genome or change of budget within the project can easily be accommodated if GBS is used for producing massive volumes of raw genotypic data and for mining different markers systems (Panel *et al.* 2015). It may be useful to generate more markers than required and then to select high-quality markers from these based on the needs of the study (Davey *et al.* 2011). Besides, GBS is straightforward, easy to handle, user-friendly, poorly complicated and without biases, notably in comparison to the similar and derivate method RAD-seq (restriction-site associated DNA sequencing; Baird *et al.* 2008), thus it can be used by people with basic computing ability (Elshire *et al.* 2011). Therefore, such sequencing-based genotyping innovations are successfully and dramatically revolutionizing modern science, and are likely to be routine for many years to come.

The decreasing cost and increasing throughput of next-generation sequencing in recent years will enable large-scale, whole-genome and high-density SNPs discovery in many species with limited genetic resources, particularly in some wild plants that have never been designated as model species for genetic research but that have been targeted as a concern for conservation ecology and population management. Our study represents, to our knowledge, one of the first applications of the GBS approach to invasive plant species.

3.6. Acknowledgements

This research was financially supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada, by the Canadian Wildlife Service and by the Department of Transportation of Quebec. We are grateful to Dr. Humira Sonah for her technical assistance in genotyping, and to Dr. Julie Turgeon for her help with genetic analyses. We

would like to thank the Institut de biologie intégrative et des systèmes (IBIS) at Université Laval for their involvement in the process of GBS.

3.7. References

- Addinsoft. 2014. XLSTAT package. Addinsoft, Paris, France.
- Albert, A., Brisson, J., Belzile, F., Turgeon, J., and Lavoie, C. 2015. Strategies for a successful plant invasion : The reproduction of *Phragmites australis* in north-eastern North America. *Journal of Ecology*, 103, 1529-1537.
- Baird, N.A., Etter, P.D., Atwood, T.S., Currey, M.C., Shiver, A.L., Lewis, Z.A., Selker, E.U., Cresko, W.A., and Johnson, E.A. 2008. Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS One*, 3, e3376.
- Barrett, S.C.H., Colautti, R.I., and Eckert, C.G. 2008. Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology*, 17, 373-383.
- Beissinger, T.M., Hirsch, C.N., Sekhon, R.S., Foerster, J.M., Johnson, J.M., Muttoni, G., Vaillancourt, B., Buell, C.R., Kaeppler, S.M., and de Leon, N. 2013. Marker density and read depth for genotyping populations using genotyping-by-sequencing. *Genetics*, 193, 1073-1081.
- Belzile, F., Labbé, J., LeBlanc, M.-C., and Lavoie, C. 2010. Seeds contribute strongly to the spread of the invasive genotype of the common reed (*Phragmites australis*). *Biological Invasions*, 12, 2243-2250.
- Bickford, D., Lohman, D.J., Sodhi, N.S., Ng, P.K.L., Meier, R., Winker, K., Ingram, K.K., and Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 148-155.
- Bradbury, P.J., Zhang, Z., Kroon, D.E., Casstevens, T.M., Ramdoss, Y., and Buckler, E.S. 2007. TASSEL : Software for association mapping of complex traits in diverse samples. *Bioinformatics*, 23, 2633-2635.
- Brisson, J., de Blois, S., and Lavoie, C. 2010. Roadsides as invasion pathway for common reed (*Phragmites australis*). *Invasive Plant Science and Management*, 3, 506-514.
- Catling, P.M., and Mitrow, G. 2011. The recent spread and potential distribution of *Phragmites australis* subsp. *australis* in Canada. *Canadian Field-Naturalist*, 125, 95-104.
- Chen, C., Mitchell, S.E., Elshire, R.J., Buckler, E.S., and El-Kassaby, Y.A. 2013. Mining conifers' mega-genome using rapid and efficient multiplexed high-throughput genotyping-by-sequencing (GBS) SNP discovery platform. *Tree Genetics & Genomes*, 9, 1537-1544.

- Cox, G.W. 2004. Alien species and evolution : The evolutionary ecology of exotic plants, animals, microbes, and interacting native species. Island Press, Washington, DC. 400 p.
- Davey, J.W., Hohenlohe, P.A., Etter, P.D., Boone, J.Q., Catchen, J.M., and Blaxter, M.L. 2011. Genome-wide genetic marker discovery and genotyping using next-generation sequencing. *Nature Reviews Genetics*, 12, 499-510.
- Doyle, J.J., and Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., and Mitchell, S.E. 2011. A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One*, 6, e19379.
- Engloner, A.I., Major, A., and Podani, J. 2010. Clonal diversity along a water depth gradient in a declining reed stand as detected by three different genetic methods. *Aquatic Botany*, 92, 1-8.
- Felsenstein, J. 1989. PHYLIP : Phylogeny Inference Package (version 3.2). *Cladistics*, 5, 164-166.
- Glaubitz, J.C., Casstevens, T.M., Lu, F., Harriman, J., Elshire, R.J., Sun, Q., and Buckler, E.S. 2014. TASSEL-GBS : A high capacity genotyping by sequencing analysis pipeline. *PLoS One*, 9, e90346.
- Gorjanc, G., Cleveland, M.A., Houston, R.D., and Hickey, J.M. 2015. Potential of genotyping-by-sequencing for genomic selection in livestock populations. *Genetics Selection Evolution*. DOI: 10.1186/s12711-015-0102-z.
- Gower, J.C. 1966. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis. *Biometrika*, 53, 325-338.
- Hudon, C., Gagnon, P., and Jean, M. 2005. Hydrological factors controlling the spread of common reed (*Phragmites australis*) in the St. Lawrence River (Quebec, Canada). *Ecoscience*, 12, 347-357.
- Jodoin, Y., Lavoie, C., Villeneuve, P., Thériault, M., Beaulieu, J., and Belzile, F. 2008. Highways as corridors and habitats for the invasive common reed *Phragmites australis* in Quebec, Canada. *Journal of Applied Ecology*, 45, 459-466.
- Kettenring, K.M., and Mock, K.E. 2012. Genetic diversity, reproductive mode, and dispersal differ between the cryptic invader, *Phragmites australis*, and its native conspecific. *Biological Invasions*, 14, 2489-2504.
- Kirk, H., Paul, J., Straka, J., and Freeland, J.R. 2011. Long-distance dispersal and high genetic diversity are implicated in the invasive spread of the common reed, *Phragmites australis* (Poaceae), in northeastern North America. *American Journal of Botany*, 98, 1180-1190.
- Lambertini, C., Gustafsson, M.H.G., Frydenberg, J., Lissner, J., Speranza, M., and Brix, H. 2006. A phylogeographic study of the cosmopolitan genus *Phragmites* (Poaceae) based on AFLPs. *Plant Systematics and Evolution*, 258, 161-182.

- Lathrop, R.G., Windham, L., and Montesano, P. 2003. Does *Phragmites* expansion alter the structure and function of marsh landscapes ? Patterns and processes revisited. *Estuaries*, 26, 423-435.
- Lelong, B., Lavoie, C., and Thériault, M. 2009. Quels sont les facteurs qui facilitent l'implantation du roseau commun (*Phragmites australis*) le long des routes du sud du Québec ? *Ecoscience*, 16, 224-237.
- Lu, F., Lipka, A.E., Glaubitz, J., Elshire, R., Cherney, J.H., Casler, M.D., Buckler, E.S., and Costich, D.E. 2013. Switchgrass genomic diversity, ploidy, and evolution : Novel insights from a network-based SNP discovery protocol. *PLoS Genetics*, 9, e1003215.
- Maheu-Giroux, M., and de Blois, S. 2007. Landscape ecology of *Phragmites australis* invasion in networks of linear wetlands. *Landscape Ecology*, 22, 285-301.
- Mal, T.K., and Narine, L. 2004. The biology of Canadian weeds. 129. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *Canadian Journal of Plant Science*, 84, 365-396.
- McCormick, M.K., Kettenring, K.M., Baron, H.M., and Whigham, D.F. 2010. Spread of invasive *Phragmites australis* in estuaries with differing degrees of development : Genetic patterns, Allee effects and interpretation. *Journal of Ecology*, 98, 1369-1378.
- Mimee, B., Duceppe, M.-O., Véronneau, P.-Y., Lafond-Lapalme, J., Jean, M., Belzile, F., and Bélair, G. 2015. A new method for studying population genetics of cyst nematodes based on Pool-Seq and genome-wide allele frequency analysis. *Molecular Ecology Resources*. DOI: 10.1111/1755-0998.12412.
- Patel, D.A., Zander, M., Dalton-Morgan, J., and Batley, J. 2015. Chapter 1 : Advances in plant genotyping : Where the future will take us. pp. 1-11 In Batley, J., editor. *Plant genotyping : Methods and protocols*. Methods in molecular biology, vol. 1245. Humana Press, Springer Science+Business Media, New York. N.Y. 315 p.
- Peakall, R., and Smouse, P.E. 2006. GENALEX 6 : Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, 6, 288-295.
- Peakall, R., and Smouse, P.E. 2012. GENALEX 6.5 : Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research –an update. *Bioinformatics*, 28, 2537-2539.
- Philipp, K.R., and Field, R.T. 2005. *Phragmites australis* expansion in Delaware Bay salt marshes. *Ecological Engineering*, 25, 275-291.
- Poland, J.A., Brown, P.J., Sorrells, M.E., and Jannink, J.-L. 2012. Development of high-density genetic maps for barley and wheat using a novel two-enzyme genotyping-by-sequencing approach. *PLoS One*, 7, e32253.
- Prentis, P.J., Wilson, J.R.U., Dormontt, E.E., Richardson, D.M., and Lowe, A.J. 2008. Adaptive evolution in invasive species. *Trends in Plant Science*, 13, 288-294.
- Richardson, D.M., Daehler, C.C., Leishman, M.R., Pauchard, A., and Pyšek, P. 2010. Plant invasions : Theoretical and practical challenges. *Biological Invasions*, 12, 3907-3911.

- Saltonstall, K. 2002. Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*, 2445-2449.
- Saltonstall, K. 2003. Genetic variation among North American populations of *Phragmites australis* : Implications for management. *Estuaries*, *26*, 444-451.
- Saltonstall, K. 2003. Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis*. *Molecular Ecology*, *12*, 1689-1702.
- Schierenbeck, K.A., and Ellstrand, N.C. 2009. Hybridization and the evolution of invasiveness in plants and other organisms. *Biological Invasions*, *11*, 1093-1105.
- Shaw, J.D., Wilson, J.R.U., and Richardson, D.M. 2010. Initiating dialogue between scientists and managers of biological invasions. *Biological Invasions*, *12*, 4077-4083.
- Simberloff, D. 2003. How much information on population biology is needed to manage introduced species ? *Conservation Biology*, *17*, 83-92.
- Sonah, H., Bastien, M., Iquira, E., Tardivel, A., Légaré, G., Boyle, B., Normandeau, É., Laroche, J., Larose, S., Jean, M., and Belzile, F. 2013. An improved genotyping by sequencing (GBS) approach offering increased versatility and efficiency of SNP discovery and genotyping. *PLoS One*, *8*, e54603.
- Sonah, H., Deshmukh, R.K., Singh, V.P., Gupta, D.K., Singh, N.K., and Sharma, T.K. 2010. Genomic resources in horticultural crops : Status, utility and challenges. *Biotechnological Advances*, *29*, 199-209.
- te Beest, M., Le Roux, J.J., Richardson, D.M., Brysting, A.K., Suda, J., Kubešová, M., and Pyšek, P. 2012. The more the better ? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany*, *109*, 19-45.
- Tougas-Tellier, M.-A. 2013. Impact des changements climatiques sur l'expansion du roseau envahisseur dans le fleuve Saint-Laurent. M.ATDR thesis. Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Tulbure, M.G., Johnston, C.A., and Auger, D.L. 2007. Rapid invasion of a Great Lakes coastal wetland by non-native *Phragmites australis* and *Typha*. *Journal of Great Lakes Research*, *33*, 269-279.
- Wares, J.P., Hughes, A.R., and Grosberg, R.K. 2005. Mechanisms that drive evolutionary change : Insights from species introductions and invasions. pp. 201-228 In Sax, D.F., Stachowicz J.J., and Gaines, S.D., editors. *Species invasions, insights into ecology, evolution and biogeography*. Sinauer, Sunderland, M.A. 480 p.
- Wenzl, P., Carling, J., Kudma, D., Jaccoud, D., Huttner, E., Kleinhofs, A., and Kilian, A. 2004. Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *101*, 9915-9920.

CHAPITRE IV : DO WOODY PLANTS PREVENT THE ESTABLISHMENT OF COMMON REED ALONG HIGHWAYS ? INSIGHTS FROM SOUTHERN QUEBEC

Arnaud Albert, Jacques Brisson, Jean Dubé, Claude Lavoie

Ce manuscrit a fait l'objet de la publication scientifique suivante :

Albert, A., Brisson, J., Dubé, J., and Lavoie, C. 2013. Do woody plants prevent the establishment of common reed along highways ? Insights from Southern Quebec. *Invasive Plant Science and Management*, 6, 585-592.

4.1. Abstract

The common reed (*Phragmites australis*) is one of the most invasive vascular plants in northeastern North America. A competitive genotype from Eurasia has recently invaded road and agricultural ditches, which facilitate the dispersal of the plant over long distances. However, large tracts of roadsides – apparently propitious for the establishment of the plant – are not invaded by the grass. We hypothesized that the absence of the invader is associated with physical and biological characteristics of roadsides. To test this hypothesis, we collected field data and developed two statistical models to explain the presence or absence of the common reed along a highway of southern Quebec highly invaded by the plant but with contrasting patterns of common reed distribution. The models explained 23 to 30% of the total variance and correctly predicted the presence or absence of common reed 71% of the time. The models suggest that a dense woody plant cover over a drainage ditch limits the establishment and/or expansion of the common reed, probably by competition for light and space. Also, shaded ditches are not subjected to a frequent maintenance, and are therefore less disturbed, probably further reducing common reed invasion because the germination of their seeds is less likely without soil disturbance. This study yields insights on the potential of

woody plants for controlling the expansion of invasive grasses, and could help to justify the preservation of dense shrubs and tree hedges along right-of-ways.

Nomenclature : Common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.

Key words : *Phragmites australis*, plant competition, plant invasion, right-of-way management, road ecology.

4.2. Introduction

Roadsides and their associated drainage ditches form open habitats for plants well adapted to disturbance (roadside mowing, ditch cleaning) and pollution (deicing salts, fertilizers from nearby agricultural fields, heavy metals). Although they can be colonized by a large variety of native plants (Rentch *et al.* 2005, Karim & Mallik 2008), their characteristics (open and disturbed) are particularly suitable for the establishment of opportunistic exotic species (Gelbard & Belnap 2003, Hansen & Clevenger 2005, Hulme *et al.* 2008). Moreover, roadsides function as corridors for invasive plants (Floerl & Inglis 2005, Hulme 2009, Joly *et al.* 2011), although their importance has usually been overlooked in statistical models predicting the spread of plant invaders (Hulme 2003, Hulme *et al.* 2008, Christen & Matlack 2009).

The common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. (Poaceae), is one of the most invasive vascular plants in northeastern North America (Bertness *et al.* 2002, Saltonstall 2002, Mal & Narine 2004, Lelong *et al.* 2007, Catling & Mitrow 2011). A particularly competitive genotype from Eurasia (subspecies *australis*, or haplotype M) has invaded coastal wetlands of the United States (Rice *et al.* 2000, Lathrop *et al.* 2003, Philipp & Field 2005) and, more recently, freshwater wetlands and road and agricultural ditches of eastern Canada (Wilcox *et al.* 2003, Hudon *et al.* 2005, Maheu-Giroux & de Blois 2007, Tulbure *et al.* 2007, Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009, Tulbure & Johnston 2010, Kirk *et al.* 2011, Wilcox 2012). The common reed is especially abundant along roads, with linear populations covering thousands of kilometers in southern Quebec

(Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009). This grass proliferates along roadsides because : (1) it finds the resources (light, nutrients, water) essential for its growth; (2) there is usually no competition with shrubs and trees for light and space; and (3) the species is tolerant to deicing salt and frequent mowing (Haslam 1972, Mal & Narine 2004, Vasquez *et al.* 2006, Brisson *et al.* 2010).

Even though roadsides, and especially those of paved roads which are larger and sunnier (see Lelong *et al.* 2009 for details), are prone to common reed invasions, we recently noted that large tracts of roadsides – apparently propitious for the establishment of the plant – are exempt of the grass. This phenomenon is particularly intriguing in the St. Lawrence River lowlands of southern Quebec where a very large proportion of roadsides have been colonized by the plant (Lelong *et al.* 2009). Recent genetic studies from eastern Canada (Belzile *et al.* 2010, Kirk *et al.* 2011) have clearly shown that the establishment of new common reed populations essentially results from seed dispersal, which is usually a very efficient mechanism for rapidly invading new sites, especially far from the parent plants (Barrett 2011). It is unclear whether it is only a matter of time before these roadsides are colonized, or if they present characteristic which are safeguarding them from invasion. We hypothesized that the absence of the invader along these roadsides is associated with physical (soil types) and biological (trees and shrubs in ditches) characteristics. Precisely identifying these characteristics will help road system managers to identify sectors vulnerable to invasion, and eventually to justify the promotion of planting protective vegetation. To test this hypothesis, we developed statistical models, based on biotic and abiotic characteristics, to explain the presence or absence of the common reed along a highway located in a region of southern Quebec highly invaded by the species. This highway (H30) was selected because of contrasting patterns of common reed distribution; the southern part is densely colonized by the species and the northern part has only a few common reed populations.

4.3. Materials and methods

4.3.1. Study area

The spatial distribution of the common reed along highways in southern Quebec was studied in 2003 by Jodoin *et al.* (2008). The common reed was found to be widely distributed, especially in the region surrounding the city of Montreal (the Montérégie administrative region). However, field observations highlighted the fact that along H30, particularly in the section located between H20 and the town of Sorel, the common reed was more sparsely distributed, especially near Sorel (Figure 4.1). This is in stark contrast with the other sections of H30, where the common reed forms continuous hedges in the drainage ditches bordering the highway (Jodoin *et al.* 2008; Figure 4.2a).

The H30 was sampled in July and August 2010 between H20 (km 130) and Sorel (km 180), which corresponds to 100 km (62 mi) of drainage ditches, 50 km on each side of the highway. The central drainage ditch separating opposing lanes was not sampled for safety reasons. This highway section has two distinct parts. The land around the northern part (23 km long) is covered by sandy surface deposits (Soil Landscapes of Canada Working Group 2010) and is more forested (Figure 4.1). The southern part (27 km long) is covered by clay soils, and the surrounding landscape is largely dominated by agricultural lands used for the cultivation of corn and soybean.

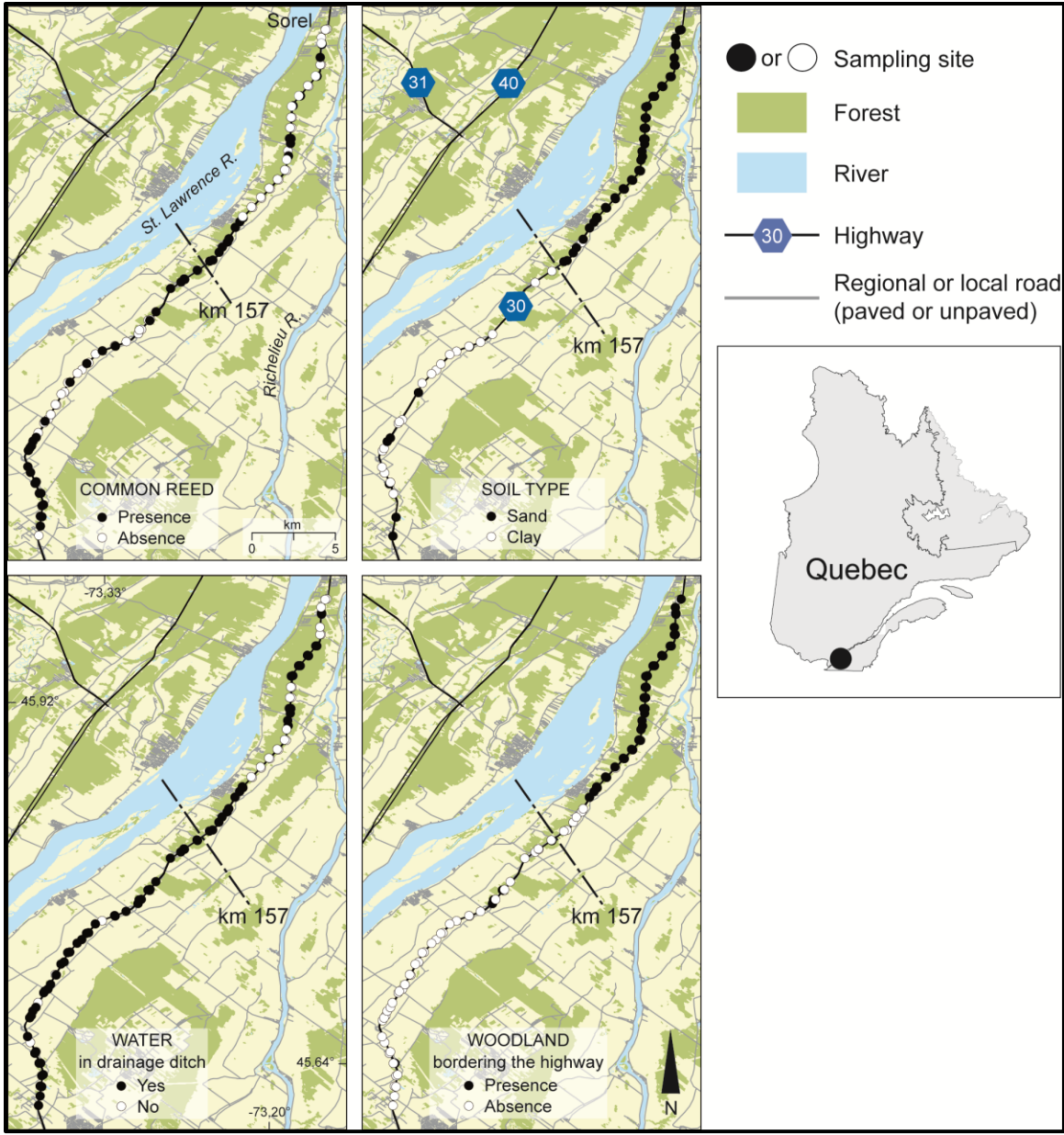


Figure 4.1. Presence or absence of the common reed in front of the kilometer markers located on both sides of the Highway 30 (Quebec, Canada) in summer 2010. Other characteristics of the sampling sites (sandy or clay soil types, presence of water in the drainage ditch, woodland directly adjacent to the highway) are also mapped. The border between north and south sections of the highway (km 157) is indicated.



*Figure 4.2. (a) Dense common reed population occupying the drainage ditch separating each roadway of Highway 30 (Quebec, Canada); (b) drainage ditch along the northern section of Highway 30 densely shaded by trees and shrubs from the forest located at the edge of the roadside; (c) destruction of shrub and tree hedges in 2011 along the Highway 40 (Quebec), such actions are likely to facilitate the establishment of new common reed populations in the disturbed roadside ditch because of the removal of woody plant competitors; (d) willows (*Salix miyabeana* Seemen) along a section of Highway 50 (Quebec), newly opened in 2011, that were planted to prevent the establishment or survival of common reed seedlings in the drainage ditches through competition for light and space. Photographs : (a) J. Brisson; (b) A. Albert; (c) C. Lavoie; (d) P. Boivin.*

4.3.2. Data sampling

The H30 is subdivided into 1-km-long segments separated by official kilometer markers positioned along the highway. A total of 93 sampling sites, located in front of each kilometer marker on both sides of the highway, were surveyed. It was not possible to sample seven additional sites because of the presence of an exit road very close to the kilometer marker. Six environmental characteristics that could potentially explain the presence (or absence) of the common reed along H30 were sampled at each site. Four characteristics were easily sampled in the field : (1) the roadside width, i.e., the distance from the border of the paved road to the bottom of the drainage ditch (prediction : a larger width favors the presence of the common reed by offering more habitat space); (2) the roadside slope (a slighter slope favors the common reed through less effective drainage); (3) the presence of water in the drainage ditch (all sites were sampled the same day in August) (the presence of water in the drier part of the summer favors the common reed); and (4) the presence of an agricultural field bordering the highway (the presence of a field favors the common reed by supplying a nutrient resource such as fertilizers or by being a source of additional disturbance, e.g., herbicides, soil erosion, etc.).

The other two characteristics required more sophisticated sampling or laboratory procedures. (5) The percentage of clay in the top 15 cm of soil was determined from five samples collected in the bottom of the ditch at 3-m (9 ft) intervals. In the laboratory, the particle size was determined following Boyoucos (1962); the size distribution provided an accurate estimation of the clay, sand, and silt content. We predicted that the higher the clay content, the higher the probability of common reed presence, because clay soils are usually poorly drained compared to sandy soils. (6) The cover by woody plants (shrub or tree species) over the drainage ditch was assessed using nine digital photographs taken in the bottom of the ditch, at 1-m elevation from the ground and at 2-m intervals along the ditch. The camera, on a tripod and with a focal length fixed at 6 mm, was oriented toward the sky, and the photograph was taken after a clearing of the field of vision from grass and forb species. A grid with 100 squares was then digitally superimposed on each photograph and the vegetation cover (presence of a woody plant) was assessed for each

square, permitting us to calculate the average percentage of squares with a woody plant over the nine photographs of each site. We predicted that the higher the woody plant cover, the lower the probability of common reed presence because this species is particularly shade intolerant (Havens *et al.* 2003, Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009).

4.3.3. Statistical analyses

Two binary logistic regression models (Hosmer & Lemeshow 2000) correcting for potential problems of variance heteroskedasticity (White 1980) were constructed with the data. These models allowed using non-normal independent variables to explain a binary categorical variable. The presence (1) or absence (0) of a common reed population at a sampling site was the binary dependent variable explained by the models. The six other variables (environmental characteristics) were integrated into the first model as independent variables. Four variables were continuous (roadside width, roadside slope, clay content, woody plant cover) and two were binary (presence of water in the ditch, presence of an agricultural field). Two additional binary variables were created for the second model, one identifying observations located in the northern (N) part of H30, and one identifying observations located in the southern (S) part. The limit separating the two parts (km 157) was based on the soil type (Figure 4.1) : in the northern part, the mean clay content in the soil was about $10 \pm 10\%$ (standard deviation), whereas it was much higher in the southern part ($47 \pm 15\%$). The six environmental characteristics were multiplied by these two new variables (N and S components), for a total of 12 variables used in the second model. This approach was equivalent to producing a specific model for each part of the highway, although it specifically tested the effects of northern and southern locations of sampling sites directly through the variables.

Three approaches were used to evaluate the goodness-of-fit and the performance of the models. The first relied on the pseudo R^2 measure (adjusted R^2 , McFadden 1974), the second on the comparison of predicted probabilities with sample frequencies (Hosmer & Lemeshow 2000), and the third on the comparison of predicted outcomes with actual outcomes using a classification table (Cameron & Triverdi 2009). The STATA and GEODA software applications (Anselin 2006, StataCorp LP 2009) were used for

calculations and to test for possible influence of spatial autocorrelation on the models (Moran 1950).

4.4. Results and discussion

Of the 93 sites sampled, 43 were invaded by the common reed (Figure 4.1). Common reed populations were found in 25 sites in the southern part of H30 ($n = 47$) and 18 sites in the northern part ($n = 46$). Water was found in the drainage ditch of almost all (93%) sampling sites colonized by the plant. In the northern part of H30, only 29% of sites without common reed had water. The ditches were totally free from shrubs and trees in most (81%) of the invaded sites.

The statistical models, without and with (+N/S) the north/south component, explained 23 and 30% of the total variance (presence/absence of the common reed), respectively. The Hosmer-Lemeshow statistic, which was not significant at more than 31% and 61% (+N/S), indicated that there was no significant difference between field observations and model predictions for presence/absence of the plant. Moreover, the models correctly predicted 71% of the presence or absence of common reed along H30 (Table 4.1). The first model produced a better prediction of presence (79%) than of absence (64%), whereas the reverse (67% and 74%) was obtained for the +N/S model. No correlations between independent variables were significant in both models. Other recent regression models explaining the presence of plant invaders along southern Quebec roads had a somewhat better performance for correct presence/absence predictions (78 to 89%; Joly *et al.* 2011, Meunier & Lavoie 2012), but the H30 models explained a larger fraction of the total variance than other very similar models built for the common reed (18 to 21%; Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009).

Table 4.1. Results of the two binary logistic regression models, i.e., without or with a north/south component (+N/S), that were used to establish a link between the presence (or absence) of common reed populations and environmental characteristics along the drainage ditches of Highway 30 (Quebec, Canada) : a classification table comparing fitted probabilities and dichotomous outcomes. Three sampling sites were not used by the +N/S model, because for one of the environmental characteristic (woody plant cover, S), the observations were not useful for explaining the variance; the variable and the sampling sites were thus rejected.

Prediction (model)	Observation (in the field)		
	Presence	Absence	Total
Model 1			
Presence	34	18	52
Absence	9	32	41
Total	43	50	93
Model 2 (+N/S)			
Presence	29	12	41
Absence	14	35	49
Total	43	47	90

In the first model, two (water and woody plant cover) of the six independent variables that were used in the logistic regression analysis were significant ($P < 0.05$; Table 4.2). The woody plant cover was weighted more heavily in the model (Wald's statistic). The model indicated that there were significantly lower chances of finding a common reed population in a shaded drainage ditch than in a ditch without trees and shrubs. Moreover, the probability of finding a common reed population along the highway was higher in wet sites than in dry sites. The second model (+N/S) suggested that water and woody plant cover only had a significant impact in the northern section of H30 (Table 4.2); in the southern section where the landscape is much less forested, no environmental factors explained the presence/absence of common reed, probably because too few sites had a woody plant cover (Figure 4.1). In summary, the drier and shadier a ditch, the less likely the presence of common reed.

Table 4.2. Results of the two binary logistic regression models, i.e., without or with a north/south component (+N/S), that were used to establish a link between the presence (or absence) of common reed populations and environmental characteristics along the drainage ditches of Highway 30 (Quebec, Canada).

Variable	Variable type	β (slope)	Odds ratio	Wald's statistic	P
Model 1					
Woody plant cover	Continuous (%)	-0.03	0.97	10.69	< 0.001
Presence of water	Binary (0/1)	1.81	6.09	4.04	0.044
Roadside slope	Continuous (°)	0.16	1.17	1.82	0.177
Presence of an agricultural field	Binary (0/1)	-0.69	0.50	1.23	0.268
Roadside width	Continuous (m)	0.11	1.12	0.55	0.459
Clay content	Continuous (%)	-0.11	0.99	0.30	0.580
Model 2 (+N/S)					
Presence of water, N	Binary (0/1)	2.80	16.41	6.40	0.011
Woody plant cover, N	Continuous (%)	-0.04	0.96	6.10	0.013
Roadside slope, N	Continuous (°)	0.29	1.33	3.10	0.078
Presence of an agricultural field, S	Binary (0/1)	-1.18	0.31	2.22	0.136
Clay content, N	Continuous (%)	0.04	1.04	1.23	0.268
Roadside width, S	Continuous (m)	0.26	1.29	1.17	0.280
Presence of an agricultural field, N	Binary (0/1)	1.09	2.98	1.00	0.320
Roadside slope, S	Continuous (°)	0.07	1.07	0.14	0.715
Presence of water, S	Binary (0/1)	0.38	1.46	0.08	0.776
Clay content, S	Continuous (%)	0.01	1.01	0.06	0.805
Roadside width, N	Continuous (m)	-0.03	0.97	0.02	0.883

There was a significant ($P < 0.05$) spatial autocorrelation among residuals, as indicated by the Moran's I statistic (Table 4.3). A weak spatial autocorrelation was present when considering the first two, three, four or five nearest neighbors (model without N/S), or for the three, four or five nearest neighbors (model with N/S). The introduction of the N/S component reduced the values of Moran's I statistic and eliminated the autocorrelation with the two nearest neighbors (the most meaningful test along the highway); these values were low and not likely to play a fundamental role in the outcomes.

Table 4.3. Results of the two binary logistic regression models, i.e., without or with a north/south component (+N/S), that were used to determine the relationship between the presence (or absence) of common reed populations and some environmental characteristics along the drainage ditches of Highway 30 (Quebec, Canada) : spatial autocorrelation analyses among residuals, with a comparison between one, two, three, four, or five neighbors, for a cut-off criterion probability of 0.05.

Form of the W matrix	Statistics ^a			
	Moran's I	E (I)	Var (I)	t-stat
Nearest neighbors				
Model 1				
1	0.0044	-0.0109	0.1367	0.11
2	0.0987	-0.0109	0.0948	1.16
3	0.1892	-0.0109	0.0788	2.54
4	0.1491	-0.0109	0.0724	2.21
5	0.1599	-0.0109	0.0639	2.33
Model 2 (+N/S)				
1	-0.0524	-0.0109	0.1416	0.29
2	0.0588	-0.0109	0.0951	0.73
3	0.1687	-0.0109	0.0780	2.30
4	0.1329	-0.0109	0.0687	2.09
5	0.1390	-0.0109	0.0625	2.40

^aE (I) indicates the expected value of Moran's I under the null hypothesis; Var (I) indicates the variance of Moran's I ; t-stat indicates the value of the t test.

Land managers from the Department of Transportation of Quebec, in charge of the maintenance of highways, have suggested that the well-drained sandy soils of the northern part of H30 were intrinsically resistant to the establishment of common reed (G. Bédard, personal communication). This is possible, but the absence of common reed is more likely associated with the drier nature of sandy soils than with other physical or chemical soil properties (our H30 models and Lelong *et al.* 2009). Moreover, sandy soils are not very suitable for the cultivation of corn or soybean, whereas properly drained rich clay soils are more appropriate for large-scale crops, at least in this part of southern Quebec (Domon & Bouchard 2007). Woodlands on sandy soils are thus less likely to be cleared for cultivation (Bouchard & Domon 1997, Pan *et al.* 1999, Domon & Bouchard 2007), and consequently more likely to border a road located in their vicinity (Figure 4.2b). The H30 models suggest that a dense woody plant cover over a drainage ditch prevents the establishment or the subsequent expansion of the common reed, a result also suggested by other studies (Havens *et al.* 2003, Jodoin *et al.* 2008, Lelong *et al.* 2009). Finally, shaded ditches are apparently less frequently maintained and are therefore less disturbed. The germination of common reed seeds is less likely without soil disturbance (Brisson *et al.* 2008; A. Albert, unpublished data). This probably explains why some sites along the southern part of H30, which have apparently not been recently excavated for maintenance, have not yet been invaded. Unfortunately, we have no data on the maintenance history of H30 to test this assertion.

In jurisdictions such as Quebec where the use of herbicides is prohibited for controlling the common reed, preserving well-established shrub or tree hedges along roadside ditches would probably be an effective low-cost alternative to prevent common reed invasions. Unfortunately such hedges are sometimes destroyed for « aesthetic » reasons (Figure 4.2c), while paradoxically, experimental shrub hedges have been implanted elsewhere along newly created highways to protect against common reed invasion (Figure 4.2d; Boivin *et al.* 2011). This study adds to the growing body of evidence suggesting that woody plants can help control the spread of invasive grasses (Foster & Wetzel 2005, Kim *et al.* 2006) in addition to providing other services such as landscape beautification and noise reduction.

4.5. Management implications

The common reed (*Phragmites australis*) is one of the most invasive vascular plants in northeastern North America. A competitive genotype from Eurasia has recently invaded road and agricultural ditches, which facilitate the dispersal of the plant over long distances. However, large tracts of roadsides – apparently propitious for the establishment of the plant – are not invaded by the grass. We suggest here that a dense woody plant cover over a drainage ditch is likely to prevent the establishment or the subsequent expansion of the common reed. In jurisdictions where the use of herbicides is prohibited for controlling the common reed, preserving well-established shrub or tree hedges over roadside ditches could be an efficient low-cost alternative to prevent common reed invasions. Planting shrub hedges in drainage ditches could also be a measure to prevent the establishment or survival of common reed seedlings along newly created highways, especially where the roads cross wetlands highly susceptible to be invaded.

4.6. Acknowledgments

This research was financially supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada and by the Department of Transportation of Quebec (grants and research contracts to Jacques Brisson and Claude Lavoie). We are grateful to Patrick Boivin and Emmanuelle Demers for field assistance. We also thank Yves Bédard (Department of Transportation of Quebec) for his collaboration on this project and two anonymous reviewers for comments on an earlier draft.

4.7. Literature cited

- Albert, A., Brisson, J., Dubé, J., and Lavoie, C. 2013. Do woody plants prevent the establishment of common reed along highways ? Insights from southern Quebec. *Invasive Plant Science and Management*, 6, 585-592.
- Anselin, L. 2006. GeoDa : An introduction to spatial data analysis. *Geographical Analysis*, 38, 5-22.

- Barrett, S.C.H. 2011. Reproductive systems, plant. pp. 584-590 *In* Simberloff, D., and Rejmánek, M. eds. Encyclopedia of biological invasions. University of California Press, Berkeley and Los Angeles, CA. 792 p.
- Belzile, F., Labbé, J., LeBlanc, M.-C., and Lavoie, C. 2010. Seeds contribute strongly to the spread of the invasive genotype of the common reed (*Phragmites australis*). *Biological Invasions*, 12, 2243-2250.
- Bertness, M.D., Ewanchuk, P.J., and Silliman, B.R. 2002. Anthropogenic modification of New England salt marsh landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 1395-1398.
- Boivin, P., Albert, A., and Brisson, J. 2011. Prévenir et contrôler l'envahissement des autoroutes par le roseau commun (*Phragmites australis*). Institut de Recherche en Biologie Végétale, Montreal, Canada. 39 p.
- Bouchard, A., and Domon, G. 1997. The transformations of the natural landscapes of the Haut-Saint-Laurent (Québec) and their implications on future resource management. *Landscape and Urban Planning*, 37, 99-107.
- Boyucos, G. J. 1962. Hydrometer method improved for making particle-size analysis of soils. *Agronomy Journal*, 54, 464-465.
- Brisson, J., de Blois, S., and Lavoie, C. 2010. Roadside as invasion pathway for common reed (*Phragmites australis*). *Invasive Plant Science and Management*, 3, 506-514.
- Brisson, J., Paradis, É., and Bellavance, M.-È. 2008. Evidence of sexual reproduction in the invasive common reed (*Phragmites australis* subsp. *australis*; Poaceae) in eastern Canada : A possible consequence of global warming ? *Rhodora*, 110, 225-230.
- Cameron, A.C., and Triverdi, P.K. 2009. Microeconometrics using Stata. Stata Press, College Station, Texas. 688 p.
- Catling, P.M., and Mitrow, G. 2011. The recent spread and potential distribution of *Phragmites australis* subsp. *australis* in Canada. *Le Naturaliste Canadien*, 125, 95-104.
- Christen, D.C., and Matlack, G.R. 2009. The habitat and conduit functions of roads in the spread of three invasive plant species. *Biological Invasions*, 11, 453-465.
- Domon, G., and Bouchard, A. 2007. The landscape history of Godmanchester (Quebec, Canada) : Two centuries of shifting relationships between anthropic and biophysical factors. *Landscape Ecology*, 22, 1201-1214.
- Environment Canada. 2014. *Canadian climate normals* 1981–2010. URL 443 http://climate.weather.gc.ca/climate_normals/index_e.html.
- Floerl, O., and Inglis, G.J. 2005. Starting the invasion pathway : The interaction between source populations and human transport vectors. *Biological Invasions*, 7, 589-606.
- Foster, R.D., and Wetzel, P.R. 2005. Invading monotypic stands of *Phalaris arundinacea* : A test of fire, herbicide, and woody and herbaceous native plant groups. *Restoration Ecology*, 13, 318-324.

- Gelbard, J.L., and Belnap, J. 2003. Roads as conduits for exotic plant invasions in a semiarid landscape. *Conservation Biology*, 17, 420-432.
- Hansen, M.J., and Clevenger, A.P. 2005. The influence of disturbance and habitat on the presence of non-native plant species along transport corridors. *Biological Conservation*, 125, 249-259.
- Haslam, S.M. 1972. *Phragmites communis* Trin. (*Arundo phragmites* L.) ? *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. *Journal of Ecology*, 60, 585-610.
- Havens, K.J., Berquist, H., and Priest, W.I. 2003. Common reed grass, *Phragmites australis*, expansion into constructed wetlands : Are we mortgaging our wetland future ? *Estuaries*, 26, 417-422.
- Hosmer, D.W., and Lemeshow, S. 2000. Applied Logistic Regression. 2nd ed. John Wiley, New York, New York. 373 p.
- Hudon, C., Gagnon, P., and Jean, M. 2005. Hydrological factors controlling the spread of common reed (*Phragmites australis*) in the St. Lawrence River (Quebec, Canada). *Ecoscience*, 12, 347-357.
- Hulme, P.E. 2003. Biological invasions : Winning the science battles but losing the conservation war ? *Oryx*, 37, 178-193.
- Hulme, P.E. 2009. Trade, transport and trouble : Managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology*, 46, 10-18.
- Hulme, P.E., Bacher, S., Kenis, M., Klotz, S., Kühn, I., Minchin, D., Nentwig, W., Olenin, S., Panov, V., Pergl, Y., Pyšek, P., Roques, A., Sol, D., Solarz, W., and Vila, M. 2008. Grasping at the routes of biological invasions : A framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology*, 45, 403-414.
- Jodoin, Y., Lavoie, C., Villeneuve, P., Theriault, M., Beaulieu, J., and Belzile, F. 2008. Highways as corridors and habitats for the invasive common reed *Phragmites australis* in Quebec, Canada. *Journal of Applied Ecology*, 45, 459-466.
- Joly, M., Bertrand, P., Gbangou, R.Y., White, M.-C., Dubé, J., and Lavoie, C. 2011. Paving the way for invasive species : Road types and the spread of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*). *Environmental Management*, 48, 514-522.
- Karim, M.N., and Mallik, A.U. 2008. Roadside revegetation by native plants. I. Roadside microhabitats, floristic zonation and species traits. *Ecological Engineering*, 32, 222-237.
- Kim, K.D., Ewing, K., and Giblin, D.E. 2006. Controlling *Phalaris arundinacea* (reed canarygrass) with live willow stakes : A density-dependent response. *Ecological Engineering*, 27, 219-227.
- Kirk, H., Paul, J., Straka, J., and Freeland, J.R. 2011. Long-distance dispersal and high genetic diversity are implicated in the invasive spread of the common reed, *Phragmites australis* (Poaceae), in northeastern North America. *American Journal of Botany*, 98, 1180-1190.

- Lathrop, R.G., Windham, L., and Montesano, P. 2003. Does *Phragmites* expansion alter the structure and function of marsh landscapes ? Patterns and processes revisited. *Estuaries*, 26, 423-435.
- Lelong, B., Lavoie, C., Jodoin, Y., and Belzile, F. 2007. Expansion pathways of the exotic common reed (*Phragmites australis*) : A historical and genetic analysis. *Diversity and Distributions*, 13, 430-437.
- Lelong, B., Lavoie, C., and Thériault, M. 2009. Quels sont les facteurs qui facilitent l'implantation du roseau commun (*Phragmites australis*) le long des routes du sud du Québec ? *Écoscience*, 16, 224-237.
- Maheu-Giroux, M., and de Blois, S. 2007. Landscape ecology of *Phragmites australis* invasion in networks of linear wetlands. *Landscape Ecology*, 22, 285-301.
- Mal, T.K., and Narine, L. 2004. The biology of Canadian weeds. 129. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *Canadian Journal of Plant Science*, 84, 365-396.
- McFadden, D. 1974. The measurement of urban travel demand. *Journal of Public Econometrics*, 3, 303-328.
- Meunier, G., and Lavoie, C. 2012. Roads as corridors for invasive plant species : New evidence from smooth bedstraw (*Gallium mollugo*). *Invasive Plant Science and Management*, 5, 92-100.
- Moran, P. 1950. A test for serial independence of residuals. *Biometrika*, 37, 178-181.
- Pan, D., Domon, G., de Blois, S., and Bouchard, A. 1999. Temporal (1958-1993) and spatial patterns of land use changes in Haut-Saint-Laurent (Quebec, Canada) and their relation to landscape physical attributes. *Landscape Ecology*, 14, 35-52.
- Philipp, K.R., and Field, R.T. 2005. *Phragmites australis* expansion in Delaware Bay salt marshes. *Ecological Engineering*, 25, 275-291.
- Rentch, J.S., Fortney, R.H., Stephenson, S.L., Adams, H.S., Grafton, W.N., and Anderson, J.T. 2005. Vegetation-site relationships of roadside plant communities in West Virginia, USA. *Journal of Applied Ecology*, 42, 129-138.
- Rice, D., Rooth, J., and Stevenson, J.C. 2000. Colonization and expansion of *Phragmites australis* in upper Chesapeake Bay tidal marshes. *Wetlands*, 20, 280-299.
- Saltonstall, K. 2002. Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 2445-2449.
- Soil Landscapes of Canada Working Group. 2010. Soil landscapes of Canada, version 3.2. Ottawa, ON : Agriculture and Agri-Food Canada. Map and database.
- StataCorp LP. 2009. Stata 11. StataCorp LP, College Station, Texas.
- Tulbure, M.G., and Johnston, C.A. 2010. Environmental conditions 566 promoting non-native *Phragmites australis* expansion in Great Lakes coastal wetlands. *Wetlands*, 30, 577-587.

- Tulbure, M.G., Johnston, C.A., and Auger, D.L. 2007. Rapid invasion of a Great Lakes coastal wetland by non-native *Phragmites australis* and *Typha*. *Journal of Great Lakes Research*, 33, 269-279.
- Vasquez, E.A., Glenn, E.P., Brown, J.J., Guntenspergen, G.R., and Nelson, S.G. 2006. Salt tolerance and osmotic adjustment of *Spartina alterniflora* (Poaceae) and the invasive M haplotype of *Phragmites australis* (Poaceae) along a salinity gradient. *American Journal of Botany*, 93, 1784-1790.
- White, H. 1980. A heteroskedastic-consistent covariance matrix estimator and a direct test of heteroskedasticity. *Econometrica*, 48, 817-838.
- Wilcox, D.A. 2012. Response of wetland vegetation to the post-1986 decrease in Lake St. Clair water levels : Seed-bank emergence and beginnings of the *Phragmites australis* invasion. *Journal of Great Lakes Research*, 38, 270-277.
- Wilcox, K.L., Petrie, S.A., Maynard, L.A., and Meyer, S.W. 2003. Historical distribution and abundance of *Phragmites australis* at Long Point, Lake Erie, Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 29, 664-680.

CHAPITRE V : CONCLUSION GÉNÉRALE

Une combinaison de stratégies pour se disperser dans un nouveau milieu, une importante diversité et recombinaison génétique, et une tolérance à de nombreuses conditions environnementales, correspondent aux caractéristiques d'une espèce envahissante susceptibles de faciliter la dynamique de cette espèce exotique au sein d'une région. En ce sens, des traits et des mécanismes avantageux d'une plante jouent dans le succès de sa propagation, puisque ce sont entre autres des atouts de reproduction, des potentiels d'évolution et des compétences de résistance qui permettent à des envahisseurs de proliférer dans leur nouvelle aire de distribution.

Dans cette thèse, une approche basée sur une description biologique, génétique et écologique d'une espèce végétale a permis d'établir une relation entre le succès de propagation d'une plante envahissante et des caractéristiques particulières d'établissement. Ces trois projets de recherche conduisent à une meilleure compréhension des pouvoirs intrinsèques d' « invasiveness » de la composante « espèce » au cours de la phase de « propagation ».

5.1. Les conclusions de cette thèse sur les mécanismes de propagation du roseau commun envahisseur

Cette thèse de doctorat dresse un portrait biologique, génétique et écologique des caractéristiques du roseau envahisseur qui influencent sa propagation au Québec.

Dans le chapitre 2, des observations morphologiques et des analyses génétiques ont été utilisées pour déterminer la contribution relative de la reproduction sexuée et de la multiplication végétative dans la dispersion à courte et longue distance du roseau exotique. L'hypothèse était que le roseau utilise majoritairement les graines pour établir des nouvelles populations sur de vastes territoires, et principalement les rhizomes et les stolons pour étendre végétativement, localement et durablement ces populations. Grâce à

un échantillonnage structuré et dense à plusieurs échelles et dans divers habitats, nous avons démontré que la reproduction sexuée est importante dans la dispersion spatiale de l'espèce, et que la propagation végétative permet une expansion locale, clonale et latérale mais limitée des populations. Cependant, la fondation de nouvelles populations peut également être assurée par la dissémination de fragments de la plante, tout particulièrement le long des routes. Cet éclaircissement de la biologie du roseau illustre de façon éloquente la multitude de modes de propagation des espèces exotiques envahissantes.

Dans le chapitre 3, une technologie de génotypage de nouvelle génération et à haut débit a été utilisée pour peaufiner les caractéristiques génétiques du roseau exotique. L'hypothèse était que le roseau dispose d'une diversité génétique conséquente mieux décrite grâce à des analyses poussées de génotypage avec des milliers de marqueurs SNPs qui apportent des renseignements supplémentaires sur le roseau, notamment sur la distinction des clones et les stratégies de reproduction. Grâce à un approfondissement des connaissances sur la diversité génétique, nous avons prouvé que deux génotypes identiques avec les SSRs localisés dans plusieurs populations différentes étaient en fait deux clones différents avec les SNPs. De même, deux génotypes identiques avec les SSRs localisés dans une même population étaient effectivement un unique clone avec les SNPs. Ces résultats issus de nouveaux outils moléculaires minimisent la participation de la multiplication végétative dans la dispersion à courte distance mais accentuent la dominance de la propagation végétative à l'échelle locale. Cette avancée sur la génétique du roseau ajoute une nouvelle preuve d'une diversité génétique élevée chez les espèces exotiques envahissantes.

Dans le chapitre 4, des relevés de terrain et des modèles statistiques ont été utilisés pour identifier les conditions biotiques et abiotiques qui influencent la prolifération du roseau exotique le long d'une autoroute. L'hypothèse était que le roseau est absent de quelques bords de routes du fait de la présence d'arbres et d'arbustes dans les fossés de drainage qui réduisent la lumière et l'espace disponibles. Grâce à deux régressions logistiques binaires associées à une analyse d'auto-corrélation spatiale, nous avons suggéré qu'un couvert

ligneux dense au-dessus d'un fossé limite l'établissement et/ou l'expansion du roseau. La présence d'arbres est également le reflet d'un manque de maintenance et donc d'une absence de perturbation favorable au roseau. Ces conclusions justifient la plantation ou la préservation des haies arbustives et des forêts le long des corridors routiers. Cette précision sur l'écologie du roseau confirme de manière empirique que la résistance biotique et l'accès aux ressources conditionnent le succès des espèces exotiques envahissantes.

En résumé, à propos du roseau commun exotique de façon spécifique, cette thèse a permis de comprendre que cette espèce envahissante : 1) se reproduit à la fois par graines et par fragments pour établir de nouvelles populations; 2) dispose d'une grande diversité génétique issu d'un brassage des gènes; 3) est intolérante à des sites de colonisation ombragés par la présence de ligneux. Ces résultats supportent l'hypothèse générale testée dans cette thèse : le roseau exotique connaît un brassage génétique et se disperse effectivement au Québec par graines dans des fossés de drainage ouverts exposés au soleil et dénués de végétation arborée.

Ma thèse apporte par conséquent des précisions sur les qualités d'envahissement et le succès de propagation du roseau commun envahisseur dans les milieux perturbés. Il faut savoir que d'autres espèces, exotiques ou indigènes, auraient pu profiter de la niche écologique des fossés routiers, et pourtant seul le roseau semble s'y être imposé. Les perturbations entraînent un nouvel habitat disponible avec des nouvelles ressources soudainement accessibles pour tous, mais l'espèce doit avoir les traits et les aptitudes pour tirer profit de ces nouveaux apports. Le roseau possède donc des caractéristiques qui lui sont propres et qui sont différentes des autres plantes opportunistes pour profiter et utiliser au mieux ces milieux devenus propices, ce qui explique son avantage. La probabilité d'envahissement augmente si les caractéristiques biologiques et écologiques des espèces sont en adéquation avec les conditions bio-physico-chimiques et les activités humaines du milieu d'accueil, ce qui est le cas du roseau.

5.2. Les apports théoriques de cette thèse sur les caractéristiques de dispersion des plantes exotiques envahissantes

Cette thèse de doctorat, au travers d'un exemple concret qu'est le roseau commun, permet de valider des concepts fondamentaux sur les phénomènes d'envahissement, qui pourront servir dans l'étude d'autres invasions. Elle s'est concentrée sur la caractérisation des mécanismes de la composante « espèce » qui favorisent son succès d'établissement pendant la phase de « propagation ».

Premièrement, cette thèse fournit des éléments en faveur de l'hypothèse de traits fonctionnels complexes pour l'envahisseur, avec l'utilisation d'une triple reproduction pour favoriser l'expansion du roseau exotique. Des espèces exotiques qui emploient plusieurs stratégies de propagation complémentaires, ont par conséquent une plus grande réussite d'invasion (Winkler & Fischer 2002, Barrett *et al.* 2008). En effet, de nombreuses plantes vivaces, particulièrement des plantes de milieux humides, peuvent se reproduire sexuellement par graines, et asexuellement par expansion clonale et dissémination de fragments (Cronk & Fennessy 2001). Cette multitude de stratégies de propagation est également utilisée par divers envahisseurs de familles différentes, comme *Fallopia ×bohemica* (Groeneveld *et al.* 2014) ou *Solidago canadensis* (Dong *et al.* 2006). Une partie du succès d'invasion semble donc attribuable à la combinaison des avantages de plusieurs modes de reproduction puisqu'elle permet aux espèces une colonisation garantie dans presque n'importe quel habitat, à n'importe quelle échelle et à n'importe quel moment; les reproductions sexuée et végétative diffèrent dans le succès d'établissement, la distance de dispersion et les changements évolutifs (Barrett 2015). Néanmoins, d'autres espèces végétales sont envahissantes en ayant un comportement et des exigences différentes, avec un seul mécanisme de propagation, comme *Arundo donax* (Saltonstall *et al.* 2010) ou *Heracleum mantegazzianum* (Page *et al.* 2006).

Deuxièmement, cette thèse soutient le fait d'avantages génétiques chez les plantes envahissantes, avec une diversité des individus et un brassage des génotypes chez le roseau dans le milieu d'accueil. Cette haute variabilité génétique serait due à de multiples

importations consécutives à l'introduction et à la reproduction sexuée postérieure à celle-ci. Des espèces exotiques qui disposent d'une diversité génétique élevée, ont par conséquent une plus grande réussite d'invasion (Bossdorf *et al.* 2005, Tobin *et al.* 2007). En effet, de nombreuses plantes exotiques sont devenues envahissantes grâce à un haut niveau de variabilité génétique, notamment résultant de plusieurs événements d'introductions et d'une recombinaison génétique sexuée, qui leur permet entre autres d'éviter l'effet du goulot d'étranglement, de surmonter la stochasticité environnementale et de maximiser leur potentiel adaptatif (Sakai *et al.* 2001). La diversité génétique est positivement corrélée à la fitness des populations (Reed & Frankham 2003). C'est notamment le cas pour *Phalaris arundinacea* (Lavergne & Molofsky 2007), pour *Saccharum spontaneum* (Bonnett *et al.* 2014), pour *Schoenoplectus maritimus* (Sweetman *et al.* 2013) et pour *Geranium carolinianum* (Shirk *et al.* 2014). Néanmoins, il existe dans le monde végétal des exceptions dans l'influence d'une diversité génétique élevée dans le succès d'invasion. La variation génétique peut apparaître comme ne façonnant pas une invasion (Dlugosch *et al.* 2015).

Troisièmement, cette thèse confirme par des preuves empiriques la compétition biotique et les contraintes abiotiques des sites non colonisés, avec la présence de plantes ligneuses et l'absence de ressources essentielles pour limiter l'expansion du roseau herbacé et héliophile. Il est à noter que, pour un habitat donné, les conditions biologiques et physico-chimiques sont étroitement liées : la présence des arbres permet une absence de lumière et d'espace. Des milieux potentiellement sensibles qui présentent une variété de strates et qui ont des paramètres limitants, ont par conséquent une plus grande résistance aux invasions (Foster & Wetzel 2005, Kim *et al.* 2006). En effet, des plantes fortement compétitrices et des communautés végétales diversifiées fournissent souvent (mais pas toujours) une plus grande résistance aux envahisseurs et une réduction de la croissance de ceux-ci, en réduisant l'accès à une ressource limitante ou critique (Hooper *et al.* 2005).

De même, des interactions existent entre les deux composantes des invasions (espèce et milieu). Ces dernières leçons sur les conditions des milieux peuvent s'interpréter en matière des caractéristiques des espèces. Par conséquent, des espèces exotiques qui

résistent à toutes les formes végétales et qui possèdent une large amplitude écologique pour les ressources, ont plus de chance d'être envahissantes (van Kleunen *et al.* 2010b). En effet, les espèces exotiques à forte plasticité phénotypique s'adaptent mieux aux conditions moins favorables ou à une variabilité du nouvel environnement (Sakai *et al.* 2001), et les espèces envahissantes sont généralement présentes dans les milieux perturbés avec une faible compétition végétale ou une suppression de la végétation voisine (Dukes & Mooney 1999), qui résulterait en retour à une augmentation des ressources accessibles; l'intensité de la compétition est en effet inversement corrélée avec la quantité de ressources non utilisées (Davis *et al.* 1998). Ces qualités sont d'autant plus présentes chez les plantes avec de larges zones géographiques dans leur région d'origine, puisqu'elles sont davantage capables de se maintenir dans une nouvelle région, du fait de tolérances climatiques et édaphiques plus grandes (Goodwin *et al.* 1999), ce qui est le cas de l'haplotype M du roseau qui est originellement abondant sur tout le continent européen. De plus, de nombreuses espèces envahissantes peuvent être soit des opportunistes en prenant l'avantage sur une grande disponibilité de ressources abiotiques et par une utilisation efficace de diverses ressources (« competition avoidance » ou « resource opportunity » ou « niche difference »; Gallien *et al.* 2015), ou soit des compétitrices supérieures en résistant et en remplaçant les plantes indigènes résidentes (« competitive exclusion » ou « fitness difference »; Davis *et al.* 2000). Cette habilité des végétaux peut différer en fonction des phases de vie. Le roseau semble notamment opportuniste dans les zones non végétalisées (lors de l'établissement dans un milieu perturbé) et compétitrice dans les environnements avec végétation (lors de l'expansion dans une communauté végétale), il est donc un bon exemple d'une plante exotique envahissante typique.

En résumé, à propos des plantes exotiques envahissantes de manière générale, cette thèse a permis de comprendre qu'une invasion réussie : 1) utilise à la fois les avantages de la reproduction sexuée et de la propagation végétative pour se répandre; 2) dispose d'un avantage évolutif par le biais d'un brassage génétique conséquent; 3) sait faire face à une multitude de facteurs environnementaux. Plusieurs notions sur les invasions sont ainsi reconnues : les espèces exotiques avec des modes multiples de dispersion, avec une

diversité et une différenciation génétiques importantes, et avec une résistance biotique à toutes formes de plantes pour l'accès et l'utilisation des ressources, sont généralement de meilleures envahissantes. Néanmoins, comme illustrées dans ce chapitre, des caractéristiques avantageuses d' « invasiveness » différentes et opposées à celles exposées dans cette thèse peuvent également menées à une réussite de l'envahissement. Tout est possible, rien est universel, chaque invasion ou non dépend de la situation et du contexte.

Ma thèse apporte par conséquent des précisions sur les caractéristiques inhérentes et biologiques des espèces envahissantes et sur les conditions environnementales et écologiques des milieux envahis, deux paramètres prépondérants pour expliquer et comprendre le succès d'une invasion (Richardson & Pyšek 2006, Thuiller *et al.* 2006). Ces deux composantes sont corrélées et doivent être en adéquation pour que l'invasion soit un succès. Les divers mécanismes de propagation de l'espèce ont également un rôle dans la notion de pression de diaspores. Ce sont des paramètres qui influencent le nombre, la densité et la fréquence des diaspores qui parviennent à s'établir dans de nouveaux sites au cours de la phase de propagation de l'envahisseur. Des pressions de diaspores successives s'exercent au cours du temps pour implanter de nouvelles populations dans d'autres aires spatiales distantes. La caractérisation de ces paramètres permet de mieux définir les conditions du succès d'établissement du roseau.

5.3. Les retombées pratiques de cette thèse pour la gestion de l'envahissement du roseau

5.3.1. Explorer l'avenir du roseau par de meilleurs outils moléculaires

La multiplication végétative était supposée prédominante puisque les conditions climatiques et les constructions humaines étaient davantage propices aux fragments du roseau commun. Mais la contribution semble avoir évolué vers la reproduction sexuée, notamment grâce à un réchauffement climatique améliorant vraisemblablement la viabilité des graines et la survie des plantules. Le mythe de la simple dispersion par voie asexuée s'effondre, tandis que l'établissement efficace par semences est bel et bien une

réalité. Dans l'avenir, la tendance d'une propagation majoritairement par graines devrait se confirmer mais avec une baisse sensible de la prolifération, les deux phénomènes découlant d'une sensibilisation accrue des acteurs. Mais de manière générale, il est à noter que les changements climatiques risquent de favoriser l'expansion du roseau; ils correspondent, au même titre que les perturbations et les interventions anthropiques, à des activités humaines et des phénomènes mondiaux qui ont des répercussions directes sur les invasions biologiques. Par conséquent, le réchauffement climatique peut améliorer la composante « espèce » d'un envahissement.

Afin d'estimer les superficies à risque d'envahissement et d'évaluer la vulnérabilité des sites naturels face à cet envahisseur, un modèle reproduisant sa répartition spatiale actuelle et prédisant sa distribution future, selon différents scénarios de changements climatiques, a été développé (Tougas-Tellier 2013). Le modèle d'habitat suggère que, dans les conditions climatiques actuelles, les roselières n'occupent actuellement que 1 à 29% de l'ensemble des habitats propices à leur établissement, d'après les connaissances actuelles de la biologie et de l'écologie de l'espèce. Le réchauffement climatique risque d'exacerber le potentiel de germination du roseau en augmentant les superficies favorables à son établissement jusqu'à 50% par rapport à leur importance actuelle, notamment le long des berges du fleuve Saint-Laurent avec une baisse du niveau d'eau prédite dans les différents scénarios (Tougas-Tellier 2013). Pour exemple, dans les Grandes battures Tailhandier, près de Montréal, la superficie des populations de roseau est passée de 1 à 33 ha de 1980 à 2002 (Hudon *et al.* 2005). Par conséquent, le réchauffement climatique peut également améliorer la composante « milieu ».

Le roseau commun est déjà considéré comme une espèce problématique, surtout pour la flore, et pourtant l'envahissement n'en est qu'à son début. Son influence négative sur la faune est pour l'instant limitée localement (Laroche 2011, Pérez 2011, Gagnon-Lupien 2013), mais ses impacts sur la biodiversité seront visibles à plus long terme. L'invasion au Québec n'a peut-être pas encore atteint un seuil à partir duquel les impacts sont davantage perceptibles. De même, le roseau est toujours en expansion en Amérique du Nord et sa colonisation n'est pas encore à l'équilibre, par conséquent la niche fondamentale de

l'espèce n'est pas encore bien connue, puisque l'ampleur des conditions dans lesquelles il pourrait se trouver n'est pas encore totalement déterminée. Il est donc primordial de favoriser la mise en place de recherches et de pratiques pour limiter sa prolifération. Avoir du roseau a certes des avantages et des inconvénients, mais n'avoir que du roseau serait un réel problème... Il est souhaitable de conserver une bonne diversité d'habitats dans toutes les régions du Québec de manière à favoriser la plus grande diversité floristique et faunique possible, dans le meilleur intérêt de la préservation d'un environnement sain.

Continuer d'améliorer les connaissances sur le roseau, notamment ses mécanismes de propagation, permettrait donc de peaufiner le modèle de l'impact des changements climatiques sur la prolifération du roseau, et d'atteindre ainsi une meilleure prévision et prévention de l'envahissement futur. Il est donc crucial d'élaborer des recherches pour démontrer de manière directe le rôle des changements climatiques sur la colonisation du roseau puisque peu d'articles supportent de manière argumentée les changements de distribution des espèces invasives causés par le réchauffement de la planète. Il est également crucial d'identifier l'évolution possible des caractéristiques du roseau, pour faire face au réchauffement climatique prévu et à ses conséquences. En effet, nous pouvons nous attendre à une prépondérance accrue de la reproduction sexuée dans le futur, avec tout ce que ça entraîne sur les possibilités d'adaptation et de progrès de la sous-espèce agressive. Les connaissances actuelles sur les caractéristiques vont changer, les études devront se poursuivre, pour un raffinement scientifique du savoir. Une plus grande production de graines et une meilleure survie des plantules se font déjà sentir aux États-Unis, plus au sud et plus chauds que le Québec (les colonies de roseau sont notamment davantage polyclonales là-bas), et le réchauffement climatique en est probablement l'une des raisons. Le roseau risque d'être encore plus envahisseur dans l'avenir; son potentiel est énorme et sa progression devrait continuer, stimulée par le réchauffement climatique.

Une des améliorations effectuées au cours de cette thèse dans l'étude d'une espèce concerne les outils génétiques. La caractérisation des individus en science végétale était

généralement réalisée depuis des années par le biais d'une multitude de marqueurs moléculaires conventionnels. Néanmoins, des marqueurs SNP de qualité permettent maintenant de réduire les incertitudes liées à l'utilisation d'un nombre limité de marqueurs microsatellites, puisque des milliers de marqueurs nucléotidiques peuvent être détectés simplement et rapidement par le génotypage-par-séquençage. Cette nouvelle technologie s'est concentrée dans ce cas-ci sur l'amélioration de la résolution de la diversité génétique et de la distinction des génotypes clones. Néanmoins, ce n'est qu'un point de départ pour une espèce, puisque caractériser la variabilité génétique des populations est la base initiale pour des investigations sophistiquées subséquentes en génétique (structure, différenciation, phylogénie, taxonomie, etc.). Le séquençage à haut débit a de nos jours le potentiel de modifier comment les études génétiques seront planifiées et menées dans l'avenir. Par conséquent, cette révolution moléculaire est de grande valeur pour les écologistes qui pourront obtenir des résultats plus précis sur l'identification, la description et la gestion des espèces envahissantes.

5.3.2. Comprendre la dispersion à longue distance de l'espèce

Les conclusions sur la contribution relative des modes de reproduction à la dispersion à longue distance peuvent être interprétées relativement à la notion de perturbations.

La propagation du roseau commun envahisseur en Amérique du Nord est fortement associée aux perturbations (naturelles ou anthropiques) et ne peut se faire presque exclusivement que dans ces habitats dégradés (Saltonstall 2002, Minchinton & Bertness 2003, Silliman & Bertness 2004, King *et al.* 2007). Les perturbations (« disturbance ») permettent d'ouvrir le milieu (« resource availability »; pour de la lumière) et de diminuer la compétition (« biotic resistance »; pour un sol nu), conditions physico-chimiques et biologiques essentielles pour l'établissement des graines, et jugées moins indispensables pour les fragments. La perturbation de la composante « milieu » est donc un facteur directeur de l'invasion du roseau, et elle interagit avec les différents modes de reproduction (sexué et asexué) de la composante « espèce » (Kettenring *et al.* 2015).

La contribution des stratégies de reproduction dans l'établissement du roseau semble dépendre du contexte du site perturbé potentiellement envahissable, notamment l'origine de la perturbation initiale du site. Quelque soit le type de site (naturel – marais d'eau douce – ou anthropique – fossés de drainage routiers –), si la perturbation est d'origine naturelle (par exemple les niveaux d'eau), l'établissement d'une nouvelle population ne semble pouvoir se faire que par l'arrivée spontanée de graines. Tandis que si la perturbation est d'origine humaine (par exemple les constructions), l'établissement pourrait également se faire par l'apport accidentel de fragments. En effet, la perturbation initiale nécessaire n'a pas la même origine selon le mode de reproduction : la reproduction sexuée a besoin de tout type de perturbation (obtenir un site propice aux graines), tandis que la multiplication végétative a besoin de perturbation humaine (disséminer des fragments). En outre, la perturbation initiale n'a pas le même rôle selon le mode de reproduction considéré : elle a pour rôle de créer un habitat favorable pour les graines (Silvertown 2008) tandis qu'elle a pour rôle d'être un vecteur d'apport pour les fragments (Winkler & Fischer 2002).

Quelque soit le type de site, la participation relative des modes de reproduction dans l'« établissement » dépend surtout des perturbations initiales et de leurs caractéristiques. Les deux stratégies de reproduction semblent dépendre des perturbations dans les sites à envahir, les différences étant dans l'origine et le rôle des perturbations. Les perturbations jouent sur le succès d'établissement et la pression de diaspores en affectant le nombre de diaspores à s'établir et le nombre d'événements d'établissement. Par conséquent, à reproductions sexuée et asexuée considérées égales, c'est le « type de perturbation » dans n'importe quel milieu touché qui semblerait influencer la contribution des graines ou des fragments dans le « succès d'établissement » du roseau dans un nouveau milieu.

Cependant, il est à noter que les perturbations, généralement de petite échelle, sont souvent naturelles dans les marais d'eau douce (baisse du niveau d'eau par exemple) et souvent humaines dans les fossés de drainage (entretien et maintenance par exemple). Il y a donc des variations de contribution selon les habitats touchés. De même, il faut rappeler que les graines peuvent néanmoins être disséminées par des facteurs humains

(machinerie), tandis que les fragments peuvent également être transportés par des facteurs naturels (flottaison).

Néanmoins, l'établissement du roseau et la contribution des stratégies dépendent bien sûr également du niveau d'envahissement (1) et des conditions climatiques de la région (2), des facteurs plus déterminants et plus globaux que les perturbations locales. Mais dans un contexte régional envahi, favorable et optimal (1 et 2), ce sont les perturbations locales qui déterminent la propagation de l'espèce. Premièrement, à propos du niveau d'envahissement de la région (1), il faut rappeler que les graines se disséminent loin par le vent et l'eau, et sont issues de toutes les populations avoisinantes. Tandis que les fragments ont une dissémination limitée, et nécessitent généralement une intervention humaine dans les populations alentours. Moins la région est envahie et plus les sites envahissables sont loin, moins la multiplication végétative est probable, alors que la reproduction sexuée semblerait toujours apporter une pluie de graines suffisante (exemple de la diversité génétique le long de l'autoroute). Deuxièmement, à propos du climat de la région (2), il faut rappeler que les graines, pour leur viabilité, et les semis, pour leur survie, dépendent beaucoup des saisons, ce qui n'est pas le cas pour le devenir des fragments. Plus les conditions climatiques de la région s'amélioreront pour le roseau (été plus long et plus chaud, hiver plus court et moins froid), plus la reproduction sexuée risque de s'améliorer.

Enfin, il a été évoqué que le « succès d'établissement » des graines ou des fragments dépend des perturbations « initiales » (naturelle ou humaine), mais c'est le « succès d'invasion » qui est le plus problématique pour les écologistes. Considération faite, ce sont à nouveau des perturbations qui vont modifier la contribution relative des stratégies de reproduction dans la « dispersion effective » et l'« envahissement réel », mais cette fois-ci des perturbations « secondaires » dans le site après établissement du roseau. Indépendamment du climat, les semis de graine sont beaucoup plus fragiles aux stress et aux perturbations que les rejets de fragment. Ces derniers sont beaucoup plus résistants aux autres espèces végétales compétitrices et aux possibles travaux de maintenance des fossés ou fluctuations d'eau des marais. Plus un site nouvellement envahi est grandement

et fréquemment perturbé (notion de taille et de fréquence des perturbations successives), plus la multiplication végétative risque de finalement devancer la reproduction sexuée (exemple des observations de terrain et de suivi le long de l'autoroute). Le « succès d'invasion » via les graines ou les fragments dépend donc de l'établissement initial par les semences et les propagules mais aussi des perturbations subséquentes. Il existe bel et bien une étape critique et limitante durant la transition entre la graine germée et le semis maintenu (Kettenring *et al.* 2015), et elle l'est d'autant plus s'il y a des perturbations entre les deux états du roseau. La participation relative des modes de reproduction dans l'invasion (et non plus uniquement l'établissement) dépend du contexte de perturbations.

Par conséquent, les perturbations agissent globalement et positivement sur la propagation du roseau en fournissant des opportunités de colonisation (c'est un fait bien connu; Lelong 2009), mais agissent différemment sur les modes de reproduction selon leurs caractéristiques et les circonstances (c'est une nouveauté scientifique; Kettenring *et al.* 2015). Le roseau commun a donc le pouvoir de posséder une double stratégie de reproduction pour une dispersion à longue distance, il sait tirer profit de cette dualité et combiner les avantages de l'une avec ceux de l'autre, dépendamment du contexte et de la situation. Néanmoins, l'avancée à retenir de cette thèse, c'est l'une des premières preuves directes de l'existence en nature d'une reproduction sexuée réussie avec la découverte de semis viables issus de graines dans son aire de répartition la plus nordique. Les évidences *in situ* d'établissement par graines restent encore rares, ignorées ou anecdotiques. Plusieurs génotypes semblent adaptés aux conditions naturelles québécoises (faible sélection des clones, possibilité d'évolution rapide, et présence de plasticité phénologique), et il faut très peu de pousses survivantes pour entamer une invasion rapide et massive.

Enfin, l'homme semble une nouvelle fois avoir une forte influence sur la contribution relative. Il doit donc prêter attention à ne pas favoriser tel ou tel mécanisme, il doit empêcher les deux stratégies de reproduction, même si l'une semble dominante, car le rapport et la dynamique peuvent changer, ce n'est pas figé.

5.3.3. Prévenir l'établissement par la plantation d'herbacées et de ligneux

La prévention concerne les sites qui ne sont pas envahis par le roseau mais qui présentent un risque d'envahissement. Ce sont donc les sites qui seront perturbés dans l'avenir.

Des perturbations, causées par l'humain ou non, peuvent se dérouler dans les zones naturelles, et dans ce cas, ce sont clairement les zones majoritaires à protéger, davantage que les zones anthropiques anciennement naturelles. Les aires protégées comme les parcs sont pénétrables par les espèces exotiques envahissantes même si elles semblent moins susceptibles et moins propices aux perturbations. De même, dans les aires anthropisées, il est suggéré de limiter de perturber des sites proches de milieux humides d'intérêt, puisque ce sont ces fossés qui participent vraiment à la propagation du roseau dans les zones naturelles québécoises. Enfin, tout fossé de drainage le long des routes régionales ou nationales mérite une attention particulière, puisque la construction et le nettoyage sont des pratiques courantes. Il est donc crucial de reconnaître et de localiser toute perturbation susceptible d'entraîner un envahissement par le roseau, que ce soit dans les milieux naturels ou anthropiques, surtout si des colonies de roseau se trouvent à proximité.

Des efforts doivent donc être menés : réduire le nombre et la taille des perturbations, ou du moins réduire leurs effets indésirables s'il y a perturbation. En considérant que les perturbations par les humains se produiront toujours, du fait de pressions anthropiques croissantes (Dukes & Mooney 1999), c'est leur impact négatif sur la biodiversité qui peut néanmoins être réduit. Les fossés de drainage ne prennent pas en considération leur rôle possible dans la propagation d'espèces végétales envahissantes. Leurs caractéristiques sont particulièrement en adéquation avec les traits et les besoins du roseau commun. Les améliorations à apporter doivent par conséquent diminuer les avantages donnés à cette espèce. Les méthodes utilisées affecteront la composante « milieu » de l'invasion puisqu'elles touchent aux perturbations, cause principale de l'envahissement. Il faut éviter de créer des conditions favorables pour les graines et les fragments. Les fossés doivent mieux être faits, ils doivent jouer sur la compétition, la lumière et l'espace du milieu, notamment à l'aide de plantes pouvant concurrencer le roseau pour l'accès et

l'utilisation des ressources. La meilleure solution sera toujours : « Vaut mieux prévenir que guérir ».

D'une part, les talus des fossés devraient systématiquement êtreensemencés rapidement après la fin de l'ouvrage. Le meilleur couvert herbacé semble être un mélange d'ivraie multiflore et de bident penché, des espèces à croissance rapide, de groupes fonctionnels différents et de début de succession écologique (Byun *et al.* 2013). D'autre part, les talus des fossés devraient régulièrement être parsemés par des rangées de haies arbustives. Les meilleures variétés seraient la combinaison d'aulne rugueux et du saule miyabeana, des espèces de milieux humides et tolérantes aux sels de déglacage (Boivin *et al.* 2011). Une présence dense, haute et diversifiée d'espèces indigènes compétitrices dans les fossés est le meilleur moyen de restreindre l'établissement du roseau le long des axes de transport. Ces recommandations de végétalisation ont été suggérées et sont en cours d'analyses par différents travaux effectués sur le roseau (Hazelton *et al.* 2014). Le fond des fossés est moins à craindre car il est généralement constaté que l'accumulation et l'écoulement de l'eau ne permettent pas le maintien d'espèces végétales en cet endroit.

Cependant, sans assistance humaine au cours des travaux, la nature peut par elle-même contribuer à la prévention de l'arrivée du roseau le long des routes et autoroutes, si les maîtres d'œuvre prennent quelques précautions. D'une part, il est à noter que l'occupation du sol est parfois réalisée spontanément par un cortège de plantes déjà présentes à proximité de la construction, notamment en bordure des fossés latéraux, ce qui est moins le cas pour les fossés centraux. D'autre part, il est à signaler que la conservation d'une lisière boisée ou d'espèces ligneuses déjà installées et empiétantes avant la construction est justifiée, et leur intégration à l'ouvrage est préconisée.

De plus, dans un autre ordre d'idées, il faut limiter le rôle des perturbations en tant que vecteurs de dissémination, surtout pour les fragments végétatifs, c'est leur principale faiblesse. Encore une fois, c'est en jouant sur le « milieu » et sur les perturbations que la solution est possible. Pour les propagules, limiter les perturbations dans des zones non-envahies est davantage pour réduire les moyens de dissémination que pour diminuer les conditions d'établissement. En effet, les propagules sont moins dépendantes d'un sol nu et

ensoleillé et peuvent donc envahir dans de nombreuses communautés végétales, tandis que la reproduction sexuée sera affectée par une telle méthode, puisque cette technique limite l'existence de bons lits de germination. La multiplication végétative dépend aussi de perturbations dans les zones envahies. Il est donc nécessaire d'agir en amont, en limitant avant tout les perturbations humaines dans les sites colonisés cette fois, afin de ne pas créer des fragments et de les transporter involontairement par la suite. La dissémination accidentelle de diaspores par les machines, l'utilisation de remblais végétal et le déplacement de terre contaminée doivent être prohibés au cours des travaux (Bart & Hartman 2003, Juneau & Tarasoff 2013). Le nettoyage de la machinerie à la fin des travaux et l'élimination appropriée des résidus de la plante sont des conseils à suivre.

À propos de la dissémination des graines, ce n'est plus cette fois en agissant sur l'habitat, les perturbations ou les ressources du roseau, mais en intervenant sur l'« espèce » elle-même, par exemple en limitant la reproduction sexuée par la coupe des inflorescences avant la production de graines, dans les populations aux alentours des zones à risque d'envahissement par le roseau, surtout la première année après la mise à nu des zones, le temps de laisser la végétation indigène s'installer. Il est conseillé de tenter de limiter l'envahissement de milieux sains en contrôlant les sources de propagation.

Enfin, les mesures évoquées de restauration pour empêcher l'établissement du roseau et l'initiation de l'invasion sont simples, économiques, efficaces et écologiques, et elles peuvent apporter d'autres avantages en plus de freiner le roseau : barrière de dissémination, maintien de biodiversité, esthétisme, drainage, mur anti-bruit, brise-vent...

5.3.4. Gérer les nouvelles petites colonies au moment clé

À la suite de ces actions de prévention, le roseau commun peut parfois réussir quand même à s'implanter. Il est primordial d'assurer un suivi des méthodes précédemment énoncées dans les années à venir, notamment si le risque est réel avec des populations sources dans les environs. Malgré que le stade semis soit le plus fragile pour le roseau et que les mesures évoquées aient de fortes probabilités de succès, la multitude de graines dispersées peut combler les dangers accumulés à son encontre et garantir l'établissement

de quelques plantules. Néanmoins, il est facile de retirer manuellement ou mécaniquement les petites populations, bien que le repérage et le recensement puissent être laborieux. La surveillance, la détection précoce et l'intervention rapide sont de rigueur : elles augmentent l'efficacité de la lutte et elles réduisent le coût à long terme. Une bonne solution sera toujours : « Vaut mieux agir tôt que trop tard ». L'étape des graines et des semis est la plus facile à combattre; ces étapes de vie du roseau sont très vulnérables à la compétition et nécessitent un taux adéquat d'humidité et d'ensoleillement. La clé pour empêcher l'émergence d'une nouvelle roselière est le blocage de la germination des diaspores, ou du moins du développement des plantules au-delà de leur première année de vie.

Il faut remarquer que le suivi n'est souvent pas réalisé ou qu'il est implicitement, directement et simultanément inclus dans l'entretien des fossés, action communément entreprise par les centres de services du Ministère des transports. Si faites l'année suivant la construction ou le nettoyage des fossés à risque (qu'ils aient reçu ou non une méthode préventive et un ensemencement herbacé), la fauche et l'excavation dans les tronçons répondent correctement au maintien du drainage et permettent effectivement une éradication des éventuelles pousses de roseau. Néanmoins, ces travaux ne sont généralement pas accompagnés d'une végétalisation et laissent de nouveau à nu le fond des fossés. Ils ne suffisent pas à l'élimination de l'espèce, puisqu'au contraire, le rafraîchissement des fossés crée une installation plus facile et plus durable de nouveaux individus de roseau par la suite. C'est à considérer comme une perturbation, qui annule malheureusement les efforts faits dans la lutte à l'envahissement. Il faut donc entretenir chaque année, ce qui n'est pas pratique ni économique. Ce problème se retrouve également dans le nettoyage de fossés envahis, puisqu'aucune mesure de restauration est menée subséquemment. En plus de favoriser le rejet et la régénération des colonies de roseau touchées, les travaux ouvrent et dénudent la zone, phénomènes propices à l'arrivée de nouvelles diaspores. Les mesures précédemment citées (prévention) s'appliquent également à la construction et au nettoyage de bords de routes qui sont envahis. Par conséquent, le suivi doit être réalisé comme une action à part, et l'extraction complète des jeunes pousses de cette seule espèce, sans mise à nu du sol, est la meilleure solution

d'éradication. Il est par la suite conseillé de sécher et de brûler les résidus de plantes dans des endroits en sûreté.

Néanmoins, une alternative pour coupler les deux opérations est en train d'apparaître, c'est le broutage (Silliman *et al.* 2014). Dans cette étude récemment parue, les chèvres sélectionnées (comme agents de contrôle biologique) n'avaient pas le choix et étaient contraintes à consommer le roseau. Cependant, d'autres expérimentations laissaient les animaux s'habituer progressivement à manger des tiges de roseau recouvertes d'une mélasse, tout en gérant parallèlement les autres végétations, car ils ne deviennent pas sélectifs. C'est une option abordable à envisager pour les tronçons où le bétail et le pâturage seraient adéquats (ce qui peut être difficile dans les fossés, mais réalisable pour les marais). La maintenance et le contrôle de toute la végétation seraient par conséquent assurés, sans l'utilisation de machines. Le remède est de minimiser les interventions mécaniques destructrices à grande échelle qui perturbent les communautés végétales indigènes (le roseau peine à s'introduire dans des zones non perturbées).

5.4. Mots de la fin

La thèse présente un portrait génétique, biologique et écologique des caractéristiques du roseau commun au Québec. Le succès et la dynamique de propagation du roseau envahisseur réside dans ses caractéristiques anatomiques, physiologiques et écologiques remarquables. Plus généralement, la thèse a redéfini des mécanismes importants contribuant à l'« invasiveness » des plantes exotiques envahissantes. De multiples traits interdépendants sont associés à ce « pouvoir d'envahissement », et il est toujours difficile de généraliser et de circonscrire les traits les plus essentiels et efficaces, mais il est primordial de conceptualiser un cadre représentatif et holistique des envahissements, afin notamment de prédire le potentiel d'invasion des espèces végétales introduites et de déterminer des critères de sélection des espèces pour le développement d'outils d'aide à la décision de type « weed risk assessment » ou « plant risk evaluation ».

Tout ce travail de plusieurs années justifie les efforts actuellement menés pour combattre préventivement le roseau par le biais de l'implantation de structures végétales lors de l'aménagement des sites perturbés que sont les fossés de drainage. Ces stratégies agissant sur les milieux prennent correctement en considération les traits de l'espèce. Des méthodes basées sur une mauvaise connaissance des caractéristiques de l'envahisseur risquent d'être des échecs retentissants. La formation, l'information et la sensibilisation des acteurs sont essentielles afin que ces connaissances soient utilisées à bon escient.

Je souhaite que ces méthodes, ces données et ces conclusions continuent d'être des points de justification et d'accroche pour de futures recherches, qu'elles portent sur le roseau ou d'autres plantes envahissantes. J'espère que ces futurs travaux s'orienteront encore vers la recherche appliquée, tout en validant des concepts fondamentaux et généralistes, et qu'ils seront toujours soucieux de la biodiversité et de l'environnement.

Enfin, je reprendrais les propos tenus par Jacques Brisson en 2014 : « *la question à se poser est quelle quantité de roseaux sommes-nous prêts à tolérer ?* ». En effet, bien que cette étude porte sur les aspects négatifs du roseau (problème écologique majeur), il semble important de rappeler que le roseau peut aussi avoir des aspects positifs (services à la fois d'approvisionnement, de régulation, de culture et de soutien à la vie, comme par exemple son utilisation en phytoremédiation, épuration des eaux contaminées, matériel de toiture, brise-vents, biocarburant, etc.; Köbbing *et al.* 2013, Croon 2014), d'autant plus qu'il sera impossible de l'éradiquer à l'échelle provinciale, c'est pourquoi la société devrait apprendre à vivre avec, à le considérer comme partie intégrante de la biodiversité et de la nature, qui a son utilité possible et son droit d'exister, tout en le contrôlant ou le gardant quand c'est nécessaire, dépendamment aussi de l'écosystème concerné et de l'impact subi (souvent dommage négatif dans un habitat naturel ou historique, et possiblement bénéfique positif dans un habitat anthropisé ou urbanisé). Les caractéristiques qui font du roseau commun une plante si envahissante sont aussi responsables du fait qu'il s'agit d'une espèce remarquablement utile, notamment en biotechnologie. Une réflexion est à mener avec l'ensemble de la société sur les services écologiques du roseau (Kiviat 2013).

Et je terminerais par les mots de Claude Lavoie d'il y a plusieurs années : « *s'attaquer aux plantes envahissantes – ou apprendre à vivre avec elles – est une chose, mais il serait préférable de se questionner d'abord sur les causes fondamentales des envahissements avant de faire des campagnes d'éradication. Le succès de telles campagnes sera en effet toujours mitigé si l'on néglige de s'occuper de la source du problème* ». En effet, l'invasion par le roseau commun est clairement dépendante du contexte, notamment des perturbations humaines et des changements climatiques (González-Moreno *et al.* 2015, Kettenring *et al.* 2015). Cette conclusion est toujours d'actualité et mérite d'y prêter attention, surtout dans le contexte actuel de développement durable et de perte de biodiversité. Il faut avant tout comprendre la dynamique et le contexte des relations et des interactions au sein des écosystèmes qui sont des organisations complexes.

J'aimerais conclure par un état de la situation compilé par des experts mandatés par les Nations Unies lors de l'Évaluation des écosystèmes pour le millénaire : « *l'Homme est en train de changer radicalement, et jusqu'à un certain degré de manière irréversible, la diversité biologique de la planète* » (Millennium Ecosystem Assessment 2005). Tout passera par l'humain, il est à la fois la cause et la solution, alors agissons en conséquence.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ailstock, M.S., Norman, C.M., and Bushmann, P.J. 2001. Common reed *Phragmites australis* : Control and effects upon biodiversity in freshwater non-tidal wetlands. *Restoration Ecology*, 9, 49-59.
- Alpert, P. 2006. The advantages and disadvantages of being introduced. *Biological Invasions*, 8, 1523-1534.
- Alpert, P., Bone, E., and Holzapfel, C. 2000. Invasiveness, invasibility and the role of environmental stress in the spread of non-native plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 3, 52-66.
- Alvarez, M.G., Tron, F., and Mauchamp, A. 2005. Sexual versus asexual colonization by *Phragmites australis* : 25-year reed dynamics in a mediterranean marsh, Southern France. *Wetlands*, 25, 639-647.
- Amsberry, L., Baker, M.A., Ewanchuk, P.J., and Bertness, M.D. 2000. Clonal integration and the expansion of *Phragmites australis*. *Ecological Applications*, 10, 1110-1118.
- Angold, P.G. 1997. The impact of a road upon adjacent heathland vegetation : Effects on plant species composition. *Journal of Applied Ecology*, 34, 409-417.
- Asaeda, T., Manatunge, J., Fujino, T., and Sovira, D. 2003. Effects of salinity and cutting on the development of *Phragmites australis*. *Wetlands Ecology and Management*, 11, 127-140.
- Baker, H.G. 1965. Characteristics and modes of origin of weeds. pp. 147-172 In Baker, H.G., and Stebbins, G.L. The genetics of colonizing species. Academic Press Inc, New York, N.Y. 588 p.
- Barrett, S.C.H. 2015. Foundations of invasion genetics : The Baker and Stebbins legacy. *Molecular Ecology*, mec13014.
- Barrett, S.C.H., Colautti, R.I., and Eckert, C.G. 2008. Plant reproductive systems and evolution during biological invasion. *Molecular Ecology*, 17, 373-383.
- Bart, D., Burdick, D., Chambers, R., and Hartman, J.M. 2006. Human facilitation of *Phragmites australis* invasions in tidal marshes : A review and synthesis. *Wetlands Ecology and Management*, 14, 53-65.
- Bart, D., and Hartman, J.M. 2003. The role of large rhizome dispersal and low salinity windows in the establishment of common reed, *Phragmites australis*, in salt marshes : New links to human activities. *Estuaries*, 26, 436-443.
- Bellavance, M-E., and Brisson, J. 2010. Spatial dynamics and morphological plasticity of common reed (*Phragmites australis*) and cattails (*Typha* sp.) in freshwater marshes and roadside ditches. *Aquatic Botany*, 93, 129-134.
- Belzile, F., Labbé, J., LeBlanc, M.-C., and Lavoie, C. 2010. Seeds contribute strongly to the spread of the invasive genotype of the common reed (*Phragmites australis*). *Biological Invasions*, 12, 2243-2250.

- Bertness, M.D., Ewanchuk, P.J., and Silliman, B.R. 2002. Anthropogenic modification of New England salt marsh landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *99*, 1395-1398.
- Blackburn, T.M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J.T., Duncan, R.P., Jarošík, V., Wilson, J.R.U., and Richardson, D.M. 2011. A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, *26*, 333-339.
- Blossey, B., and Nötzold, R. 1995. Evolution of increased competitive ability in invasive nonindigenous plants : A hypothesis. *Journal of Ecology*, *83*, 887-889.
- Boivin, P., Albert, A., and Brisson, J. 2011. Prévenir et contrôler l’envahissement des autoroutes par le roseau commun (*Phragmites australis*). Institut de Recherche en Biologie Végétale, Montreal, Canada. 39 p.
- Bonnett, G.D., Kushner, J.N.S., and Saltonstall, K. 2014. The reproductive biology of *Saccharum spontaneum* L. : Implications for management of this invasive weed in Panama. *NeoBiota*, *20*, 61-79.
- Bossdorf, O., Auge, H., Lafuma, L., Rogers, W.E., Siemann, E., and Prati, D. 2005. Phenotypic and genetic differentiation between native and introduced plant populations. *Oecologia*, *144*, 1-11.
- Brisson, J., and Chazarenc, F. 2009. Maximizing pollutant removal in constructed wetlands : Should we pay more attention to macrophyte species selection ? *Science of the Total Environment*, *407*, 3923-3930.
- Brisson, J., de Blois, S., and Lavoie, C. 2010. Roadside as invasion pathway for common reed (*Phragmites australis*). *Invasive Plant Science and Management*, *3*, 506-514.
- Brisson, J., Paradis, É., and Bellavance, M.-È. 2008. Evidence of sexual reproduction in the invasive common reed (*Phragmites australis* subsp. *australis*; Poaceae) in eastern Canada : A possible consequence of global warming ? *Rhodora*, *110*, 225-230.
- Byun, C., de Blois, S., and Brisson, J. 2013. Plant functional group identity and diversity determine biotic resistance to invasion by an exotic grass. *Journal of Ecology*, *101*, 128-139.
- Cale, P., and Hobbs, R.J. 1991. Condition of roadside vegetation in relation to nutrient status. pp. 353-362 In Saunders, D.A., and Hobbs, R.J. Nature conservation 2 : The role of corridors. Chipping Norton, Surrey, Australia. 442 p.
- Carlton, J.T. 1985. Transoceanic and interoceanic dispersal of coastal marine organisms : The biology of ballast water. *Oceanography and Marine Biology*, *23*, 313-371.
- Carlton, J.T. 1996. Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology*, *77*, 1653-1655.
- Catford, J.A., Jansson, R., and Nilsson, C. 2008. Reducing redundancy in invasion ecology by integrating hypotheses into a single theoretical framework. *Diversity and Distributions*, *15*, 22-40.
- Catling, P. M. 2005. New “top of the list” invasive plants of natural habitats in Canada. *Botanical Electronic News*, *345*, 1-7.

- Chambers, R.M., Meyerson, L.A., and Saltonstall, K. 1999. Expansion of *Phragmites australis* into tidal wetlands of North America. *Aquatic Botany*, 64, 261-273.
- Clevering, O.A., and Lissner, J. 1999. Taxonomy, chromosome numbers, clonal diversity and population dynamics of *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 64, 185-208.
- Colautti, R.I., Grigorovich, I.A., and MacIsaac, H.J. 2006. Propagule pressure : A null model for invasions. *Biological Invasions*, 8, 1023-1037.
- Colautti, R.I., and MacIsaac, H.J. 2004. A neutral terminology to define 'invasive' species. *Diversity and Distributions*, 10, 135-141.
- Coops, H., Geilen, N., and van der Velde, G. 1994. Distribution and growth of the helophyte species *Phragmites australis* and *Scirpus lacustris* in water depth gradients in relation to wave exposure. *Aquatic Botany*, 48, 273-284.
- Cronk, J.K., and Fennessy, M.S. 2001. Wetland plants : Biology and ecology. Lewis Publishers, Boca Raton, Florida.
- Crooks, J.A. 2005. Lag times and exotic species : The ecology and management of biological invasions in slow-motion. *Ecoscience*, 12, 316-329.
- Croon, F.W. 2014. Saving reed lands by giving economic value to reed. *Mires and Peat*, 13, 1-13.
- Davis, M.A., Grime, J.P., and Thompson, K. 2000. Fluctuating resources in plant communities : A general theory of invasibility. *Journal of Ecology*, 88, 528-534.
- Davis, M.A., Wrage, K.J., and Reich, P.B. 1998. Competition between tree seedlings and herbaceous vegetation : Support for a theory of resource supply and demand. *Journal of Ecology*, 86, 652-661.
- Dlugosch, K.M., Anderson, S.R., Braasch, J., Cang, F.A., and Gillette, H.D. 2015. The devil is in the details : Genetic variation in introduced populations and its contribution to invasion. *Molecular Ecology*, mec13183.
- Dong, M., Lu, B.-R., Zhang, H.-B., Chen, J.-K., and Li, B. 2006. Role of sexual reproduction in the spread of an invasive clonal plant *Solidago canadensis* revealed using intersimple sequence repeat markers. *Plant Species Biology*, 21, 13-18.
- Dore, W.G., and McNeill, J. 1980. Grasses of Ontario. Research Branch Agriculture Canada, Biosystematics Research Institute, Ottawa, Ontario.
- Douhovnikoff, V., and Hazelton, E.L.G. 2014. Clonal growth : Invasion or stability ? A comparative study of clonal architecture and diversity in native and introduced lineages of *Phragmites australis* (Poaceae). *American Journal of Botany*, 101, 1-8.
- Drake, J.M., and Lodge, D.M. 2006. Allee effects, propagule pressure and the probability of establishment : Risk analysis for biological invasions. *Biological Invasions*, 8, 365-375.
- Dukes, J.S., and Mooney, H.A. 1999. Does global change increase the success of biological invaders ? *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 135-139.
- Ellstrand, N., and Schierenbeck, K. 2006. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants ? *Euphytica*, 148, 35-46.

- Elshire, R.J., Glaubitz, J.C., Sun, Q., Poland, J.A., Kawamoto, K., Buckler, E.S., and Mitchell, S.E. 2011. A robust, simple Genotyping-by-Sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS One*, 6, e19379.
- Elton, C.S. 1958. The ecology of invasions by animals and plants. Methuen, London, U.K. 196 p.
- Engloner, A.I. 2009. Structure, growth dynamics and biomass of reed (*Phragmites australis*) - A review. *Flora*, 204, 331-346.
- Fér, T., and Hroudová, Z. 2009. Genetic diversity and dispersal of *Phragmites australis* in a small river system. *Aquatic Botany*, 90, 165-171.
- Floerl, O., and Inglis, G.J. 2005. Starting the invasion pathway : The interaction between source populations and human transport vectors. *Biological Invasions*, 7, 589-606.
- Foster, R.D., and Wetzel, P.R. 2005. Invading monotypic stands of *Phalaris arundinacea* : A test of fire, herbicide, and woody and herbaceous native plant groups. *Restoration Ecology*, 13, 318-324.
- Gagnon-Lupien, N. 2013. Impact du roseau commun (*Phragmites australis*) sur les assemblages et le comportement des oiseaux dans des marais d'eau douce du sud du Québec. Mémoire M. Sc., Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Gallien, L., Mazel, F., Lavergne, S., Renaud, J., Douzet, R., and Thuiller, W. 2015. Contrasting the effects of environment, dispersal and biotic interactions to explain the distribution of invasive plants in alpine communities. *Biological Invasions*, 17, 1407-1423.
- García-Ramos, G., and Rodríguez, D. 2002. Evolutionary speed of species invasions. *Evolution*, 56, 661-668.
- Gelbard, J.L., and Belnap, J. 2003. Roads as conduits for exotic plant invasions in a semiarid landscape. *Conservation Biology*, 17, 420-432.
- Gervais, C., Trahan, R., Moreno, D., and Drolet, A.-M. 1993. *Phragmites australis* in Quebec - Geographic distribution, chromosome numbers and reproduction. *Canadian Journal of Botany*, 71, 1386-1393.
- González-Moreno, P., Diez, J.M., Ibáñez, I., Font, X., and Vilá, M. 2015. Plant invasions are context-dependent : Multiscale effects of climate, human activity and habitat. *Diversity and Distributions*, 20, 720-731.
- Goodwin, B.J., McAllister, A.J., and Fahrig, L. 1999. Predicting invasiveness of plant species based on biological information. *Conservation Biology*, 13, 422-426.
- Gorai, M., Vadel, A.M., and Neffati, M. 2006. Seed germination characteristics of *Phragmites communis* : Effects of temperature and salinity. *Belgian Journal of Botany*, 139, 78-86.
- Groeneveld, E., Belzile, F., and Lavoie, C. 2014. Sexual reproduction of Japanese knotweed (*Fallopia japonica* s.l.) at its northern distribution limit : New evidence of the effect of climate warming on an invasive species. *American Journal of Botany*, 101, 459-466.

- Guo, W.-Y., Lambertini, C., Nguyen, L.X., Li, X.-Z., and Brix, H. 2014. Preadaptation and post-introduction evolution facilitate the invasion of *Phragmites australis* in North America. *Ecology and Evolution*, 4, 4567-4577.
- Gurevitch, J., Fox, G.A., Wardle, G.M., Inderjit, and Taub, D. 2011. Emergent insights from the synthesis of conceptual frameworks for biological invasions. *Ecology Letters*, 14, 407-418.
- Hansen, M.J., and Clevenger, A.P. 2005. The influence of disturbance and habitat on the presence of non-native plant species along transport corridors. *Biological Conservation*, 125, 249-259.
- Harris, S.W., and Marshall, W.H. 1960. Experimental germination of seed and establishment of seedlings of *Phragmites communis*. *Ecology*, 41, 395-395.
- Haslam, S.M. 1972. *Phragmites communis* Trin. (*Arundo phragmites* L.) ? *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel. *Journal of Ecology*, 60, 585-610.
- Haslam, S.M. 1975. Performance of *Phragmites communis* Trin. in relation to temperature. *Annals of Botany*, 39, 881-888.
- Havens, K.J., Berquist, H., and Priest, W.I. 2003. Common reed grass, *Phragmites australis*, expansion into constructed wetlands : Are we mortgaging our wetland future ? *Estuaries*, 26, 417-422.
- Hazelton, E.L.G., Mozdzer, T.J., Burdick, D., Kettenring, K.M., and Whigham, D.F. 2014. *Phragmites australis* management in the United States : 40 years of methods and outcomes. *AoB Plants*, 6, plu001.
- Hocking, P.J., Finlayson, C.M., and Chick, A.J. 1983. The biology of Australian weeds. 12. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *Australian Journal of Agricultural Research*, 49, 123-132.
- Hodkinson, D.J., and Thompson, K. 1997. Plant dispersal : The role of man. *Journal of Applied Ecology*, 34, 1484-1496.
- Hooper, D.U., Chapin, F.S., Ewel, J.J., Hector, A., Inchausti, P., Lavorel, S., Lawton, J.H., Lodge, D.M., Loreau, M., Naeem, S., Schmid, B., Setälä, H., Symstad, A.J., Vandermeer, J., and Wardle, D.A. 2005. Effects of biodiversity on ecosystem functioning : A consensus of current knowledge. *Ecological Monographs*, 75, 3-35.
- Hronec, O., and Hajduk, J. 1998. Remarkable resistance of *Phragmites australis* (Cav.) Trin. growing on soils intoxicated by magnesium immissions. *Ekologia-Bratislava*, 17, 117-124.
- Hudon, C., Gagnon, P., and Jean, M. 2005. Hydrological factors controlling the spread of common reed (*Phragmites australis*) in the St. Lawrence River (Quebec, Canada). *Ecoscience*, 12, 347-357.
- Hulme, P.E. 2009. Trade, transport and trouble : Managing invasive species pathways in an era of globalization. *Journal of Applied Ecology*, 46, 10-18.
- Hulme, P.E., Bacher, S., Kenis, M., Klotz, S., Kühn, I., Minchin, D., Nentwig, W., Olenin, S., Panov, V., Pergl, Y., Pyšek, P., Roques, A., Sol, D., Solarz, W., and Vila,

- M. 2008. Grasping at the routes of biological invasions : A framework for integrating pathways into policy. *Journal of Applied Ecology*, 45, 403-414.
- Jodoin, Y., Lavoie, C., Villeneuve, P., Theriault, M., Beaulieu, J., and Belzile, F. 2008. Highways as corridors and habitats for the invasive common reed *Phragmites australis* in Quebec, Canada. *Journal of Applied Ecology*, 45, 459-466.
- Joly, M., Bertrand, P., Gbangou, R.Y., White, M.-C., Dubé, J., and Lavoie, C. 2011. Paving the way for invasive species : Road types and the spread of common ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*). *Environmental Management*, 48, 514-522.
- Juneau, K.J., and Tarasoff, C.S. 2013. The seasonality of survival and subsequent growth of common reed (*Phragmites australis*) rhizome fragments. *Invasive Plant Science and Management*, 6, 79-86.
- Keane, R.M., and Crawley, M.J. 2002. Exotic plant invasions and the enemy release hypothesis. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 164-170.
- Keller, B.E.M. 2000. Plant diversity in *Lythrum*, *Phragmites*, and *Typha* marshes, Massachusetts, U.S.A. *Wetlands Ecology and Management*, 8, 391-401.
- Keller, B.E.M. 2000. Genetic variation among and within populations of *Phragmites australis* in the Charles River watershed. *Aquatic Botany*, 66, 195-208.
- Kettenring, K.M., McCormick, M.K., Baron, H.M., and Whigham, D.F. 2010. *Phragmites australis* (common reed) invasion in the Rhode River subestuary of the Chesapeake Bay : Disentangling the effects of foliar nutrients, genetic diversity, patch size, and seed viability. *Estuaries and Coasts*, 33, 118-126.
- Kettenring, K.M., and Whigham, D.F. 2009. Seed viability and seed dormancy of non-native *Phragmites australis* in suburbanized and forested watersheds of the Chesapeake Bay, USA. *Aquatic Botany*, 91, 199-204.
- Kettenring, K.M., Whigham, D.F., Hazelton, E.L.G., Gallagher, S.K., and Weiner, H.M. 2015. Biotic resistance, disturbance, and mode of colonization impact the invasion of a widespread, introduced wetland grass. *Ecological Applications*, 25, 466-480.
- Kim, K.D., Ewing, K., and Giblin, D.E. 2006. Controlling *Phalaris arundinacea* (reed canarygrass) with live willow stakes : A density-dependent response. *Ecological Engineering*, 27, 219-227.
- King, R.S., DeLuca, W.V., Whigham, D.F., and Marra, P.P. 2007. Threshold effects of coastal urbanization on *Phragmites australis* (common reed) abundance and foliar nitrogen in Chesapeake Bay. *Estuaries and Coasts*, 30, 469-481.
- Kinlan, B.P., and Hastings, A. 2005. Rates of population spread and geographic expansion. What exotic species tell us. pp. 381-419 In Sax, D.F., Stachowicz, J.J., and Gaines, S.D. Species invasions : Insights into ecology, evolution and biogeography. Sinauer & Associates, Sunderland, M.A. 480 p.
- Kirk, H., Paul, J., Straka, J., and Freeland, J.R. 2011. Long-distance dispersal and high genetic diversity are implicated in the invasive spread of the common reed,

- Phragmites australis* (Poaceae), in northeastern North America. *American Journal of Botany*, 98, 1180-1190.
- Kiviat, E. 2013. Ecosystem services of *Phragmites* in North America with emphasis on habitat functions. *AoB Plants*, 5, plt008.
- Köbbing, J.F., Thevs, N., and Zerbe, S. 2013. The utilisation of reed (*Phragmites australis*) : A review. *Mires and Peat*, 13, 1-14.
- Kolar, C.S., and Lodge, D.M. 2001. Progress in invasion biology : Predicting invaders. *Trends in Ecology and Evolution*, 16, 199-204.
- Koppitz, H., and Kühl, H. 2000. To the importance of genetic diversity of *Phragmites australis* in the development of reed stands. *Wetlands Ecology and Management*, 8, 403-414.
- Koppitz, H., Kühl, H., Hesse, K., and Kohl, J.-G. 1997. Some aspects of the importance of genetic diversity in *Phragmites australis* (cav) trin ex steudel for the development of reed stands. *Botanica Acta*, 110, 217-223.
- Lambertini, C., Mendelssohn, I.A., Gustafsson, M.H.G., Olesen, B. , Riis, T., Sorrell, B.K., and Brix, H. 2012. Tracing the origin of Gulf Coast *Phragmites* (Poaceae) : A story of long-distance dispersal and hybridization. *American Journal of Botany*, 99, 538-551.
- Lambertini, C., Sorrell, B.K., Riis, T., Olesen, B., and Brix, H. 2012. Exploring the borders of European *Phragmites* within a cosmopolitan genus. *AoB Plants*, pls020.
- Laroche, M. 2011. Effets de l'envahissement de deux milieux humides d'eau douce du fleuve Saint-Laurent par le roseau commun sur la reproduction et la croissance du grand brochet. Mémoire M.Sc., Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Lathrop, R.G., Windham, L., and Montesano, P. 2003. Does *Phragmites* expansion alter the structure and function of marsh landscapes ? Patterns and processes revisited. *Estuaries*, 26, 423-435.
- Lavergne, S., and Molofsky, J. 2007. Increased genetic variation and evolutionary potential drive the success of an invasive grass. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104, 3883-3888.
- Lavoie, C. 2008. Le roseau commun (*Phragmites australis*) : Une menace pour les milieux humides du Québec ? Centre de recherche en aménagement et développement, Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Lavoie, C., Saint-Louis, A., Guay, G., Groeneveld, E, and Villeneuve, P. 2011. Naturalization of exotic plant species in north-eastern North America : Trends and detection capacity. *Diversity and Distributions*, 18, 180-190.
- League, M.T., Colbert, E.P., Seliskar, D.M., and Gallagher, J.L. 2006. Rhizome growth dynamics of native and exotic haplotypes of *Phragmites australis* (common reed). *Estuaries and Coasts*, 29, 269-276.

- Lelong, B. 2009. La dissémination du roseau commun (*Phragmites australis*) dans le paysage québécois : Une analyse spatio-temporelle. Thèse Dr. ATDR., Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Lelong, B., and Lavoie, C. 2014. Est-ce que le roseau commun exotique envahit les marais adjacents aux routes ? *Le Naturaliste Canadien*, 138, 13-19.
- Lelong, B., Lavoie, C., Jodoin, Y., and Belzile, F. 2007. Expansion pathways of the exotic common reed (*Phragmites australis*) : A historical and genetic analysis. *Diversity and Distributions*, 13, 430-437.
- Levine, J.M., Adler, P.B., and Yelenik, S.G. 2004. A meta-analysis of biotic resistance to exotic plant invasions. *Ecology Letters*, 7, 975-989.
- Lissner, J., and Schierup, H.H. 1997. Effects of salinity on the growth of *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 55, 247-260.
- Lockwood, J.L., Cassey, P., and Blackburn, T. 2005. The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 20, 223-228.
- Lockwood, J.L., Hoopes, M.F., and Marchetti, M.P. 2007. Invasion ecology. Wiley-Blackwell, Malden, M.A. 312 p.
- Lodge, D.M. 1993. Biological invasions : Lessons for ecology. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 133-136.
- Maheu-Giroux, M., and de Blois, S. 2007. Landscape ecology of *Phragmites australis* invasion in networks of linear wetlands. *Landscape Ecology*, 22, 285-301.
- Mal, T.K., and Narine, L. 2004. The biology of Canadian weeds. 129. *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud. *Canadian Journal of Plant Science*, 84, 365-396.
- Mauchamp, A., Blanch, S., and Grillas, P. 2001. Effects of submergence on the growth of *Phragmites australis* seedlings. *Aquatic Botany*, 69, 147-164.
- Marks, M., Lapin, V., and Randall, J. 1994. *Phragmites australis* (*P. communis*) : Threats, management, and monitoring. *Natural Areas Journal*, 14, 285-294.
- McCormick, M.K., Kettenring, K.M., Baron, H.M., and Whigham, D.F. 2010. Spread of invasive *Phragmites australis* in estuaries with differing degrees of development : Genetic patterns, Allee effects and interpretation. *Journal of Ecology*, 98, 1369-1378.
- McKee, J., and Richards, A.J. 1996. Variation in seed production and germinability in common reed (*Phragmites australis*) in Britain and France with respect to climate. *New Phytologist*, 133, 233-243.
- McNeely, J.A. 2001. The great reshuffling : Human dimensions of invasive alien species. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources, Cambridge, U.K. 242 p.
- Meyerson, L.A., and Cronin, J.T. 2013. Evidence for multiple introductions of *Phragmites australis* to North America : Detection of a new non-native haplotype. *Biological Invasions*, 15, 2605-2608.
- Meyerson, L.A., and Mooney, H.A. 2007. Invasive alien species in an era of globalization. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 5, 199-208.

- Meyerson, L.A., Saltonstall, K., Windham, L., Kiviat, E., and Findlay, S. 2000. A comparison of *Phragmites australis* in freshwater and brackish marsh environments in North America. *Wetlands Ecology and Management*, 8, 89-103.
- Meyerson, L.A., Viola, D.V., and Brown, R.N. 2010. Hybridization of invasive *Phragmites australis* with a native subspecies in North America. *Biological Invasions*, 12, 103-111.
- Meyerson, L.A., Lambertini, C., McCormick, M.K., and Whigham, D.F. 2012. Hybridization of common reed in North America ? The answer is blowing in the wind. *AoB Plants*, pls022.
- Milbau, A., and Stout, J.C. 2008. Factors associated with alien plants transitioning from casual, to naturalized, to invasive. *Conservation Biology*, 22, 308-317.
- Millennium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystems and human well-being : Synthesis. Island Press, Washington, DC. 155 p.
- Minchinton, T.E. 2006. Rafting on wrack as a mode of dispersal for plants in coastal marshes. *Aquatic Botany*, 84, 372-376.
- Minchinton, T.E., and Bertness, M.D. 2003. Disturbance-mediated competition and the spread of *Phragmites australis* in a coastal marsh. *Ecological Applications*, 13, 1400-1416.
- Mitchell, C.E., Agrawal, A.A., Bever, J.D., Gilbert, G.S., Hufbauer, R.A., Klironomos, J.N., Maron, J.L., Morris, W.F., Parker, I.M., Power, A.G., Seabloom, E.W., Torchin, M.E., and Vázquez, D.P. 2006. Biotic interactions and plant invasions. *Ecology Letters*, 9, 726-740.
- Mitchell, C.E., and Power, A.G. 2003. Release of invasive plants from fungal and viral pathogens. *Nature*, 421, 625-627.
- Mooney, H.A., and Hobbs, R.J. 2000. Invasive species in a changing world. Island Press, Washington, D.C. 384 p.
- Novak, S.J., and Mack, R.N. 2005. Genetic bottlenecks in alien plant species. Influence of mating systems and introduction dynamics. pp. 201-228 In Sax, D.F., Stachowicz, J.J., and Gaines, S.D. Species invasions : Insights into ecology, evolution and biogeography. Sinauer & Associates, Sunderland, M.A. 480 p.
- Ouborg, N.J., Piquot, Y., and Van Groeneendael, J.M. 1999. Population genetics, molecular markers and the study of dispersal in plants. *Journal of Ecology*, 87, 551-568.
- Page, N.A., Wall, R.E., Darbyshire, S.J., and Mulligan, G.A. 2006. The biology of invasive alien plants in Canada. *Heracleum mantegazzianum* Sommier & Levier. *Canadian Journal of Plant Science*, 86, 569-589.
- Paradis, É. 2008. Effet de la salinité sur la compétition entre le roseau (*Phragmites australis*) et les quenouilles (*Typha spp.*). Mémoire M.Sc., Université de Montréal, Montréal, Québec.

- Parker, I.M., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Goodell, K., Wonham, M., Kareiva, P.M., Williamson, M.H., Von Holle, B., Moyle, P.B., Byers, J.E., and Goldwasser, L. 1999. Impact : Toward a framework for understanding the ecological effects of invaders. *Biological Invasions*, 1, 3-19.
- Pérez, A. 2011. Le roseau commun (*Phragmites australis*) influence-t-il la composition spécifique et le développement larvaire d'amphibiens ? Mémoire M.Sc., Université de Montréal, Montréal, Québec.
- Pyšek, P., and Hulme, P.E. 2005. Spatio-temporal dynamics of plant invasions : Linking pattern to process. *Ecoscience*, 12, 302-315.
- Pyšek, P., Jarošík, V., Hulme, P.E., Pergl, J., Hejda, M., Schaffner, U, and Vilà, M. 2012. A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems : The interaction of impact measures, invading species traits and environment. *Global Change Biology*, 18, 1725-1737.
- Pyšek, P., and Richardson, D.M. 2007. Traits associated with invasiveness in alien plants : Where do we stand ? pp. 97-125 In Nentwig, W. Biological invasions. Springer, Berlin, Germany. 441 p.
- Pyšek, P., and Richardson, D.M. 2010. Invasive species, environmental change and management, and health. *Annual Review of Environment and Resources*, 35, 25-55.
- Ravit, B., Ehrenfeld, J.G., Häggblom, M.M., and Bartels, M. 2007. The effects of drainage and nitrogen enrichment on *Phragmites australis*, *Spartina alterniflora*, and their root-associated microbial communities. *Wetlands*, 27, 915-927.
- Reed, D.H., and Frankham, R. 2003. Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology*, 17, 230-237.
- Rejmánek, M., and Richardson, D.M. 1996. What attributes make some plant species more invasive ? *Ecology*, 77, 1655-1661.
- Richardson, D.M., and Pyšek, P. 2006. Plant invasions : Merging the concepts of species invasiveness and community invasibility. *Progress in Physical Geography*, 30, 409-431.
- Richardson, D.M., Pyšek, P., Rejmánek, M., Barbour, M.G., Panetta, F.D., and West, C.J. 2000. Naturalization and invasion of alien plants : Concepts and definitions. *Diversity and Distributions*, 6, 93-107.
- Rickey, M.A., and Anderson, R.C. 2004. Effects of nitrogen addition on the invasive grass *Phragmites australis* and a native competitor *Spartina pectinata*. *Journal of Applied Ecology*, 41, 888-896.
- Roman, J., and Darling, J.A. 2007. Paradox lost : Genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 22, 454-464.
- Sakai, A.K., Allendorf, F.W., Holt, J.S., Lodge, D.M., Molofsky, J., With, K.A., Baughman, S., Cabin, R.J., Cohen, J.E., Ellstrand, N.C., McCauley, D.E., O'Neil, P., Parker, I.M., Thompson, J.N., and Weller, S.G. 2001. The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32, 305-332.

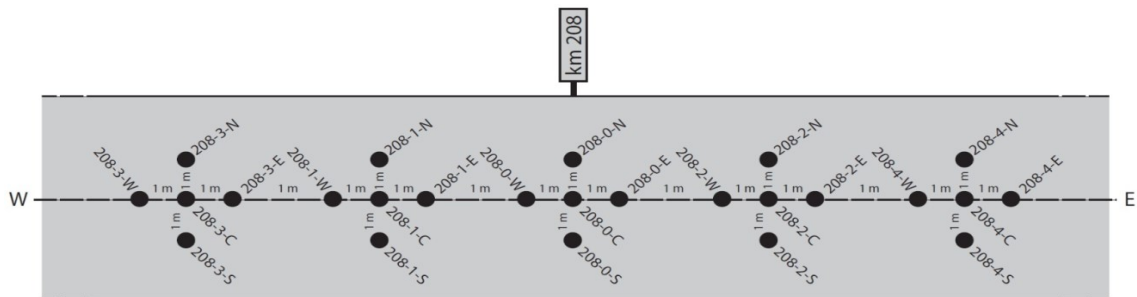
- Saltonstall, K. 2002. Cryptic invasion by a non-native genotype of the common reed, *Phragmites australis*, into North America. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99, 2445-2449.
- Saltonstall, K. 2003. Microsatellite variation within and among North American lineages of *Phragmites australis*. *Molecular Ecology*, 12, 1689-1702.
- Saltonstall, K., Castillo, H.E., and Blossey, B. 2014. Confirmed field hybridization of native and introduced *Phragmites australis* (Poaceae) in North America. *American Journal of Botany*, 101, 211-215.
- Saltonstall, K., Lambert, A., and Meyerson, L.A. 2010. Genetics and reproduction of common (*Phragmites australis*) and giant reed (*Arundo donax*). *Invasive Plant Science and Management*, 3, 495-505.
- Saltonstall, K., and Stevenson, J.C. 2007. The effect of nutrients on seedling growth of native and introduced *Phragmites australis*. *Aquatic Botany*, 86, 331-336.
- Schierenbeck, K.A., and Ellstrand, N.C. 2009. Hybridization and the evolution of invasiveness in plants and other organisms. *Biological Invasions*, 11, 1093-1105 .
- Schmieder, K., Dienst, M., and Ostendorp, W. 2002. Effects of the extreme flood in 1999 on the spatial dynamics and stand structure of the reed belts in Lake Constance. *Limnologia*, 32, 131-146.
- Serag, M. S. 1996. Ecology and biomass of *Phragmites australis* (Cav) Trin Ex Steud in the north-eastern region of the Nile Delta, Egypt. *Ecoscience*, 3, 473-482.
- Shea, K., and Chesson, P. 2002. Community ecology theory as a framework for biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 170-176.
- Shirk, R.Y., Hamrick, J.L., Zhang, C., and Qiang, S. 2014. Patterns of genetic diversity reveal multiple introductions and recurrent founder effects during range expansion in invasive populations of *Geranium carolinianum* (Geraniaceae). *Heredity*, 112, 497-507.
- Silliman, B.R., and Bertness, M.D. 2004. Shoreline development drives invasion of *Phragmites australis* and the loss of plant diversity on New England salt marshes. *Conservation Biology*, 18, 1424-1434.
- Silliman, B.R., Mozdzer, T., Angelini, C., Brundage, J.E., Esselink, P., Bakker, J.P., Gedan, K.B., van de Koppel, J., and Baldwin, A.H. 2014. Livestock as a potential biological control agent for an invasive wetland plant. *PeerJ*, peerj.567.
- Silvertown, J. 2008. The evolutionary maintenance of sexual reproduction : Evidence from the ecological distribution of asexual reproduction in clonal plants. *International Journal of Plant Science*, 169, 157-168.
- Simberloff, D. 2009. The role of propagule pressure in biological invasions. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 81-102.
- Stepien, C.A., Brown, J.E., Neilson, M.E., and Tumeo, M.A. 2005. Genetic diversity of invasive species in the Great Lakes versus their Eurasian source populations : Insights for risk analysis. *Risk Analysis*, 25, 1043-1060.

- Sweetman, A.C., Kettenring, K.M., and Mock, K.E. 2013. The pattern and structure of genetic diversity of *Schoenoplectus maritimus* : Implications for wetland revegetation. *Aquatic Botany*, 104, 47-54.
- Tanner, C.C. 1996. Plants for constructed wetland treatment systems - A comparison of the growth and nutrient uptake of eight emergent species. *Ecological Engineering*, 7, 59-83.
- te Beest, M., Le Roux, J.J., Richardson, D.M., Brysting, A.K., Suda, J., Kubešová, M., and Pyšek, P. 2012. The more the better ? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany*, 109, 19-45.
- Theoharides, K.A., and Dukes, J.S. 2007. Plant invasion across space and time : Factors affecting nonindigenous species success during four stages of invasion. *New Phytologist*, 176, 256-273.
- Thuiller, W., Richardson, D.M., Rouget, M., Procheş, Ş., and Wilson, J.R.U. 2006. Interactions between environment, species traits, and human uses describe patterns of plant invasions. *Ecology*, 87, 1755-1769.
- Tobin, P.C., Whitmire, S.L., Johnson, D.M., Bjornstad, O.N. and Leibhold, A.M. 2007. Invasion speed is affected by geographical variation in the strength of Allee effects. *Ecology Letters*, 10, 36-43.
- Torchin, M.E., Lafferty, K.D., Dobson, A.P., McKenzie, V.J., and Kuris, A.M. 2003. Introduced species and their missing parasites. *Nature*, 421, 628-630.
- Tougas-Tellier, M.-A. 2013. Impact des changements climatiques sur l'expansion du roseau envahisseur dans le fleuve Saint-Laurent. Mémoire M. ATDR., Université Laval, Ville de Québec, Québec.
- Tucker, G.C. 1990. The genera of Arundinoideae (Graminae) in the southeastern United States. *Journal of the Arnold Arboretum*, 71, 145-177.
- Tulbure, M.G., and Johnston, C.A. 2010. Environmental conditions promoting non-native *Phragmites australis* expansion in Great Lakes coastal wetlands. *Wetlands*, 30, 577-587.
- Tulbure, M.G., Johnston, C.A., and Auger, D.L. 2007. Rapid invasion of a Great Lakes coastal wetland by non-native *Phragmites australis* and *Typha*. *Journal of Great Lakes Research*, 33, 269-279.
- Valéry, L., Fritz, H., Lefeuvre, J-C., and Simberloff, D. 2008. In search of a real definition of the biological invasion phenomenon itself. *Biological Invasions*, 10, 1345-1351.
- Valéry, L., Fritz, H., and Lefeuvre, J-C. 2013. Another call for the end of invasion biology. *Oikos*, 122, 1143-1146.
- Van Kleunen, M., Dawson, W., Schlaepfer, D., Jeschke, J.M., and Fischer, M. 2010. Are invaders different ? A conceptual framework of comparative approaches for assessing determinants of invasiveness. *Ecology Letters*, 13, 947-958.

- Van Kleunen, M., Weber, E., and Fischer, F. 2010. A meta-analysis of trait differences between invasive and non-invasive plant species. *Ecology Letters*, 13, 235-245.
- Vasquez, E.A., Glenn, E.P., Brown, J.J., Guntenspergen, G.R., and Nelson, S.G. 2005. Salt tolerance underlies the cryptic invasion of North American salt marshes by an introduced haplotype of the common reed *Phragmites australis* (Poaceae). *Marine Ecology-Progress Series*, 298, 1-8.
- Vilà, M., Maron, J.L., and Marco, L. 2005. Evidence for the enemy release hypothesis in *Hypericum perforatum*. *Oecologia*, 142, 474-479.
- Vitalos, M., and Karrer, G. 2009. Dispersal of *Ambrosia artemisiifolia* seeds along roads : The contribution of traffic and mowing machines. *Neobiota*, 8, 53-60.
- Von der Lippe, M., and Kowarik, I. 2007. Long-distance dispersal of plants by vehicles as a driver of plant invasions. *Conservation Biology*, 21, 986-996.
- Weisner, S.E.B., and Ekstam, B. 1993. Influence of germination time on juvenile performance of *Phragmites australis* on temporarily exposed bottoms - Implications for the colonization of lake beds. *Aquatic Botany*, 45, 107-118.
- Wijte, A.H.B.M., and Gallagher, J.L. 1996. Effect of oxygen availability and salinity on early life history stages of salt marsh plants. 1. Different germination strategies of *Spartina alterniflora* and *Phragmites australis* (Poaceae). *American Journal of Botany*, 83, 1337-1342.
- Wilcox, D.A. 2012. Response of wetland vegetation to the post-1986 decrease in Lake St. Clair water levels : Seed-bank emergence and beginnings of the *Phragmites australis* invasion. *Journal of Great Lakes Research*, 38, 270-277.
- Wilcox, K.L., Petrie, S.A., Maynard, L.A., and Meyer, S.W. 2003. Historical distribution and abundance of *Phragmites australis* at Long Point, Lake Erie, Ontario. *Journal of Great Lakes Research*, 29, 664-680.
- Williamson, M. 1996. Biological invasions. Chapman & Hall, London, U.K. 526 p.
- Williamson, M., and Fitter, A. 1996. The varying success of invaders. *Ecology*, 77, 1661-1666.
- Winkler, E., and Fischer, M. 2002. The role of vegetative spread and seed dispersal for optimal life histories of clonal plants : A simulation study. *Evolutionary Ecology*, 15, 281-301.
- Zwaenepoel, A., Roovers, P., and Hermy, M. 2006. Motor vehicles as vectors of plant species from road verges in a suburban environment. *Basic and Applied Ecology*, 7, 83-93.

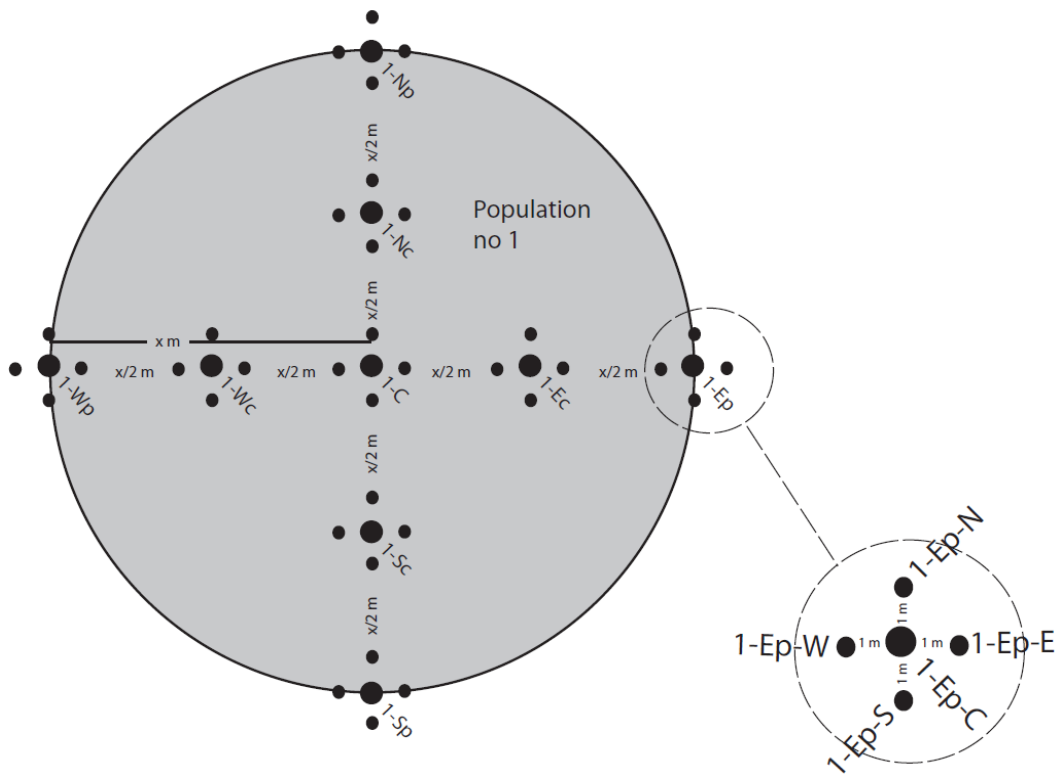
ANNEXE I : DONNÉES DU CHAPITRE II

Annexe I - A : Échantillonnage des populations de roseau commun en bordure des autoroutes - génétique des populations



Stratégie d'échantillonnage des 45 tiges de roseau commun (*Phragmites australis*) au sein d'une colonie linéaire le long de l'Autoroute 20. Exemple de la colonie localisée en face de la borne kilométrique 208, avec dix échantillons manquants dans chaque direction (ouest et est).

Annexe I - B : Échantillonnage des populations de roseau commun dans les marais - génétique des populations



Stratégie d'échantillonnage des 45 tiges de roseau commun (*Phragmites australis*) au sein d'une colonie circulaire des marais du Parc National des Îles-de-Boucherville. Exemple de la colonie numéro 1.

Annexe I - C : Génotypage des échantillons de roseau commun par des marqueurs microsatellites (SSRs)

Génotypes des 1451 échantillons récoltés dans des colonies de roseau commun (*Phragmites australis*) localisées dans le sud du Québec le long de l'Autoroute 20 (A20) et au Parc National des Îles-de-Boucherville (PNIB). Les 27 allèles (taille des fragments en pb) de six marqueurs microsatellites (PaGT-4 à PaGT-16) sont codés comme présent ou absent dans la matrice binaire.

Ce fichier au format Excel sera soumis dans Papyrus lors du dépôt final sous forme de fichier complémentaire au fichier PDF principal contenant le corps de l'ouvrage de la thèse.

ANNEXE II : DONNÉES DU CHAPITRE III

Annexe II - A : Géotypage des échantillons de roseau commun par des marqueurs nucléotidiques (SNPs)

Géotypes des 104 échantillons récoltés dans des colonies de roseau commun (*Phragmites australis*) localisées dans le sud du Québec le long de l'Autoroute 20 (A20) et au Parc National des Îles-de-Boucherville (PNIB). Les 5538 polymorphismes nucléotidiques sont représentés par le système de codage IUPAC.

Ce fichier au format Excel sera soumis dans Papyrus lors du dépôt final sous forme de fichier complémentaire au fichier PDF principal contenant le corps de l'ouvrage de la thèse.

ANNEXE III : DONNÉES DU CHAPITRE IV

Annexe III - A : Caractéristiques des sites inventoriés

Données brutes utilisées pour des modèles de régression logistique binaire pour établir la relation entre la présence (ou l'absence) des populations de roseau commun (*Phragmites australis*) et des caractéristiques environnementales le long des fossés de drainage (localisés en face des bornes kilométriques) de l'Autoroute 30 dans le sud du Québec.

Ce fichier au format Excel sera soumis dans Papyrus lors du dépôt final sous forme de fichier complémentaire au fichier PDF principal contenant le corps de l'ouvrage de la thèse.